

UNIVERSITÉ DE NANTES  
FACULTÉ DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES

ÉCOLE DOCTORALE • CHIMIE BIOLOGIE

Étude des événements physicochimiques et biologiques  
présidant à la prolifération d'*Haslea ostrearia* (Simonsen)  
dans les claires ostréicoles de la région de Marennes-Oléron :  
implications dans la maîtrise du verdissement

THÈSE DE DOCTORAT  
Spécialité : biologie marine

*présentée  
et soutenue publiquement par*

**Vincent TURPIN**

*le 9 juillet 1999, devant le jury ci-dessous*

*Président* M. BONIN Daniel, professeur • Université d'Aix-Marseille II  
*Rapporteurs* M. BARNABÉ Gilbert, professeur • Université de Montpellier II  
M. HÉRAL Maurice, directeur du CREMA • CNRS-IFREMER, L' Houmeau  
M. LE GAL Yves, directeur au Collège de France • Station marine de Concarneau  
*Examineurs* M. GOULLETQUER Philippe, directeur du laboratoire conchylicole Poitou-Charentes  
IFREMER • La Tremblade  
M. NIVAL Paul, professeur • Université Pierre et Marie Curie, Paris VI  
M. ROBERT Jean-Michel, professeur • ISOMer, Université de Nantes

*Directeur de thèse : M. Jean-Michel ROBERT*

## REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je tiens à exprimer ma gratitude envers tous ceux qui, à différents titres, ont accepté d'aider et d'encourager ce travail.

Monsieur Jean-Michel Robert, professeur à l'Université de Nantes et directeur d'ISOMer, qui m'a accueilli au Laboratoire de Biologie Marine et qui m'a toujours témoigné sa confiance en portant un intérêt tout particulier à mes travaux. Qu'il trouve ici l'expression de ma très sincère reconnaissance et de mes plus vifs remerciements.

Monsieur Philippe Gouletquen, directeur du Laboratoire Conchylicole Poitou-Charente d'IFREMER La Tremblade, qui a toujours été à mon écoute en me facilitant le travail sur le terrain me permettant ainsi de bénéficier de tous les moyens financiers et matériels dont il disposait. Je lui en suis entièrement reconnaissant.

Monsieur Maurice Héral, directeur du CREMA-L'Houmeau CNRS-IFREMER, qui fût l'initiateur du projet dans le cadre du contrat de Plan Etat-Région Poitou-Charente, et qui m'a permis d'obtenir le statut de Boursier IFREMER, me facilitant sur le plan matériel et personnel ma recherche. Je tiens également à le remercier vivement de l'intérêt qu'il a porté à ce mémoire en acceptant d'en être rapporteur.

Monsieur Yves Le Gal, Directeur adjoint au Collège de France, qui s'est intéressé à mon travail et qui a eu l'amabilité de juger mon mémoire en participant au jury en tant que rapporteur. Je lui adresse mes sincères remerciements.

Monsieur Gilbert Barnabé, professeur à l'Université de Montpellier II, qui a accepté de juger ce travail en tant que rapporteur en siégeant dans le jury. Qu'il trouve ici, l'expression de mes sincères remerciements.

Monsieur Daniel Bonin, professeur à l'Université d'Aix-Marseille II, par ses compétences sur la biologie du phytoplancton marin a bien voulu accepter de participer au jury. Qu'il trouve ici, le témoignage de ma profonde reconnaissance pour les encouragements qu'il m'a prodigués.

Monsieur Paul Nival, professeur à l'Université de Paris VI, qui malgré ces nombreuses occupations a accepté de faire partie du jury. Je lui sais gré de s'être intéressé à mes recherches, qu'il reçoive mes sincères remerciements.

Je tiens à remercier tout spécialement l'équipe technique du laboratoire de Biologie Marine : René Hamon, qui par son expérience multiple du travail de terrain et de laboratoire m'a formé à de nombreuses techniques, qu'il reçoive toute ma gratitude ; Guillaume Massé, qui par son opiniâtreté et sa rigueur, a toujours fait preuve d'abnégation lors de la réalisation de toutes les expérimentations sur le terrain et Philippe Rosa pour sa contribution aux nombreuses analyses durant la dernière année de ce travail.

Je souhaite également exprimer ma gratitude à toutes les personnes du Laboratoire de Biologie Marine de l'Université de Nantes ainsi qu'aux collègues et techniciens de l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer de la station de La Tremblade qui, de près ou de loin, ont facilité la réalisation de ce projet.

Enfin, je remercie chaleureusement mes proches qui m'ont toujours soutenu dans les moments de doute et qui ont contribué à leur manière à l'achèvement de ce mémoire.

*Je tiens également à remercier le Conseil Régional Poitou-Charentes, le Conseil Général de Charente Maritime et IFREMER pour le soutien financier dont a bénéficié ce programme de recherche.*

A Anne-Caroline, pour son soutien tout au long de ces années

A mes parents qui m'ont toujours suivi et encouragé.

A mes grands-pères instituteurs,

Yvon dit "Le Moco", charentais d'origine,

et Alexandre,

qui, par leur amour de la pêche,

m'ont transmis leur passion pour la mer.

INTRODUCTION GÉNÉRALE .....	7
-----------------------------	---

## CHAPITRE I

### Les claires ostréicoles du Bassin de Marennes-Oléron et le phénomène de verdissement

<b>1 GENERALITES .....</b>	<b>13</b>
1-1 LE PHÉNOMÈNE DE VERDISSEMENT .....	13
1-2 LES CLAIRES OSTRÉICOLES - PRÉSENTATION ET GESTION.....	16
1-2-1 <i>Les claires de sartières ou claires basses</i> .....	17
1-2-2 <i>Les claires de marais endigué ou claires hautes</i> .....	17
1-2-3 <i>Entretien traditionnel et annuel des claires</i> .....	19
1-3 LA DIATOMÉE PENNÉE <i>HASLEA OSTREARIA</i> SIMONSEN .....	20
1-3-1 <i>Particularités morphologiques et cytologiques</i> .....	20
1-3-2 <i>Description du verdissement au sein d'une claire ostréicole</i> .....	22
1-3-3 <i>Cycle saisonnier d'apparition de l'algue dans les claires ostréicoles</i> .....	22
1-3-4 <i>Comportement tychopélagique d'Haslea ostrearia</i> .....	23
<b>2 LA ZONE D'ETUDE.....</b>	<b>26</b>
2-1 LE BASSIN DE MARENNES-OLÉRON .....	27
2-2 LE MARAIS EXPÉRIMENTAL .....	28
<b>3 CONCLUSIONS .....</b>	<b>29</b>

## CHAPITRE II

### Caractéristiques physico-chimiques des eaux de l'estuaire de la Seudre

<b>1 PHYSICO-CHIMIE DES EAUX DE L'ESTUAIRE DE LA SEUDRE.....</b>	<b>32</b>
1-1 INTRODUCTION.....	32
1-2 MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	33
1-2-1 <i>Zone d'étude</i> .....	33
1-2-2 <i>Prélèvements dans l'estuaire de la Seudre</i> .....	35
1-2-3 <i>Prélèvements dans la claire témoin du Marais expérimental</i> .....	35
1-3 EVOLUTION SAISONNIÈRE DE LA SALINITÉ ET DES ÉLÉMENTS NUTRITIFS DANS L'ESTUAIRE DE LA SEUDRE .....	37
1-3-1 <i>Salinité (Fig. 10)</i> .....	37
1-3-2 <i>Azote dissous</i> .....	38
1-3-2-1 <i>Ammonium (<math>NH_4^+</math>) (Fig. 11)</i> .....	38
1-3-2-2 <i>Azote nitreux dissous (<math>NO_2^-</math>) (Fig. 12)</i> .....	39
1-3-2-3 <i>Azote nitrique dissous (<math>NO_3^-</math>) (Fig. 13)</i> .....	41
1-3-3 <i>Le silicium dissous (<math>SiO_3^-</math>) (Fig. 16)</i> .....	44
1-3-4 <i>Le Phosphore dissous (<math>PO_4^{2-}</math>) (Fig. 17)</i> .....	45
1-4 EVOLUTION SAISONNIÈRE DES RAPPORTS ENTRE NUTRIMENTS MAJEURS DANS L'ESTUAIRE DE LA SEUDRE .....	46
1-4-1 <i>Rapport <math>\Sigma N:P</math></i> .....	47

1-4-2 Rapport $\Sigma N:Si$ .....	48
1-4-3 Rapport $Si:P$ .....	49
1-5 CORRÉLATIONS ENTRE LES VARIABLES HYDROLOGIQUES ÉTUDIÉES .....	50
<b>2 RELATIONS ENTRE LES PARAMETRES NUTRITIONNELS DE L'ESTUAIRE DE LA SEUDRE ET CEUX DES CLAIRES EXPERIMENTALES.....</b>	<b>52</b>
<b>3 DISCUSSION ET CONCLUSION.....</b>	<b>56</b>

## CHAPITRE III

### Fertilité des eaux des claires ostréicoles de Marennes-Oléron

<b>1 INTRODUCTION .....</b>	<b>59</b>
<b>2 FERTILITE DES EAUX DES CLAIRES OSTREICOLES DU MARAIS EXPERIMENTAL POUR HASLEA OSTREARIA.....</b>	<b>60</b>
2-1 MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	60
2-1-1 <i>L'algue test</i> .....	60
2-1-2 <i>Périodes de suivi de la fertilité potentielle</i> .....	60
2-1-3 <i>Mise en œuvre des bioessais</i> .....	61
2-2 FERTILITÉ DES EAUX D'UNE CLAIRE NE CONTENANT PAS D'HUÎTRES.....	62
2-2-1 <i>Résultats</i> .....	62
2-2-2 <i>Discussion</i> .....	65
2-3 COMPARAISON DE LA FERTILITÉ DES EAUX DE DEUX CLAIRES EN PRÉSENCE OU NON D'HUÎTRES.....	68
2-3-1 <i>Estimation de la fertilité potentielle</i> .....	68
2-3-2 <i>Relation entre fertilité potentielle et richesse nutritive des eaux</i> .....	71
2-3-3 <i>Rendements d'utilisation des sels nutritifs - indice de fertilité</i> .....	75
2-3-4 <i>Discussion</i> .....	77
<b>3 RECHERCHE DU OU DES FACTEUR(S) LIMITANT(S) LA PRODUCTION D'HASLEA OSTREARIA.....</b>	<b>79</b>
3-1 MATÉRIELS ET MÉTHODES : LES ENRICHISSEMENTS DIFFÉRENTIELS.....	79
3-2 RÉSULTATS .....	81
3-2-1 <i>Eaux récoltées en 1994-1995</i> .....	81
3-2-2 <i>Eaux récoltées dans les deux claires étudiées en 1996</i> .....	87
3-2-2-1 <i>Résultats basés sur les densités numériques en cellules</i> .....	87
3-2-2-2 <i>Comparaisons des résultats avec ceux issus de l'estimation des concentrations en chlorophylle a</i> .....	96
3-3 DISCUSSION.....	98
<b>4 CONCLUSIONS .....</b>	<b>99</b>

## CHAPITRE IV

### Verdissement expérimental en microcosmes en claires

<b>1 ELABORATION D'UN MELANGE ENRICHISSANT EN NUTRIMENTS.....</b>	<b>103</b>
1-1 RÉSULTATS .....	103
1-2 MILIEU NUTRITIF.....	104
1-3 PRÉPARATION DU MILIEU NUTRITIF .....	104
<b>2 EXPERIMENTATIONS <i>IN SITU</i> UTILISANT LE MILIEU NPSI .....</b>	<b>105</b>
2-1 MATÉRIEL ET MÉTHODE .....	105
2-2 VERDISSEMENT PROVOQUÉ <i>IN SITU</i> À PARTIR DE CULTURES D' <i>HASLEA OSTREARIA</i> .....	108
2-2-1 <i>Evolution des concentrations en sels nutritifs dans les microcosmes.</i> .....	109
2-2-2 <i>Evolution des concentrations en pigments totaux dans les microcosmes.</i> .....	111
2-2-3 <i>Evolution de la densité numérique en <i>Haslea ostrearia</i> dans les microcosmes.</i> .....	112
2-2-4 <i>Evolution des concentrations en marennine externe dans les microcosmes.</i> .....	113
2-2-5 <i>Evolution des populations de diatomées dans les microcosmes.</i> .....	113
2-3 DISCUSSION ET CONCLUSIONS .....	119
<b>3 INFLUENCE DES HUÎTRES SUR LE VERDISSEMENT. ....</b>	<b>120</b>
3-1 MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	120
3-2 EXPÉRIENCE DU MOIS DE NOVEMBRE.....	121
3-2-1 <i>Evolution des concentrations en sels nutritifs dans les microcosmes.</i> .....	121
3-2-2 <i>Evolution des concentrations en pigments totaux dans les microcosmes.</i> .....	124
3-2-3 <i>Evolution de la densité numérique en <i>Haslea ostrearia</i> dans les microcosmes.</i> .....	125
3-2-4 <i>Evolution des concentrations en marennine externe dans les microcosmes.</i> .....	125
3-2-5 <i>Evolution des populations de diatomées dans les microcosmes.</i> .....	126
3-2-6 <i>Discussion</i> .....	132
3-3 EXPÉRIENCE DU MOIS D'AVRIL.....	133
3-3-1 <i>Evolution des concentrations en sels nutritifs dans les microcosmes.</i> .....	133
3-3-2 <i>Evolution des concentrations en pigments totaux dans les microcosmes.</i> .....	136
3-3-3 <i>Evolution de la densité numérique en <i>Haslea ostrearia</i> dans les microcosmes.</i> .....	137
3-3-4 <i>Evolution des concentrations en marennine externe dans les microcosmes.</i> .....	138
3-3-5 <i>Evolution des populations de diatomées dans les microcosmes.</i> .....	138
3-3-6 <i>Discussion</i> .....	142
<b>4 CONCLUSIONS .....</b>	<b>144</b>

## CHAPITRE V

### Premiers essais de culture de masse de la diatomée *Haslea ostrearia*

<b>1 INTRODUCTION .....</b>	<b>147</b>
<b>2 MATÉRIELS ET MÉTHODES .....</b>	<b>148</b>
2-1 PRÉPARATIONS AU LABORATOIRE .....	149
2-2 PRÉPARATIONS SUR LE TERRAIN.....	149

<b>3 RESULTATS</b> .....	<b>152</b>
3-1 EXPÉRIENCE DE JUIN .....	152
3-1-1 Evolutions de la température, de la salinité et de la teneur en oxygène dissous.....	152
3-1-2 Evolutions des concentrations en Chlorophylle a et pigments caroténoïdes dans les bacs et les liners.....	155
3-1-3 Evolutions des concentrations en <i>Haslea ostrearia</i> et en marennine excrétée dans les bacs et les liners.....	155
3-1-4 Utilisation des sels nutritifs dans les bacs et les liners.....	157
3-1-5 Relations entre les différents paramètres étudiés.....	159
3-1-6 Evolution des populations de diatomées au cours de l'expérimentation.....	160
3-1-7 Discussion.....	162
3-2 EXPÉRIENCE D'OCTOBRE EN PÉRIODE D'AFFINAGE.....	164
3-2-1 Evolutions des paramètres physico-chimiques dans les bacs et les liners.....	164
3-2-2 Evolutions des concentrations en Chlorophylle a et pigments caroténoïdes dans les bacs et les liners.....	168
3-2-3 Evolutions des concentrations en <i>Haslea ostrearia</i> et en marennine excrétée dans les bacs et les liners.....	169
3-2-4 Evolution des populations de diatomées.....	170
3-2-5 Observation du verdissement dans les cultures sur eau de mer enrichie.....	172
3-2-6 Utilisation des sels nutritifs dans les bacs et les liners.....	174
3-2-7 Evolution de la coloration d'huîtres immergées dans un bassin test de 10 m <sup>3</sup> .....	176
3-2-8 Discussion et perspectives.....	178
<b>4 CONCLUSIONS</b> .....	<b>182</b>

## CONCLUSION GÉNÉRALE

CONCLUSION GÉNÉRALE.....	184
TABLE DES ILLUSTRATIONS .....	190
BIBLIOGRAPHIE.....	201



## INTRODUCTION GÉNÉRALE

La conchyliculture dans les pertuis charentais représente indéniablement l'une des activités économiques les plus importantes. Sur cette zone, ce sont près de 7800 ha qui sont occupés par des concessions ostréicoles, dont 3000 ha de marais littoraux (Prou et Héral, 1998). Ainsi le secteur de Marennes-Oléron représente, avec 25000 tonnes d'huîtres creuses produites en 1996, près de 18 % de la production nationale de ce mollusque, alors que ce secteur représente à lui seul près de 45 % de la commercialisation des huîtres à l'échelon national. (Web Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, 1998).

Il faut remonter au XVII<sup>e</sup> siècle pour voir se développer la culture de l'huître plate (*Ostrea edulis*) dans le bassin de Marennes-Oléron. Papy (1941) a montré que, dès 1688, une partie des salines de la Région de Marennes-Oléron était utilisée pour y placer des bivalves. Ces bassins, baptisés 'claires', servaient à l'engraissement et au verdissement des huîtres. Depuis, l'affinage est devenu une phase traditionnelle de l'élevage des huîtres dans cette région. Cette pratique a pour but d'améliorer leur qualité sur le plan organoleptique, par l'engraissement, mais aussi sur le plan "esthétique" par le verdissement des mollusques immergés dans les claires.

Rincé (1978) a montré en baie de Bourgneuf, que dans ces types de bassins d'eau de mer, le peuplement algal est composé à 90 % par des diatomées, le reste étant constitué de Dinoflagellés et de Chlorophycées. Dans cette même région, Robert (1983), par un suivi quantitatif saisonnier des populations de diatomées des claires, a de plus montré que les eaux y séjournant présentaient un contingent d'espèces variables mais dont les densités numériques oscillaient entre  $10^4$  et  $10^5$  cellules.L<sup>-1</sup>. Il a aussi observé qu'au printemps, à l'automne et en début d'hiver, se produisaient des phénomènes de "fleurs d'eau" conduisant à

la prolifération d'une ou deux espèces, parmi lesquelles *Skeletonema costatum* (Cleve), *Nitzschia closterium* (Smith) et *Haslea ostrearia* (Simonsen). Ces "blooms" de diatomées apparaissent de façon saisonnière avec une certaine régularité ; cependant ces phénomènes restent imprévisibles et disparaissent aussi vite qu'ils sont apparus.

C'est à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle que le rôle d'*Haslea ostrearia* fut établi clairement dans la cause du verdissement des huîtres par Bornet et Puysegur (1877). Cette espèce tychopélagique, c'est à dire aussi bien pélagique que benthique, est apportée par les eaux littorales jusque dans les claires par les canaux d'alimentation. Robert (1984 a) a décrit les processus de multiplication intense d'*Haslea ostrearia* qui conduisent au verdissement des bassins lorsque les conditions y sont favorables à son développement : lors du séjour des eaux dans les claires durant la période de mortes eaux, il y a multiplication intense des cellules durant une phase planctonique : cette phase d'1 mois peut atteindre 3 mois dans certains cas. Par la suite les cellules connaissent une phase transitoire, tout en poursuivant leur multiplication, et qui s'accompagne d'une migration verticale menant à la colonisation massive du compartiment benthique. C'est durant cette colonisation du fond sédimentaire, que les cellules se "pigmentent" et présentent la particularité de synthétiser un pigment bleu soluble dans l'eau, nommé, dès 1886, "mareninne" par Lankester. Le cycle s'achève par une dernière phase, où l'on assiste à la remontée en surface de cellules "dépigmentées" en voie de dégénérescence. Cette nouvelle migration verticale des cellules d'*Haslea ostrearia*, s'accompagne d'une remontée d'individus capables de se diviser activement, associés à d'autres espèces benthiques. Les thalles mucilagineux (mucopolysacharides) qui caractérisent les diatomées benthiques jouent donc un rôle important dans la formation de ce qui est appelé la "crème flottante" ; celle-ci participe en outre à l'entretien du phénomène.

Il semblerait donc impropre d'utiliser le terme de "bloom" pour cette espèce, d'une part, par la durée du phénomène, ainsi que par les différentes phases distinctes qui le caractérisent. Les quelques études menées jusqu'à maintenant avaient, certes, montré que le verdissement s'accompagnait généralement d'une diminution, voire d'une stagnation des effectifs des autres espèces. Il était donc aisé de penser que l'exclusion compétitive envers les autres diatomées pouvait être le fruit de la synthèse par *Haslea ostrearia* de substances allélopathiques ectocrines. Au premier abord, Neuville et Daste (1978), avaient attribué un caractère toxique de la mareninne à l'égard de plusieurs espèces. Mais ces travaux effectués *in vitro* doivent être nuancés par rapport aux observations réalisées *in situ*.

Des travaux plus récents de Robert et Turpin (1993) ont montré *in vitro* que des concentrations en marennine, comprises entre 10 et 40 mg.L<sup>-1</sup>, stimulaient la propre croissance de l'algue. En l'état actuel des recherches, il semble difficile d'affirmer s'il s'agit d'une action autogénique ou allogénique. Effectivement le caractère soluble de ce pigment dans l'eau de mer pourrait modifier les qualités spectrales de la lumière. Ce qui induirait une succession des populations microphytoplanctoniques en favorisant l'une d'elles, mieux adaptée aux faibles hauteurs d'eau.

Toutes ces études, concernant la description du phénomène de verdissement *in situ*, n'apportaient pas de réponse à l'analyse des facteurs déclenchant la prolifération de cette espèce. Moreau (1970) avec une approche intégrant le milieu fut le premier à rechercher les éléments divers qui pourraient, *in situ*, provoquer le développement de cette diatomée dans les claires ainsi que ceux influençant la pigmentation caractéristique de l'algue.

Robert (1983) reprend l'étude des claires ostréicoles dans la région de la baie de Bourgneuf, en associant l'approche écologique à l'étude physiologique des diatomées dominantes de ce milieu particulier. L'étude physico-chimique des eaux des claires permet de progresser dans la connaissance de cet écosystème, notamment en ce qui concerne leur fertilité, afin de mettre en évidence les facteurs susceptibles d'y limiter la production primaire. Ainsi, le couplage des observations *in situ* et des études expérimentales *in vitro* a mis en évidence le rôle prépondérant pour *Haslea ostrearia* de l'azote minéral, ainsi que des substances organiques pouvant être utilisées de façon hétérotrophe (Robert *et al.*, 1982). Toutefois de nombreuses questions sont restées encore sans réponse. Bien que ces recherches aient conduit à une meilleure connaissance des besoins nutritionnels de cette espèce, les bioessais *in situ* visant à favoriser le développement d'*Haslea ostrearia* n'ont pas donné les résultats escomptés (Robert *et al.*, 1982).

Partant du constat que la capacité trophique des eaux des claires ostréicoles apparaissait comme insuffisante pour assurer, aux densités d'élevage de mollusques utilisées couramment par les ostréiculteurs, un affinage optimal, des solutions alternatives aux enrichissements de ces eaux ont été recherchées. C'est ainsi qu'en baie de Bourgneuf, s'est développée une technique de production en masse des diatomées à partir des eaux souterraines salées, qui constituent une ressource économique propre à cette région (Baud, 1988). La grande

richesse en éléments nutritifs de ces eaux, mais aussi la constance de leurs températures (entre 13 et 15°C), ont fait d'elles d'excellents milieux de culture pour la production en masse de microalgues "fourrage", notamment *Skeletonema costatum* destinée à l'alimentation des mollusques (Moreau *et al.*, 1998).

Les eaux souterraines salées ont également été utilisées pour la production d'*Haslea ostrearia* en conditions contrôlées en volume de 6 m<sup>3</sup> (Brevet n° 89-14314 du 22/11/89) dans le cadre d'une entreprise, la SOPROMA (Les Brochets, Bouin, Vendée). Dans cette exploitation, les cultures contrôlées sont utilisées pour ensemercer des petits bassins de terre remplis de la même eau souterraine que celle servant à la production de l'algue. Dans ces conditions, des huîtres peuvent y être immergées pour un verdissement accéléré, afin de répondre à la demande commerciale des professionnels. Pour ce procédé, la question se pose encore de savoir s'il s'agit bien d'un affinage de type traditionnel, ou si l'accélération industrielle du phénomène conduit à une perte d'authenticité du produit final pour le consommateur.

Le verdissement des huîtres, qui constitue une spécificité de l'ostréiculture française, a été développé de façon empirique par les ostréiculteurs, or ce phénomène soumis à une variabilité importante de la qualité du milieu et des conditions climatiques, présente un caractère aléatoire et imprévisible. Il apparaissait donc opportun de développer un programme de recherche, répondant à la demande des producteurs de Marennes-Oléron et visant à une meilleure connaissance de ce phénomène, afin d'induire la prolifération de l'algue, en conditions naturelles, dans les claires de cette région.

Dans un premier chapitre, un bilan de l'état des connaissances sur le phénomène de verdissement est présenté. La caractérisation du milieu particulier aux claires ostréicoles, ainsi qu'une description de la biologie et de l'écologie de la diatomée *Haslea ostrearia* permet d'y rappeler le caractère original de ce processus naturel.

Une première phase d'étude concernant le suivi saisonnier des paramètres physico-chimiques dans l'estuaire de la Seudre et les claires adjacentes, fait l'objet du second chapitre, en vue de faire un état des flux de nutriments entre le milieu ouvert et les bassins aux caractéristiques plus confinées.

Les résultats de cette première phase étant acquis, l'étude de la fertilité des eaux de claires expérimentales en période d'abondance d'*Haslea ostrearia* a été entreprise, et les résultats commentés en comparaison avec ceux déjà établis en baie de Bourgneuf. Parallèlement à ces expérimentations, des enrichissements différentiels de ces mêmes eaux ont permis d'identifier les facteurs pouvant limiter la production d'*Haslea ostrearia* et donc l'apparition du verdissement dans les claires. Cette étude expérimentale réalisée *in vitro*, en conditions contrôlées de température et d'irradiance, est présentée dans le troisième chapitre.

Les résultats précédents ayant conduit à l'élaboration, en laboratoire, d'un milieu nutritif simplifié, il convenait dans un souci d'utilisation par les ostréiculteurs, de valider ses effets à l'échelle du terrain. Le quatrième chapitre expose cette approche offerte par l'utilisation de microcosmes, afin de valider l'emploi *in situ* du milieu enrichissant, dans des conditions expérimentales différentes : taille de l'inoculum d'*Haslea ostrearia* importé dans les enceintes ; présence ou absence d'huîtres.

Cette phase d'étude sur le verdissement provoqué *in situ* par l'orientation des populations microphytoplanctoniques vers la multiplication d'*Haslea ostrearia*, a permis d'envisager le passage à l'échelle de bassins expérimentaux alimentés à partir d'eau de mer naturelle. Le dernier chapitre propose la mise au point de techniques simples de production de cette algue à cette nouvelle échelle. Durant cette dernière phase, des cultures en volume de 500 litres ont servi à l'ensemencement de bassins artificiels expérimentaux de 10 m<sup>3</sup> pour l'induction d'un processus de verdissement comparable à celui observé au hasard des multiplications intenses de la diatomée.

## CHAPITRE I

### LES CLAIRES OSTRÉICOLES DU BASSIN DE MARENNES-OLÉRON ET LE PHÉNOMÈNE DE VERDISSEMENT

Tout d'abord, il paraît nécessaire de rappeler la chronologie des différentes recherches effectuées jusqu'à ce jour sur le verdissement depuis la première description du phénomène. De l'analyse de ce processus naturel à l'identification de l'agent responsable de la coloration des huîtres, nombreux sont les auteurs, à avoir établi diverses théories. Celles-ci conduisaient à des débats contradictoires, du fait de l'utilisation de moyens d'investigation plus ou moins performants.

Ensuite, il semble impératif de dresser une présentation du milieu "claire ostréicole". La description de leur histoire, de leur mode de gestion et de leur entretien, nous éclaire sur l'intérêt qu'ont ces bassins dans la pratique de l'affinage des huîtres avant commercialisation.

Enfin, une troisième partie consacrée à la biologie et l'écologie d'*Haslea ostrearia* ou navicule "bleue" s'impose, afin de placer cet organisme original dans le contexte écosystémique.

## 1 GENERALITES

### 1-1 Le phénomène de verdissement

C'est au XVII<sup>e</sup> siècle que l'on trouve les premiers travaux se rapportant au phénomène de verdissement de l'huître plate *Ostrea edulis*. Dès 1669, l'Anglais Sprat décrit la coloration particulière des Huîtres de Colchester, il est le premier à mettre en relation cette coloration avec le verdissement du sol qu'il observe : "*Les huîtres que l'on veut rendre vertes sont placées dans des fosses profondes d'environ trois pieds, dans des marais salants, qui sont inondés par les grandes marées. Ces fosses deviennent vertes par une certaine qualité du terroir qui coopère avec la chaleur du soleil, ce qui communique cette couleur aux huîtres qu'on y met, dans quatre ou cinq jours, quoique d'ordinaire on les laisse là l'espace de six semaines ou de deux mois et dans ce temps là elles deviennent d'un vert obscur*". On voit donc que dès cette époque la technique de l'affinage était déjà employée Outre Manche.

Ce n'est qu'en 1820 que le Français Gaillon décrit pour sa part la pratique, utilisée en France qui consiste à placer des huîtres dans des bassins qu'il nomme "claires" (du latin *clarus* : limpide). Examinant le fond sédimentaire de claires vertes au microscope il remarque une multitude "d'animalcules chargés de matière verte mobile et doués d'une vélocité admirable d'impulsion et de rétrogradation". Il nomme ces animalcules le *Vibrio ostrearius*, et adopte le nom de Bory de Saint Vincent en 1823 en le rangeant dans le genre *Navicula*. Pour Gaillon il n'y a aucun doute le *Navicula ostrearia* est la cause du verdissement des branchies des Huîtres et ce phénomène est un caractère acquis, que l'huître peut perdre. "Le goût et la coloration augmentent d'autant que le séjour des huîtres se prolonge dans une claire en verdure sans renouvellement de l'eau. Par contre si ce dernier a lieu fréquemment, les huîtres perdent progressivement cette intensité de nuance verte et reprennent leur couleur naturelle". A partir de cette date, nombreux seront les auteurs qui aborderont le sujet du verdissement. Un débat s'engage alors, quant à l'agent du verdissement et surtout à l'état physiologique des huîtres. Certains pensent que les huîtres sont vertes parce qu'elles présentent une pathologie du foie, d'autres mettent cette coloration en relation avec la richesse des eaux en fer et notamment en cuivre.

En 1877 Puysegur et Bornet, à Sissable près du Croisic, réalisent les premières expérimentations vérifiant les hypothèses de Gaillon (Bornet, 1895). Pour eux, le verdissement des huîtres tient exclusivement à une diatomée dont ils fournissent une

description microscopique détaillée. Les huîtres sont avides de ces diatomées qui tapissent les claires en quantités innombrables dans certaines saisons puisque les intestins de ces mollusques sont littéralement remplis de débris de ces algues. Ils réussissent à plusieurs reprises et même à distance du lieu de prélèvement (au Muséum d'Histoire Naturelle) à faire verdier dans une assiette des huîtres en 48 heures en les nourrissant exclusivement avec les navicules récoltées dans les claires.

Il faut attendre 1886, pour que les travaux de Lankester démontrent l'absorption par les huîtres d'une diatomée qu'il nomme *Navicula fusiformis* var. *ostrearia* et dont il étudie la biologie. En outre, il réalise l'étude chimique et spectroscopique du pigment qu'elle synthétise, il le baptise "marennine" et il effectue la description du déterminisme de fixation de ce dernier dans l'épithélium branchial des huîtres qu'il se fait expédier de Marennes.

En 1895, le chercheur italien Carazzi, malgré une étude histologique très poussée sur la coloration des branchies par le fer aux dépens duquel se forme la marennine, relance le débat en affirmant que la diatomée n'a aucun rôle dans le verdissement et que ce n'est que l'action du fond des bassins qui confère aux huîtres leur verdeur par leurs fortes concentrations en fer.

En 1907, Sauvageau en réalisant des expériences simples, inspirées des travaux de Puységur et Bornet, critique très vivement les travaux de Carazzi qu'il bat en brèche.

Aux Etats-Unis, suite à l'apparition dans la Baie de Chesapeake (Virginie) de la navicule bleue, deux auteurs Mitchell et Barney en 1915 réalisent d'importants travaux sur *Crassostrea virginica* et observent le phénomène de verdissement, qu'ils qualifient de comparable à celui de la région de Marennes.

En 1927, Ranson s'intéresse au problème à son tour. Il reprend l'étude histologique des filaments branchiaux et des palpes des huîtres et localise la marennine dans les amibocytes de la partie distale du protoplasme épithélial, confirmant les travaux de Lankester (1893). Il en conclut que la marennine produite par *Navicula ostrearia* se fixe sur les branchies et les palpes labiaux, et qu'il s'agit d'une absorption tissulaire de substances dissoutes. Ranson cherche à approfondir la genèse du phénomène de verdissement dans les claires ostréicoles, car dès cette époque les ostréiculteurs ont besoin de connaissance au sujet d'une pratique, qui reste aléatoire et tributaire de nombreux facteurs non contrôlés. Ranson précise que *Navicula ostrearia* se retrouve sur toutes les côtes du littoral français mais qu'elle est plus fréquente dans les régions ostréicoles que ce soit en France ou ailleurs. On la retrouve même comme épiphyte sur des macroalgues. De ces observations, il émet quelques hypothèses très



intéressantes, notamment qu'il existe un lien indéniable entre l'huître et la navicule. Pour lui, ce sont les substances organiques (mucus notamment des faeces et pseudofaeces) excrétées par les huîtres et déposées sur le fond des bassins qui constitueraient un milieu riche, envahi rapidement par les protozoaires, les algues unicellulaires et surtout les bactéries. C'est ce qui expliquerait par ailleurs le comportement benthique de *Navicula ostrearia* qui peut être aussi planctonique : il parle alors d'un véritable chimiotactisme. Lors de la phase benthique et en fonction de la qualité du substrat sur lequel les navicules se fixent, apparaîtrait la pigmentation des cellules par la marennine. Il y aurait donc deux phases du cycle de développement des navicules dans les claires : une phase planctonique "cellule non bleue" et une phase benthique "cellule bleue". Se basant sur la constitution du mucus, qui est un mélange de glycoprotéines (mucines), il réalise donc des cultures "non bleues" de *Navicula ostrearia* sur des oses simples additionnés à de l'eau de mer et constate l'apparition de pigmentation en quelques jours.

Bachrach (1935) souligne qu'il faut être prudent quant aux conclusions de Ranson. Réalisant d'autres expériences à son tour, elle réussit à obtenir en présence d'urée et de mélanges métalliques le bleuissement d'autres espèces de diatomées des genres *Navicula*, *Nitzschia* et *Grammatophora* abondants dans les claires ostréicoles. Elle conclut que la pigmentation bleue, observée chez *Navicula ostrearia*, n'est pas un caractère propre à cette espèce et que c'est un phénomène généralisable à toutes les diatomées.

Après guerre, l'étude scientifique si prolifique du verdissement provoque le désintérêt. Il faut attendre 1970 pour que l'ISTPM, par l'intermédiaire de Moreau, s'intéresse de nouveau à ce phénomène. Mais la recherche va désormais dans une autre direction. Il faut éclaircir les causes profondes qui conduisent au verdissement des claires. Moreau s'intéresse alors au phénomène dans les claires en relation avec l'évolution de différents paramètres (météorologiques, physico-chimiques, écologiques...). Ses conclusions restent vagues comme celles d'ailleurs de Neuville (1978) quant à la genèse du verdissement *in situ*.

Robert (1983) aborde le problème à l'échelle d'un bassin conchylicole (La baie de Bourgneuf) en alliant l'approche écologique descriptive à l'étude physiologique des diatomées dominantes des claires ostréicoles. Un grand pas est fait, aussi bien sur la connaissance des claires ostréicoles, que sur la physiologie des micro-algues de la flore de ce milieu très particulier. Il précise notamment le cycle tychopélagique de la toute nouvelle *Haslea ostrearia* Simonsen (1974) (= *Navicula ostrearia* Bory). Il met en évidence, par l'emploi de tests de fertilité, les facteurs limitant la production phytoplanctonique dans les

claires de Bourgneuf. Le rôle essentiel de l'azote est mis en exergue. Il démontre en outre ce que Ranson présentait, c'est à dire, la possibilité d'hétérotrophie que peut présenter cette diatomée vis à vis de substances organiques dissoutes comme l'urée et quelques acides aminés ; le lien est fait avec les produits d'excrétion des huîtres.

Notre travail, dans la lignée des recherches précédentes, au cœur du premier bassin ostréicole européen qu'est la région de Marennes-Oléron, tente d'identifier les facteurs écologiques (nutritionnels, biotiques,...) pouvant agir sur le développement d'*Haslea ostrearia* Simonsen dans des claires ostréicoles gérées de façon traditionnelle.

## 1-2 Les claires ostréicoles - Présentation et gestion

Depuis le Moyen Age, les marais sont le cadre d'une activité anthropique intense : agriculture, saliculture et plus récemment conchyliculture. Creusées dans d'anciennes salines dans le bri, sédiment de colmatage argilo-sableux déposé lors de la transgression flandrienne, les claires sont des bassins de formes et de superficie variables. Le plus souvent rectangulaires, pour une surface moyenne de 400 m<sup>2</sup>, elles subissent l'influence des marées, prépondérante quant au rythme d'alimentation en eau de mer, mais aussi déterminante vis à vis de la qualité de cette dernière. La hauteur d'eau s'échelonne de 60 centimètres en moyenne (après alimentation) à 20-25 centimètres (après séjour). La gestion des niveaux d'eau, le plus souvent, reste l'affaire de l'ostréiculteur et de sa connaissance empirique du milieu. Ces bassins sont utilisés pour l'engraissement et le verdissement des huîtres. Cette l'ultime étape de l'élevage avant la commercialisation constitue l'affinage. C'est donc dans ce milieu bien particulier que s'acquiert la qualité du produit.

Entre Charente et Seudre, près de 4000 ha de marais correspondent à des claires ostréicoles (Grelon, 1978), constituant le premier centre d'affinage des huîtres en France et surtout une spécificité du Bassin de Marennes-Oléron. Sur les bords de la Seudre, on rencontre deux types de claires ostréicoles : les claires de sartières dites "basses" et les claires de marais endigué dites "hautes".

### 1-2-1 Les claires de sartières ou claires basses

Les claires de "sartières" doivent leur nom à la végétation qui pousse à leurs abords. Elles sont situées au niveau des côtes les plus basses (Côte NGF comprise entre 0 et 3). Ce sont elles qui dessinent ce réseau anarchique de bassins, domestiqué par plusieurs générations d'ostréiculteurs le long de la Seudre. L'ostréiculteur creusait à marée basse (piquage) dans la couche dure de la vase sur 30 centimètres, et dressait alors des abotteaux (talus ou bordure des claires). Dans un second temps, il enlevait une seconde couche de vase (sur 20 cm environ) consolidant ainsi les abotteaux. Afin de réguler la hauteur d'eau voulue dans la claire ou bien pour vidanger cette dernière lors de l'entretien annuel, l'ostréiculteur y pratiquait une "dérase" : petit canal creusé dans l'abotteau. Ces claires subissaient alors le rythme des marées et "buvaient" (alimentation en eau) lors des coefficients de marée supérieurs à 60. Peu accessibles, elles ont été délaissées progressivement pour des claires plus grandes et plus faciles d'entretien : les claires de marais endigué.

### 1-2-2 Les claires de marais endigué ou claires hautes

Les marais salicoles furent transformés au milieu du XIX<sup>ème</sup> siècle ; ainsi l'ossature des salines fut conservée, mais les dimensions, l'emplacement des bassins ainsi que le réseau hydraulique furent modifiés, fruit de l'expérience empirique des premiers concepteurs des claires de sartières. Comme pour ces dernières, les abotteaux sont dressés dans la vase, une dérase étant ensuite pratiquée, mettant ainsi en communication la claire et le chenal d'alimentation ou ruisson. C'est aux marées de vives eaux ("Malines") que ces claires boivent. On nomme la gestion hydraulique de ce type de claires "gestion en coupe libre", car l'eau circule librement dans les ruisseaux qui alimentent ensuite les claires.

En marais endigué, on trouve également un second type de gestion hydraulique : une digue protège les bassins, des incursions marines répétitives. Une varaigne ou petite écluse contrôle l'accès de l'eau dans le champ de claires par un ruisson principal. Cette porte permet à marée montante (flot) de faire boire le marais, avec la possibilité de jouer sur les niveaux d'eau souhaités en fonction des coefficients de marées. A marée descendante (jusant), elle permet, non seulement l'évacuation des excédents d'eau dans les claires par les ruisseaux secondaires et principal, mais aussi lorsqu'elle est maintenue fermée, d'assécher entièrement le marais lors de l'entretien annuel du champ de claires.



Figure 1 : Dérase le long d'un aboteau de la claire. Cette dépression creusée par l'ostréiculteur détermine le niveau d'eau de la claire après la "boyance".



Figure 2 : Ecluse ou Varaigne. Principalement pour la saliculture, elle fût conservée dans le marais endigué et permet une gestion hydraulique plus souple que la gestion dite "en coupe libre". Elle permet de plus de fermer le marais pour son assèchement lors de l'entretien annuel du champ de claires.

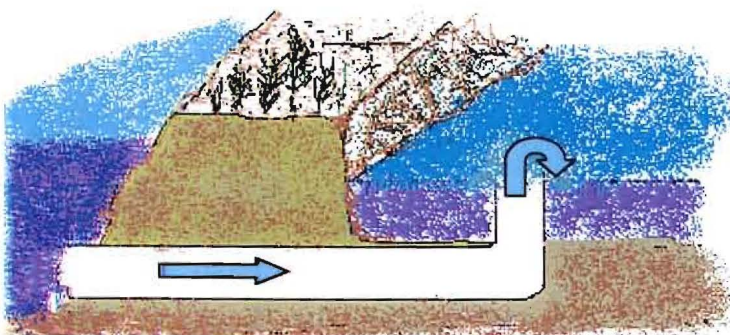


Figure 3 : Système de bondon en PVC qui sert à l'alimentation de la claire à partir du ruisson. Une hausse peut être rajoutée pour obtenir des niveaux d'eau plus importants. L'ostréiculteur peut ainsi gérer le niveau d'eau comme bon lui semble.

Au niveau des ruissons secondaires, l'ostréiculteur peut mettre pour remplacer la dérase un système de bondon, sorte de buse en bois qu'il peut boucher lorsqu'il le désire afin de déterminer le niveau d'eau qu'il souhaite. Désormais ces bondons en bois sont remplacés par des bondons en PVC, sur lesquels on peut placer une hausse pour obtenir sans interventions répétées le niveau d'eau désiré.

### 1-2-3 Entretien traditionnel et annuel des claires

Les claires réclament un entretien régulier, rythmé par la saison et leur utilisation. L'affinage se réalisant entre septembre et avril, c'est à la fin du printemps et l'été que le marais est asséché. Après avoir retiré les huîtres qui étaient semées ou bien mises en poches, l'ostréiculteur commence l'assèchement. Cette étape de l'entretien annuel a plusieurs rôles et revêt une importance considérable, en effet elle empêche le pourrissement de la vase, permet l'élimination de certains compétiteurs des huîtres (*Cerastoderma*, *Ruditapes*, ...), ainsi que la reminéralisation des sels nutritifs présents dans le sédiment.

La première étape de l'assèchement correspond au "varangage". Pour les claires "en coupe libre", une coupe est faite dans l'abotteau au moyen d'une pelle particulière la "ferrée", l'eau s'évacue alors dans le ruisson. Pour les claires en marais endigué, les bondes sont enlevées et à chaque maline l'eau circule librement dans le marais et les claires. Au jusant l'eau se retire complètement permettant d'éliminer une grosse partie du "limon", c'est à dire la végétation de macrophytes et la couche superficielle d'algues, de débris végétaux pouvant recouvrir le fond des claires après plusieurs mois d'exploitation.

Après avoir fait varanguer son champ de claires l'ostréiculteur ferme sa varaigne et débute l'assec proprement dit. La couche de vase molle du fond des claires est "râpée", c'est à dire débarrassée des huîtres qui auraient pu être oubliées, ensuite l'ostréiculteur pratique le "rouablage" du nom de l'outil utilisé en saliculture (le rouable (râteau plat) permet d'aplanir le fond de la claire). Les excédents de vases sont alors déposés aux pieds des abotteaux, puis une petite rigole (la doue) est pratiquée à ce même endroit et la vase est dressée sur les abotteaux : c'est le parage qui permet de consolider les abotteaux ayant subi une érosion mécanique lors des "boyances". La claire est remise à varanguer quelque temps. Puis l'assec est réalisé, c'est le gralage de l'été. On voit alors la vase se fendre lors de l'assèchement. Selon Ranson (1952), ces assecs ont trois avantages connus de la profession : ils permettent, par tassement et durcissement du fond des claires, un creusement naturel ; ils contribuent à

la destruction des macrophytes ainsi que des mollusques filtreurs enfouis, qui sont des compétiteurs des huîtres ; ils participent à une amélioration du verdissement. Après l'assec qui peut durer plusieurs mois, l'ostréiculteur remet son champ de claires en eau et fait boire son marais.

### **1-3 La diatomée pennée *Haslea ostrearia* Simonsen**

Depuis les travaux de Ranson (1927) nous avons acquis la certitude que la diatomée *Navicula ostrearia* Bory (1823) rebaptisée *Haslea ostrearia* par Simonsen en 1974 est l'agent du verdissement des huîtres. En France depuis les années 1970, différents auteurs se sont attachés à décrire ce phénomène et sont parvenus à une meilleure compréhension de ce dernier. Comme nous l'avons vu les huîtres commercialisables sont placées dans les claires, et là en fonction du temps de séjour, elles subissent un engraissement du fait de la grande richesse en phytoplancton de ce biotope bien particulier (Rincé, 1978). De plus, quand les conditions sont favorables à la prolifération d'*H. ostrearia*, les huîtres se teintent au niveau de leurs branchies et de leurs palpes labiaux d'une couleur vert émeraude. Ce gage de qualité, défini par des normes de commercialisation bien strictes (AFNOR, 1985), donne au produit fini une plus value non négligeable pour l'ostréiculteur. Depuis donc une vingtaine d'années, les enjeux économiques et la reconnaissance de la qualité du produit fini "Fines de claires" ou bien "Spéciales", ont été, par l'intermédiaire des producteurs, les moteurs de toutes les recherches effectuées sur le verdissement et l'affinage.

Nous ne reviendrons pas sur les différentes études réalisées par Moreau (1970), Neuville (1978), Grelon (1978) ayant trait aux claires ostréicoles. Nous signalerons seulement les premiers travaux sur l'ultrastructure de la navicule, réalisés par Robert et Prat (1973) et par Neuville *et al.* (1975). Quant à l'écophysiologie de l'algue ainsi que la description du verdissement, nous ferons un résumé des travaux de Robert (1978,1983).

#### **1-3-1 Particularités morphologiques et cytologiques**

*Haslea ostrearia* est une diatomée de l'ordre des Pennales (présence d'un raphé : sillon central sur le squelette) et de la famille des Naviculacea, qui possède une symétrie bilatérale. La carapace siliceuse ou frustule est composée de deux valves finement striées (cette

ornementation du squelette siliceux ne s'observe pas en microscopie photonique). Ces deux valves s'emboîtent l'une dans l'autre, elles sont dénommées épithèque et hypothèque.

Sur la figure 4, un schéma (A) ainsi qu'une observation en microscopie photonique (B) présentent succinctement la morphologie et la cytologie de cette espèce.

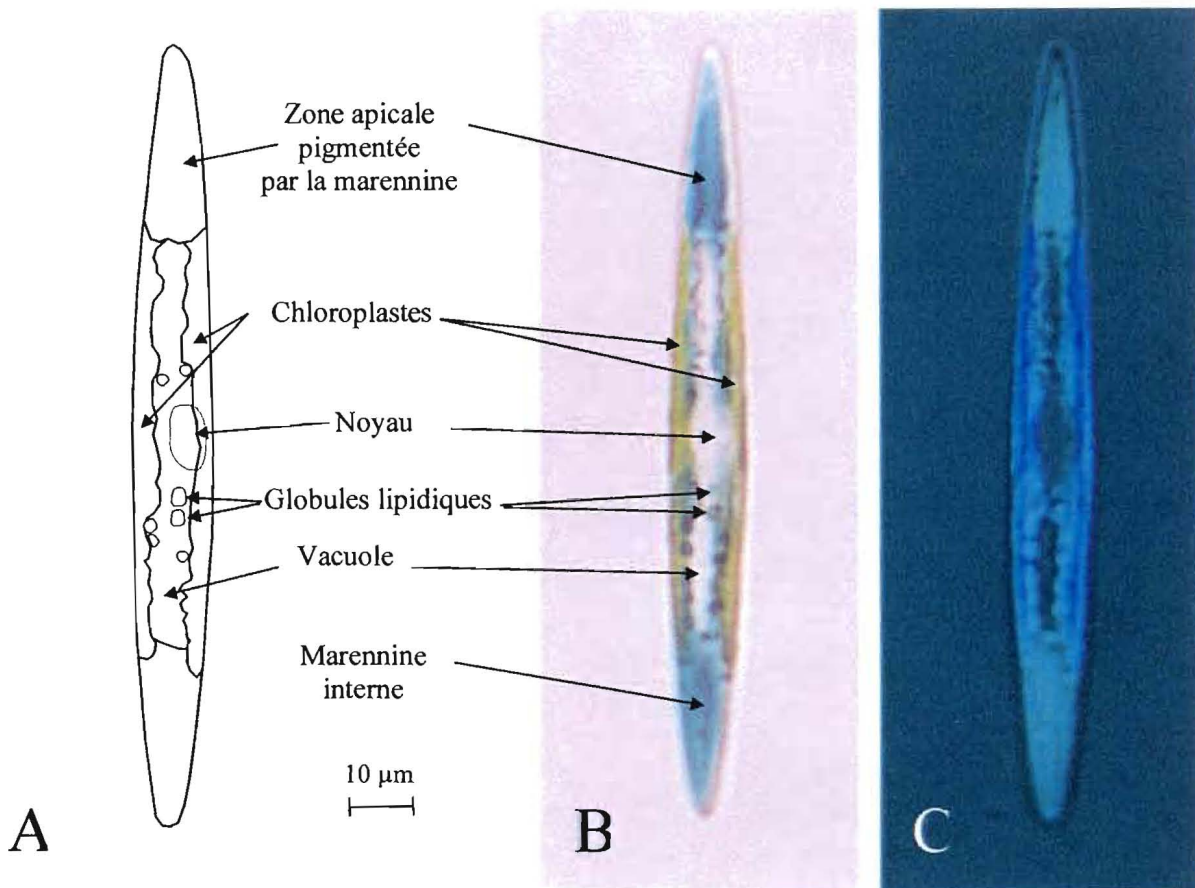


Schéma d'une cellule d'*Haslea ostrearia* vue de face

Observations en microscopie photonique d'une cellule d'*Haslea ostrearia* vue de face

Figure 4 : Schéma descriptif (A) et observation en microscopie (B) photonique d'une cellule d'*Haslea ostrearia* en vue de face. La photographie C est identique au cliché B, mais un traitement informatique de l'image permet de localiser en vert-émeraude la marennine, et en bleu-turquoise les chloroplastes (Clichés V. TURPIN).

On peut reprendre la description effectuée par Robert (1973) : Cette algue unicellulaire mesure entre 60 et 120 μm dans le sens de l'axe transapical, pour 6 à 12 μm dans le sens de l'axe antapical. La cellule vue de face montre deux chloroplastes pariétaux, qui bordent le noyau (peu visible sur notre cliché). Deux vacuoles se trouvent de part et d'autre de ce dernier. Round *et al.* (1990) signalent que les chloroplastes peuvent aussi se trouver à l'état de plusieurs petits plastides. Dans le cytoplasme peuvent aussi être observés des globules lipidiques et dans les régions apicales se localisent les plages de marennine sécrétée par la

cellule. Cependant sur le cliché C, on peut noter que l'on retrouve de la marennine le long des chloroplastes. Comme l'a déjà signalé Robert (1973), la localisation de la marennine varie en fonction du stade de pigmentation de l'algue, au cours de son développement dans les claires. Les cellules se multiplient par divisions binaires, mais une reproduction sexuée est possible dans certaines conditions mal connues (taille critique, stress physiologique...) : c'est l'auxosporulation.

### **1-3-2 Description du verdissement au sein d'une claire ostréicole**

Robert (1983) fait la description suivante du phénomène. "Le verdissement se décèle par l'apparition de marbrures gris-vert recouvrant la partie périphérique du sol de la claire. Les marbrures s'étendent, leur nombre s'accroît ; elles prennent simultanément une teinte verte. L'intensité maximale du verdissement se manifeste alors par la présence d'une pellicule de teinte vert-noir uniformément répandue sur le fond. La durée du phénomène est variable, elle est en moyenne d'une quinzaine de jours. Puis, un voile vert-noir formé de débris détachés de la pellicule recouvrant le sol de la claire apparaît peu à peu à la surface de l'eau ; souvent, poussé par le vent, il se concentre dans un angle du bassin, formant la "crème" ou "bavis". La mise en place de cette phase épipelagique est le plus souvent le signal du déverdissement". On voit donc que le phénomène comporte plusieurs phases chronologiques distinctes. Il faut préciser que ce scénario ne s'observe que si les conditions dans la claire sont favorables à l'installation et au développement d'*Haslea ostrearia*. Une perturbation météorologique, une réalimentation en eau (lors d'une Maline) sont autant de facteurs, qui peuvent conduire à un verdissement avorté. Voisin (1931) et Ranson (1943) signalent la fragilité de cette espèce, c'est pour cette raison que le verdissement est souvent qualifié d'aléatoire.

### **1-3-3 Cycle saisonnier d'apparition de l'algue dans les claires ostréicoles**

Comme beaucoup d'auteurs l'ont déjà souligné, la distribution géographique de cette espèce algale est mondiale. De plus, il faut noter que l'on trouve *Haslea ostrearia* dans la plupart des grandes zones conchylicoles : par exemple Limfjord (Danemark); Baie de Chesapeake (Etats-Unis), et Baies de Bourgneuf et de Marennes-Oléron (en France). Mais ce n'est que dans ces deux dernières zones que le phénomène de verdissement se produit avec une telle



ampleur, du fait de la présence de ces milieux biens particuliers que sont les claires. Par contre, qu'en est-il de l'abondance de cette espèce aux rythmes des saisons ? Robert (1983), par un suivi sur 144 claires de la Baie de Bourgneuf, a pu montrer que deux saisons semblent propices à l'apparition du verdissement : Il s'agit de la fin de l'hiver et du printemps (Février-Début Juin) et de l'automne (Septembre à Novembre). Moreau (1970) pour les claires de Marennes-Oléron, par une étude a plus petite échelle, signale les mêmes périodes d'apparition. Robert (1983) conclut que le verdissement est un phénomène d'ensemble pour toutes les aires d'affinage des huîtres en France. Son maximum d'intensité se situe entre février et mars et de septembre à novembre.

#### **1-3-4 Comportement tychopélagique d'*Haslea ostrearia***

En ce qui concerne son écologie, cette espèce est dite tychopélagique. Ranson (1943) insistait déjà sur le fait que cette espèce présentait un stade planctonique peu pigmenté et un stade benthique pigmenté, d'où une description erronée, faite par ces prédécesseurs, qui décrivaient là deux espèces distinctes (*Navicula fusiformis* (planctonique) et *Navicula ostrearia* (benthique)). Robert (1973), par des observations *in situ*, précise qu'elle présente, au cours de son cycle de développement dans les claires ostréicoles, trois phases bien distinctes, caractérisées aussi par une évolution pigmentaire bien typique :

- Stade planctonique (état non pigmenté) : Les chloroplastes sont bien développés, aux contours réguliers et de coloration brun-jaune. Ils occupent pratiquement toute la longueur de la cellule. Le noyau est bien visible. La pigmentation par la marennine des zones apicales est presque inexistante.
- Stade planctonique et benthique (état pigmenté) : Les chloroplastes se raccourcissent, leurs contours deviennent dentelés. Les zones apicales prennent une coloration bleu-vert suite à l'accumulation de la marennine synthétisée par la cellule. Le noyau reste visible et quelques globules lipidiques apparaissent dans le cytoplasme.
- Stade benthique (état dépigmenté) : Les chloroplastes sont très réduits, aux contours irréguliers. La coloration des zones apicales perd de son intensité suite à la diffusion de la marennine dans le milieu extérieur.

Cette étude de l'état de la pigmentation des cellules (Robert 1973,1975) s'est accompagnée de la description des différentes étapes écologiques observées lors du verdissement des

claires. Nous rappellerons ici le cycle décrit par Robert (1983) (Fig. 5). Quatre phases du verdissement d'une claire sont mises en évidence à partir du moment où la claire ne boit plus (début de stabulation de l'eau).

- La population de navicules provenant des eaux littorales est tout d'abord planctonique ; il y a une multiplication intense des cellules qui sont à l'état non pigmenté (Phase planctonique). Cette phase de multiplication peut durer un à plusieurs mois en fonction du rythme de renouvellement de l'eau dans les claires. Les cellules continuent à se multiplier passant de la phase planctonique à la phase benthique (c'est la phase transitoire). Elles commencent à se pigmenter et à excréter de la marennine en même temps qu'elles colonisent le compartiment benthique, surtout autour des huîtres déposées sur le fond.
- La phase benthique débute, caractérisée par la formation sur le sédiment d'un bio-film très riche en *Haslea ostrearia*. Les cellules continuent à se diviser mais surtout deviennent de plus en plus pigmentées. La libération de marennine dans l'eau de la claire est maximale. La durée de cette phase est variable en fonction de l'intensité des divisions cellulaires réalisées lors des deux précédentes phases.
- Sur le fond sédimentaire, apparaissent de plus en plus de cellules dépigmentées, riches en globules lipidiques, puis ces cellules remontent en surface : c'est la phase épipelagique. Sous l'effet éventuel des vents dominants, il y a accumulation, dans le coin de la claire le plus venté, de ces cellules sénescents. C'est la crème flottante ou bavis, riche en nombreuses espèces benthiques et planctoniques. Certaines cellules d'*Haslea ostrearia* non pigmentées se divisent encore activement, ce qui peut entretenir le cycle, si les conditions écologiques sont toujours favorables.
- Robert (1983) a quantifié le nombre de cellules présentes à chaque phase du cycle conduisant au verdissement. En période automnale, les cellules arrivant par les eaux côtières se retrouvent dans le compartiment planctonique à la concentration de  $0.5 \text{ à } 2.10^3 \text{ cellules.l}^{-1}$ . La biomasse maximale atteinte après multiplication intensive durant cette phase planctonique est de  $2.10^5 \text{ cell.l}^{-1}$ , tandis que les concentrations benthiques maximales pouvant être observées lors du verdissement, sont de l'ordre de  $2.10^6 \text{ cell.l}^{-1}$ . Les biomasses sont donc multipliées par 100 voir 400 lors de la phase planctonique, puis par 10 à 20 lors de la phase benthique.

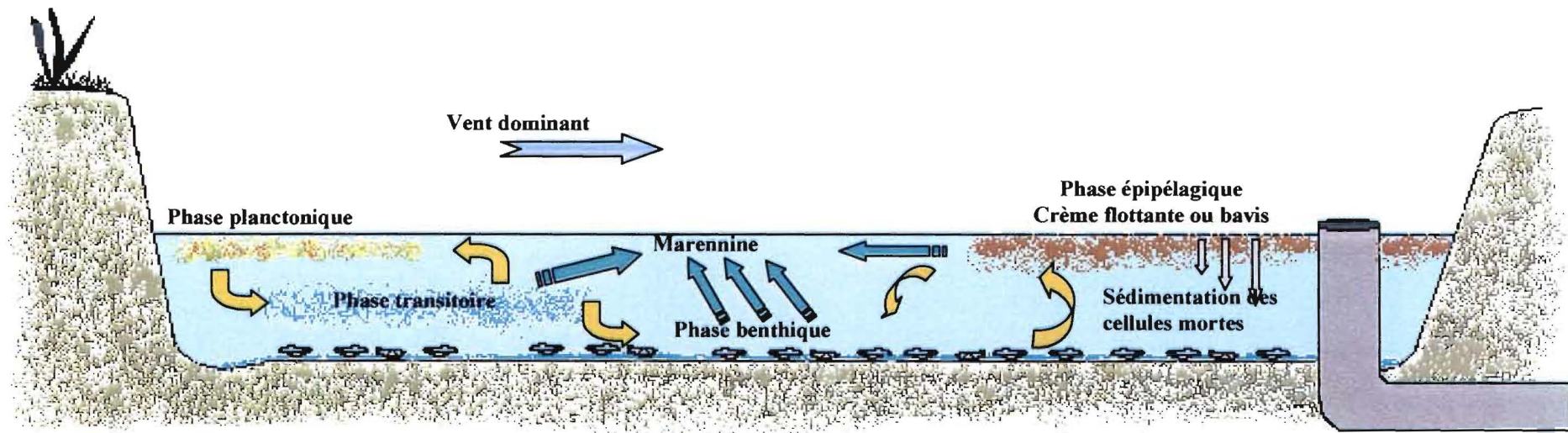


Figure 5 : Modélisation des différentes phases du verdissement au sein d'une claire ostréicole conduisant à la libération de la marennine par les cellules. Les flèches oranges symbolisent le passage des cellules d'*Haslea ostrearia* aux différentes étapes décrites précédemment. Les flèches vertes symbolisent à chaque étape la libération de marennine soluble dans l'eau de mer. (D'après Robert, 1983).

## 2 LA ZONE D'ETUDE

Toutes les expérimentations réalisées au cours de ce travail ont eu pour cadre la région de Marennes-Oléron et plus précisément le champ de claires expérimentales de la station IFREMER de La Tremblade (Commune de Ronce-les-Bains) sur la rive gauche de la Seudre près de son embouchure (Fig. 6).

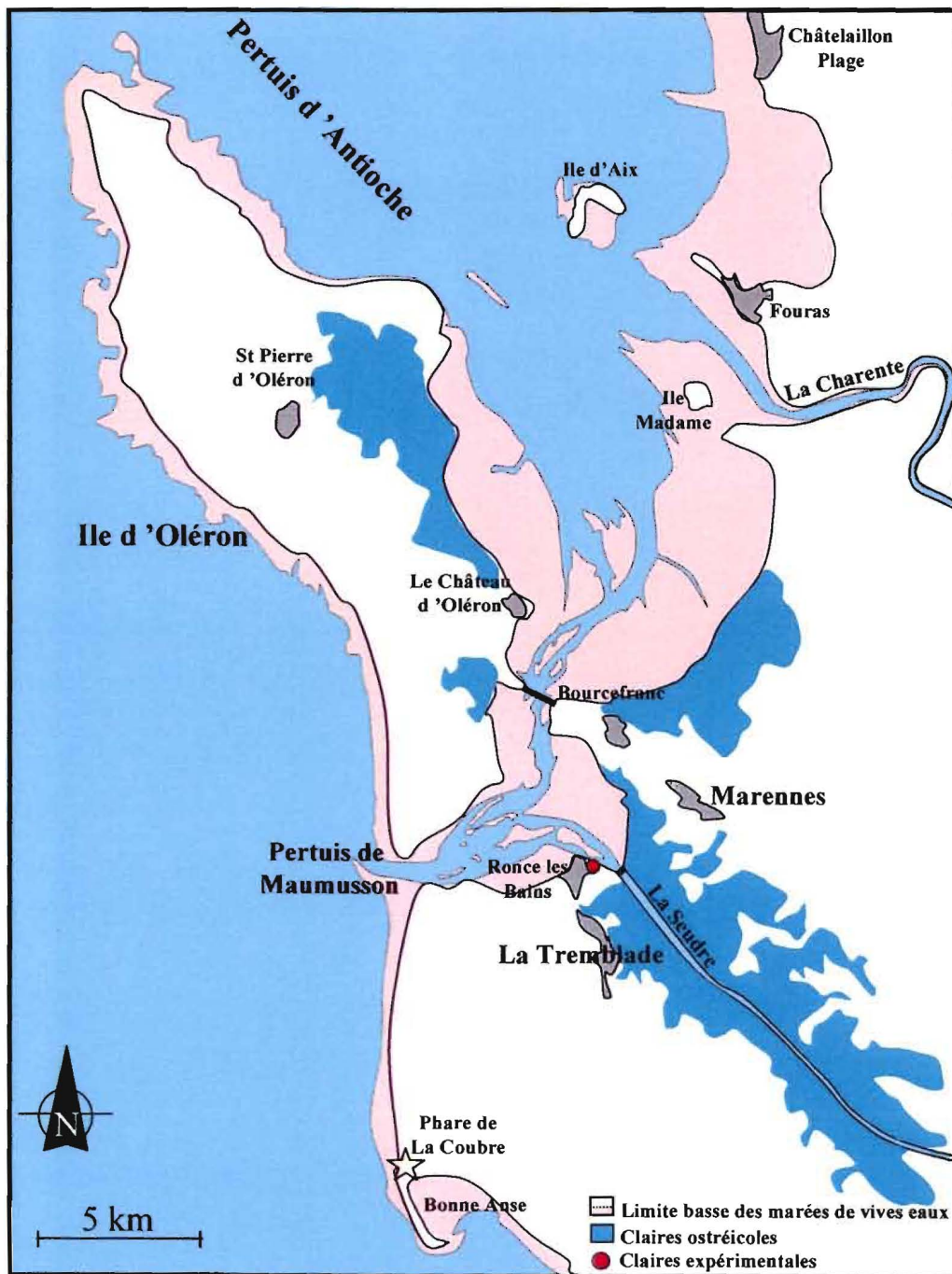


Figure 6 : Carte de la région de Marennes-Oléron. Localisation des claires expérimentales.

## 2-1 Le Bassin de Marennes-Oléron

Le bassin de Marennes-Oléron peut être décrit comme un immense estuaire limité à l'Ouest par l'Ile d'Oléron, et ouvert sur l'Océan Atlantique par le Pertuis d'Antioche au Nord et le Pertuis de Maumusson au Sud. D'une superficie moyenne de 150 km<sup>2</sup>, ce vaste écosystème côtier semi-fermé est de faible profondeur (3.19 m en moyenne). En effet, près des deux tiers soit 60% de sa superficie, sont constitués d'estrans vaso-sableux découvrant aux coefficients les plus forts de vives eaux (Fig. 6) ; le marnage y est donc fort (5 m) en moyenne. La circulation résiduelle des masses d'eau (Fig. 7) est orientée Nord-Sud (Dechambenoy *et al.* 1977) avec un temps de résidence compris entre 5 et 9 jours (Héral *et al.*, 1984).

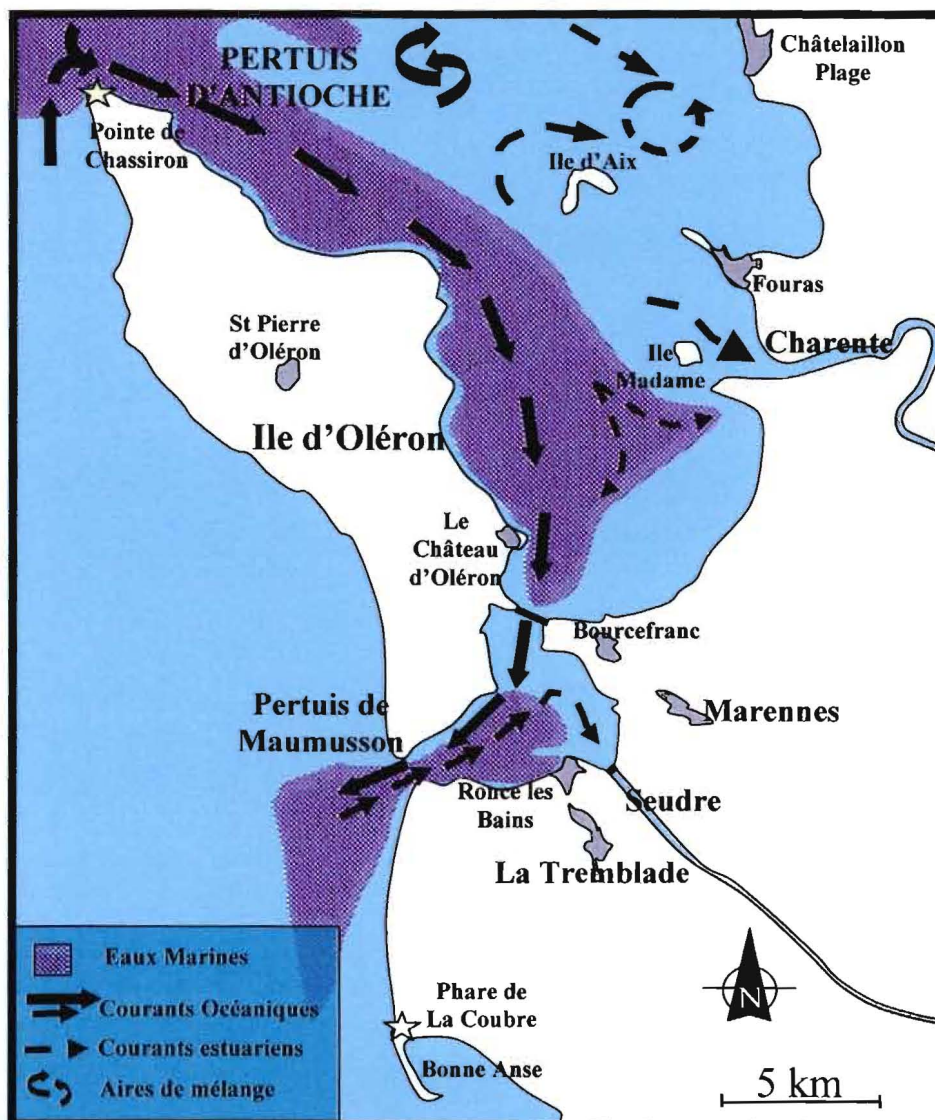


Figure 7 : Cartographie schématique des courants de marée en fin de flot. D'après Dechambenoy *et al.* (1977).

L'étude des salinités permet de dire que le bassin de Marennes-Oléron est plutôt une baie côtière sous influence estuarienne : au centre du bassin les variations saisonnières de salinités sont comprises entre 24 et 33 ‰ (Héral *et al.*, 1984). L'influence estuarienne est due : à la Charente au nord-est (débits compris entre 10 et 400 m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>) ; à moindre échelle à La Seudre au sud-est (débit moyen 0 à 40 m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>) ; au recyclage des eaux de la Gironde par le Pertuis d'Antioche (Héral *et al.*, 1984). L'influence océanique très prononcée au niveau du Pertuis d'Antioche est beaucoup plus faible au niveau du Pertuis de Maumusson (Point Sud de L'île d'Oléron) (Klingebiel *et al.*, 1971).

Le marnage important (environ 5 m) délimite une vaste zone intertidale exploitée pour la conchyliculture (Parcs à huîtres, Bouchots à moules). Les données du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche montrent qu'en 1996, ce sont 4500 hectares qui sont concédés aux activités conchylicoles, faisant de ce bassin le premier centre ostréicole européen. Le stock d'huîtres creuses sur le bassin est estimé à 110 000 tonnes, représentant une production annuelle comprise entre 25 000 et 40 000 tonnes soit près de 20% de la production nationale, mais près de 45 % de la production commercialisée.

## 2-2 Le marais expérimental

Le marais expérimental est en bordure de mer, séparé de l'estran par seulement une digue ; il est du type "marais endigué" (Fig. 8) et compte cinq claires d'une superficie moyenne de 450 m<sup>2</sup> pour une hauteur d'eau variable de 30 à 60 centimètres. Elles sont alimentées par des bondons PVC communiquant avec le ruisson principal. Une vrainne permet de gérer les rythmes d'alimentation du marais. La boyance du marais, est réalisée pour un coefficient de marée supérieur à 80, le renouvellement de l'eau dans les claires s'effectue donc en moyenne tous les 15 jours.

Par ailleurs, cinq bassins sont recouverts d'un "liner" plastique garantissant leur étanchéité, éliminant tout contact entre l'eau et le sédiment : ces bassins servent aux cultures en grand volume de phytoplancton. Nous les avons utilisés pour des cultures expérimentales d'*Haslea* de 10 m<sup>3</sup>. Une serre a été installée pour abriter des bacs de 500 litres servant de pré-cultures pour les liners. Une réserve d'eau permet d'alimenter ces bassins de cultures, au moyen de deux pompes d'un débit de 30 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup> chacune. Un trop-plein permet d'éviter ou de limiter la submersion de tout le marais en cas de marées barométriques ou lors des plus forts

coefficients de vives-eaux, cependant on peut aussi brider la varaigne afin de limiter ce problème.

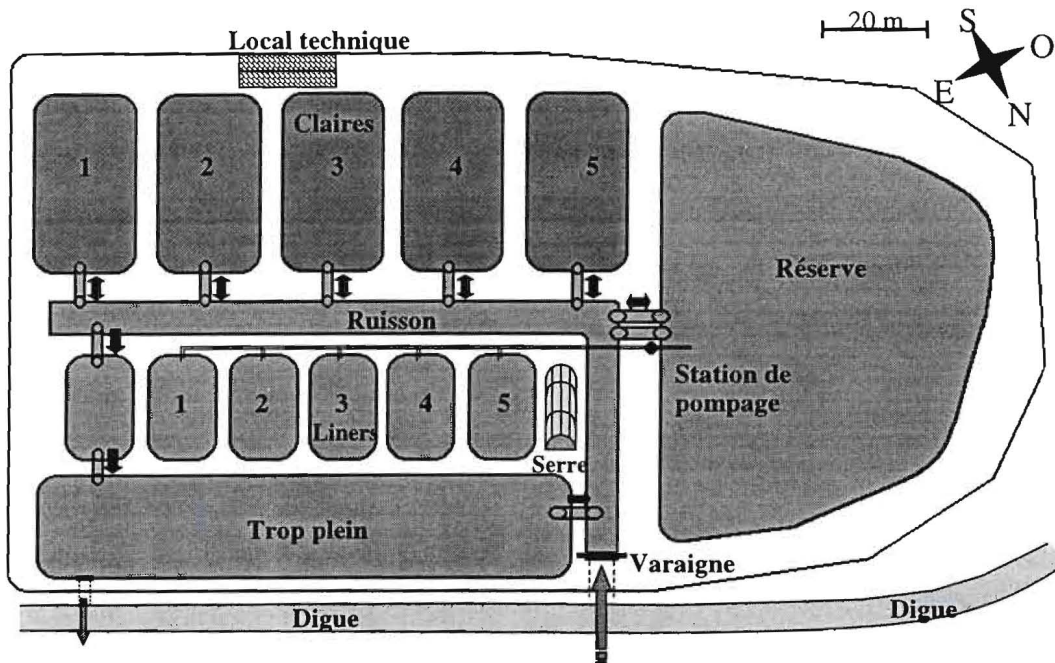


Figure 8 : Schéma du Marais expérimental de la Station IFREMER de La Tremblade. Les flèches oranges représentent l'entrée et la sortie de l'eau lors de la boyance. Les flèches rouges représentent la circulation de l'eau au niveau des bonds.

Les claires sont gérées de façon traditionnelle pour l'alimentation en eaux ainsi que pour l'entretien annuel. La période d'assec est réalisée entre le mois de juillet et fin août pour le champ de claire et la réserve.

### 3 CONCLUSIONS

De part leur situation et leur configuration, les claires sont sous l'influence directe des marées. Robert (1983) les rapproche de la frange littorale bien que parfois localisées vers l'intérieur des terres. Leurs caractéristiques physiques et physico-chimiques sont comparables à celles de la zone intertidale ; cependant les variations y sont plus importantes pour certains paramètres. En effet, le rapport surface / volume joue un rôle important dans l'amplitude de ces variations :

- Par exemple, les faibles hauteurs d'eau ont une influence directe sur la température. Toutefois, il n'y a pas de stratification thermique comme on peut parfois l'observer dans les

eaux littorales ; les écarts de températures sont plus prononcés, qu'ils soient nocturnes, diurnes ou saisonniers.

- Les fluctuations de salinité, sont sous la dépendance des régimes d'alimentation en eau par les marées. Il s'y ajoute l'effet des pluies ou des insolation prolongées. Malgré le caractère maritime tempéré du climat du bassin de Marennes-Oléron, les facteurs climatiques ont donc une influence non négligeable sur les caractéristiques physiques des eaux des claires.

Le caractère semi-fermé de ces bassins alimentés périodiquement, n'influe que très peu sur la qualité de l'eau, puisque celle-ci reste très proche de celle de l'eau de mer. Par exemple, le pH oscille entre des valeurs comprises entre 7.5 et 8.6, qui correspondent à celles des diverses mers du globe (Robert, 1983).

Les claires sont situées dans des zones de fortes turbidités. Comme nous l'avons noté, elles sont creusées dans le bri, sédiment argilo-sableux relativement étanche. Les rythmes d'alimentations confèrent aux claires le caractère de pièges à sédiment, mais aussi d'accumulateur de matière organique par décantation des masses d'eau utilisées lors de leur exploitation. Le bri se retrouve recouvert en moyenne par 15 cm de sédiments très fins (95 à 99% de particules inférieures à 60  $\mu\text{m}$ ) (Goulean et Feuillet-Girard, 1998). L'influence des bactéries lors de la minéralisation, conduit à un abaissement des teneurs en oxygène dissous à l'interface eau-sédiment, ce qui peut conduire, en période estivale à cause des températures élevées et des fortes biomasses planctoniques et benthiques, à une désoxygénation des claires. C'est pour éviter de telles conditions, que les professionnels pratiquent des assecs durant la période estivale, en profitant pour procéder au creusement des claires, et à l'élimination des macrophytes et compétiteurs des huîtres. Cette pratique d'entretien améliorerait également les chances d'obtenir un verdissement des bassins.

Toutes ces particularités font des claires un écosystème particulier, où une flore algale composée essentiellement de diatomées phytoplanctoniques océaniques, néritiques, tychopélagiques et benthiques trouvent les conditions propices à leur développement. C'est dans ces conditions de milieu qu'*Haslea ostrearia* peut connaître ses phases de multiplications caractéristiques.



## CHAPITRE II

### VARIATIONS SAISONNIÈRES DES CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES EAUX DE L'ESTUAIRE DE LA SEUDRE

Le suivi de l'évolution saisonnière des paramètres nutritionnels d'une eau donnée, c'est à dire les variations annuelles des concentrations en nutriments dits majeurs (formes de l'azote dissous, du phosphore dissous et des silicates dissous), permet bien souvent de dégager des premières constatations quant à la capacité trophique d'un milieu vis à vis de la production primaire.

Depuis les travaux de Redfield (1934) et Brzezinski (1985), il est admis qu'en milieu océanique et côtier, le phytoplancton, représenté le plus souvent et dans la majorité des cas par le groupe des diatomées, assimile l'azote, les silicates et les phosphates suivant un rapport molaire relativement stable ( $N:Si:P=16:16:1$ ). La simple comparaison de l'évolution saisonnière de ces rapports en nutriments présents dans une eau donnée, permet d'identifier le ou les facteurs nutritionnels susceptibles d'intervenir dans la limitation de la production phytoplantonique.

Dans une zone de production intensive de mollusques (huîtres et moules), comme l'est le bassin de Marennes-Oléron, il est primordial de connaître les facteurs influençant la production primaire, seule source d'alimentation des bivalves cultivés. Depuis les années 70, de nombreuses études se sont intéressées à la capacité trophique des zones conchylicoles (Héral *et al.*, 1983; Bacher, 1989; Raillard, 1991; Ravail-Legrand, 1993; Barillé, 1996). Dans ce chapitre, nous nous intéresserons uniquement à l'estuaire de la Seudre (Partie sud du bassin de Marennes-Oléron), où les claires ostréicoles sont les plus nombreuses et réputées pour leurs capacités à accueillir le phénomène de verdissement.

Une comparaison avec les données existantes sera réalisée, le but étant, par une simple approche descriptive, de préciser le ou les facteurs limitant la production phytoplantonique dans cet estuaire. De plus, nous tenterons de mettre en évidence s'il existe une relation entre les caractéristiques nutritionnelles des eaux de l'estuaire de la Seudre et celles des eaux d'alimentation des claires étudiées.

## 1 PHYSICO-CHIMIE DES EAUX DE L'ESTUAIRE DE LA SEUDRE

### 1-1 Introduction

Depuis de nombreuses années, beaucoup d'études scientifiques ont porté sur les capacités trophiques des milieux marins et côtiers (e.g. Berland *et al.* 1973, Maestrini *et al.* 1997.....) L'estimation de cette capacité trophique, par l'étude des paramètres nutritionnels limitants, a permis de dégager différentes conclusions. En milieu d'eau douce le plus souvent le phosphore est considéré comme étant le premier facteur limitant la production primaire, alors qu'en milieu marin et côtier une grande variabilité s'observe (il s'agit soit de l'azote, soit du phosphore ou encore des silicates). Howarth (1988) explique que cette variabilité est due aux différences de flux de nutriments entrant dans le système mais aussi au fait qu'il existe une grande complexité des processus biogéochimiques. En effet, le recyclage des substances inorganiques dissoutes (azote, phosphore et silicium) ne suivent pas les mêmes processus.

L'azote inorganique dissous est présent dans l'eau de mer sous différentes formes. Les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ), qui sont la forme oxydée stable de l'azote, ont pour origine les apports terrigènes via les rivières, les fleuves. Leur concentration s'est accrue depuis plusieurs décennies par le fait de leur utilisation massive comme engrais en agriculture. Ces nitrates sont la source azotée majeure utilisée par le phytoplancton et les macrophytes en général. Ces organismes les transforment en formes azotées organiques, qui seront, lors de la décomposition de ces végétaux par les bactéries, régénérées en nitrates. La seconde forme d'azote minéral utilisée par le phytoplancton et préférentiellement par les diatomées avant les nitrates, est l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Cette forme principale de l'azote ammoniacal provient des apports des rivières et des fleuves mais surtout dans le cas des zones côtières de l'excrétion animale (Crustacés, Mollusques, Poissons...) ainsi que de la décomposition des substances organiques azotées par les bactéries. Les bactéries nitrosantes et nitrifiantes utilisent aussi cette forme azotée et l'oxydent en nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ), c'est la minéralisation qui conduira jusqu'au stade nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ).

Le phosphore inorganique dissous se trouve sous forme ionique dans l'eau de mer, à l'état d'ions orthophosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) et ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ). Ils proviennent des apports des rivières et des fleuves, en raison de leur utilisation en agriculture mais aussi parce qu'ils entrent dans la composition des lessives et détergents. Ils sont utilisés par le phytoplancton, ce qui leur donne un rôle essentiel en milieu aquatique (Kuenzler et Perras, 1965). La biodisponibilité

des phosphates est liée à la turbidité des eaux, en effet les phosphates sont liés aux particules en suspension (MES) par des phénomènes de désorption et d'adsorption (Delmas et Treguer, 1983).

Les silicates sont présents dans l'eau de mer sous forme d'acide orthosilicique ( $\text{SiO}_3^-$ ), forme oxydée de la silice minérale ( $\text{SiO}_2$ ) qui est l'élément le plus abondant de la lithosphère après l'oxygène, alors que, paradoxalement, les silicates ( $\text{SiO}_3^-$ ) sont un constituant mineur de l'hydrosphère. L'origine des silicates provient uniquement du lessivage des minéraux silicatés par les eaux de pluies, contrairement aux nitrates et phosphates qui en grande partie proviennent des activités humaines. Cet élément est essentiel pour les diatomées (Guillard et Kilham, 1977) et quelques groupes de Chrysophytes (Hecky et Kilham, 1988). Les diatomées utilisent les silicates pour élaborer leur squelette (frustule) mais les utilisent également pour leur métabolisme cellulaire (Sullivan et Volcani, 1981). Les silicates d'origine biogénique (frustule des diatomées) sont recyclés par simple dissolution du squelette siliceux, mais la vitesse de ce processus est thermo-dépendante (Kamatani, 1982). Cependant ce phénomène, en régions tempérées, est beaucoup plus lent que le recyclage de l'azote (Bishop *et al.*, 1986).

## 1-2 Matériels et méthodes

### 1-2-1 Zone d'étude

La Seudre est le deuxième fleuve côtier du Bassin de Marennes-Oléron par son importance après la Charente. Son embouchure est située entre les communes de Marennes et La Tremblade, dans la partie sud du Bassin (Fig. 6). Moreau (1970) décrit ce fleuve comme ayant un comportement hydrologique similaire à un véritable bras de mer. Le champ de claires étudiées est situé sur la rive droite de la Seudre au niveau de son embouchure (Fig. 9). Or le réseau de surveillance de la qualité de l'eau mis en place par IFREMER depuis les années 70, possède une station d'échantillonnage des paramètres physico-chimiques (Station 2) située devant la prise d'eau alimentant le marais expérimental. Les données de cette station d'échantillonnage proviennent de la base RAZLEC de l'IFREMER La Tremblade. Nous les avons utilisées dans le but de mettre en évidence une relation entre les concentrations en sels nutritifs observées dans l'estuaire de la Seudre avec celles observées ponctuellement lors des renouvellements d'eau dans les claires du marais expérimental aux marées de vives-eaux.

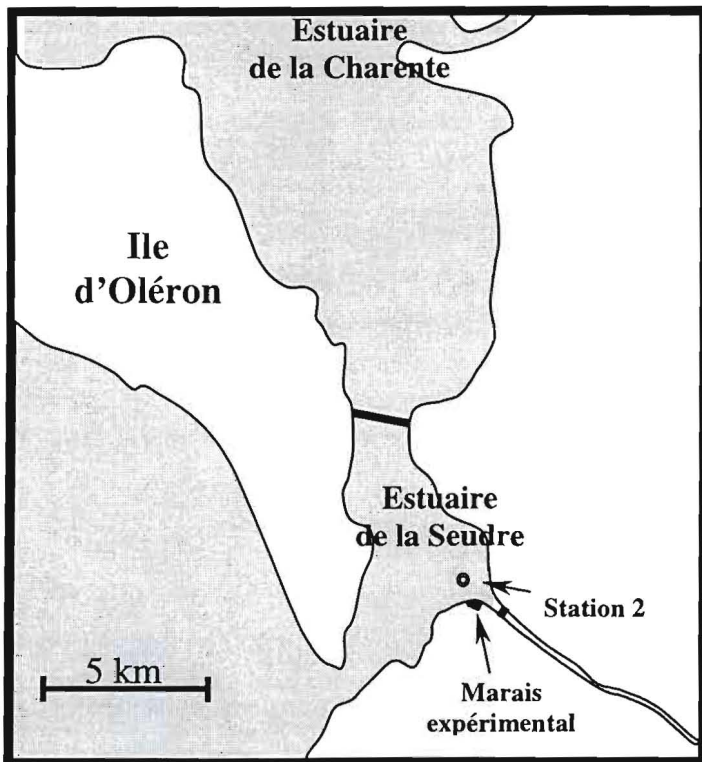


Figure 9 : Localisation de la station 2 d'échantillonnage du réseau IFREMER de suivi des paramètres hydrobio-logiques.

Toutes les méthodes de dosages des sels nutritifs sont des méthodes colorimétriques qui ont nécessitées l'emploi d'un spectrophotomètre UVIKON .

Les sels nutritifs, azote nitrique ou nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ), azote nitreux ou nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ), phosphore ( $\text{PO}_4^{3-}$  et  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ), et les silicates ( $\text{SiO}_3^-$ ) sont dosés à l'autoanalyseur SKALAR. Chaque prélèvement est filtré sur membrane Millipore GF/F, le filtrat est ensuite congelé à  $-18^\circ\text{C}$  dans des piluliers de 100 ml stériles en polypropylène avant son analyse. Les nitrates sont dosés suivant la méthode de Morris et Riley (1963) modifiée par Strickland et Parsons (1972). Les nitrites sont dosés suivant la méthode de Shinn (1941) modifiée par Bendschneider et Robinson (1952). Le phosphore (ions orthophosphates) est dosé suivant la méthode de Murphy et Riley (1962) modifiée par Strickland et Parsons (1972). Les silicates (acide orthosilicique) sont dosés suivant la méthode de Mullin et Riley (1955) modifiée par Strickland et Parsons (1972).

Pour le dosage de l'azote ammoniacal dissous (ion ammonium  $\text{NH}_4^+$ ), un dosage manuel est réalisé suivant la méthode de Solorzano (1969) et Koroleff (1969) modifiée par Grasshoff et Johansen (1972). L'échantillon est filtré sur membrane GF/F et le filtrat fixé directement avec les réactifs pour éviter toute contamination par l'ammoniaque de l'air. Les échantillons sont stockés en piluliers de 100 ml en polypropylène et ensuite placés à l'obscurité à température ambiante, avant leur passage au spectrophotomètre.

### 1-2-2 Prélèvements dans l'estuaire de la Seudre

Les prélèvements ont été réalisés à la station 2 en surface et en profondeur par la station IFREMER de La Tremblade (Fig. 9). Nous n'avons exploité ici que les données appartenant à la période d'expérimentations dans les claires, c'est à dire entre le 23/9/94 et le 3/6/98. Le pas d'échantillonnage est non tributaire des coefficients de marées, il s'agit d'un échantillonnage mensuel mais aléatoire. Les échantillons prélevés durant cette période ont été dosés au Laboratoire de Biologie Marine de l'Université de Nantes. Lors de chaque prélèvement, la salinité est relevée en surface et en profondeur au moyen d'une sonde électronique.

### 1-2-3 Prélèvements dans la claire témoin du Marais expérimental

Un suivi des sels nutritifs dans les claires ostréicoles a été réalisé lors des campagnes de prélèvements, lors de l'étude de la fertilité potentielle des eaux des claires. Ne sont présentées dans cette partie que les concentrations en sels nutritifs de la claire n° 5 (Fig. 8), considérée comme claire "témoin" durant les 4 années d'expérimentation ; il n'y a jamais eu d'huîtres d'immergées.

De plus les dates retenues dans cette partie, correspondent uniquement aux périodes de renouvellement de l'eau dans les claires lors des "malines". L'analyse des sels nutritifs s'est réalisée avec la même méthodologie que précédemment, à ceci près que la phase de congélation des échantillons a été supprimée du fait que ces derniers étaient analysés dès le retour au laboratoire. Durant leur transport, ils étaient placés dans des glacières isothermes avec des blocs de glace.

Les dates de prélèvements des échantillons de la claire 5 correspondent, comme nous l'avons vu précédemment, aux interventions sur le champ de claires dans le cadre du suivi de la fertilité potentielle de l'eau pour *Haslea ostrearia*. Il ne s'agit pas d'un suivi annuel, puisque l'étude de la fertilité potentielle ainsi que celle des paramètres limitants de la production d'*H. ostrearia* n'a été réalisée que durant les périodes d'abondance de cette espèce dans les claires, c'est à dire automne-début hiver et début printemps-fin printemps (Tableau 1).

Tableau 1 : Dates et coefficients de marées lors des prélèvements à la station 2 du Bassin de Marennes-Oléron et lors des campagnes d'expérimentations sur le champ de claires expérimentales (Les prélèvements dans les claires ont lieu lors de l'alimentation en eau).

Station 2				Claire n°5 (Marais expérimental)	
Date	Coefficient de Marée	Date	Coefficient de Marée	Date	Coefficient de Marée
23/09/94	82	19/08/96	77	02/11/94	98
07/11/94	94	02/09/96	90	01/12/94	91
08/12/94	72	09/09/96	51	18/01/95	88
13/12/94	50	07/10/96	37	01/03/95	101
10/01/95	39	28/10/96	100	18/04/95	105
13/02/95	62	07/11/96	52	23/01/96	109
13/03/95	45	14/11/96	93	21/02/96	112
21/03/95	93	04/12/96	38	19/03/96	108
04/04/95	76	12/12/96	100	17/04/96	100
10/04/95	38	21/01/97	66	28/10/96	100
09/05/95	40	27/01/97	80	14/11/96	93
08/06/95	50	13/02/97	78	28/11/96	81
16/06/95	99	20/03/97	54	12/12/96	100
18/07/95	70	26/03/97	90	11/04/97	92
24/07/95	49	09/04/97	112	05/06/97	92
10/08/95	95	17/04/97	39	02/10/97	87
21/08/95	35	14/05/97	42	21/10/97	48
13/09/95	84	26/05/97	84	17/11/97	96
12/10/95	82	17/06/97	54	04/12/97	80
18/10/95	31	26/06/97	80	19/01/98	57
16/11/95	37	15/07/97	42	30/03/98	118
27/11/95	84	24/07/97	98		
17/01/96	59	12/08/97	42		
25/01/96	89	21/08/97	112		
16/02/96	67	11/09/97	40		
21/03/96	108	17/09/97	112		
29/04/96	49	20/10/97	88		
28/05/96	47	27/10/97	53		
20/06/96	71	17/11/97	96		
18/07/96	79	24/11/97	39		
24/07/96	49	08/12/97	57		
07/08/96	47	16/12/97	92		

### 1-3 Evolution saisonnière de la salinité et des éléments nutritifs dans l'estuaire de la Seudre

#### 1-3-1 Salinité (Fig. 10)

Les variations de salinité proviennent des apports d'eau douce par la Seudre, mais aussi des précipitations directes sur le Bassin. L'ampleur des différences saisonnières observées dépend de l'importance des précipitations sur le bassin versant très vaste, du fait de la multitude de chenaux et de ruisseaux principaux présents dans tout le marais attenant aux rives de la Seudre. On remarque une amplitude de variation importante entre les différentes salinités observées. La valeur minimale correspondant à une salinité de surface de 20.4 en février 95 alors que la valeur maximale s'observe en surface et en profondeur avec 35 et 35.1 respectivement en août 95.

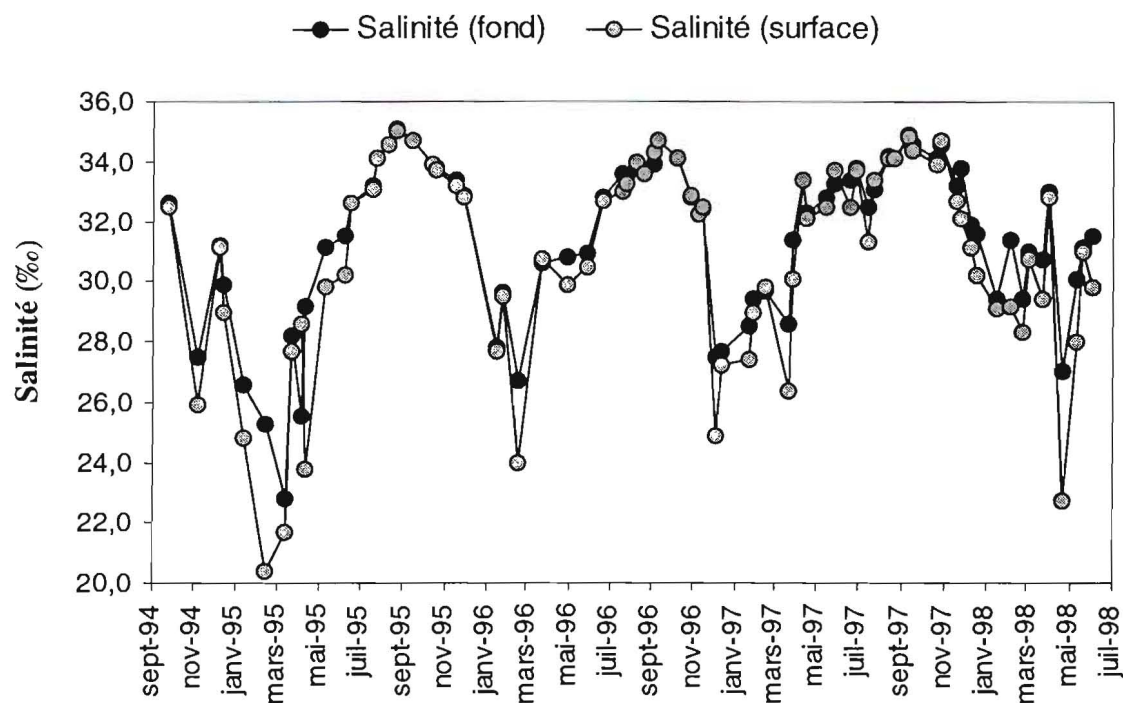


Figure 10 : Evolution de la salinité en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).

Les valeurs de salinité les plus fortes s'observent du début de l'été jusqu'au début de l'automne avec des maxima en août. Les périodes automnale, hivernale et printanière présentent une variabilité plus importante due aux précipitations. Les différences entre

surface et fond ne sont pas très marquées. On ne peut pas dire qu'il y ait une stratification très nette de la colonne d'eau (Cf Tab. 11 : forte corrélation significative  $R= 0.97$ ).

Cependant, ces différences semblent plus marquées en période automnale et hivernale (Tab. 2), où les valeurs de salinité les plus faibles s'observent en surface. La très légère stratification, observée en automne et en hiver, due aux apports d'eau douce provenant des précipitations, tend à disparaître en été au moment de l'étiage des fleuves (Cloern, 1984).

Tableau 2 : Variations saisonnières de la salinité en surface et en profondeur à la station 2.  
Valeur Minimale et Maximale et valeur moyenne  $\pm$  intervalle de confiance 95 %

	Surface		Fond	
	Min - Max	Moyenne	Min - Max	Moyenne
Automne	24.9 – 34.7	31.5 $\pm$ 1.3	27.5 – 34.6	32.1 $\pm$ 1.0
Hiver	20.4 – 30.7	27.0 $\pm$ 2.0	22.8 – 31.4	28.3 $\pm$ 1.5
Printemps	22.7 – 33.7	30.0 $\pm$ 1.2	25.5 – 33.4	30.9 $\pm$ 0.9
Eté	31.3 – 35.0	33.9 $\pm$ 0.4	32.5 – 35.1	34.0 $\pm$ 0.3

### 1-3-2 Azote dissous

#### 1-3-2-1 Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) (Fig. 11)

Il est difficile de mettre en évidence un cycle saisonnier d'évolution des concentrations en ammonium dissous. Cependant, il peut être noté que les concentrations varient entre 1 et 12  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  au cours de la période de suivi. Les valeurs les plus fortes s'observent généralement en été et au début de l'automne (Tab. 3). Les valeurs les plus faibles s'observent en hiver et au printemps en surface et en profondeur. Il n'y a pas variabilité entre surface et fond (bonne corrélation  $R= 0.85$  (Tab. 11)), mais les concentrations moyennes en surface sont toujours légèrement plus élevées qu'en profondeur. Feuillet et Goulet (1977) ont montré qu'il y avait un phénomène important d'adsorption des ions ammonium sur les particules en suspensions et qu'en zone ostréicole son importance était corrélée avec la biodéposition des particules. Les pics de concentrations observés en fin d'été et en automne sont conformes à ceux mentionnés pour le Bassin de Marennes-Oléron par Héral *et al.* (1984), qui signalent par ailleurs, que les variations journalières au cours du cycle de marée, des concentrations en ammonium, peuvent être plus importantes que les variations saisonnières. En effet, au cours



d'un cycle de marée on peut passer, en certains endroits, d'une concentration de 0.5 à 9  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .

Tableau 3 : Concentrations saisonnières moyennes en azote ammoniacal dissous en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne  $\pm$  intervalle de confiance 95 %).

Saison	NH <sub>4</sub> (fond)	NH <sub>4</sub> (surface)
Automne	3.8 $\pm$ 1.1	4.2 $\pm$ 1.1
Hiver	2.4 $\pm$ 0.7	3.0 $\pm$ 0.9
Printemps	2.9 $\pm$ 0.7	3.9 $\pm$ 1.2
Été	5.4 $\pm$ 1.6	5.8 $\pm$ 1.6

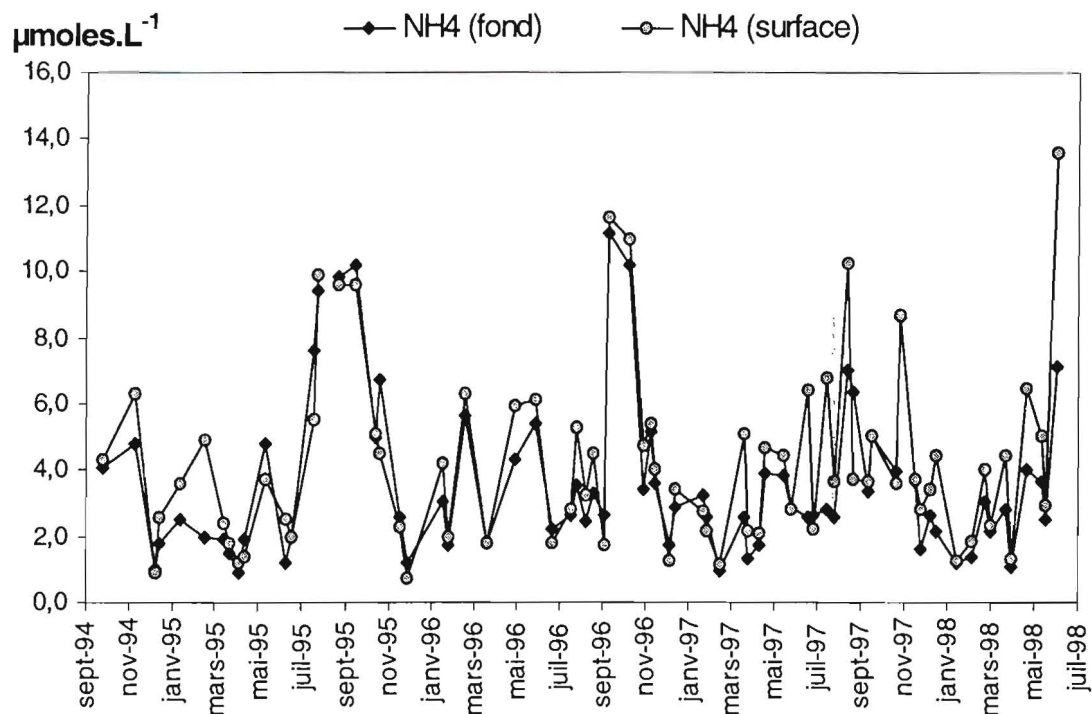


Figure 11 : Evolution de la concentration en azote ammoniacal dissous en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).

### 1-3-2-2 Azote nitreux dissous (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) (Fig. 12)

Pour les nitrites, forme oxydée la moins stable de l'azote inorganique, les concentrations oscillent entre 0.1 et 2  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , ce qui démontre une bonne oxydation de cette forme jusqu'au stade nitrique (au cours de la minéralisation). Les valeurs maximales s'observent toujours entre novembre et décembre avec des pics supérieurs à 1  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  (Tab. 4).

A la fin de l'été et durant l'automne, les concentrations en nitrites augmentent, et deviennent maximales au début de l'hiver, pour ensuite diminuer et se stabiliser au printemps autour de

0.4  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  en moyenne. Il n'y a pas de différences notables entre surface et fond. Ces observations sont conformes à celles de Robert (1984 b) pour les eaux d'alimentation des claires ostréicoles de la Baie de Bourgneuf. Par contre, les concentrations observées sont plus faibles que celles observées par Héral *et al.* (1983) en amont de La Seudre.

Tableau 4 : Concentrations saisonnières moyennes en azote nitreux dissous en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne  $\pm$  intervalle de confiance 95 %).

Saison	NO <sub>2</sub> (fond)	NO <sub>2</sub> (surface)
Automne	1.0 $\pm$ 0.2	0.9 $\pm$ 0.2
Hiver	0.4 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.1
Printemps	0.4 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1
Été	0.2 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1

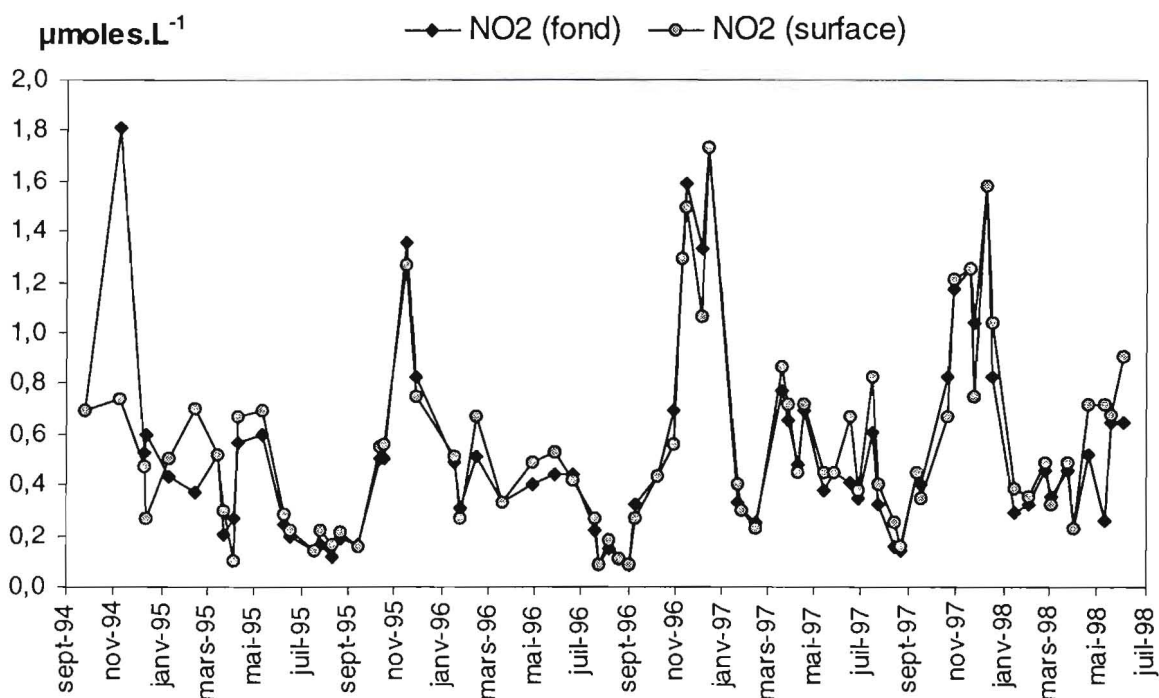


Figure 12 : Evolution de la concentration en azote nitreux en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).

La superposition de l'évolution saisonnière des teneurs en ammonium et des nitrites montrent qu'il existe un léger décalage entre les pics estivaux de concentrations en ammonium et les pics automnaux en nitrites. Ce décalage peut s'expliquer par une phase active de minéralisation de l'ammonium par les bactéries nitrifiantes. Martin *et al.* (1976) expliquent d'ailleurs que les bactéries nitrifiantes ont un taux de croissance lent, et que la nitrification se développe bien lorsque les temps de séjour des masses d'eaux sont de l'ordre

du mois. Or à cette période de l'année (fin d'étiage), les dilutions par les eaux fluviales sont les plus faibles.

### 1-3-2-3 Azote nitrique dissous ( $\text{NO}_3^-$ ) (Fig. 13)

L'azote nitrique (ions nitrates) est la principale source nutritive azotée des algues. Cependant en milieux côtiers et estuariens, cette forme est assimilée secondairement après l'ammonium par les communautés phytoplanctoniques dominées par les diatomées (Maestrini *et al.*, 1982; Maestrini et Robert, 1981).

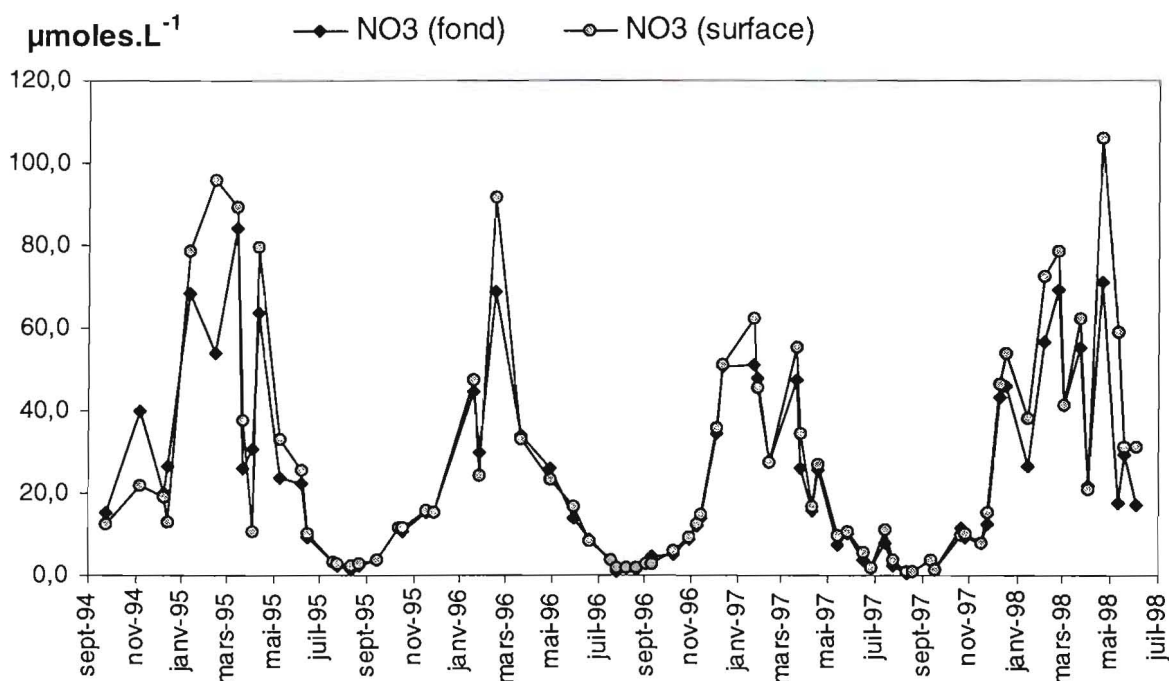


Figure 13 : Evolution de la concentration en azote nitrique en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).

Sur la figure 13, le cycle saisonnier de l'azote nitrique apparaît bien marqué. Les concentrations observées entre septembre 1994 et avril 1998 montrent des valeurs variant entre 0.3 et 106  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  entre l'été et l'hiver respectivement. Le tableau 5 présente les moyennes saisonnières observées dans l'estuaire de la Seudre. On remarque que les concentrations les plus faibles s'observent en été, en surface et en profondeur, sans grande différence entre les deux.

Puis, au cours de l'automne (mois d'octobre) une augmentation sensible de la concentration est constatée. Cette augmentation se poursuit jusqu'en février-mars (apports par les pluies et reminéralisation). C'est d'ailleurs l'hiver que l'on constate des concentrations plus élevées en

surface qu'en profondeur, ce qui doit être mis en relation avec les salinités plus faibles observées en surface (apports d'eau douce). Les premiers blooms phytoplanctoniques printaniers qui se poursuivent en été contribuent à la diminution des concentrations, jusqu'à l'épuisement du stock de nitrates.

Tableau 5 : Concentrations saisonnières moyennes en azote nitrique dissous en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne  $\pm$  intervalle de confiance 95 %).

Saison	NO <sub>3</sub> (fond)	NO <sub>3</sub> (surface)
Automne	20.6 $\pm$ 6.7	19.7 $\pm$ 6.9
Hiver	51.6 $\pm$ 10.8	61.0 $\pm$ 15.1
Printemps	26.4 $\pm$ 7.7	32.5 $\pm$ 10.9
Eté	2.6 $\pm$ 0.9	3.0 $\pm$ 1.1

On utilise très souvent la notion d'azote minéral total, qui est la somme des concentrations en ammonium, en nitrites et en nitrates. Cette dénomination est généralement employée lors de l'étude des ratios de nutriments, en relation avec les ratios d'assimilations décrits par Redfield (1934), même si, comme nous venons de le voir, chaque forme azotée minérale présente des variations saisonnières différentes.

Le cycle saisonnier de l'azote minéral total est conforme à celui décrit par Harvey (1955) pour des eaux marines des régions tempérées. La figure 14 présente des variations saisonnières similaires à celles constatées pour l'azote nitrique. L'azote total minéral dissous est corrélé fortement avec les concentrations en azote nitrique, puisque cette forme est la plus abondante à certaine période de l'année. La figure 15 montre l'évolution saisonnière du pourcentage de nitrates par rapport à l'azote total. On note qu'entre l'automne et le début de l'été la réserve minérale azotée est représentée par 70 à 98 % d'azote nitrique, alors qu'à la fin de l'été cette forme ne représente plus que 20 % en moyenne. A ce moment, c'est la forme ammoniacale de l'azote (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) qui est la plus abondante entre 80 et 93 %. Ces observations sont conformes avec celles de Robert (1984 b) en Baie de Bourgneuf et de Héral *et al.* (1984) dans le Bassin de Marennes-Oléron.

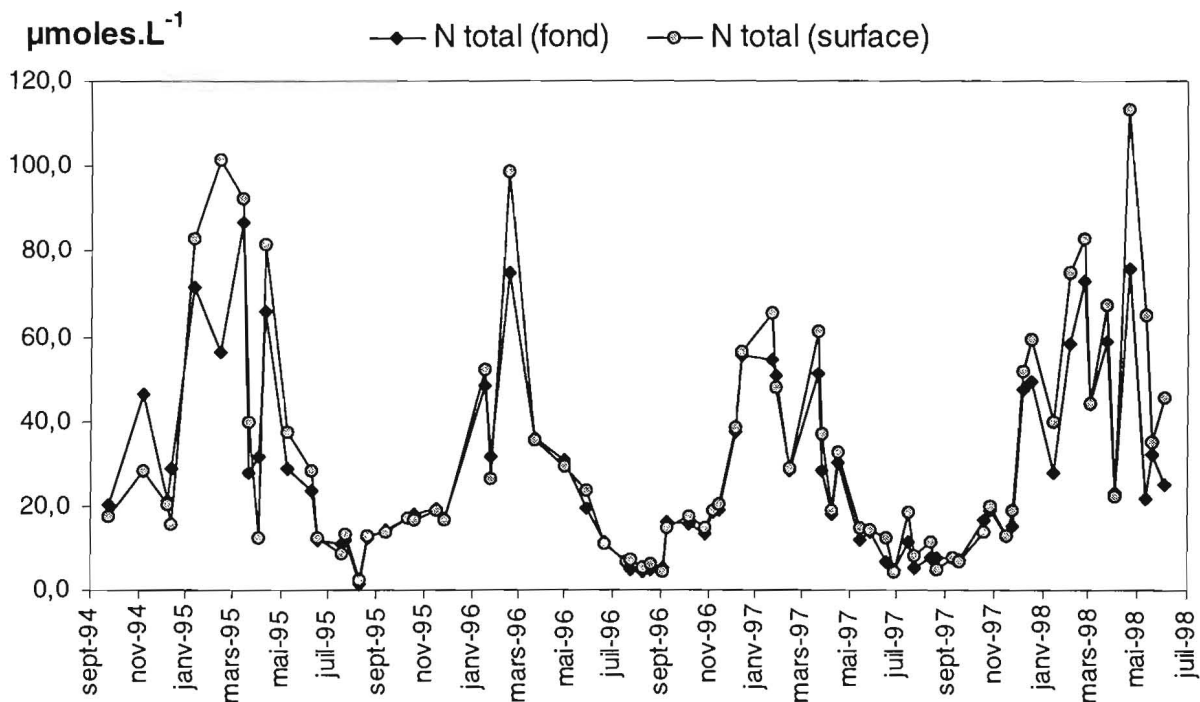


Figure 14 : Evolution de la concentration en azote total en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).

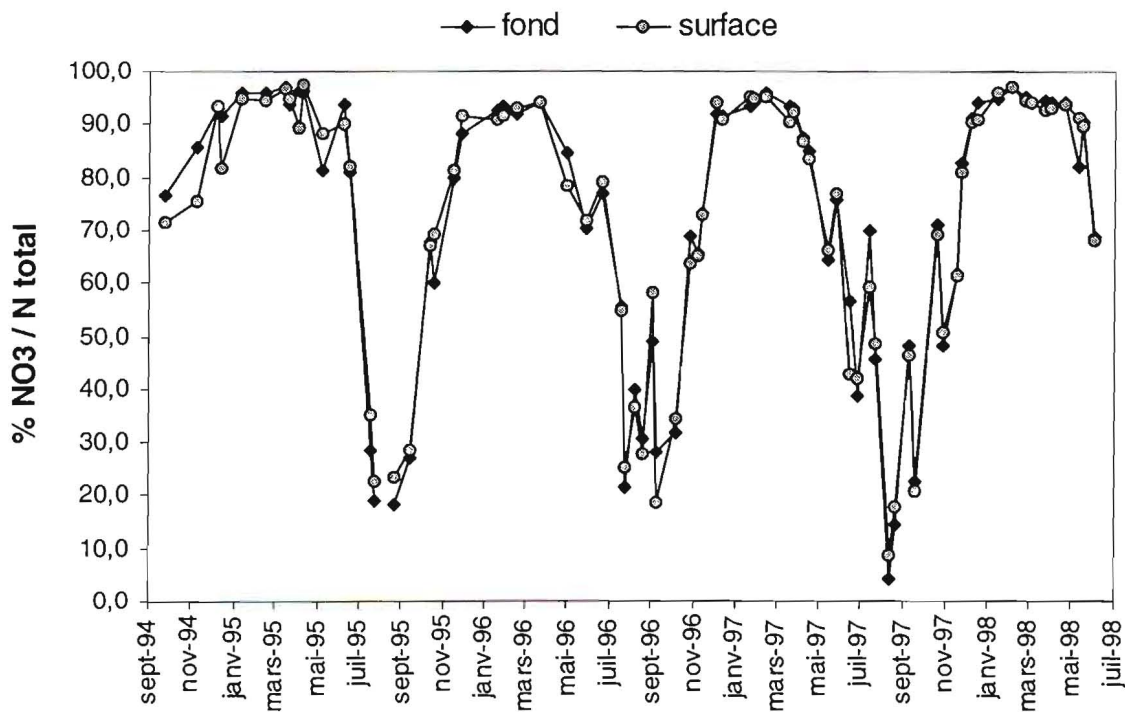


Figure 15 : Evolution du pourcentage de nitrates par rapport à l'azote total en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).

L'augmentation estivale du stock d'ammonium est à mettre en relation entre autre avec la minéralisation de la matière organique (activité bactérienne), mais aussi avec l'excrétion azotée provenant de l'activité alimentaire des mollusques, notamment des huîtres présentes en très fortes densités autour de cette station de prélèvement (Bancs de Ronce et de Perquis). Ces deux phénomènes thermo-dépendants, seraient révélés à cette période de l'année où la part des nitrates consommés par le phytoplancton est la plus faible, et où les températures de l'eau sont les plus élevées. Il est à noter que le phénomène présente une très forte corrélation entre surface et fond, soulignant là encore une bonne homogénéisation de la masse d'eau.

### 1-3-3 Le silicium dissous ( $\text{SiO}_3^-$ ) (Fig. 16)

Les teneurs en silicates présentent un cycle comparable à celui de l'azote nitrique. La matrice de corrélation (Tab. 11) montre une corrélation positive significative entre les concentrations en silicates et en nitrates en surface et en profondeur.

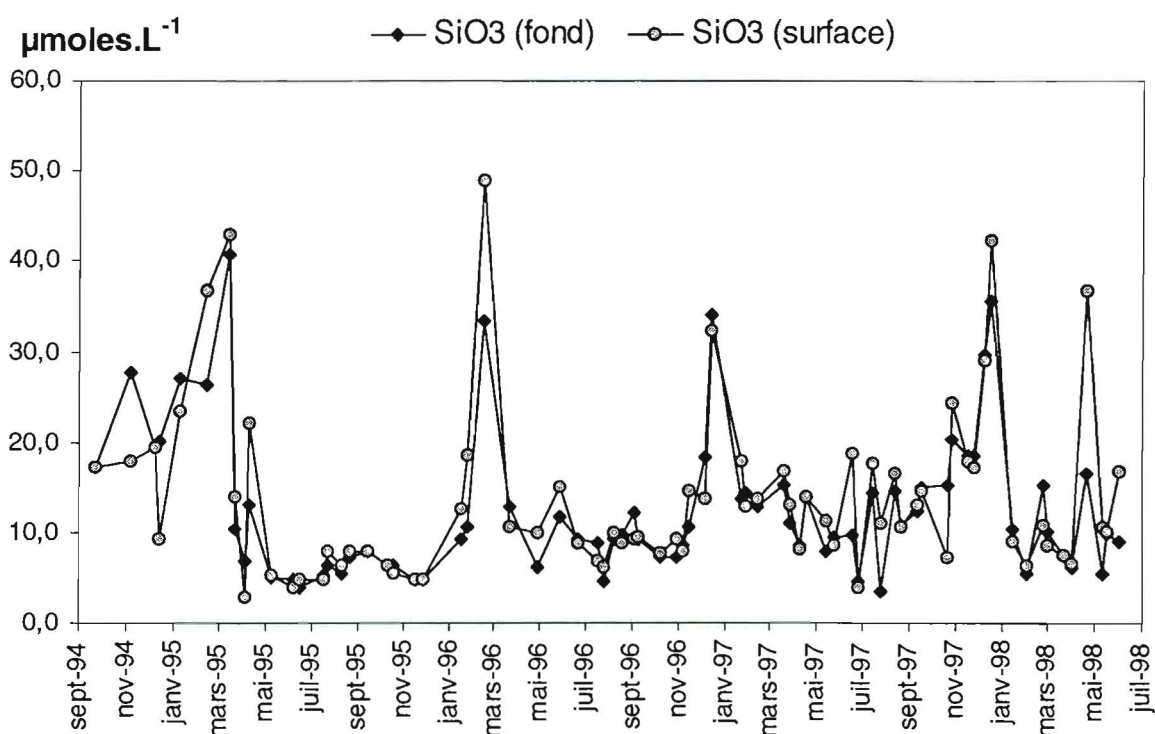


Figure 16 : Evolution de la concentration en silicium dissous en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).

Les teneurs en silicates sont les plus faibles au printemps et en été, mais contrairement aux nitrates il n'y a pas d'épuisement du stock ; en moyenne elles sont comprises entre 7 et 15.2

$\mu\text{mol.L}^{-1}$ . En général, c'est à la fin de l'été que les concentrations augmentent pour atteindre leurs valeurs maximales à la fin de l'hiver entre 30 et 50  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Comme le montre le tableau 6, c'est aussi durant l'automne et l'hiver que les concentrations présentent le plus de variabilité. Les concentrations sont sensiblement identiques entre surface et fond. Cependant au printemps et surtout en hiver, les eaux de surface plus douces présentent des teneurs en silicates plus fortes, soulignant les apports terrigènes dus aux crues. Cette évolution saisonnière est identique à celle déjà observée entre 1977 et 1981 par Héral *et al.* (1984) au centre du bassin de Marennes-Oléron.

Tableau 6 : Concentrations saisonnières moyennes en Silicates dissous en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne  $\pm$  intervalle de confiance 95 %).

Saison	SiO <sub>3</sub> (fond)	SiO <sub>3</sub> (surface)
Automne	16.6 $\pm$ 4.5	15.5 $\pm$ 4.8
Hiver	17.7 $\pm$ 6.5	20.2 $\pm$ 8.4
Printemps	9.4 $\pm$ 1.5	12.0 $\pm$ 3.2
Eté	9.0 $\pm$ 1.8	9.6 $\pm$ 1.9

#### 1-3-4 Le Phosphore dissous (PO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) (Fig. 17)

Les ions orthophosphates présentent un cycle saisonnier, cependant ce dernier est beaucoup moins net que pour les nitrates et les silicates ; en effet les fluctuations saisonnières sont beaucoup moins marquées. Sur la période d'étude, les concentrations ont oscillé entre 0.1 en été et 1.3  $\mu\text{moles.L}^{-1}$  en automne. Ces concentrations moyennes (Tab. 7) sont comparables à celles observées par Héral *et al.* (1984) pour le centre du bassin de Marennes-Oléron, où rarement elles dépassent la valeur de 1  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .

C'est à partir du début de l'automne que le stock de phosphates se reconstitue (pic autour de 1  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ), durant l'hiver ces concentrations se maintiennent. A partir d'avril-mai les concentrations chutent pour atteindre la concentration moyenne de 0.4  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Au cours de l'été celles-ci remontent légèrement (0.6  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ). Dans les eaux de la Charente, Héral *et al.* (1984) relèvent des valeurs pouvant atteindre 25  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  en été où les débits et les dilutions sont les plus faibles ; alors que l'hiver, lors des crues, les apports dépassent rarement 0.1  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  en amont de la Charente. Ces auteurs ont montré que les particules en suspensions ainsi que celles du sédiment jouent un rôle régulateur par adsorption des ions orthophosphates.

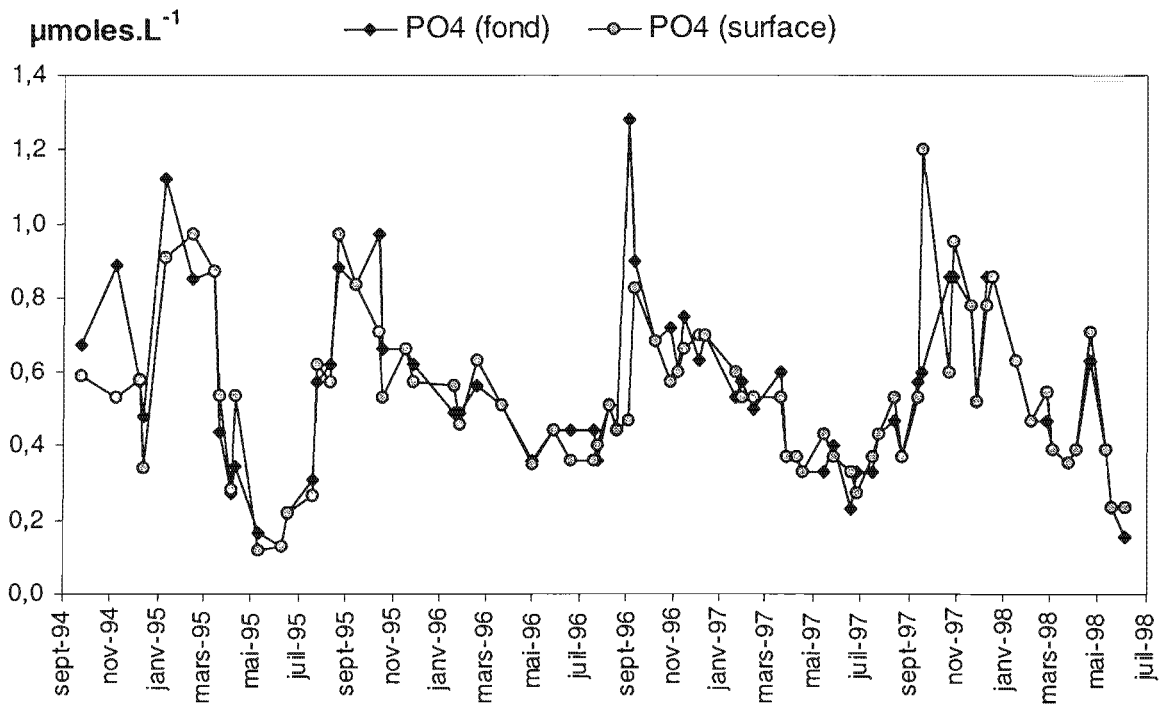


Figure 17 : Evolution de la concentration en phosphore minéral dissous en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).

Tableau 7 : Concentrations saisonnières moyennes en Phosphore minéral dissous en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne  $\pm$  intervalle de confiance 95 %).

Saison	PO <sub>4</sub> (fond)	PO <sub>4</sub> (surface)
Automne	0.7 $\pm$ 0,1	0.6 $\pm$ 0.1
Hiver	0.6 $\pm$ 0,2	0.6 $\pm$ 0.1
Printemps	0.4 $\pm$ 0,1	0.4 $\pm$ 0.1
Eté	0.6 $\pm$ 0,1	0.6 $\pm$ 0.1

#### 1-4 Evolution saisonnière des rapports entre nutriments majeurs dans l'estuaire de la Seudre

De nombreuses études ont montré que l'assimilation des sources nutritives N, P et Si par les diatomées, se réalisait avec un rapport entre nutriments, proche de celui décrit par Redfield (1934) pour les eaux océaniques (N:Si:P=16:16:1). En regardant l'évolution saisonnière de ces rapports, il est possible d'émettre des hypothèses quant aux éléments nutritifs pouvant influencer et limiter la production phytoplanktonique de diatomées.



### 1-4-1 Rapport ΣN:P

Les rapports moyens ΣN:P sont consignés dans le tableau 8 pour chaque saison. En automne, hiver et printemps ce rapport est élevé, supérieur 30:1. En été, ce rapport se rapproche de celui de Redfield (ΣN:P=16).

Tableau 8 : Evolution saisonnière du rapport moyen ΣN:P en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne ± intervalle de confiance 95 %).

Saison	ΣN:P (fond)	ΣN:P (surface)
Automne	35.9 ± 8.4	38.0 ± 8.3
Hiver	93.1 ± 19.9	103.7 ± 21.2
Printemps	91.4 ± 23.0	108.1 ± 31.9
Été	15.6 ± 4.2	17.6 ± 5.2

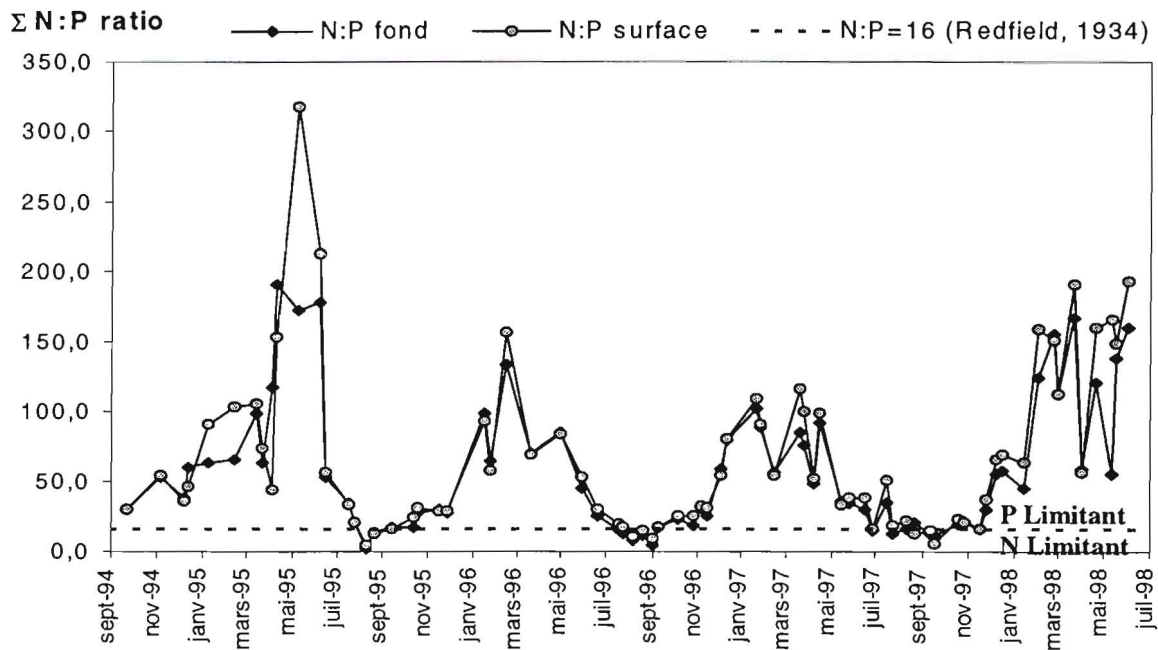


Figure 18 : Evolution du rapport ΣN:P en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).

On remarque donc qu'une grande partie de l'année, comme le montre la figure 18, les phosphates se retrouvent en quantité limitante. En été le ratio N:P proche du rapport d'assimilation par le phytoplancton, est rarement inférieur à 16:1. Durant une très courte période c'est à dire à la fin de l'été, l'azote se retrouve en quantité limitante par rapport aux ions phosphates.

Les rapports très élevés constatés en hiver et au printemps sont dus aux apports en nitrates consécutifs aux précipitations. Ces rapports moyens sont nettement supérieurs à ceux trouvés par Héral *et al.* (1984) pour les eaux du bassin de Marennes-Oléron, et par Marion (1985) dans la Baie de Bourgneuf, bien que l'évolution saisonnière de ce ratio soit identique. Les écarts entre surface et fond sont minimes, cependant c'est en hiver et au printemps que les eaux de surface présentent un déficit plus important en phosphates que les eaux du fond. On peut émettre l'hypothèse que les phosphates seraient dans l'estuaire de la Seudre un des facteurs limitants de la production phytoplanctonique durant l'hiver et le printemps, alors qu'en fin d'été se serait l'azote.

### 1-4-2 Rapport $\Sigma N:Si$

Comme précédemment on peut remarquer (Fig. 19) que l'évolution du rapport  $\Sigma N:Si$  suit un cycle saisonnier. Au cours de l'année, ce ratio se trouve largement supérieur au rapport de Redfield de 1:1, les moyennes saisonnières étant comprises entre 4.2:1 et 1:1. C'est durant l'hiver et le printemps que les valeurs sont les plus fortes (Tableau 9), alors que l'été ce rapport tend vers 1:1 ou bien même devient inférieur à 1.

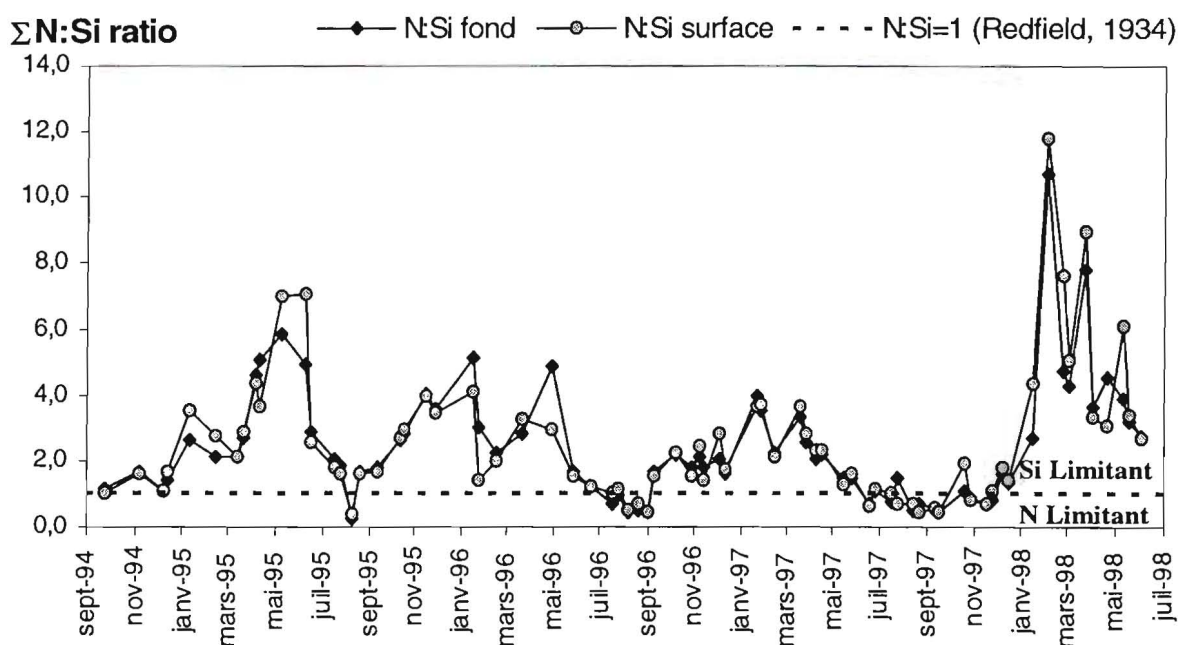


Figure 19 : Evolution du rapport  $\Sigma N:Si$  en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).

Les silicates se trouvent donc en conditions limitantes par rapport à l'azote pendant une grande partie de l'année. C'est seulement à la fin de l'été où les apports et les concentrations en nitrates sont les plus faibles, que l'azote se retrouve facteur limitant par rapport aux silicates. En général le ratio entre l'azote minéral total et les silicates suit la même évolution en surface et en profondeur.

Tableau 9 : Evolution saisonnière du rapport moyen  $\Sigma N:Si$  en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne  $\pm$  intervalle de confiance 95 %).

Saison	$\Sigma N:Si$ (fond)	$\Sigma N:Si$ (surface)
Automne	$1.8 \pm 0.4$	$1.9 \pm 0.4$
Hiver	$3.8 \pm 1.4$	$4.2 \pm 1.7$
Printemps	$3.3 \pm 0.7$	$3.4 \pm 0.9$
Été	$1.0 \pm 0.3$	$1.0 \pm 0.2$

### 1-4-3 Rapport Si:P

L'évolution du rapport entre silicates et phosphates présente une certaine saisonnalité, mais aussi une grande variabilité au regard du tableau 10 et de la figure 20. Les valeurs les plus faibles s'observent en été, elles sont proches du ratio de Redfield de 16:1.

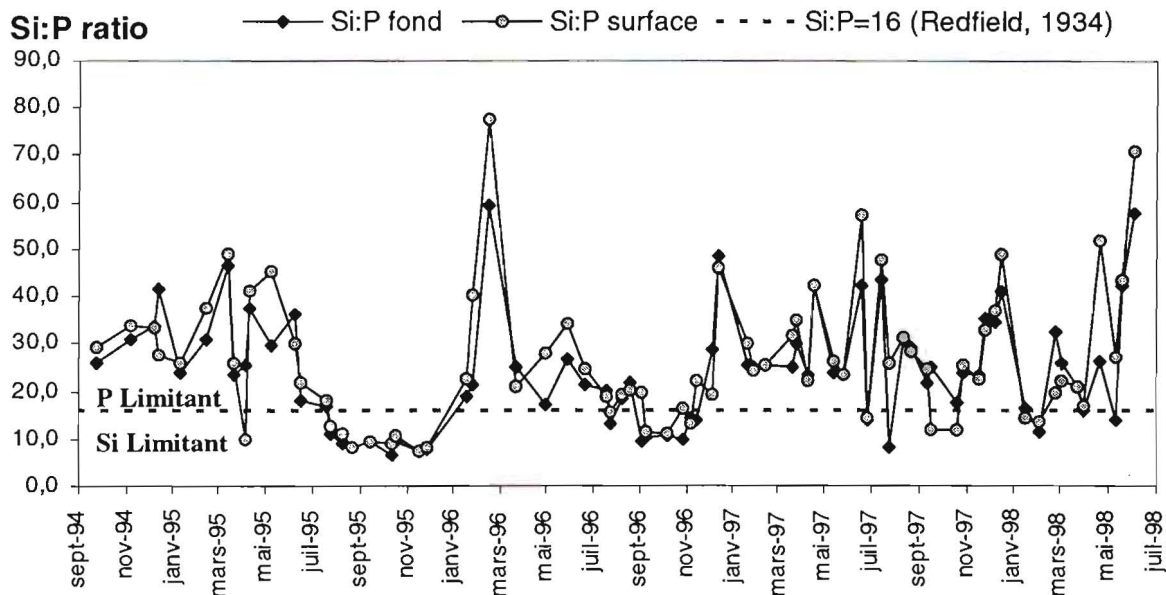


Figure 20 : Evolution du rapport Si:P en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).

Au cours de l'automne ce ratio augmente pour atteindre en hiver ses valeurs maximales, lors des crues. Les silicates, qui proviennent principalement des fleuves par la diagénèse du sédiment et des roches, se retrouvent donc en excès par rapport aux ions orthophosphates, qui comme nous l'avons vu précédemment, ne voient pas leurs concentrations augmenter.

On peut donc avancer le fait que les phosphates, comme nous l'avons déjà constaté lors de l'examen du rapport  $\Sigma N:P$ , sont en quantité limitante pour la production phytoplanctonique durant une bonne partie de l'année. Cependant, si l'on regarde plus précisément la figure 20, on peut noter en 1995 et en 1996, et seulement en 1997 pour les eaux de surface, que la fin de l'été et le début de l'automne sont marqués par un déficit en silicates par rapport au phosphore minéral dissous. Or cette période est le début de l'affinage dans les claires et cette constatation peut avoir une importance considérable quant à l'installation des diatomées dans celles-ci, quand on sait l'importance des silicates pour ce groupe phytoplanctonique. Durant une très courte période les silicates seraient facteur limitant dans l'estuaire de la Seudre et ceci correspond au mois d'octobre-novembre.

Tableau 10 : Evolution saisonnière du rapport moyen Si:P en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne  $\pm$  intervalle de confiance 95 %).

Saison	Si:P (fond)	Si:P (surface)
Automne	23.4 $\pm$ 6.2	23.4 $\pm$ 5.9
Hiver	28.1 $\pm$ 7.7	31.0 $\pm$ 10.5
Printemps	28.3 $\pm$ 4.5	32.8 $\pm$ 6.2
Été	17.9 $\pm$ 4.8	19.5 $\pm$ 4.8

### 1-5 Corrélations entre les variables hydrologiques étudiées

La matrice de corrélation (Tab. 11) résume les relations entre les différents paramètres hydrologiques étudiés dans l'estuaire de la Seudre entre les mois de septembre 1994 et de juin 1998. Si l'on regarde les cases en gris foncé, on peut remarquer, que pour chaque paramètre une très forte corrélation positive existe entre les eaux de surface et celles du fond. Les relations les plus fortes s'observent pour la salinité, les nitrites, les nitrates, alors que pour l'ammonium, les silicates et les phosphates cette relation est moins forte ( $R < 0.90$ ). Les écarts entre surface et profondeur sont plus importants pour ces paramètres.

Tableau 11 : Matrice de corrélation des variables hydrologiques étudiées entre septembre 1994 et juin 1998 dans l'estuaire de la Seudre. Ne figurent dans le tableau que les corrélations significatives ( $p < 0.05$ ). Les cases en gris foncé soulignent la relation entre chaque paramètre en surface et en profondeur, celles en gris clair soulignent une forte corrélation entre les différents paramètres.

	Salinité fond	Salinité surface	NH4 fond	NH4 surface	NO2 fond	NO2 surface	NO3 fond	NO3 surface	N total fond	N total surface	SiO3 fond	SiO3 surface	PO4 fond	PO4 surface
Salinité fond	1													
Salinité surface	0.97	1												
NH4 fond	0.44	0.42	1											
NH4 surface	0.30	0.25	0.85	1										
NO2 fond	-0.26	-0.30			1									
NO2 surface	-0.30	-0.36			0.92	1								
NO3 fond	-0.88	-0.89	-0.42	-0.31	0.41	0.41	1							
NO3 surface	-0.85	-0.88	-0.38	-0.24	0.39	0.48	0.96	1						
N total (fond)	-0.84	-0.85	-0.27		0.41	0.41	0.98	0.94	1					
N total surface	-0.79	-0.83			0.40	0.51	0.93	0.98	0.94	1				
SiO3 fond	-0.38	-0.40			0.45	0.40	0.45	0.39	0.46	0.41	1			
SiO3 surface	-0.41	-0.45			0.39	0.47	0.41	0.43	0.42	0.48	0.84	1		
PO4 fond					0.28						0.44	0.29	1	
PO4 surface					0.26	0.27					0.46	0.41	0.88	1

Il est intéressant de regarder la relation entre la salinité et les sels nutritifs. En effet, la salinité est sous la dépendance des apports d'eau douce par la Charente, et au recyclage des eaux de la Gironde par le pertuis d'Antioche (Héral *et al.* 1984).

L'ammonium et la salinité sont corrélés de façon positive : lorsqu'en période estivale les salinités augmentent, les teneurs en ammonium elles aussi augmentent. Il ne faut pas rechercher une relation directe entre ces deux paramètres ; l'ammonium provient de la minéralisation bactérienne de la matière organique et aussi de l'excrétion dissoute des mollusques entre autres. Vincendeau (1987) signale que dans la baie de Marennes-Oléron, le taux d'excrétion ammoniacale augmente de décembre à juin de 0.3 à 2.1  $\mu\text{mol.h}^{-1}$  pour un individu de 1 g de poids de chair sèche soit un individu d'environ 70 g de poids total. Or en période d'étiage les apports en eau douce sont réduits et par conséquent les dilutions des masses d'eaux marines sont très faibles.

Nitrites, nitrates et silicates sont, par contre, corrélés de façon négative avec la salinité. On voit donc que l'augmentation, en période hivernale des teneurs en nitrites, silicates mais surtout des nitrates ( $R \cong -0.8$ ), s'accompagne de la baisse des salinités consécutive aux apports d'eau douce dans le bassin.

En ce qui concerne les ions orthophosphates (phosphore minéral dissous), aucune relation significative n'est mise en évidence avec la salinité.

On peut noter la corrélation positive significative entre silicates et phosphates, ainsi qu'entre silicates et azote minéral total. Ces corrélations positives peuvent s'expliquer par l'utilisation de ces sels nutritifs par les producteurs primaires et notamment le phytoplancton, mais aussi par l'origine de ces éléments apportés par les fleuves environnants (Charente, Gironde et à moindre échelle la Seudre).

## **2 RELATIONS ENTRE LES PARAMETRES NUTRITIONNELS DE L'ESTUAIRE DE LA SEUDRE ET CEUX DES CLAIRES EXPERIMENTALES.**

Comme nous l'avons déjà mentionné dans ce chapitre, les dates d'échantillonnage de l'eau de la claire 5 (claire témoin) correspondent aux interventions concernant le suivi de la fertilité potentielle de l'eau pour *Haslea ostrearia*. Il ne s'agit pas d'un suivi annuel, car cette étude n'a été réalisée que durant les périodes d'abondance d'*H. ostrearia* dans les claires, c'est à dire de l'automne au début de l'hiver et du début jusqu'à la fin du printemps (Voir Tab. 1). Quand cela était possible, nous avons donc regardé si les observations constatées pour les concentrations en sels nutritifs dans l'estuaire étaient corrélées avec celles faites à la même date dans la claire n°5. Ainsi, 17 dates de prélèvements d'eau dans la claire n°5 correspondent avec un échantillonnage de la station 2 de l'estuaire de la Seudre. Il faut noter que ces prélèvements ont pratiquement toujours été réalisés lors des vives eaux, lorsque la claire est alimentée. La question posée était de savoir si la station 2 caractéristique de l'estuaire de la Seudre est un bon indicateur de la qualité et de la composition nutritive de l'eau alimentant les claires de la Seudre, durant les périodes d'abondance d'*Haslea ostrearia*. Les figure 21 et 22 décrivent l'évolution saisonnière des concentrations en sels nutritifs dans l'estuaire de la Seudre et dans la claire n°5 du marais expérimental. Les concentrations observées dans la Seudre à la station 2, correspondent à la moyenne entre concentration en surface et en profondeur.

Les figures 21 et 22 décrivent l'évolution saisonnière des concentrations en nutriments dans l'estuaire de la Seudre et dans la claire n°5 du marais expérimental.

Pour l'ammonium, les nitrites, les nitrates, les phosphates et les silicates, on peut remarquer que la gamme de concentrations observée dans les eaux provenant de la claire n°5, est similaire à la gamme de concentrations décrite pour ces nutriments dans les eaux de la Seudre. Par contre, il est intéressant de remarquer que pour les nitrates et par conséquent l'azote total dissous les concentrations observées dans la claire sont toujours inférieures aux concentrations observées dans la Seudre.

Pour l'ammonium et les silicates aucune corrélation significative n'est mise en évidence entre les concentrations observées dans la Seudre et la claire (Tab. 12). Par contre les concentrations en nitrites, nitrates et phosphates montrent des corrélations significatives entre la Seudre et la claire n°5 (Tab. 12). De même, seul le rapport N:P présente une corrélation positive significative entre l'estuaire de la Seudre et la claire n°5.

Cependant, même si pour l'ammonium, il est plus difficile d'établir une relation entre les concentrations observées dans la Seudre et celles constatées dans la claire n°5, on peut constater, sans établir de relation significative, que la concentration en silicates dans la claire n°5 évolue de façon similaire avec celle de la Seudre.

Tableau 12 : Corrélations entre les concentrations et les ratios en nutriments observés dans la Seudre et dans la claire n°5 lors de l'alimentation du marais. (R = coefficient de corrélation ; p = probabilité ; ns : non significative ; \* : p<0.05 ; \*\* : p<0.01 ; \*\*\* : p<0.001).

	Coefficient de Corrélation et test de significativité	
	R	P
NH <sub>4</sub>	0.106	ns
NO <sub>2</sub>	0.800	***
NO <sub>3</sub>	0.723	***
N <sub>total</sub>	0.773	***
PO <sub>4</sub>	0.531	*
SiO <sub>2</sub>	0.268	ns
N:P	0.668	**
N:Si	0.231	ns
Si:P	-0.0784	ns

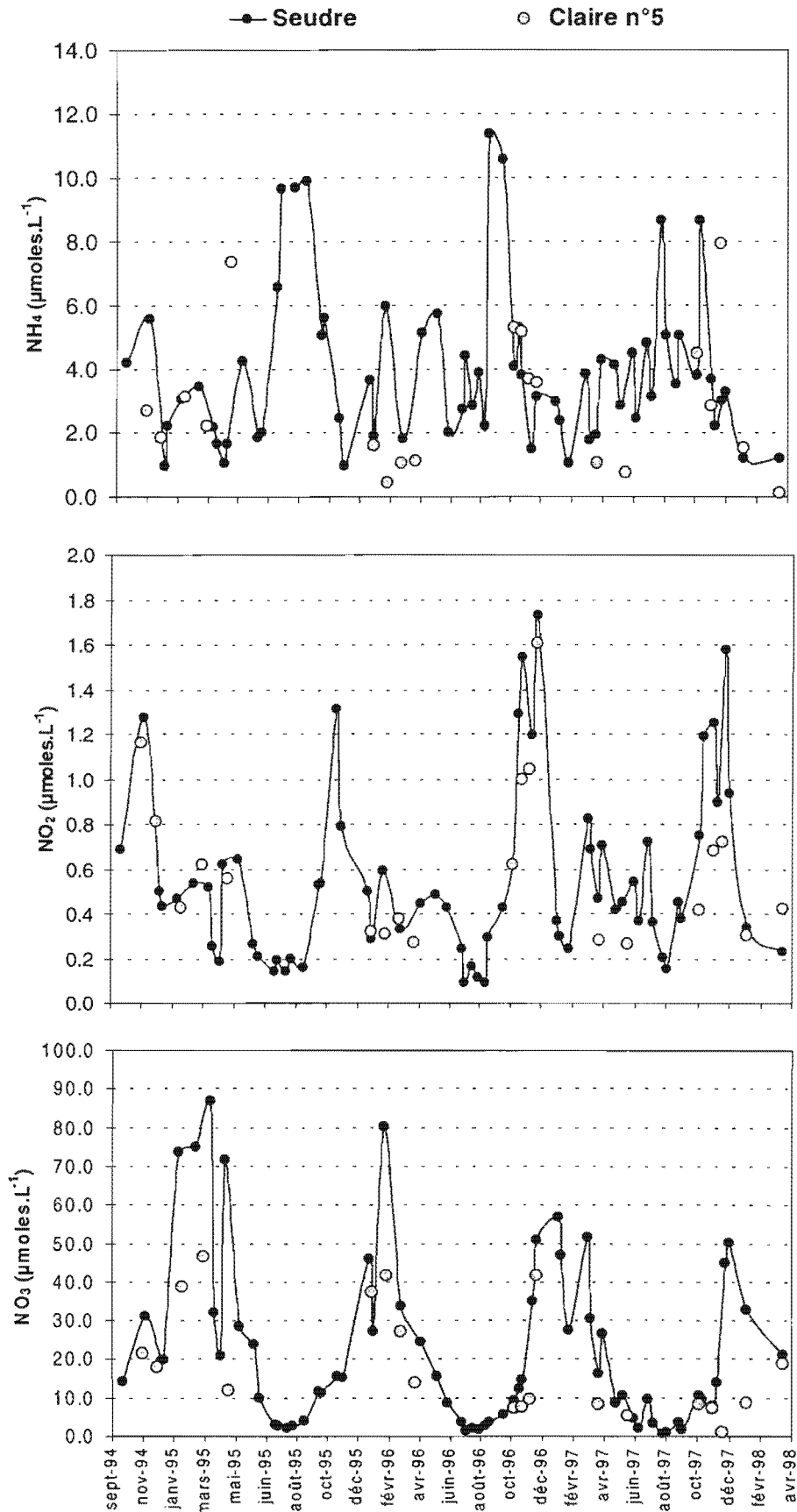


Figure 21 : Evolution saisonnière des concentrations moyennes dans l'estuaire de la Seudre ● et dans la claire n°5 ○ du marais expérimental pour l'azote ammoniacal, azote nitreux et l'azote nitrique dissous.



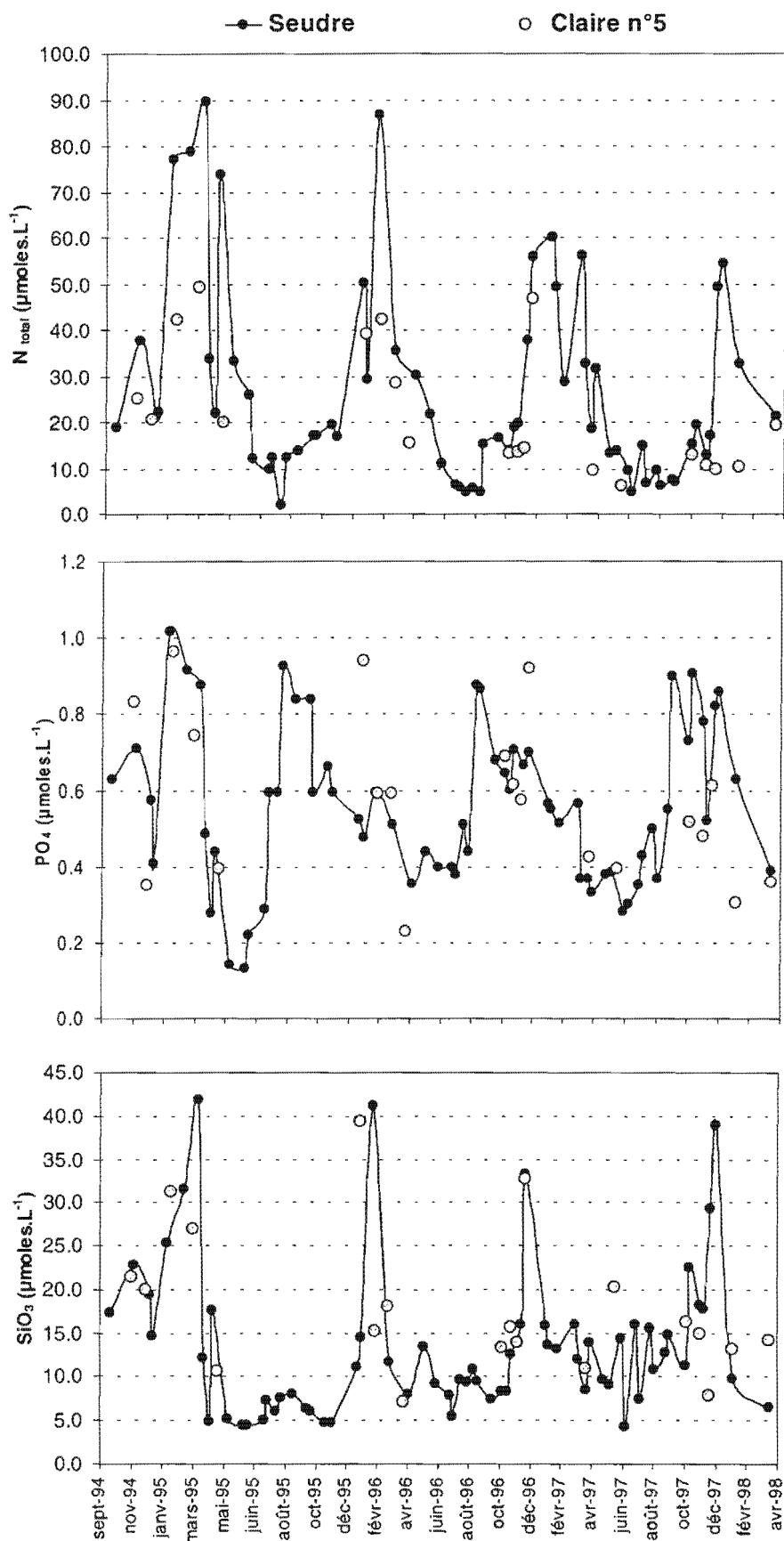


Figure 22 : Evolution saisonnière des concentrations moyennes dans l'estuaire de la Seudre ● et dans la claire n°5 ○ du marais expérimental pour l'azote total, les phosphates et les silicates dissous.

### 3 DISCUSSION ET CONCLUSION

L'évolution de la salinité dans l'estuaire de la Seudre montre, au cours des quatre années de suivi, un cycle bien marqué. Les dessalures sont les plus fortes en hiver (janvier-février), alors qu'à partir du printemps et jusqu'à la fin de l'été, l'eau de l'estuaire de la Seudre présente des salinités comprises entre 32 et 38 ‰. L'influence des eaux douces apportées par cette rivière ne se fait sentir que durant une courte période de l'année (fin de l'automne et hiver). L'influence de la Charente, sur les salinités observées dans le bassin de Marennes-Oléron, est largement plus importante que celle de la Seudre (Soletchnik *et al.*, 1998).

Si l'on s'intéresse à l'évolution de l'azote total minéral dissous dans cette zone du bassin de Marennes-Oléron, on remarque que la réserve inorganique d'azote est fortement corrélée avec les concentrations en nitrates : ces derniers représentent entre 70 et 98 % de la réserve azotée dissoute durant une grande partie de l'année. Cette tendance s'inverse l'été, où en effet, la forme azotée ammoniacale devient très majoritaire. Ces observations sont en accord avec les travaux précédents réalisés dans la partie centrale du bassin de Marennes-Oléron par (Héral *et al.*, 1984; Ravail-Legend, 1993).

Le cycle saisonnier du silicium, comme celui des nitrates est bien marqué. La chute des salinités, lors des crues hivernales et printanières correspond avec l'observation de pics de concentrations en silicates, soulignant le caractère terrigène de ces derniers. Ce cycle est concordant avec celui observé par Héral *et al.* (1984) pour une station du centre du bassin. Cependant, il diffère de ce que l'on observe dans l'estuaire de la Charente où les débits du fleuve sont largement supérieurs à ceux de la Seudre (Héral *et al.* 1983). Soletchnik *et al.* (1998) constate une différence de concentration d'un facteur 2 en moyenne entre l'estuaire de la Charente et celui de la Seudre.

Les concentrations en phosphore dissous suivent un cycle saisonnier légèrement marqué : en effet, l'amplitude de variation des concentrations est très faible. Les valeurs les plus fortes s'observent généralement en automne et en hiver (apports fluviaux), alors qu'au printemps et en été les concentrations sont les plus faibles. Par rapport à l'estuaire de la Charente les différences sont importantes, les concentrations en phosphates sont en moyenne 3 fois plus faibles dans l'estuaire de la Seudre (Soletchnik *et al.*, 1998). Héral *et al.* (1984) signalent également en hiver, lors des périodes de crues, des concentrations comprises entre 2 et 3

$\mu\text{moles.L}^{-1}$ , alors que lors de l'étiage du fleuve elles peuvent atteindre dans la Charente des valeurs proches de  $25 \mu\text{moles.L}^{-1}$ , lorsque les dilutions et les débits sont les plus faibles. Dans l'estuaire de la Seudre, nous n'observons pas de tels phénomènes. Les concentrations dépassent rarement  $1 \mu\text{moles.L}^{-1}$ , et c'est l'été que les concentrations sont les plus faibles (entre  $0.4$  et  $0.1 \mu\text{moles.L}^{-1}$ ). On peut penser que les apports anthropiques en phosphates ont diminué au cours des 20 dernières années, par l'amélioration du traitement des eaux usées grâce au développement des stations d'épurations (Soletchnik *et al.*, 1998).

*Toutes ces constatations permettent d'affirmer, comme l'avait déjà souligné Moreau (1970), que d'un point de vue hydrobiologique, à la différence de la Charente, la Seudre se comporte plus comme un véritable bras de mer.*

L'analyse des rapports molaires entre nutriments dans l'estuaire de la Seudre permet de mettre en évidence un cycle d'évolution saisonnier. Durant la majeure partie de l'année (de la fin de l'automne à la fin du printemps), le phosphore minéral dissous pourrait être considéré comme le premier facteur limitant, devant les silicates, de la production phytoplanctonique. De la fin de l'été jusqu'au début de l'automne, l'azote total minéral dissous, suivi des silicates, se retrouveraient limitants par rapport au phosphore. L'automne (de la mi-septembre à novembre) présente une particularité : en effet, alors que le stock d'azote total minéral se reconstitue et que les concentrations en phosphates augmentent légèrement, les concentrations en silicates n'évoluent pas. Pour cette période très courte (2 mois), les silicates pourraient être considérés comme le premier facteur limitant. Or cette période de l'année correspond à la remise en eau des claires pour l'affinage des huîtres. Cette limitation par les silicates pourrait donc affecter le développement des blooms automnaux précoces dans les claires, et notamment l'apparition du verdissement, c'est pourquoi, une comparaison des observations réalisées dans l'estuaire de la Seudre avec celles faites lors des campagnes de prélèvements dans les claires ostréicoles du marais expérimental, a été tentée.

De cette comparaison, il ressort que les eaux de la claire n°5 du marais expérimental présentent des qualités physico-chimiques très proches de celles de la station 2 caractéristique de l'estuaire de la Seudre. On peut donc dire qu'en période de vives eaux ("malines"), lors des renouvellements périodiques en eau, les caractéristiques définies dans l'estuaire de la Seudre sont représentatives de celles des eaux d'alimentations des claires bordant cet estuaire, comme c'est par exemple le cas pour le marais expérimental de l'IFREMER.

## CHAPITRE III

### FERTILITE DES EAUX DES CLAIRES OSTREICOLES DU MARAIS EXPERIMENTAL POUR *HASLEA OSTREARIA*.

L'étude de la fertilité des eaux des claires ostréicoles du marais expérimental a tout d'abord nécessité la réalisation d'une étude descriptive des paramètres physico-chimiques des eaux de l'estuaire de la Seudre qui alimentent ce marais en période de "vives eaux". Cette étude hydrologique a permis de préciser le rôle des éléments nutritifs pouvant intervenir dans la limitation de la production primaire pour le site d'étude et la période de suivi.

Cependant, cette phase purement descriptive n'était pas suffisante pour décrire et confirmer les potentialités nutritionnelles d'une eau donnée, vis à vis d'une espèce algale précise. Afin donc de déterminer les éléments limitant la prolifération d'*Haslea ostrearia* dans les claires ostréicoles de la rive droite de la Seudre, l'emploi de tests de fertilité couplés à des tests d'enrichissements différentiels, s'est avéré nécessaire.

Dans ce chapitre, l'utilisation de ces bioessais a été développée afin d'estimer la fertilité potentielle des eaux étudiées et de déterminer précisément le ou les facteurs nutritionnels pouvant limiter le développement d'*Haslea ostrearia* dans les claires de l'estuaire de la Seudre. Dans un deuxième temps, les besoins nutritionnels de la navicule "bleue" ont été définis.

## 1 INTRODUCTION

Après avoir décrit dans le chapitre précédent les potentialités nutritionnelles des eaux de l'estuaire de la Seudre, il était nécessaire de vérifier les estimations faites, au moyen de l'emploi de tests biologiques *in vitro*. Nous avons donc réalisé des bioessais sur les eaux récoltées dans les claires du marais expérimental de la station IFREMER de La Tremblade, afin de déterminer la fertilité de ces eaux ainsi que la variabilité saisonnière de cette fertilité. Maestrini et Robert (1979) ont décrit l'intérêt et les limites de l'emploi de ces tests biologiques, ainsi ils ont défini le terme de fertilité comme suit : *c'est la capacité d'une eau à supporter la croissance d'une espèce algale donnée ou d'une population hétérogène ; cette fertilité, en l'absence de broutage, est une notion pondérale représentée par une biomasse potentielle produite ; au laboratoire, en conditions contrôlées (température et éclaircissement constants et non limitants), la fertilité d'une eau donnée est fonction uniquement de la quantité en nutriments.*

L'utilisation de la méthode des enrichissements différentiels permet de mieux préciser la nature de l'élément limitant la fertilité d'une eau étudiée. Parmi les éléments nutritionnels le plus souvent retenus pour les tests biologiques on trouve l'azote, le phosphore, la silice, ainsi que certains métaux (fer et manganèse généralement).

Dans cette étude, *Haslea ostrearia* a été la seule espèce algale testée, parce qu'elle est à l'origine du phénomène de verdissement. Il est important de signaler ici que la notion de fertilité potentielle peut varier d'une espèce à l'autre et que tous les résultats présentés ci après n'ont de valeur que pour cette seule espèce. En conséquence, il ne peuvent en aucun cas être généralisés à un peuplement naturel et donc à la production primaire globale de ces milieux.

## **2 FERTILITE DES EAUX DES CLAIRES OSTREICOLES DU MARAIS EXPERIMENTAL POUR *HASLEA OSTREARIA*.**

### **2-1 Matériels et méthodes**

#### **2-1-1 L'algue test**

Pour tester la fertilité de l'eau des claires ostréicoles du marais expérimental de la Tremblade, nous avons utilisé comme algue test la diatomée *Haslea ostrearia*. Nous ne reviendrons pas sur la description de cette espèce (Voir Chapitre I). Ainsi toutes les expérimentations, ayant trait aux tests de fertilité et aux expériences d'enrichissements différentiels, ont été réalisées avec une souche de cette espèce provenant de l'algothèque du Laboratoire de Biologie Marine de l'Université de Nantes.

Pour les premières expériences réalisées en 94-95, nous avons utilisé une souche isolée des claires ostréicoles de la Baie de Bourgneuf. Pour toutes les expérimentations suivantes la souche provenait des claires ostréicoles de Marennes-Oléron. Les souches utilisées ont été rendues axéniques par traitements aux antibiotiques.

#### **2-1-2 Périodes de suivi de la fertilité potentielle**

Entre novembre 1994 et avril 1996, 18 campagnes de prélèvements ont été réalisées. Dans la première série d'expériences, les eaux testées ne provenaient que d'une seule claire (n°5), cette claire était dépourvue d'huître. La deuxième série d'expériences a permis de comparer deux claires, la claire n°5 (sans huître) et la claire n°1 avec 20 huîtres au m<sup>2</sup> (norme AFNOR pour l'appellation "fines de claire". Le but étant, dans cette deuxième série d'expériences, de savoir si les huîtres modifient la fertilité potentielle des eaux de la claire où elles sont immergées. Durant les deux séries d'expériences les dates de prélèvement dans les claires étaient tributaires du coefficient de marée. En effet un prélèvement était réalisé en période d'alimentation en eau, puis en fin de séjour de cette même eau dans la claire, permettant ainsi de savoir si la fertilité des eaux nouvellement entrées, se modifie au cours de la période de mortes-eaux (influence du sédiment (minéralisation, adsorption, désorption), consommation des sels nutritifs par les populations phytoplanctoniques des claires,...).

En période estivale aucune expérimentation n'a eu lieu ; les claires subissant un assec de 1 à 2 mois (parage et gralage). De plus lors de la remise en eau des claires en septembre 1995, le

marais ne put être utilisé, des expérimentations par la station IFREMER s'y déroulant. Nos expérimentations n'ont pu reprendre qu'en janvier 1996.

Tableau 13 : Dates de prélèvements d'eau dans la ou les claires du marais expérimental et situation du prélèvement dans le cycle d'alimentation en eaux.

Date de prélèvement	N° de la claire étudiée	Position dans le cycle d'alimentation en eau des claires
02/11/94	5	Début séjour dans les claires
17/11/94	5	Fin séjour dans les claires
01/12/94	5	Début séjour dans les claires
15/12/94	5	Fin séjour dans les claires
18/01/95	5	Début séjour dans les claires
30/01/95	5	Fin séjour dans les claires
01/03/95	5	Début séjour dans les claires
14/03/95	5	Fin séjour dans les claires
18/04/95	5	Début séjour dans les claires
27/04/95	5	Fin séjour dans les claires
23/01/96	1 et 5	Début séjour dans les claires
1/02/96	1 et 5	Fin séjour dans les claires
21/02/96	1 et 5	Début séjour dans les claires
06/03/96	1 et 5	Fin séjour dans les claires
19/03/96	1 et 5	Début séjour dans les claires
28/03/96	1 et 5	Fin séjour dans les claires
17/04/96	1 et 5	Début séjour dans les claires
29/04/96	1 et 5	Fin séjour dans les claires

### 2-1-3 Mise en œuvre des bioessais

Pour chaque campagne, l'eau est prélevée dans chaque claire et filtrée sur place sur membrane Millipore en acétate de cellulose de 1,2  $\mu\text{m}$  de vide de maille (préfiltration et filtration), et répartie en bidons de 25 litres. Les échantillons ainsi récoltés sont acheminés dans les meilleurs délais au laboratoire de Biologie Marine de Nantes, et stockés en chambre froide durant la nuit. Le lendemain matin, une nouvelle filtration est réalisée sur membrane Millipore en acétate de cellulose de 0,45  $\mu\text{m}$  de vide de maille (préfiltration et filtration).

L'eau est ensuite répartie dans des erlenmeyers (300 mL/erlenmeyer de 500 mL), préalablement autoclavés afin de limiter au maximum toute contamination de la verrerie. L'expérience a été réalisée en triplicata pour pouvoir réaliser des traitements statistiques.

Parallèlement un inoculum d'*H. ostrearia* est préparé 7 jours avant l'ensemencement, afin d'obtenir une biomasse suffisante. Cet inoculum est passé 48 heures sur eau de mer pauvre, afin d'épuiser les cellules algales de leurs réserves potentielles (Berland *et al.*, 1973; Maestrini et Robert, 1981). Ensuite cette culture axénique est inoculée dans les erlenmeyers à une concentration de 2000 cellules.mL<sup>-1</sup>. Les cultures sont ensuite maintenues à température constante de 15°C, sous un éclairage de 100 µmoles de photons.m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>, avec une photopériode jour-nuit de 14h-10h.

On réalise des numérations cellulaires journalières à partir du quatrième jour de culture. Au pic de croissance, des filtrations sont réalisées sur filtre GF/F de 2.5 cm de diamètre, pour estimer les teneurs en chlorophylle *a* et phéopigments (uniquement pour les expériences de 1996) suivant la méthode de Lorenzen (1967).

Au début de l'expérimentation et après les tests de fertilité, l'eau est analysée à l'auto-analyseur SKALAR (pour l'estimation des concentrations en NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, SiO<sub>3</sub>, et PO<sub>4</sub>), et l'azote ammoniacal (NH<sub>4</sub>) est dosé manuellement. Les méthodes d'analyses sont identiques à celles décrites dans le chapitre II.

Pour la période 1994-1995, les filtrats étaient congelés. En 1995-96 les échantillons ont été analysés au SKALAR immédiatement après collecte sur le terrain et après les tests de fertilité afin de s'affranchir de la phase de congélation.

## **2-2 Fertilité des eaux d'une claire ne contenant pas d'huîtres**

### **2-2-1 Résultats**

La fertilité comme nous l'avons défini précédemment s'exprime par la biomasse maximale produite par l'algue test utilisée. La figure 23 présente les biomasses maximales atteintes en nombre de cellules produites lors des expériences réalisées avec les eaux provenant de la claire sans huîtres entre novembre 95 et avril 96. Dans le tableau 14 sont présentées les biomasses maximales produites, ainsi que les taux de divisions observés lors de ces expérimentations.



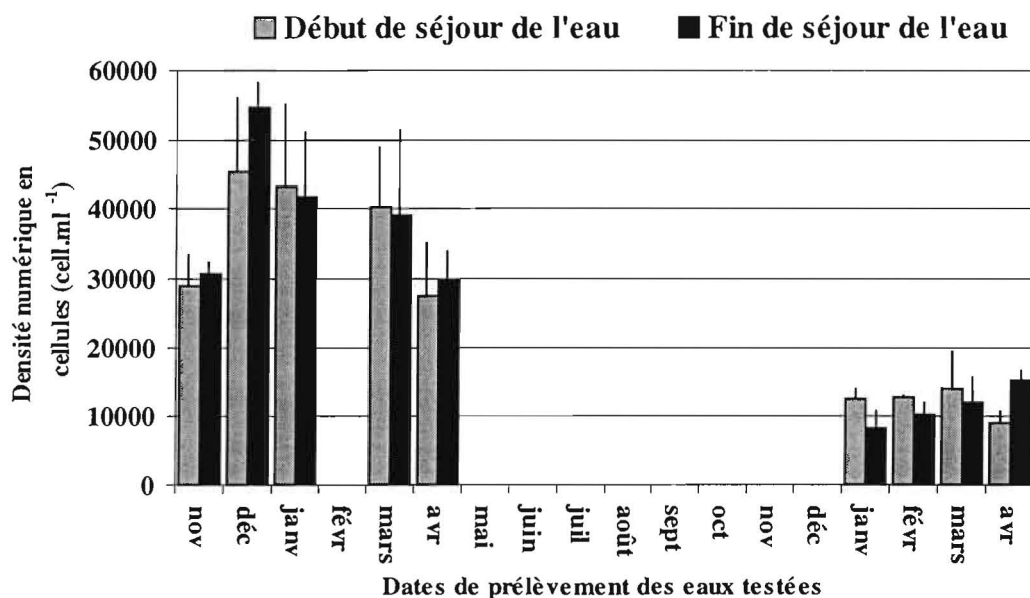


Figure 23 : Biomasse maximale obtenue en densité numérique après culture d'*Haslea ostrearia* sur les eaux provenant de la claire sans huître.

Tableau 14 : Densités numériques maximales moyennes et taux de divisions moyens obtenus après culture des algues. Les prélèvements sont regroupés par tests : en grisé pour l'eau venant d'entrer dans la claire, en blanc la même eau après son séjour dans la claire.

Prélèvement	Densité numérique en cellule (cell.mL <sup>-1</sup> )	Taux de division journalier (div.J <sup>-1</sup> )	Durée (jours)
02/11/94	29000 ± 4367	0.55 ± 0.03	7
17/11/94	30770 ± 1691	0.66 ± 0.01	6
01/12/94	45500 ± 10612	0.75 ± 0.06	6
15/12/94	54670 ± 3586	0.79 ± 0.02	6
18/01/95	43330 ± 11763	0.74 ± 0.06	6
30/01/95	41830 ± 9269	0.73 ± 0.05	6
01/03/95	40430 ± 8513	0.72 ± 0.05	6
14/03/95	39120 ± 12165	0.71 ± 0.08	6
18/04/95	27500 ± 7757	0.63 ± 0.07	6
27/04/95	29830 ± 3993	0.65 ± 0.03	6
23/01/96	12467 ± 663	0.44 ± 0.01	6
01/02/96	8423 ± 1056	0.34 ± 0.03	6
21/02/96	12800 ± 113	0.45 ± 0.01	6
06/03/96	10283 ± 781	0.39 ± 0.02	6
19/03/96	14133 ± 2391	0.47 ± 0.04	6
28/03/96	12100 ± 1604	0.43 ± 0.03	6
17/04/96	9000 ± 792	0.36 ± 0.02	6
29/04/96	15133 ± 682	0.49 ± 0.01	6

On remarque que les deux séries d'expériences diffèrent en terme de fertilité, en effet les densités numériques ainsi que les taux de divisions observés sont plus importants lors de la première série d'expérience (94-95). En moyenne la fertilité des eaux récoltées entre novembre 94 et avril 95 est 4 fois plus importante que celle des eaux collectées entre janvier et avril 96. Ces périodes d'études ont été choisies car elles sont connues comme étant les périodes de fertilité potentielle maximale des eaux des claires ostréicoles (Robert, 1983).

Il est difficile de relever une tendance d'évolution saisonnière. On doit noter, qu'entre décembre et mars, les biomasses maximales produites sont les plus fortes (tableau 14). Ceci est en accord avec les travaux de Robert (1983) et Marion (1985). Pour ces auteurs, avec les eaux des claires de la baie de Bourgneuf, les biomasses maximales produites sont observées en période hivernale avec des densités numériques comprises entre 10000 et 20000 cell.mL<sup>-1</sup>, et des taux de divisions compris entre 0.2 et 0.3 div.J<sup>-1</sup>. Ces chiffres sont en accord avec uniquement les expériences de 1996.

Nous avons donc réalisé des tests statistiques sur nos données (biomasse maximale produite, et taux de division). Nous avons comparé tout d'abord les deux années ainsi que l'origine de l'eau (eau nouvellement entrée dans la claire, et la même eau après séjour dans la claire durant le cycle de mortes eaux). Les résultats sont présentés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Résultats des ANOVA à deux facteurs pour la comparaison des paramètres "biomasse maximale produite" et le "taux de division" entre année et entre les eaux entrantes dans la claire et celles y ayant séjourné.

Paramètres	Facteur	Ddl	F	p
Biomasse maximale produite	Année	1	355.356	< 0.001
	Origine eau	1	0.006	0.940
	Année x Origine eau	1	0.839	0.364
Taux de division	Année	1	247.474	< 0.001
	Origine eau	1	0.210	0.649
	Année x Origine eau	1	1.634	0.207

Que ce soit pour les biomasses maximales produites ou les taux de divisions observés, les résultats sont similaires. La différence entre les deux années d'expérimentation est hautement significative ( $p < 0.001$ ).

Par contre aucune différence significative n'est mis en évidence entre les biomasses maximales et les taux de divisions obtenus avec une eau nouvellement entrée dans la claire et la même eau après séjour durant les marées de mortes eaux.

### 2-2-2 Discussion

Pour expliquer ces différences importantes observées entre les deux séries d'expérimentations, plusieurs hypothèses peuvent être avancées :

- la première concerne les teneurs en sels nutritifs qui différeraient grandement entre les deux années d'expériences ;
- la seconde serait d'ordre physiologique et concernerait le clone d'algue utilisé et notamment sa taille ;
- enfin ces différences pourraient s'expliquer par des facteurs nutritionnels non pris en compte par nos analyses (azote et phosphore organiques ou bien certains oligo-éléments (comme les métaux par exemple)).

Il est donc intéressant de regarder les concentrations en sels nutritifs (azote total minéral dissous ( $\text{NH}_4+\text{NO}_2+\text{NO}_3$ ), silicates dissous et le phosphore minéral dissous) des eaux testées. La figure 24 présente les concentrations observées lors des prélèvements dans la claire n°5.

Globalement les concentrations observées ne présentent pas de différences sensibles d'une année sur l'autre. Pour l'azote total minéral dissous, elles sont comprises entre 15.0 et 49.4  $\mu\text{moles.L}^{-1}$  pour les eaux nouvellement entrées dans la claire, et entre 1.4 et 21.4 pour les eaux ayant séjourné dans la claire. Pour les silicates dissous, elles sont comprises entre 7 et 38  $\mu\text{moles.L}^{-1}$  pour les eaux nouvellement entrées, et entre 7 et 33  $\mu\text{moles.L}^{-1}$  pour les eaux ayant séjourné dans la claire. Pour le phosphore minéral dissous, les concentrations sont comprises entre 0.2 et 1  $\mu\text{moles.L}^{-1}$  pour les eaux nouvellement entrées, et entre 0.1 et 1.2  $\mu\text{moles.L}^{-1}$  pour les eaux ayant séjourné dans la claire.

De plus, on note uniquement un appauvrissement en azote de l'eau après séjour dans la claire, alors que les biomasses maximales produites et les taux de divisions obtenus avec ces eaux ne diffèrent pas statistiquement de celles et ceux observés avec les eaux nouvellement entrées. On ne peut donc retenir cette première hypothèse car, densités numériques en cellules obtenues ainsi que taux de divisions observés présentent une certaine homogénéité pour chaque année.

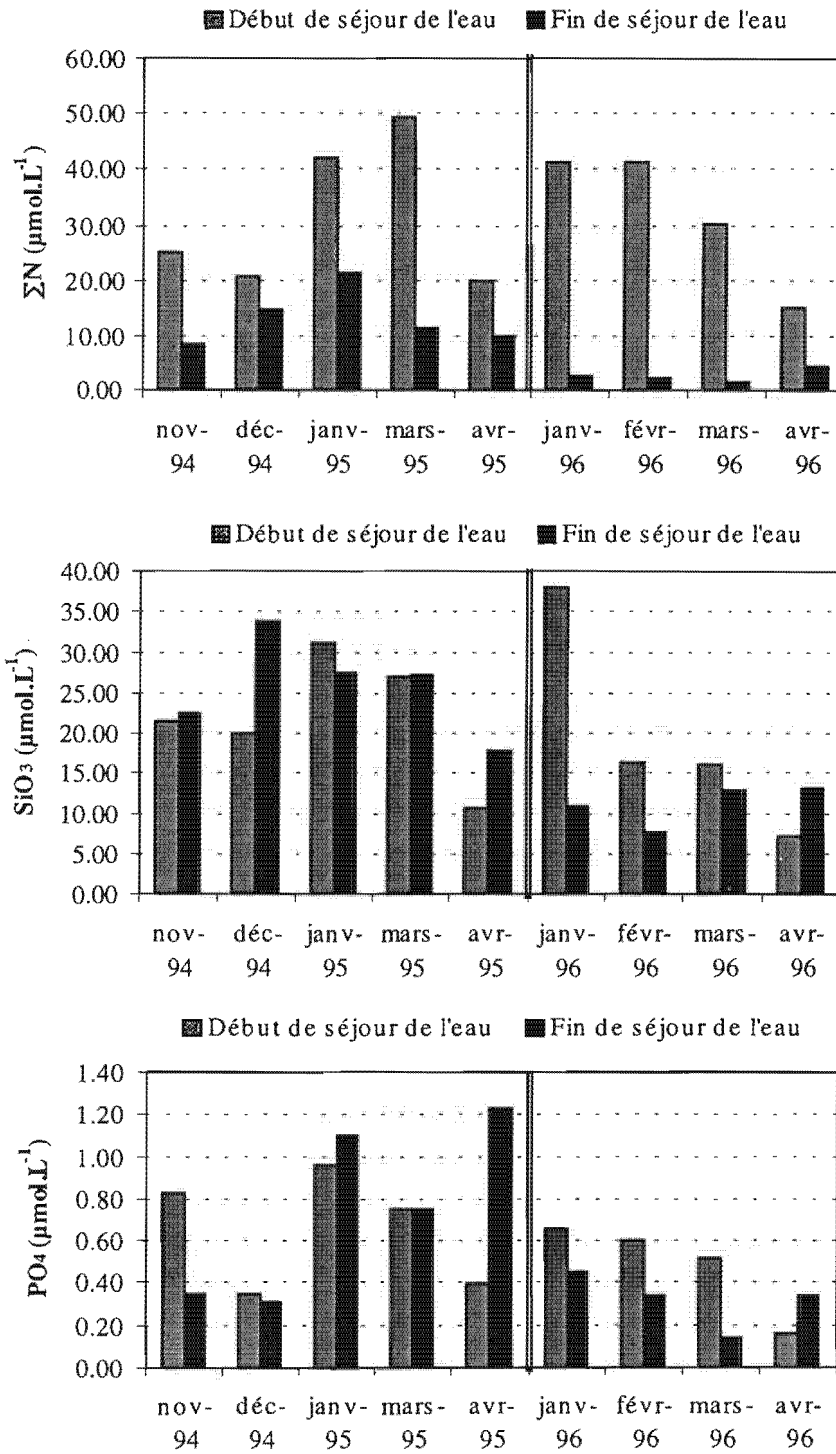


Figure 24 : Concentrations en sels nutritifs (azote total minéral dissous, silicates dissous, phosphore minéral dissous) des eaux testées dans la claire n°5 du marais expérimental. Ces concentrations correspondent à celles des eaux testées lors des tests de fertilité potentielle.

Il apparaît donc bien difficile de mettre en évidence une relation entre richesse nutritive initiale et biomasse maximale produite. Les eaux ayant séjourné dans la claire se sont appauvries en azote et quelque fois en silicates et phosphates alors que les biomasses produites sont équivalentes à celles obtenues avec les eaux nouvellement entrées.

D'un point de vue physiologique, par contre, on peut tenter d'expliquer les différences observées entre les deux séries d'expériences. En effet, il faut noter que le clone utilisé n'était pas le même en 1995 et 1996. Le tableau 16 montre les caractéristiques des deux clones utilisés.

Tableau 16 : Biométrie et origine du clone utilisé pour les expériences de fertilité sur les eaux des claires ostréicoles du marais expérimental de la Tremblade.

Expériences	Origine du clone	Taille ( $\mu\text{m}$ )
1994-1995	Baie de Bourgneuf	$59.5 \pm 0.7$
1996	Claire de la Tremblade	$79.2 \pm 3.3$

Le clone utilisé en 1994-95 mesurait  $59.5 \mu\text{m}$ , celui utilisé en 1996 mesurait quant à lui  $79.2 \mu\text{m}$ . Le clone de petite taille présente comme nous l'avons vu un taux journalier de division nettement supérieur à celui observé pour le clone utilisé en 1996. Or Robert (1978) a montré qu'une taille proche de  $60 \mu\text{m}$  correspond à une taille critique, à partir de laquelle normalement la croissance algale est perturbée (diminution du taux de croissance, déformation des valves,...). Toutefois plusieurs auteurs ont signalé pour les diatomées une corrélation négative entre taux de division et taille des cellules (Banse, 1976; Sommer, 1983).

Par ailleurs, on peut penser que des facteurs nutritionnels, non pris en compte dans nos analyses, ont joué un rôle prépondérant en permettant l'obtention de biomasses et de taux de division plus élevés en 1995. Il pourrait s'agir de sources nutritives organiques dissoutes (Wheeler *et al.*, 1974; Bonin et Maestrini, 1981; Robert, 1983) ou bien d'oligo-éléments comme certains métaux (fer et manganèse par exemple) qui ont un rôle important dans la croissance algale (Huntsman et Sunda, 1980; Brand *et al.*, 1983; De Baar *et al.*, 1989; Moreau *et al.*, 1994).

## 2-3 Comparaison de la fertilité des eaux de deux claires en présence ou non d'huîtres

En 1996, nous avons étudié en période hivernale et printanière la fertilité potentielle des eaux de deux claires ostréicoles du marais expérimental. Le but était de savoir si, l'eau d'une claire contenant des huîtres, présente une fertilité potentielle plus élevée que celle d'une claire sans mollusque. En effet de nombreux auteurs ont montré, que les mollusques (entre autres moules et huîtres) excrètent divers composés qui peuvent suivre différentes voies de dégradation (dégradation enzymatique, dégradation via les bactéries) ou d'assimilation. Toutes ces substances dissoutes, minérales ou bien organiques, peuvent être utilisées par les microalgues (Bayne *et al.*, 1976; Bonin et Maestrini, 1981; Maestrini et Robert, 1981; Doering *et al.*, 1986). Nous avons donc tenté de vérifier ces constatations *in situ* à l'échelle d'une claire ostréicole, en travaillant avec une densité d'élevage et d'affinage de 20 huîtres au m<sup>2</sup>, identique à celle utilisée dans la pratique par les professionnels. De plus cette densité en huîtres correspond à la densité maximale autorisée par la norme AFNOR pour l'appellation "fine de claire". Pour ces expérimentations, une amélioration de l'échantillonnage dans les claires a été réalisée par rapport à celui effectué en 1994-1995. Les claires ont été découpées en six sous-unités d'égale surface, afin de tenir compte de la variabilité spatiale pouvant affecter les teneurs en sels nutritifs (e.g. influence du vent, proximité du bondon d'alimentation).

### 2-3-1 Estimation de la fertilité potentielle

Les densités numériques maximales obtenues sont présentées dans la figure 24, et le tableau 17. Le nombre maximal de cellules produites sur les eaux provenant des claires du marais expérimental est compris entre 7100 et 15133 cellules.mL<sup>-1</sup>. Ces valeurs sont comparables à celles obtenues par Robert (1983) pour les eaux des claires ostréicoles de la Baie de Bourgneuf. Les taux de divisions moyens sont compris entre 0.30 et 0.49 div.j<sup>-1</sup> ce qui correspond à des valeurs deux fois plus importantes que celles observées par Robert (1983). Pour ces variables, on remarque une certaine homogénéité des résultats. Les analyses statistiques (ANOVA à deux facteurs) confirment cette observation (tableau 18). En ce qui concerne les densités numériques en cellule, ainsi que les taux moyens de divisions, aucune différence significative n'est mise en évidence entre les claires ainsi que les eaux testées (eaux entrantes dans les claires et eaux ayant séjourné dans ces bassins). Il semble donc que la fertilité, si elle est exprimée en terme de cellules produites, bien que légèrement plus

faible après séjour de l'eau dans les claires (sauf pour le mois d'avril), ne diffèrent pas statistiquement entre claires ni entre périodes d'échantillonnage.

Tableau 17 : Densités numériques maximales, chlorophylle *a* produite, teneurs intracellulaires en chlorophylle *a* et taux de divisions obtenus après culture des algues. Les prélèvements sont regroupés par bioessais : en grisé pour l'eau venant d'entrer dans les claires, en blanc la même eau après son séjour dans les claires.

Prélèvement	Claire	Densité numérique en cellule (cell.mL <sup>-1</sup> )	Chlorophylle <i>a</i> produite (µg.L <sup>-1</sup> )	Chlorophylle <i>a</i> intracellulaire (µg.10 <sup>6</sup> cell <sup>-1</sup> )	Taux de division journalier (div.J <sup>-1</sup> )
23/01/96	Sans Huître	12467 ± 663	64.3 ± 7.8	5.2 ± 0.7	0.44 ± 0.01
23/01/96	Avec Huîtres	12960 ± 945	62.0 ± 11.8	4.8 ± 1.2	0.45 ± 0.02
01/02/96	Sans Huître	8423 ± 1056	42.6 ± 26.5	5.2 ± 4.2	0.34 ± 0.03
01/02/96	Avec Huîtres	7100 ± 1091	33.9 ± 9.8	4.9 ± 3.3	0.30 ± 0.04
21/02/96	Sans Huître	12800 ± 113	47.0 ± 10.7	3.7 ± 0.8	0.45 ± 0.00
21/02/96	Avec Huîtres	13933 ± 581	61.1 ± 12.0	4.4 ± 1.2	0.47 ± 0.01
06/03/96	Sans Huître	10283 ± 781	25.4 ± 32.3	2.4 ± 2.8	0.39 ± 0.02
06/03/96	Avec Huîtres	11050 ± 686	26.7 ± 12.4	2.4 ± 1.1	0.41 ± 0.01
19/03/96	Sans Huître	14133 ± 2391	35.7 ± 28.7	2.5 ± 1.3	0.47 ± 0.04
19/03/96	Avec Huîtres	13000 ± 1821	39.8 ± 7.7	3.1 ± 1.3	0.45 ± 0.03
28/03/96	Sans Huître	12100 ± 1604	24.0 ± 22.2	2.1 ± 2.4	0.43 ± 0.03
28/03/96	Avec Huîtres	12817 ± 1986	32.9 ± 16.4	2.6 ± 1.6	0.44 ± 0.04
17/04/96	Sans Huître	9000 ± 792	22.7 ± 5.7	2.5 ± 0.8	0.36 ± 0.02
17/04/96	Avec Huîtres	11100 ± 911	41.5 ± 5.9	3.7 ± 0.6	0.41 ± 0.02
29/04/96	Sans Huître	15133 ± 682	38.6 ± 6.8	2.5 ± 0.3	0.49 ± 0.01
29/04/96	Avec Huîtres	15017 ± 461	31.2 ± 4.9	2.1 ± 0.2	0.48 ± 0.01

Tableau 18 : Résultats des ANOVA à deux facteurs pour la comparaison des paramètres densité numérique en cellule produite, taux de division, chlorophylle *a* produite et chlorophylle *a* intracellulaire entre la claire avec huîtres et la claire sans huître et entre les eaux entrantes dans les claires et celles y ayant séjourné.

Paramètres	Facteur	Ddl	F	p
Densité numérique en cellule	Claire	1	0.216	0.645
	Origine eau	1	1.732	0.195
	Claire x Origine eau	1	0.202	0.655
Taux de division	Claire	1	0.202	0.655
	Origine eau	1	2.271	0.139
	Claire x Origine eau	1	0.370	0.546
Chl <i>a</i> produite	Claire	1	1.114	0.297
	Origine eau	1	18.464	<0.001 ***
	Claire x Origine eau	1	2.076	0.157
Chl <i>a</i> intracellulaire	Claire	1	0.248	0.621
	Origine eau	1	58.697	<0.001 ***
	Claire x Origine eau	1	2.534	0.119

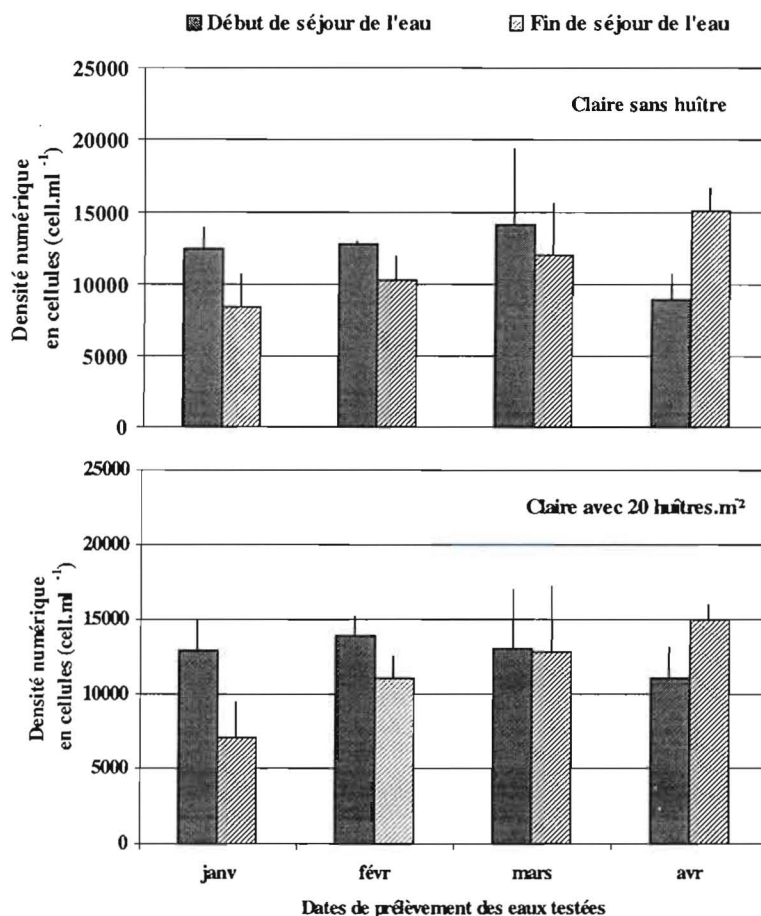


Figure 24 : Densité numérique maximale obtenue après culture d'*Haslea ostrearia* sur les eaux provenant d'une claire sans huître et d'une claire où la densité en huîtres est de 20 au m<sup>2</sup>.

Au contraire, si l'on s'intéresse aux concentrations en chlorophylle *a* produite, et par déduction aux contenus intracellulaires en chlorophylle *a* après culture, on remarque très nettement que les valeurs observées tendent à baisser pour des eaux ayant séjourné dans les claires par rapport aux eaux nouvellement entrées (Tableau 17). Ces valeurs sont comprises dans la gamme de valeurs observée par Robert (1983) pour les eaux des claires ostréicoles de la baie de Bourgneuf. L'analyse statistique (Tableau 18) ne montre aucune différence entre les deux claires, cependant une différence hautement significative ( $p < 0.001$ ) est mise en évidence entre eaux entrantes dans les claires et la même eau après séjour dans les bassins, mais l'analyse croisée ne montre plus cette différence entre origine de l'eau pour chaque claire. On peut cependant supposer, par cette diminution non significative des quantités de chlorophylle *a* produites, que les potentialités des eaux ayant séjourné dans les claires sont différentes. On s'aperçoit donc que les concentrations en chlorophylle *a* présentent une variabilité plus importante que les densités numériques en cellules. La faible



diminution de biomasse potentielle produite en terme de cellule s'accompagne d'une baisse plus nette de la biomasse potentielle en terme de chlorophylle *a* produite. On peut donc supposer l'intervention d'oligo-éléments qui entrent dans les processus de synthèse de la chlorophylle *a*, comme certains métaux, le fer par exemple qui est un cofacteur essentiel de la synthèse de chlorophylle (Bienfait et Van der Mark, 1983; Martin *et al.*, 1991).

### 2-3-2 Relation entre fertilité potentielle et richesse nutritive des eaux

Comme Robert (1983) l'a montré, il existe un lien étroit entre fertilité et teneurs en sels nutritifs. Il qualifie d'eau les plus fertiles, celles qui permettent l'obtention *in vitro* de 15 à 35  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de Chl *a*, alors que les eaux les moins fertiles ne produisent qu'entre 5 et 15  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Dans la présente étude les valeurs observées sont comprises dans la gamme des eaux les plus fertiles, ce qui atteste d'une bonne richesse nutritionnelle des eaux des claires ostréicoles du marais expérimental, mais aussi des eaux de l'estuaire de la Seudre qui alimentent ces claires.

Si l'on regarde les concentrations en sels nutritifs (figure 25) pour les eaux testées entre janvier et fin avril 1996, on remarque que ces concentrations sont très proches de celles décrites par Robert (1983). Les différences entre les deux claires étudiées sont très peu marquées, sauf pour les teneurs en ammonium qui sont généralement plus fortes dans la claire avec huîtres que dans la claire sans huître, ceci s'explique aisément par les phénomènes d'excrétion des bivalves. Pour les nitrites et les nitrates, il y a un épuisement important mais pas total du stock en nutriment entre le début d'alimentation et la fin de séjour de l'eau dans les claires. Ceci est beaucoup moins net pour les concentrations en silicates et phosphates qui ne se modifient que très peu. Robert en 1983 avait déjà remarqué ce phénomène, il notait après 8 à 10 jours après l'alimentation en eau des claires un épuisement partiel du stock d'azote total dissous, les eaux contenant encore entre 3 à 10  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , sans qu'il y ait d'évolution sensible des teneurs en silicates et en phosphates.

Dans les claires, durant la période d'étude, on remarque que le stock d'azote est partiellement épuisé après séjour de l'eau, et que les nitrates qui représentent en moyenne près de 93.7 % et 95.9 % de la réserve en azote total minéral dissous juste après alimentation dans la claire avec huître et dans la claire sans huîtres respectivement, ne représentent plus que 49.1 et 69.7 % après séjour de l'eau dans les deux claires. La valeur plus faible de ce pourcentage pour la première claire s'explique par les concentrations en ammonium plus élevées dues à

l'excrétion des huîtres présentes, et par la présence d'éléments et composés organiques azotés excrétés par les mollusques et directement assimilables par les microalgues.

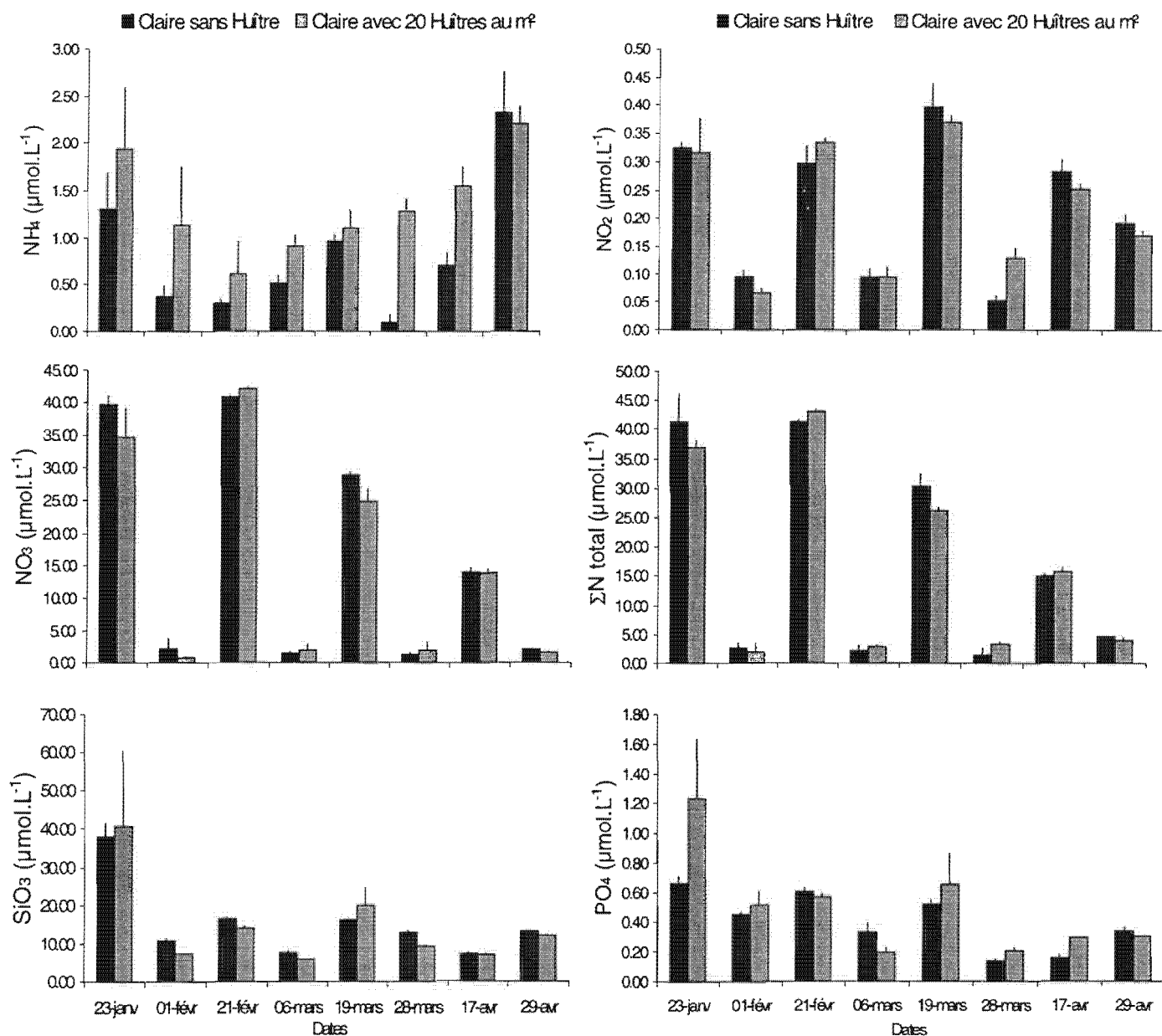


Figure 25 : Concentrations en sels nutritifs (ammonium, nitrites, nitrates, azote minéral total dissous, silicates dissous, et phosphore minéral dissous) des eaux testées dans la claire sans huître et la claire contenant 20 huîtres au m<sup>2</sup>. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance.



On note également que les eaux hivernales (23 janvier 96) sont plus riches que les eaux printanières (17 avril 1996), ainsi on retrouve la saisonnalité observée dans le chapitre II pour les eaux de l'estuaire de la Seudre.

Il paraissait donc important de vérifier s'il existe bien une relation entre biomasse produite et richesse nutritive des eaux testées. Nous avons recherché s'il existe une corrélation entre quantité en nutriments présents (azote total minéral dissous, phosphore minéral dissous et silicates) et biomasse produite en terme de densité numérique en cellules et chlorophylle *a*. Ensuite par analyse statistique, pour les corrélations significatives, nous avons comparé les régressions linéaires obtenues, afin de voir s'il existe des différences significatives entre les deux claires. Les régressions linéaires sont présentées dans la figure 26.

Aucune régression significative ( $p < 0.05$ ) n'est mise en évidence entre le nombre de cellules produites et les teneurs en nutriment présentes. Par contre pour l'autre estimateur de biomasse qu'est la chlorophylle *a*, il existe des relations significatives entre quantités de nutriment présentes et biomasses produites. Les résultats de ces régressions linéaires significatives, ainsi que les comparaisons entre les deux claires sont regroupés dans le Tableau 19.

Tableau 19 : Résultats des corrélations entre chlorophylle *a* produite et quantité de nutriments initialement présente dans les eaux étudiées. Equations des droites de régression avec leurs coefficients de détermination  $R^2$ , la valeur du test F, et la significativité de la relation. Comparaison des pentes et des ordonnées à l'origine des droites de régression pour les deux claires :  $t_{obs}$  : valeur du test t observée, ns : test non significatif ( $p > 0.05$ ).

Claire	Droite de régression	$R^2$	F	p	Pente		Ordonnée à l'origine	
					$t_{obs}$	p	$t_{obs}$	p
Claire avec huîtres	$Chl\ a = 0.76*(N) + 28.24$	0.91	62.8	***	0.778	ns	0.035	ns
Claire sans huître	$Chl\ a = 0.55*(N) + 28.03$	0.47	5.4	*				
Claire avec huîtres	$Chl\ a = 1.37*(Si) + 22.67$	0.57	7.8	**	0.804	ns	1.224	ns
Claire sans huître	$Chl\ a = 1.95*(Si) + 9.43$	0.71	14.7	***				
Claire avec huîtres	$Chl\ a = 63.11*(P) + 16.13$	0.73	16.4	***	0.197	ns	0.175	ns
Claire sans huître	$Chl\ a = 58.87*(P) + 14.51$	0.73	15.9	***				

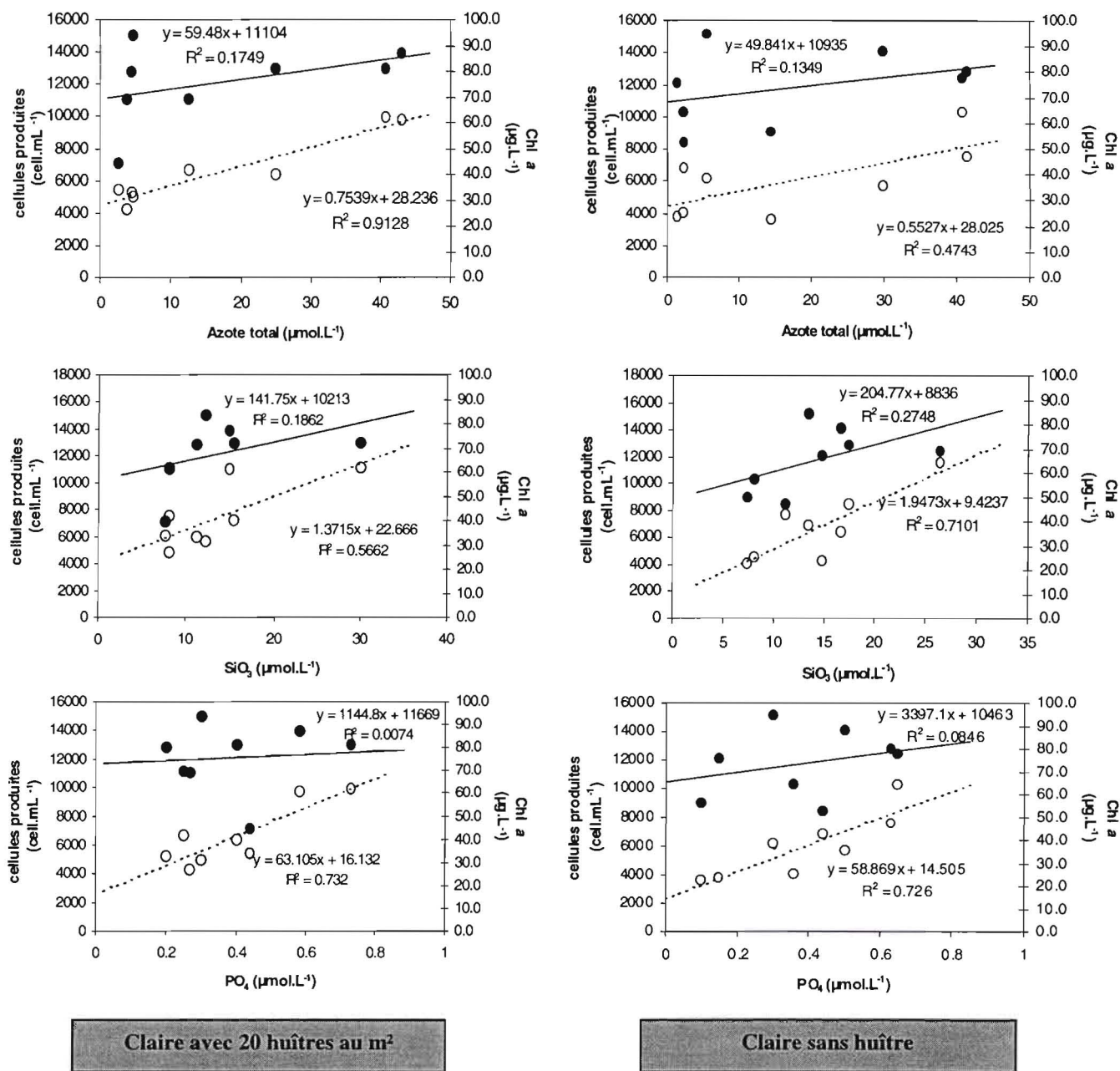


Figure 26 : Corrélations entre biomasses produites *in vitro* (densité numérique en cellule, chlorophylle *a*) et les concentrations initiales en azote total, silicates et phosphates présent dans les eaux des deux claires.

La comparaison des pentes et des ordonnées à l'origine, après vérification de l'équivalence, montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les deux claires étudiées entre les droites de régressions observées entre quantité de nutriments présentes et chlorophylle *a* produite. Il n'y a donc pas d'influence significative des huîtres, à la densité de 20 individus par m<sup>-2</sup> avec laquelle nous avons travaillé, sur la biomasse potentielle produite en terme de chlorophylle *a*.

### 2-3-3 Rendements d'utilisation des sels nutritifs - indice de fertilité.

Le tableau 20 présente les résultats se rapportant à l'estimation des rendements d'utilisation des sels nutritifs, soit l'indice de fertilité ou "yield index" défini par Maestrini et Robert (1979). Cet indice exprime une biomasse produite par rapport à une quantité de nutriment consommée. Dans ce tableau sont figurés également les résultats des tests-t ayant pour objet la comparaison des deux claires ostréicoles étudiées.

Tableau 20 : Biomasses produites par  $\mu$ moles d'azote ( $\Sigma N$ ), de silicates ( $SiO_3$ ) et de phosphore ( $PO_4$ ) consommées par *Haslea ostrearia* après culture sur les eaux provenant des deux claires ostréicoles en début de séjour et en fin de séjour des eaux. Les biomasses sont exprimées en  $10^4$  cellules et en  $\mu g$  de chl *a* produites. La probabilité p correspond au résultat d'un test-t comparant les indices de fertilité entre les deux claires. ns : test non significatif.

Indice de fertilité	Début de séjour des eaux			Fin de séjour des eaux		
	Claire avec huîtres	Claire sans huître	p	Claire avec huîtres	Claire sans huître	p
$10^4$ cell. $\mu$ mol $N^{-1}$	55.5 $\pm$ 13.5	51.0 $\pm$ 8.4	ns	356.3 $\pm$ 93.9	539.9 $\pm$ 196.8	ns
$10^4$ cell. $\mu$ mol $Si^{-1}$	78.0 $\pm$ 19.3	77.6 $\pm$ 17.0	ns	106.2 $\pm$ 10.6	84.6 $\pm$ 15.5	**
$10^4$ cell. $\mu$ mol $P^{-1}$	4908.8 $\pm$ 1120.8	3846.1 $\pm$ 1590.2	ns	13060.3 $\pm$ 5863.1	8810.8 $\pm$ 5358.3	ns
$\mu g$ chl <i>a</i> . $\mu$ mol $N^{-1}$	2.6 $\pm$ 0.6	2.0 $\pm$ 0.3	ns	9.8 $\pm$ 2.1	19.5 $\pm$ 10.0	ns
$\mu g$ chl <i>a</i> . $\mu$ mol $Si^{-1}$	3.6 $\pm$ 0.8	3.0 $\pm$ 0.5	ns	3.9 $\pm$ 1.3	2.9 $\pm$ 0.8	ns
$\mu g$ chl <i>a</i> . $\mu$ mol $P^{-1}$	223.3 $\pm$ 49.6	152.2 $\pm$ 50.6	**	375.2 $\pm$ 170.4	257.7 $\pm$ 134.7	ns

De prime abord, en regardant ces valeurs, comme le montrent les tests statistiques, on remarque que dans la majorité des cas, il n'existe pas de différences significatives entre les deux claires en fonction de chaque origine de l'eau testée (sauf pour les eaux nouvellement entrées dans les claires par rapport à la quantité de chlorophylle *a* produite par  $\mu$ moles de phosphates consommées, et pour les densités numériques en cellules produites par  $\mu$ moles de silicates consommées pour les eaux ayant séjourné dans les claires). Par contre, il est intéressant de noter que les valeurs de l'indice de fertilité sont toujours supérieures après séjour de l'eau dans les claires par rapport aux valeurs observées de cet indice en début de séjour de l'eau, et ce quelle que soit la source de nutriments. Les écarts les plus importants sont observés pour l'azote total dissous et les phosphates, alors que pour les silicates l'augmentation de l'indice de fertilité est moins significative. On pourrait donc penser, étant donné que l'on produit plus de biomasse par  $\mu$ moles de nutriments consommées, que les eaux après séjour sont plus fertiles. En fait comme nous l'avons vu précédemment les

teneurs en nutriments globalement ont tendance à diminuer dans les claires durant le séjour de l'eau, alors que les quantités de cellules et de chlorophylle *a* potentiellement produites ne diffèrent pas statistiquement (tableau 18) suivant l'origine de l'eau pour chaque claire étudiée. On peut donc penser de façon certaine que des formes nutritives, non prises en compte dans nos analyses, jouent un rôle important dans la fertilité des eaux ayant séjourné dans les claires. Comme Robert (1983) l'a évoqué, il s'agirait de formes organiques de l'azote qui contribueraient à la nutrition azotée des algues. Robert *et al.* (1982) ont trouvé des concentrations moyennes en azote organique dissous des eaux de surface de claires de la région de Marennes-Oléron de l'ordre de 30.8  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  dans une claire sans huître, de 28.2  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  dans une claire avec 4 huîtres par  $\text{m}^2$  et de 34.3  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  dans une claire avec 22 huîtres par  $\text{m}^2$ .

Dans le tableau 21 nous avons résumé les résultats expérimentaux liés au calcul des indices de fertilité d'eaux provenant de claires ostréicoles ou bien de zones d'intérêts conchylicoles. Ainsi les travaux de Maestrini et Robert (1981) concernent les eaux alimentant les claires ostréicoles de la région de la baie de Bourgneuf. Les travaux de Marion (1985) se rapportent aux eaux d'origine néritique de la baie de Bourgneuf. Quant aux travaux de Ravail (1986), ils concernent les claires ostréicoles de Mesquer (Loire-Atlantique).

Tableau 21 : Synthèse des valeurs observées pour les différents indices de fertilité estimées pour l'algue test *Haslea ostrearia*. EE : eau nouvellement entrée ; ES : après séjour de cette eau dans les claires.

Indice de fertilité	Maestrini et Robert (1981)	Marion (1985)	Ravail (1986)	Présente étude	
				EE	ES
$10^4$ cell. $\mu\text{mol N}^{-1}$	67 – 173	130	18.6 – 24.2	51.0 – 55.5	356.3 – 539.9
$10^4$ cell. $\mu\text{mol Si}^{-1}$	55 - 115	490	5.5 – 19.3	77.6 – 78.0	84.6 – 106.2
$10^4$ cell. $\mu\text{mol P}^{-1}$	1222 – 2100	1060	108.7 – 429.2	3846.1 – 4908.8	8810.8 – 13060.3
$\mu\text{g chl } a.\mu\text{mol N}^{-1}$	1.9 – 4.9	1.5	0.4 – 0.9	2.0 – 2.6	9.8 – 19.5
$\mu\text{g chl } a.\mu\text{mol Si}^{-1}$	2.1 – 3.2	4.5	0.2 – 0.4	3.0 – 3.6	2.9 – 3.9
$\mu\text{g chl } a.\mu\text{mol P}^{-1}$	37.2 - 49.3	11.5	4.3 – 8.3	152.2 – 223.3	257.7 – 375.2

Si l'on regarde le tableau 21, on remarque une grande variabilité dans les résultats. Les résultats de Ravail (1986) présentent des valeurs faibles par rapport aux autres auteurs, ceci peut s'expliquer peut être par l'origine des eaux qui ne proviennent pas d'une baie à caractère conchylicole, mais se rapproche plus d'eaux d'origine océanique. Notre étude pour les eaux nouvellement entrées dans les claires présente des valeurs d'indices de fertilité comparables

à celles observées par Maestrini et Robert (1981), tout en restant plus faibles que celles de Marion (1985) sauf pour les valeurs de rendement d'utilisation en phosphates.

### 2-3-4 Discussion

Pour les eaux nouvellement entrées dans les claires, l'azote présente pour les rendements d'assimilation aussi bien en terme de densité numérique qu'en terme de chlorophylle *a* produite, les valeurs les plus faibles, par rapport aux silicates et les phosphates. *A contrario* ce sont les phosphates qui possèdent les valeurs les plus élevées ; celles correspondant aux silicates ayant des valeurs se rapprochant de celles observées pour l'azote total.

Après séjour de l'eau dans les claires, les rendements d'assimilation augmentent sensiblement pour l'azote total dissous et les phosphates, alors que pour les silicates l'augmentation n'est que très légère. Ceci a déjà été observé par Maestrini et Robert (1981), qui ont montré que la présence en plus grandes quantités de substances organiques azotées et phosphorées pouvaient être assimilées par les algues, comme par exemple l'urée et les acides aminés.

En référence aux travaux de Redfield (1934) et Brzezinski (1985), qui considèrent que les proportions naturelles de moles d'azote, de phosphore et de silicates présents dans les diatomées sont identiques à leurs rapports d'assimilation, le rapport des rendements moyens de production entre la biomasse produite par  $\mu$ mole de phosphore consommée et la biomasse produite par  $\mu$ mole d'azote consommée peut être comparé à la valeur théorique de 16:1. Toute valeur supérieure à cette valeur de référence résulte d'une déficience en phosphore par rapport à l'azote, et par voie de conséquence traduit une limitation de la production algale par les phosphates. Inversement une valeur inférieure à 16:1 indique une limitation par l'azote inorganique dissous. Le tableau 22 présente les valeurs obtenues pour les rapports des rendements moyens de production observés au cours de nos expérimentations.

Tableau 22 : Rapports des rendements moyens de production de biomasse (quantité de biomasse produite par  $\mu$ moles de nutriments consommées : P, phosphates ; N, azote minéral ; Si, silicates) pour les deux claires étudiées en fonction de l'origine de l'eau testée.

Rapport	Début de séjour des eaux		Fin de séjour des eaux	
	Claire avec huîtres	Claire sans huître	Claire avec huîtres	Claire sans huître
$R_P / R_N$	$96.6 \pm 40.3$	$87.2 \pm 35.1$	$43.9 \pm 13.7$	$21.4 \pm 14.1$
$R_{Si} / R_N$	$1.4 \pm 0.1$	$1.5 \pm 0.2$	$0.3 \pm 0.1$	$0.2 \pm 0.1$



A ce stade de l'analyse, au vu des valeurs élevées du rapport entre les rendements d'utilisation obtenus pour les phosphates et l'azote minéral dissous, on peut dire que le phosphore serait le premier facteur limitant dans les eaux des claires ostréicoles pour la période d'étude.

Après séjour de l'eau dans les claires, ce rapport tend à diminuer fortement se rapprochant de la valeur de 16:1 du fait de la diminution des teneurs en azote total dissous dans les eaux (Figure 25). L'examen du rapport  $R_{Si} / R_N$  permet de montrer des valeurs supérieures à la valeur théorique de 1, avec des eaux nouvellement entrées. Les silicates seraient alors le deuxième facteur limitant dans les eaux nouvellement entrées dans les claires. Par contre comme précédemment, ce rapport tend vers 0 après séjour des eaux dans les claires, l'azote minéral dissous se retrouverait alors le principal facteur limitant.

Ces premières observations, mises en comparaison avec des valeurs théoriques habituellement utilisées, ont permis de décrire dans un premier temps, les potentialités nutritionnelles des eaux des claires ostréicoles du marais expérimental de la Tremblade vis à vis de la diatomée *Haslea ostrearia*. Cependant elles ne collent pas suffisamment à la réalité, par rapport à la présence importante dans les écosystèmes ostréicoles de substances et composés organiques intervenant dans la fertilité des eaux de ces bassins (Robert *et al.*, 1982). C'est pourquoi, l'approche expérimentale supplémentaire utilisant les tests d'enrichissements différentiels s'imposait afin de vérifier l'ordre de limitation des éléments nutritifs majeurs, suggéré précédemment à partir des rapports de Redfield.

### **3 RECHERCHE DU OU DES FACTEUR(S) LIMITANT(S) LA PRODUCTION D'*HASLEA OSTREARIA*.**

La combinaison de divers nutriments sous forme d'enrichissements permet de préciser, au laboratoire, leur ordre de limitation de la production de biomasse algale. Cette technique fût utiliser la première fois par Schreiber (1927). Depuis les années 1970, de nombreux auteurs ont développé des protocoles expérimentaux utilisant cette méthode afin d'étudier les éléments limitant la croissance de peuplements ou bien de populations d'algues unicellulaires (e.g. Berland *et al.*, 1973 ; Charpy-Roubaud *et al.*, 1982 ; Maestrini et Robert, 1981 ; Klapwijk *et al.*, 1989 ; Barbosa, 1989 ; Nishijima et Hata, 1991 ; Lukavsky, 1992; Maestrini *et al.*, 1997). Un article de synthèse de Maestrini *et al.* (1984) présente l'intérêt et les limites de cette méthodologie.

Ces tests sont réalisés *in vitro* en conditions contrôlées de température et d'éclairement, non limitantes. Les macro-éléments azote, phosphore et silicates ainsi que les oligo-éléments métalliques et vitamines sont les plus souvent retenus pour ces bioessais. Le principe de ces tests est basé sur la loi de Liebig (1840) : la croissance d'un être vivant à un moment donné est limitée par un facteur unique. L'augmentation artificielle de la quantité de ce facteur s'accompagne de la poursuite de la croissance jusqu'à ce qu'un nouveau facteur intervienne à son tour dans la limitation de cette croissance. Dans ces bioessais, le terme d'être vivant est désigné comme étant une population algale unicellulaire. Comme les tests de fertilité, ils font donc appel à une ou plusieurs algues tests ou bien à un peuplement naturel.

#### **3-1 Matériels et méthodes : les enrichissements différentiels**

Les eaux utilisées pour les tests d'enrichissements différentiels sont les mêmes que celles collectées pour les tests de fertilité (Voir Tableau 13). Ainsi 18 campagnes de prélèvements ont été réalisées entre novembre 1994 et avril 1996. Les mêmes protocoles de prélèvements, de filtrations, de conditionnements ont été utilisés (Voir § 2-2). Chaque enrichissement est réalisé en triplicata. La composition et les différentes combinaisons d'enrichissements sont présentées dans le tableau 23.

Tableau 23 : Nature et concentrations des éléments et composés utilisés pour la confection des enrichissements lors des expérimentations en 1994-95 et 1996.

Date	Nature et concentration des éléments et composés après enrichissement		Forme chimique utilisée	Composition des enrichissements
Année 94-95	N	100 µM	NaNO <sub>3</sub>	Témoin
	P	6,25 µM	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 3 H <sub>2</sub> O	N
	Si	100 µM	Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> , 5 H <sub>2</sub> O	P
	Fe	2 µM	FeCl <sub>3</sub> , 6 H <sub>2</sub> O	N+P
	Mn	1 µM	MnCl <sub>2</sub> , 4 H <sub>2</sub> O	N+P+Si
	EDTA	Equimolaire à la concentration en métal ajoutée	Na <sub>2</sub> EDTA	Fe+EDTA
				Mn+EDTA
			Fe+Mn+EDTA	
			N+P+Si+Fe+EDTA	
			N+P+Si+Fe+Mn+EDTA	
Année 96	N	100 µM	NaNO <sub>3</sub>	Témoin
	P	6,25 µM	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 3 H <sub>2</sub> O	N
	Si	100 µM	Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> , 5 H <sub>2</sub> O	P
				Si
				N+P
				N+Si
				P+Si
			N+P+Si	

Les concentrations en nutriments utilisées sont supérieures à celles présente dans l'eau de mer en général, afin que l'enrichissement se traduise par une croissance significativement plus forte que celle observée sur un témoin non enrichi, et suffisamment faibles pour que les voies métaboliques d'assimilation soient les mêmes qu'*in situ*.

L'inoculum de l'algue test *Haslea ostrearia* est préparé une semaine avant l'ensemencement, afin d'obtenir une biomasse suffisante, il est passé 48 heures sur eau de mer pauvre, afin d'épuiser les cellules algales de leurs réserves potentielles (Berland *et al.* 1973, Maestrini et Robert, 1981). Chaque erlenmeyer, contenant 300mL d'eau à tester, est ensuite enrichi ou non (cas des témoins) avec 1 mL de solution mère stérile de chaque nutriment, de sorte que les concentrations initiales de nutriments apportés soient identiques à celles décrites dans le tableau 23. L'inoculum axénique est ajouté dans les erlenmeyers de façon à obtenir une densité numérique initiale en cellules de 2000 cellules.mL<sup>-1</sup>. Les cultures sont ensuite mises en incubation à température constante de 15°C, sous un éclaircment de 100 µmoles de photons.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, avec une photopériode jour-nuit de 14h-10h.

Des numérations cellulaires journalières à partir du quatrième jour de culture sont effectuées. A partir de 1996, des filtrations sont réalisées sur filtre GF/F de 2.5 cm de diamètre au pic de croissance (phase de plateau), pour estimer les teneurs en chlorophylle  $a$ , phéopigments. Au début de l'expérimentation et après les tests d'enrichissements différentiels, l'eau est analysée à l'auto-analyseur SKALAR (pour l'estimation des concentrations en  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{SiO}_3$ , et  $\text{PO}_4$ ), et l'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4$ ) est dosé manuellement selon les méthodes déjà décrites.

Les expériences réalisées entre novembre 94 et avril 95 avaient un caractère préparatoire (mise au point du protocole, perfectionnement de la technique), car ces tests réalisés en triplicata sont lourds à mettre en place au niveau logistique ainsi qu'en terme de suivi des cultures et d'analyses des échantillons. Au tout départ, nous avons choisi d'intégrer les métaux (Fer et Manganèse) qui sont connus pour leur importance physiologique pour les microalgues, notamment les diatomées. Les résultats observés nous ont conduit, pour les expérimentations de 1996, à modifier les enrichissements : nous avons décidé de ne plus étudier le caractère limitant ou non des métaux, et avons préféré affiner le spectre d'enrichissements en ne considérant que trois nutriments majeurs, les nitrates, les phosphates et les silicates, en ayant toutes les combinaisons possibles d'enrichissements (tableau 23). C'est pour cette raison que le nombre d'enrichissement différents est passé de 10 (1994-95) à 8 (1996). De plus en 1996, les eaux provenant des deux claires suivies lors des tests de fertilité ont également été étudiées par la technique des enrichissements différentiels, afin de savoir si la présence des huîtres à la densité de 20 individus au  $\text{m}^2$  a une influence ou non dans l'ordre de limitation de éléments nutritifs.

## **3-2 Résultats**

### **3-2-1 Eaux récoltées en 1994-1995**

Les résultats des tests d'enrichissements différentiels sont présentés dans la figure 27 et les moyennes des biomasses maximales produites et des taux de division observés sont consignés dans le tableau 24.

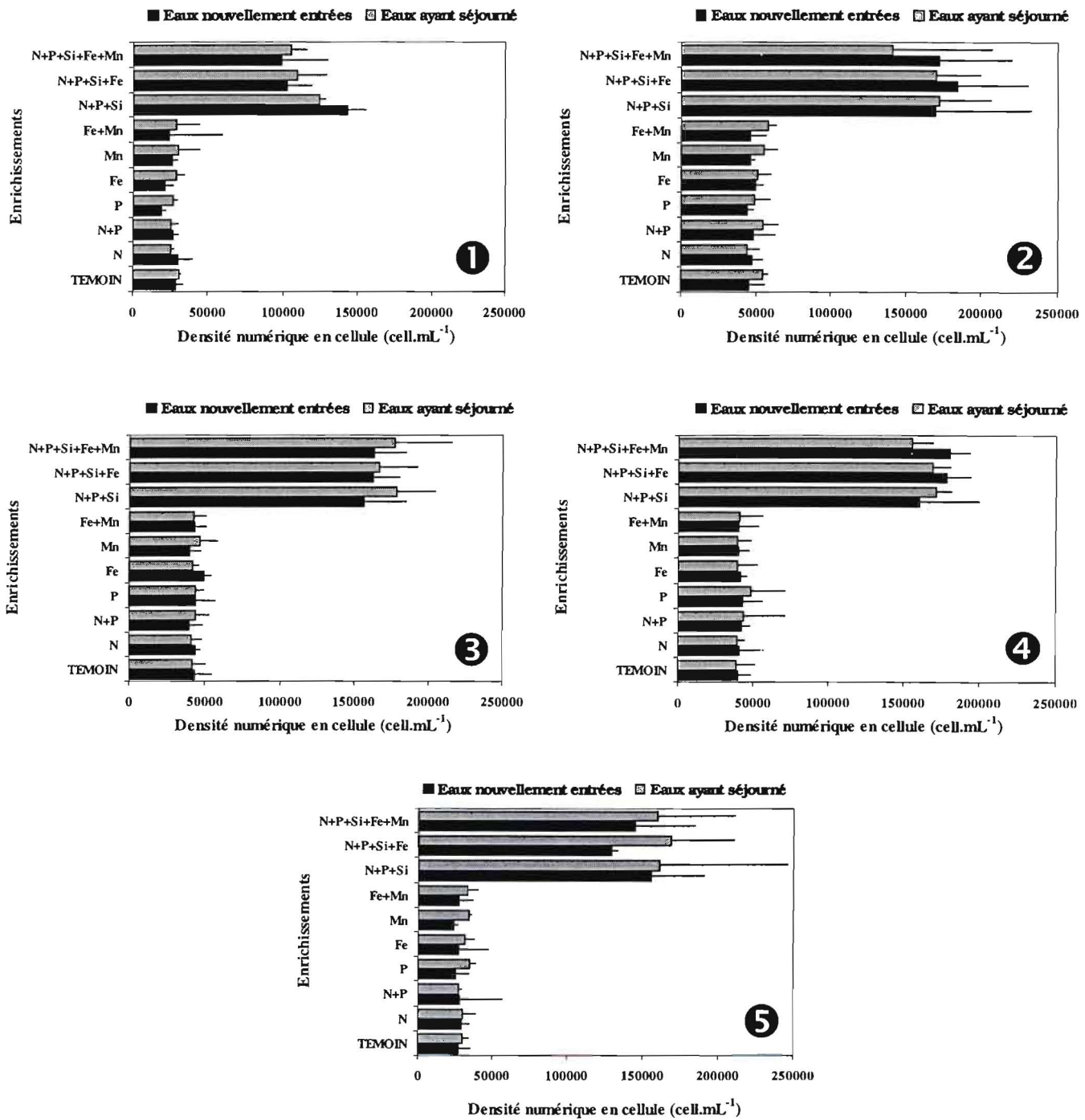


Figure 27 : Biomasses maximales moyennes produites par l'algue test *Haslea ostrearia* en présence des différents mélanges enrichissants. Les graphiques sont regroupés par dates de prélèvements, comme suit, ① : novembre 94; ② : décembre 94; ③ : janvier 95; ④ : mars 96; ⑤ : avril 96. Les barres représentent l'intervalle de confiance à 95 %. Les métaux Fe et Mn sont toujours ajoutés chélatés avec de l'EDTA.

Tableau 24 : Biomasses maximales moyennes produites et taux de division moyens observés lors des expérimentations de 1994-1995 pour les différents enrichissements utilisés. Les moyennes sont encadrées par l'intervalle de confiance à 95 %. Les colonnes blanches correspondent aux eaux nouvellement entrées dans la claire alors que les colonnes grisées correspondent aux eaux ayant séjourné dans la claire. Les métaux Fe et Mn sont toujours ajoutés chélatés avec de l'EDTA.

ENRICHISSEMENTS	02/11/94	17/11/94	01/12/94	15/12/94	18/01/95	30/01/95	01/03/95	14/03/95	18/04/95	27/04/95
Biomasse (cell.mL <sup>-1</sup> )										
<b>TEMOIN</b>	29000 ± 4367	30770 ± 1691	45500 ± 10612	54670 ± 3586	43330 ± 11763	41830 ± 9269	40430 ± 8513	39120 ± 12165	27500 ± 7757	29830 ± 3993
<b>N</b>	30400 ± 9582	24970 ± 2308	47170 ± 7278	43670 ± 8724	43600 ± 3478	41070 ± 6817	41170 ± 15825	39500 ± 5205	29070 ± 5534	30330 ± 8455
<b>N+P</b>	26900 ± 3360	25200 ± 4739	48000 ± 14905	54170 ± 10564	39730 ± 8920	43830 ± 9322	42070 ± 5557	43430 ± 27803	28250 ± 28589	27230 ± 1864
<b>P</b>	19130 ± 2550	26670 ± 2586	43830 ± 4702	48670 ± 10709	44000 ± 12908	43570 ± 5667	43030 ± 13564	48300 ± 23228	25330 ± 8724	35030 ± 3851
<b>Fe</b>	20670 ± 6252	28700 ± 5821	49670 ± 4702	51170 ± 8812	49170 ± 4825	42030 ± 3620	41430 ± 4276	39500 ± 13421	27100 ± 20330	31400 ± 6516
<b>Mn</b>	25570 ± 4023	29830 ± 14396	46170 ± 2868	53330 ± 8985	39370 ± 7746	46470 ± 11914	40230 ± 7045	39370 ± 9128	23750 ± 3177	34330 ± 1897
<b>Fe+Mn</b>	24000 ± 35577	28930 ± 15235	46330 ± 10040	57670 ± 5601	43000 ± 7713	42770 ± 7997	40530 ± 12985	40800 ± 15587	27250 ± 9530	33530 ± 6527
<b>N+P+Si</b>	143000 ± 12706	123830 ± 4174	170000 ± 62364	172670 ± 33727	155670 ± 28577	178200 ± 25967	160500 ± 39804	171830 ± 10116	155750 ± 34942	161000 ± 84643
<b>N+P+Si+Fe</b>	102300 ± 16518	109270 ± 19688	184670 ± 45558	170670 ± 29111	162270 ± 17812	166230 ± 26177	178530 ± 16254	169700 ± 11212	128850 ± 4447	169030 ± 41546
<b>N+P+Si+Fe+Mn</b>	98830 ± 30635	105130 ± 10473	172670 ± 47546	141330 ± 66359	163000 ± 21224	177070 ± 38417	180830 ± 12928	155470 ± 14282	145100 ± 39389	160170 ± 50945
Taux de division (div.J <sup>-1</sup> )										
<b>TEMOIN</b>	0.55 ± 0.03	0.66 ± 0.01	0.75 ± 0.06	0.79 ± 0.02	0.74 ± 0.06	0.73 ± 0.05	0.72 ± 0.05	0.71 ± 0.08	0.63 ± 0.07	0.65 ± 0.03
<b>N</b>	0.56 ± 0.07	0.61 ± 0.02	0.76 ± 0.04	0.74 ± 0.05	0.74 ± 0.02	0.73 ± 0.04	0.72 ± 0.09	0.72 ± 0.03	0.64 ± 0.05	0.65 ± 0.07
<b>N+P</b>	0.54 ± 0.03	0.61 ± 0.05	0.76 ± 0.08	0.79 ± 0.05	0.72 ± 0.05	0.74 ± 0.05	0.73 ± 0.03	0.73 ± 0.15	0.64 ± 0.24	0.63 ± 0.02
<b>P</b>	0.46 ± 0.03	0.62 ± 0.02	0.74 ± 0.03	0.77 ± 0.05	0.74 ± 0.07	0.74 ± 0.03	0.74 ± 0.07	0.76 ± 0.11	0.61 ± 0.08	0.69 ± 0.03
<b>Fe</b>	0.48 ± 0.06	0.64 ± 0.05	0.77 ± 0.02	0.78 ± 0.04	0.77 ± 0.02	0.73 ± 0.02	0.73 ± 0.03	0.72 ± 0.08	0.63 ± 0.18	0.66 ± 0.05
<b>Mn</b>	0.52 ± 0.03	0.65 ± 0.12	0.75 ± 0.01	0.80 ± 0.04	0.72 ± 0.05	0.76 ± 0.06	0.72 ± 0.04	0.72 ± 0.05	0.59 ± 0.03	0.68 ± 0.01
<b>Fe+Mn</b>	0.51 ± 0.31	0.64 ± 0.12	0.75 ± 0.05	0.81 ± 0.02	0.74 ± 0.04	0.74 ± 0.04	0.72 ± 0.08	0.72 ± 0.09	0.63 ± 0.08	0.68 ± 0.05
<b>N+P+Si</b>	0.88 ± 0.02	0.99 ± 0.01	1.07 ± 0.09	1.07 ± 0.05	1.05 ± 0.04	1.08 ± 0.04	1.05 ± 0.06	1.07 ± 0.01	1.05 ± 0.05	1.05 ± 0.12
<b>N+P+Si+Fe</b>	0.81 ± 0.03	0.96 ± 0.04	1.09 ± 0.06	1.07 ± 0.04	1.06 ± 0.03	1.06 ± 0.04	1.08 ± 0.02	1.07 ± 0.02	1.00 ± 0.01	1.07 ± 0.06
<b>N+P+Si+Fe+Mn</b>	0.80 ± 0.06	0.95 ± 0.02	1.07 ± 0.06	1.02 ± 0.12	1.06 ± 0.03	1.08 ± 0.05	1.08 ± 0.02	1.05 ± 0.02	1.03 ± 0.07	1.05 ± 0.08

L'examen des 5 graphiques de la figure 27 montre que pour chaque campagne d'échantillonnage (au moment de l'entrée de l'eau dans la claire et après son séjour), on observe le même profil d'histogramme. Il n'y a pas de différences quant aux biomasses produites avec des eaux nouvellement entrées dans la claire et les mêmes eaux après stabulation dans celle-ci. Par contre, des différences importantes sont observées entre les divers mélanges enrichissants.

Trois enrichissements se caractérisent par des biomasses maximales produites largement plus importantes que celles observées pour le témoin non enrichi. Ces trois enrichissements sont les mélanges N+P+Si, N+P+Si+Fe~EDTA, et N+P+Si+(Fe+Mn)~EDTA. Le reste des autres mélanges enrichissants ne permet pas d'obtenir des biomasses très différentes de celles observées pour le témoin. Au regard du tableau 24, on observe pour chaque mélange enrichissant, une certaine homogénéité des résultats aussi bien pour les biomasses produites que pour les taux de divisions journaliers observés.

On notera que les biomasses produites avec les trois enrichissements (N+P+Si, N+P+Si+Fe~EDTA, N+P+Si+(Fe+Mn)~EDTA) permettent de multiplier par 4 la biomasse obtenue pour le témoin après culture de l'algue test, et permettent d'avoir un taux de division journalier proche de 1, alors qu'il reste compris entre 0.46 et 0.80 pour les autres mélanges enrichissants.

Etant donné qu'il existe une homogénéité des résultats pour les cinq campagnes de prélèvements, nous avons regroupé toutes les périodes d'échantillonnage afin de réaliser une analyse statistique de ces résultats. Nous avons donc réalisé deux ANOVA à un facteur : le facteur étant le mélange enrichissant et la variable : la biomasse produite et le taux journalier de division. Nos données ne suivant pas une loi normale, nous avons été obligés de réaliser des tests de Kruskal-Wallis. Nous avons ensuite effectué des comparaisons multiples de tous les mélanges enrichissants en utilisant les tests de Dunn. Les résultats figurent dans le tableau 25 et la figure 28.

Tableau 25 : Résultats des tests de Kruskal-Wallis permettant de comparer les densités numériques en cellules et les taux de divisions journaliers des différents mélanges enrichissants. H : variable auxiliaire observée, p : probabilité.

Variable	Facteur	ddl	H	p
Densité numérique en cellule	Mélange enrichissant	9	180.18	<0.001
Taux de division	Mélange enrichissant	9	179.3	<0.001

Les tests de Kruskal-Wallis montrent qu'il existe une différence hautement significative ( $p < 0.001$ ) entre les divers mélanges enrichissants. Les comparaisons multiples par la méthode de Dunn montrent (figure 28) que deux groupes d'enrichissements diffèrent de façon significative ( $p < 0.05$ ). Il s'agit des groupes d'enrichissements (Témoin, N, N+P, P, Fe~EDTA, Mn~EDTA, (Fe+Mn)~EDTA) et (N+P+Si, N+P+Si+Fe~EDTA, N+P+Si+(Fe+Mn)~EDTA). Que l'on utilise les variables "densité numérique en cellules" ou bien "taux journalier de division", nous obtenons le même résultat.

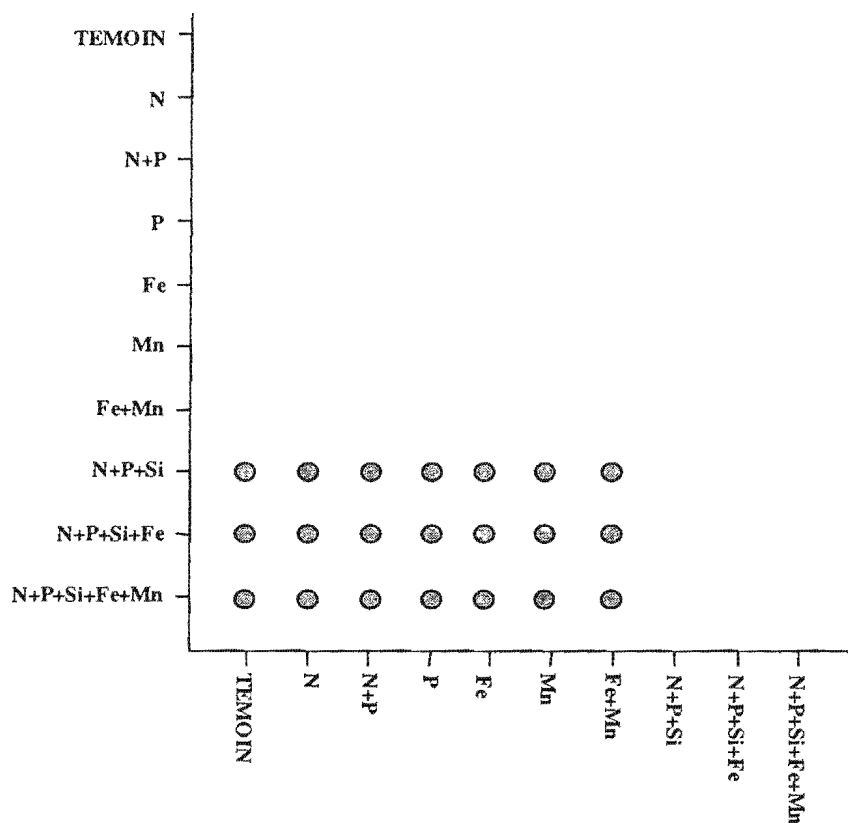


Figure 28 : Résultats des tests de comparaisons multiples (Tests de Student Newman Keuls) après l'ANOVA sur les rangs à un facteur avec pour variables les biomasses maximales produites. Les points représentent les différences significatives ( $p < 0.05$ ) observées entre les différents enrichissements. Le même diagramme est observé pour la variable "taux de division".

Etant donné que la caractéristique du dernier groupe d'enrichissements est la présence de silicates, nous pouvons donc affirmer que cet élément est le premier facteur nutritionnel limitant la production de la diatomée *Haslea ostrearia*. Par contre il est moins aisé de mettre en évidence le rôle des autres nutriments. Nous avons donc essayé de classer par ordre



d'importance les autres nutrilites. Nous avons calculé le facteur multiplicatif exprimant la biomasse finale produite par rapport à la biomasse initialement présente au début de l'expérimentation (Tableau 26).

Tableau 26 : Facteur multiplicatif exprimant la biomasse finale (densité numérique) obtenue par rapport à la biomasse initialement présente au début des bioessais (2000 cellules.mL<sup>-1</sup>) et classement par ordre d'importance des facteurs limitants par comparaison au témoin non enrichi.

Enrichissements	Dates d'échantillonnages									
	02/11	17/11	01/12	15/12	18/01	30/01	01/03	14/03	18/04	27/04
TEMOIN	14.50	15.39	22.75	27.34	21.67	20.92	20.22	19.56	13.75	14.92
N	15.20	12.49	23.59	21.84	21.80	20.54	20.59	19.75	14.54	15.17
N+P	13.45	12.60	24.00	27.09	19.87	21.92	21.04	21.72	14.13	13.62
P	9.57	13.34	21.92	24.34	22.00	21.79	21.52	24.15	12.67	17.52
Fe	10.34	14.35	24.84	25.59	24.59	21.02	20.72	19.75	13.55	15.70
Mn	12.79	14.92	23.09	27.67	19.69	23.24	20.12	19.69	11.88	17.17
Fe+Mn	12.00	14.47	23.17	28.84	21.50	21.39	20.27	20.40	13.63	16.77
N+P+Si	71.50	61.92	85.00	86.34	77.84	89.10	80.25	85.92	77.88	80.50
N+P+Si+Fe	51.15	54.64	92.34	85.34	81.14	83.12	89.27	84.85	64.43	84.52
N+P+Si+Fe+Mn	49.42	52.57	86.34	70.67	81.50	88.54	90.42	77.74	72.55	80.09

1 <sup>er</sup> facteur limitant	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
2 <sup>ème</sup> facteur limitant	N		Fe	Mn	Fe	Mn	P	P	N	P
3 <sup>ème</sup> facteur limitant			N		P	P	Fe	Fe-N		Mn
4 <sup>ème</sup> facteur limitant			Mn		N	Fe	N			Fe
5 <sup>ème</sup> facteur limitant										N

La première partie du tableau montre que, dans de nombreux cas, le facteur multiplicatif est plus important dans le témoin que dans certains mélanges enrichissants, ce qui explique les cases vides observées dans la deuxième partie du tableau. Quant au mélange le plus riche (N+P+Si+(Fe+Mn)~EDTA), dans uniquement deux cas (le 18/01 et le 1/03) il permet de produire la biomasse la plus importante, alors que dans 7 cas sur les dix séries d'expériences le mélange (N+P+Si) a permis d'obtenir les biomasses les plus fortes. Les métaux rajoutés à l'enrichissement (N+P+Si) auraient alors un effet néfaste sur la croissance de l'algue test.

Dans la deuxième partie du tableau 26, mise à part pour la silice, il n'est pas facile d'identifier les autres facteurs limitants, étant donné qu'il n'y a pas de différence significative entre les enrichissements et le témoin. Cependant, dans quelques cas, même si les différences observées ne sont pas significatives, le fait de rajouter tel ou tel élément permet

d'obtenir des biomasses légèrement plus élevées que celles observé pour le témoin. Ainsi on peut voir que jusqu'au mois de janvier, il semble que les métaux fer et manganèse aient un rôle plus important que l'azote et le phosphore. Mais à partir du printemps (mars-avril), il y a un changement notable, les phosphates à ce moment jouent un rôle plus évident dans la limitation de la production de l'algue test.

Ceci est en accord avec ce que nous avons constaté pour la qualité des eaux de la Seudre dans le chapitre I (Figures 17, 18, 19) en comparant les ratios de nutriments présents dans ces eaux par rapport aux ratios de Redfield (1934). En effet l'hiver, les stocks d'azote et de phosphore sont reconstitués (apports d'eau douce par les pluies via les rivières), alors qu'au printemps il y a appauvrissement des eaux en phosphates, nitrates et silicates après les premiers blooms phytoplanctoniques.

### **3-2-2 Eaux récoltées dans les deux claires étudiées en 1996.**

Après avoir vu le cas d'une claire en 1994-95, nous avons décidé en 1996 de suivre deux claires ostréicoles : l'une sans huître et l'autre avec 20 huîtres au m<sup>2</sup>. Dans la première partie de ce chapitre nous avons vu qu'il n'y avait pas de différence significative de la fertilité entre ces deux claires.

Néanmoins, nous avons réalisé parallèlement aux tests de fertilité des tests d'enrichissements différentiels. Les résultats de 94-95 nous ont fait changer légèrement le protocole. Nous avons abandonné les métaux et nous sommes concentrés plutôt sur les nutriments majeurs azote, phosphore et silice (tableau 23). Le but étant de mieux connaître les besoins nutritionnels de l'algue test, afin de passer à une phase d'étude *in situ* en utilisant l'approche offerte par l'utilisation de microcosmes immergés pour tester un milieu enrichissant mis au point à partir des constatations écophysiologiques faites grâce aux tests d'enrichissements différentiels.

#### **3-2-2-1 Résultats basés sur les densités numériques en cellules.**

Toutes les expérimentations se sont réalisées simultanément en triplicata pour les deux claires. Ce protocole, avec 8 mélanges enrichissants différents, s'est révélé très lourd d'application. C'est pour cette raison qu'il n'a été reconduit que 8 fois au cours de 4 campagnes de prélèvements (entre janvier 96 et avril 96).

Les résultats des tests d'enrichissements différentiels sont présentés dans la figure 29, ainsi que dans les tableaux 27 et 28.

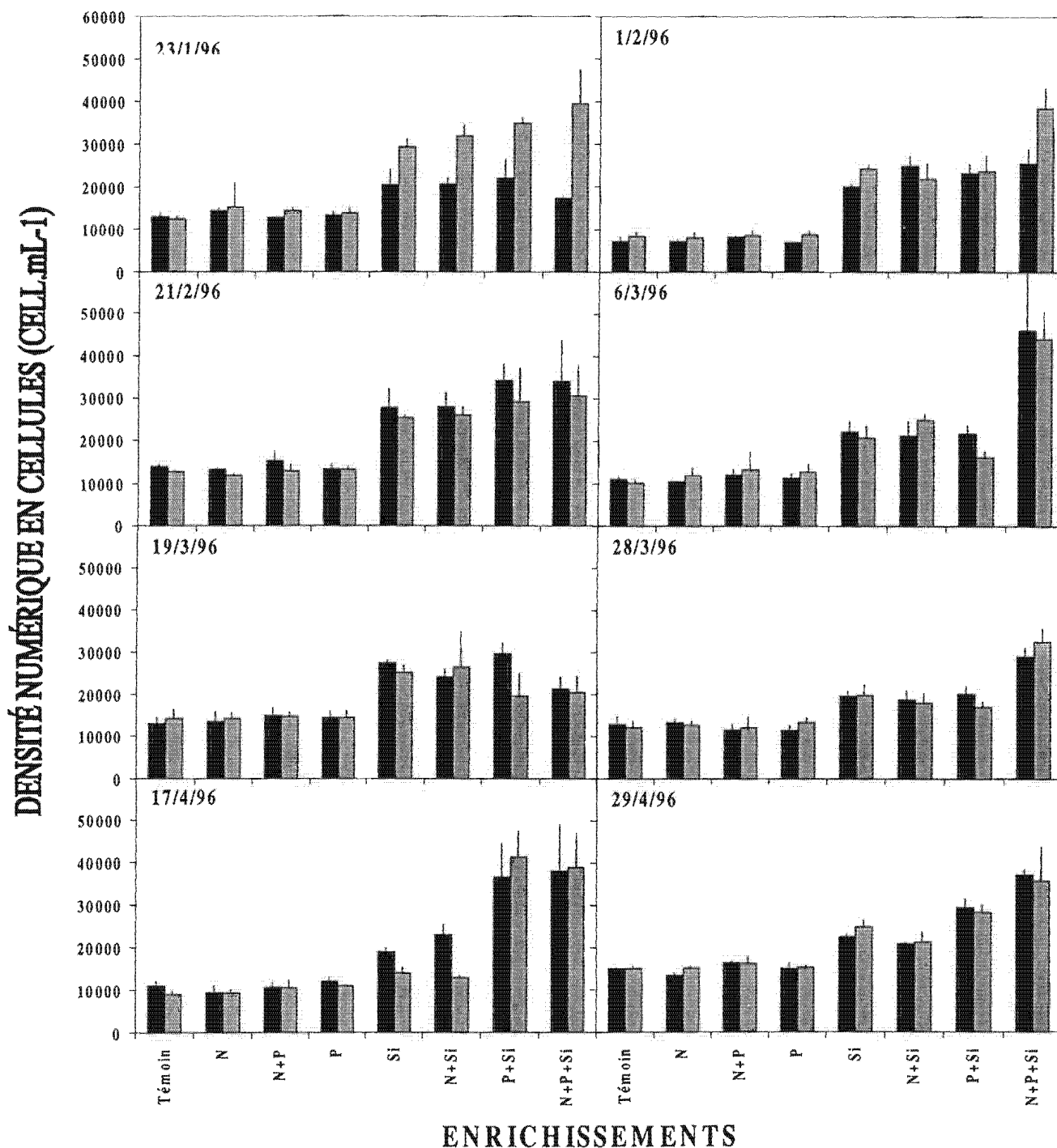


Figure 29 : Biomasses maximales moyennes produites par l'algue test *Haslea ostrearia* en présence des différents mélanges enrichissants. Les barres représentent les intervalles de confiance à 95 %. ■ : claire avec 20 huîtres au m<sup>2</sup>; ▒ : claire sans huîtres.

Tableau 27 : Biomasses maximales moyennes produites observées lors des tests d'enrichissements différentiels avec les eaux provenant des deux claires ostréicoles étudiées. Les moyennes sont encadrées par l'intervalle de confiance à 95 %. Les colonnes blanches correspondent aux eaux nouvellement entrées dans les claires alors que les colonnes grisées correspondent aux eaux ayant séjourné dans les claires.

Claires	Enrichissements	Dates de prélèvements							
		23/01/96	01/02/96	21/02/96	06/03/96	19/03/96	28/03/96	17/04/96	29/04/96
Claire avec huîtres	Témoin	12960 ± 900	7100 ± 1100	13933 ± 600	11050 ± 700	13000 ± 1800	12817 ± 2000	11100 ± 900	15017 ± 500
	N	14400 ± 700	7100 ± 600	13267 ± 500	10650 ± 100	13500 ± 2500	13400 ± 800	9567 ± 1500	13467 ± 600
	N+P	12747 ± 300	8143 ± 400	15333 ± 2400	12117 ± 1400	14967 ± 1900	11617 ± 1200	10733 ± 1200	16500 ± 300
	P	13407 ± 700	6967 ± 200	13450 ± 1200	11383 ± 1000	14367 ± 1600	11450 ± 1100	12083 ± 1100	15067 ± 1400
	Si	20453 ± 3600	20083 ± 700	27667 ± 4600	22217 ± 2400	27433 ± 700	19667 ± 1300	18967 ± 900	22533 ± 800
	N+Si	20613 ± 1600	24967 ± 2200	27833 ± 3500	21350 ± 3500	24133 ± 1800	18800 ± 2300	22950 ± 2300	20933 ± 400
	P+Si	21973 ± 4600	23200 ± 2200	34167 ± 4000	21933 ± 1900	29600 ± 2700	20200 ± 1800	36517 ± 7900	29500 ± 2300
	N+P+Si	17293 ± 400	25400 ± 3500	34000 ± 9700	46133 ± 13600	21367 ± 2700	29133 ± 2100	37967 ± 10800	37353 ± 1200
Claire sans huître	Témoin	12467 ± 700	8423 ± 1100	12800 ± 100	10283 ± 800	14133 ± 2400	12100 ± 1600	9000 ± 800	15133 ± 700
	N	15300 ± 5600	8067 ± 1100	11867 ± 500	11950 ± 1900	14233 ± 1500	12567 ± 1100	9283 ± 900	15333 ± 400
	N+P	14420 ± 700	8633 ± 1200	12833 ± 1700	13267 ± 4200	14800 ± 1000	12067 ± 2600	10483 ± 2000	16233 ± 1700
	P	13873 ± 1200	8733 ± 800	13267 ± 600	12767 ± 2000	14367 ± 1800	13383 ± 1100	10950 ± 200	15500 ± 500
	Si	29253 ± 1900	24267 ± 800	25267 ± 700	20800 ± 2800	25133 ± 1700	19883 ± 2600	13933 ± 1300	25000 ± 1500
	N+Si	31900 ± 2700	21800 ± 3600	26033 ± 1900	24900 ± 1700	26500 ± 8300	18100 ± 2200	12967 ± 400	21367 ± 2300
	P+Si	34813 ± 1500	23800 ± 3500	29167 ± 7900	16367 ± 1300	19567 ± 5300	17000 ± 1500	41167 ± 6200	28400 ± 1900
	N+P+Si	39533 ± 7900	38367 ± 4800	30500 ± 7400	44200 ± 6500	20533 ± 4000	32600 ± 3100	38800 ± 8200	35933 ± 7900

Tableau 28 : Taux de divisions journaliers moyens observés lors des tests d'enrichissements différentiels avec les eaux provenant des deux claires ostréicoles étudiées. Les moyennes sont encadrées par l'intervalle de confiance à 95 %. Les colonnes blanches correspondent aux eaux nouvellement entrées dans les claires alors que les colonnes grisées correspondent aux eaux ayant séjourné dans les claires.

Claires	Enrichissements	Dates de prélèvements							
		23/01/96	01/02/96	21/02/96	06/03/96	19/03/96	28/03/96	17/04/96	29/04/96
Claire avec huîtres	Témoin	0.45 ± 0.02	0.30 ± 0.04	0.47 ± 0.01	0.41 ± 0.01	0.45 ± 0.03	0.44 ± 0.04	0.41 ± 0.02	0.48 ± 0.01
	N	0.47 ± 0.01	0.30 ± 0.02	0.45 ± 0.01	0.40 ± 0.01	0.46 ± 0.04	0.46 ± 0.01	0.37 ± 0.04	0.46 ± 0.01
	N+P	0.45 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.49 ± 0.04	0.43 ± 0.03	0.48 ± 0.03	0.42 ± 0.03	0.40 ± 0.03	0.51 ± 0.00
	P	0.46 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.46 ± 0.02	0.42 ± 0.02	0.47 ± 0.03	0.42 ± 0.02	0.43 ± 0.02	0.48 ± 0.02
	Si	0.56 ± 0.04	0.55 ± 0.01	0.63 ± 0.04	0.58 ± 0.03	0.63 ± 0.01	0.55 ± 0.02	0.54 ± 0.01	0.58 ± 0.01
	N+Si	0.56 ± 0.02	0.61 ± 0.02	0.63 ± 0.03	0.57 ± 0.04	0.60 ± 0.02	0.54 ± 0.03	0.59 ± 0.02	0.56 ± 0.00
	P+Si	0.57 ± 0.05	0.59 ± 0.02	0.68 ± 0.03	0.58 ± 0.02	0.65 ± 0.02	0.56 ± 0.02	0.70 ± 0.05	0.65 ± 0.02
	N+P+Si	0.52 ± 0.01	0.61 ± 0.03	0.68 ± 0.07	0.75 ± 0.07	0.57 ± 0.03	0.64 ± 0.02	0.70 ± 0.07	0.70 ± 0.01
Claire sans huître	Témoin	0.44 ± 0.01	0.34 ± 0.03	0.45 ± 0.00	0.39 ± 0.02	0.47 ± 0.04	0.43 ± 0.03	0.36 ± 0.02	0.49 ± 0.01
	N	0.48 ± 0.08	0.33 ± 0.03	0.43 ± 0.01	0.43 ± 0.04	0.47 ± 0.02	0.44 ± 0.02	0.37 ± 0.02	0.49 ± 0.01
	N+P	0.47 ± 0.01	0.35 ± 0.04	0.45 ± 0.03	0.45 ± 0.08	0.48 ± 0.02	0.43 ± 0.05	0.40 ± 0.05	0.50 ± 0.02
	P	0.46 ± 0.02	0.35 ± 0.02	0.45 ± 0.01	0.44 ± 0.04	0.47 ± 0.03	0.46 ± 0.02	0.41 ± 0.01	0.49 ± 0.01
	Si	0.64 ± 0.02	0.60 ± 0.01	0.61 ± 0.01	0.56 ± 0.03	0.61 ± 0.02	0.55 ± 0.03	0.47 ± 0.02	0.61 ± 0.01
	N+Si	0.67 ± 0.02	0.57 ± 0.04	0.62 ± 0.02	0.61 ± 0.02	0.62 ± 0.07	0.53 ± 0.03	0.45 ± 0.01	0.57 ± 0.03
	P+Si	0.69 ± 0.01	0.59 ± 0.03	0.64 ± 0.07	0.50 ± 0.02	0.54 ± 0.06	0.51 ± 0.02	0.73 ± 0.04	0.64 ± 0.02
	N+P+Si	0.71 ± 0.05	0.71 ± 0.03	0.65 ± 0.06	0.74 ± 0.03	0.56 ± 0.05	0.67 ± 0.02	0.71 ± 0.05	0.69 ± 0.05

Deux groupes d'enrichissements se dessinent encore : ceci est en accord avec les résultats obtenus précédemment lors des expériences de 1994-95. Il s'agit du groupe d'enrichissements comprenant le Témoin, N, P et N+P et du groupe Si, N+Si, P+Si, et N+P+Si. Les silicates jouent encore un rôle important dans la limitation de la fertilité des eaux provenant de ces deux claires.

Pour le premier groupe, les densités numériques en cellules observées sont comprises entre 7000 et 16500 cellules.mL<sup>-1</sup> pour les eaux provenant de la claire contenant des huîtres et entre 8000 et 16200 cellules.mL<sup>-1</sup> pour les eaux provenant de la claire sans huître. Les taux de divisions journaliers sont compris entre 0.30–0.51 div.J<sup>-1</sup> pour les eaux provenant de la claire contenant des huîtres, et entre 0.33 et 0.50 div.J<sup>-1</sup> pour les eaux provenant de la claire sans huîtres.

Pour le second groupe les densités numériques en cellules observées sont comprises entre 17300 et 46100 cellules.mL<sup>-1</sup> pour les eaux provenant de la claire contenant des huîtres et entre 16400 et 44200 cellules.mL<sup>-1</sup> pour les eaux provenant de la claire sans huître. Les taux de divisions journaliers sont compris entre 0.52–0.75 div.J<sup>-1</sup> pour les eaux provenant de la claire contenant des huîtres, et entre 0.50 et 0.74 div.J<sup>-1</sup> pour les eaux provenant de la claire sans huîtres.

On voit ici que ces valeurs sont similaires dans les deux claires. Par contre, en ce qui concerne les deux groupes d'enrichissements, on note l'effet de la silice sur la croissance algale, les biomasses potentielles produites avec les enrichissements où de la silice a été ajoutée sont 2 à 3 fois plus importantes que les biomasses observées pour le témoin et les autres mélanges enrichissants. Les taux de divisions journaliers sont de même toujours plus importants pour les enrichissements Si, N+Si, P+Si et N+P+Si.

L'analyse statistique globale par une analyse de variance à trois facteurs (enrichissements, régime d'alimentation en eau des claires, ainsi que le type de claire) n'a pu être réalisée, les données ne suivant pas de loi normale. Les différentes transformations n'ont pu permettre de normaliser les distributions.

La première analyse que nous avons réalisée ne tenait pas compte de la variabilité pouvant exister entre les dates de prélèvements et donc des différences entre eaux entrant dans les claires et eaux y ayant séjourné. Pour cette analyse, nous avons réalisé un test de Kruskal-Wallis pour chaque claire (Tableau 29).

Tableau 29 : Résultats des tests de Kruskal-Wallis permettant de comparer les densités numériques en cellules des différents mélanges enrichissants. H : variable auxiliaire observée, p : probabilité.

Variable	Claire	ddl	H	p
Densité numérique en cellule	Claire sans huître	7	136.456	<0.001
	Claire avec huîtres	7	147.381	<0.001
Taux journalier de division	Claire sans huître	7	136.443	<0.001
	Claire avec huîtres	7	147.495	<0.001

Cette première analyse montre qu'il existe des différences significatives entre les densités numériques en cellule et les taux de divisions obtenus en fonction des différents enrichissements utilisés. Les tests *a posteriori* de Student-Newman-Keuls montrent des résultats presque similaires entre les deux claires. Nous pouvons isoler plusieurs groupes d'enrichissements (Figure 30).

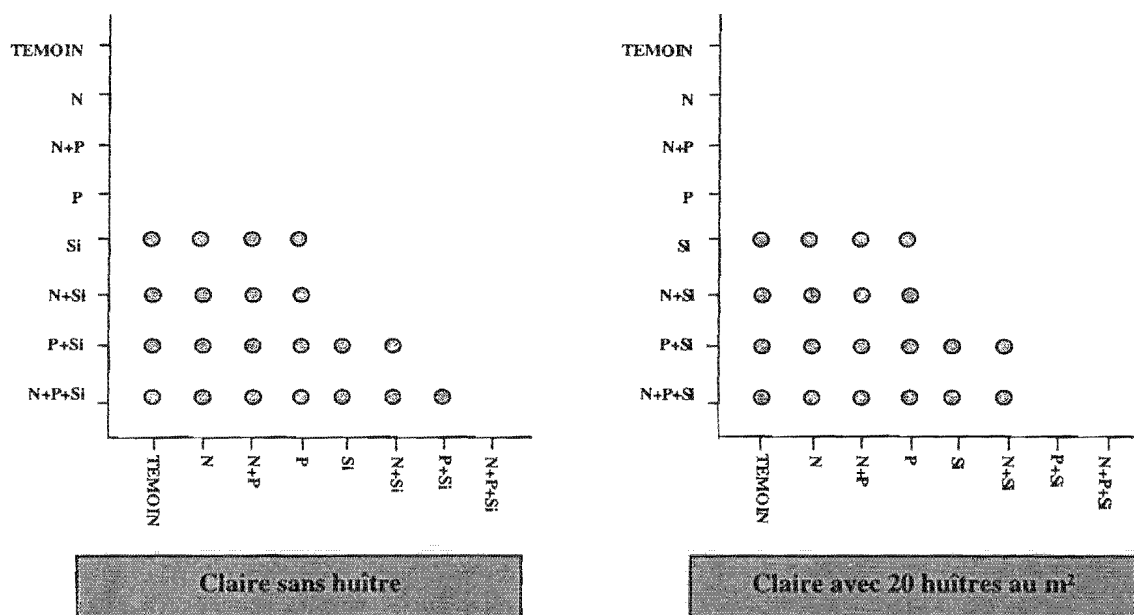


Figure 30 : Résultats des tests de comparaisons multiples (Tests SNK) entre les différents enrichissements sur les biomasses produites. Les points représentent les différences significatives ( $p < 0.05$ ). Les mêmes diagrammes sont observés avec, comme variable quantitative, le taux de division.

Pour les eaux provenant de la claire sans huître, 4 groupes d'enrichissements peuvent être isolés, il s'agit du groupe Témoin, N, P, N+P, du groupe Si, N+Si, et des singletons P+Si et N+P+Si. Pour les eaux provenant de la claire où des huîtres sont immergées, on observe sensiblement les mêmes groupes, à la différence que P+Si et N+P+Si ne forment plus qu'un seul groupe homogène. Cette première étape de l'analyse montre qu'il existe bien des différences significatives entre groupes d'enrichissements. La silice jouerait un rôle

prépondérant puisque les mélanges enrichissants contenant cet élément se différencient d'un groupe homogène constitué des enrichissements N, N+P, P et du Témoin. De plus on remarque que les enrichissements contenant de la silice diffèrent eux aussi entre eux et notamment les enrichissements P+Si et N+P+Si. On peut donc penser que les phosphates jouent eux aussi un rôle dans la limitation de la croissance de l'algue test.

Après avoir isolé plusieurs groupes d'enrichissements homogènes statistiquement différents, il était plus facile de réaliser les analyses de variance à trois facteurs au sein de chaque groupe. Deux questions se posaient en effet :

- La densité en huîtres utilisée permet-elle de modifier les caractéristiques de l'eau influençant par conséquent la production de l'algue test ?
- Les eaux entrantes dans les claires et celles y ayant séjourné sont-elles différentes en terme de potentialité nutritionnelle ?

Une analyse de variance à trois facteurs a donc été réalisée afin de répondre à ces deux interrogations. Les résultats de cette seconde phase de l'analyse sont consignés dans le tableau 30.

Tableau 30 : Résultats des ANOVA à trois et deux facteurs pour la comparaison des densités numériques produites au sein de chaque groupe d'enrichissements.

Groupe d'enrichissements	Facteur	Ddl	F	p	significativité
T, N, P, et N+P	Claire	1	0.24	0.627	n.s.
	Origine eau	1	8.24	0.005	***
	Enrichissement	3	1.08	0.360	n.s.
	Claire x Origine eau	1	1.62	0.205	n.s.
	Claire x Enrichissement	3	0.28	0.836	n.s.
	Origine eau x Enrichissement	3	0.05	0.984	n.s.
	Claire x Origine eau x Enrichissement	3	0.08	0.970	n.s.
Si, N+Si, et P+Si	Claire	1	1.24	0.267	n.s.
	Origine eau	1	8.62	0.004	***
	Enrichissement	2	3.98	0.021	**
	Claire x Origine eau	1	0.12	0.726	n.s.
	Claire x Enrichissement	2	0.36	0.698	n.s.
	Origine eau x Enrichissement	2	3.33	0.039	**
	Claire x Origine eau x Enrichissement	2	0.91	0.407	n.s.
N+P+Si	Claire	1	2.23	0.143	n.s.
	Origine eau	1	5.3	0.026	**
	Claire x Origine eau	1	0.07	0.792	n.s.



Les trois analyses de variance réalisées pour chaque groupe d'enrichissements montrent clairement qu'il n'y a pas de différence significative entre les eaux provenant des deux claires. Par contre il existe une différence significative entre les eaux nouvellement entrées dans les claires et les eaux y ayant séjourné. Le croisement des différents facteurs, qui tient compte de la variabilité de chaque facteur, ne montre pas de différence significative entre chaque mélange provenant de chaque claire pour chaque période d'échantillonnage. Pour affiner l'analyse même si ces différences ne sont pas significatives, il est intéressant de regarder dans le tableau 31, les moyennes observées pour chaque enrichissement en fonction de la période d'échantillonnage pour chaque claire.

Tableau 31 : Biomasses moyennes observées avec les eaux prélevées dans les deux claires en début d'alimentation en eau des claires et en fin de séjour de cette eau dans les claires. Les moyennes sont encadrées par les intervalles de confiance à 95 %.

Enrichissements	Claire avec huîtres		Claire sans huître	
	Eaux entrantes	Eaux ayant séjourné	Eaux entrantes	Eaux ayant séjourné
Témoin	12748 ± 880	11496 ± 2010	12100 ± 1404	11485 ± 1724
N	12683 ± 1428	11154 ± 1749	12671 ± 2091	11979 ± 1825
N+P	13445 ± 1457	12094 ± 2023	13134 ± 1328	12550 ± 2220
P	13327 ± 788	11217 ± 1969	13114 ± 1019	12596 ± 1731
Si	23630 ± 2987	21125 ± 1095	23397 ± 3854	22488 ± 1758
N+Si	23883 ± 2086	21513 ± 1854	24350 ± 5097	21542 ± 2015
P+Si	30564 ± 4438	23708 ± 2528	31178 ± 5939	21392 ± 3478
N+P+Si	27657 ± 6688	34505 ± 6304	32342 ± 6118	37775 ± 3974

Ainsi pour les deux claires, on peut remarquer qu'en moyenne, pour tous les enrichissements à l'exception du mélange N+P+Si, les biomasses produites avec les eaux nouvellement entrées dans les claires sont toujours plus importantes que celles obtenues avec les eaux ayant séjourné durant la période de mortes eaux. Comme précédemment nous pouvons évoquer le rôle de certains nutriments comme des oligo-éléments présents en quantités plus importantes dans les eaux d'alimentation des claires et utilisés par l'algue test. La diminution de leurs concentrations durant le séjour des eaux dans les claires n'affecte cependant pas de façon significative la croissance de l'algue test.

Après avoir isolé les différents groupes d'enrichissements et ayant montré le rôle des silicates et des phosphates dans la limitation de la production de l'algue test, nous avons cherché à classer par ordre d'importance les nutrilites affectant la croissance de l'algue test. Comme pour les expérimentations réalisées en 1994-1995, nous avons donc calculé le

facteur multiplicatif existant entre la biomasse initialement présente et la biomasse produite en fin d'expérience, les résultats sont présentés dans le tableau 32.

Tableau 32 : Facteur multiplicatif exprimant la biomasse finale (densité numérique) obtenue par rapport à la biomasse initialement présente (2000 cellules.mL<sup>-1</sup>) au début des bioessais et classement par ordre d'importance des facteurs limitants par comparaison au témoin non enrichi.

Enrichissements	Dates d'échantillonnages								
	23/01	01/02	21/02	06/03	19/03	28/03	17/04	29/04	
<b>Claire avec huîtres</b>	Témoin	6.48	3.55	6.97	5.53	6.50	6.41	5.55	7.51
	N	7.20	3.55	6.63	5.33	6.75	6.70	4.78	6.73
	N+P	6.37	4.07	7.67	6.06	7.48	5.81	5.37	8.25
	P	6.70	3.48	6.73	5.69	7.18	5.73	6.04	7.53
	Si	10.23	10.04	13.83	11.11	13.72	9.83	9.48	11.27
	N+Si	10.31	12.48	13.92	10.68	12.07	9.40	11.48	10.47
	P+Si	10.99	11.60	17.08	10.97	14.80	10.10	18.26	14.75
	N+P+Si	8.65	12.70	17.00	23.07	10.68	14.57	18.98	18.68
	1 <sup>er</sup> facteur limitant	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
2 <sup>ème</sup> facteur limitant	N			P	P	N	P	P	
3 <sup>ème</sup> facteur limitant	P								
<b>Claire sans huître</b>	Témoin	6.23	4.21	6.40	5.14	7.07	6.05	4.50	7.57
	N	7.65	4.03	5.93	5.98	7.12	6.28	4.64	7.67
	N+P	7.21	4.32	6.42	6.63	7.40	6.03	5.24	8.12
	P	6.94	4.37	6.63	6.38	7.18	6.69	5.48	7.75
	Si	14.63	12.13	12.63	10.40	12.57	9.94	6.97	12.50
	N+Si	15.95	10.90	13.02	12.45	13.25	9.05	6.48	10.68
	P+Si	17.41	11.90	14.58	8.18	9.78	8.50	20.58	14.20
	N+P+Si	19.77	19.18	15.25	22.10	10.27	16.30	19.40	17.97
	1 <sup>er</sup> facteur limitant	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
2 <sup>ème</sup> facteur limitant	N		P	P	N	P	P	P	
3 <sup>ème</sup> facteur limitant	P			N		N			

Les silicates se retrouvent classés toujours en première position dans l'ordre de limitation de la production d'*Haslea ostrearia*, de même, comme l'avaient laissé supposer les analyses statistiques, on s'aperçoit que les phosphates jouent un rôle plus important que l'azote. Par contre pour ces deux éléments, les résultats montrent cependant une certaine variabilité en fonction des dates de prélèvements. Marion (1985) avait observé pour cette espèce cet ordre de limitation des nutriments majeurs pour les eaux néritiques de la baie de Bourgneuf.

### 3-2-2-2 Comparaisons des résultats avec ceux issus de l'estimation des concentrations en chlorophylle *a*.

Lors de ces expérimentations nous avons de plus choisi un deuxième paramètre estimatif de la biomasse produite, il s'agissait de la concentration en chlorophylle *a*. Les résultats suivants sont présentés dans un but de comparaison des interprétations que peuvent donner deux critères estimatifs de biomasse produite. Dans la figure 31 sont regroupés les résultats observés pour les eaux nouvellement entrées et celles ayant séjourné dans les deux claires. Les graphiques A et B concernant les densités numériques sont présentés à titre de rappel.

Les graphiques C et D, présentant les concentrations en chlorophylle *a* observées lors de l'arrêt des cultures (densités numérique en cellules maximales), montrent que pour les eaux nouvellement entrées dans les deux claires, l'ajout de phosphore permet d'obtenir les plus fortes concentrations en chlorophylle *a*. Le phosphore serait donc le premier facteur limitant la synthèse de chlorophylle *a* pour cette espèce, puisque les enrichissements N et Si ne permettent pas d'obtenir de concentrations supérieures à celles observées pour le Témoin.

Pour les eaux ayant séjourné dans les deux claires, on s'aperçoit que c'est l'azote qui devient le premier facteur limitant de la synthèse de chlorophylle *a*. Ces deux constatations sont en accord avec les observations faites dans la figure 25 concernant les concentrations initiales en nutriments présentes dans les eaux utilisées pour ces bioessais. De plus on peut remarquer que lorsque azote et phosphore sont associés (mélanges N+P et N+P+Si) les concentrations en chlorophylle *a* sont les plus importantes. On remarquera aussi que les concentrations obtenues avec les eaux ayant séjourné, sont en général plus faibles que celles observées avec les eaux entrantes. On peut évoquer le rôle de nutriments, présents en plus grande quantité dans les eaux nouvellement entrées, qui ne sont pas pris en compte dans nos analyses.

Si l'on observe les graphiques E et F de la figure 31, on remarque que les mélanges enrichissants Si, N+Si, et P+Si présentent les teneurs intracellulaires en chlorophylle *a* les plus faibles par rapport au Témoin et au reste des autres enrichissements. L'absence de silicates augmenterait la synthèse de chlorophylle *a*, comme l'ajout d'azote et de phosphore.

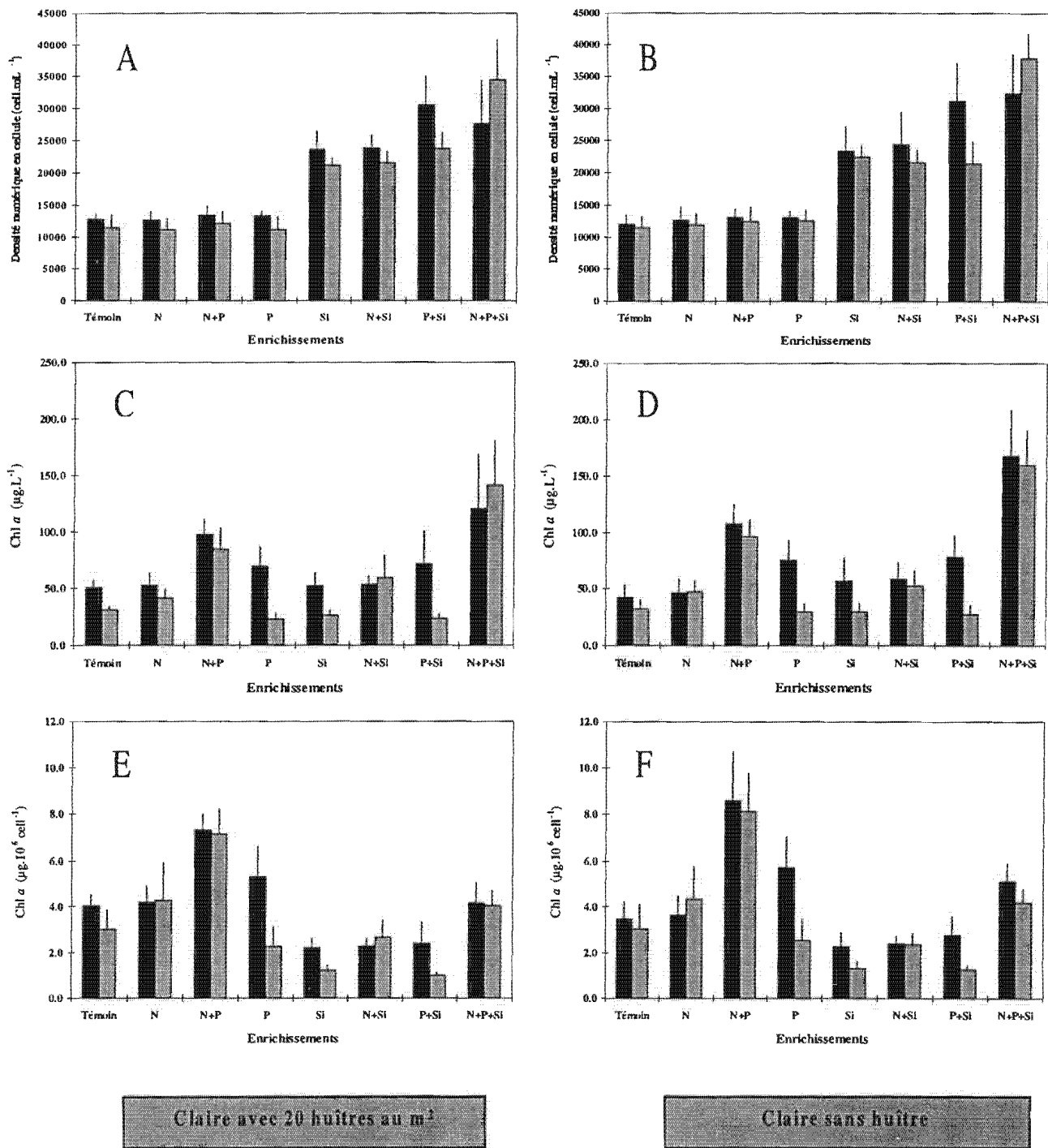


Figure 31 : Moyennes des densités numériques (A et B), des concentrations en chlorophylle *a* (C et D) et des teneurs intracellulaires en chlorophylle *a* (E et F) observées pour l'algue test *Haslea ostrearia* en présence des différents mélanges enrichissants. Les barres représentent les intervalles de confiance à 95 %. ■ : Eaux nouvellement entrées dans les claires ; ▒ : Eaux ayant séjourné dans les claires.

### 3-3 Discussion

Les expériences menées en 1994-1995, révèlent le rôle important joué par les silicates comme premier facteur limitant la production d'*Haslea ostrearia* sur les eaux provenant des claires ostréicoles bordant le fleuve côtier Seudre. Cette première année d'expérimentation a aussi mis également en évidence le rôle secondaire des métaux en période hivernale, de l'azote et du phosphore en période printanière, dans la limitation de la production de l'algue test. Cependant le classement par ordre d'importance de ces nutrilites n'est pas apparu très aisé.

En 1996, après n'avoir retenu que les éléments N, P, et Si dans la confection des enrichissements différentiels, le rôle limitant joué par les silicates a été confirmé. Le phosphore et l'azote se partageant la deuxième place dans la limitation de la production d'*Haslea ostrearia*.

En outre, il a été montré que le séjour de l'eau dans les claires, modifie la qualité nutritionnelle de l'eau : diminution des concentrations en azote et à moindre échelle des phosphates et silicates. Cependant, cet appauvrissement des eaux n'a que peu d'influence sur les biomasses potentielles produites, aussi bien en terme de cellules qu'en teneur en chlorophylle *a*. La source potentielle d'éléments et de composés organiques azotés et phosphorés, non pris en compte au cours de nos analyses, peut alors jouer un rôle non négligeable. La comparaison des eaux provenant des deux claires étudiées, ne montre pas d'influence significative de la présence d'huîtres sur la fertilité potentielle de ces dernières ; il semble donc que les produits d'excrétion des mollusques, ammonium et substances organiques azotées et phosphorées, soient en quantité insuffisante pour observer des effets significatifs sur la fertilité des eaux d'une claire chargée de mollusques à cette densité d'affinage recommandée par la norme AFNOR.

De plus, en fonction de ces deux estimateurs de biomasses retenus, concentrations en cellules et chlorophylle *a* produites, les interprétations diffèrent quant au rôle limitant de chaque élément nutritif.

Il a été démontré, que les eaux provenant des deux claires étudiées présentent un caractère limitant pour la culture de l'algue d'*Haslea ostrearia*. Ainsi nous avons classé les silicates comme premier facteur nutritionnel intervenant dans la limitation de la croissance de cette espèce, la simple addition de cet élément augmente le taux de croissance et permet

l'obtention de densités numériques en cellules trois à quatre fois plus importantes que celles obtenues avec l'eau brute non enrichie. Darley (1969) a évoqué le rôle important de cet élément pour *Navicula pelliculosa* et *Cylindrotheca fusiformis* dans les phénomènes mitotiques, il rapporte que la dernière espèce a un besoin spécifique en silice pour la production d'ADN qui est un précurseur de la silicification chez les diatomées.

Le fait, que les enrichissements Si, N+Si, et P+Si ne permettent pas d'obtenir des concentrations en chlorophylle *a* aussi importantes que celles observées pour le Témoin et les mélanges sans silicates, peut donc aussi être expliqué. En effet, Lombardi et Wangersky (1991) ont montré, pour *Chaetoceros gracilis*, qu'il y avait une augmentation de la synthèse de chlorophylle *a* suite à une carence en silicates. Dans la présente étude, l'ajout de nitrates associés aux phosphates et combiné avec une déficience en silicates, aurait des effets conjugués, qui conduisent à une augmentation de la synthèse de chlorophylle *a*.

#### 4 CONCLUSIONS

Les tests biologiques ont permis, par l'estimation de la fertilité des eaux des bassins expérimentaux étudiés, de préciser les qualités nutritionnelles du milieu "claire ostréicole", cette estimation constituant un complément indispensable à l'approche analytique précédemment réalisée à partir des observations effectuées *in situ*.

En baie de Bourgneuf, pour ce type d'écosystème, Robert (1983) qualifie d'eaux les plus fertiles, celles qui permettent l'obtention *in vitro* de 15 à 35  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de Chl *a*, alors que les eaux les moins fertiles ne produisent qu'entre 5 et 15  $\mu\text{g.L}^{-1}$  : il avait noté des concentrations en azote total minéral dissous comprises entre 15 et 35  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  pour les eaux les plus productives et entre 8 et 15  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  pour les moins fertiles ; des concentrations en phosphore minéral dissous relativement élevées puisque toujours supérieures à 0.8  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  ; des teneurs en silicates fortes variant entre 8 et 25  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .

Dans le bassin de Marennes-Oléron, toutes les estimations obtenues dans la présente étude se situent dans la gamme de celles des eaux les plus fertiles décrites pour la baie de Bourgneuf, ce qui atteste d'une bonne richesse nutritionnelle des eaux du marais expérimental de La Tremblade et donc des eaux de l'estuaire de la Seudre alimentant ce marais.

Néanmoins, malgré la bonne richesse nutritive de ces eaux, les tests biologiques ont permis de montrer qu'elles présentaient un caractère limitant pour la production phytoplanctonique représentée de façon majoritaire par les diatomées dans ce type d'écosystème. L'utilisation comme outil d'investigation des rapports d'assimilation en nutriments (Redfield, 1934; Brzezinski, 1985) a montré une limitation par les phosphates et les silicates des eaux d'alimentation des claires en période de vives eaux ; le séjour de ces dernières dans les bassins en période de mort d'eau montre une diminution des qualités nutritionnelles, surtout pour l'azote minéral dissous, qui devient premier facteur limitant de la production phytoplanctonique.

Cependant, pour une espèce donnée, cette phase purement descriptive d'étude reste insuffisante quant à la compréhension des phénomènes pouvant affecter ses multiplications intenses dans l'écosystème "claire ostréicole". Aussi, la réalisation de bioessais utilisant l'algue test *Haslea ostrearia* a permis, par le jeu de combinaisons de nutriments majeurs (nitrates, phosphates et silicates), de préciser le caractère limitant de chacun sur la croissance de l'algue test, tout en évaluant les besoins nutritionnels de cette espèce en conditions non limitantes de lumière et de température.

De fait, il a été établi que pour les eaux des claires de l'estuaire de la Seudre en période d'affinage, la silice apparaît comme étant le premier facteur limitant la croissance d'*Haslea ostrearia*, les phosphates et les nitrates se partageant le second rang dans la limitation de la production de cette algue.

De plus, il n'a pas été démontré que le séjour des huîtres immergées à la densité de 20 individus.m<sup>2</sup> dans les claires ait une influence significative sur la fertilité potentielle des eaux de ces bassins, bien que des études précédentes dans l'écosystème particulier "claire ostréicole" aient montré pourtant l'importance des substances organiques azotées et phosphorées dans l'économie des proliférations de phytoplancton (Robert *et al.*, 1979; Maestrini et Robert, 1981). Il semble donc que cette densité d'élevage en mollusques, imposée par la norme AFNOR, soit insuffisante pour modifier de façon significative la fertilité potentielle des eaux des claires où ils sont immergés.

L'utilisation de façon concomitante de deux critères estimatifs de la biomasse (concentrations en cellule et en chlorophylle *a* produites), permet d'affiner les résultats se

basant sur les mécanismes écophysiologiques régissant la croissance de l'algue test. Ainsi, le mélange enrichissant N+P+Si, permet non seulement d'obtenir des densités numériques plus importantes mais aussi des concentrations en chlorophylle *a* plus élevées que les autres mélanges nutritifs testés. C'est pour cette raison qu'il a été décidé de retenir ce mélange enrichissant pour connaître les besoins nutritionnels d'*Haslea ostrearia*.



## CHAPITRE IV

### VERDISSEMENT EXPÉRIMENTAL EN MICROCOSMES EN CLAIRES

C'est à la fin des années 70, que les premières études, concernant la stimulation de la production primaire par apports minéraux, ont débuté en milieu marin, afin d'évaluer les impacts des apports de nutriments d'origine anthropique sur l'écosystème côtier. Le Marine Ecosystem Research Laboratory (MERL - Rhodes Island) a cherché, en développant l'utilisation de mésocosmes à estimer l'influence des apports sans cesse croissant d'azote et de phosphore par l'agriculture sur l'écosystème côtier (e.g., Pilson et Nixon, 1980, Doering *et al.*, 1989, Oviatt *et al.*, 1995).

En milieu marin, les études concernant la stimulation de la production primaire de bassins utilisés en aquaculture sont récentes. Ces recherches ont pour objectif la production de masse de microalgues ayant un intérêt alimentaire afin d'optimiser les croissances des espèces cultivées (mollusques, poissons, crustacés,...). Parmi ces microalgues, les diatomées sont le groupe phytoplanctonique présentant le plus d'intérêt. Plusieurs auteurs ont démontré qu'il était possible d'envisager la production en masse d'espèces de diatomées à partir d'eau de mer (Hussenot et Gautier, 1994; Hussenot et Brossard, 1995; Schöllhorn et Granéli, 1996; Reed, 1998).

En baie de Bourgneuf, la production de *Skeletonema costatum* comme algue fourrage destinée à l'engraissement de *Crassostrea gigas* est maîtrisée jusqu'à des volumes de production de 50 m<sup>3</sup> (Baud, 1988). Cependant cette production de masse utilise comme milieu de base les eaux souterraines salées, véritable milieu de culture naturel permettant l'obtention de biomasse à moindre coût (Moreau *et al.*, 1998).

Dans le but de permettre à l'ostréiculteur de favoriser l'installation et le développement du phénomène de verdissement, nous avons cherché à mettre au point un mélange fertilisant composé des sels nutritifs majeurs azote, phosphore et silicates, estimant qu'en milieu littoral les oligo-éléments se situent à des concentrations non limitantes par défaut. Il serait ainsi possible d'imaginer que les eaux correspondant à la période d'abondance d'*Haslea ostrearia*, c'est à dire en fin d'automne-hiver et au printemps, pourraient être fertilisées à leur entrée dans les claires, pour favoriser la multiplication de l'algue et y provoquer le verdissement des bassins.

## 1 ELABORATION D'UN MELANGE ENRICHISSANT EN NUTRIMENTS.

A partir donc des enrichissements différentiels, nous avons montré *in vitro* que le mélange de nitrates, phosphates et de silicates, permettait de stimuler la croissance de la diatomée *Haslea ostrearia*, aussi bien en terme quantitatif (nombre de cellules), qu'en terme qualitatif (production de chlorophylle *a*).

### 1-1 Résultats

Nous avons donc décidé d'analyser les résultats en terme d'assimilation des nutriments pour le mélange N+P+Si avec les eaux de la claire sans huîtres et pour les eaux nouvellement entrées. Les résultats sont regroupés dans le tableau 33.

Tableau 33 : Proportions en pourcentage de la réserve initiale consommée, rapports d'assimilation et rendements de production en  $10^4$  cellules produites par  $\mu$ mole d'azote (N), de silicates (Si) et de phosphates (P) consommée. L'eau utilisée provient d'une claire sans huître nouvellement entrée et enrichie avec le mélange N+P+Si. n. e. : valeur non estimable. Les valeurs moyennes sont encadrées par l'intervalle de confiance à 95%.

Dates	% de la réserve initiale consommée			Rendements de production ( $10^4$ cell. $\mu$ mol <sup>-1</sup> )			Rapports d'assimilation	
	N	Si	P	N	Si	P	N/P	Si/P
23-janv	39.2	64.6	63.2	103	43	833	8.1	19.4
	41.9	70.1	68.1	90	37	714	7.9	19.2
	93.2	92.0	84.4	57	40	833	14.7	21.1
21-févr	52.5	99.0	94.6	30	31	400	13.2	13.0
	73.9	69.1	81.1	21	43	455	21.5	10.5
	83.8	84.6	84.5	27	52	667	24.4	12.9
19-mars	5.8	n. e.	43.1	256	n. e.	556	2.2	n. e.
	26.6	30.7	49.9	73	59	588	8.1	10.0
	26.2	n. e.	49.0	85	n. e.	714	8.4	n. e.
17-avr	89.1	75.7	69.4	33	52	833	25.5	16.2
	94.8	85.0	76.0	40	60	1000	24.9	16.7
	98.7	91.9	81.8	27	38	625	23.5	16.4
<b>Moyenne</b>	<b>60.5 ± 20.5</b>	<b>76.3 ± 14.0</b>	<b>70.4 ± 10.4</b>	<b>70 ± 41</b>	<b>45 ± 7</b>	<b>685 ± 110</b>	<b>15.2± 5.3</b>	<b>15.5 ± 2.7</b>

Les résultats présentés dans ce tableau ont été obtenus après analyse des teneurs en sels nutritifs (azote total minéral dissous, silicates, phosphates), au début des bioessais et après croissance de l'algue test. On remarque qu'en moyenne, 60.5 % de la réserve initiale en azote total est consommée, 76.3 % de celle en silicates et 70.4 % de celle en phosphates. Les quantités ajoutées aux concentrations initiales en nutriments de l'eau de mer provenant de la

claire sans huître, sont donc bien assimilées. On remarque que la demande en silicate est la plus forte, bien avant celles des phosphates et nitrates. Les rendements d'assimilation ont été calculés par rapport aux biomasses produites et exprimés en nombre de cellules par  $\mu\text{mole}$  de nutriments consommée. Les rapports d'assimilation montrent des valeurs moyennes de N:P=15.2:1, et Si:P=15.5:1, ces valeurs sont très proches de celles de Redfield (N:Si:P=16:16:1). L'eau de claire, enrichie en azote, silicates et phosphates, avec des concentrations respectives de  $100 \mu\text{mol N.L}^{-1}$ ,  $100 \mu\text{mol Si.L}^{-1}$  et  $6.25 \mu\text{mol P.L}^{-1}$ , présente *in vitro* des qualités de milieu qui correspondent à une assimilation des nutriments par *Haslea ostrearia* proche de celle mise en évidence par Redfield (1934) pour le phytoplancton.

## 1-2 Milieu nutritif

Le milieu de culture, utilisé pour enrichir l'eau de mer des claires afin de promouvoir le développement d'*Haslea ostrearia*, devra donc respecter le rapport molaire d'assimilation suivant : N:Si:P=15.2:15.5:1.

L'azote ammoniacal est assimilé prioritairement par le phytoplancton par rapport à la forme nitrique (Maestrini et Robert, 1981; Stolte *et al.*, 1994; Dauchez *et al.*, 1996). Moreau *et al.* (1998) ayant montré qu'*Haslea ostrearia* ne peut être cultivée que sur des eaux ayant des concentrations en ammonium inférieures à 110-130  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , nous avons donc préféré utilisé comme source d'azote le nitrate de sodium ( $\text{NaNO}_3$ ) afin d'éviter tout problème de toxicité lié à l'ammonium à de fortes concentrations. La forme utilisée pour l'apport de phosphate est le phosphate de potassium  $\text{K}_2\text{HPO}_4, 3 \text{H}_2\text{O}$ . Les silicates sont apportées sous la forme chimique de métasilicates de sodium ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3, 5 \text{H}_2\text{O}$ ).

A titre de comparaison, Brossard et Hussenot (1997) utilisent la forme ammoniacale ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), l'acide orthophosphorique liquide ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) et le silicate de sodium liquide ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ ) pour provoquer les "blooms" de *Skeletonema costatum* sur eau de mer et en système ouvert.

## 1-3 Préparation du milieu nutritif

La préparation de la solution concentrée en sels nutritifs se fait avec de l'eau douce, nous avons suivi le protocole utilisé par Jacques (1979) et décrit par Brossard et Hussenot (1997). En effet les métasilicates ont un pH basique proche de 11, et afin d'éviter toute précipitation avec les autres nutriments le milieu doit être tamponné autour d'un pH de 2 avec de l'acide chlorhydrique technique (35 %) pur. Le protocole est décrit pour préparer 10 litres de solution mère permettant d'enrichir  $1 \text{ m}^3$  d'eau de mer (tableau 34). Durant la préparation, il y a agitation du milieu pour permettre une bonne dissolution des produits.

Tableau 34 : Description du protocole de préparation de la solution mère d'enrichissement. L'ajout des produits dans 10 litres d'eau douce se fait suivant un ordre précis. Les quantités sont données pour 10 litres de solution mère permettant d'enrichir 1 m<sup>3</sup> d'eau de mer.

Ordre de préparation	Masse (g)	Volume (mL)	Concentration finale souhaitée après enrichissement
1 - Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	25.457		120 µmol.L <sup>-1</sup>
2 - HCl		50	
3 - K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.767		7.7 µmol.L <sup>-1</sup>
4 - NaNO <sub>3</sub>	10.003		117.7 µmol.L <sup>-1</sup>

## 2 EXPERIMENTATIONS *IN SITU* UTILISANT LE MILIEU NPSi

Plusieurs séries d'expérimentations ont été réalisées dans la claire n°5 du marais expérimental, dans le but de tester l'emploi de l'enrichissement NPSi élaboré. Nous avons essayé de stimuler la croissance d'une population d'*Haslea ostrearia* au sein d'une claire ostréicole, tout en étant tributaire au maximum des conditions environnementales (température, éclairement, pluviométrie, et qualité de l'eau initiale...).

### 2-1 Matériel et méthode

Pour ce faire, nous avons utilisé des microcosmes : des cylindres en PVC transparent, ont été immergés (Fig. 32) (diamètre de 0.60 m, hauteur 1 m , épaisseur 10 mm). Ces microcosmes possèdent un fond étanche afin de supprimer l'influence éventuelle du sédiment. Le fond étanche est fixé par un joint inerte en silicone à 10 cm de la base du microcosme, permettant d'enfoncer celle-ci dans la vase assurant ainsi la fixation de l'enceinte. Pour une hauteur d'eau de 60 cm dans la claire, le volume utile est de 170 litres.

Pour les expérimentations *in situ*, huit microcosmes identiques ont été fabriqués par la société SARIC. Dans chaque microcosme, est placé un piège à sédiment, comportant 4 surfaces égales de 5 cm de diamètre, permettant d'échantillonner qualitativement et quantitativement une partie du microphytobenthos.

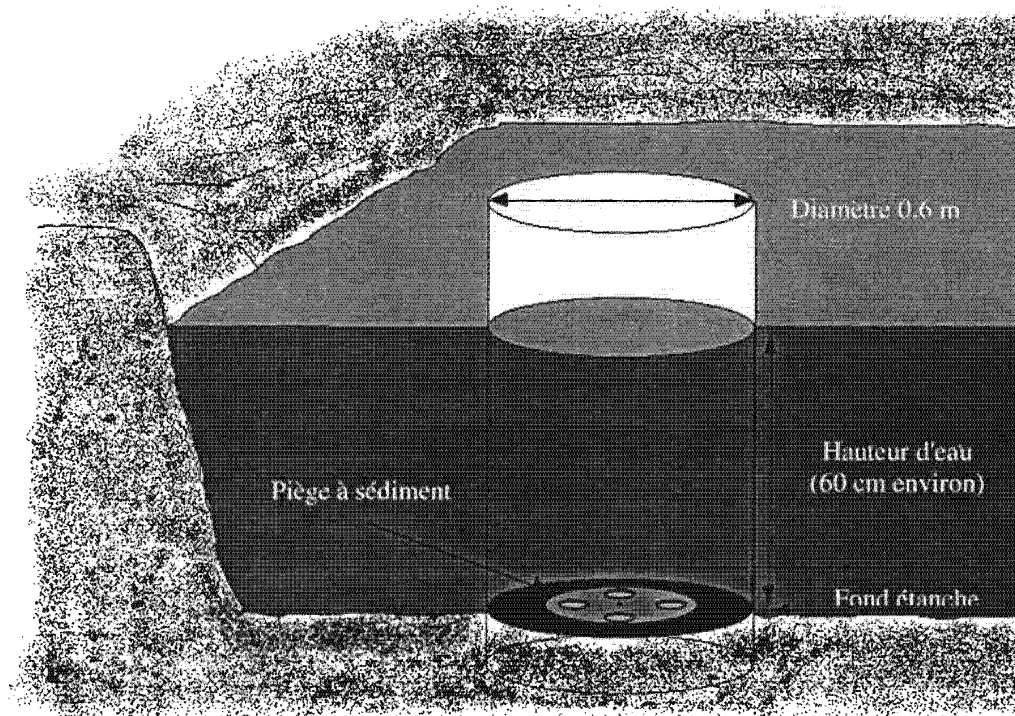


Figure 32 : Microcosme en PVC transparent immergé dans une claire.

Lors de l'alimentation en eau de la claire, les microcosmes sont immergés dans celle-ci, et remplis de façon à obtenir un volume utile de 170 litres dans chaque cylindre. L'eau introduite dans chaque enceinte n'est pas filtrée et possède les mêmes caractéristiques que celle de la claire. Le peuplement microphytoplanctonique initial est inventorié pour chaque microcosme : un litre d'eau est prélevé et fixé pour une concentration finale en formol de 2 %. Les échantillons sont laissés plusieurs jours à décanter et puis concentrés par élimination douce du surnageant, le volume final de chaque échantillon étant alors de 80 mL ; les échantillons sont stockés pour une analyse ultérieure au microscope.

Au début des expériences, 2 litres sont prélevés pour réaliser l'analyse des teneurs en chlorophylle *a* et phéopigments après filtration sur filtre Whatman GF/F suivant les méthodes décrites dans le chapitre précédent. Le filtrat est utilisé pour les dosages de nutriments ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{SiO}_3$ ,  $\text{PO}_4$ ) à l'autoanalyseur SKALAR suivant les méthodes classiques, l'ammonium par la méthode manuelle, et le dosage de la marennine externe suivant la méthode décrite par Robert et Hallet (1981). Chaque analyse est réalisée en triplicata pour tenir compte de la variabilité sur les mesures ; les modes de prélèvements sont décrits en figure 33, les volumes utilisés pour chaque dosage y sont précisés.

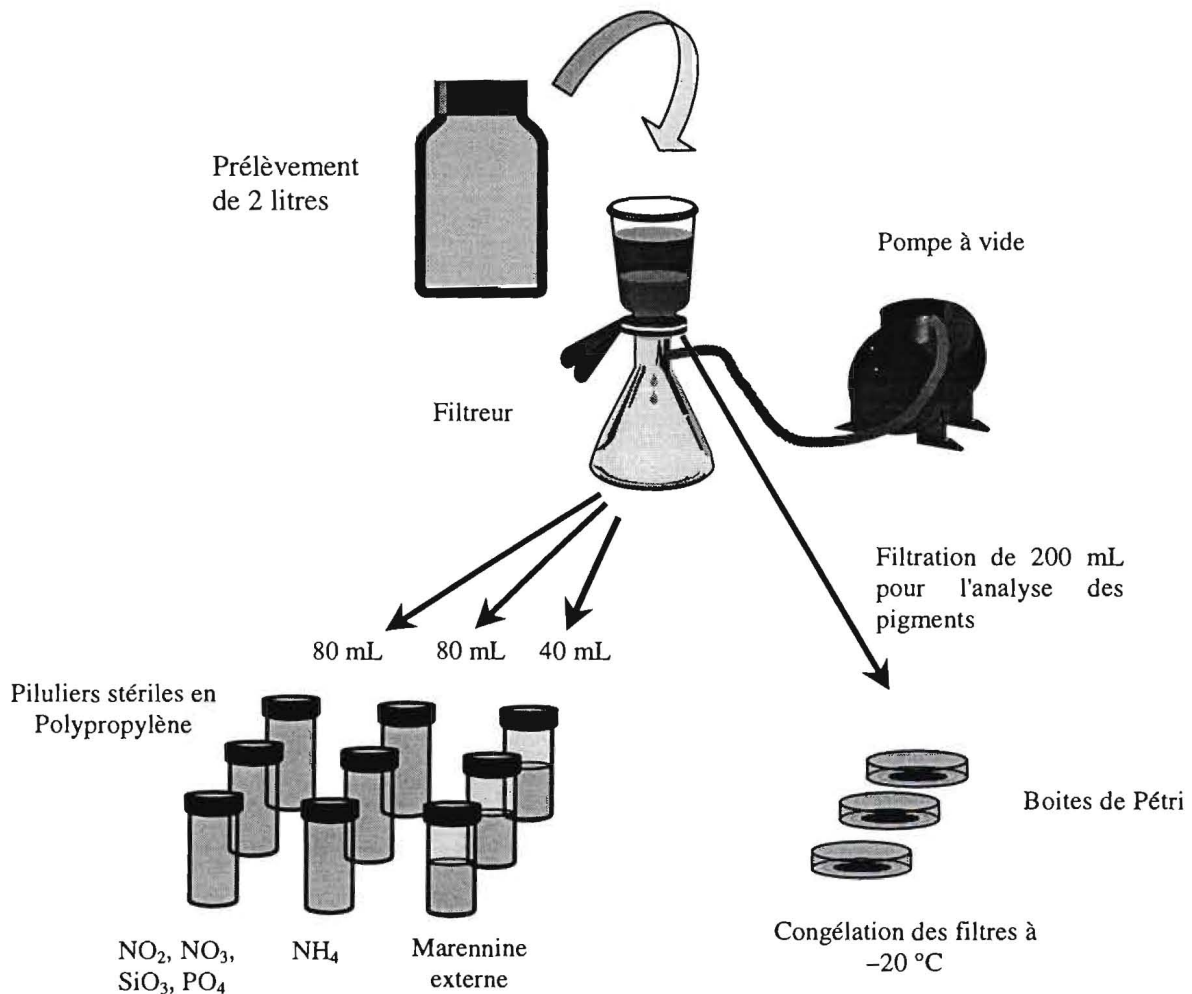


Figure 33 : Protocole de prélèvement des échantillons d'eau provenant des microcosmes.

Le milieu NPSi utilisé a été confectionné selon le protocole décrit précédemment et ajouté aux microcosmes devant être enrichis : 1 litre de milieu pour 100 litres d'eau de mer. La population d'*Haslea ostrearia* introduite dans certains microcosmes est préparée au laboratoire, en utilisant un clone isolé des claires ostréicoles du marais expérimental. L'inoculum provient de cultures réalisées en baril de 25 litres en conditions contrôlées ( $T^{\circ} : 15^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  ; éclaircissement de  $120 \mu\text{moles de photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , photopériode : 14h/10h (L/D)).

Après 10 jours de séjour de l'eau dans les microcosmes, ce qui correspond en moyenne au temps de séjour de l'eau d'une claire entre chaque renouvellement, un premier échantillonnage est réalisé sur la colonne d'eau, permettant de prendre en compte le compartiment phytoplanctonique. Ensuite les pièges à sédiments sont fermés et relevés. Le couvercle du

piège est nettoyé dans le microcosme pour le débarrasser du microphytobenthos s'y étant développé, afin de ne pas sous-estimer la production totale microphytobenthique.

Les quatre surfaces identiques de 19,625 cm<sup>2</sup>, sont échantillonnées suivant le protocole décrit figure 34.

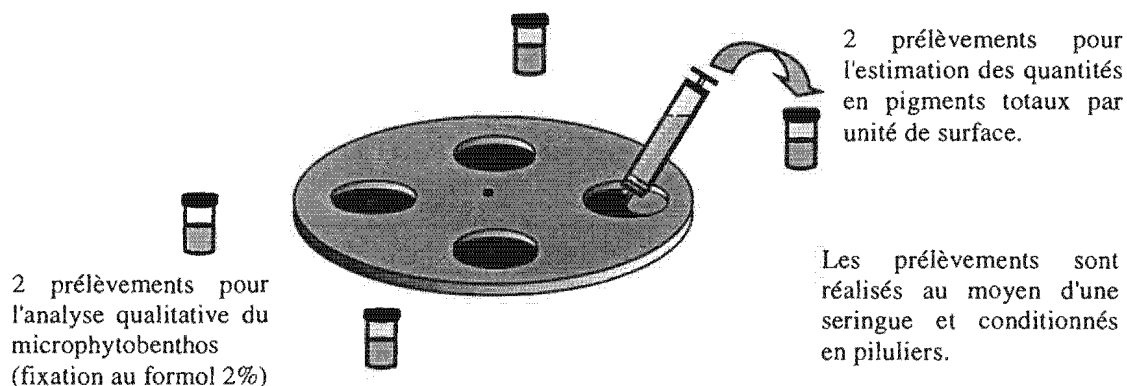


Figure 34 : Protocole de prélèvement des échantillons de microphytobenthos dans les pièges à sédiment.

Ensuite l'eau des microcosmes est agitée avec un balai-brosse de forme sphérique, permettant de décoller le phytoplancton fixé sur les parois et le fond étanche de chaque microcosme. Un nouvel échantillonnage est réalisé, permettant alors de prendre en compte le compartiment microphytobenthique.

## 2-2 Verdissement provoqué *in situ* à partir de cultures *d'Haslea ostrearia*.

La première expérimentation s'est déroulée à l'automne, en période d'affinage traditionnel : octobre 1997. Elle avait pour but de tester l'emploi du milieu NPSi tout en recherchant une concentration initiale optimale d'*Haslea ostrearia* permettant d'obtenir le verdissement des microcosmes. En début d'expérience, la claire est alimentée en eau lors d'une "maline". Ainsi, chaque microcosme, rempli avec l'eau entrante, renferme un peuplement microphytoplanctonique initial. Le plan d'expérience est décrit dans le tableau 35.

Tableau 35 : Plan d'expérience décrivant chaque microcosme immergé dans la claire.

	MICROCOSMES							
	M1	M 2	M 3	M 4	M 5	M 6	M 7	M 8
Concentration initiale ajoutée en <i>Haslea ostrearia</i> (cellules.mL <sup>-1</sup> )	250	250	500	500	1000	1000	2000	2000
Ajout de milieu enrichissant NPSi	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui

### 2-2-1 Evolution des concentrations en sels nutritifs dans les microcosmes.

La figure 35 représente l'évolution des concentrations en sels nutritifs entre le début d'expérience (T0) et la fin d'expérimentation (après 10 jours).

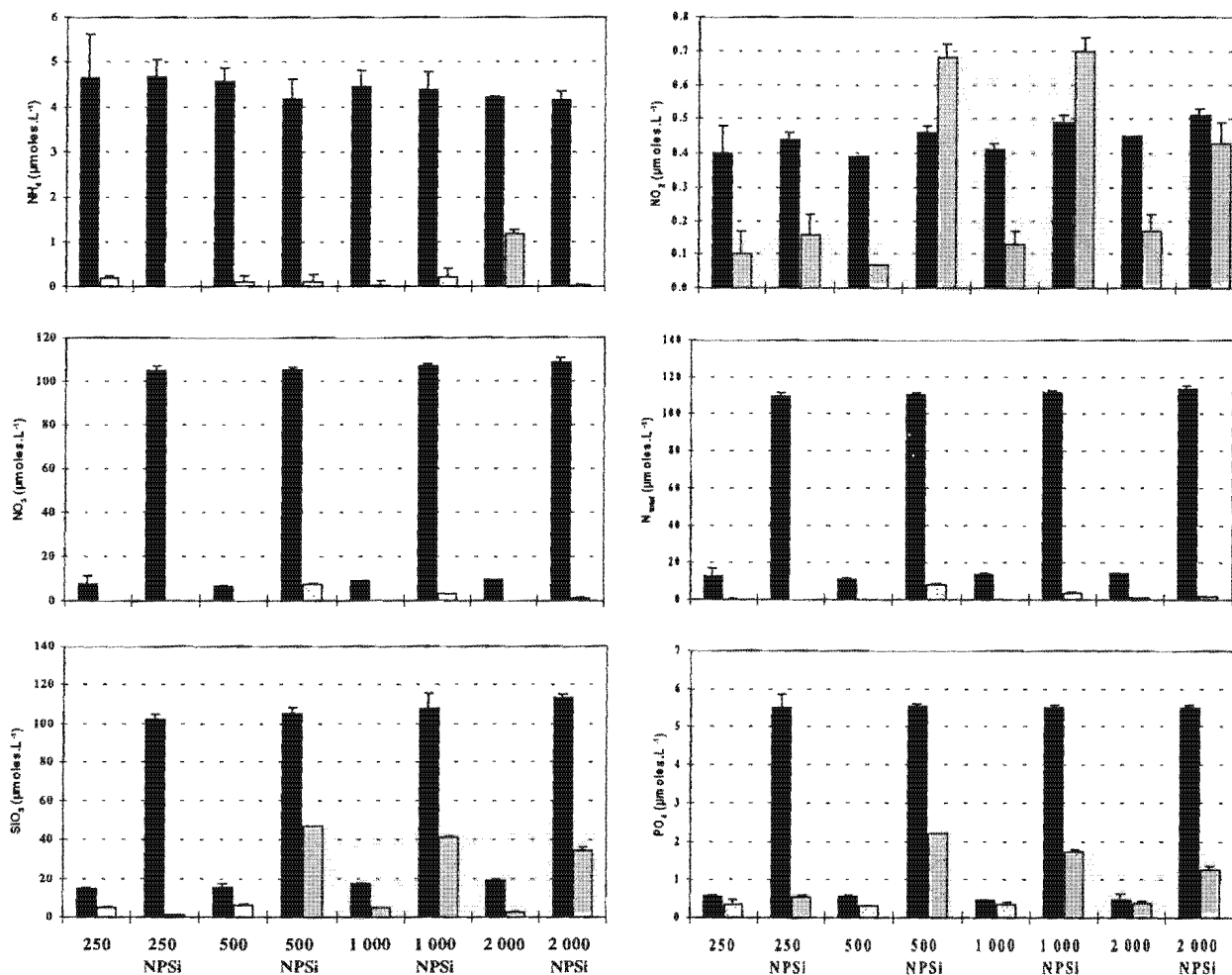


Figure 35 : Concentrations en sels nutritifs (ammonium, nitrites, nitrates, azote minéral total dissous, silicates dissous, et phosphore minéral dissous) dans les 8 microcosmes en début et en fin d'expérience. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%. En abscisses figure la concentration initiale en cellules d'*Haslea ostrearia* ( $\text{cell.mL}^{-1}$ ) en présence ou non du milieu enrichissant NPSi.

Pour l'ammonium, les concentrations observées en début d'expérience sont comprises entre 4.2 et 4.7  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  dans les microcosmes, ce qui est en accord avec les concentrations automnales observées dans l'estuaire de la Seudre. En fin d'expérimentations les concentrations sont comprises entre 0 et 1.2  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Le microcosme n°7 (2000  $\text{cell.mL}^{-1}$ )



est le seul à présenter une concentration plus élevée que les autres. Cependant, on peut conclure à une forte consommation de la réserve ammoniacale.

Pour les nitrites, les concentrations en début d'expérience sont comprises entre 0.4 et 0.5  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Ces concentrations sont plus faibles que celles observées dans l'estuaire de la Seudre pour la même période de l'année. En fin d'expérience, on note des différences entre microcosmes. Les concentrations diminuent dans les microcosmes "non enrichis", alors que pour les microcosmes "enrichis", on note une diminution pour M2 et M8, et une augmentation pour M4 et M6. Dans ces deux microcosmes la prolifération éventuelle de bactéries nitrifiantes ou dénitrifiantes pourrait être à l'origine de cette augmentation.

Les concentrations en nitrates sont relativement faibles en début d'expérimentations pour les microcosmes "non enrichis" (valeurs comprises entre 6.6 et 9.7  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ). Ces valeurs sont deux fois plus faibles, que les concentrations moyennes observées à la même époque de l'année dans l'estuaire de la Seudre. Les microcosmes "enrichis" quant à eux, présentent des concentrations moyennes comprises entre 104.7 et 108.7  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . On remarque une forte consommation des nitrates, conduisant presque à l'épuisement de la réserve initiale après 10 jours d'expérience dans tous les microcosmes (Tableau 36).

Pour les silicates, les concentrations moyennes initiales sont comprises entre 14.7 et 18.9  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Ces valeurs sont comparables à celles mentionnées dans le chapitre II pour l'estuaire de la Seudre. L'ajout, dans les microcosmes "enrichis", du milieu NPSi permet d'obtenir des concentrations en silicates comprises entre 102.2 et 113.4  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Les consommations dans les microcosmes "non enrichis" sont élevées sans épuisement total de la réserve initiale, alors que pour les microcosmes "enrichis", mis à part M2, ces consommations sont plus faibles comprises entre 53.9 et 67.8% de la réserve initiale (Tableau 36).

Pour les phosphates, les concentrations moyennes initiales sont comprises entre 0.5 et 0.6  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Ces valeurs sont proches de celles observées dans l'estuaire de la Seudre à la même époque de l'année. Les microcosmes "enrichis" présentent des concentrations initiales de 5.5  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Ce sont les microcosmes "non enrichis" qui présentent les consommations les plus faibles en pourcentage de la quantité initialement disponible, alors que dans les enceintes "enrichies", ces consommations y sont 2 à 3 fois plus fortes (Tableau 36).

Tableau 36 : Estimation en fin d'expérimentation de la consommation en nutriment en pourcentage de la réserve initiale dans chaque microcosme (valeur moyenne  $\pm$  intervalle de confiance à 95 %).

Microcosmes	Consommation en pourcentage de la réserve initiale		
	N total	Si	P
250 cell.mL <sup>-1</sup>	97.7 $\pm$ 1.9	64.3 $\pm$ 5.5	35.7 $\pm$ 22.6
250 cell.mL <sup>-1</sup> +NPSi	90.8 $\pm$ 0.1	97.5 $\pm$ 0.1	90.2 $\pm$ 1.5
500 cell.mL <sup>-1</sup>	98.4 $\pm$ 0.9	58.3 $\pm$ 5.5	42.9 $\pm$ 4.6
500 cell.mL <sup>-1</sup> +NPSi	83.3 $\pm$ 0.7	53.9 $\pm$ 1.4	60.0 $\pm$ 0.6
1000 cell.mL <sup>-1</sup>	98.8 $\pm$ 0.9	70.8 $\pm$ 1.1	29.7 $\pm$ 11.9
1000 cell.mL <sup>-1</sup> +NPSi	87.5 $\pm$ 0.4	60.2 $\pm$ 2.9	68.2 $\pm$ 1.1
2000 cell.mL <sup>-1</sup>	90.5 $\pm$ 0.3	85.2 $\pm$ 4.1	21.0 $\pm$ 24.6
2000 cell.mL <sup>-1</sup> +NPSi	89.6 $\pm$ 0.2	67.8 $\pm$ 1.8	77.1 $\pm$ 1.8

### 2-2-2 Evolution des concentrations en pigments totaux dans les microcosmes.

La figure 36 représente les concentrations en pigments totaux (Chlorophylle *a* + phéopigments) observées dans les microcosmes en fin d'expérience. Nous distinguerons l'échantillonnage dans la colonne d'eau (compartiment planctonique) de l'échantillonnage après agitation des microcosmes (colonne d'eau + compartiment benthique). La différence des deux, correspondant au compartiment benthique.

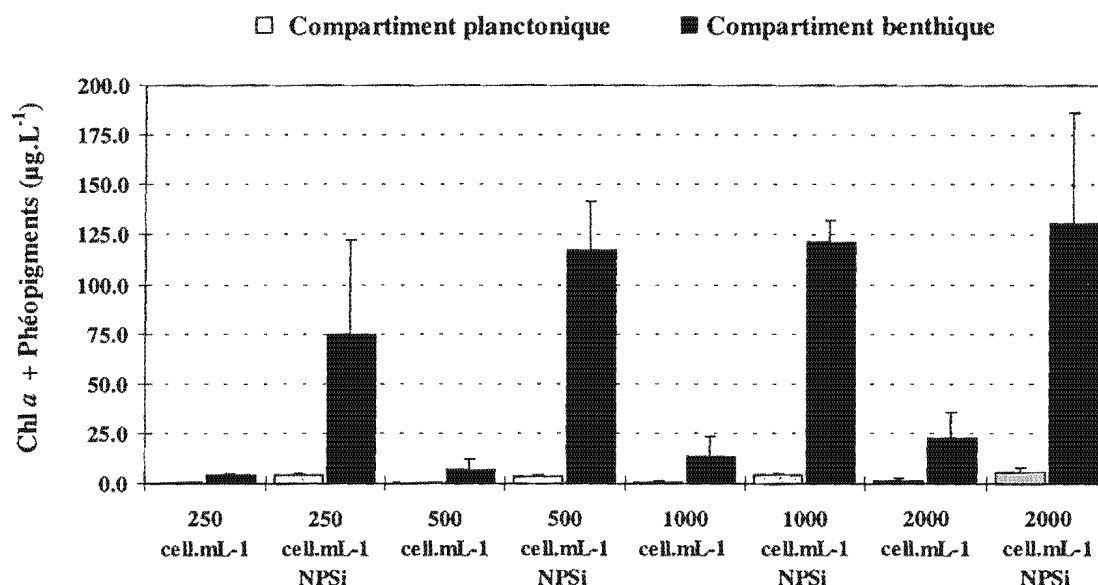


Figure 36 : Evolution de la concentration en chlorophylle *a* + phéopigments (Pigments totaux) dans les microcosmes. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%

L'examen des concentrations en pigments totaux montre tout d'abord qu'après 10 jours d'incubation dans les microcosmes, le compartiment benthique représente la majorité de la production phytoplanctonique. Le peuplement s'étant installé et développé a colonisé le fond

et les parois des microcosmes. On note un effet positif de l'enrichissement NPSi sur la production phytoplanctonique en terme de pigments totaux produits. En effet, le simple calcul du facteur multiplicatif observé entre les microcosmes "enrichis" ou "non enrichis", montre en moyenne un facteur multiplicatif égal à 12.

### 2-2-3 Evolution de la densité numérique en *Haslea ostrearia* dans les microcosmes.

Après 10 jours de séjour de l'eau dans les 8 microcosmes un comptage de la densité numérique en cellules d'*Haslea ostrearia* est réalisé (Figure 37). On peut noter un effet positif de l'enrichissement sur la quantité d'*H. ostrearia* obtenue. En effet, les concentrations observées sont entre 2 et 4 fois plus importantes dans les microcosmes "enrichis" que pour leurs homologues "non enrichis". La plus forte densité numérique est observée pour le microcosme M8, avec près de 25000 cellules.mL<sup>-1</sup>. On remarque de plus que le microcosme M2 (250 cellules.mL<sup>-1</sup> initiales + NPSi) permet d'obtenir une densité numérique comparable, mais moins forte, à celle du microcosme M7, dont la concentration initiale d'*Haslea ostrearia* était de 2000 cellules.ml<sup>-1</sup> et qui n'avait pas été enrichi. Il semble donc qu'une concentration initiale comprise entre 1000 et 2000 cellules.mL<sup>-1</sup> ainsi qu'un enrichissement en azote, phosphore et silicates permettent d'obtenir des concentrations comprises entre 20000 et 25000 cellules.mL<sup>-1</sup> en période automnale. Ces concentrations obtenues, sont 10 fois plus élevées que celles observées par Robert (1983) entre les mois de septembre et octobre lors de verdissements naturels dans les claires de Bourgneuf.

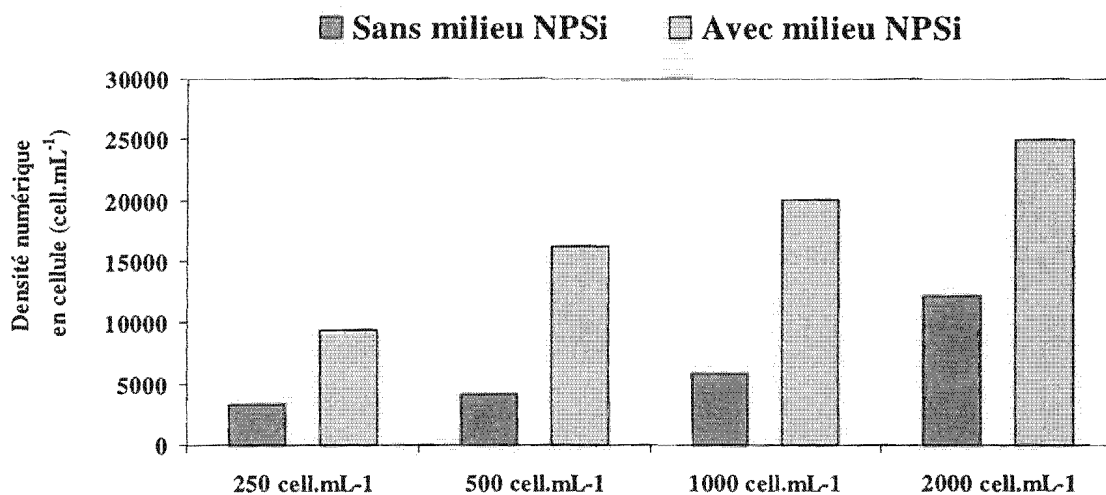


Figure 37 : Evolution de la densité numérique en cellules d'*Haslea ostrearia* dans les microcosmes.

### 2-2-4 Evolution des concentrations en marennine externe dans les microcosmes.

La concentration en marennine externe excrétée par les algues après 10 jours d'expérience est comparée entre microcosmes dans la figure 38.

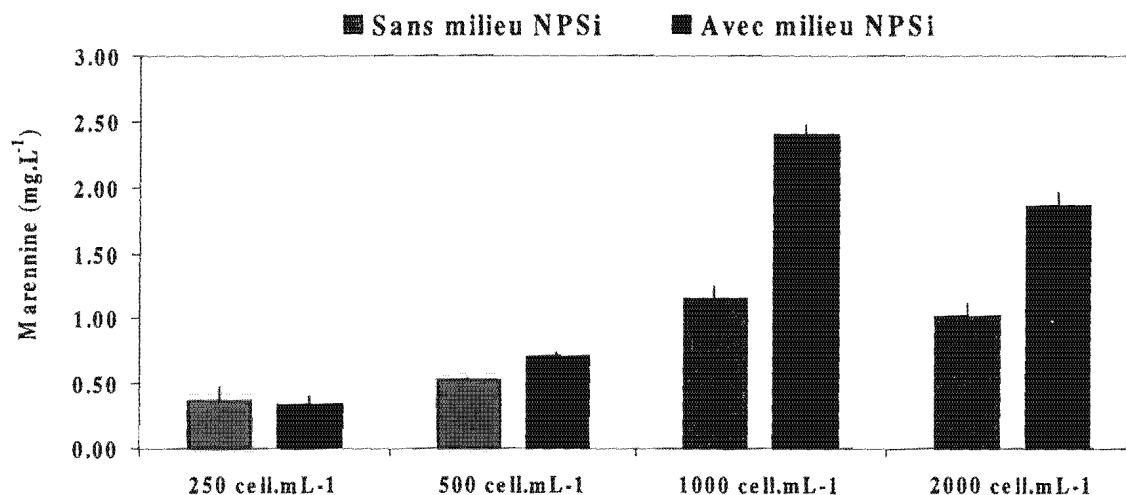


Figure 38 : Evolution de la concentration en marennine externe dans les microcosmes. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%

On peut noter que les plus fortes concentrations s'observent dans les microcosmes "enrichis" avec le milieu NPSi et ayant les concentrations initiales de 1000 et 2000 cell.mL<sup>-1</sup> d'*Haslea ostrearia* avec respectivement des concentrations de 2.4 et 1.9 mg.L<sup>-1</sup>. Un verdissement plus ou moins intense est donc constaté dans les microcosmes ; il est plus important en présence d'enrichissement et pour une concentration initiale en *Haslea ostrearia* supérieure ou égale à 1000 cell.mL<sup>-1</sup>.

### 2-2-5 Evolution des populations de diatomées dans les microcosmes.

Les échantillons de phytoplancton ont été analysés au niveau qualitatif mais aussi quantitatif en ne s'intéressant qu'au groupe des diatomées. La détermination des espèces ainsi que les comptages ont été réalisés au microscope photonique avec des lames hématimétriques de type Nageotte et Neubauer. Les résultats ont permis de dresser un tableau répertoriant les diatomées présentes dans les claires du marais expérimental IFREMER la Tremblade.

Pour caractériser le peuplement de diatomées des microcosmes, nous avons retenu plusieurs indices écologiques. Basés sur la théorie de l'information de Margalef (1958), les calculs des différents indices (Daget, 1976), nous ont conduits à choisir l'indice de diversité de Shannon

(H') relatif à un échantillon :  $H' = - \sum p_i \log_2 p_i$  avec  $p_i = n_i / N$  = fréquence relative de l'espèce  $i$  et  $N$  la somme des individus des  $i$  espèces.

Afin de comparer les structures des peuplements observés, un autre indice est utilisé : l'équitabilité (E) qui est le rapport entre l'indice de diversité de Shannon et l'indice de diversité maximal théorique :  $E = H' / \log_2 N$ . Cet indice varie entre des valeurs comprises entre 0 et 1 ; des valeurs élevées décrivent un peuplement dit équilibré, des valeurs tendant vers 0 traduisent un déséquilibre, avec la présence d'une ou deux espèces majoritaires en effectifs par rapport aux autres espèces.

### 2-2-5-1 Etude du peuplement en début d'expérience

En début d'expérimentation, l'analyse qualitative et quantitative du peuplement de diatomées présent dans chaque microcosme a été réalisée (tableau 37).

Les concentrations initiales en *Haslea ostrearia* sont conformes aux concentrations théoriques inoculées. On remarque que la diversité spécifique est variable d'un microcosme à l'autre. Ceci est dû à la présence d'espèces occasionnelles dont les effectifs sont faibles (5 cellules.mL<sup>-1</sup>) ; d'ailleurs la présence de ces espèces peu représentées induit des différences importantes entre microcosmes pour les valeurs de l'indice de Shannon. L'équitabilité qui tient compte des effectifs, montre des valeurs qui ont tendance à diminuer en fonction de l'augmentation des concentrations croissantes initiales d'*Haslea ostrearia* ajoutées. Ainsi le peuplement est plus équilibré dans les microcosmes ayant des concentrations initiales de 250 cell.mL<sup>-1</sup> que dans ceux avec 2000 cell.mL<sup>-1</sup>. L'équitabilité passe de valeurs comprises entre 0.69 et 0.81 à des valeurs proches de 0.30-0.31. Dans ces derniers microcosmes, *Haslea ostrearia* domine largement les autres espèces.

En ne considérant que les espèces qui représentent plus de 5 % des effectifs totaux de chaque peuplement, on peut noter que le peuplement initial est composé de 5 espèces majoritaires (*Haslea ostrearia*, *Navicula sp1*, *Navicula sp2*, *Nitzschia closterium*, et *Surirella sp*). La figure 39 montre les densité numériques en cellules dans les 8 microcosmes en début d'expérience. Seulement deux espèces sont présentes dans les enceintes : il s'agit d'une navicule de petite taille, non identifiée (*Navicula sp1*) et d'*Haslea ostrearia* dont les effectifs sont croissants. La figure 40 reprend ces résultats en terme de fréquence relative cumulée : ainsi dans les premiers microcosmes, *Haslea* représente entre 37 et 49 % des effectifs totaux alors qu'elle représente à elle seule près de 85 % dans les microcosmes où elle a été introduite à la concentration de 2000 cell.mL<sup>-1</sup>.

Tableau 37 : Inventaire, densités numériques en cellules (cellules.mL<sup>-1</sup>) des différentes espèces de diatomées observées dans les microcosmes et indices écologiques en début d'expérience.

Espèces	250	250	500	500	1000	1000	2000	2000
	cell.mL <sup>-1</sup>	cell.mL <sup>-1</sup>	cell.mL <sup>-1</sup>	cell.mL <sup>-1</sup>	cell.mL <sup>-1</sup>	cell.mL <sup>-1</sup>	cell.mL <sup>-1</sup>	cell.mL <sup>-1</sup>
	NPSi		NPSi		NPSi		NPSi	
<i>Amphora coffeaformis</i>						5		5
<i>Bidulphia sp</i>						5	5	
<i>Diploneis sp</i>		5	5			5	40	45
<i>Entomoneis paludosa</i>		5						
<i>Gyrosigma sp1</i>		5	5	10		10	40	
<i>Gyrosigma sp2</i>				5		5	75	
<i>Haslea ostrearia</i>	195	250	455	485	1080	1150	1815	2330
<i>Navicula sp1</i>	130	205	220	490	75	160	75	175
<i>Navicula sp2</i>	50	80			230			75
<i>Navicula sp3</i>		40						
<i>Nitzschia closterium</i>	20		10		45	75		
<i>Nitzschia sigma</i>		5		45		5	10	15
<i>Nitzschia sp</i>		5						
<i>Rhizosolenia sp1</i>						5		
<i>Skeletonema costatum</i>						10		
<i>Surirella sp</i>		80		10	5	5	45	45
<b>Diversité spécifique</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>12</b>	<b>8</b>	<b>7</b>
<b>Indice de Shannon (bits)</b>	<b>1.63</b>	<b>2.28</b>	<b>1.12</b>	<b>1.39</b>	<b>1.14</b>	<b>1.13</b>	<b>0.92</b>	<b>0.84</b>
<b>Equitabilité</b>	<b>0.81</b>	<b>0.69</b>	<b>0.48</b>	<b>0.54</b>	<b>0.49</b>	<b>0.31</b>	<b>0.31</b>	<b>0.30</b>

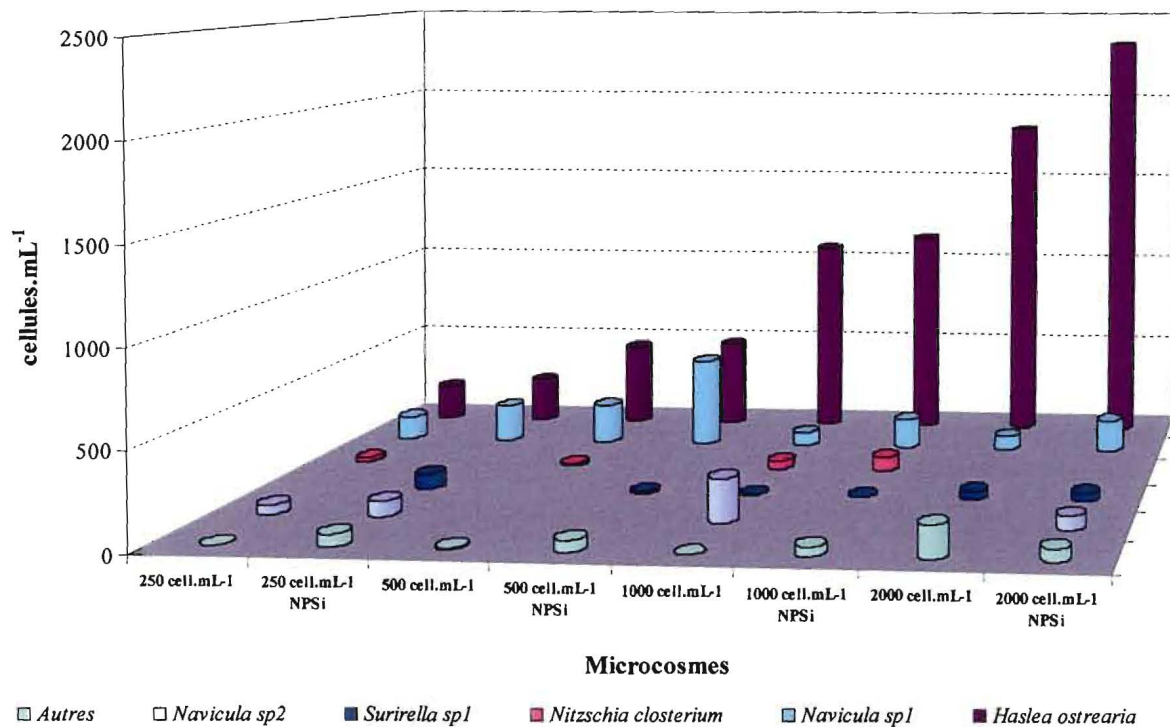


Figure 39 : Densités numériques en cellules observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en début d'expérience.

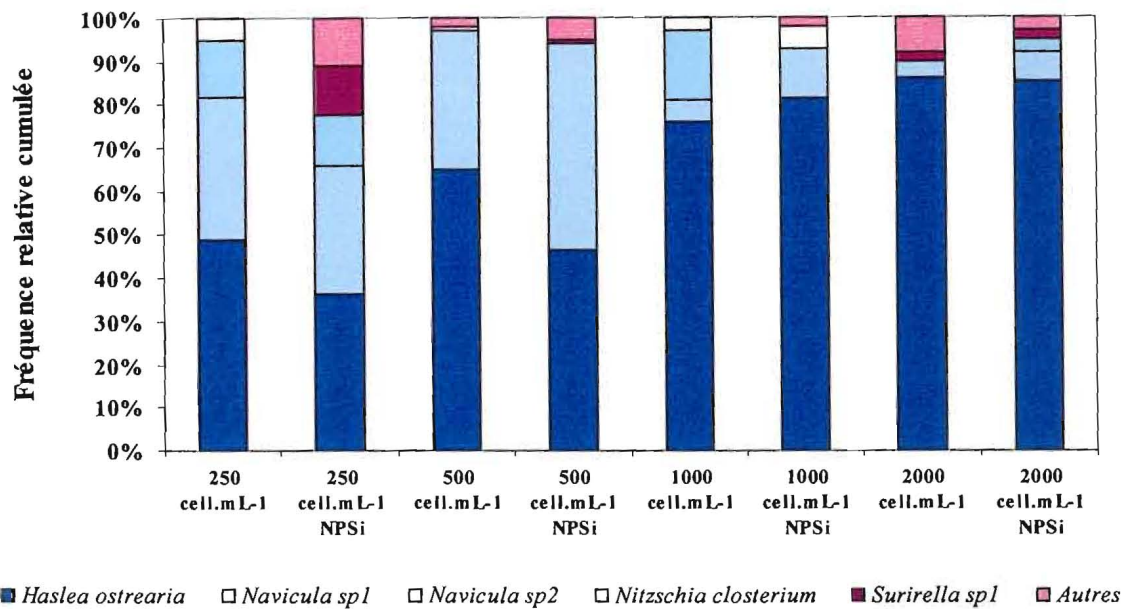


Figure 40 : Fréquences relatives cumulées observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en début d'expérience.

### 2-2-5-2 Etude du peuplement en fin d'expérience

Les résultats sont présentés dans le tableau 38. De prime abord, on note que la diversité spécifique a tendance à augmenter sensiblement dans chaque microcosme. En moyenne, une dizaine d'espèces ont été répertoriées et à de rares exceptions près, il s'agit des mêmes taxons.

L'examen des indices écologiques montre tout d'abord une diminution dans le temps, entre le début et la fin de l'expérience, de l'indice de Shannon et de l'équitabilité pour les microcosmes "non enrichis".

L'équitabilité tend vers une valeur comprise entre 0.26 et 0.33. Le peuplement des microcosmes "non enrichis" est donc dominé par une seule espèce, sur les figures 42 et 43 on s'aperçoit qu'il s'agit d'*Haslea ostrearia* qui représente plus de 80 % des effectifs totaux et ce dans les 4 microcosmes "non enrichis".

Tableau 38 : Inventaire, densités numériques en cellules (cellules.mL<sup>-1</sup>) des différentes espèces de diatomées observées dans les microcosmes et indices écologiques en fin d'expérience après 10 jours.

Espèces	250	250	500	500	1000	1000	2000	2000
	cell.mL <sup>-1</sup>	cell.mL <sup>-1</sup>	cell.mL <sup>-1</sup>	cell.mL <sup>-1</sup>	cell.mL <sup>-1</sup>	cell.mL <sup>-1</sup>	cell.mL <sup>-1</sup>	cell.mL <sup>-1</sup>
	NPSi		NPSi		NPSi		NPSi	
<i>Amphora coffeaformis</i>	45	130	5	60	25	15	5	75
<i>Bacillaria sp</i>			10					5
<i>Diploneis sp</i>			10	5		1	5	5
<i>Entomoneis alata</i>		75		20		150		
<i>Gyrosigma sp1</i>	5	80	5	25	5	5	10	5
<i>Gyrosigma sp2</i>			5		5			
<i>Haslea ostrearia</i>	3335	9380	4105	16215	5790	20060	12190	25020
<i>Melosira nummuloïdes</i>				45				
<i>Navicula sp1</i>	370	5430	390	16595	345	22460	1515	19950
<i>Nitzschia closterium</i>	205	10300	310	15485	650	17950	795	9235
<i>Nitzschia longissima</i>	15	1060		3170		2970		1605
<i>Nitzschia sigma</i>	10	160	10	215	40	25	5	20
<i>Rhizosolenia sp1</i>	15	15	10	5	20	5		
<i>Rhizosolenia sp2</i>	5	15						
<i>Skeletonema costatum</i>		3280	155			3775		4425
<i>Surirella sp1</i>							5	
<i>Thalassionema sp1</i>	125		20	55	85	15	5	115
<i>Thalassionema sp2</i>			20					
<b>Diversité spécifique</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>13</b>	<b>12</b>	<b>9</b>	<b>12</b>	<b>9</b>	<b>11</b>
<b>Indice de Shannon (bits)</b>	<b>1.10</b>	<b>2.15</b>	<b>1.09</b>	<b>1.89</b>	<b>0.94</b>	<b>2.02</b>	<b>0.81</b>	<b>1.92</b>
<b>Équitabilité</b>	<b>0.33</b>	<b>0.62</b>	<b>0.30</b>	<b>0.53</b>	<b>0.30</b>	<b>0.56</b>	<b>0.26</b>	<b>0.56</b>

L'ajout du milieu NPSi a un effet direct sur les peuplements initiaux, ainsi l'indice de Shannon et l'équitabilité ont tendance à augmenter dans le temps entre le début et la fin de l'expérience pour les microcosmes "enrichis". La comparaison en fin d'expérience entre microcosmes "non enrichis" et ceux où le milieu NPSi a été ajouté aboutit au même constat. Ainsi, l'équitabilité tend vers une valeur comprise entre 0.53 et 0.62 dans les microcosmes "enrichis". Le peuplement semble donc plus équilibré, plusieurs espèces sont alors dominantes.

L'examen des figures 41 et 42, montre en effet qu'*Haslea ostrearia* ainsi que *Nitzschia closterium* et *Navicula sp1* sont bien représentées dans ces microcosmes. Pour des concentrations initiales de 250, 500 et 1000 cell.mL<sup>-1</sup>, ces espèces représentent chacune près de 30 % des effectifs totaux. Pour le dernier microcosme enrichi (2000 cell.mL<sup>-1</sup>), *Haslea ostrearia* domine avec 41 % des effectifs, suivi de *Navicula sp1* avec 18 % et de *Nitzschia closterium* avec 15 %.

Comme nous l'avons déjà remarqué en regardant les concentrations en marennine dissoute excrétée au cours de l'expérience, on s'aperçoit que le verdissement apparaît dans tous les microcosmes. Ce verdissement est plus intense dans le microcosme n°8, où *Haslea ostrearia* reste dominante, malgré la présence d'autres espèces concurrentes.



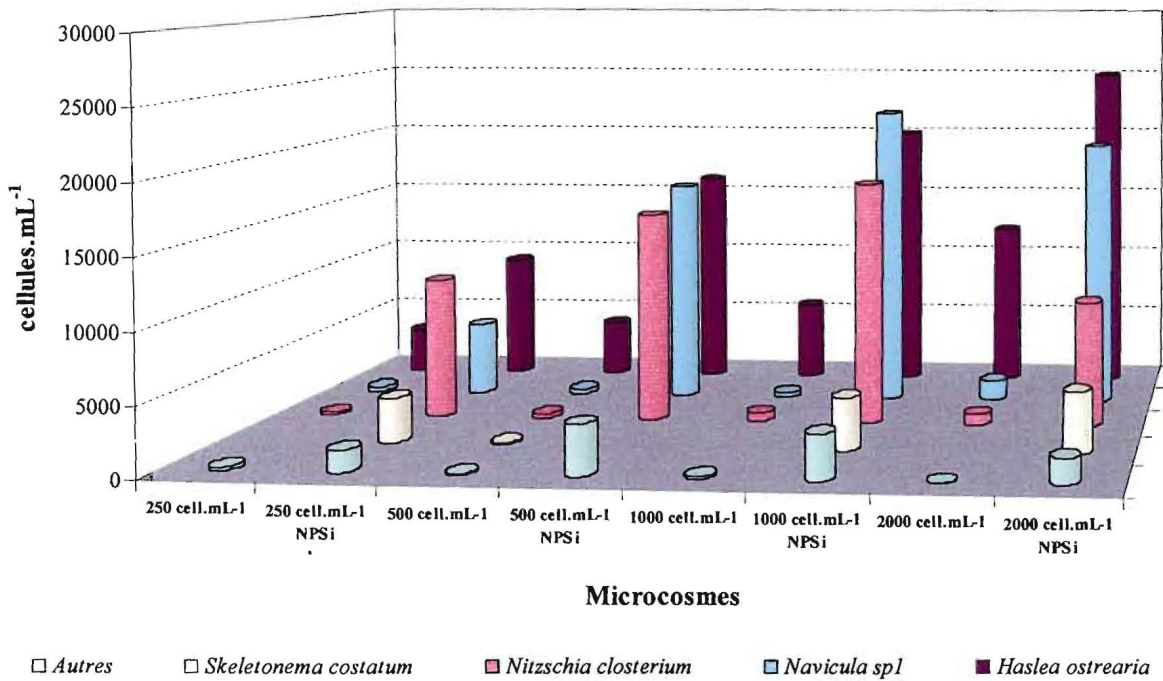


Figure 41 : Densités numériques en cellules observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en fin d'expérience.

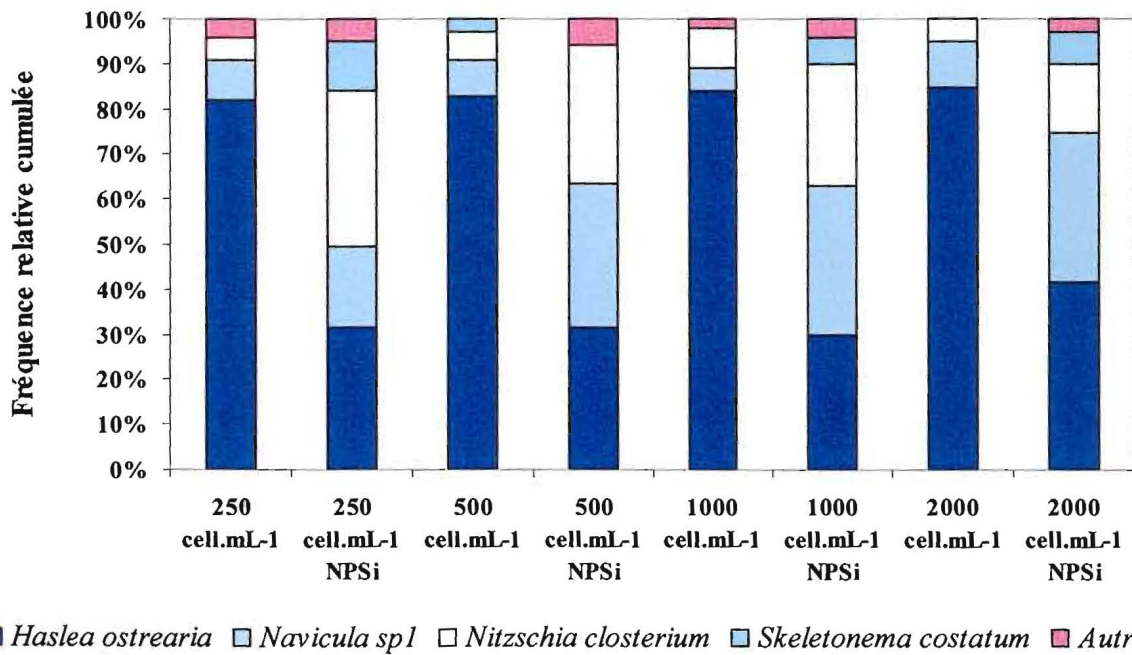


Figure 42 : Fréquences relatives cumulées observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en fin d'expérience.

## 2-3 Discussion et Conclusions

Dans les 8 microcosmes où une population d'*Haslea ostrearia* a été introduite à différentes concentrations en présence ou non du milieu enrichissant, un verdissement plus ou moins important a pu être induit. Le milieu enrichissant, basé uniquement sur trois éléments majeurs, montre toute son efficacité puisqu'il permet d'augmenter l'intensité du verdissement en favorisant le développement de la population d'*Haslea ostrearia* et par voie de conséquence, l'augmentation des quantités de marennine excrétées dans le milieu.

La prise de nutriments est sensiblement identique pour l'azote total et les silicates entre microcosmes "enrichis" et microcosmes "non enrichis" ; en revanche, pour les phosphates, cette dernière est deux à trois fois plus importante dans les microcosmes "enrichis".

Cependant, la présence d'autres espèces en début d'expérience semble augmenter la compétition interspécifique avec *Haslea ostrearia*, puisque l'eau utilisée dans les expériences n'avait pas été filtrée préalablement : ainsi en présence de l'enrichissement, *Haslea ostrearia* se multiplie activement mais entre en compétition avec deux autres diatomées, *Navicula sp1* et *Nitzschia closterium*, dont Rincé (1978) et Robert (1983) avaient pressenti l'importance dans ce type de milieu. Ces trois espèces constituent à elles seules plus de 90 % du peuplement de chaque microcosme. Sans l'enrichissement, le développement des populations d'*Haslea ostrearia* introduites est nettement moins important, l'algue restant dominante par rapport aux autres espèces, puisqu'elle représente encore plus de 80 % des effectifs totaux dans les microcosmes "non enrichis".

A partir d'une concentration initiale de  $1000 \text{ cell.mL}^{-1}$  en présence de l'enrichissement, la densité numérique maximale en cellules de  $20000 \text{ cell.mL}^{-1}$  est atteinte en 10 jours contre une densité numérique de  $5800 \text{ cell.mL}^{-1}$  en absence de l'enrichissement. Cependant en milieu enrichi, *Haslea ostrearia* ne représente que 30 % des effectifs totaux des diatomées.

En doublant la concentration initiale en cellules, la densité numérique maximale en présence du milieu NPSi atteint  $25000 \text{ cell.mL}^{-1}$  contre  $12000 \text{ cell.mL}^{-1}$  sans l'enrichissement ; dans cette situation, *Haslea ostrearia* représente à elle seule 41 % des effectifs totaux, devant *Navicula sp1* (18 %) et *Nitzschia closterium* (15 %).

Le milieu NPSi semble donc bien adapté pour augmenter la production primaire globale des eaux des claires. Dans le cas d'une production d'*Haslea ostrearia* sur une telle eau enrichie, il semblerait préférable d'effectuer une filtration de l'eau pour limiter au maximum la

compétition interspécifique avec d'autres espèces, comme *Nitzschia closterium* dont la présence dans ces milieux peut être importante. En outre, l'ensemencement d'une population d'*Haslea ostrearia* à un niveau initial de 2000 cell.mL<sup>-1</sup> contribuerait à un meilleur rendement de production de l'espèce algale.

### 3 INFLUENCE DES HUÎTRES SUR LE VERDISSEMENT

Dans le chapitre précédent, il a été montré que les huîtres immergées dans une claire, à la densité définie par la norme AFNOR de 20 individus au m<sup>-2</sup>, n'avaient pas d'influence significative sur la fertilité des eaux où elles étaient immergées.

En utilisant la technique des microcosmes décrite précédemment, il était intéressant de constater si les mollusques présentaient un rôle sur le verdissement provoqué dans les enceintes, notamment sur le peuplement de diatomées. En effet le tri sélectif des espèces lors de la filtration peut avoir une grande importance quant à l'orientation du peuplement vers le verdissement. Il n'est pas étonnant en effet de rappeler que ce phénomène est lié exclusivement à la présence des mollusques, comme Robert (1983) l'a déjà souligné en notant la forte prédilection d'*H. ostrearia* pour les milieux conchylicoles.

#### 3-1 Matériels et méthodes

En se servant des résultats précédents, il apparaissait donc intéressant d'étudier le verdissement provoqué, en faisant varier différents paramètres, la présence ou non d'une population initiale d'*Haslea ostrearia* à la concentration de 2000 cell.mL<sup>-1</sup>, avec ou non l'enrichissement NPSi, et en présence ou non de *Crassostrea gigas* à la densité de 20 individus au m<sup>-2</sup>. Le plan d'expérience est décrit dans le tableau 39.

La surface de chaque microcosme étant de 0.2826 m<sup>2</sup>, 5 huîtres de taille et de poids équivalents ont été immergées dans ces derniers et posées sur le fond étanche de chaque enceinte autour du piège à sédiment (figure 32).

Les prélèvements et analyses ont été réalisés comme dans l'expérience précédente : matériels et méthodes, § 2-1.

Tableau 39 : Plan d'expérience décrivant chaque microcosme immergé dans la claire.

	MICROCOSMES							
	M1	M 2	M 3	M 4	M 5	M 6	M 7	M 8
Ajout d' <i>Haslea ostrearia</i> (2000 cell.mL <sup>-1</sup> )	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non
Ajout d'huîtres (5 individus)	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui
Ajout de milieu enrichissant NPSi	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui
MICROCOSMES	Témoin	Huîtres	Haslea	Haslea Huîtres	Haslea NPSi	Haslea Huîtres NPSi	NPSi	Huîtres NPSi

En choisissant deux périodes d'expérimentations correspondant aux périodes d'abondance naturelle d'*Haslea ostrearia* dans les claires, c'est à dire en automne et au printemps, nous avons recherché la nature de la relation pouvant exister entre les huîtres et les espèces phytoplanctoniques en situation de verdissement provoqué. La première expérience s'est déroulée au mois de novembre 97 et la seconde au mois d'avril 98.

## 3-2 Expérience du mois de Novembre

### 3-2-1 Evolution des concentrations en sels nutritifs dans les microcosmes.

Sur la figure 43, sont présentées les concentrations en sels nutritifs en début d'expérience (T0) et en fin d'expérimentation, après 10 jours de stabulation dans les microcosmes.

Pour l'ammonium, on note une concentration moyenne initiale de 2.9  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , cette valeur correspond aux normales saisonnières observées en période hivernale dans l'estuaire de la Seudre. Après 10 jours d'expérience, on remarque que dans les microcosmes sans huître la réserve en azote ammoniacale est totalement épuisée, alors qu'au contraire dans les microcosmes où des huîtres ont été immergées cette réserve ne l'est pas. On remarque de plus que les concentrations en ammonium en fin d'expérience ne sont pas équivalentes dans ces microcosmes, les concentrations les plus faibles, autour de 0.8  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , sont observées dans les deux microcosmes (M4 et M6) où *Haslea ostrearia* a été introduite également.

Pour les nitrites, la concentration initiale moyenne de 0.7  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , est conforme à celle observée habituellement entre la fin de l'automne et le début de l'hiver dans les eaux de l'estuaire de la Seudre. En fin d'expérience, on s'aperçoit que les concentrations en nitrites sont différentes dans les microcosmes. Ainsi, les microcosmes "enrichis" présentent tous des concentrations moyennes équivalentes, proches de 1.2  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Alors que dans les

microcosmes "non enrichis", seuls ceux où des huîtres sont immergées, présentent des concentrations en nitrites proches des valeurs initiales. Dans le Témoin (M1) et le microcosme Haslea (M3), les teneurs en azote nitreux ont diminué.

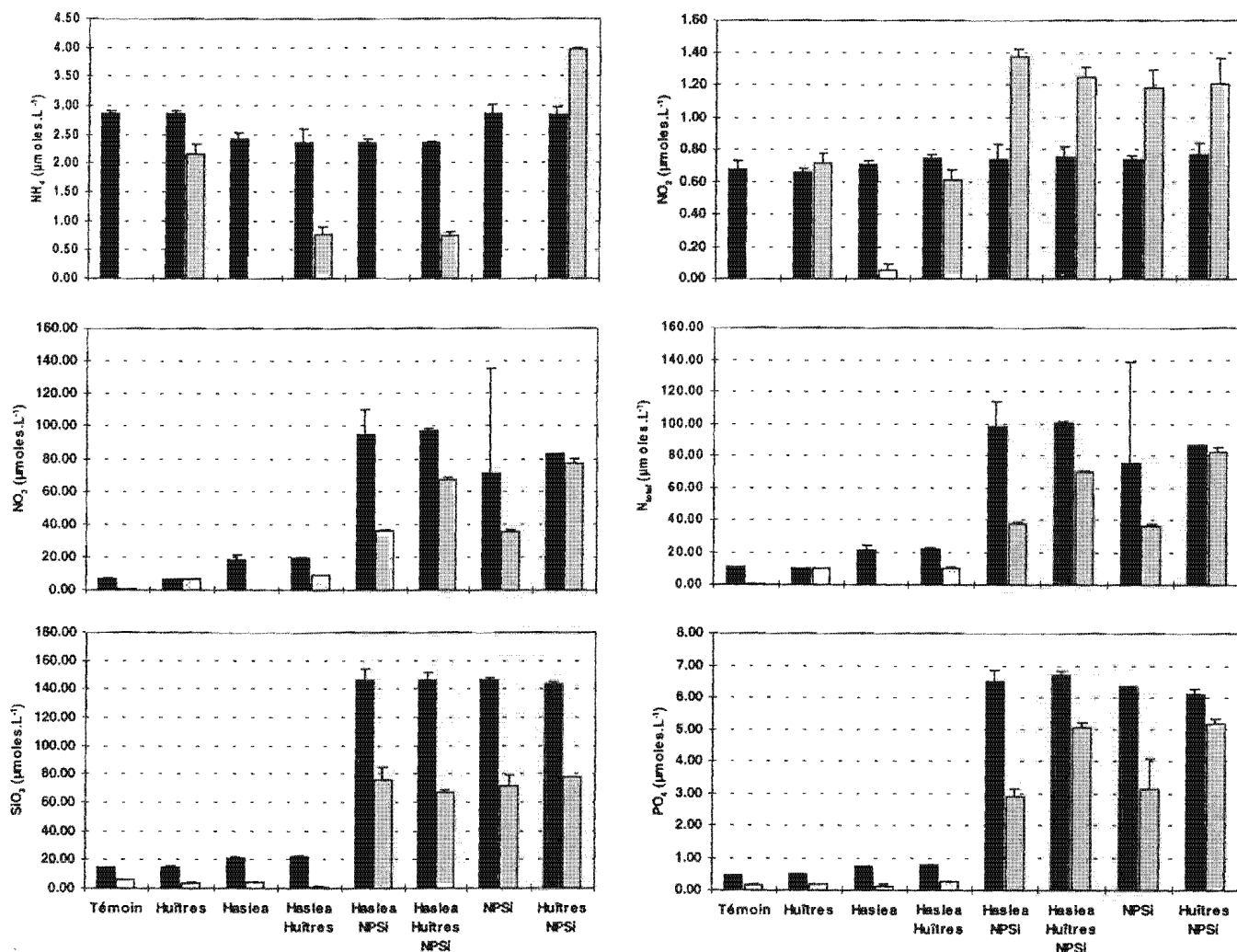


Figure 43 : Concentrations en sels nutritifs (ammonium, nitrites, nitrates, azote minéral total dissous, silicates dissous, et phosphore minéral dissous) dans les huit microcosmes en début et en fin d'expérience. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%.

Pour les nitrates, la concentration initiale voisine de  $7 \mu\text{mol.L}^{-1}$  reste trois fois moins importante que celle habituellement observée à la même époque dans l'estuaire de la Seudre. L'ajout de l'inoculum augmente les teneurs en nitrates d'environ  $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , alors que l'enrichissement quant à lui, augmente cette concentration seulement de près de  $65 \mu\text{mol.L}^{-1}$  au lieu des  $117.7 \mu\text{M}$  ajoutées en théorie. En fin d'expérience, on note un épuisement total de la réserve en nitrates dans les microcosmes "Témoin" et "Haslea", alors que dans les microcosmes enrichis en NPSi, le stock d'azote nitrique n'est pas épuisé. De plus la présence

des huîtres semble indiquer une moins forte utilisation de cette forme azotée dans les microcosmes.

L'azote total minéral dissous suit exactement la même évolution que l'azote nitrique. Dans le tableau 40, l'estimation des consommations en azote total dissous, exprimées en pourcentage de la réserve initiale consommée, montre clairement que la présence d'huîtres influence sensiblement la consommation en azote total inorganique dissous, en diminuant cette dernière. On peut penser que le flux constant d'azote excrété par les huîtres est directement repris par les microalgues au détriment des nitrates (consommations comprises entre 2.9 et 53.1 %, tableau 40).

Pour les silicates, la concentration initiale moyenne de  $15 \mu\text{mol.L}^{-1}$  observée dans le microcosme Témoin est caractéristique des eaux de l'estuaire de la Seudre pour la même période de l'année. L'ajout d'enrichissement dans les microcosmes permet d'obtenir une concentration moyenne initiale de  $146 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . Dans les microcosmes "non enrichis" après 10 jours d'expérience, ce sont entre 60 et 98% de la réserve initiale qui sont utilisés. Alors que dans les microcosmes "enrichis" la consommation moyenne est moins importante mais équivalente entre microcosmes (valeurs comprises entre 46 et 54 % de la réserve initiale).

La concentration moyenne initiale en phosphates dans le microcosme Témoin est de  $0.5 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , cette valeur est plus faible que celle généralement observée à la même époque dans l'estuaire de la Seudre. Dans les microcosmes "enrichis", la concentration initiale moyenne est voisine de  $6.5 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , ce qui est légèrement moins important que la concentration théorique ajoutée de  $7.7 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . Après 10 jours, les concentrations en phosphates sont toutes plus importantes dans les microcosmes où des huîtres sont immergées. La consommation moyenne en phosphates y est moins importante. On peut donc penser au rôle des substances organiques phosphatées pouvant être assimilées directement par les microalgues au détriment du phosphore inorganique dissous.

Tableau 40 : Estimation en fin d'expérimentation de la consommation en nutriment en pourcentage de la réserve initiale dans chaque microcosme (valeur moyenne  $\pm$  intervalle de confiance à 95 %).

Microcosmes	Consommation en pourcentage de la réserve initiale		
	N total	Si	P
Témoin	$96.3 \pm 1.3$	$60.2 \pm 3.4$	$69.1 \pm 13.3$
Huîtres	$2.9 \pm 1.0$	$76.8 \pm 8.9$	$65.8 \pm 0.0$
Haslea	$99.1 \pm 0.8$	$80.2 \pm 2.4$	$84.4 \pm 8.4$
Haslea + Huîtres	$53.1 \pm 1.3$	$97.9 \pm 5.7$	$66.6 \pm 0.0$
Haslea + NPSi	$61.5 \pm 6.2$	$48.4 \pm 3.7$	$55.2 \pm 4.1$
Haslea + Huîtres + NPSi	$30.4 \pm 1.0$	$54.3 \pm 3.0$	$24.5 \pm 1.0$
NPSi	$59.4 \pm 2.1$	$51.4 \pm 5.5$	$50.6 \pm 14.8$
Huîtres + NPSi	$5.0 \pm 3.0$	$45.9 \pm 0.7$	$15.4 \pm 4.0$

### 3-2-2 Evolution des concentrations en pigments totaux dans les microcosmes.

Les teneurs en pigments totaux (Chlorophylle *a* + Phéopigments) en fin d'expérience dans les deux compartiments analysés (planctonique et benthique) sont présentées dans la figure 44. Les concentrations moyennes en pigments totaux sont variables entre microcosmes. L'ajout du milieu NPSi permet d'augmenter la production phytoplanctonique globale (compartiment planctonique + compartiment benthique) d'un facteur 5 : comparaison "Témoin" et microcosme "NPSi".

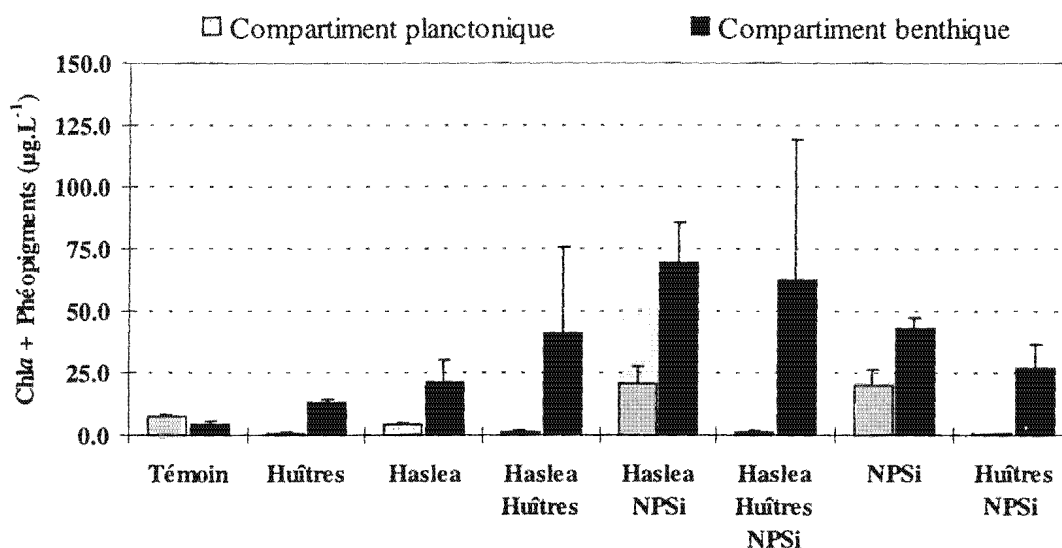


Figure 44 : Evolution de la concentration en chlorophylle *a* + phéopigments (Pigments totaux) dans les microcosmes. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%

En général, la production phytoplanctonique est plus importante au niveau du compartiment benthique par rapport au compartiment planctonique : le compartiment benthique représentant en moyenne 69 % de la production globale dans les microcosmes sans huîtres et 98 % pour les enceintes avec huîtres.

Si l'on compare les enceintes deux à deux, on note, dans les microcosmes "non enrichis" où des huîtres sont présentes (M2 et M4), que la production benthique est plus forte que dans M1 (Témoin) et M3 (Haslea) ; alors que dans les microcosmes "enrichis", l'inverse est observé : le compartiment benthique est plus important dans les microcosmes sans huître. La présence des bivalves joue un rôle sur le compartiment planctonique puisque l'on note une diminution des concentrations en pigments totaux dans la colonne d'eau. On observe donc une utilisation, par les mollusques immergés, de la biomasse microphytoplanctonique produite dans la colonne d'eau.

### 3-2-3 Evolution de la densité numérique en *Haslea ostrearia* dans les microcosmes.

La figure 45 présente l'évolution des concentrations d'*Haslea ostrearia* après 10 jours d'expérimentation dans les microcosmes. La concentration initiale en cellule introduite est proche de la densité numérique en cellule théorique de 2000 cell.mL<sup>-1</sup>.

Après 10 jours, on note une augmentation importante des concentrations, d'un facteur 3 dans les microcosmes "non enrichis" et 5 dans les microcosmes "enrichis". La présence des huîtres ne semble pas affecter la concentration d'*Haslea ostrearia* produite. Dans ces quatre microcosmes, le verdissement est observé (Fig. 51).

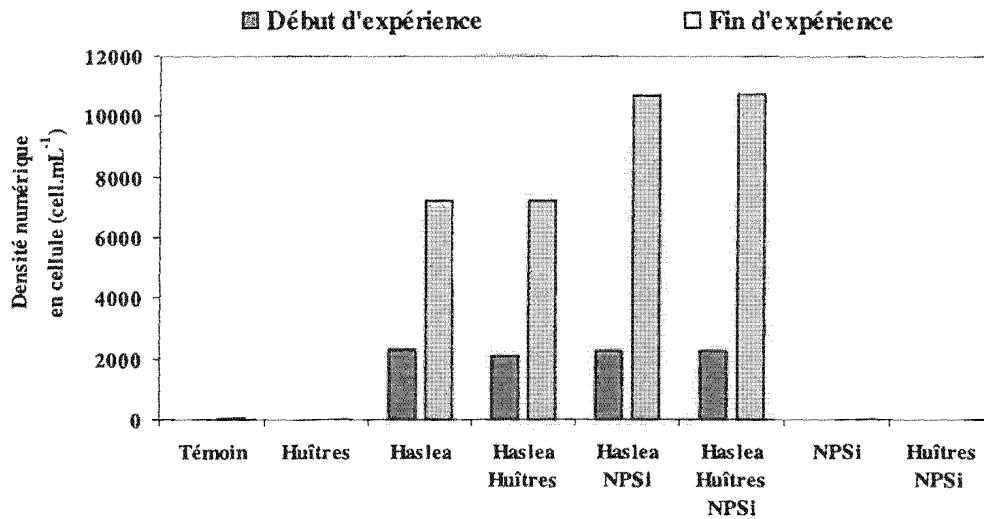


Figure 45 : Evolution de la densité numérique en cellules d'*Haslea ostrearia* dans les microcosmes.

### 3-2-4 Evolution des concentrations en marennine externe dans les microcosmes.

La concentration en marennine excrétée par *Haslea ostrearia* a pu être estimée dans les microcosmes en début et en fin d'expérimentation (Fig. 46).

De prime abord, on peut remarquer que les deux microcosmes "enrichis", qui présentent les plus fortes concentrations en *Haslea ostrearia* en fin d'expérimentation, ne présentent pas les plus fortes concentrations en marennine excrétée dans le milieu. En effet, ces valeurs s'observent dans les deux microcosmes où des huîtres sont présentes (M4 et M6).

Cette constatation peut s'expliquer par :

- ♦ La dégradation bactérienne du mucus enrobant les fèces et pseudofèces des huîtres et la minéralisation des substances dissoutes issues du mucus sont connues pour leurs



implications dans le développement de la pigmentation (Ranson, 1943, 1952) et la stimulation de la croissance d'*Haslea ostrearia* (Cognie et Barillé, 1999).

- ◆ L'appauvrissement de la réserve nutritive après 10 jours d'expérimentation, conduit à une carence nutritionnelle pour l'algue, ce qui, selon Neuville et Daste (1972) et Robert (1975) peut entraîner la synthèse de marennine.

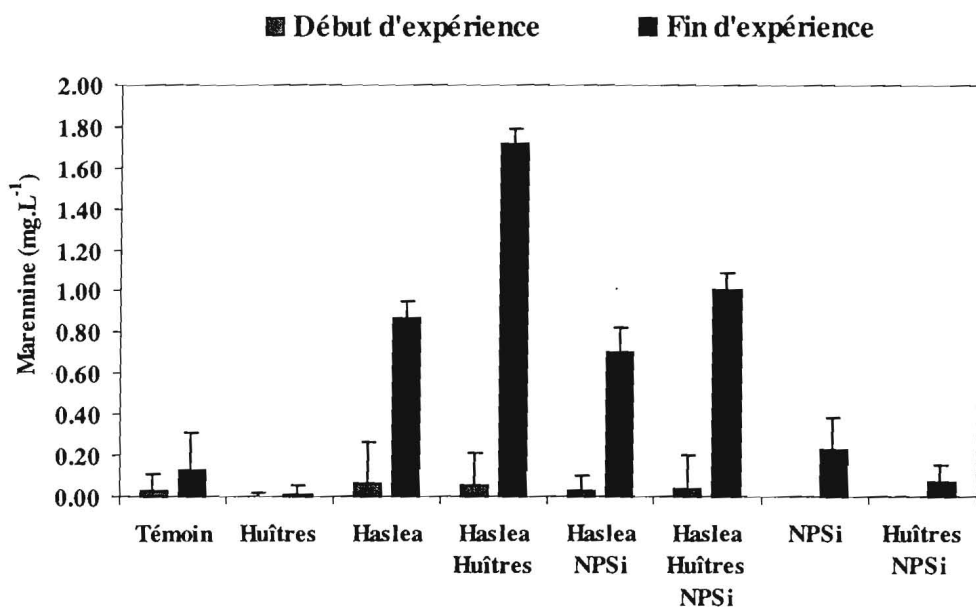


Figure 46 : Evolution de la concentration en marennine externe dans les microcosmes. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%

### 3-2-5 Evolution des populations de diatomées dans les microcosmes.

#### 3-2-5-1 Etude du peuplement en début d'expérience

L'analyse qualitative et quantitative du peuplement de diatomées présent dans les microcosmes en début d'expérience est réalisée. Les résultats sont présentés dans le tableau 41. La diversité spécifique dans les enceintes immergées est comprise entre 5 et 13. Cette variabilité peut s'expliquer par la présence d'espèce rencontrées en faible concentration entre 5 et 10 cellules.mL<sup>-1</sup>, ce qui à pour conséquence un grande dispersion de l'indice de Shannon. L'introduction d'une population initiale théorique en *Haslea ostrearia* de 2000 cell.mL<sup>-1</sup> induit une diminution de l'équitabilité comprise entre 0.12 et 0.31, ce qui traduit un déséquilibre initial du peuplement avec une ou deux espèce(s) aux effectifs majoritaires. Sur la figure 47, on peut noter que deux espèces sont également relativement bien représentées dans le

peuplement des microcosmes, il s'agit de *Navicula sp1* et à moindre échelle de *Nitzschia closterium*.

Tableau 41 : Inventaire, densités numériques en cellules (cellules.mL<sup>-1</sup>) des différentes espèces de diatomées observées dans les microcosmes et indices écologiques en début d'expérience.

Espèces	Témoin	Huîtres	Haslea	Haslea Huîtres	Haslea NPSi	Haslea Huîtres NPSi	NPSi	Huîtres NPSi
<i>Amphora coffeaformis</i>	75					40	5	5
<i>Cocconeis sp</i>	5		25	40	10			70
<i>Diploneis sp</i>	10		5	5	5	25	5	25
<i>Entomoneis alata</i>	40					45		10
<i>Entomoneis paludosa</i>						5		
<i>Gyrosigma sp1</i>	10	25	20		5	10	5	45
<i>Gyrosigma sp2</i>	5		5	35	5	5	5	15
<i>Haslea ostrearia</i>			2310	2110	2280	2236		
<i>Navicula lanceolata</i>						5		35
<i>Navicula sp1</i>	330	85	40	140	270	305	125	415
<i>Nitzschia acicularis</i>						5		
<i>Nitzschia closterium</i>	75	40		60	80			
<i>Nitzschia longissima</i>					5	40		
<i>Nitzschia sigma</i>	10			10		30	5	40
<i>Nitzschia sp2</i>		40						
<i>Surirella sp1</i>	5	5		40	10	15		45
<i>Thalassionema sp</i>				10				
<b>Diversité spécifique</b>	<b>10</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>13</b>	<b>6</b>	<b>10</b>
<b>Indice de Shannon (bits)</b>	<b>1.99</b>	<b>1.98</b>	<b>0.32</b>	<b>0.92</b>	<b>0.81</b>	<b>1.14</b>	<b>1.04</b>	<b>2.16</b>
<b>Equitabilité</b>	<b>0.60</b>	<b>0.85</b>	<b>0.12</b>	<b>0.29</b>	<b>0.26</b>	<b>0.31</b>	<b>0.40</b>	<b>0.65</b>

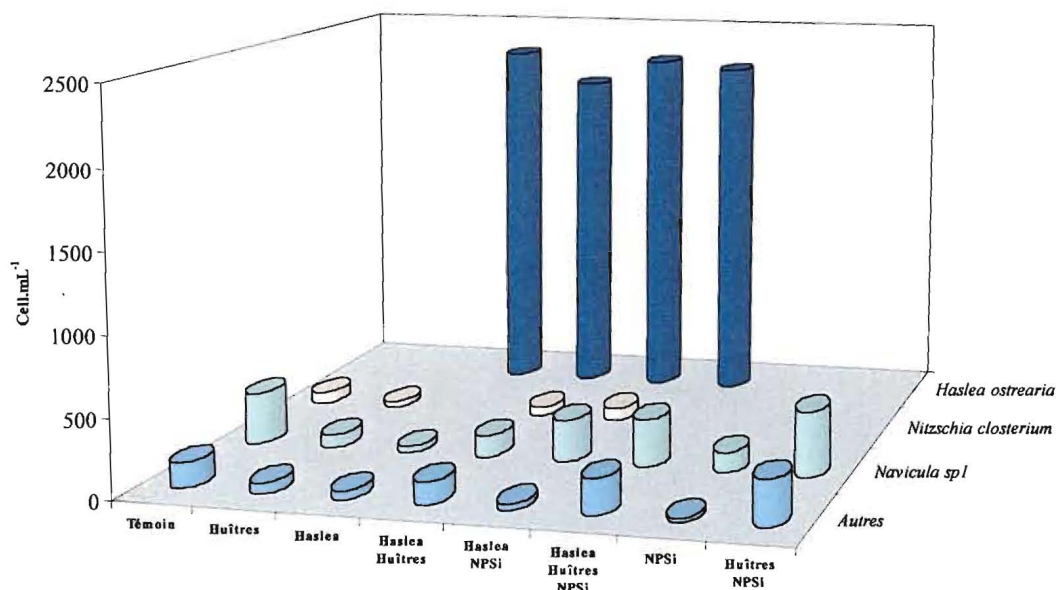


Figure 47 : Densités numériques en cellules observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en début d'expérience.

L'examen des fréquences relatives cumulées montre qu'*Haslea ostrearia* représente plus de 80 % des effectifs totaux initiaux du peuplement dans les enceintes où cette espèce a été introduite (Fig. 48). *Navicula sp1* est ensuite l'espèce la mieux représentée dans tous les microcosmes, notamment entre 42 et 80 % des effectifs dans les microcosmes sans *Haslea*.

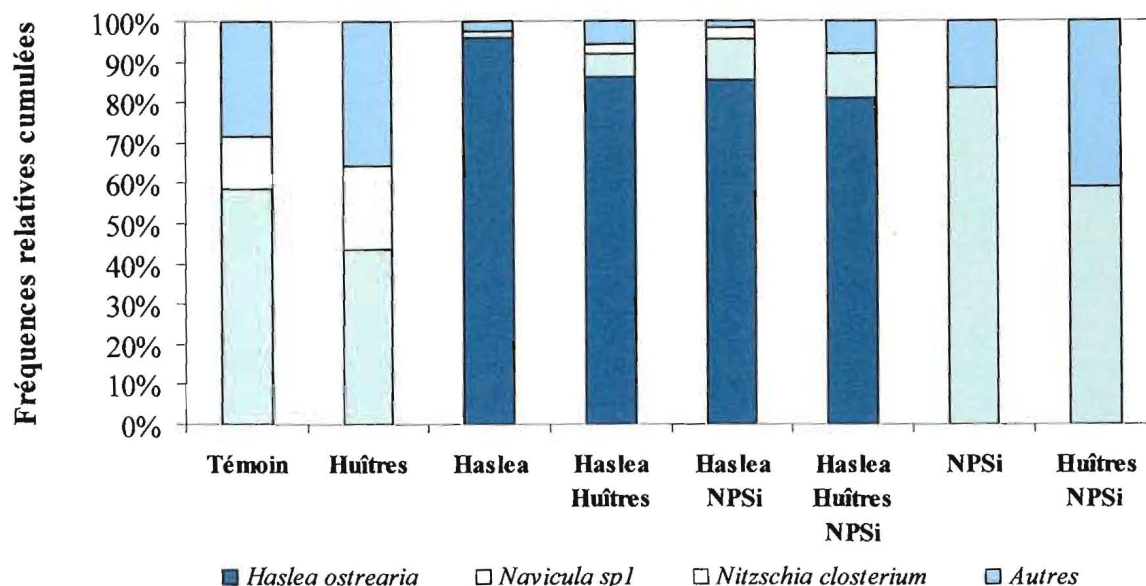


Figure 48 : Fréquences relatives cumulées observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en début d'expérience.

### 3-2-5-2 Etude du peuplement en fin d'expérience

Les résultats concernant l'étude du peuplement en fin d'expérience après séjour de l'eau de la claire dans les microcosmes sont présentés dans le tableau 42.

La diversité spécifique dans les enceintes immergées est en moyenne comprise entre 11 et 14 espèces, à l'exception du microcosme M3. La comparaison, deux à deux, des microcosmes sans et avec huîtres, montre pour les microcosmes "non enrichis" une diminution de l'équitabilité, ce qui indique donc la dominance d'une ou deux espèces. L'ajout du mélange enrichissant NPSi, augmente les densités numériques en cellules des taxons les mieux représentés (*Haslea ostrearia*, *Nitzschia closterium*, et *Navicula sp1*) (fig. 49), ce qui entraîne une diminution de l'équitabilité autour de 0.35-0.37, sans permettre d'observer l'influence due à la présence des huîtres mise en évidence précédemment pour ce paramètre.

Tableau 42 : Inventaire, densités numériques en cellules (cellules.mL<sup>-1</sup>) des différentes espèces de diatomées observées dans les microcosmes et indices écologiques en fin d'expérience après 10 jours.

Espèces	Témoin	Huîtres	Haslea	Haslea Huîtres	Haslea NPSi	Haslea Huîtres NPSi	NPSi	Huîtres NPSi
<i>Achnantes sp</i>		10						
<i>Amphora coffeaformis</i>	5	20	75	5	5	5	5	5
<i>Asterionella sp</i>		25						
<i>Bacillaria sp</i>	5	5						
<i>Coconeis sp</i>	10	40		40	5	5		20
<i>Diploneis sp</i>					40	5	45	20
<i>Entomoneis alata</i>	25	10		75	5	25	65	55
<i>Entomoneis paludosa</i>	25	5			15			
<i>Gyrosigma sp1</i>				5	10	10	5	20
<i>Gyrosigma sp2</i>	20							
<i>Haslea ostrearia</i>	40	5	7230	7185	10685	10725		
<i>Licmophora sp</i>		15		10		5	5	5
<i>Melosira sp</i>						15	30	10
<i>Navicula sp1</i>	320	280	295	375	1510	1380	2500	1540
<i>Nitzschia closterium</i>		595	1775	1645	4625	4760	2605	310
<i>Nitzschia longissima</i>				5	5			5
<i>Nitzschia sigma</i>	20	10			10	5	15	25
<i>Plagiotropis sp</i>		10		5	5	10		
<i>Surirella sp</i>	5			40	15	5	20	15
<i>Thalassionema sp</i>		10					5	10
<i>Thalassiosira sp</i>	120							
<b>Diversité spécifique</b>	<b>11</b>	<b>14</b>	<b>4</b>	<b>11</b>	<b>13</b>	<b>13</b>	<b>11</b>	<b>13</b>
<b>Indice de Shannon (bits)</b>	<b>2.20</b>	<b>1.91</b>	<b>0.96</b>	<b>1.08</b>	<b>1.31</b>	<b>1.28</b>	<b>1.29</b>	<b>1.33</b>
<b>Equitabilité</b>	<b>0.63</b>	<b>0.50</b>	<b>0.48</b>	<b>0.31</b>	<b>0.35</b>	<b>0.35</b>	<b>0.37</b>	<b>0.36</b>

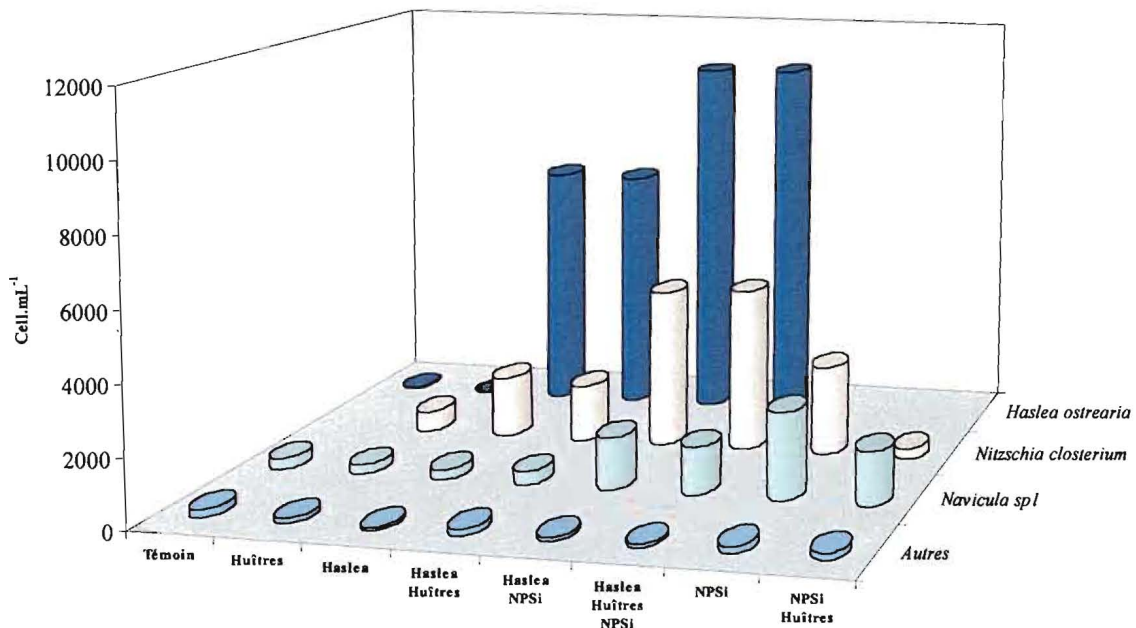


Figure 49 : Densités numériques en cellules observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en fin d'expérience.

Sur la figure 50, on peut noter que dans les microcosmes "non enrichis", *Haslea ostrearia* représente 77 % des effectifs totaux en diatomées en présence ou absence d'huîtres ; alors que dans les microcosmes "enrichis", elle ne représente plus que 63 %. L'ajout du milieu enrichissant NPSi profite donc également aux espèces opportunistes *Navicula sp1* et *Nitzschia closterium*, qui voient leurs fréquences relatives respectives augmenter : 8-9 % et 27-28 %.

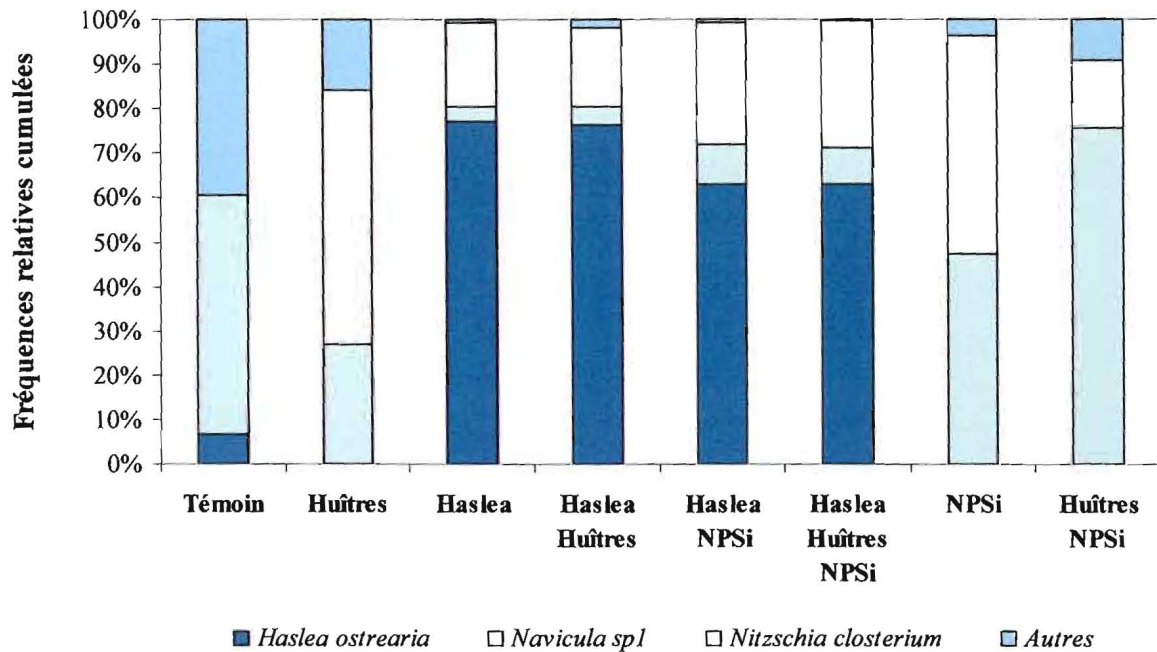


Figure 50 : Fréquences relatives cumulées observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en fin d'expérience.

Sur la figure 51, on peut observer l'intensité du verdissement provoqué dans les microcosmes. De prime abord, on remarque une certaine variabilité d'aspect des microcosmes dans les clichés. On note pour les enceintes avec huîtres l'aspect limpide de l'eau, dû à l'activité de filtration des mollusques ; par comparaison, on pourra observer le microcosme M5 (Haslea + NPSi) où l'on peut noter la formation de "crème flottante" à l'interface air-colonne d'eau. De plus, on observe le phénomène de verdissement dans les 4 microcosmes où la population initiale d'*Haslea ostrearia* a été introduite. La coloration verte caractéristique est observée avec des différences entre ces 4 microcosmes. Dans les enceintes M4 et M6, on observe distinctement la caractéristique benthique d'*H. ostrearia* qui a tendance à coloniser le fond des enceintes.

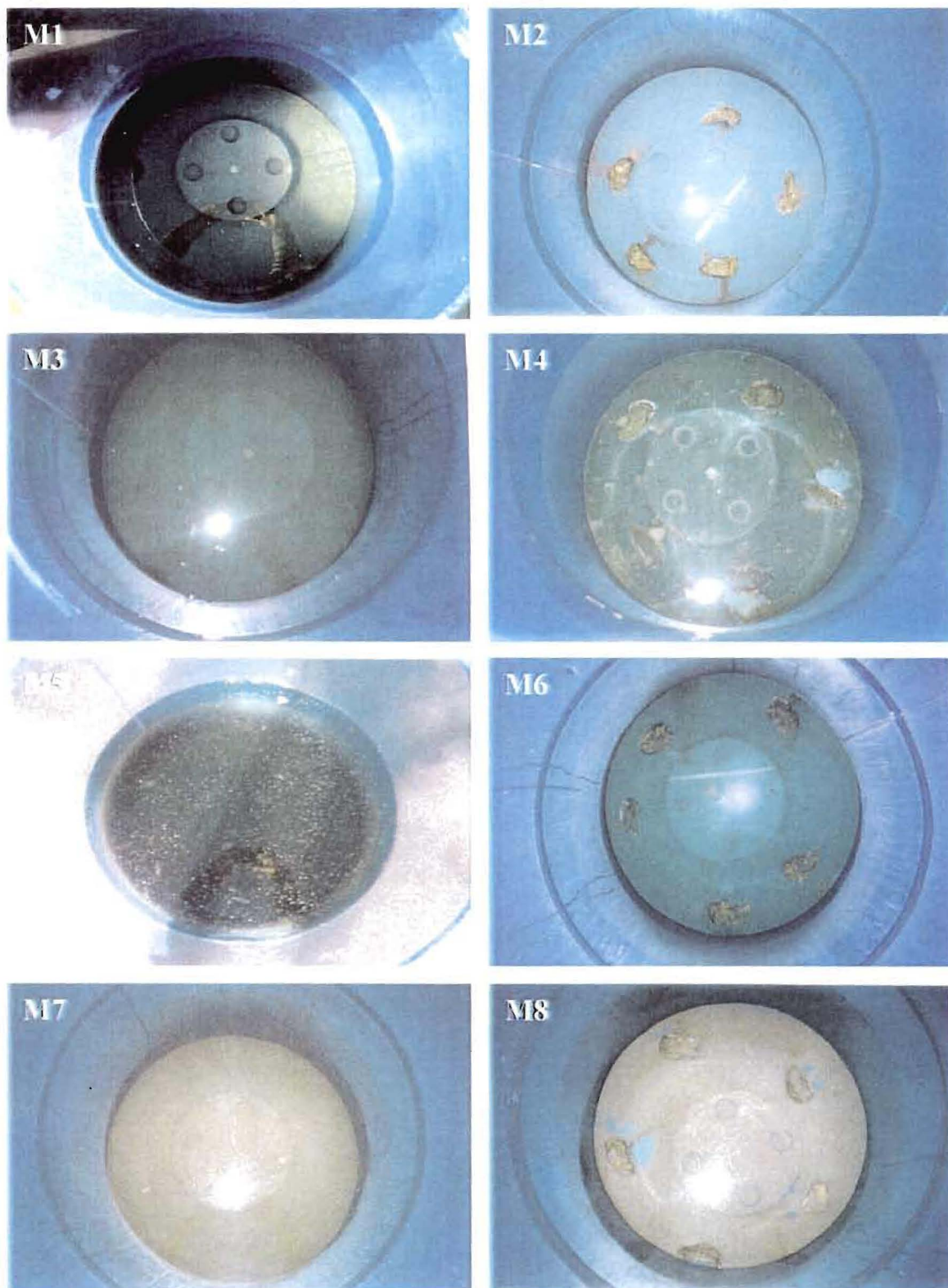


Figure 51 : Observations des 8 microcosmes en fin d'expérimentation. **M1** : Témoin ; **M2** : Huîtres ; **M3** : Haslea ; **M4** : Haslea + Huîtres ; **M5** : Haslea + NPSi ; **M6** : Haslea + Huîtres + NPSi ; **M7** : NPSi ; **M8** : NPSi + Huîtres.

### 3-2-6 Discussion

Les nutriments sont consommés de façon plus ou moins importante dans les enceintes immergées. Il semble cependant que les huîtres aient une influence directe sur la prise d'azote et de phosphore inorganiques dissous. En effet, dans les microcosmes où des huîtres ont été placées, la consommation des sources nutritives inorganiques, essentiellement nitrates et phosphates, est moindre en comparaison de celle de leurs homologues sans huîtres ; bien que la production phytoplanctonique globale (compartiment benthique + compartiment planctonique) exprimée en terme de pigments totaux soit sensiblement équivalente mis à part dans M7 et M8 (Tab. 43).

Tableau 43 : Comparaisons deux à deux entre microcosmes des teneurs en pigments totaux pour observer l'effet des huîtres sur la production phytoplanctonique globale (compartiment benthique + compartiment planctonique) en terme de pigments totaux produits.

Comparaison microcosmes	Test utilisé	P	Significativité
M1 vs M2	Mann-Whitney	0.100	n.s.
M3 vs M4	T-Student	0.130	n.s.
M5 vs M6	T-Student	0.121	n.s.
M7 vs M8	T-Student	<0.001	***

L'excrétion d'ammoniaque et de substances organiques dissoutes par les mollusques, utilisables par le microphytoplancton, est un phénomène bien décrit (e.g., Doering, 1989; Asmus & Asmus, 1991; Dame, 1993). Ainsi, malgré la consommation par les huîtres du phytoplancton produit dans les enceintes, qui se traduit par une diminution systématique de la part du compartiment planctonique dans ces microcosmes, il semble que la part du compartiment benthique augmente par le biais des substances excrétées par les mollusques. Ceci est très net, lorsque l'on compare les microcosmes Témoin - Huîtres ; et les microcosmes "Haslea" – "Haslea + Huîtres".

Pour ces 4 microcosmes qui n'ont pas bénéficié de l'ajout de l'enrichissement NPSi, on remarque une influence également des mollusques sur l'équitabilité du peuplement de diatomées en fin d'expérimentation. Les valeurs de cet indice sont en effet moins importantes dans les microcosmes ayant des huîtres. L'ajout du milieu NPSi masque cette observation dans les microcosmes "enrichis", puisque ce dernier contribue également à une diminution de l'équitabilité, ce qui rend compte d'un peuplement déséquilibré avec une ou plusieurs espèces majoritaires. En effet, on note que dans les microcosmes "non enrichis", *Haslea ostrearia*

représente 77 % des effectifs totaux en diatomées en présence ou absence d'huîtres ; alors que dans les microcosmes "enrichis", elle ne représente plus que 63 %. Le mélange nutritif NPSi profite également aux espèces plus opportunistes, *Navicula spl* et *Nitzschia closterium* qui, par conséquent, voient leurs fréquences relatives respectives augmenter. Comme pour l'expérience d'octobre, on observe lors de ce verdissement provoqué dans les microcosmes des fréquences relatives d'*Haslea ostrearia* supérieures à 60 % des effectifs totaux, ce qui est en accord avec les observations de Moreau (1970) et Robert (1983) faites lors de verdissement en claires.

La population initiale d'*Haslea ostrearia* de 2000 cell.mL<sup>-1</sup> permet donc d'obtenir, dans les 4 microcosmes où elle y est introduite, un verdissement plus ou moins intense. La concentration moyenne en cellule obtenue sans enrichissement est de 7200 cell.mL<sup>-1</sup>, alors qu'en présence du mélange nutritif, la concentration de 11000 cell.mL<sup>-1</sup> est observée. Ces valeurs sont moins importantes que celles respectives de 12000 et 25000 cell.mL<sup>-1</sup>, observées précédemment lors de l'expérience d'octobre pour les deux mêmes microcosmes (Tab. 38). Par ailleurs, l'influence des huîtres n'est pas mise en évidence sur la concentration d'*Haslea ostrearia* produite. En effet, les densités numériques en cellules sont identiques en présence ou absence d'huîtres, bien que les concentrations en marennine excrétée dans le milieu soient toujours plus importantes dans les enceintes avec huîtres. Ceci peut être rapproché des travaux de Ranson (1943, 1952) qui évoque le rôle du mucus enrobant les fèces et pseudofèces sur l'état de pigmentation de cellules d'*Haslea ostrearia*.

### 3-3 Expérience du mois d'Avril

#### 3-3-1 Evolution des concentrations en sels nutritifs dans les microcosmes.

La figure 52 présente l'évolution des concentrations en sels nutritifs entre le début d'expérience (T0) et la fin d'expérimentation (après 10 jours) au mois d'avril 1998.

Pour l'ammonium, on note des concentrations moyennes initiales comprises entre 0.3 et 0.1  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Ces concentrations, très faibles, ne correspondent pas aux valeurs habituelles observées en période printanière dans l'estuaire de la Seudre (Tab. 3). Après 10 jours d'expérience, on remarque un épuisement de la réserve initiale en  $\text{NH}_4$  dans les microcosmes



sauf pour ceux renfermant des huîtres. Dans ces enceintes, en effet la concentration en ammonium est de  $1 \mu\text{mol.L}^{-1}$  en moyenne.

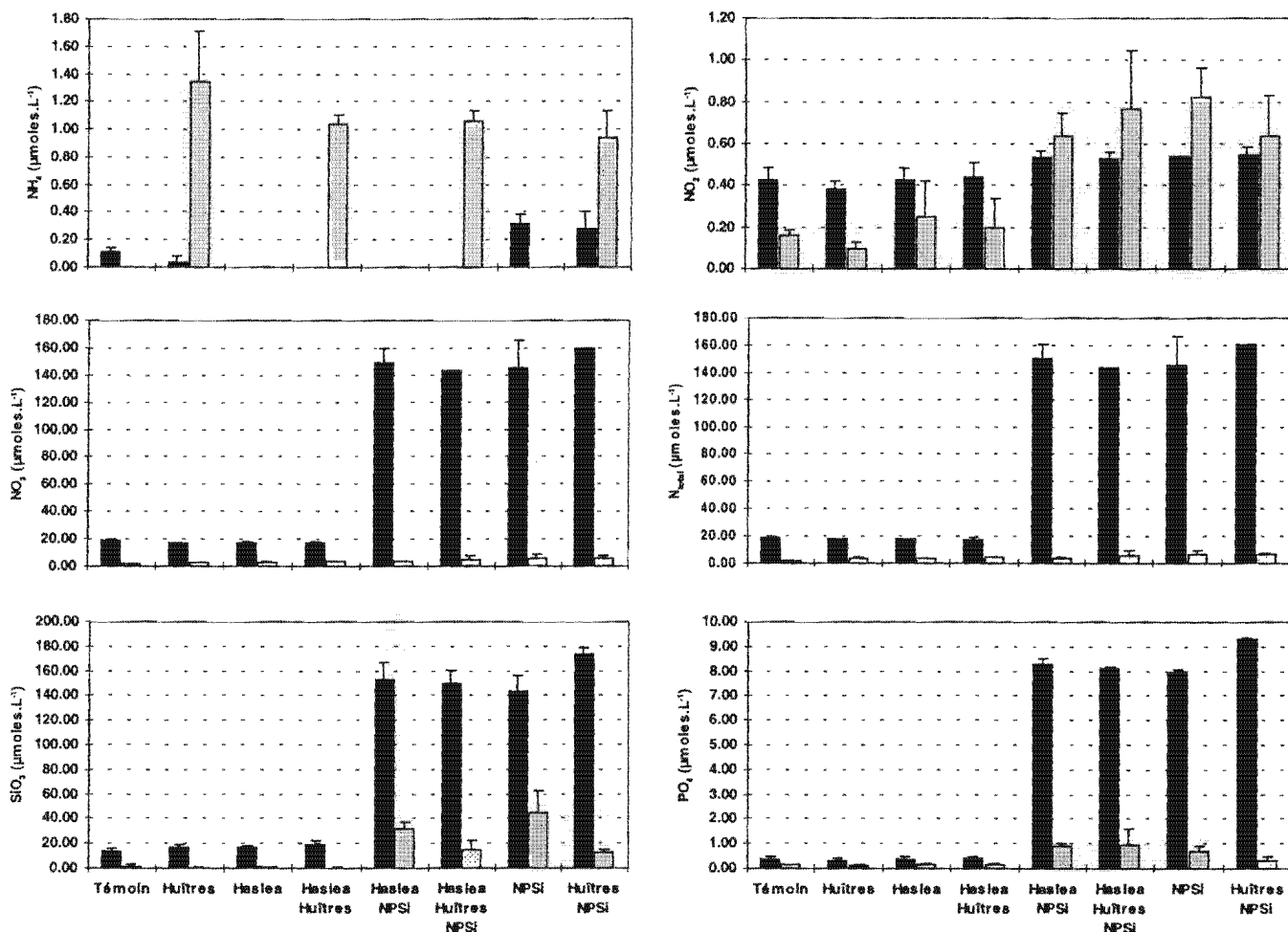


Figure 52 : Concentrations en sels nutritifs (ammonium, nitrites, nitrates, azote minéral total dissous, silicates dissous, et phosphore minéral dissous) dans les huit microcosmes en début et en fin d'expérience. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%.

Pour les nitrites, la concentration initiale moyenne dans les microcosmes en début d'expérience est comprise entre  $0.4$  et  $0.6 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , ce qui est conforme avec les teneurs observées au printemps dans les eaux de l'estuaire de la Seudre. En fin d'expérience, on note une diminution des concentrations en nitrites dans les microcosmes "non enrichis" et une augmentation dans ceux "enrichis".

Pour les nitrates, la concentration initiale moyenne est comprise entre  $16.8$  et  $19 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , ce qui correspond à des valeurs moins importantes que celles habituellement observées en

période printanière (Tab. 5). L'ajout d'enrichissement augmente dans les microcosmes la concentration moyenne : celle-ci est alors comprise entre 143 et 160  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . En fin d'expérience, on note un épuisement presque total de la réserve en nitrates dans tous les microcosmes, les concentrations moyennes sont alors comprises entre 1.6 et 6  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .

L'azote total minéral dissous suit exactement la même évolution que celle des nitrates, puisque cette forme représente de façon majoritaire l'azote inorganique total dissous. Dans le tableau 44, l'estimation des consommations exprimées en pourcentage d'azote total consommé par rapport à la réserve initiale, montre des valeurs comprises entre 78.4 et 97.3 %. Par rapport à l'expérience de novembre, seule une différence entre le témoin et le microcosme avec huîtres, permet de supposer une moins grande utilisation de la source inorganique azotée du fait de la présence des mollusques.

La concentration initiale moyenne en silicates dans les microcosmes est comprise entre 14.3 et 18.8  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , ces valeurs étant en moyenne deux fois plus importantes que celles observées au printemps dans l'estuaire de la Seudre. L'ajout d'enrichissement dans les quatre enceintes fertilisées permet d'obtenir une concentration initiale moyenne comprise entre 144 et 173  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Après 10 jours d'expérience, ce sont entre 68.8 et 99% de la réserve initiale qui sont utilisés dans les différents microcosmes (Tab. 44). On peut noter, si l'on compare deux à deux les microcosmes, que les consommations en silicates sont toujours plus importantes dans les microcosmes contenant des huîtres.

Les concentrations en phosphates sont de l'ordre de 0.3 à 0.4  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , ce qui correspond à celles observées à la même époque dans l'estuaire de la Seudre. Dans les microcosmes "enrichis", la concentration initiale moyenne est comprise entre 7.9 et 9.3  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Après 10 jours d'expérimentation, l'épuisement de la réserve en phosphate est constaté dans les enceintes non enrichies, tandis que dans celles enrichies les concentrations sont comprises entre 0.3 et 1  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Paradoxalement, c'est dans ces mêmes microcosmes que la consommation en phosphates est la plus importante, entre 88 et 96.3 % de la réserve initiale. De même, les consommations semblent légèrement plus importantes dans les microcosmes avec huîtres.

Tableau 44 : Estimation en fin d'expérimentation de la consommation en nutriment en pourcentage de la réserve initiale dans chaque microcosme (valeur moyenne  $\pm$  intervalle de confiance à 95 %).

Microcosmes	Consommation en pourcentage de la réserve initiale		
	N total	Si	P
Témoin	91.0 $\pm$ 1.4	89.9 $\pm$ 12.1	55.4 $\pm$ 13.7
Huîtres	78.4 $\pm$ 5.9	97.3 $\pm$ 2.4	69.5 $\pm$ 15.1
Haslea	80.4 $\pm$ 3.6	94.6 $\pm$ 2.3	60.4 $\pm$ 24.5
Haslea + Huîtres	81.8 $\pm$ 2.7	99.0 $\pm$ 2.1	63.9 $\pm$ 9.1
Haslea + NPSi	97.3 $\pm$ 0.3	79.4 $\pm$ 5.8	89.4 $\pm$ 1.5
Haslea + Huîtres + NPSi	95.7 $\pm$ 2.1	90.2 $\pm$ 5.3	88.0 $\pm$ 7.7
NPSi	95.5 $\pm$ 1.6	68.8 $\pm$ 13.9	91.4 $\pm$ 2.9
Huîtres + NPSi	95.3 $\pm$ 0.9	92.6 $\pm$ 1.5	96.3 $\pm$ 1.2

### 3-3-2 Evolution des concentrations en pigments totaux dans les microcosmes.

Les teneurs en pigments totaux (Chlorophylle *a* + Phéopigments) observées en fin d'expérience dans les compartiments planctonique et benthique sont présentées dans la figure 53. On note tout d'abord une différence très nette entre microcosmes "non enrichis" et "enrichis", l'ajout du mélange NPSi a pour effet une augmentation importante des concentrations en pigments totaux, de l'ordre d'un facteur 11 entre le microcosme Témoin et le microcosme NPSi.

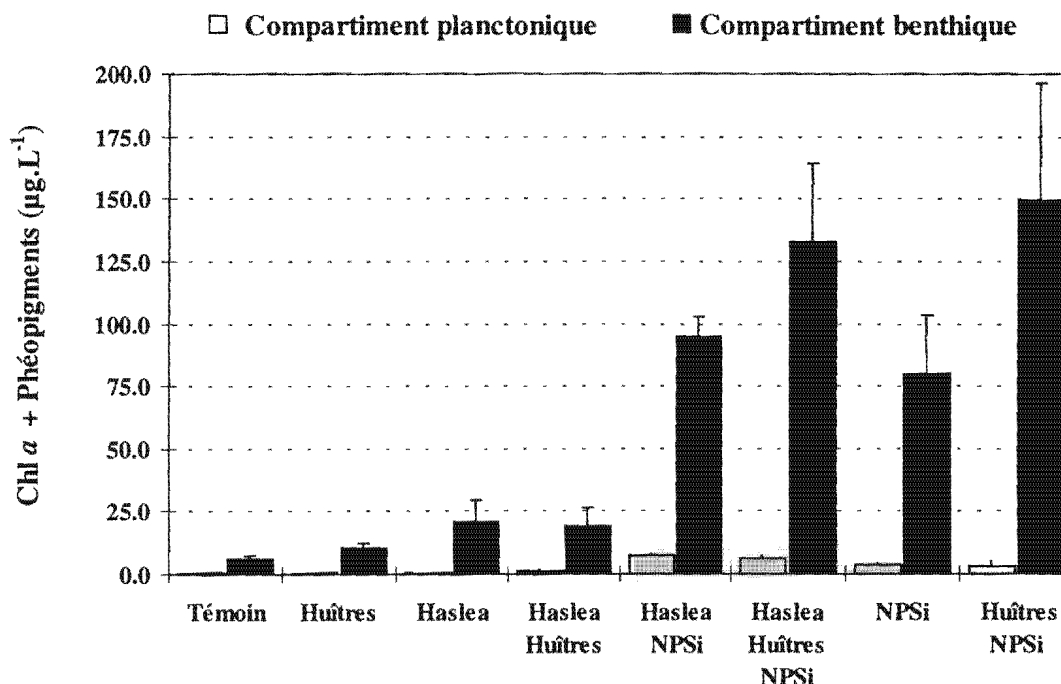


Figure 53 : Evolution de la concentration en chlorophylle *a* + phéopigments (Pigments totaux) dans les microcosmes. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%

La comparaison avec l'expérience précédente réalisée en période automnale, montre une production globale (compartiment planctonique et benthique) plus importante en période printanière dans les microcosmes "enrichis". On peut penser que les conditions printanières de température et d'éclairement ont joué un rôle plus important que celles souvent limitantes observées généralement en période automnale.

Par contre, il est intéressant de noter que le compartiment planctonique n'est pas aussi bien représenté que lors de l'expérience de novembre, les différences sont minimales pour ce compartiment entre les microcosmes avec et sans huîtres. Ainsi le compartiment benthique représente 91 % de la production globale dans les enceintes sans huîtres et 95 % dans les microcosmes avec huîtres. Comme cela a été observé en novembre, il semble que les microcosmes avec huîtres présentent des teneurs en pigments totaux plus importantes que leurs homologues sans huîtres.

### 3-3-3 Evolution de la densité numérique en *Haslea ostrearia* dans les microcosmes.

La figure 54 présente l'évolution des concentrations d'*Haslea ostrearia* après 10 jours d'expérimentation dans les microcosmes. Les densités numériques en cellules observées dans les microcosmes sont différentes, elles sont comprises entre 4800 et 9900 cell.mL<sup>-1</sup> dans les microcosmes "non enrichis" et entre 13000 et 17400 cell.mL<sup>-1</sup> pour les enceintes fertilisées. La concentration en cellule d'*H. ostrearia* la plus faible obtenue après 10 jours, est observée dans le microcosme M4 (Haslea-Huîtres). Dans les autres enceintes, les biomasses produites sont plus importantes que celles obtenues lors de l'expérience du mois de novembre.

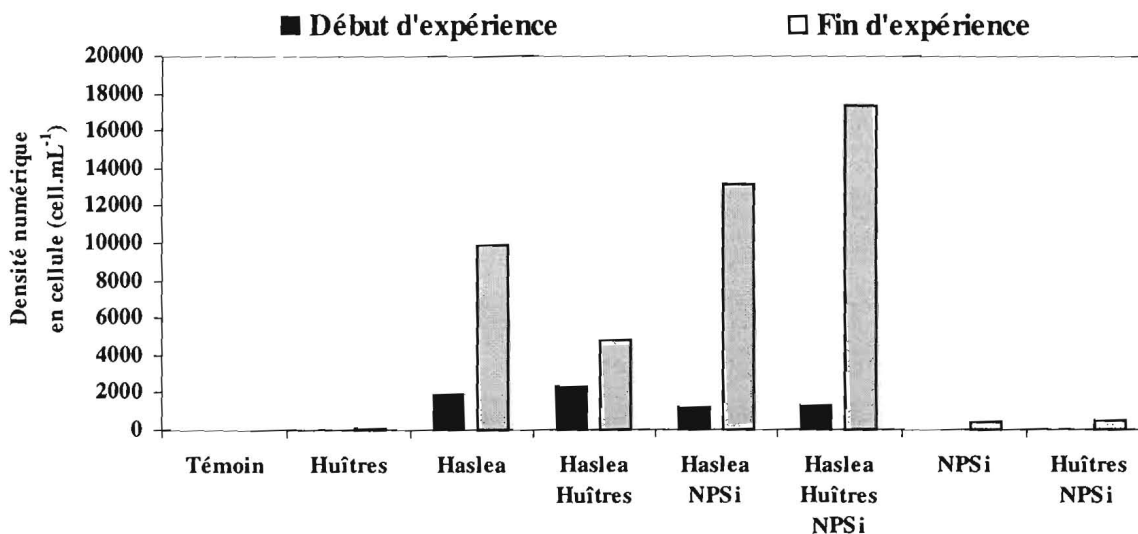


Figure 54 : Evolution de la densité numérique en cellules d'*Haslea ostrearia* dans les microcosmes.

### 3-3-4 Evolution des concentrations en marennine externe dans les microcosmes.

La concentration en marennine excrétée par *Haslea ostrearia* dans les microcosmes en début et en fin d'expérimentation après 10 jours est présentée dans la figure 55.

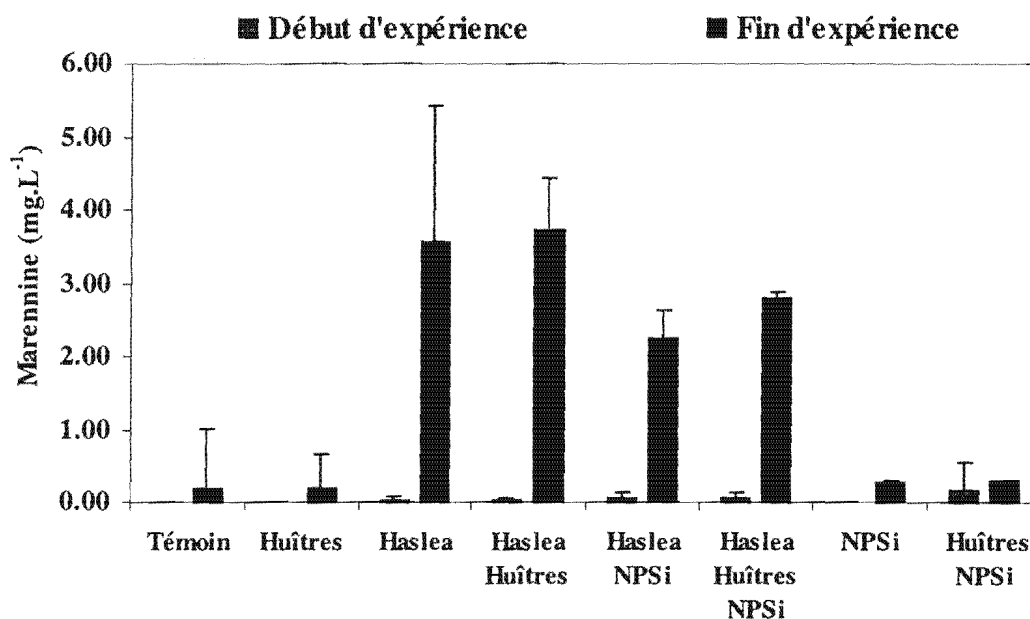


Figure 55 : Evolution de la concentration en marennine externe dans les microcosmes. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%

Les concentrations en marennine excrétées dans le milieu par *Haslea ostrearia* sont variables; logiquement elles sont les plus fortes dans les microcosmes où une population d'*Haslea* a été introduite, entre 2.2 et 3.7  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Cependant, on s'aperçoit que les valeurs les plus élevées sont observées dans les enceintes non enrichies, où pourtant les densités numériques en cellules sont les moins importantes. Comme lors de l'expérimentation de novembre, malgré des valeurs en moyenne 2 à 3 fois plus importantes, on note des concentrations légèrement plus élevées au sein des microcosmes avec huîtres. Il semble donc confirmé que la présence des huîtres joue une influence sur l'état de pigmentation des cellules.

### 3-3-5 Evolution des populations de diatomées dans les microcosmes.

#### 3-3-5-1 Etude du peuplement en début d'expérience

En début d'expérience, l'inventaire et le comptage des différentes espèces de diatomées du peuplement initial de chaque enceinte a été réalisé (Tableau 45).

Tableau 45 : Inventaire, densités numériques en cellules (cellules.mL<sup>-1</sup>) des différentes espèces de diatomées observées dans les microcosmes et indices écologiques en début d'expérience.

Espèces	Témoin	Huîtres	Haslea	Haslea Huîtres	Haslea NPSi	Haslea Huîtres NPSi	NPSi	Huîtres NPSi
<i>Amphora sp1</i>	5						5	5
<i>Coconeis sp</i>			5					5
<i>Diploneis sp</i>		5	5					5
<i>Entomoneis alata</i>	40			5		15		5
<i>Gyrosigma sp1</i>	20		5				10	5
<i>Gyrosigma sp2</i>	5							5
<i>Haslea ostrearia</i>			1915	2360	1200	1305		40
<i>Navicula sp1</i>	280	135	110	90	145		90	150
<i>Navicula sp2</i>							5	
<i>Nitzschia closterium</i>	320	185	140	170	70	30	105	190
<i>Nitzschia longissima</i>		15		55		40	10	40
<i>Nitzschia sigma</i>			5	20				20
<i>Nitzschia sp2</i>							5	
<i>Plagiotropis sp</i>	40							
<i>Skeletonema costatum</i>	160	80	10			175	30	55
<i>Surirella sp1</i>		5	5	5	5			5
<i>Thalassionema sp</i>		10						
<b>Diversité spécifique</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>8</b>	<b>13</b>
<b>Indice de Shannon (bits)</b>	<b>2.13</b>	<b>1.94</b>	<b>0.78</b>	<b>0.79</b>	<b>0.79</b>	<b>0.88</b>	<b>2.11</b>	<b>2.57</b>
<b>Equitabilité</b>	<b>0.71</b>	<b>0.69</b>	<b>0.25</b>	<b>0.26</b>	<b>0.28</b>	<b>0.38</b>	<b>0.70</b>	<b>0.69</b>

En moyenne, 8 espèces sont observées dans les enceintes immergées ; parmi celles-ci on note la présence de *Navicula sp1*, *Nitzschia closterium* et *Skeletonema costatum* représentées de façon plus ou moins abondante (Fig. 56).

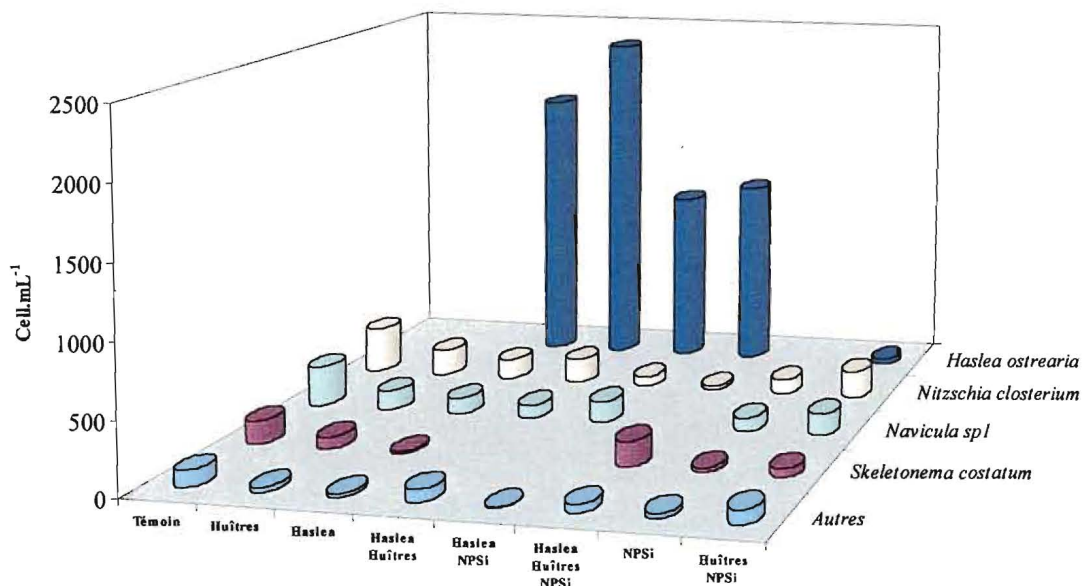


Figure 56 : Densités numériques en cellules observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en début d'expérience.

L'introduction d'une population d'*Haslea ostrearia* dans 4 enceintes, modifie la valeur moyenne de l'indice de Shannon de 2 à 0.8, ainsi que celle de l'équitabilité de 0.7 à 0.3.

Dans ces microcosmes, le peuplement initial est déséquilibré avec la dominance d'*Haslea ostrearia*, qui représente à elle seule plus de 85 % des effectifs totaux de diatomées inventoriées (Fig. 57).

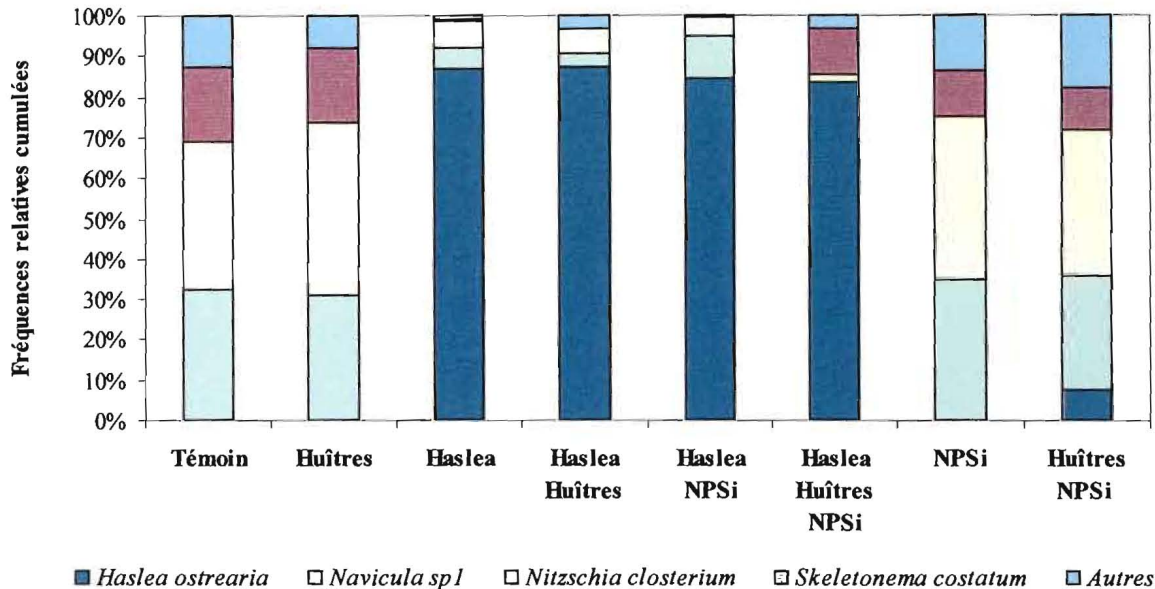


Figure 57 : Fréquences relatives cumulées observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en début d'expérience.

Dans les autres microcosmes, le peuplement est plus équilibré et les trois espèces dominantes, *Navicula sp1*, *Nitzschia closterium* et *Skeletonema costatum* représentent en moyenne respectivement 32 %, 40 % et 15 % des effectifs totaux de diatomées.

### 3-3-5-2 Etude du peuplement en fin d'expérience

Après 10 jours d'expérience, l'inventaire et la numération des espèces de diatomées présentes dans les enceintes immergées sont effectués de nouveau. Les résultats sont présentés dans le tableau 46.

La diversité spécifique, dans les microcosmes, est en moyenne comprise entre 6 et 17 espèces. L'ajout du mélange enrichissant NPSi, augmente en moyenne cette dernière. Par contre, il est difficile d'observer une influence de l'ajout de mélange enrichissant ou bien de la présence d'huîtres ou non, sur l'indice de Shannon ou encore sur l'équitabilité. Cette dernière reste comprise entre 0.38 et 0.58 ; le peuplement semble donc dominé par plusieurs espèces (Fig. 58).

Tableau 46 : Inventaire, densités numériques en cellules (cellules.mL<sup>-1</sup>) des différentes espèces de diatomées observées dans les microcosmes et indices écologiques en fin d'expérience après 10 jours.

Espèces	Témoin	Huîtres	Haslea	Haslea Huîtres	Haslea NPSi	Haslea Huîtres NPSi	NPSi	Huîtres NPSi
<i>Achnantes sp</i>						25		10
<i>Amphora coffeaformis</i>	5	45	35	10	5	210	150	25
<i>Amphora sp2</i>						5	225	
<i>Bacillaria sp</i>	350	20				25	25	185
<i>Coconeis sp</i>						5		5
<i>Diploneis sp</i>	5	5		5		40		5
<i>Entomoneis alata</i>		5	35		10	340	870	315
<i>Entomoneis paludosa</i>	5	10				65		
<i>Gyrosigma sp1</i>	20		20		5		10	5
<i>Gyrosigma sp2</i>	5							5
<i>Haslea ostrearia</i>		60	9860	4780	13170	17370	395	500
<i>Licmophora sp</i>		5						5
<i>Melosira sp</i>				10		50	360	295
<i>Navicula sp1</i>	375	310	150			670	420	510
<i>Navicula sp2</i>		75						
<i>Nitzschia acicularis</i>	35					75	300	
<i>Nitzschia closterium</i>	5460	3160	5625	1410	11510	19335	23275	8840
<i>Nitzschia gandersheimiensis</i>						1565	2505	3265
<i>Nitzschia longissima</i>	7070	925	5480	2200	14845	7615	3715	2065
<i>Nitzschia sigma</i>	40	40					120	15
<i>Plagiotropis sp</i>					5	20	155	55
<i>Pleurosigma sp</i>	35							
<i>Surirella sp</i>	5					5		
<i>Thalassiosira sp</i>							10	
<b>Diversité spécifique</b>	<b>13</b>	<b>12</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>17</b>	<b>15</b>	<b>17</b>
<b>Indice de Shannon (bits)</b>	<b>1.40</b>	<b>1.49</b>	<b>1.62</b>	<b>1.43</b>	<b>1.59</b>	<b>1.88</b>	<b>1.59</b>	<b>2.00</b>
<b>Equitabilité</b>	<b>0.38</b>	<b>0.42</b>	<b>0.58</b>	<b>0.55</b>	<b>0.56</b>	<b>0.46</b>	<b>0.41</b>	<b>0.49</b>

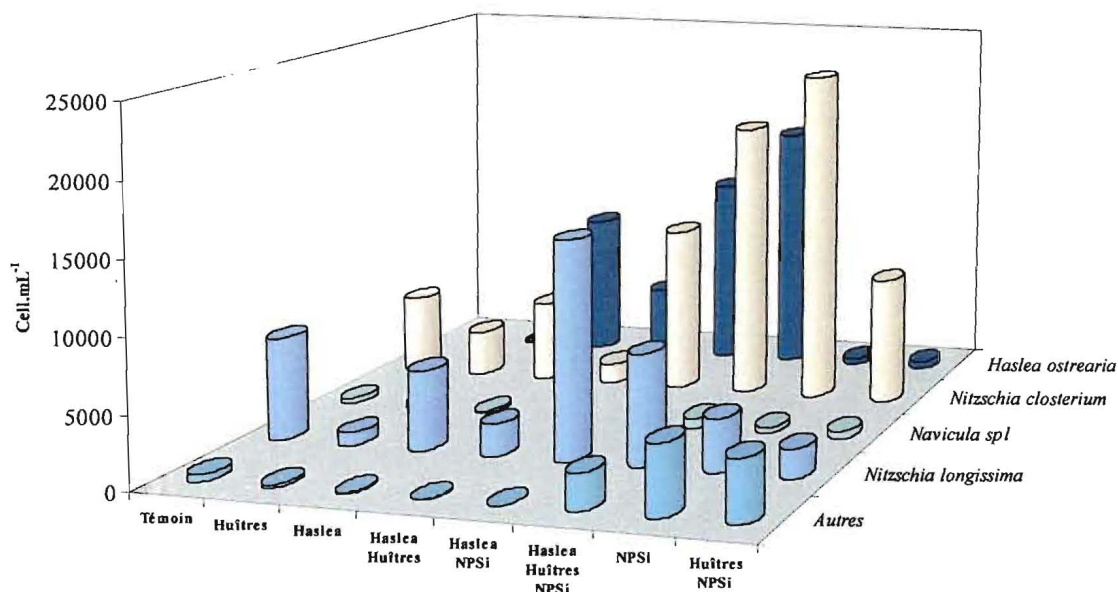


Figure 58 : Densités numériques en cellules observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en fin d'expérience.



Quatre espèces recensées, présentent des effectifs importants : *Nitzschia closterium*, *Nitzschia longissima*, *Navicula sp1* et *Haslea ostrearia* lorsqu'elle a été introduite (Fig. 59).

Comme lors de l'expérience de novembre, on remarque qu'*Haslea ostrearia* est dominante dans les microcosmes "non enrichis" : entre 46 et 57 % des effectifs totaux contre seulement 33 et 37 % dans les enceintes enrichies. Alors que ses effectifs observés sont plus importants qu'en novembre, les fréquences relatives sont plus faibles. Il semble donc que la période printanière soit favorable également à d'autres espèces comme *Nitzschia closterium* et *Nitzschia longissima*.

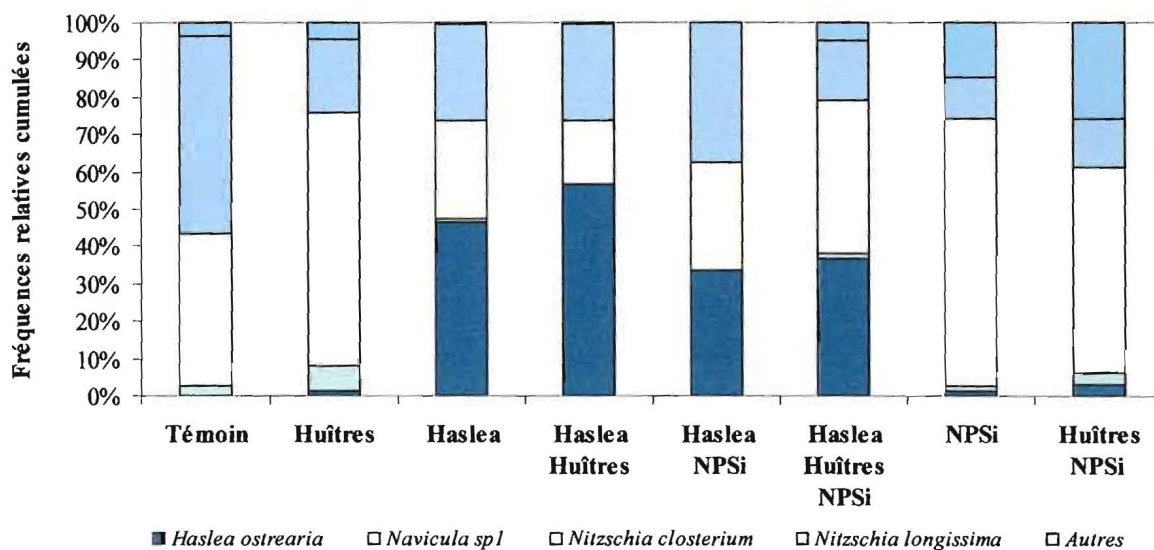


Figure 59 : Fréquences relatives cumulées observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en fin d'expérience.

### 3-3-6 Discussion

La consommation en nutriments (azote minéral dissous, phosphore minéral dissous et silicates) est très importante et peut conduire jusqu'à l'épuisement des réserves initiales, lors de cette expérience réalisée en période printanière. Il semble donc que des facteurs, comme par exemple la température et l'éclairement, puissent avoir joué un rôle important par rapport à l'expérience réalisée en période automnale. En effet, globalement, les biomasses produites en 10 jours, aussi bien en terme de cellules que de pigments totaux (Chlorophylle *a* + Phéopigments), sont plus élevées que celles observées en période automnale.

Contrairement à ce qui était observé en période automnale, il est plus difficile de mettre en évidence des différences notables pour le compartiment planctonique entre les microcosmes

avec et sans huîtres. Ainsi le compartiment benthique représente 95% de la production globale dans les microcosmes avec des huîtres contre 91 % pour ceux sans les bivalves. La comparaison de la production globale entre microcosmes avec et sans huîtres, montre des différences significatives ( $p < 0.01$ ) sauf entre les microcosmes "Haslea" et "Haslea-Huîtres" (Tab. 47).

Tableau 47 : Comparaisons deux à deux entre microcosmes des teneurs en pigments totaux pour observer l'effet des huîtres sur la production phytoplanctonique globale (compartiment benthique + compartiment planctonique) en terme de pigments totaux produits.

Comparaison microcosmes	Test utilisé	P	Significativité
M1 vs M2	T-Student	0.004	**
M3 vs M4	T-Student	0.577	n.s.
M5 vs M6	T-Student	0.007	**
M7 vs M8	T-Student	0.004	**

Il semble donc globalement que *Crassostrea gigas* joue un rôle significatif dans la stimulation de la production phyto-benthique. Comme cela a été observé, la concentration en ammonium ( $\text{NH}_4$ ) est nettement plus importante dans les microcosmes contenant des huîtres (autour de  $1 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ). Pour *Crassostrea virginica*, Dame *et al.* (1985) ont montré un 'feed-back' positif, suite à l'ingestion d'azote particulaire (phytoplancton), puis reminéralisation rapide de cette dernière sous forme d'ammonium ; ce qui contribue à augmenter considérablement le recyclage de l'azote particulaire : l'ammonium excrété peut alors être rapidement assimilé par les microalgues. Le microphyto-benthos, fixé sur le fond des microcosmes est peu disponible comme source d'alimentation pour les huîtres sans remise en suspension ; ce compartiment bénéficie donc totalement des substances dissoutes inorganiques ( $\text{NH}_4$ ) ou organiques (urée et acides aminés, Hammen *et al.*, 1966), qui peuvent ainsi être assimilées comme l'ont montré Wheeler *et al.* (1974) et Valiela (1984).

Il est difficile de mettre en évidence une influence des huîtres sur les densités numériques en cellules d'*H. ostrearia* produites, puisqu'en présence d'huîtres, ces dernières sont moindres sans enrichissement de l'eau, alors qu'elles sont plus élevées avec un ajout de milieu NPSi. Cependant, comme cela avait déjà été remarqué en novembre, les concentrations en marennine excrétée dans le milieu sont toujours plus importantes dans les microcosmes contenant des huîtres.

La population initiale d'*Haslea ostrearia* permet donc d'obtenir, dans les 4 microcosmes où elle est introduite, un verdissement plus ou moins intense. Cette espèce représente entre 46 et 57 % des effectifs de diatomées dans les microcosmes "non enrichis" contre seulement 33 et 37 % dans les enceintes enrichies. Ces valeurs sont moins importantes que celles observées en période automnale, bien que les densités numériques produites d'*H. ostrearia* soient plus importantes, d'autres espèces, comme *Nitzschia closterium* et *Nitzschia longissima*, ont de même profité vraisemblablement des conditions climatiques moins limitantes (température et éclairage).

## 4 CONCLUSIONS

L'approche, *in situ* en claire ostréicole, par utilisation de microcosmes, a permis d'identifier les différentes conditions et facteurs qui contribuent à l'installation et la prolifération de la navicule bleue, jusqu'à l'obtention d'un verdissement provoqué.

Cette première phase d'étude a contribué à tester et valider l'emploi du milieu nutritif, basé uniquement sur trois éléments majeurs et élaboré suite aux expérimentations *in vitro* réalisées précédemment. Il a été démontré qu'une population initiale minimale d'*Haslea ostrearia* de 2000 cell.mL<sup>-1</sup>, était nécessaire pour la prolifération de la microalgue et l'obtention d'un verdissement intense. Malgré la compétition interspécifique avec d'autres espèces plus opportunistes, comme *Nitzschia closterium* par exemple, *Haslea ostrearia* reste dominante dans les enceintes en représentant : plus de 80 % des effectifs totaux sans apport d'enrichissement, contre seulement 41 % dans les microcosmes "enrichis" .

Le mélange nutritif NPSi semble bien adapté pour augmenter le développement d'*Haslea ostrearia*, mais il contribue également à l'augmentation de la production microphytique globale des eaux des claires, par le développement d'espèces opportunistes présentes dans le peuplement initial. La production intensive, d'*Haslea ostrearia* à partir d'eau de mer provenant de claires ou de bassin de décantation, nécessite donc une phase de filtration, afin de limiter au maximum la compétition interspécifique avec d'autres espèces.

Après avoir ainsi défini la concentration minimale d'*Haslea ostrearia* permettant d'induire le verdissement, l'influence de l'immersion d'huîtres à la densité d'élevage de 20 ind.m<sup>-2</sup> imposée par la norme Afnor, a pu être testée.

Deux expériences ont alors été réalisées en périodes automnale et printanière, connues pour être favorables aux multiplications intenses d'*Haslea ostrearia*.

Lors de la première expérimentation, il a été montré de façon significative, que les huîtres induisaient une diminution sensible de la contribution relative du compartiment planctonique à la production totale des microcosmes. En effet, le compartiment benthique, non disponible en tant que source d'alimentation pour les bivalves est représenté par plus de 95% de la production microphytique globale dans les enceintes contenant des huîtres. L'effet de "feedback" positif mis en évidence par Dame *et al.* (1985), qui permet un recyclage rapide de l'azote particulaire (phytoplancton produit à partir de l'azote dissous) en forme ammoniacale par les huîtres, contribue à l'augmentation notable du compartiment benthique dans ces enceintes par rapport à celles dépourvues de bivalves. En outre, les substances organiques dissoutes (urée, acides aminés,...) contribuent à cette augmentation des concentrations en pigments chlorophylliens d'origine benthique.

Dans les microcosmes où le verdissement a été provoqué, il est difficile de mettre en évidence une influence directe des huîtres sur la population d'*Haslea ostrearia*. En novembre, les mêmes densités numériques en cellules algales étaient observées en présence ou absence d'huîtres, alors qu'en avril celles-ci étaient différentes entre microcosmes. Le caractère tychopélagique de la diatomée, qui peut présenter à la fois une phase planctonique et benthique complique les interprétations des résultats.

En revanche, il a été démontré dans les deux expériences, que les concentrations en marennine excrétée dans le milieu étaient toujours plus importantes dans les microcosmes contenant des huîtres. L'hypothèse de Ranson (1927), qui avançait le rôle des composés organiques présents dans le mucus des huîtres (fèces et pseudofèces) comme facteurs d'activation de synthèse de marennine intracellulaire, peut être ici énoncée et mériterait d'être confirmée.

## CHAPITRE V

### PREMIERS ESSAIS DE CULTURE EN MASSE DE LA DIATOMÉE *HASLEA OSTREARIA* EN MILIEU SEMI-OUVERT SUR EAU DE MER ENRICHIE

Les expériences effectuées *in situ*, en microcosmes immergés au sein d'une claire ostréicole, ont permis de tester l'influence de l'enrichissement et aussi des huîtres sur le développement de populations de la diatomée *Haslea ostrearia*. Ces expériences de verdissement "provoqué", en volume de 170 litres, apportent suffisamment d'informations, pour que le passage à une échelle de culture supérieure, puisse être tenté. C'est ainsi que le verdissement de bassins de 10 m<sup>3</sup> de contenance a été essayé, mais en l'absence de toute influence du sédiment par interposition d'une toile de type "liner" à l'interface fond - colonne d'eau.

Afin de respecter les échelles de transfert à volume supérieur, des pré-cultures de 500 L ont été réalisées sous serre localisée sur le marais expérimental dans le but de préparer une quantité d'algue suffisante pour les inoculer à raison de 2000 cell.mL<sup>-1</sup>.

Dans ce chapitre, la faisabilité de telles cultures, en grand volume, en conditions naturelles non contrôlées, est exposée. De plus, une présentation des améliorations à apporter pour l'optimisation des processus de production est décrite.

Cependant l'étape ultime qui envisage l'inoculation des claires ostréicoles à partir de ces cultures en grand volume, n'a pas été entreprise dans ce travail.

## 1 INTRODUCTION

Les capacités trophiques des claires ostréicoles apparaissent le plus souvent comme insuffisantes pour permettre un affinage optimal des huîtres aux charges traditionnelles employées par les ostréiculteurs (Hussenot *et al.*, 1998; Le Moine *et al.*, 1998). L'importance économique mais aussi qualitative de cette phase finale de l'élevage des huîtres en France, a conduit à rechercher l'optimisation et la fiabilisation de cette technique, le but étant d'augmenter l'indice de condition des huîtres durant cette phase courte d'élevage.

La norme AFNOR (AFNOR, 1985) fixe deux appellations commerciales pour les huîtres creuses affinées en France : les fines de claires, qui doivent séjourner au minimum un mois dans les bassins à une densité maximale de 20 individus au m<sup>2</sup> et présenter un indice de condition compris entre 6.5 et 9.0 ; pour la seconde appellation "Spéciales de claires", les huîtres doivent avoir séjourné au minimum 2 mois à une densité maximale d'individus de 10 par m<sup>2</sup> et présenter un indice de qualité supérieur à 9.0.

Blachier *et al.* (1998) ont pu montrer que l'affinage traditionnel, fruit du savoir-faire empirique des ostréiculteurs, ne permet pas d'augmenter de façon significative la valeur des indices de qualité lors du séjour en claire. Ces résultats dépendent en effet directement des conditions climatiques (température et éclaircissement en particulier), des qualités nutritionnelles des eaux, de la qualité initiale des huîtres, mais aussi du respect des conditions zootechniques, notamment les densités d'élevage.

Dans ce contexte, de nombreuses recherches ont été développées afin de pallier cette variabilité importante observée lors de l'affinage, notamment pour produire des algues fourrages de façon intensive (Baud et Bacher, 1990, Robert, 1990), ou encore pour produire des microalgues en masse afin de les distribuer dans les claires en complément de la nourriture naturelle représentée par le phytoplancton et le microphytobenthos (Hussenot *et al.*, 1998, Le Moine *et al.*, 1998) :

- ◆ en Baie de Bourgneuf, la production intensive d'algues fourrages, à une échelle de 200 m<sup>3</sup>/jour de *Skeletonema costatum*, cultivées sur des eaux souterraines salées permet actuellement le développement de l'élevage intensif de *Ruditapes philippinarum*, *Crassostrea gigas* et *Ostrea edulis*, mais aussi l'optimisation de l'affinage de l'huître creuse (Baud *et al.*, 1998);

- ◆ dans les marais charentais, les eaux souterraines salées sont largement moins abondantes et peu exploitées, car localisées le plus souvent à des profondeurs très importantes, ce qui engendre une augmentation importante des coûts d'exploitation (Brossard et Hussenot, 1997), aussi l'eau de mer naturelle s'est donc imposée comme support de toute production phytoplanctonique intensive, après enrichissement du milieu en conditions non contrôlées (Hussenot *et al.*, 1998, Le Moine *et al.*, 1998).

A cette exigence du marché imposant une augmentation de l'indice de qualité dans le cadre de la norme AFNOR, peut accessoirement s'y ajouter le verdissement des huîtres qui augmente encore plus la qualité du produit (Label Rouge) et en conséquence, sa valeur commerciale. C'est dans cette optique que cette ultime phase de préparation des mollusques pour le marché a nécessité des études complémentaires à celles jusqu'ici entreprises. Parmi elles, la production en masse d'*Haslea ostrearia* en conditions environnementales naturelles, constituait un passage obligé à la compréhension du processus de verdissement pour une exploitation optimale.

## 2 MATÉRIELS ET MÉTHODES

Deux expériences ont été réalisées au cours de l'année 1998 : l'une au mois de juin et l'autre au mois d'octobre, en période d'affinage. Les mêmes protocoles ont globalement été appliqués, mais des modifications ont été apportées au niveau de l'échantillonnage en octobre, compte tenu de l'expérience de juin.

Une serre horticole d'une surface de 27 m<sup>2</sup> a été installée sur le marais expérimental à proximité des bassins de culture existants (fig. 8). Ces derniers sont des bassins de terre d'une surface de 100 m<sup>2</sup>, recouverts d'un liner plastique type "piscine" de couleur blanche, garantissant une étanchéité et éliminant tout échange entre le sédiment et la colonne d'eau. Un réseau hydraulique permet, par une pompe dont le débit est de 30 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup>, de les alimenter en eau de mer décantée provenant de la réserve située sur le marais ; ils sont en outre équipés d'une évacuation de type bonde PVC qui permet une vidange rapide lors de l'entretien.

*Dans ce chapitre, ces bassins seront dénommés "liners" afin de les distinguer des claires ou de tout autre type d'enceinte de production.*

## 2-1 Préparations au laboratoire

Des cultures successives d'*Haslea ostrearia* sont réalisées au laboratoire en erlenmeyer de 500 mL, puis en ballon de 2 L, puis en baril de 25 L par repiquages successifs. Ces cultures sont entreprises avec un clone d'*Haslea ostrearia* isolé au laboratoire à partir d'échantillons d'eau des claires du marais expérimental ; l'eau de mer servant aux cultures est filtrée préalablement (filtres Millipore 0.2  $\mu\text{m}$ ) et enrichie avec le milieu NPSi. Cette phase de préparation dure en moyenne une vingtaine de jours ; la concentration moyenne en cellules obtenue dans les barils de 25 L est comprise entre 50000 et 70000 cellules.mL<sup>-1</sup>, ce qui permet d'obtenir une concentration initiale des cultures en 500 litres supérieure à 2000 cellules.mL<sup>-1</sup>.

## 2-2 Préparations sur le terrain

Trois bacs de 500 litres sont placés sous la serre horticole, garantissant une protection des cultures contre les contaminations par d'autres espèces par les embruns mais également les protégeant des intempéries. L'eau utilisée pour les cultures de 500 litres provient de la réserve du marais expérimental renouvelée lors d'une marée de vives-eaux et décantée : la décantation de cette eau entraîne ainsi une diminution de la diversité spécifique en espèces phytoplanctoniques et un appauvrissement en nutriments (Hussenot et Brossard, 1995). Un système de filtration sur sable est installé permettant de préfiltrer cette eau (Fig. 61) ; après traitement, celle-ci est stockée provisoirement dans un bac auxiliaire. En juin, l'opération de filtration a été réalisée sur filtreur Millipore avec une membrane de 0.45  $\mu\text{m}$  de vide de maille ; en octobre, cette filtration a été modifiée puisqu'elle mettait en œuvre un système de filtration de type CUNO sur cartouche de 10  $\mu\text{m}$  et 0.5  $\mu\text{m}$ . Ce système est en effet mieux adapté, car plus efficace et surtout moins coûteux ; un compteur volumétrique permet de mesurer précisément les volumes souhaités dans les bacs placés sous serre.

Un prélèvement d'eau est réalisé pour l'analyse des sels nutritifs  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{SiO}_3$  et  $\text{PO}_4$ . Les bacs sont ensuite enrichis à l'aide du mélange NPSi, préparé suivant le protocole décrit précédemment, soit 5 litres de milieu pour 500 litres d'eau de mer. Les cultures d'*Haslea ostrearia* préparées au laboratoire sont ensuite inoculées à raison de 25 litres de culture par bac. Un second prélèvement est réalisé pour l'analyse des sels nutritifs ; parallèlement, un comptage des espèces présentes en début d'expérience est effectué. Le suivi des concentrations en sels nutritifs, des teneurs en marennine excrétée ainsi que la détermination et le comptage des espèces sont réalisés chaque jour.



Après cette mise en culture sous serre, la préparation des bassins de 10 m<sup>3</sup> est réalisée. L'eau de mer est filtrée sur filtre à sable en PVC de notre conception, copié sur le modèle des filtres biologiques utilisés en aquariophilie (Fig. 60).

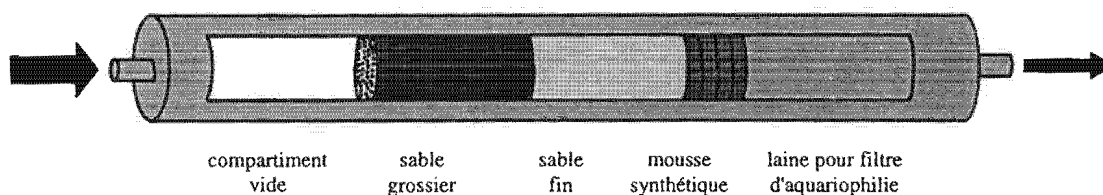


Figure 60 : Filtre à sable fabriqué pour la filtration de l'eau de mer alimentant les liners (d'après V. TURPIN). Ce filtre comporte plusieurs compartiments (sable grossier, sable fin, mousse, et laine d'aquariophilie). D'un diamètre de 25 cm et d'une longueur de 2 m pour un poids de 150 kilos, il permet d'éliminer une part importante de la matière organique et des particules en suspension présentes dans l'eau de la réserve. Il supporte un débit moyen de 5 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup>, en effet la pompe de 30 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup> peut être bridée par dérivation par ouverture de vannes (Fig. 62).

L'eau de pompage, après passage dans le filtre à sable, est filtrée à nouveau au moyen d'une chaussette en toile à bluter de 10 µm afin d'éliminer au maximum les grosses espèces phytoplanctoniques et le microzooplancton pouvant encore être présent. Il faut compter près de 6 heures pour remplir les trois liners de 10 m<sup>3</sup>.

Lorsque les cultures en bacs de 500 litres ont atteint la fin de la phase exponentielle de croissance, chaque bac est déversé dans un liner par gravitation, avant et après cette phase, l'eau de chaque bassin est échantillonnée comme pour les bacs de 500 L : analyses des concentrations en sels nutritifs, détermination et comptage des espèces de diatomées.

Les bassins de 10 m<sup>3</sup> sont enrichis en milieu NPSi à partir d'une solution de 100 litres de milieu préparée dans un bac avec de l'eau douce, les quantités utilisées sont décrites dans le tableau 48.

Tableau 48 : Quantités en éléments chimiques utilisées pour la préparation de 100 litres d'enrichissement permettant d'enrichir 10 m<sup>3</sup> d'eau de mer.

Élément chimique	Masse (g)	Volume (L)
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	254.6	
HCl		0.5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	17.7	
NaNO <sub>3</sub>	100	

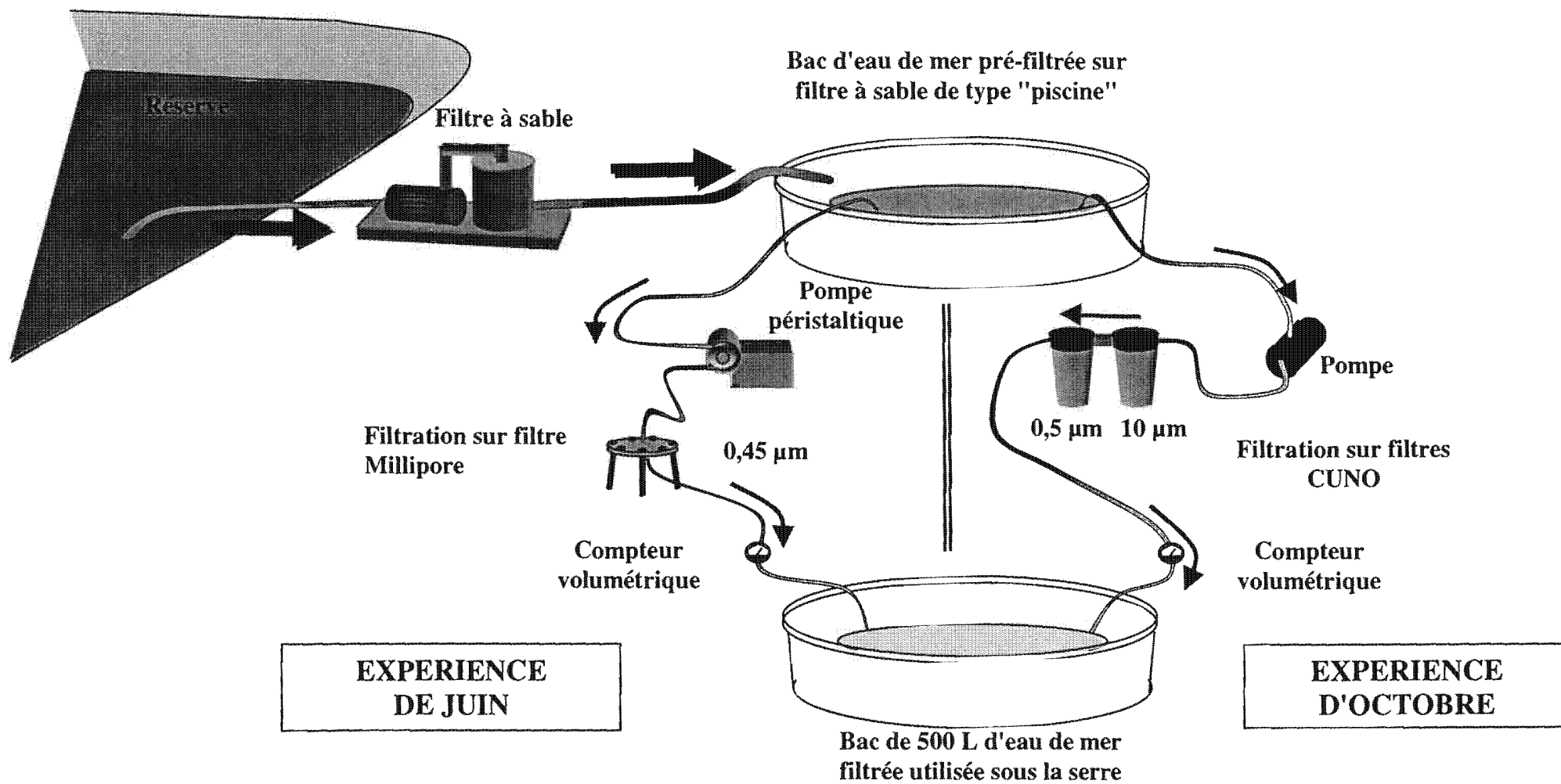


Figure 61: Dispositif expérimental utilisé lors de la filtration de l'eau de mer utilisée pour les cultures de 500 L sous serre.

En juin, un suivi journalier de la température, de la salinité ainsi que de la concentration en oxygène dissous dans les bacs et les bassins est réalisé en effectuant une mesure à heure fixe (14 heures). En octobre, des capteurs de températures (Tiny tag, GEMINI) sont placés dans chaque bac afin d'enregistrer la température selon des séquences de 30 minutes. De plus, dans l'un des liners, une sonde multi-paramétrique YSI 803S permet de relever toutes les 30 minutes la température, la salinité, les teneurs en oxygène dissous, la saturation en oxygène, le pH et la turbidité.

### 3 RESULTATS

#### 3-1 Expérience de juin

##### 3-1-1 Evolutions de la température, de la salinité et de la teneur en oxygène dissous.

La figure 63 présente l'évolution journalière à 14 heures des températures moyennes de l'eau, de l'air, de la salinité et des teneurs en oxygène dissous. Les 4 premiers jours de mesures correspondent aux cultures sous serre. L'amplitude des températures reste peu importante. Les températures de l'eau et de l'air dans la serre sont comprises entre 31.7 et 26.5 °C et 33.5 et 28.5 °C respectivement. Mise à part le premier jour, les températures dans les liners restent comprises entre 24.7 et 27 °C, pour une température extérieure comprise entre 18.5 et 22.4 °C. Ces températures, conformes aux normales saisonnières, sont élevées par rapport à la température optimale de croissance d'*H. ostrearia*, qui est de 15 °C. Mais elles ont pour conséquence une augmentation des salinités dans les bacs et les liners par évaporation. La salinité passe de 30.7 ‰ à 32.4 ‰ au bout de 4 jours dans les bacs, et de 31.2 ‰ à 33 ‰ dans les liners. La valeur de 30.8 ‰ observée le 15 juin est due à de faibles précipitations durant la nuit précédente. Ces valeurs sont légèrement plus élevées que la valeur optimale de 28 ‰ observée pour la culture d'*H. ostrearia*.

Les teneurs en oxygène dissous relevées, dans la journée à 14 heures (phase lumineuse), permettent de montrer une augmentation croissante des valeurs durant la phase de culture sous serre, ce qui traduit une augmentation de biomasse dans les bacs. Le passage en liners de 10 m<sup>3</sup>, s'accompagne dans les 2 premiers jours d'une augmentation des teneurs en oxygène dissous, mais à partir du 15 juin, on constate une baisse des teneurs en oxygène. On peut supposer que la culture n'évolue plus en terme de biomasse.

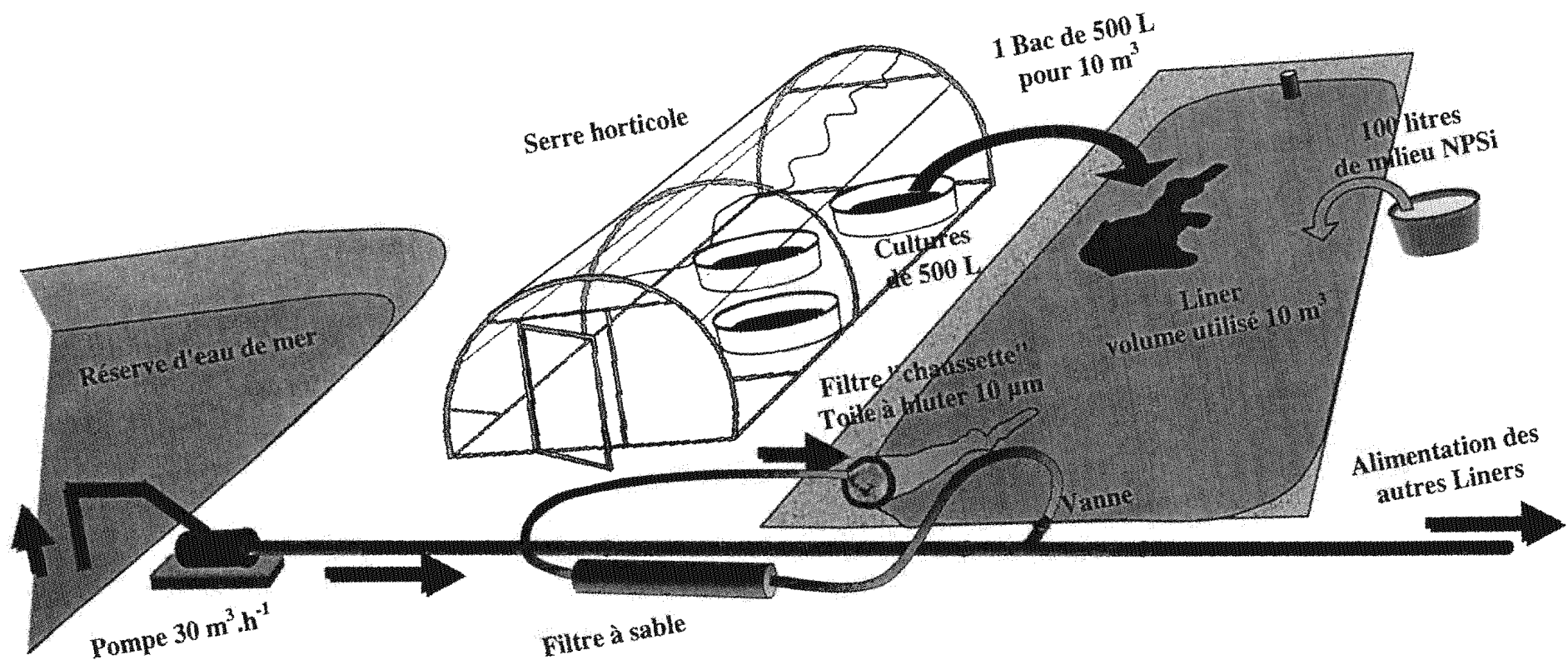


Figure 62 : Dispositif expérimental utilisé lors de la préparation des cultures en volume de  $10 \text{ m}^3$  dans les liners.

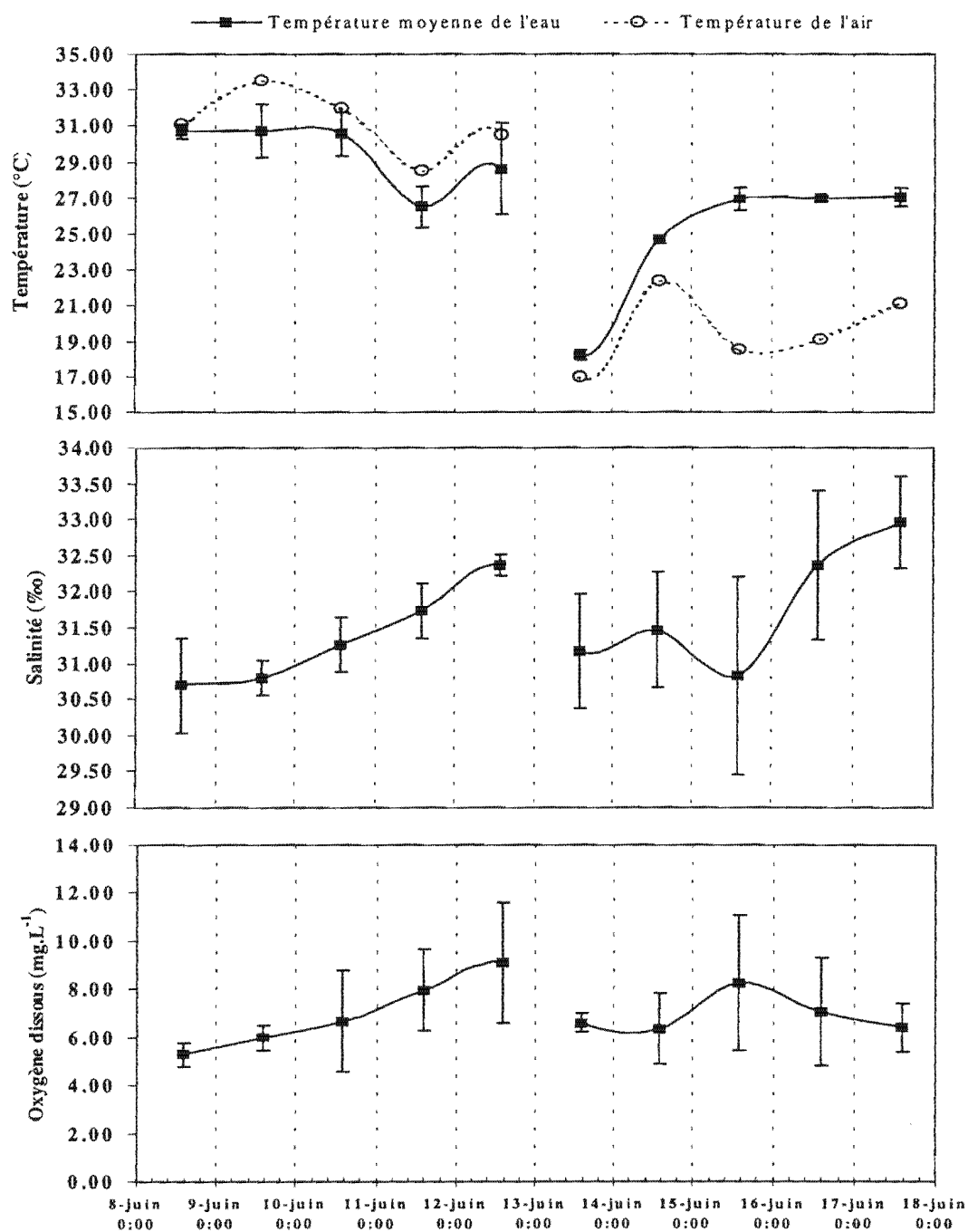


Figure 63 : Evolution journalière (mesure à 14 h) des températures de l'eau et de l'air, des salinités et de la teneur en oxygène dans les bacs et les liners. Les barres représentent l'intervalle de confiance à 95 %.

### 3-1-2 Evolutions des concentrations en Chlorophylle *a* et pigments caroténoïdes dans les bacs et les liners.

Les concentrations en chlorophylle *a* et en pigments caroténoïdes suivent une évolution sensiblement similaire (Fig. 64). Une concentration maximale en chlorophylle *a* de 122  $\mu\text{g.L}^{-1}$  et de 73  $\mu\text{g.L}^{-1}$  en pigments caroténoïdes, est atteinte au bout de 4 jours dans les bacs de 500 litres. Le passage en liners de 10  $\text{m}^3$ , se traduit par une augmentation des concentrations en pigments, jusqu'à des valeurs de 30  $\mu\text{g.L}^{-1}$  pour la chlorophylle *a* et 26  $\mu\text{g.L}^{-1}$  pour les pigments caroténoïdes. Les biomasses maximales atteintes sont observées le 15 juin. Ceci est en accord avec ce que nous observions pour les teneurs en oxygène dissous mesurées lors de la phase lumineuse. Le bloom escompté ne s'est donc pas produit en volume de 10  $\text{m}^3$ .

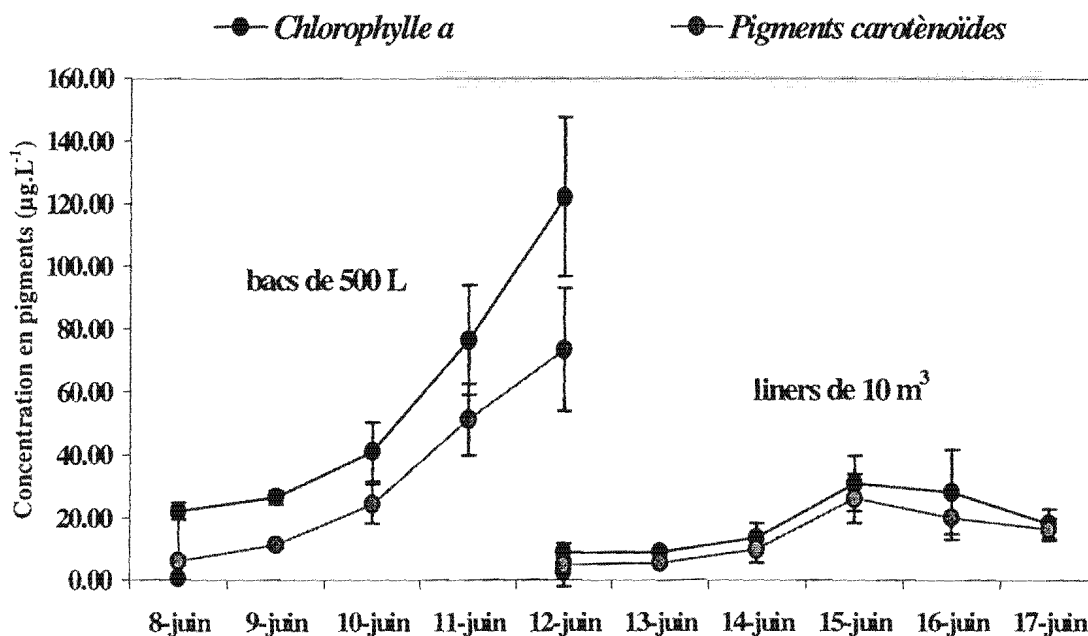


Figure 64 : Evolutions des teneurs moyennes en chlorophylle *a* et pigments caroténoïdes en bacs de 500 litres sous serre et en liners de 10  $\text{m}^3$ . Les barres représentent l'intervalle de confiance à 95 %.

### 3-1-3 Evolutions des concentrations en *Haslea ostrearia* et en marennine excrétée dans les bacs et les liners.

Nous avons également suivi l'évolution journalière des densités numériques en cellules d'*Haslea ostrearia* et des concentrations en marennine dissoute excrétée par l'algue dans le

milieu de culture (Fig. 65). Au bout de 4 jours de culture sous serre, une densité numérique moyenne en cellule proche de 30000 cellules.mL<sup>-1</sup> est obtenue, pour une concentration en marennine externe excrétée de 6 mg.L<sup>-1</sup>.

Afin d'utiliser un inoculum, dont les cellules présentaient un état physiologique optimal (phase exponentielle de croissance), il a été décidé d'inoculer après 4 jours de culture sous serre, les cultures de 10 m<sup>3</sup>. La concentration initiale dans les liners est proche de 500 cellules.mL<sup>-1</sup>. Au bout de 6 jours en volume de 10 m<sup>3</sup>, aucun verdissement n'a été observé. La densité numérique maximale d'*Haslea ostrearia* ne dépasse pas la valeur de 3100 cellules.mL<sup>-1</sup> après 3 jours, soit 10 fois moins que sous serre. Quant à la concentration en marennine externe, la valeur la plus forte est observée après 4 jours, avec une valeur de 1.8 mg.L<sup>-1</sup>. Le décalage d'une journée, entre la densité numérique la plus forte et la concentration maximale en marennine externe observée, s'explique par le fait que les cellules en voie de dégénérescence libèrent dans le milieu la marennine lors de la lyse cellulaire.

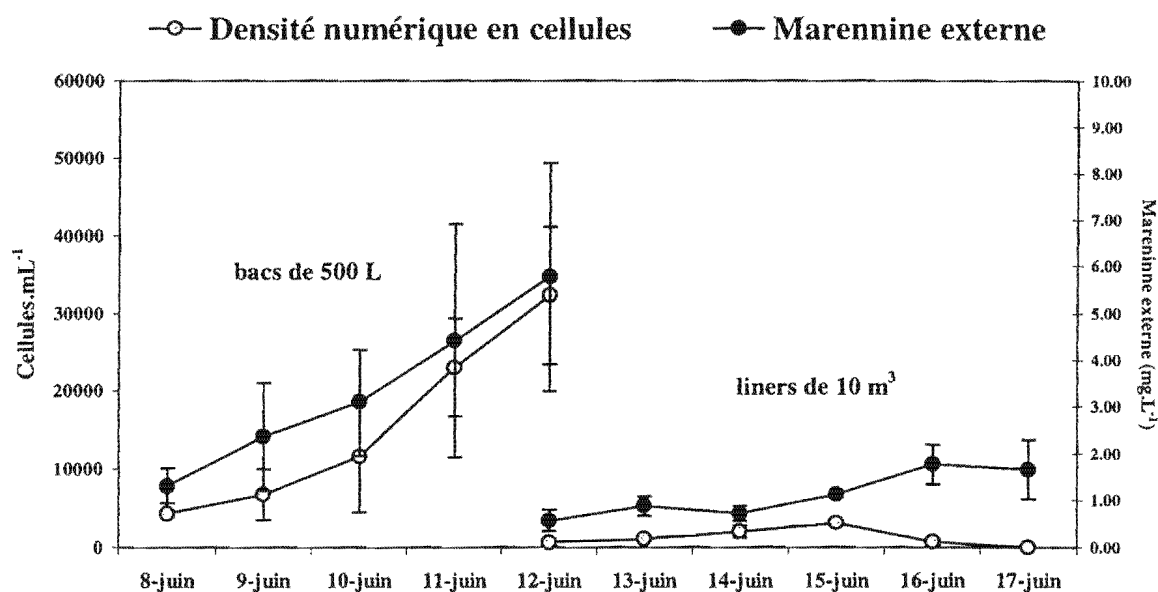


Figure 65 : Evolution de la densité numérique moyenne en *Haslea ostrearia* et de la concentration moyenne en marennine externe excrétée en bacs de 500 litres sous serre et en liners de 10 m<sup>3</sup>. Les barres représentent l'intervalle de confiance à 95 %.

### 3-1-4 Utilisation des sels nutritifs dans les bacs et les liners.

La figure 66 représente l'évolution des concentrations en nutriments dans les eaux de cultures en bacs de 500 L et en liners de 10 m<sup>3</sup>. Les 8 et 12 juin, deux mesures de concentrations sont réalisées (avant et après enrichissement avec le milieu NPSi).

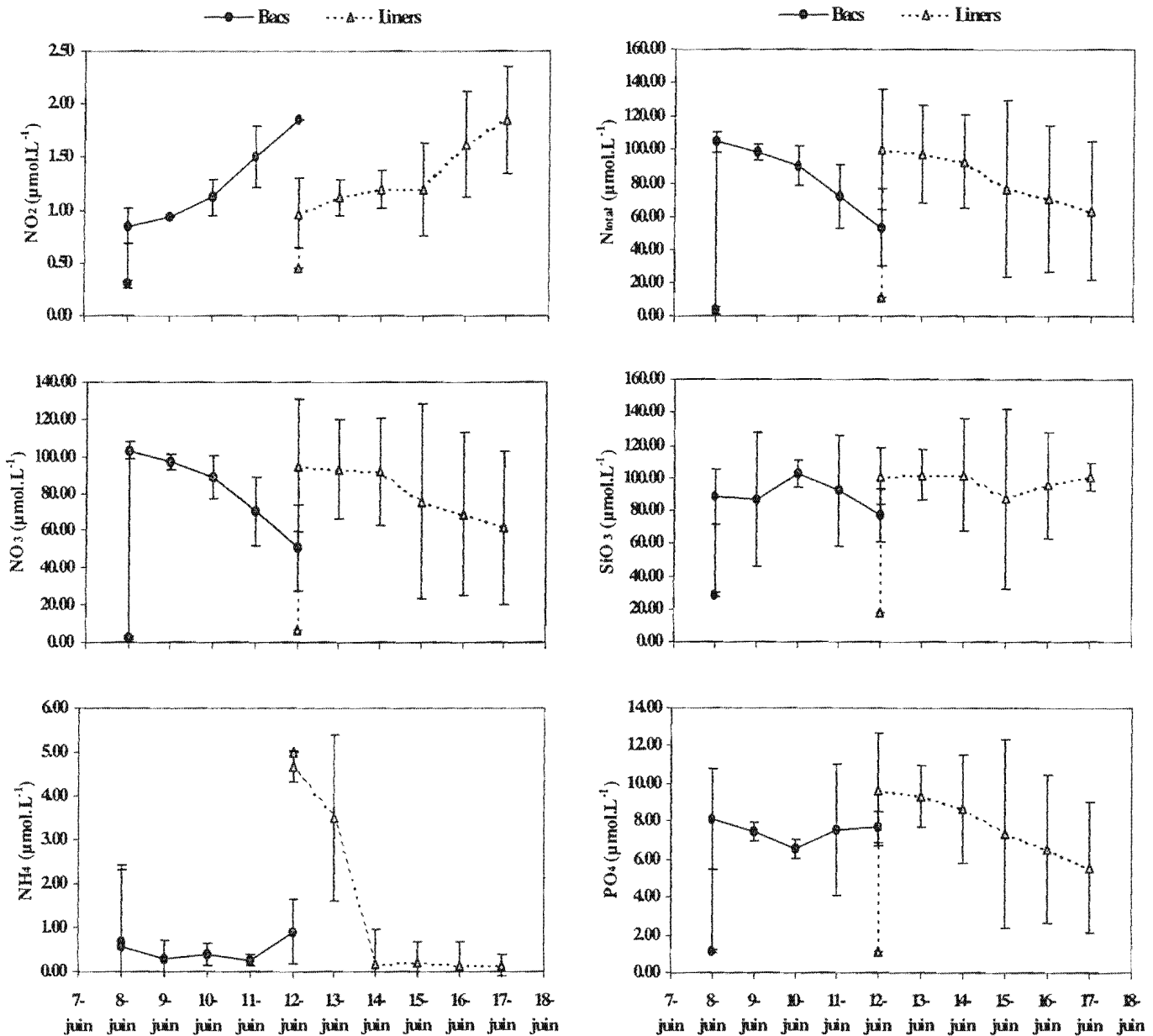


Figure 66 : Evolution journalière des concentrations en sels nutritifs (ammonium, nitrites, nitrates, azote minéral total dissous, silicates dissous, et phosphore minéral dissous) dans les cultures en bacs de 500 L et en liners de 10 m<sup>3</sup>. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%. Les enrichissements ont lieu le 8 et le 12 juin.



Pour les nitrites, la concentration augmente durant l'expérimentation, passant de valeurs proches de  $0.25 \mu\text{mol.L}^{-1}$  à des valeurs proches de  $2 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . Cette augmentation significative au cours du temps, peut être imputable à l'activité bactérienne importante liée aux températures élevées observées, par oxydation de la forme ammoniacale ou réduction des nitrates.

Les teneurs en ammonium sont faibles en bacs de 500 Litres ( $< 1 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ). L'eau de la réserve utilisée pour les cultures de  $10 \text{ m}^3$ , présente une concentration voisine de  $5 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , cependant cette réserve est vite épuisée entre le 12 et le 14 juin.

Les teneurs en nitrates initialement présentes dans l'eau sont très faibles,  $2.6 \mu\text{mol.L}^{-1}$  pour les cultures en bacs et  $6.4 \mu\text{mol.L}^{-1}$  pour l'eau utilisée pour les cultures en liners. L'enrichissement en nitrates avec le milieu NPSi permet de passer de ces valeurs à des concentrations respectives de  $103 \mu\text{mol.L}^{-1}$  et  $95 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . Ces faibles valeurs initiales correspondent aux valeurs observées en été dans les eaux de l'estuaire de la Seudre (voir tableau 5, § II). Les nitrates sont assimilés en partie lors des cultures en bacs ( $53 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) et de façon moins importante pour les cultures en liners ( $33 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ). L'azote total minéral dissous suit exactement la même évolution que celle des nitrates.

Les concentrations en silicates initialement présentes dans l'eau, sont de  $28.6 \mu\text{mol.L}^{-1}$  pour l'eau utilisée pour les cultures en bacs et de  $17.7 \mu\text{mol.L}^{-1}$  pour l'eau utilisée pour les cultures en liners. Ces valeurs sont nettement plus élevées que les concentrations observées à cette époque de l'année (voir tableau 6, § II). La consommation des silicates est très faible, à peine  $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$  en bacs et  $13 \mu\text{mol.L}^{-1}$  en liners.

Les teneurs en phosphates dissous initialement présentes dans l'eau, sont de  $1.1 \mu\text{mol.L}^{-1}$  pour l'eau utilisée pour les cultures en bacs et de  $1.2 \mu\text{mol.L}^{-1}$  pour l'eau utilisée pour les cultures en liners. Ces valeurs sont deux fois plus fortes que les concentrations observées à cette époque de l'année dans les eaux de l'estuaire de la Seudre (voir tableau 7, § II). Comme pour les silicates, la consommation de phosphates est faible en bacs ( $0.4 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) et plus importante dans les liners ( $4 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ).

Le tableau 49 résume ces constatations, exprimées cette fois en terme de pourcentage de consommation de la réserve initiale.

Tableau 49 : Consommations moyennes en pourcentage de la réserve initiale pour l'azote total, les silicates et les phosphates. Les valeurs sont encadrées par l'intervalle de confiance.

Consommation moyenne en % de la réserve initiale	Bacs	Liniers
Azote total	49.0 ± 20.3	37.2 ± 25.3
Silicates	12.1 ± 32.8	2.5 ± 9.7
Phosphates	4.8 ± 20.5	43.0 ± 23.8

L'azote total est partiellement consommé, 49 % dans les bacs contre 37.2 % pour les cultures en liners.

Les silicates ne sont que très peu utilisés, seulement 12.1 % pour les cultures sous serres contre 2.5 % pour les cultures de 10 m<sup>3</sup>. Quant aux phosphates, seulement 4.8 % sont utilisés lors des cultures en bacs de 500 L contre 43 % pour les cultures en liners.

Tous ces résultats montrent, que les sels nutritifs pourtant présents en quantité non limitantes, n'ont pas permis d'obtenir le développement des cultures de façon satisfaisante pour espérer un verdissement des liners. Un ou plusieurs paramètres ont donc joué un rôle prépondérant, qui a empêché le développement des cultures jusqu'au stade de verdissement. Dans la conclusion, nous essayerons d'apporter une réponse à cette constatation.

### 3-1-5 Relations entre les différents paramètres étudiés

Une matrice de corrélation a été construite pour étudier les relations entre les différents paramètres physico-chimiques et les paramètres estimatifs de la biomasse (Tableau 50).

Dans cette matrice de corrélation, nous pouvons voir logiquement qu'il existe des relations hautement significatives entre l'oxygène dissous et les paramètres estimatifs de la biomasse. De même, les teneurs en chlorophylle *a*, caroténoïdes, la densité numérique en cellules et la concentration en marennine externe sont toutes corrélées significativement ( $p < 0.001$ ). A *contrario*, si les nitrates et donc l'azote total, les silicates et les phosphates présentent des corrélations significatives entre eux, ces paramètres nutritionnels ne sont pas corrélés avec les paramètres estimatifs de biomasse. Paradoxalement, seuls les nitrites présentent une corrélation significative avec les paramètres estimatifs de la biomasse à l'exception de la

densité numérique en cellule d'*Haslea ostrearia*. Les autres corrélations significatives observées n'ont pas d'explications biologiques, puisque par exemple l'augmentation des teneurs en oxygène dissous s'accompagne d'une diminution des concentrations en nitrates et azote total (corrélations négatives), alors que ces paramètres ne sont pas corrélés avec les paramètres estimatifs de la biomasse. Toutes ces relations mises en évidence, sont en accord avec les premières constatations faites lors de l'étude de chaque variable.

Tableau 50 : Matrice de corrélation de Pearson entre les différents paramètres étudiés en juin dans les bacs et les liners. Les étoiles représentent les corrélations significatives. (\* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$  ; \*\*\* :  $p < 0.001$ ). Temp : température de l'eau, O<sub>2</sub> : teneur en oxygène dissous, Sal : salinité, Chl *a* : teneur en chlorophylle *a*, Carot : teneur en pigments caroténoïdes, Haslea : densité numérique en cellule d'*Haslea ostrearia*, Mar ext : Marennine externe.

	Temp	O <sub>2</sub>	Sal	Chl <i>a</i>	Carot	Haslea	Mar ext	NO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub>	N <sub>total</sub>	SiO <sub>3</sub>	PO <sub>4</sub>
Temp										*			
O <sub>2</sub>				**	**	*	*		**		**		
Sal								***	**		**		
Chl <i>a</i>		0.78			***	***	***	*					
Carot		0.87		0.98		***	***	*					
Haslea		0.68		0.97	0.93		***						
Mar ext		0.65		0.96	0.93	0.95		*					
NO <sub>2</sub>			0.95	0.60	0.68		0.62						
NO <sub>3</sub>		-0.79	-0.82								***	***	***
NH <sub>4</sub>	-0.75												
N <sub>total</sub>		-0.78	-0.82						0.99			**	***
SiO <sub>3</sub>									0.83		0.82		**
PO <sub>4</sub>									0.85		0.86	0.82	

### 3-1-6 Evolution des populations de diatomées au cours de l'expérimentation

Lors de cette première expérience, nous avons réalisé également un suivi journalier des différentes populations de diatomées présentes dans les cultures. La figure 67 présente l'évolution des densités numériques moyennes en cellules observées pour les espèces inventoriées dans les cultures en bacs de 500 litres (du 8 au 12 juin) et pour les cultures en volume de 10 m<sup>3</sup> (du 13 au 17 juin).

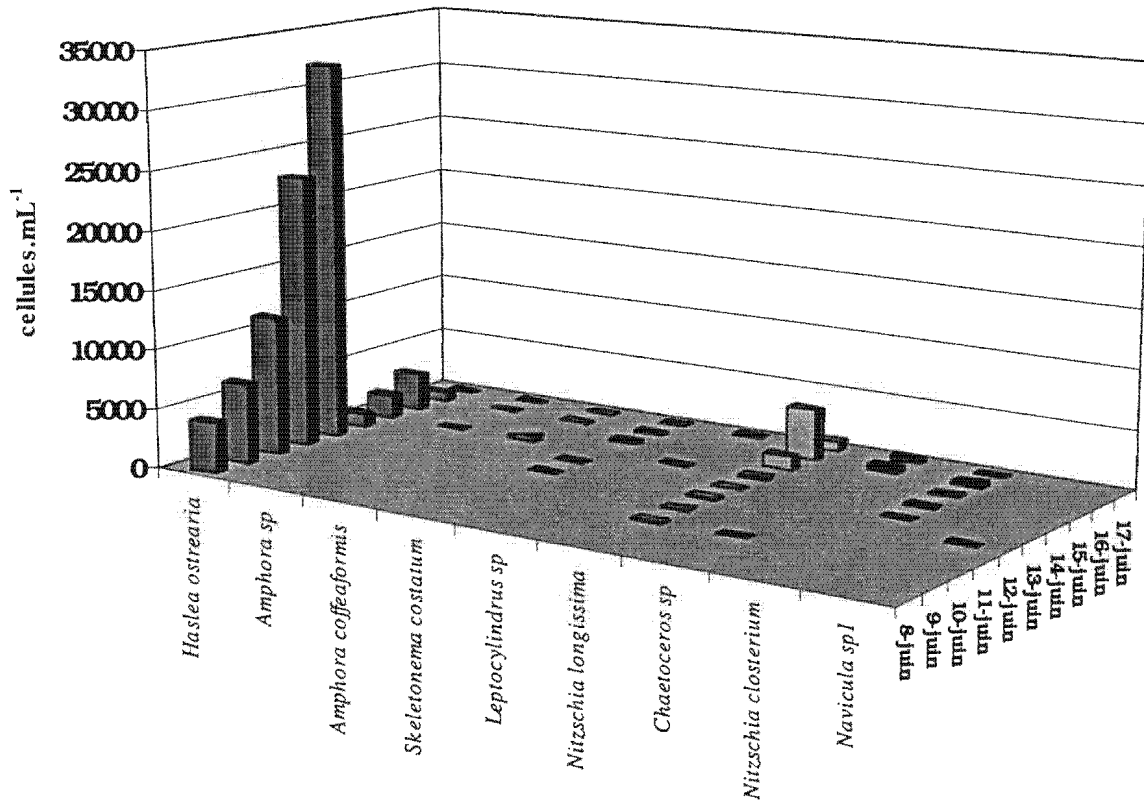


Figure 67 : Evolution journalière des densités numériques moyennes en cellules pour les espèces de diatomées inventoriées dans les cultures en bacs de 500 L et en liners de 10 m<sup>3</sup>.

Au total, 9 espèces de diatomées ont été inventoriées dans les échantillons prélevés dans les cultures. L'espèce la plus représentée dans les échantillons est *Haslea ostrearia*, suivie de *Nitzschia longissima*. Au regard de la figure 68, qui représente l'évolution des fréquences relatives cumulées, par espèce représentant plus de 1% de l'effectif total, on s'aperçoit que dans les cultures sous serre, *H. ostrearia* représente entre 100 et 97 % des effectifs totaux. *Nitzschia longissima*, *Skeletonema costatum* et un petit *Chaetoceros sp* apparaissent dans les cultures en bacs à partir du troisième et quatrième jour avec des effectifs très faibles. Le passage en grand volume montre l'apparition de 5 nouvelles espèces. Cependant comme nous l'avons vu aucun bloom ne s'est produit dans les liners, les densités numériques en cellules ne dépassant pas des valeurs de 5000 cellules.mL<sup>-1</sup>. *H. ostrearia* au bout de 4 jours n'est plus l'espèce majoritaire, elle est supplantée par *N. longissima*, *Chaetoceros sp*, *S. costatum* et *Leptocylindrus sp*.

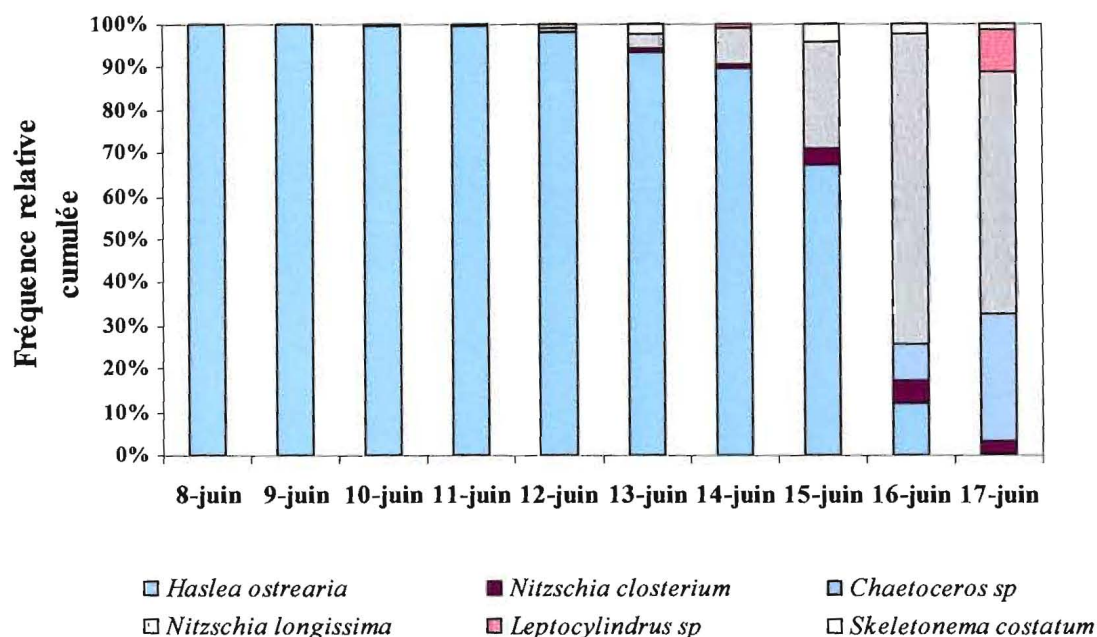


Figure 68 : Evolution journalière des fréquences relatives cumulées par espèces dans les cultures en bacs de 500 L (du 8 au 12 juin) et en liners de 10 m<sup>3</sup> (du 13 au 17 juin).

### 3-1-7 Discussion

Lors de cette première expérience, il faut souligner que malgré la filtration effectuée, apparaît une contamination des cultures par d'autres diatomées. Cependant, aucune espèce ne s'est développée dans les bassins de 10 m<sup>3</sup> au point d'y provoquer un bloom. Dans cette situation le verdissement provoqué n'a pu s'exprimer, faute d'une multiplication insuffisante des cellules d'*Haslea ostrearia*. Il était important d'en rechercher les causes, et parmi celles-ci, on peut en distinguer deux principales lors du passage en volume de 10 m<sup>3</sup> :

- *Haslea ostrearia* présente dans la nature, deux périodes d'abondance caractéristiques de sa biologie ; on la trouve préférentiellement à la fin de l'été jusqu'au début de l'hiver, ainsi qu'au printemps (Robert, 1983). Les conditions climatiques estivales rencontrées en juin 1998 (températures et salinités élevées) semblent pouvoir expliquer en partie l'absence de verdissement provoqué. Néanmoins, dans les cultures sous serre, la multiplication intense d'*Haslea ostrearia* a été observée, alors que les valeurs de ces deux paramètres étaient

également élevées. Dans les bassins de 10 m<sup>3</sup>, des espèces plus opportunistes comme *Skeletonema costatum* et d'autres dites "estivales", comme *Nitzschia longissima* et *Nitzschia closterium*, bien que présentes, n'ont pas plus proliféré au point de provoquer un bloom phytoplanctonique, alors qu'aucun des paramètres nutritionnels étudiés ne semblait être limitant ou avoir un effet négatif sur les croissances cellulaires. L'hypothèse la plus probable avancée serait celle de l'effet du choc thermique subi par les algues lors du passage aux cultures en grand volume : 28.8 °C dans les bacs de pré-culture de 500 L, 18.2 °C dans l'eau des liners issus de la réserve, ce qui engendre pour les algues un changement thermique brutal de 10°C limitant leur potentialité de croissance.

- Une autre difficulté s'est manifestée lors de l'échantillonnage dans chaque liner. En effet, on sait que la remise en suspension fréquente d'*Haslea ostrearia* conduit à un stress pour les algues (Rouillard, 1996), désorganisant le thalle muqueux nécessaire à l'équilibre de la population (Rincé *et al.*, 1999). De surcroît la formation d'une "crème flottante" à l'interface eau – air, liée à l'agitation à grande échelle du bassin, contribue sous l'effet du vent à l'accumulation des populations sur les parois des liners. L'évaporation de l'eau faisant baisser sensiblement son niveau conduit à un dépôt de cette "crème flottante" sur les parois, celle-ci se desséchant en entraînant une mortalité importante des cellules.

### 3-2 Expérience d'octobre en période d'affinage

Une seconde expérience, similaire à celle de juin a donc été réalisée au mois d'octobre, en période d'affinage des huîtres, pendant la phase d'abondance naturelle d'*Haslea ostrearia* dans les claires. Les résultats obtenus en juin ainsi que les problèmes rencontrés, ont entraîné des modifications du protocole expérimental :

- Le système de filtration de l'eau de mer destinée aux cultures en bacs a été changé pour réduire les coûts tout en augmentant son efficacité.
- L'échantillonnage des liners a été réalisé tous les deux jours, afin de limiter le stress engendré par la remise en suspension des cultures.
- Une sonde multi-paramétrique a été utilisée afin de mesurer en continu de nouveaux paramètres physiques avec un pas d'échantillonnage beaucoup plus précis, toutes les 30 minutes.

Un quatrième liner a été préparé de façon identique aux autres pour immersion d'huîtres à une densité de 3 au m<sup>2</sup>, densité se situant dans celles caractérisant l'appellation "Spéciales de claires" définie par la norme AFNOR ; Cette expérience ayant pour seul but le suivi au cours du temps de l'intensité du verdissement des huîtres.

#### 3-2-1 Evolutions des paramètres physico-chimiques dans les bacs et les liners.

Dans les bacs sous serre, uniquement la température a été suivie en continu au moyen de Data loggers Tiny Tag (GEMINI). Les autres paramètres ont été suivis uniquement dans les cultures de 10 m<sup>3</sup>.

##### 3-2-1-1 Température

Le suivi journalier des variations de température, montre un cycle régulier (Fig. 69). A partir de 18 heures, les températures diminuent, ceci durant toute la nuit jusque vers 10 heures le matin. Durant la journée, la température augmente régulièrement. Dans les cultures sous serre, les températures restent comprises entre 15.2 °C et 21 °C. L'amplitude moyenne journalière des températures reste stable autour de 3 °C. En milieu ouvert, les températures sont plus faibles, avec une amplitude journalière plus importante. Les températures les plus faibles en fin de nuit sont comprises entre 11 et 15°C alors que dans la journée elles sont

comprises entre 16 et 19.5 °C. L'amplitude journalière moyenne est de 4.5 °C, comprise entre 3 et 6 °C. La température optimale de culture d'*Haslea ostrearia* de 15 °C est donc comprise dans la gamme des températures observées lors de l'expérimentation.

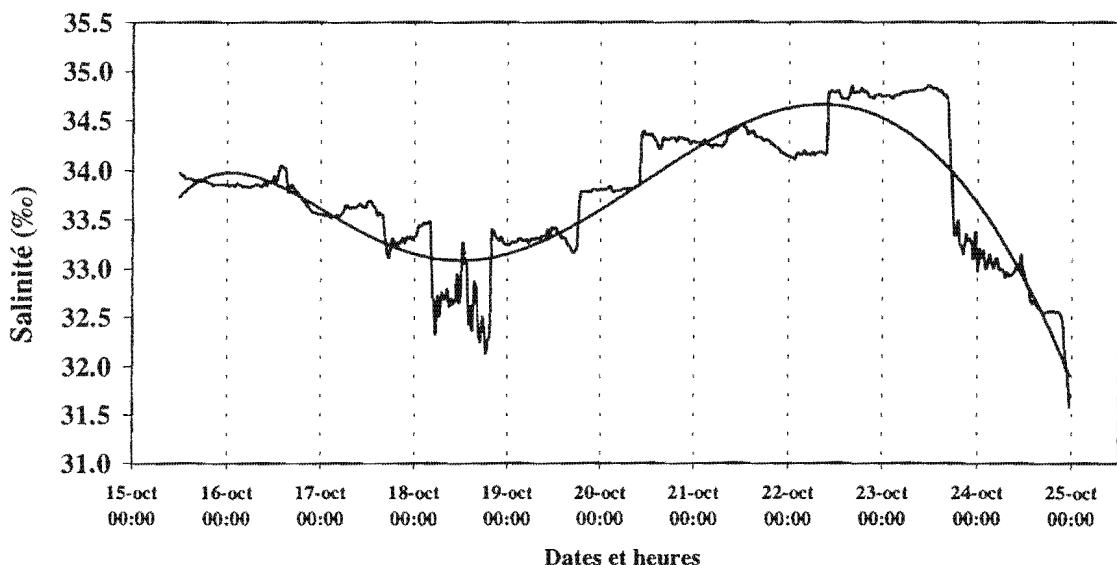


Figure 69 : Evolution journalière des températures de l'eau dans les bacs sous serre et les liners.

### 3-2-1-2 Salinité

La salinité ne montre pas de cycle d'évolution journalier dans les cultures en grand volume (Fig. 70). L'amplitude des salinités durant les 10 jours de suivi reste faible. Les salinités sont comprises entre 31.8 ‰ et 34.8 ‰. Ces valeurs sont plus élevées que celle correspondant à l'optima de 28 ‰ pour la culture d'*Haslea ostrearia*.

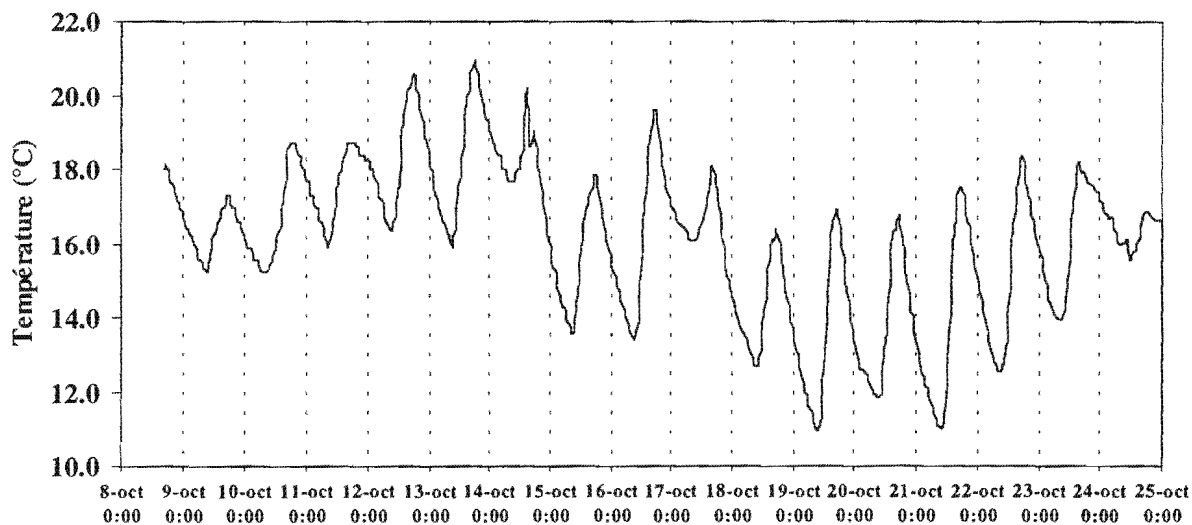


Figure 70 : Evolution journalière de la salinité de l'eau dans les liners.



### 3-2-1-3 Oxygène dissous

L'oxygène dissous présente un cycle journalier d'évolution, comme les températures (Fig. 71). Durant la phase sombre (nuit), il y a une diminution des teneurs en oxygène dissous, alors que durant la phase lumineuse les teneurs en oxygène dissous ont tendance à augmenter dans les bassins de 10 m<sup>3</sup>. L'activité photosynthétique des algues en culture permet, durant la phase lumineuse, d'augmenter en moyenne de 6 mg.L<sup>-1</sup>, les teneurs en oxygène dissous les plus faibles observées en fin de phase sombre. Une tendance est observée également. Entre le 15 et le 20 octobre, il y a augmentation régulière de la teneur maximale journalière, on peut faire un parallèle avec l'évolution de la biomasse, puisque cette période correspond avec la phase exponentielle de croissance des cultures.

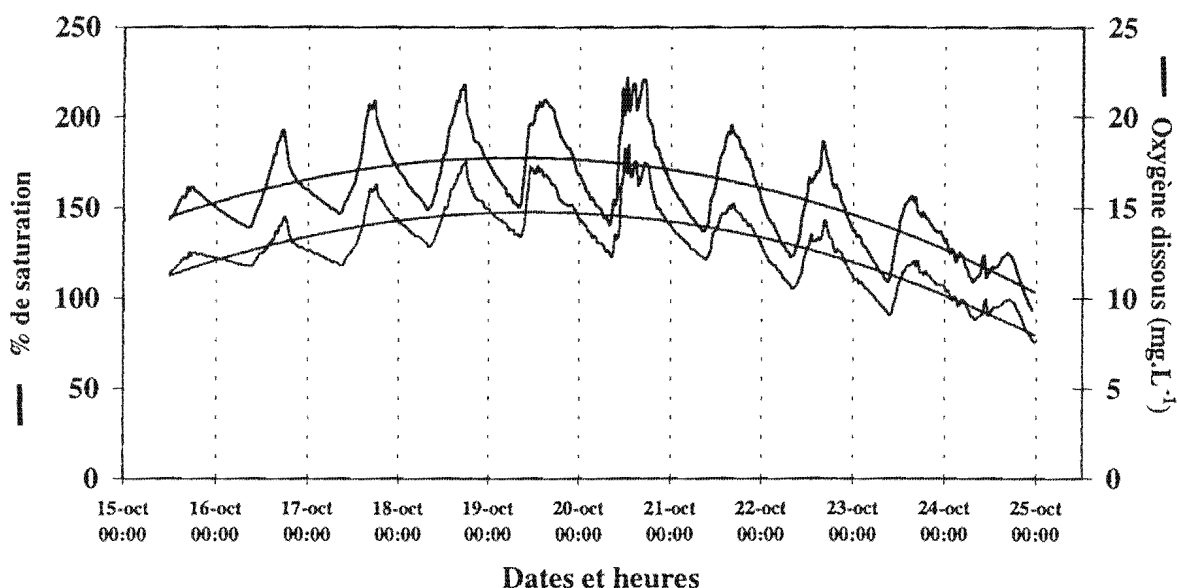


Figure 71 : Evolution journalière des teneurs en oxygène dissous (en mg.L<sup>-1</sup> et en % de saturation) dans les liners.

### 3-2-1-4 pH

Pour le pH, on note qu'il existe là encore un cycle journalier d'évolution (Fig. 72), cependant l'amplitude de variation journalière est faible, de l'ordre de 0.2 à 0.4 unité pH entre le jour et la nuit. Par contre d'un jour à l'autre le pH augmente, comme pour l'oxygène et il est aisé de mettre en correspondance cette évolution avec celle de la biomasse dans les cultures. En début d'expérience le pH est de 7.7, l'optimum étant pour *Haslea ostrearia* de 8.2 (Bachrach *et al.*, 1936; Robert, 1977), et après 10 jours de culture la valeur maximale de 9.6 unités pH

est observée. L'augmentation du pH est la conséquence directe de l'assimilation du CO<sub>2</sub> dissous dans les cultures durant la phase lumineuse. Durant la phase sombre, la libération de CO<sub>2</sub> (respiration) fait baisser légèrement le pH de l'ordre de 0.1 à 0.2 unités pH. La tendance globale observée, montre que l'assimilation du CO<sub>2</sub> durant la photosynthèse, reste plus importante que le dégagement de ce dernier durant la phase sombre (respiration). Le plateau atteint entre le 22 et 25 octobre correspond également à la phase de plateau observée pour l'évolution de la biomasse.

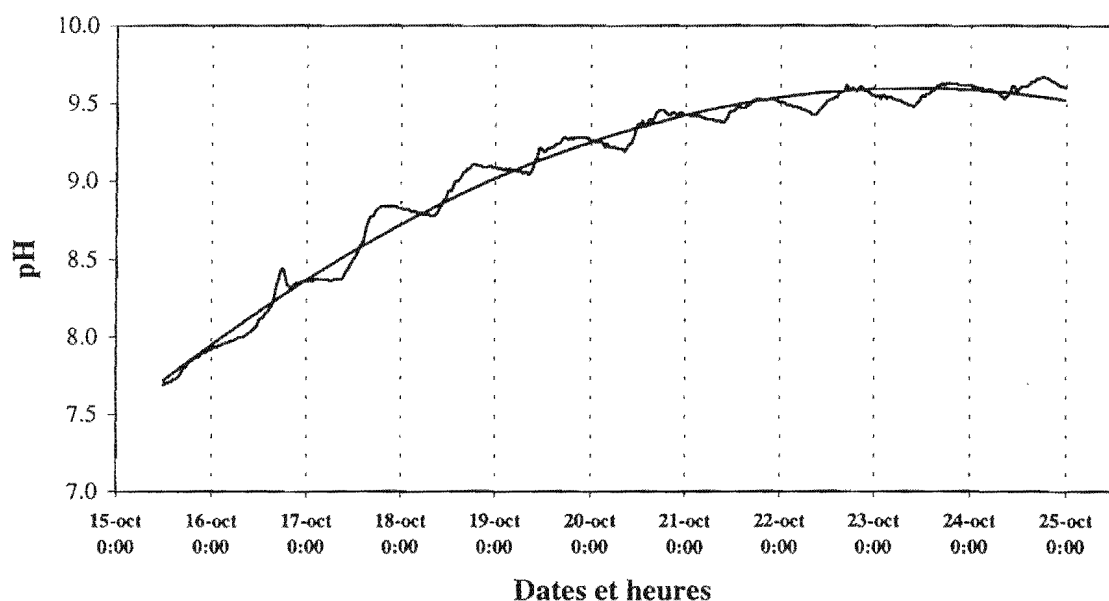


Figure 72 : Evolution journalière du pH dans les liners.

### 3-2-1-4 Turbidité

Pour la turbidité, aucun cycle journalier n'est mis en évidence (Fig. 73). Les augmentations brutales de turbidité observées, peuvent en partie être expliquées par la remise en suspension de la culture après l'échantillonnage (16, 18, 20, 22 et 24 octobre), mais aussi par la remontée en surface des thalles benthiques durant la phase lumineuse suite à la libération d'oxygène (Fig. 79A ). Ce comportement s'observe aisément dans les cultures au laboratoire. Cependant une tendance d'évolution de la turbidité dans les cultures de 10 m<sup>3</sup> peut être dégagée au cours des 10 jours d'expérience. Entre le 15 et le 25 octobre la turbidité moyenne passe de 0.8 à 3 (NTU). Cette augmentation est à mettre en relation avec l'augmentation de la biomasse dans la culture.

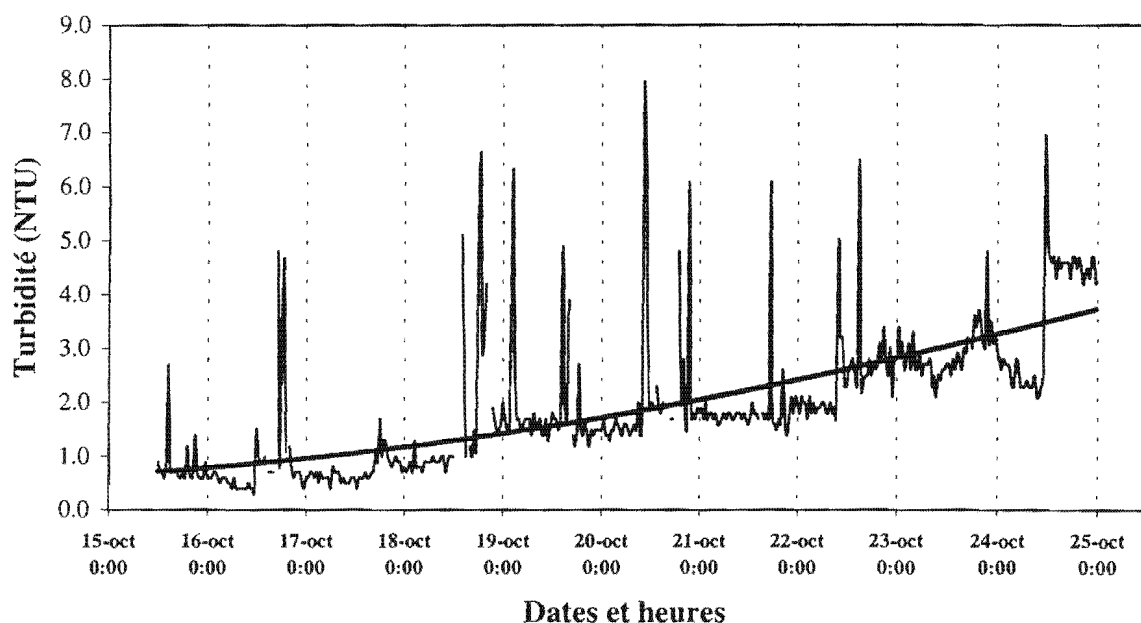


Figure 73 : Evolution journalière de la turbidité dans les liners.

### 3-2-2 Evolutions des concentrations en Chlorophylle *a* et pigments caroténoïdes dans les bacs et les liners.

La figure 74 montre l'évolution des concentrations en chlorophylle *a* et en pigments caroténoïdes. Pour la chlorophylle *a*, les valeurs sont de  $190 \mu\text{g.L}^{-1}$  dans les bacs de 500 L et  $142 \mu\text{g.L}^{-1}$  dans les liners. Pour les pigments caroténoïdes, les concentrations de  $87 \mu\text{g.L}^{-1}$  et  $93 \mu\text{g.L}^{-1}$  sont observées en fin de culture, respectivement dans les bacs et les bassins.

Le passage en bassin, par dilution des bacs de 500 litres dans  $10 \text{ m}^3$  d'eau de mer filtrée et enrichie, montre une sous estimation de la concentration théorique de près de 33 %. Cette sous-estimation peut être imputable à l'échantillonnage du fait de la difficulté de remettre en suspension de façon homogène les cultures de  $10 \text{ m}^3$ .

En fin de phase exponentielle, la différence entre cultures en bac de 500 litres et liners de  $10 \text{ m}^3$  reste peu importante. Ainsi en volume de  $10 \text{ m}^3$ , on arrive à produire après 10 jours près de 75 % de la biomasse obtenue en 8 jours sous serre en volume de 500 litres.

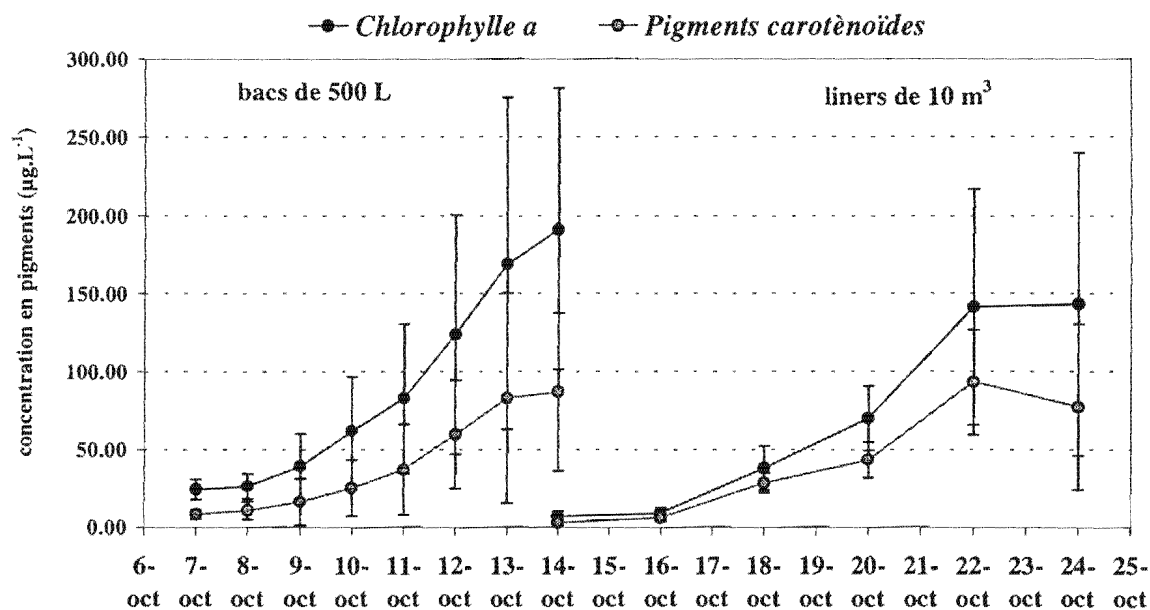


Figure 74 : Evolutions des teneurs moyennes en chlorophylle *a* et pigments caroténoïdes en bacs de 500 litres sous serre et en liners de 10 m<sup>3</sup>. Les barres représentent l'intervalle de confiance à 95 %.

### 3-2-3 Evolutions des concentrations en *Haslea ostrearia* et en marennine excrétée dans les bacs et les liners.

Lors de cette expérience, au bout de 7 jours, on observe dans les trois bacs 500 L de pré-cultures une concentration moyenne de 51000 cellules.mL<sup>-1</sup>, pour une concentration moyenne de 7.1 mg.L<sup>-1</sup> de marennine excrétée (Fig. 75). La concentration initiale moyenne dans les liners après comptage est de 1000 cellules.mL<sup>-1</sup>. En théorie, cette concentration devrait être proche de 2500 cellules.mL<sup>-1</sup> puisque la dilution est de 1/20°. La difficulté d'obtenir un échantillonnage représentatif sur un volume important de 10 m<sup>3</sup> introduit un biais, comme nous l'avons déjà signalé, qui sous-estime la concentration réelle. En ce qui concerne la densité numérique en cellule d'*Haslea ostrearia*, cette sous-estimation représente près de 60 % de la biomasse réelle. Il est logique de penser que cette sous-estimation diminue au fur et à mesure que la biomasse augmente dans les liners; elle serait donc plus importante pour les concentrations faibles en début d'expérimentation. Pour les teneurs en chlorophylle *a*, la valeur, deux fois moindre, de 33 % de cette sous-estimation tend à montrer que d'autres espèces phytoplanctoniques sont présentes au début des cultures, ce qui traduirait une relative inefficacité du système de filtration de l'eau utilisée pour les cultures de 10 m<sup>3</sup>.

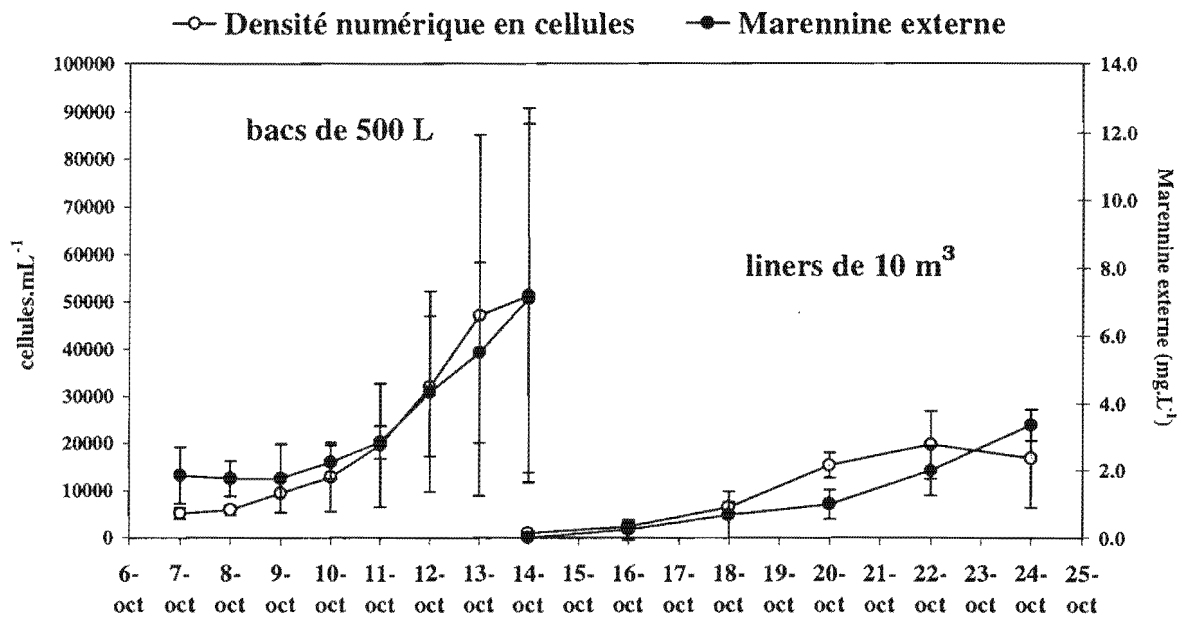


Figure 75 : Evolutions de la densité numérique moyenne en *Haslea ostrearia* et de la concentration moyenne en marennine externe excrétée en bacs de 500 litres sous serre et en liners de 10 m<sup>3</sup>. Les barres représentent l'intervalle de confiance à 95 %.

Cependant, *Haslea ostrearia* se développe dans la culture de 10 m<sup>3</sup>, et au bout de 8 jours d'expérience, la biomasse maximale moyenne de 19800 cellules.mL<sup>-1</sup> est obtenue. La concentration maximale observée en marennine externe dissoute est de 3.4 mg.L<sup>-1</sup>. La concentration en marennine après 8 jours continue d'augmenter, par libération de la marennine interne, par les cellules en voie de dégénérescence. La différence entre bacs de 500 litres et bassins de 10 m<sup>3</sup>, est plus importante que celle observée entre les teneurs en pigments photosynthétiques. La présence d'autres espèces est donc certaine, ce qui contribue à augmenter les teneurs en pigments photosynthétiques, mais également aussi la compétition interspécifique vis à vis d'*Haslea ostrearia*.

### 3-2-4 Evolution des populations de diatomées

Le suivi de l'évolution des différentes populations de diatomées (Fig. 76), aussi bien dans les cultures sous serre que les culture en milieu ouvert, montre en effet que d'autres espèces sont présentes dans les cultures. Ainsi en bacs de 500 litres, seules trois espèces ont été inventoriées, il s'agit d'*Haslea ostrearia*, de *Nitzschia closterium* et d'*Entomoneis alata*. Les

deux premières espèces se développent de façon semblable, mais cependant comme le montre la figure 77, *Haslea* reste dominante dans ces cultures puisqu'elle représente à elle seule plus de 85 % des effectifs totaux du peuplement.

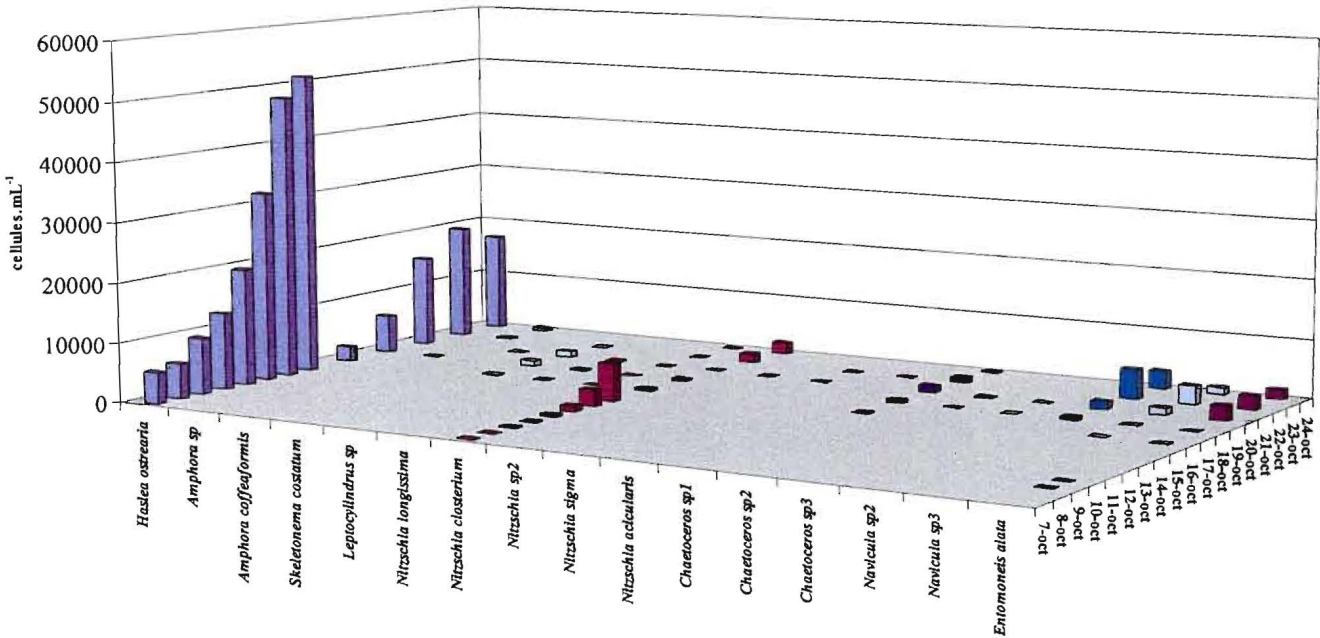


Figure 76 : Evolution journalière des densités numériques moyennes en cellules pour les espèces de diatomées inventoriées dans les cultures en bacs de 500 L et en liners de 10 m<sup>3</sup>.

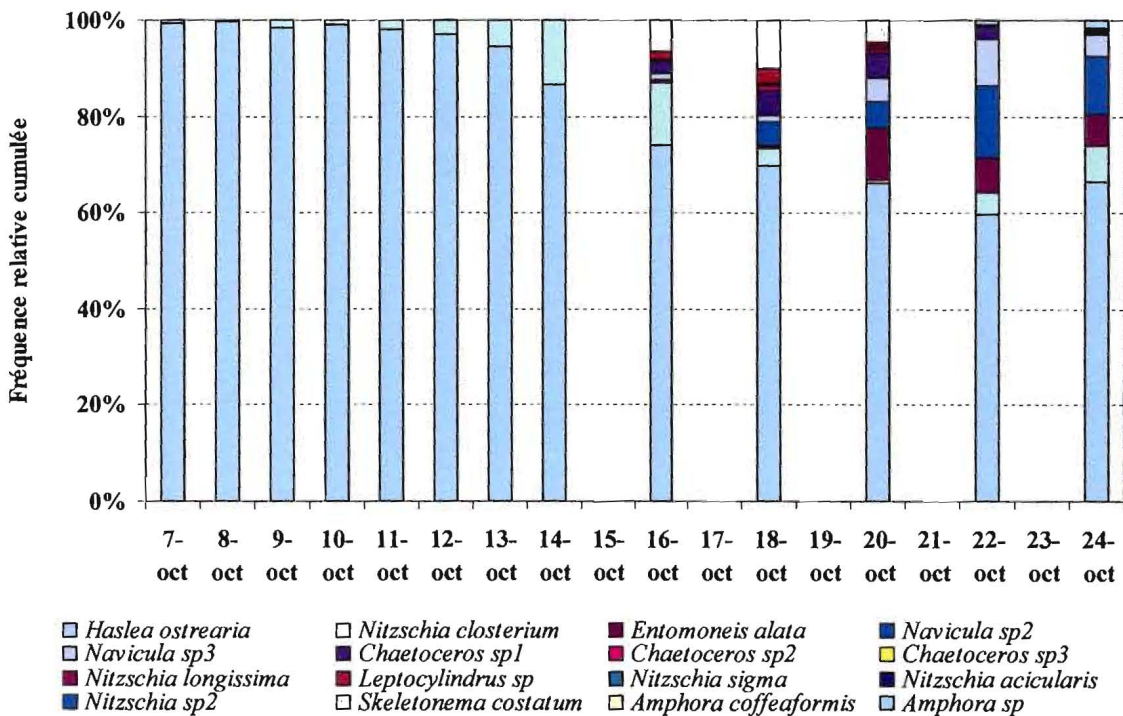


Figure 77 : Evolution journalière des fréquences relatives cumulées par espèces dans les cultures en bacs de 500 L (du 7 au 14 octobre) et en liners de 10 m<sup>3</sup> (du 14 au 24 juin).

Le passage en volume de 10 m<sup>3</sup>, montre au niveau de l'échantillonnage une augmentation de la diversité spécifique avec l'apparition de 13 nouvelles espèces. Comme nous le supposions, nous constatons donc une certaine inefficacité du système de filtration mis en œuvre lors de la préparation des bassins de 10 m<sup>3</sup>. Par contre l'augmentation de la diversité spécifique, qui s'accompagne du développement de ces espèces, entraîne une diminution de la dominance d'*Haslea ostrearia*, bien que cette dernière représente à elle seule encore près de 66 % des effectifs totaux du peuplement, après 10 jours de culture.

### 3-2-5 Observation du verdissement dans les cultures sur eau de mer enrichie.

La figure 78 présente une des cultures réalisée en bac de 500 litres sous serre en fin de phase exponentielle. Le verdissement est constaté. Chaque bac est ensuite déversé dans les bassins de 10 m<sup>3</sup>. Comme on peut le voir, les algues sont réparties sur les bords du bac et tapissent le fond en formant un thalle mucilagineux.



Figure 78 : Evolution de la culture sous serre jusqu'au stade de verdissement.

Les photographies A, B et C de la figure 79 montrent l'état des cultures au bout de 4, 8 et 10 jours dans les bassins de 10 m<sup>3</sup>. Sur la photographie A, on peut observer la formation de "crème flottante" appelée par les ostréiculteurs "bavis". On voit donc que ces cultures présentent les mêmes caractéristiques d'évolution que celles observées lors d'un verdissement en claire.

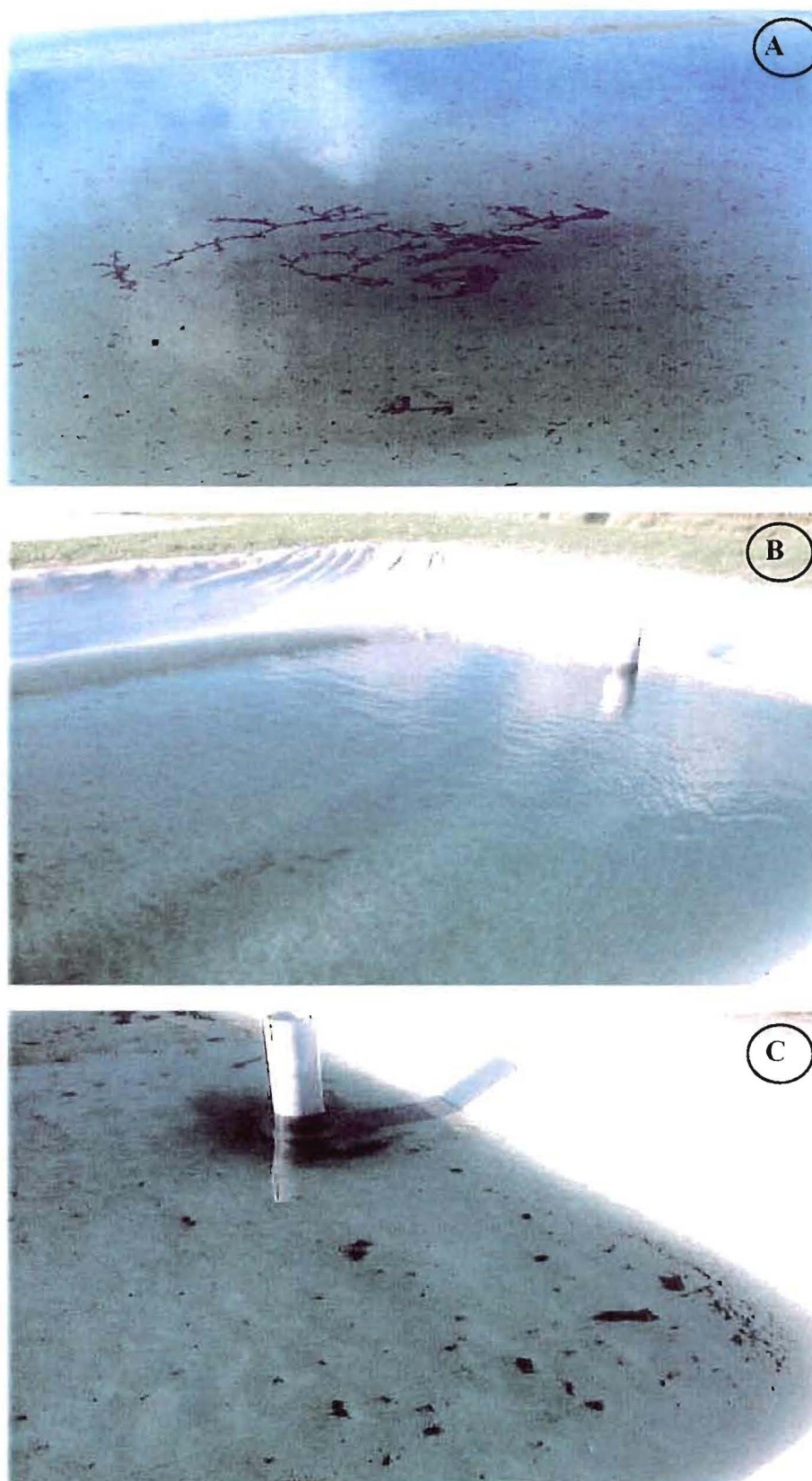


Figure 79 : Evolution de la culture en bassin de 10 m<sup>3</sup> jusqu'au stade de verdissement. **A** : Remontée en surface de crème flottante après 4 jours de culture (Thalles microphytiques). **B** : Vue d'ensemble des bassins de 10 m<sup>3</sup> après 8 jours de culture. **C** : détails montrant la coloration observée dans les bassins, due à la marennine excrétée après 10 jours de culture.



### 3-2-6 Utilisation des sels nutritifs dans les bacs et les liners.

La figure 80 présente l'évolution des teneurs en nutriments dans les cultures sous serre et celles en milieu ouvert. Les enrichissements avec le milieu NPSi ont eu lieu le 7 et le 14 octobre.

Les nitrites augmentent pendant la culture sous serre, passant de  $1.4 \mu\text{mol.L}^{-1}$  en moyenne à une valeur de  $4.4 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . Cette augmentation significative au cours du temps, peut être imputable à une activité bactérienne importante dans les cultures. L'eau de mer utilisée pour les cultures en bassins présente une concentration moyenne de  $0.3 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . Cette concentration augmente légèrement jusqu'au 6<sup>ème</sup> jour de culture ( $0.9 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ), pour atteindre en fin d'expérimentation la concentration de  $0.25 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . La concentration initiale relevée de  $1.4 \mu\text{mol.L}^{-1}$  pour l'eau de la réserve est conforme avec les concentrations moyennes observées dans l'estuaire de la Seudre en période automnale. L'eau utilisée pour les cultures en bassins de  $10 \text{ m}^3$  est la même que celle utilisée pour les cultures de  $500 \text{ L}$ , mais elle a décanté et s'est appauvrie en nutriments.

Les teneurs en ammonium, de  $10.1 \mu\text{mol.L}^{-1}$  observées pour l'eau de la réserve en début d'expérience, sont deux et demi fois plus élevées que les normales saisonnières observées dans l'estuaire de la Seudre. Après seulement 5 jours de culture sous serre, cette réserve ammoniacale est presque épuisée. L'eau de la réserve utilisée pour les bassins de  $10 \text{ m}^3$ , est également épuisée en azote ammoniacal dissous ( $0.5 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ). Cette concentration continue à diminuer jusqu'à une valeur de  $0.3 \mu\text{mol.L}^{-1}$  en fin de culture.

Les teneurs en nitrates, initialement présentes dans l'eau, sont importantes :  $39.2 \mu\text{mol.L}^{-1}$  pour les cultures en bacs et sont légèrement plus importantes que les concentrations moyennes généralement observées en période automnale. L'enrichissement en nitrates avec le milieu NPSi permet d'augmenter sensiblement leur concentration moyenne ( $159 \mu\text{mol.L}^{-1}$  pour les cultures sous serre et  $114.5 \mu\text{mol.L}^{-1}$  pour l'eau utilisée pour les cultures en liners. On remarque, comme pour les nitrites et l'ammonium, que le séjour de l'eau dans la réserve (phase de décantation) s'est accompagné d'une forte diminution de la concentration en nitrates. L'azote total minéral dissous, représenté majoritairement par les nitrates, suit exactement la même évolution que ces derniers.

L'utilisation des nitrates est importante, dans les bacs près de  $82 \mu\text{mol.L}^{-1}$  sont consommés en 7 jours. En bassins de  $10 \text{ m}^3$ , ce sont près de  $112 \mu\text{mol.L}^{-1}$  qui sont utilisés en 10 jours.

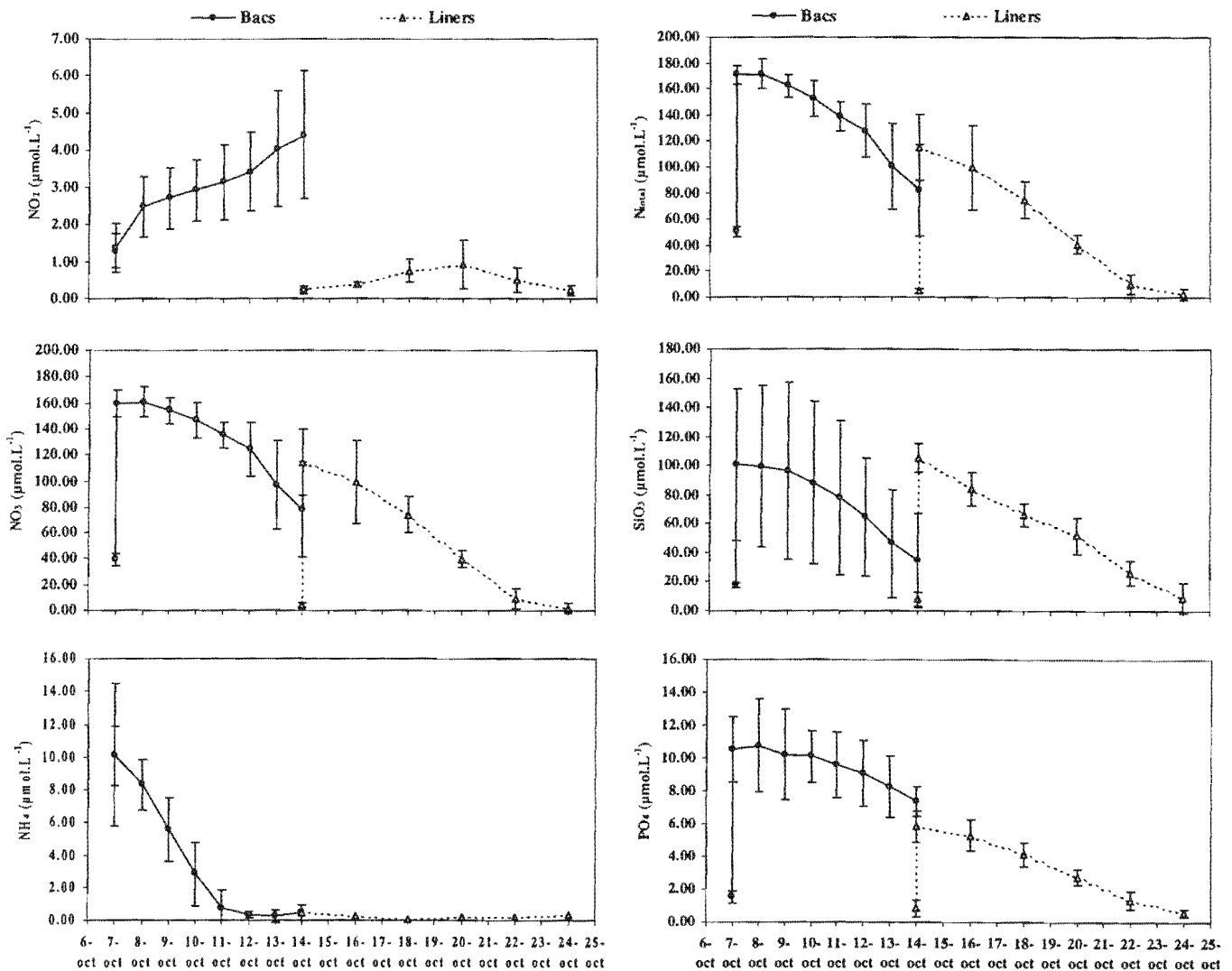


Figure 80 : Evolution journalière des concentrations en sels nutritifs (ammonium, nitrites, nitrates, azote minéral total dissous, silicates dissous, et phosphore minéral dissous) dans les cultures en bacs de 500 L et en liners de 10 m<sup>3</sup>. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%. Les enrichissements ont lieu les 7 et 14 Octobre.

Les concentrations en silicates, initialement présentes dans l'eau, sont de  $17.9 \mu\text{mol.L}^{-1}$  pour l'eau utilisée pour les cultures en bacs et de  $8.1 \mu\text{mol.L}^{-1}$  pour les cultures en liners, là encore on peut noter l'effet de la décantation sur la concentration initiale. Cette dernière est conforme aux concentrations moyennes observées en automne dans l'estuaire de la Seudre. L'enrichissement en NPSi permet d'obtenir des concentrations initiales en silicates de  $100.6$  et  $105.6 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . En théorie, le milieu apporte  $120 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , on peut supposer que la dissolution du métasilicate n'a pas été totale dans l'eau de mer. En terme d'assimilation, on

note que la consommation des silicates est importante, près de  $66 \mu\text{mol.L}^{-1}$  en bacs contre  $97 \mu\text{mol.L}^{-1}$  en liners.

Les teneurs en phosphates dissous initialement présents dans l'eau de la réserve, sont de  $1.5 \mu\text{mol.L}^{-1}$  dans les cultures en bacs et de  $0.8 \mu\text{mol.L}^{-1}$  dans les liners. Ces valeurs sont légèrement plus élevées que celles observées à cette époque de l'année dans les eaux de l'estuaire de la Seudre. Au niveau assimilation, la consommation des phosphates plus faible en bacs ( $3 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) que dans les liners ( $5.2 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) alors que la réserve initiale est plus importante dans les bacs que dans les bassins de  $10 \text{ m}^3$ .

Si l'on regarde l'utilisation des nutriments exprimée en terme de pourcentage de consommation de la réserve initiale (Tableau 51). On peut remarquer que celle-ci est plus forte dans les cultures en milieu ouvert. En bacs de 500 L, ce sont les silicates qui sont les plus utilisés (66 %), suivis de l'azote total (51.6 %) et des phosphates (seulement 29.9 %). En bassins de  $10 \text{ m}^3$ , les réserves initiales sont presque toutes épuisées (plus de 90% de consommation pour chacune des sources nutritives). En effet, dans les culture sous serre la réserve en nutrilités ne se trouve pas épuisée du fait de l'utilisation précoce de l'inoculum en phase exponentielle de croissance, afin de garantir les qualités physiologiques optimales de ce dernier.

Tableau 51 : Consommations moyennes en pourcentage de la réserve initiale pour l'azote total, les silicates et les phosphates. Les valeurs sont encadrées par l'intervalle de confiance.

Consommation moyenne en % de la réserve initiale	Bacs	Liners
Azote total	$51.6 \pm 21.7$	$97.8 \pm 3.4$
Silicates	$66.2 \pm 17.2$	$91.4 \pm 10.4$
Phosphates	$29.9 \pm 7.7$	$90.0 \pm 2.9$

### 3-2-7 Evolution de la coloration d'huîtres immergées dans un bassin test de $10 \text{ m}^3$

Un 4<sup>ème</sup> bassin de  $10 \text{ m}^3$ , a été préparé de façon identique aux trois liners étudiés au cours de cette expérience. Dans ce bassin, des huîtres ont été immergées en début d'expérience à la densité de 3 individus par  $\text{m}^2$ . Cette densité est comprise dans la gamme de densité autorisée par la norme AFNOR (AFNOR, 1985), elle appartient à l'appellation "Spéciales de claire". Tous les deux jours, nous avons réalisé un prélèvement d'huître, afin de suivre l'évolution de la coloration des mollusques en fonction de l'évolution du verdissement dans ce bassin. La figure 81 traduit cette évolution grâce aux clichés réalisés.

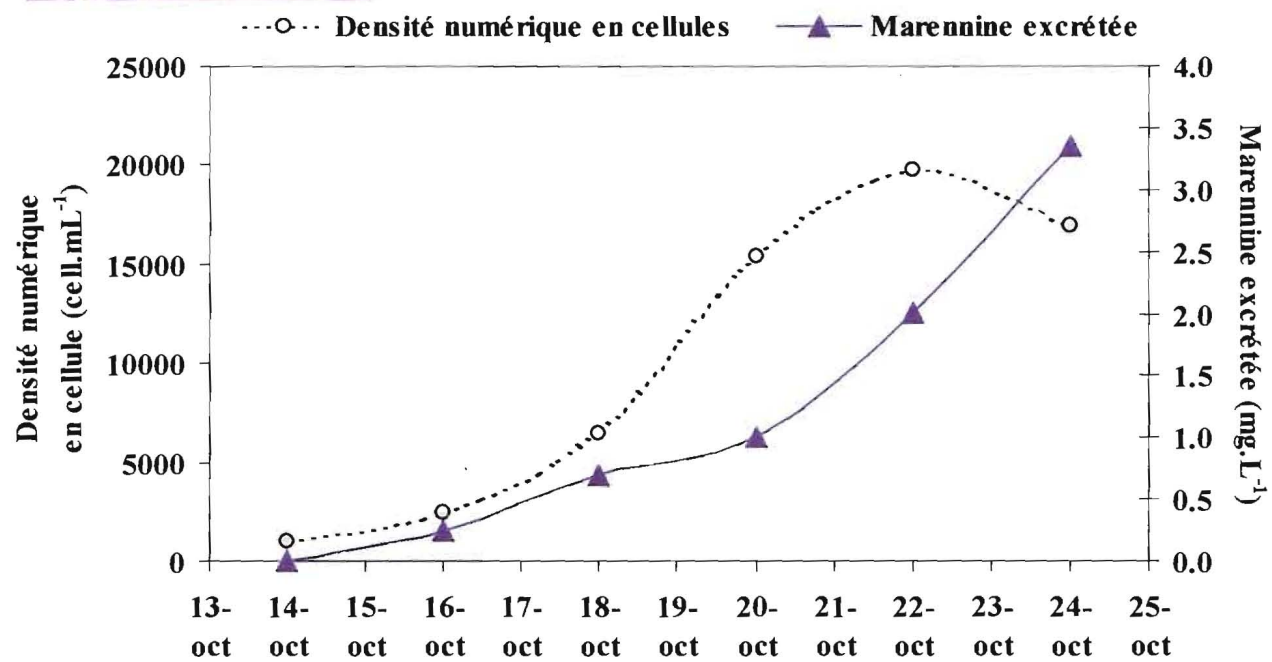
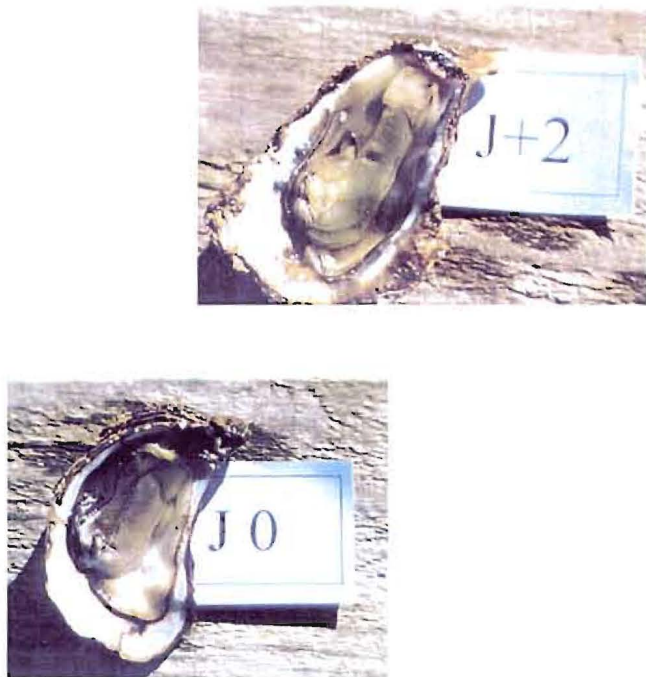


Figure 81 : Evolution de la coloration des huîtres immergées à la densité de 3 individus au m<sup>2</sup> dans un bassin test de 10 m<sup>3</sup> en fonction de l'évolution de la densité numérique en cellule d'*Haslea ostrearia* et de la concentration de marennine excrétée.

On remarque que les branchies des huîtres immergées dans le liner, commencent à se colorer au bout de 4 jours. La coloration la plus intense s'obtient après 8 jours d'immersion. Le graphique correspond à l'évolution de la densité numérique en cellules moyenne d'*Haslea ostrearia* et de la concentration moyenne en marennine excrétée observée dans les trois bassins de 10 m<sup>3</sup>. Il est présenté à titre d'exemple, car il ne traduit pas l'évolution de ces paramètres dans le bassin où les huîtres ont été immergées.

### 3-2-8 Discussion et perspectives

#### Le verdissement contrôlé en bassin de 10 m<sup>3</sup>

Cette expérience réalisée en période automnale durant la période d'affinage traditionnel et d'abondance d'*Haslea ostrearia* dans le milieu naturel, a permis l'obtention d'un verdissement que l'on peut qualifier d'intensif.

Contrairement à la première expérimentation réalisée en période estivale, cette dernière a révélé l'importance des conditions climatiques et des qualités physiques de l'eau, dans le développement des cultures en grand volume d'*Haslea ostrearia* ; en effet aucun choc thermique n'a été constaté lors du transfert des cultures de 500 L aux bassins de 10 m<sup>3</sup>.

Les conditions de températures, de salinité et de pH correspondaient aux optimaux observés pour la culture *in vitro* d'*Haslea ostrearia*. Robert (1977) a d'ailleurs montré, pour le facteur température, le rôle des amplitudes journalières dans l'apparition du verdissement. Il a noté que des amplitudes thermiques journalières de 5 à 6 °C étaient propices au phénomène, et qu'au contraire l'absence d'amplitude thermique ou d'une amplitude supérieure à 10 °C correspondait à une absence de ce dernier, dans les claires. Dans la présente étude, l'amplitude thermique journalière moyenne constatée de 3 à 6°C, confirme bien les observations précédentes de Robert (1977).

Les teneurs en éléments nutritifs des eaux utilisées pour les cultures sous serre, étaient proches de celles observées dans les eaux de l'estuaire de la Seudre à cette période de l'année. Malgré l'appauvrissement en nutriments des eaux de la réserve durant la phase de décantation, l'utilisation de celle-ci pour les cultures en liners n'a pas révélé de caractère limitant, le milieu enrichissant NPSi ayant rempli totalement son rôle. Dans les cultures en système ouvert, la prise de nutriment représente plus de 90 % de la réserve initiale en nutrilites. Ceci a son

importance, puisque la distribution envisagée de ces cultures dans les claires ostréicoles, n'aurait que peu d'influence au niveau des rejets ultérieurs dans l'environnement côtier.

Le suivi des populations de diatomées dans les cultures, a permis de montrer qu'*Haslea ostrearia*, malgré la présence d'autres espèces compétitrices, reste majoritaire en représentant près de 85 % du peuplement dans les cultures sous serre et près de 66 % des effectifs totaux du peuplement dans les liners de 10 m<sup>3</sup>. Moreau (1970) a montré que, lors du verdissement en claire, les effectifs d'*Haslea ostrearia* représentent plus de 60 % des effectifs totaux ; Robert (1983) quant à lui, a pu observer également dans des claires vertes de Vendée, qu'*Haslea* représentait à elle seule jusqu'à 50 à 65 % des effectifs totaux.

Il semble donc qu'à grande échelle, lors d'un verdissement naturel ou provoqué, les effectifs d'*Haslea ostrearia* représentent plus de 50 à 60 % des effectifs totaux des peuplements de diatomées.

### **Perspectives d'optimisation des différentes phases de préparation des cultures**

Lors du passage en bassins de 10 m<sup>3</sup>, on note une augmentation sensible de la diversité spécifique. L'eau de la réserve utilisée, bien que filtrée sur sable ainsi que sur toile à bluter de 10 µm, n'est pas débarrassée d'espèces pouvant concurrencer *Haslea ostrearia*. Le système de filtration ne semble pas totalement efficace. Afin de limiter la présence initiale dans l'eau de mer d'espèces compétitrices d'*Haslea ostrearia* comme *Skeletonema costatum* et *Nitzschia closterium*, l'utilisation de filtres spéciaux à forts débits s'impose ; les systèmes de filtres tambours semblent être une solution efficace pour optimiser cette phase préparatoire aux cultures.

Les expériences réalisées jusqu'à présent, utilisaient toujours un inoculum initial d'*Haslea ostrearia* produit en conditions contrôlées au laboratoire en exigeant un grand volume de culture monospécifique. Pour le professionnel, le transfert à l'échelle supérieure posait le problème, à la fois de la culture initiale et du transport dans des conditions non stressantes pour l'algue. Aussi convenait-il de mettre à disposition auprès des professionnels un conditionnement des cellules algales conciliant à la fois qualité physiologique et quantité sous un faible volume. Dans cette intention, une étude complémentaire a été réalisée au laboratoire. En utilisant la propriété naturelle d'immobilisation d'*Haslea ostrearia* (formation des thalles mucilagineux décrits précédemment), il a été possible d'immobiliser les cellules à fortes

concentrations de  $10^5$  jusqu'à  $10^7$  cell.mL<sup>-1</sup> dans un gel d'alginate de calcium sous forme de billes (Lebeau *et al.*, 1998) :

Dans ces billes, la croissance des populations algales immobilisées a été suivie dans deux conditions de culture : à 4 °C sous faible éclairciment  $2.10^{15}$  quanta.cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> et une photopériode de 14/10 (L/D) ; et à 15 °C sous éclairciment de  $3.10^{16}$  quanta.cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> et photopériode de 14/10 (L/D) (Fig. 85).

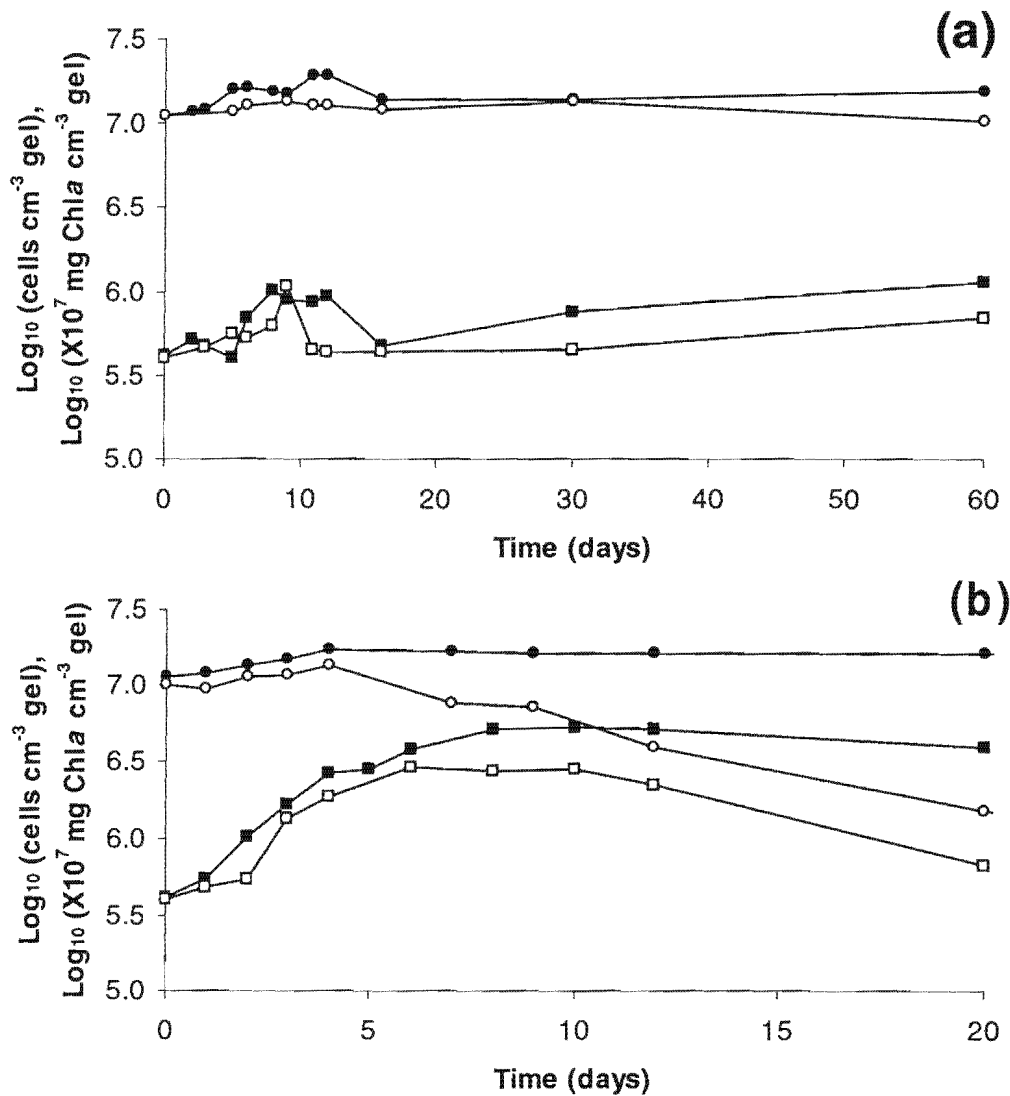


Figure 82 : Croissance d'*Haslea ostrearia* immobilisée en billes d'alginate exprimée en densité numérique moyenne (symbole plein) et en chlorophylle *a* (symbole vide). Concentration initiale d'immobilisation : (■, □),  $5.10^5$  cell.mL<sup>-1</sup> de gel; (●, ○),  $10^7$  cell.mL<sup>-1</sup> de gel. (a) : stockage à 4 °C; (b) : Croissance à 15 °C. (d'après Lebeau *et al.*, 1998)

A 15°C (Fig. 82b), la croissance des algues se poursuit, sans temps de latence ce qui révèle l'absence de toxicité due à la matrice d'alginate mais également l'absence de stress pour les cellules.

A 4°C sous faible éclaircissement (Fig. 82a), les processus physiologiques sont réduits (diminution du taux de division et maintien de la concentration intracellulaire en chlorophylle *a*). Dans ces conditions la viabilité des cellules est maintenue durant 2 mois après remise en suspension dans un milieu riche en nutriments (ES de Provasoli (1968) modifié au 1/3 par Robert (1983)).

Conséquence de la croissance de l'algue dans les billes, le relargage des cellules en dehors de la matrice d'alginate est un phénomène bien connu (Vilchez *et al.*, 1997). L'étude de ce relargage (Fig. 83) montre que la température est le facteur forçant du processus.

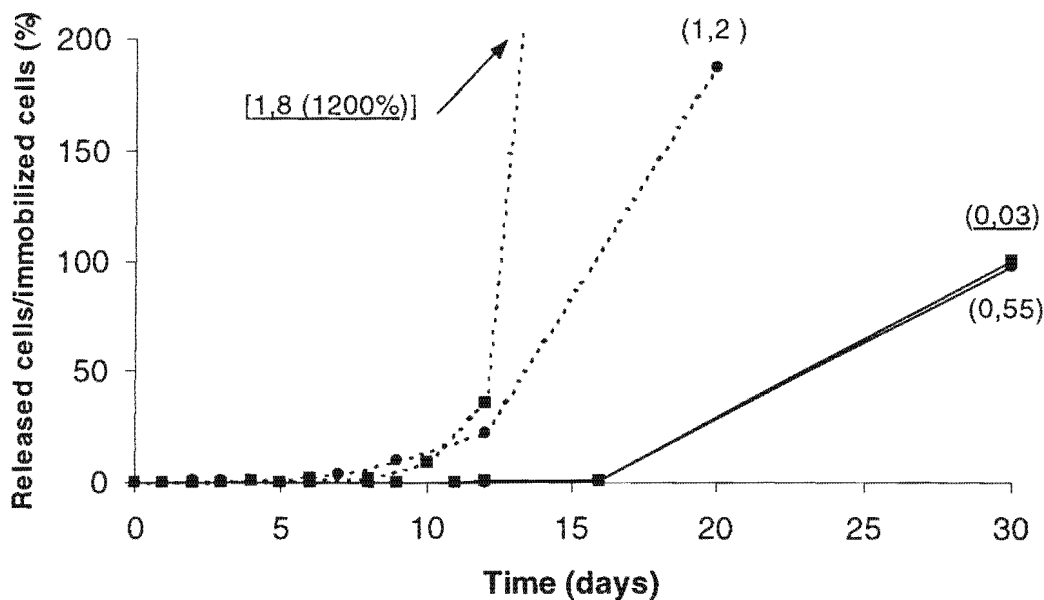


Figure 83 : Relargage des cellules dans le milieu de culture exprimé par le rapport cellules relarguées/cellules immobilisées (%) en fonction des deux concentrations initiales étudiées : ■,  $5 \cdot 10^5$  cell.mL<sup>-1</sup> de gel ; ●,  $10^7$  cell.mL<sup>-1</sup> de gel ; — , stockage à 4 °C ; ---- , croissance à 15 °C. Les concentrations en cellules relarguées ( $\times 10^6$  cell.mL<sup>-1</sup> de milieu) sont indiquées entre parenthèses et soulignées pour la concentration initiale de  $5 \cdot 10^5$  cell.mL<sup>-1</sup> (d'après Lebeau *et al.*, 1998).

Cependant, il ne se produit dans le milieu qu'après 10 à 15 jours. A 4°C, la quantité de cellule relarguées augmente, mais la valeur la plus forte est observée à 15°C avec la concentration initiale de cellules immobilisées de  $5 \cdot 10^5$  cell.mL<sup>-1</sup> de gel ( $1,8 \cdot 10^6$  cells.mL<sup>-1</sup>, soit un relargage de 1200 % dû à l'intense multiplication des cellules dans les billes). Ce relargage naturel pourrait être une propriété utilisée lors de l'utilisation des billes comme système d'ensemencement. Cependant il peut être accéléré par la déstructuration du maillage de la matrice d'alginate qui emprisonne les cellules, par passage dans un tampon citrate 10 mM ; toutefois ce passage engendre un stress physiologique qui peut affecter la viabilité cellulaire.



Des tests effectués avec le milieu NPSi ont montré, que ce milieu permettait une meilleure reprise des activités cellulaires après la phase de stockage et le passage sur le tampon citrate par rapport au milieu ES 1/3 plus riche, en réduisant le stress physiologique pour les algues. La déstructuration naturelle du gel d'alginate est actuellement étudiée de façon plus approfondie, car elle éviterait le passage sur le tampon, simplifiant ainsi la préparation de l'inoculum tout en limitant le stress physiologique des algues.

A titre d'exemple, il suffirait seulement de 100 mL de billes d'alginate pour inoculer, un bac de 500 litres d'eau de mer enrichie avec le milieu NPSi, à la concentration initiale de 2000 cell.mL<sup>-1</sup>. Il serait donc réaliste de fournir un inoculum d'*Haslea ostrearia* sous forme de billes aux professionnels. Des travaux ultérieurs devront vérifier *in situ* si cette technique de conservation et de conditionnement de ce type d'inoculum, offre les avantages déjà constatés *in vitro*.

## 4 CONCLUSIONS

En période d'abondance naturelle de l'algue dans les claires, l'objectif fixé d'obtenir la production en masse d'*Haslea ostrearia* en conditions naturelles à partir d'eau de mer filtrée et enrichie avec le milieu NPSi a été atteint.

Il a été démontré l'importance des conditions climatiques sur le succès de l'obtention du verdissement en milieu ouvert, notamment le rôle déjà évoqué par Robert (1977) des amplitudes thermiques.

L'enrichissement de l'eau de mer filtrée avec le milieu NPSi, a permis l'obtention de la production en masse d'un peuplement dominé par la diatomée *Haslea ostrearia* à près de 66 %. Le milieu NPSi a montré tout son intérêt car, après 10 jours plus de 90 % des nutrilites (nitrates, silicates et phosphates) ont été utilisés. Ceci est à souligner, puisque pour l'élaboration de ce milieu, l'utilisation raisonnée d'engrais utilisés dans ce type de production, ne semble pas préjudiciable à l'environnement côtier en cas d'utilisation des cultures de 10 m<sup>3</sup> dans l'induction du phénomène dans les claires. Sur ce point d'ailleurs il est intéressant de rappeler que les expériences en microcosmes ont montré que le verdissement était observé en l'absence de milieu enrichissant avec une concentration initiale d'*Haslea ostrearia* suffisante supérieure à 1000 cellules.mL<sup>-1</sup>. Dans ce cas, *Haslea ostrearia* domine le peuplement avec

plus de 85 % des effectifs totaux de diatomées. On peut donc penser que l'inoculation des claires avec les cultures de 10 m<sup>3</sup> ne nécessite pas leur fertilisation avec le milieu enrichissant NPSi, puisqu'il a été mis en évidence également que des espèces opportunistes et compétitrices d'*Haslea ostrearia* bénéficient également de l'ajout de nutriments, et qu'alors *Haslea* ne représente plus que 30 à 40 % des effectifs totaux de diatomées.

La filtration de l'eau de mer utilisée pour les cultures, au moyen de filtres spéciaux de type filtres-tambour, ainsi que la protection des bassins de production de 10 m<sup>3</sup> par une serre sur rail par exemple constitueraient des améliorations importantes du processus de production qui pourraient conduire à son optimisation.

Le transfert à la profession ne pourra s'effectuer qu'après l'optimisation de la technique de production, et nécessitera obligatoirement la fourniture d'un inoculum monospécifique. L'immobilisation en bille d'alginate ainsi que la possible conservation à 4°C dans un milieu riche en nutriment sous faible éclaircissement de cet inoculum semble être le moyen le plus approprié.

## CONCLUSION GÉNÉRALE

Le verdissement des huîtres constitue une spécificité de l'ostréiculture française. Ce phénomène qui peut se produire dans les claires lors de l'affinage, ultime étape de l'élevage de l'huître, est recherché de façon empirique par les ostréiculteurs. Cependant cette prolifération intense de la diatomée *Haslea ostrearia* est soumise à une variabilité importante de la qualité du milieu et surtout des conditions climatiques, c'est pourquoi le verdissement des bassins revêt un caractère aléatoire et imprévisible. L'induction et le contrôle d'un phénomène naturel nécessite la connaissance de tous les facteurs intervenants dans le processus.

### **Bilan des résultats et état des connaissances nouvelles**

La première phase de l'étude, bien que descriptive, a permis de révéler le rôle des nutriments majeurs pouvant limiter la production primaire dans la partie sud du bassin de Marennes-Oléron. Il s'avère que le phosphore peut être considéré comme le premier facteur limitant de la production primaire dans l'estuaire de la Seudre durant une bonne partie de l'année, de la fin de l'automne à la fin du printemps. En période estivale, lorsque les apports terrigènes par la Charente et la Seudre sont les plus faibles, l'azote et le silicium sont alors les éléments limitants de la production phytoplanctonique. Au début de l'automne, lorsque les stocks d'azote et de phosphore se reconstituent, le silicium se retrouve comme principal facteur nutritionnel gouvernant la production primaire dans l'estuaire de la Seudre. C'est durant cette courte période que les claires ostréicoles sont remises en eau pour l'affinage des huîtres. On a pu montrer que les caractéristiques des eaux des claires bordant l'estuaire de la Seudre étaient proches de celles des eaux de ce fleuve côtier. Il ressort donc que les silicates peuvent être limitants à une période où la diatomée *Haslea ostrearia* peut connaître ses phases de multiplication intense qui conduisent au verdissement des bassins.

La phase d'étude *in vitro* a confirmé pour cette diatomée, par l'emploi de tests de fertilité couplés à des enrichissements différentiels, les qualités nutritionnelles des eaux de claires de l'estuaire de la Seudre. Malgré la bonne richesse nutritive de ces eaux, les tests biologiques utilisant la seule espèce *Haslea ostrearia* ont permis, par le jeu de combinaisons de nutriments

majeurs (nitrates, phosphates et silicates), de préciser le caractère limitant de chacun sur la croissance de l'algue-test en conditions de lumière et de température non limitantes. Il est acquis que les silicates sont le premier facteur limitant de la croissance d'*Haslea ostrearia* pour les eaux des claires du marais expérimental. Les phosphates et les nitrates se partagent le second rang dans la limitation de la production de cette microalgue.

La comparaison des potentialités nutritionnelles des eaux d'une claire, contenant des huîtres à la densité d'affinage de 20 individus.m<sup>-2</sup> imposée par la norme AFNOR, avec celles d'une claire dépourvue de mollusques, a montré de façon significative que la densité d'élevage était insuffisante pour modifier la fertilité potentielle, bien qu'il soit établi que les substances dissoutes et organiques excrétées par les bivalves aient un rôle certain dans l'économie des proliférations phytoplanctoniques.

Cette première étape de l'analyse a précisé ainsi les besoins nutritionnels de la diatomée *Haslea ostrearia*. L'estimation des rapports moyens d'assimilations en nitrates, phosphates et silicates a permis la confection d'un mélange nutritif, basé sur ces trois éléments dans un rapport N:Si:P de 15.2:15.5:1, qui permet l'augmentation significative de la productivité des eaux provenant des claires.

Dans un deuxième temps, des expérimentations en microcosmes *in situ* ont montré l'intérêt de ce milieu enrichissant dans l'obtention du verdissement des enceintes en fonction de différentes conditions expérimentales. Ainsi il a été montré, après enrichissement des eaux avec le milieu élaboré, qu'une population d'*Haslea ostrearia* à la concentration initiale de 2000 cell.mL<sup>-1</sup> permet l'obtention d'un verdissement intense. Malgré la présence d'espèces opportunistes comme *Nitzschia closterium*, *Haslea ostrearia* reste l'espèce majoritaire dans des proportions comparables à celles de verdissements naturels observés dans les claires (entre 40 et 60 % des effectifs totaux de diatomées). L'étude de ces verdissements provoqués en enceintes immergées montre l'intérêt et les limites de l'utilisation d'un milieu fertilisant. La difficulté majeure reste donc de voir se développer une espèce opportuniste et de ne pas obtenir le verdissement. Cependant il est démontré que l'inoculum initial, sans présence d'enrichissement, se multiplie dans des proportions moindres en terme de cellules produites, mais avec une dominance d'*Haslea ostrearia* nettement plus élevée (plus de 80 % des effectifs totaux). La fertilisation des claires ne semble donc pas une solution appropriée pour l'obtention du verdissement, il apparaît donc comme obligatoire d'inoculer ces bassins de plusieurs centaines de m<sup>3</sup> avec une population initiale suffisamment importante.

La production en masse de la diatomée s'est donc imposée tout naturellement, avec cependant des contraintes importantes liées aux cultures en extérieur (limitation des contaminations par d'autres espèces par filtration sur cartouche, protection des pré-cultures sous une serre et aspect saisonnier du phénomène). L'obligation de se servir comme milieu nutritif de base, d'eau de mer décantée, filtrée puis enrichie avec le milieu NPSi élaboré, constitue l'originalité de la méthode. Partant du tube à essai au laboratoire, puis par repiquages successifs jusqu'à des volumes de 25 L, il a été démontré en période automnale, qu'il était possible d'obtenir sous serre horticole des pré-cultures de 500 L en 6 jours. De ces pré-cultures, le transfert à un volume de 10 m<sup>3</sup> est maîtrisé en milieu extérieur. Cependant, il est démontré que sans une filtration efficace de l'eau de mer, l'obtention de cultures monospécifiques est délicate.

### **Transfert et perspectives**

Le transfert à la profession ne pourra s'effectuer qu'après l'optimisation de la technique de production, et nécessitera obligatoirement la fourniture d'un inoculum monospécifique en quantité suffisante. Le procédé doit continuer à être validé à partir de cultures de cellules libres ou immobilisées. En effet, l'immobilisation en billes d'alginate, technique développée récemment, peut être une solution adaptée au conditionnement de l'inoculum. La conservation possible des algues immobilisées à 4°C dans un milieu riche en nutriments et sous faible éclairage, semble être le moyen le plus approprié pour le transport et la commercialisation éventuelle d'un inoculum monospécifique, qui permettrait aux professionnels de réaliser ensuite eux-mêmes leurs propres pré-cultures sous serre en volume de 500 litres. Dans ce but, il faudra s'attacher à étudier le relargage naturel des cellules depuis la matrice d'alginate vers le milieu de culture, notamment en recherchant un compromis entre la constitution du gel (% d'alginate utilisé) et la quantité critique de cellules immobilisées permettant la déstructuration de ce dernier.

En outre, sur un plan plus "rustique", une première expérience, réalisée en octobre 1998, utilisant non pas des cultures monospécifiques mais un peuplement naturel de claire dominé par *Haslea ostrearia*, a laissé entrevoir des applications potentielles mais dans des conditions plus aléatoires : ce peuplement a été récolté, lors d'un verdissement naturel d'une claire du marais expérimental, par remise en suspension du compartiment benthique et accumulation importante de ce dernier sous l'action du vent en "crème flottante" dans un coin du bassin ; ainsi concentré, il a pu être transporté puis inoculé et mis en culture en barils de 25 litres et en bacs de 500 L sous serre, sur une eau de mer enrichie seulement avec le milieu NPSi. Après 8

jours, le verdissement des enceintes de culture a été obtenu, *Haslea ostrearia* restant l'espèce majoritaire dans le peuplement, malgré l'augmentation significative également des effectifs des Nitzschiées. Cette méthode pourrait être développée directement par les professionnels, par simple utilisation du mélange nutritif élaboré, pour induire le verdissement de bacs extérieurs, puis inoculation de ces derniers dans des claires dites "blanches", c'est à dire ne présentant pas phénomène de "verdeur". Cependant le risque d'échec est plus élevé par rapport à l'utilisation d'un inoculum monospécifique.

Sur un plan plus fondamental, les résultats obtenus posent une nouvelle fois la question des relations entre "Huître et *Haslea ostrearia*", principalement sous deux aspects :

□ l'aspect biodégradation du mucus enrobant fèces et pseudofèces, les substances dissoutes issues de ce processus étant visiblement des facteurs d'activation de la biosynthèse de marennine par *H. ostrearia*. Ces substances devront être recherchées et identifiées au niveau de leur composition biochimique, car une première expérience menée *in vitro* a pu montrer pour *Haslea ostrearia* et d'autres diatomées des claires, leur importance dans la stimulation de la croissance de ces espèces (Cognie et Barillé, 1999).

□ une autre voie de recherche semble présenter un intérêt tout particulier : *Haslea ostrearia*, comme la plupart des diatomées, synthétise des mucopolysaccharides, qui jouent un rôle dans la formation de biofilms. Cette immobilisation naturelle des cellules sur le fond sédimentaire des claires ostréicoles présente un intérêt certain dans l'entretien du phénomène de verdissement. Elle limite la remise en suspension des algues benthiques et donc la prédation par les huîtres, mais aussi elle structure l'organisation du biofilm et donc la répartition des différentes espèces au sein de ce dernier, par des mécanismes de compétition interspécifique qu'il conviendra d'étudier (Rincé, comm. pers.).

Les différents volets appliqués du travail, ne doivent pas faire oublier l'aspect fondamental des recherches effectuées, qui ont contribué largement à une meilleure connaissance de l'écophysiologie de la diatomée *Haslea ostrearia*, notamment en précisant ses besoins nutritionnels *in situ* et son comportement dans les bassins.

*Ce travail a donné lieu à la publication de quatre articles ainsi qu'à la participation à différentes manifestations scientifiques.*

## **Publications et Actes de colloques**

Robert J.-M., Moreau C. & **Turpin V.**, 1995. Intérêts des tests biologiques pour l'étude de la qualité nutritionnelle d'eaux vouées à l'aquiculture. La qualité de l'eau - Nantes 1995. Amiard-Triquet C. & Hamon T. (eds), *Actes du colloque pluridisciplinaire, "La qualité de l'eau"* : 93-97.

**Turpin V.** & Robert J.-M., 1998. Fertilité potentielle des eaux des claires ostréicoles de la région de Marennes-Oléron pour *Haslea ostrearia* Simonsen, en période d'affinage des huîtres. Marais maritimes et Aquaculture - Préservation et exploitation des zones humides littorales - Rochefort 96. Buchet V. & Hussenot J., IFREMER (ed.), *Actes de Colloques 19* : 97-106.

**Turpin V.**, ROBERT J.-M. & Gouletquer P., 1999. Limiting nutrients of oyster pond seawaters in the Marennes-Oléron region for *Haslea ostrearia* (Simonsen) : applications to the mass production of the diatom in mesocosm experiments. *Aquat. Living Res.*, **12** (5) : (sous presse)

Lebeau T., Moan R., **Turpin V.** & Robert J.-M., 1998. Alginate-entrapped *Haslea ostrearia* as inoculum for the greening of oysters. *Biotechnol. Tech.*, **12** (11) : 847-850.

## **Posters**

**Turpin V.** & Robert J.-M., 1996. Fertilité potentielle des eaux des claires ostréicoles de la région de Marennes-Oléron : Mise en évidence des facteurs nutritionnels limitant la production de la diatomée *Haslea ostrearia* (Simonsen) en période d'affinage des huîtres en conditions naturelles de gestion hydraulique d'un marais expérimental. *First Interceltic Colloquium on Hydrology and Water Management. Rennes 8-11 Juillet 1996.*

## **Rapports de contrats**

**Turpin V.** & Hamon R., 1995. Etude des paramètres limitants de la production d'*Haslea ostrearia* (Simonsen) en conditions naturelles de gestion hydraulique d'un marais expérimental. Contrat N° 94 5 526014 entre l'Université de Nantes et IFREMER. 15 p + Annexes.

**Turpin V.**, 1996. Etude des paramètres limitants de la production d'*Haslea ostrearia* (Simonsen) en conditions naturelles de gestion hydraulique d'un marais expérimental. Suivi de deux claires ostréicoles - Mise en évidence d'un impact des huîtres sur la fertilité potentielle de l'eau des claires (1ère partie). Contrat N° 95 5 546035 entre l'Université de Nantes et IFREMER. 15 p

**Turpin V.**, 1997. Etude des paramètres limitants de la production d'*Haslea ostrearia* (Simonsen) en conditions naturelles de gestion hydraulique d'un marais expérimental. Suivi de deux claires ostréicoles - Mise en évidence d'un impact des huîtres sur la fertilité potentielle de l'eau des claires (2ème partie). Contrat N° 95 5 546035 entre l'Université de Nantes et IFREMER. 23 p

**Turpin V.**, 1997. Les microalgues des claires ostréicoles de la région de Marennes-Oléron : Diversité spécifique, biomasse, répartition spatio-temporelle. Dynamique des populations microalgales jusqu'au verdissement des bassins en conditions naturelles et provoquées : événements physico-chimiques et biologiques présidant à la prolifération d'*Haslea ostrearia* (Simonsen). Rapport d'activité 96-97 – prolongation de bourse IFREMER. 33 pp.

### **Vulgarisation**

**Turpin V.**, ROBERT J.-M. & Goulletquer P., 1999. Essais de production de masse de la diatomée *Haslea ostrearia* en système ouvert sur eau de mer enrichie (Bassin de Marennes-Oléron). *Poster présenté aux Journées Portes-Ouvertes IFREMER - Salon national ostréicole La Tremblade, 23-26 Avril 1999.*



**TABLE DES ILLUSTRATIONS**

**FIGURES**

Figure 1 : Dérase le long d'un aboteau de la claire. Cette dépression creusée par l'ostréiculteur détermine le niveau d'eau de la claire après la "boyance" ..... 18

Figure 2 : Ecluse ou Varaigne. Principalement pour la saliculture, elle fût conservée dans le marais endigué et permet une gestion hydraulique plus souple que la gestion dite "en coupe libre". Elle permet de plus de fermer le marais pour son assèchement lors de l'entretien annuel du champ de claires. .... 18

Figure 3 : Système de bondon en PVC qui sert à l'alimentation de la claire à partir du ruisson. Une hausse peut être rajoutée pour obtenir des niveaux d'eau plus importants. L'ostréiculteur peut ainsi gérer le niveau d'eau comme bon lui semble. .... 18

Figure 4 : Schéma descriptif (A) et observation en microscopie (B) photonique d'une cellule d'*Haslea ostrearia* en vue de face. La photographie C est identique au cliché B, mais un traitement informatique de l'image permet de localiser en vert-émeraude la marennine, et en bleu-turquoise les chloroplastes (Clichés V. TURPIN). ..... 21

Figure 5 : Modélisation des différentes phases du verdissement au sein d'une claire ostréicole conduisant à la libération de la marennine par les cellules. Les flèches oranges symbolisent le passage des cellules d'*Haslea ostrearia* aux différentes étapes décrites précédemment. Les flèches vertes symbolisent à chaque étape la libération de marennine soluble dans l'eau de mer. (D'après Robert, 1983). .... 25

Figure 6 : Carte de la région de Marennes-Oléron. Localisation des claires expérimentales. .... 26

Figure 7 : Cartographie schématique des courants de marée en fin de flot. D'après Dechambenoy *et al.* (1977). 27

Figure 8 : Schéma du Marais expérimental de la Station IFREMER de La Tremblade. Les flèches oranges représentent l'entrée et la sortie de l'eau lors de la boyance. Les flèches rouges représentent la circulation de l'eau au niveau des bondons. .... 29

Figure 9 : Localisation de la station 2 d'échantillonnage du réseau IFREMER de suivi des paramètres hydrobiologiques. .... 34

Figure 10 : Evolution de la salinité en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre). .... 37

Figure 11 : Evolution de la concentration en azote ammoniacal dissous en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre). .... 39

Figure 12 : Evolution de la concentration en azote nitreux en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre). .... 40

Figure 13 : Evolution de la concentration en azote nitrique en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).....	41
Figure 14 : Evolution de la concentration en azote total en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).....	43
Figure 15 : Evolution du pourcentage de nitrates par rapport à l'azote total en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).....	43
Figure 16 : Evolution de la concentration en silicium dissous en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).....	44
Figure 17 : Evolution de la concentration en phosphore minéral dissous en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).....	46
Figure 18 : Evolution du rapport $\Sigma N:P$ en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).....	47
Figure 19 : Evolution du rapport $\Sigma N:Si$ en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).....	48
Figure 20 : Evolution du rapport $Si:P$ en surface et en profondeur entre septembre 1994 et juin 1998 à la station 2 (Embouchure de La Seudre).....	49
Figure 21 : Evolution saisonnière des concentrations moyennes dans l'estuaire de la Seudre et dans la claire n°5 du marais expérimental pour l'azote ammoniacal, azote nitreux et l'azote nitrique dissous.....	54
Figure 22 : Evolution saisonnière des concentrations moyennes dans l'estuaire de la Seudre et dans la claire n°5 du marais expérimental pour l'azote total, les phosphates et les silicates dissous.....	55
Figure 23 : Biomasse maximale obtenue en densité numérique après culture d' <i>Haslea ostrearia</i> sur les eaux provenant de la claire sans huître.....	63
Figure 24 : Densité numérique maximale obtenue après culture d' <i>Haslea ostrearia</i> sur les eaux provenant d'une claire sans huître et d'une claire où la densité en huîtres est de 20 au m <sup>2</sup> .....	70
Figure 25 : Concentrations en sels nutritifs (ammonium, nitrites, nitrates, azote minéral total dissous, silicates dissous, et phosphore minéral dissous) des eaux testées dans la claire sans huître et la claire contenant 20 huîtres au m <sup>2</sup> . Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance.....	72
Figure 26 : Corrélations entre biomasses produites <i>in vitro</i> (densité numérique en cellule, chlorophylle <i>a</i> ) et les concentrations initiales en azote total, silicates et phosphates présentent dans les eaux des deux claires.....	74
Figure 28 : Résultats des tests de comparaisons multiples (Tests de Student Newman Keuls) après l'ANOVA sur les rangs à un facteur avec pour variables les biomasses maximales produites. Les points représentent les	

différences significatives ( $p < 0.05$ ) observées entre les différents enrichissements. Le même diagramme est observé pour la variable "taux de division".	85
Figure 29 : Biomasses maximales moyennes produites par l'algue test <i>Haslea ostrearia</i> en présence des différents mélanges enrichissants. Les barres représentent les intervalles de confiance à 95 %. : claire avec 20 huîtres au m <sup>2</sup> ; : claire sans huîtres.	88
Figure 30 : Résultats des tests de comparaisons multiples (Tests SNK) entre les différents enrichissements sur les biomasses produites. Les points représentent les différences significatives ( $p < 0.05$ ). Les mêmes diagrammes sont observés avec, comme variable quantitative, le taux de division.	92
Figure 31 : Moyennes des densités numériques (A et B), des concentrations en chlorophylle <i>a</i> (C et D) et des teneurs intracellulaires en chlorophylle <i>a</i> (E et F) observées pour l'algue test <i>Haslea ostrearia</i> en présence des différents mélanges enrichissants. Les barres représentent les intervalles de confiance à 95 %. : Eaux nouvellement entrées dans les claires ; Eaux ayant séjourné dans les claires.	97
Figure 32 : Microcosme en PVC transparent immergé dans une claire.	106
Figure 33 : Protocole de prélèvement des échantillons d'eau provenant des microcosmes.	107
Figure 34 : Protocole de prélèvement des échantillons de microphytobenthos dans les pièges à sédiment.	108
Figure 35 : Concentrations en sels nutritifs (ammonium, nitrites, nitrates, azote minéral total dissous, silicates dissous, et phosphore minéral dissous) dans les huit microcosmes en début ■ et en fin ■ d'expérience. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%. En abscisses figure la concentration initiale en cellules d' <i>Haslea ostrearia</i> (cell.mL <sup>-1</sup> ) en présence ou non du milieu enrichissant NPSi.	109
Figure 36 : Evolution de la concentration en chlorophylle <i>a</i> + phéopigments (Pigments totaux) dans les microcosmes. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%.	111
Figure 37 : Evolution de la densité numérique en cellules d' <i>Haslea ostrearia</i> dans les microcosmes.	112
Figure 38 : Evolution de la concentration en marennine externe dans les microcosmes. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%.	113
Figure 39 : Densités numériques en cellules observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en début d'expérience.	115
Figure 40 : Fréquences relatives cumulées observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en début d'expérience.	116
Figure 41 : Densités numériques en cellules observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en fin d'expérience.	118

Figure 42 : Fréquences relatives cumulées observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en fin d'expérience.....	118
Figure 43 : Concentrations en sels nutritifs (ammonium, nitrites, nitrates, azote minéral total dissous, silicates dissous, et phosphore minéral dissous) dans les huit microcosmes en début ■ et en fin ■ d'expérience. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%.....	122
Figure 44 : Evolution de la concentration en chlorophylle <i>a</i> + phéopigments (Pigments totaux) dans les microcosmes. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95% .....	124
Figure 45 : Evolution de la densité numérique en cellules d' <i>Haslea ostrearia</i> dans les microcosmes. ....	125
Figure 46 : Evolution de la concentration en marennine externe dans les microcosmes. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%.....	126
Figure 47 : Densités numériques en cellules observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en début d'expérience. ....	127
Figure 48 : Fréquences relatives cumulées observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en début d'expérience. ....	128
Figure 49 : Densités numériques en cellules observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en fin d'expérience.....	129
Figure 50 : Fréquences relatives cumulées observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en fin d'expérience.....	130
Figure 51 : Observations des 8 microcosmes en fin d'expérimentation. <b>M1</b> : Témoin ; <b>M2</b> : Huîtres ; <b>M3</b> : Haslea ; <b>M4</b> : Haslea + Huîtres ; <b>M5</b> : Haslea + NPSi ; <b>M6</b> : Haslea + Huîtres + NPSi; <b>M7</b> : NPSi ; <b>M8</b> : NPSi + Huîtres. ....	131
Figure 52 : Concentrations en sels nutritifs (ammonium, nitrites, nitrates, azote minéral total dissous, silicates dissous, et phosphore minéral dissous) dans les huit microcosmes en début ■ et en fin ■ d'expérience. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%.....	134
Figure 53 : Evolution de la concentration en chlorophylle <i>a</i> + phéopigments (Pigments totaux) dans les microcosmes. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95% .....	136
Figure 54 : Evolution de la densité numérique en cellules d' <i>Haslea ostrearia</i> dans les microcosmes. ....	137
Figure 55 : Evolution de la concentration en marennine externe dans les microcosmes. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%.....	138

Figure 56 : Densités numériques en cellules observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en début d'expérience. ....	139
Figure 57 : Fréquences relatives cumulées observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en début d'expérience. ....	140
Figure 58 : Densités numériques en cellules observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en fin d'expérience. ....	141
Figure 59 : Fréquences relatives cumulées observées dans les 8 microcosmes pour les espèces représentant plus de 5 % des effectifs totaux en fin d'expérience. ....	142
Figure 60 : Filtre à sable fabriqué pour la filtration de l'eau de mer alimentant les liners (d'après V. TURPIN). Ce filtre comporte plusieurs compartiments (sable grossier, sable fin, mousse, et laine d'aquariophilie). D'un diamètre de 25 cm et d'une longueur de 2 m pour un poids de 150 kilos, il permet d'éliminer une part importante de la matière organique et des particules en suspension présentes dans l'eau de la réserve. Il supporte un débit moyen de $5 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ , en effet la pompe de $30 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ peut être bridée par dérivation par ouverture de vannes (Fig. 62). ....	150
Figure 62 : Dispositif expérimental utilisé lors de la préparation des cultures en volume de $10 \text{ m}^3$ dans les liners. ....	153
Figure 63 : Evolution journalière (mesure à 14 h) des températures de l'eau et de l'air, des salinités et de la teneur en oxygène dans les bacs et les liners. Les barres représentent l'intervalle de confiance à 95 %. ....	154
Figure 64 : Evolutions des teneurs moyennes en chlorophylle <i>a</i> et pigments caroténoïdes en bacs de 500 litres sous serre et en liners de $10 \text{ m}^3$ . Les barres représentent l'intervalle de confiance à 95 %. ....	155
Figure 65 : Evolution de la densité numérique moyenne en <i>Haslea ostrearia</i> et de la concentration moyenne en marennine externe excrétée en bacs de 500 litres sous serre et en liners de $10 \text{ m}^3$ . Les barres représentent l'intervalle de confiance à 95 %. ....	156
Figure 66 : Evolution journalière des concentrations en sels nutritifs (ammonium, nitrites, nitrates, azote minéral total dissous, silicates dissous, et phosphore minéral dissous) dans les cultures en bacs de 500 L et en liners de $10 \text{ m}^3$ . Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%. Les enrichissements ont lieu le 8 et le 12 juin. ....	157
Figure 67 : Evolution journalière des densités numériques moyennes en cellules pour les espèces de diatomées inventoriées dans les cultures en bacs de 500 L et en liners de $10 \text{ m}^3$ . ....	161
Figure 68 : Evolution journalière des fréquences relatives cumulées par espèces dans les cultures en bacs de 500 L (du 8 au 12 juin) et en liners de $10 \text{ m}^3$ (du 13 au 17 juin). ....	162
Figure 69 : Evolution journalière des températures de l'eau dans les bacs sous serre et les liners. ....	165

Figure 70 : Evolution journalière de la salinité de l'eau dans les liners. ....	165
Figure 71 : Evolution journalière des teneurs en oxygène dissous (en mg.L <sup>-1</sup> et en % de saturation) dans les liners. ....	166
Figure 72 : Evolution journalière du pH dans les liners. ....	167
Figure 73 : Evolution journalière de la turbidité dans les liners. ....	168
Figure 74 : Evolutions des teneurs moyennes en chlorophylle <i>a</i> et pigments caroténoïdes en bacs de 500 litres sous serre et en liners de 10 m <sup>3</sup> . Les barres représentent l'intervalle de confiance à 95 %. ....	169
Figure 75 : Evolutions de la densité numérique moyenne en <i>Haslea ostrearia</i> et de la concentration moyenne en marennine externe excrétée en bacs de 500 litres sous serre et en liners de 10 m <sup>3</sup> . Les barres représentent l'intervalle de confiance à 95 %. ....	170
Figure 76 : Evolution journalière des densités numériques moyennes en cellules pour les espèces de diatomées inventoriées dans les cultures en bacs de 500 L et en liners de 10 m <sup>3</sup> . ....	171
Figure 77 : Evolution journalière des fréquences relatives cumulées par espèces dans les cultures en bacs de 500 L (du 7 au 14 octobre) et en liners de 10 m <sup>3</sup> (du 14 au 24 juin). ....	171
Figure 78 : Evolution de la culture sous serre jusqu'au stade de verdissement. ....	172
Figure 79 : Evolution de la culture en bassin de 10 m <sup>3</sup> jusqu'au stade de verdissement. <b>A</b> : Remontée en surface de crème flottante après 4 jours de culture (Thalles microphytiques). <b>B</b> : Vue d'ensemble des bassins de 10 m <sup>3</sup> après 8 jours de culture. <b>C</b> : détails montrant la coloration observée dans les bassins, due à la marennine excrétée après 10 jours de culture. ....	173
Figure 80 : Evolution journalière des concentrations en sels nutritifs (ammonium, nitrites, nitrates, azote minéral total dissous, silicates dissous, et phosphore minéral dissous) dans les cultures en bacs de 500 L et en liners de 10 m <sup>3</sup> . Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95%. Les enrichissements ont lieu les 7 et 14 Octobre. ....	175
Figure 81 : Evolution de la coloration des huîtres immergées à la densité de 3 individus au m <sup>2</sup> dans un bassin test de 10 m <sup>3</sup> en fonction de l'évolution de la densité numérique en cellule d' <i>Haslea ostrearia</i> et de la concentration de marennine excrétée. ....	177
Figure 82 : Croissance d' <i>Haslea ostrearia</i> immobilisée en billes d'alginate exprimée en densité numérique moyenne (symbole plein) et en chlorophylle <i>a</i> (symbole vide). Concentration initiale d'immobilisation : (■, □), 5.10 <sup>5</sup> cell.mL <sup>-1</sup> de gel; (●, ○), 10 <sup>7</sup> cell.mL <sup>-1</sup> de gel. (a) : stockage à 4 °C; (b) : Croissance à 15 °C. (d'après Lebeau <i>et al.</i> , 1998).....	180

Figure 83 : Relargage des cellules dans le milieu de culture exprimé par le rapport cellules relarguées/cellules immobilisées (%) en fonction des deux concentrations initiales étudiées : ■,  $5.10^5$  cell.mL<sup>-1</sup> de gel ; ●,  $10^7$  cell.mL<sup>-1</sup> de gel. ; — , stockage à 4 °C ; ---- , croissance à 15 °C. Les concentrations en cellules relarguées ( $10^6$  cell.mL<sup>-1</sup> de milieu) sont indiquées entre parenthèses et souligné pour la concentration initiale de  $5.10^5$  cell.mL<sup>-1</sup> (d'après Lebeau *et al.*, 1998)..... 181

## TABLEAUX

Tableau 1 : Dates et coefficients de marées lors des prélèvements à la station 2 du Bassin de Marennes-Oléron et lors des campagnes d'expérimentations sur le champ de claires expérimentales (Les prélèvements dans les claires ont lieu lors de l'alimentation en eau).....	36
Tableau 2 : Variations saisonnières de la salinité en surface et en profondeur à la station 2. Valeur Minimale et Maximale et valeur moyenne $\pm$ intervalle de confiance 95 % .....	38
Tableau 3 : Concentrations saisonnières moyennes en azote ammoniacal dissous en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne $\pm$ intervalle de confiance 95 %). .....	39
Tableau 4 : Concentrations saisonnières moyennes en azote nitreux dissous en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne $\pm$ intervalle de confiance 95 %). .....	40
Tableau 5 : Concentrations saisonnières moyennes en azote nitrique dissous en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne $\pm$ intervalle de confiance 95 %). .....	42
Tableau 6 : Concentrations saisonnières moyennes en Silicates dissous en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne $\pm$ intervalle de confiance 95 %). .....	45
Tableau 7 : Concentrations saisonnières moyennes en Phosphore minéral dissous en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne $\pm$ intervalle de confiance 95 %). .....	46
Tableau 8 : Evolution saisonnière du rapport moyen $\Sigma N:P$ en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne $\pm$ intervalle de confiance 95 %). .....	47
Tableau 9 : Evolution saisonnière du rapport moyen $\Sigma N:Si$ en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne $\pm$ intervalle de confiance 95 %). .....	49
Tableau 10 : Evolution saisonnière du rapport moyen $Si:P$ en surface et en profondeur à la station 2 (valeur moyenne $\pm$ intervalle de confiance 95 %). .....	50
Tableau 11 : Matrice de corrélation des variables hydrologiques étudiées entre septembre 1994 et juin 1998 dans l'estuaire de la Seudre. Ne figurent dans le tableau que les corrélations significatives ( $p < 0.05$ ). Les cases en gris foncé soulignent la relation entre chaque paramètre en surface et en profondeur, celles en gris clair soulignent une forte corrélation entre les différents paramètres. ....	51

Tableau 12 : Corrélations entre les concentrations et les ratios en nutriments observés dans la Seudre et dans la claire n°5 lors de l'alimentation du marais. (R = coefficient de corrélation ; p = probabilité ; ns : non significative ; * : p<0.05 ; ** : p<0.01 ; *** : p<0.001).....	53
Tableau 13 : Dates de prélèvements d'eau dans la ou les claires du marais expérimental et situation du prélèvement dans le cycle d'alimentation en eaux.....	61
Tableau 14 : Densités numériques maximales moyennes et taux de divisions moyens obtenus après culture des algues. Les prélèvements sont regroupés par tests : en grisé pour l'eau venant d'entrer dans la claire, en blanc la même eau après son séjour dans la claire.....	63
Tableau 15 : Résultats des ANOVA à deux facteurs pour la comparaison des paramètres biomasse maximale produite et le taux de division entre année et entre les eaux entrantes dans la claire et celles y ayant séjourné... 64	64
Tableau 16 : Biométrie et origine du clone utilisé pour les expériences de fertilité sur les eaux des claires ostréicoles du marais expérimental de la Tremblade. ....	67
Tableau 17 : Densités numériques maximales, chlorophylle <i>a</i> produite, teneurs intracellulaires en chlorophylle <i>a</i> et taux de divisions obtenus après culture des algues. Les prélèvements sont regroupés par bioessais : en grisé pour l'eau venant d'entrer dans les claires, en blanc la même eau après son séjour dans les claires. ....	69
Tableau 18 : Résultats des ANOVA à deux facteurs pour la comparaison des paramètres densité numérique en cellule produite, taux de division, chlorophylle <i>a</i> produite et chlorophylle <i>a</i> intracellulaire entre la claire avec huîtres et la claire sans huître et entre les eaux entrantes dans les claires et celles y ayant séjourné. ....	69
Tableau 19 : Résultats des corrélations entre chlorophylle <i>a</i> produite et quantité de nutriments initialement présente dans les eaux étudiées. Equations des droites de régression avec leurs coefficients de détermination R <sup>2</sup> , la valeur du test F, et la significativité de la relation. Comparaison des pentes et des ordonnées à l'origine des droites de régression pour les deux claires : t <sub>obs</sub> : valeur du test t observée, ns : test non significatif (p>0.05). ...	73
Tableau 20 : Biomasses produites par μmoles d'azote (ΣN), de silicates (SiO <sub>3</sub> ) et de phosphore (PO <sub>4</sub> ) consommées par <i>Haslea ostrearia</i> après culture sur les eaux provenant des deux claires ostréicoles en début de séjour et en fin de séjour des eaux. Les biomasses sont exprimées en 10 <sup>4</sup> cellules et en μg de chl <i>a</i> produites. La probabilité p correspond au résultat d'un test-t comparant les indices de fertilité entre les deux claires. ns : test non significatif. ....	75
Tableau 21 : Synthèse des valeurs observées pour les différents indices de fertilité estimées pour l'algue test <i>Haslea ostrearia</i> . EE : eau nouvellement entrée ; ES : après séjour de cette eau dans les claires. ....	76
Tableau 22 : Rapports des rendements moyens de production de biomasse (quantité de biomasse produite par μmoles de nutriments consommés : P, phosphates ; N, azote minéral ; Si, silicates) pour les deux claires étudiées en fonction de l'origine de l'eau testée.....	77



Tableau 23 : Nature et concentrations des éléments et composés utilisés pour la confection des enrichissements lors des expérimentations en 1994-95 et 1996. ....	80
Figure 27 : Biomasses maximales moyennes produites par l'algue test <i>Haslea ostrearia</i> en présence des différents mélanges enrichissants. Les graphiques sont regroupés par dates de prélèvements, comme suit, ❶ : novembre 94; ❷ : décembre 94; ❸ : janvier 95; ❹ : mars 96; ❺ : avril 96. Les barres représentent l'intervalle de confiance à 95 %. Les métaux Fe et Mn sont toujours ajoutés chélatés avec de l'EDTA. ....	82
Tableau 24 : Biomasses maximales moyennes produites et taux de division moyens observés lors des expérimentations de 1994-1995 pour les différents enrichissements utilisés. Les moyennes sont encadrées par l'intervalle de confiance à 95 %. Les colonnes blanches correspondent aux eaux nouvellement entrées dans la claire alors que les colonnes grisées correspondent aux eaux ayant séjourné dans la claire. Les métaux Fe et Mn sont toujours ajoutés chélatés avec de l'EDTA. ....	83
Tableau 25 : Résultats des tests de Kruskal-Wallis permettant de comparer les densités numériques en cellules et les taux de divisions journaliers des différents mélanges enrichissants. H : variable auxiliaire observée, p : probabilité. ....	84
Tableau 26 : Facteur multiplicatif exprimant la biomasse finale (densité numérique) obtenue par rapport à la biomasse initialement présente au début des bioessais (2000 cellules.mL <sup>-1</sup> ) et classement par ordre d'importance des facteurs limitants par comparaison au témoin non enrichi.....	86
Tableau 27 : Biomasses maximales moyennes produites observées lors des tests d'enrichissements différentiels avec les eaux provenant des deux claires ostréicoles étudiées. Les moyennes sont encadrées par l'intervalle de confiance à 95 %. Les colonnes blanches correspondent aux eaux nouvellement entrées dans les claires alors que les colonnes grisées correspondent aux eaux ayant séjourné dans les claires. ....	89
Tableau 28 : Taux de divisions journaliers moyens observés lors des tests d'enrichissements différentiels avec les eaux provenant des deux claires ostréicoles étudiées. Les moyennes sont encadrées par l'intervalle de confiance à 95 %. Les colonnes blanches correspondent aux eaux nouvellement entrées dans les claires alors que les colonnes grisées correspondent aux eaux ayant séjourné dans les claires.....	90
Tableau 29 : Résultats des tests de Kruskal-Wallis permettant de comparer les densités numériques en cellules des différents mélanges enrichissants. H : variable auxiliaire observée, p : probabilité. ....	92
Tableau 30 : Résultats des ANOVA à trois et deux facteurs pour la comparaison des densités numériques produites au sein de chaque groupe d'enrichissements.....	93
Tableau 31 : Biomasses moyennes observées avec les eaux prélevées dans les deux claires en début d'alimentation en eau des claires et en fin de séjour de cette eau dans les claires. Les moyennes sont encadrées par les intervalles de confiance à 95 %. ....	94

---

Tableau 32 : Facteur multiplicatif exprimant la biomasse finale (densité numérique) obtenue par rapport à la biomasse initialement présente (2000 cellules.mL <sup>-1</sup> ) au début des bioessais et classement par ordre d'importance des facteurs limitants par comparaison au témoin non enrichi.....	95
Tableau 33 : Proportions en pourcentage de la réserve initiale consommée, rapports d'assimilation et rendements de production en 10 <sup>4</sup> cellules produites par $\mu$ mole d'azote (N), de silicates (Si) et de phosphates (P) consommée. L'eau utilisée provient d'une claire sans huître nouvellement entrée et enrichie avec le mélange N+P+Si. n. e. : valeur non estimable. Les valeurs moyennes sont encadrées par l'intervalle de confiance à 95%.....	103
Tableau 34 : Description du protocole de préparation de la solution mère d'enrichissement. L'ajout des produits dans 10 litres d'eau douce se fait suivant un ordre précis. Les quantités sont données pour 10 litres de solution mère permettant d'enrichir 1 m <sup>3</sup> d'eau de mer. ....	105
Tableau 35 : Plan d'expérience décrivant chaque microcosme immergé dans la claire. ....	108
Tableau 36 : Estimation en fin d'expérimentation de la consommation en nutriment en pourcentage de la réserve initiale dans chaque microcosme (valeur moyenne $\pm$ intervalle de confiance à 95 %). ....	111
Tableau 37 : Inventaire, densités numériques en cellules (cellules.mL <sup>-1</sup> ) des différentes espèces de diatomées observées dans les microcosmes et indices écologiques en début d'expérience.....	115
Tableau 38 : Inventaire, densités numériques en cellules (cellules.mL <sup>-1</sup> ) des différentes espèces de diatomées observées dans les microcosmes et indices écologiques en fin d'expérience après 10 jours.....	117
Tableau 39 : Plan d'expérience décrivant chaque microcosme immergé dans la claire. ....	121
Tableau 40 : Estimation en fin d'expérimentation de la consommation en nutriment en pourcentage de la réserve initiale dans chaque microcosme (valeur moyenne $\pm$ intervalle de confiance à 95 %). ....	123
Tableau 41 : Inventaire, densités numériques en cellules (cellules.mL <sup>-1</sup> ) des différentes espèces de diatomées observées dans les microcosmes et indices écologiques en début d'expérience.....	127
Tableau 42 : Inventaire, densités numériques en cellules (cellules.mL <sup>-1</sup> ) des différentes espèces de diatomées observées dans les microcosmes et indices écologiques en fin d'expérience après 10 jours.....	129
Tableau 43 : Comparaisons deux à deux entre microcosmes des teneurs en pigments totaux pour observer l'effet des huîtres sur la production phytoplanctonique globale (compartiment benthique + compartiment planctonique) en terme de pigments totaux produits.....	132
Tableau 44 : Estimation en fin d'expérimentation de la consommation en nutriment en pourcentage de la réserve initiale dans chaque microcosme (valeur moyenne $\pm$ intervalle de confiance à 95 %). ....	136
Tableau 45 : Inventaire, densités numériques en cellules (cellules.mL <sup>-1</sup> ) des différentes espèces de diatomées observées dans les microcosmes et indices écologiques en début d'expérience.....	139

Tableau 46 : Inventaire, densités numériques en cellules (cellules.mL <sup>-1</sup> ) des différentes espèces de diatomées observées dans les microcosmes et indices écologiques en fin d'expérience après 10 jours.....	141
Tableau 47 : Comparaisons deux à deux entre microcosmes des teneurs en pigments totaux pour observer l'effet des huîtres sur la production phytoplanctonique globale (compartiment benthique + compartiment planctonique) en terme de pigments totaux produits.....	143
Tableau 48 : Quantités en éléments chimiques utilisées pour la préparation de 100 litres d'enrichissement permettant d'enrichir 10 m <sup>3</sup> d'eau de mer.....	150
Tableau 49 : Consommations moyennes en pourcentage de la réserve initiale pour l'azote total, les silicates et les phosphates. Les valeurs sont encadrées par l'intervalle de confiance. ....	159
Tableau 50 : Matrice de corrélation de Pearson entre les différents paramètres étudiés en juin dans les bacs et les liners. Les étoiles représentent les corrélations significatives. (* : p<0.05 ; ** : p<0.01; *** : p<0.001). Temp : température de l'eau, O <sub>2</sub> : teneur en oxygène dissous, Sal : salinité, Chl <i>a</i> : teneur en chlorophylle <i>a</i> , Carot : teneur en pigments caroténoïdes, Haslea : densité numérique en cellule d' <i>Haslea ostrearia</i> , Mar ext : Marennine externe.....	160
Tableau 51 : Consommations moyennes en pourcentage de la réserve initiale pour l'azote total, les silicates et les phosphates. Les valeurs sont encadrées par l'intervalle de confiance. ....	176

## BIBLIOGRAPHIE

- Afnor, 1985. Norme française huîtres creuses, dénominations et classification, NF V 45-056, 5 p.
- Asmus H & Asmus R M, 1991. Mussel beds : limiting or promoting phytoplankton ? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **148** : 215-232.
- Bacher C, 1989. Etude de la capacité trophique du bassin de Marennes-Oléron : Utilisation d'un modèle couplé de transport particulaire et de croissance de l'huître *Crassostrea gigas*. *Thèse Univ. Bretagne Occidentale*, 146 p.
- Bachrach E, 1935. Le bleuissement des diatomées et le verdissement des huîtres. *Rev. Trav. Off. Pêches marit.*, **8** (1) : 112-113.
- Bachrach E, Jullien A, Lucciardi N & Richard J G, 1936. Actions réciproques des diatomées des huîtres et du milieu. *Rev. Trav. Off. Pêches marit.*, **9** : 437-447.
- Banse K, 1976. Rates of growth, respiration and photosynthesis of unicellular algae as related to cell size – A review. *J. Phycol.*, **12**, 135-140.
- Barbosa F A R, 1989. Evidence from algal bioassays of seasonal nutrient limitations in two English lakes, *Hydrobiologia*, **188/189** : 211-228.
- Barillé A-L, 1996. Contribution à l'étude des potentialités conchylicoles du Pertuis Breton. *Thèse Univ. Aix-Marseille II*. 312 p.
- Baud J P & Bacher C, 1990. Use of saline ground water for intensive rearing of *Ruditapes philippinarum* juveniles in a nursery system. *Aquaculture*, **88** : 157-178.
- Baud J P, 1988. Utilisation des eaux salées souterraines de la Baie de Bourgneuf pour le prégrossissement intensif des mollusques filtreurs. Mémoire présenté pour obtenir le grade de cadre de Recherche IFREMER, 127p.
- Baud J P, Champion E & Haure J, 1998. Faisabilité d'un pilote d'élevage polyvalent intensif en marais. Marais Maritimes et Aquaculture. *Actes de colloque Ifremer*, 19, Brest. 264-265.
- Bayne B L, Widdows J & Thompson R J, 1976. Physiology. In *Marine Mussels, their ecology and physiology*. B L Bayne ed., Cambridge University Press, Cambridge, 224-227.
- Bendschneider K & Robinson R I, 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. *J. Mar. Res.* **11** : 87-96.
- Berland, B. R., Bonin, D. J., Maestrini, S. Y. & Pointier, J.-P., 1973. Etude de la fertilité des eaux marines au moyens de tests biologiques effectués avec des cultures d'algues. II Limitation nutritionnelle et variabilité de l'inoculum. *Ins. Rev. Gesamten Hydrobiol.*, **58** (2) : 203-220.

- Bienfait H F & Van der Mark F, 1983. Phytoferritin and its role in Iron Metabolism. In: D A Robb and W S Pierpoint (eds.), *Metals and Micronutrients : Uptake and utilization by Plants*. Academic Press Inc., London.
- Bishop J K B, Conte M, Wiebe P H, Roman M R & Langdon C, 1986. Particulate matter production and consumption in deep mixed layers : observations in a warm-core ring. *Deep-Sea Res.* **33** : 1813-1841.
- Blachier P, Cartron B, Guilbaud Y, Huet T, Machefaux L, Oudot G, Prenveille C & Zanette Y, (1998). Affinage de l'huître creuse (*Crassostrea gigas*) en marais maritime : bilan de quatre années d'expérimentation au Creaa. *Marais Maritimes et Aquaculture. Actes de colloque Ifremer*, 19, Brest. 79-88.
- Bonin D J & Maestrini S Y, 1981. Importance of organic nutrients for phytoplankton growth in natural environments : implications for algal species composition. *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.* **210** : 279-291.
- Bornet E, 1895. Le verdissement des huîtres. *Bull. Soc. Nat. d'agr. de France*, **55**.
- Bory de Saint-Vincent, 1823. Article Matière verte. *Dict. Sc. nat. de Levrault*, **29**.
- Brand L E , Sunda W G & Guillard R R L, 1983. Limitation of marine phytoplankton reproductive rates by zinc, manganese and iron. *Limnol. Oceanogr.*, **28** : 1182-1198.
- Brossard N & Hussenot J, 1997. Maîtrise de la culture de masse de la diatomée *Skeletonema costatum* en système ouvert et continu, sur milieu en "eau de mer enrichie". Rapports internes de la Direction des Ressources Vivantes de l'Ifremer. DRV/RA/RST/97-04. CREMA-L'Houmeau. 37 p.
- Brzezinski M A, 1985. The Si:C:N ratio of marine diatoms : interspecific variability and the effect of some environmental variables. *J. Phycol.*, **21** : 347-357.
- Carazzi D, 1897. Contributio all'istologia e alla fisiologia dei Lamellibranchi. Ricerche sulle ostriche verdi. *Mitt. Zool. Station zu Neapel*, **12**.
- Charpy-Roubaud C J, Charpy L J & Maestrini S Y, 1982. Fertilité des eaux côtières nord-patagoniques : facteurs limitant la production du phytoplancton et potentialités d'exploitation mytilicole. *Oceanol. Acta*, **5**, (2) : 179-188.
- Cloern J E, 1984. Temporal dynamics and ecological significance of salinity stratification in an estuary (South San Francisco Bay, USA). *Oceanol. Acta.*, **7** : 139-141.
- Cognie, B. & Barillé L, 1999. Does bivalves mucus favour the growth of their main food source, microalgae ? *Oceanol. Acta*, **22** : 441-450.
- Daget, J., 1976. Les modèles mathématiques en écologie. Masson Ed., Paris. 172 p.
- Dame R F, Wolaver T G & Libes SM, 1985. The summer uptake and release of nitrogen by an intertidal oyster reef. *Neth. J. Sea Res.*, **19** : 265-268.
- Dame R F, 1993. The role of bivalve filter-feeder material fluxes in estuarine ecosystems. In : Dame R (ed.), *Bivalve filters feeders in estuarine and coastal ecosystem processes*. NATO ASI series, **G 33** : 245-269.
- Darley W M, 1969. Silicon requirements for growth and macromolecular synthesis in synchronized cultures of diatom, *Navicula pelliculosa* (Brebisson) Hilse and *Cylindrotheca fusiformis* Reiman and Lewin. *Thesis*, University of California, San Diego, 148 pp.
- Dauchez S, Legendre L, Fortier L & Levasseur M, 1996. Nitrate uptake by size fractionated phytoplankton on the Scotian Shelf (Northwest Atlantic) spatial and temporal variability. *J. Plankton Res.*, **18** (4), 557-595.
- De Baar H J W, Buma A G J, Jacques G, Nolting R F & Treger P J, 1989. Trace metals – Iron and manganese effects on phytoplankton growth. *Berichte zur Polarforschung*. **65** : 34-43.

- Dechambenoy C, Pontier L, Sirou F & Vouvé J, 1977. Apport de la thermographie infrarouge aéroportée à la connaissance de la dynamique superficielle des estuaires (système Charente-Seudre-anse de l'aiguillon). *C. R. Acad. Sc. Paris. Série D*, **284** (14) : 1269-1272.
- Delmas R & Treguer P, 1983. Evolution saisonnière des nutriments dans un écosystème eutrophe d'Europe occidentale (rade de Brest). Interactions marines et terrestres. *Oceanol. Acta*. **6** : 345-356.
- Doering P H, Oviatt C A & Kelly J R, 1986. The effect of the filter feeding clam *Mercenaria mercenaria* on carbon cycling in experimental mesocosms. *J. Mar. Res.*, **44** : 839-861.
- Doering P H, Oviatt C A, Beatty L L, Banzon V F, Rice E, Kelly S P, Sullivan B K & Frithsen J B, 1989. Structure and function in a model coastal ecosystem : silicon, the benthos and eutrophication. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **52**, 287-299.
- Doering P H, 1989. On the contribution of the benthos to pelagic production. *J. Mar. Res.*, **47** : 371-383.
- Feuillet M & Gouleau D, 1977. Action des épandages de craie sur les vases des claires et des parcs ostréicoles. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.*, **41** (4) : 417-436.
- Gaillon B, 1820. Des huîtres vertes et des causes de cette coloration. *J. de Phys.*, **91**.
- Gouleau D & Feuillet-Girard M, 1998. Assecs des bassins aquacoles : rôle respectif des processus biogéochimiques et sédimentologiques dans le cycle de l'azote. *Actes de colloque Ifremer*, 19, Brest. 187-194.
- Grasshoff, K & Johannsen, H, 1972. A new sensitive and direct method for the automatic determination of ammonia in sea water. *J. Cons., Cons. Int. Explor. Mer*, **34** : 516-521
- Grelon M, 1978. L'affinage en claires. In Saintonge, Pays des huîtres vertes, Rupella (ed), La Rochelle, 141-174.
- Guillard R R L & Kilham P, 1977. The ecology of marine phytoplanktonic diatoms, In D Werner (ed) *The biology of diatoms*. Blackwell, Oxford. 372-469.
- Hammen C S, Miller H F & Geer W H, 1966. Nitrogen excretion of *Crassostrea virginica*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **17** : 1199-1200.
- Harvey H W, 1955. The chemistry and fertility of sea waters. *Cambridge Univ. Press.*, 224 p.
- Hecky R E & Kilham P, 1988. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments. A review of recent evidence of the effect of enrichment. *Limnol. Oceanogr.* **33** (4-2) : 796-822.
- Héral M, Razet D, Deslous-Paoli J-M, Berthome J-P & Garnier J, 1983. Caractéristiques saisonnières de l'hydrologie du complexe estuarien de Marennes-Oléron (France). *Rev. Trav. Inst. Pêch. Marit.*, **46** (2) : 97-119.
- Héral M, Razet D, Deslous-Paoli, J-M, Manaud F, Truquet I & Garnier J, 1984. Hydrobiologie du Bassin de Marennes-Oléron – Résultats du réseau national d'observation : 1977 à 1981. *Ann. Soc. Sci. Nat. Charente-Maritime*, **7** (2) : 259-277.
- Howarth R W, 1988. Nutrient limitation of net primary production in marine ecosystems. *Ann. Rev. Ecol.* **19** : 89-110.
- Huntsman S A & Sunda W G, 1980. The role of trace metals in regulating phytoplankton growth with emphasis on Fe, Mn and Cu. In : I Morris (ed.). *The physiological Ecology of Phytoplankton*. Blackwell Scientific Publ., Oxford.

- Hussenot J & Brossard N, 1995. Premiers essais automnaux de culture de masse (24 m<sup>3</sup>) de diatomées en eaux de mer fertilisée en N, P, Si. IFREMER Rapports Internes de la Direction des Ressources Vivantes, RI-DRV 95.02, L'Houmeau, 48p.
- Hussenot J & Gautier D, 1994. Techniques d'utilisation de la silice pour la production de masse des algues diatomées. Synthèse des travaux 1989-1993. Rapports internes de la direction des Ressources Vivantes de l'Ifremer, RI-DRV-9403. RA/CREMA L'Houmeau. 26 p.
- Hussenot J, Brossard N & Lefevre S, 1998. Mise au point d'un enrichissement de l'eau de mer pour produire en masse des microalgues-diatomées comme fourrage pour les claires à huîtres. Marais Maritimes et Aquaculture. *Actes de colloque Ifremer*, 19, Brest. 107-115.
- Jacques G, 1979. Phytoplancton. Biomasse, production, numération et culture. Editions du Castillet, Perpignan, 107 p.
- Kamatani A, 1982. Dissolution rates of silica from diatom decomposing at various temperatures. *Mar. Biol.* **68** : 91-96.
- Klapwijk S P, Bolier G & van der Does J., 1989. The application of algal growth potential tests (AGP) to the canals and lakes of western Netherlands, *Hydrobiologia*, **188/189** : 189-199.
- Klingebiel A, de Resseguier A & Tesson M, 1971. Contribution à l'étude de la circulation des masses d'eau dans le Bassin de Marennes-Oléron. *C. R. Acad. Sc. Paris. Série D*, **273** : 1783-1786.
- Koroleff, K, 1969. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. ICES,C.M. 1969/C :9 *Hydr. Comm.*
- Kuenzler E J & Perras J P, 1965. Phosphatases of marine algae. *Biol. Bull.*, **128** : 271-284.
- Lankester R, 1886. On green oysters. *Quart. J. of micr. Sci.*, London.
- Lankester R, 1893. Phagocytes of green Oysters. *Nature*, **48**.
- Le Moine O, Geairon P, Razet D, Soletchnik P, Faury N, Taillade S & Gouletquer P, 1998. Optimisation de l'affinage en claires traditionnelles par complémentation de phytoplancton "fourrage". Marais Maritimes et Aquaculture. *Actes de colloque Ifremer*, 19, Brest. 116-123.
- Lebeau T., Moan R., Turpin V. & Robert J.-M., 1998. Alginate-entrapped *Haslea ostrearia* as inoculum for the greening of oysters. *Biotechnol. Tech.*, **12** (11) : 847-850.
- Liebig J, 1840. Die Chemie in ihrer Anwendung auf Agrikultur und Physiologie. Taylor and Walton (4<sup>th</sup> ed., 1847), London.
- Lombardi A T & Wangersky P J, 1991. Influence of phosphorus and silicon on lipid class production by the marine diatom *Chaetoceros gracilis* grown in turbidostat cage cultures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **77**, 39-47.
- Lorenzen, C J, 1967. Determination of chlorophyll and pheophytin : spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.*, **12** : 343-346.
- Lukavský J, 1992. The evaluation of algal growth potential (AGP) and toxicity of water by miniaturized growth bioassay. *Wat. Res.*, **26** (10) : 1409-1413.
- Maestrini S Y & Robert J-M, 1979. Fertilité et teneurs en sels nutritifs des eaux marines. *J. Rech. Oceanogr.*, **4** : 17-25.
- Maestrini S Y, Robert J-M & Truquet I, 1982. Simultaneous uptake of ammonium and nitrate by oyster-pond algae. *Mar. Biol. Letters*, **3** : 143-153.

- Maestrini, S Y & Robert, J-M, 1981. Rendements d'utilisation des sels nutritifs et variations de l'état des cellules de trois diatomées des claires à huîtres de Vendée. *Oceanol. Acta*, **4** (1) : 13-21.
- Maestrini, S Y, Berland, B R, Bréret, M, Béchemin, C, Poletti, R, Rinaldi, A, 1997. Nutrients limiting the algal growth potential in the Po River Plume and an adjacent area, Northwest Adriatic Sea : Enrichment bioassays with the test algae *Nitzschia closterium* and *Thalassiosira pseudonana*. *Estuaries* **20**(2), 416-429.
- Maestrini, S Y, Bonin D J & Droop M R, 1984. Phytoplankton as indicators of sea water quality : bioassay approach and protocols. In : *Algae as ecological indicators*. Shubert L E (ed.) : 71-132.
- Margalef, R., 1958. Information theory in ecology. *Gen. Syst.*, **3** : 36-71.
- Marion A, 1985. Phytoplancton de la Baie de Bourgneuf. Fertilité des eaux néritiques. *Thèse Univ. Nantes*. 155 p.
- Martin J H, Gordon R M & Fitzwater S E, 1991. The case of iron ?. *Limnol. Oceanogr.*, **36** : 1793-1802.
- Martin J-M, Meybeck M, Salvadori F & Thomas A, 1976. Pollution chimique des estuaires : état actuel des connaissances. *Rapport scient. techn. CNEXO*, n ° 22, 286 p.
- Mitchell P H & Barney R L, 1915. The occurrence in Virginia of green-gilled-oysters similar to those of Marennes. *Bull. U. S. B. F.*, **35** : 135-149.
- Moreau C, Pales Espinosa E & Robert J-M, 1998. L'azote ammoniacal total : facteur forçant de la fertilité potentielle des eaux souterraines salées de la baie de Bourgneuf pour les microalgues. *Actes de colloque Ifremer*, 19, Brest. 127-140.
- Moreau C, Robert J-M & Rouillard I, 1994. Effect of iron and manganese on the growth of the Diatom *Haslea ostrearia* in batch culture. *Cah. Biol. Mar.*, **35** : 269-279.
- Moreau J, 1970. Contribution aux recherches écologiques sur les claires à huîtres du bassin de Marennes-Oléron. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **34** : 380-462.
- Morris A W & Riley J P, 1963. *Anal. Chim. Acta*, **29** : 272.
- Mullin, J B & Riley, J P, 1955. Spectrophotometric determination of silicate-silicon in natural waters with special reference to sea water. *Anal. Chim. Acta*, **12** : 162-170.
- Murphy, J & Riley J P, 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, **27** : 31-36.
- Neuville D & Daste P, 1972. Production de pigment bleu par la diatomée *Navicula ostrearia* (Gaillon) Bory maintenue en culture uni-algale sur un milieu synthétique carencé en azote nitrique. *C. R. Acad. Sc.*, Paris, **274** : 2030-2033.
- Neuville D, Daste P & Geneves L, 1975. Recherches sur l'organisation ultrastructurale et la formation du frustule de la diatomée *Navicula ostrearia* (Gaillon) Bory. *Rev. Gen. Bot.*, **82** : 391-417.
- Neuville D & Daste P, 1978. Recherches sur le déterminisme de la production de marennine par la diatomée *Navicula ostrearia* (Gaillon) Bory en culture *in vitro*. *Rev. Gén. Bot.*, **85**, 255-303.
- Neuville D, 1978. Les diatomées des claires ostréicoles. Contribution des techniques de culture *in vitro* à l'étude de leur biologie. *Thèse Doct. Etat, Univ. Poitiers*, 279 p.
- Nishijima T & Hata Y, 1991. Growth potential of red tide phytoplanktoners in coastal seawater by AGP assay. *Mar. Poll. Bull.*, **23** : 175-179.
- Oviatt C, Doering P, Nowicki B, Reed L, Cole J & Frithsen J, 1995. An ecosystem level experiment on nutrient limitation in temperate coastal marine environments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **116** : 171-179.



- Papy L, 1941. La côte atlantique de la Loire à la Gironde. Tome 1 : Les aspects naturels. Introduction à une étude de géographie humaine. Tome 2 : L'homme et la mer. Etude de géographie humaine. Delmas (ed.). Bordeaux, 302 p et 528 p.
- Pilson M E Q & Nixon S W, 1980. Marine microcosms in ecological research. In : *Microcosms in Ecological Research*. Griesy J P (ed.), DOE Symposium series, Augusta, GA, Nov. 8-10, 1978, CONF 781101, NTIS : 724-741.
- Prou J & Héral M, 1998. Le marais salé des Pertuis charentais : à la recherche d'un développement durable. Marais Maritimes et Aquaculture. *Actes de colloque Ifremer*, 19, Brest. 33-39.
- Provasoli L, 1968. Media and prospect for the cultivation of marine algae. In : *Cultures and Collection of algae*. Watanabe & Hattori (eds), Proc. USA, Japan Conf. Hakone, sept. 1966. *Jap. Soc. Plant. Physiol.* : 63-75.
- Puysegur M, 1880. Notice sur la cause du verdissement des huîtres. *Rev. Mar. et col.*, **64**.
- Raillard O, 1991. Etudes des interactions entre les processus physiques intervenant dans la production de l'huître *Crassostrea gigas* (Thunberg) du Bassin de Marennes-Oléron : essai de modélisation. *Thèse Univ. Paris VI*, 216 p.
- Ranson G, 1927. L'absorption des matières organiques dissoutes par la surface extérieure du corps chez les animaux aquatiques. *Ann. Institut Oceanogr.*, **4** : 49-175.
- Ranson G, 1943. La vie des Huîtres. Gallimard, Paris.
- Ranson G. 1952. Les huîtres. Biologie. Culture. Bibliographie. *Bull. Inst. Oceanogr.*, **49**.
- Ravail B, 1986. Fertilité des eaux et peuplements en microphytes des claires vouées à l'élevage de la palourde *Ruditapes philippinarum* (Adams) Reeve : Impact des mollusques sur l'économie des bassins. *Thèse Doct., Univ. Nantes*, 165 p.
- Ravail-Légrand B, 1993. Incidence du débit de la Charente sur la capacité biotique du bassin ostréicole de Marennes-Oléron. *Thèse Univ. Nantes*, 171 p.
- Redfield A C, 1934. On the proportions of organic derivatives in sea water and their relation to the composition of plankton. In : James Johnston Memorial Volume. *Liverpool, Univ. Press* : 176-192.
- Reed T, 1998. Mass production of marine microalgae for oyster grow out. *J. Shellfish. Res.*, **17** (1), p 336.
- Rincé Y, 1978. Intervention des diatomées dans l'écologie des claires ostréicoles de la Baie de Bourgneuf. *Thèse Doct. Etat, Univ. Nantes*, 203 p.
- Rincé Y, Lebeau T & Robert J-M. Artificial cell-immobilization : a model simulating immobilization in natural environment ? *J. Appl. Phycol.*, (sous presse).
- Robert J-M & Hallet J-N, 1981. Absorption spectrum *in vivo* of the blue pigment 'Marennine' of the pennate diatom *Navicula ostrearia* Bory. *J. Exp. Bot.*, **32** (127) 341-345.
- Robert J-M & Prat D, 1973. Ultrastructure du frustule de la diatomée *Navicula ostrearia* Bory révélée par le microscope électronique à balayage. *C. R. Acad. Sci., Paris*. **277** : 1981-1983.
- Robert J-M & Turpin V, 1993. La marennine synthétisée par la Diatomée *Haslea ostrearia* Simonsen est-elle toxique pour l'algue ? Premiers résultats. *Cryptogamie-Algologie*. p 89.
- Robert J-M, 1973. La diatomée *Navicula ostrearia* Bory en baie de Bourgneuf. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **37** : 363-368.

- Robert J-M, Pagès J & Prat D, 1975. Applications de la biométrie cytologique à la définition des stades de développement du *Navicula ostrearia* Bory : incidences de l'évolution pigmentaire sur le verdissement des claires à huîtres. *Physiol. Vég.*, **13** (2) : 225-241.
- Robert J-M, 1975. Le verdissement des huîtres dans les claires de la baie de Bourgneuf. *Bull. Soc. Sci. Nat. Ouest Fr.*, **73** : 123-129.
- Robert J-M, 1977. Premières données écologiques sur les claires à huîtres de la Baie de Bourgneuf. *Bull. Ecol.*, **8** : 57-62.
- Robert J-M, 1978. Variations biométriques de l'algue *Navicula ostrearia* Bory (Diatomée pennée) en culture. *Bull. Soc. Phycol. Fr.*, **23** : 38-44.
- Robert J-M, 1983. Fertilité des eaux des claires ostréicoles et verdissement. Utilisation de l'azote par les diatomées dominantes. *Thèse Doct. Etat, Univ. Nantes*, 281 p + Annexes.
- Robert J-M, 1984 a. Greening of Oyster-ponds by the diatom *Haslea ostrearia* Bory : a model of the phenomenon. 8<sup>th</sup> Diatom-Symposium 1984. 517-523.
- Robert J-M, 1984 b. Les échanges de matériels dissous et particulaires à l'interface eaux néritiques – marais littoraux atlantiques : exemple des claires ostréicoles. *Oceanis*, **10** (4) : 385-400.
- Robert J-M, 1990. An example of development for aquaculture in France : the shellfish-culture polders in the bay of Bourgneuf. *Bull. Ecol.*, **21** (3) : 39-43.
- Robert J-M, Maestrini S Y, Héral M, Rince Y, Dreno J-P & Beker L, 1982. Enrichissement expérimental d'eaux printanières de claires à huîtres en Baie de Bourgneuf (Vendée, France) : Augmentation de la biomasse et utilisation des éléments nutritifs par les algues unicellulaires. *Hydrobiologia*, **96** : 53-63.
- Robert J-M, Maestrini, S Y, Bagès, M, Dréno, J-P & Gonzalez-Rodriguez, E, 1979. Estimation, au moyen de tests biologiques de la fertilité pour trois diatomées, des eaux des claires à huîtres de Vendée, *Oceanol. Acta*, **2** (3) : 275-286.
- Robert J-M, Maestrini, S Y, Héral M & Zanette Y, 1982. Production des micro-algues des claires ostréicoles en relation avec l'azote organique dissous excrété par les huîtres. *Oceanol. Acta*, Actes symposium international sur les lagunes côtières, UNESCO, Bordeaux 8-14 septembre 1981 : 389-395.
- Rouillard I, 1996. Optimisation de la production en masse d'*Haslea ostrearia* (Simonsen) sur une eau souterraine salée : importance de la souche et des conditions de cultures ; comparaison avec *Skeletonema costatum* (Grev) Cleve. *Thèse Doct., Univ. Nantes*, 220 p.
- Round F E, Crawford R M & Mann D G, 1990. Diatoms. Biology & Morphology of the genera. *Cambridge University Press*. 747 p.
- Sauvageau C, 1907. Le verdissement des huîtres par la diatomée bleue. *Trav. Soc. Sci. Stat. Zool. Arcachon*, **10**.
- Schöllhorn E & Granéli E, 1996. Influence of different nitrogen to silica ratios and artificial mixing on the structure of a summer phytoplankton community from the Swedish West coast (Gullmar Fjord). *J. Sea Res.*, **35** : 159-167.
- Schreiber E, 1927. Die Reinkultur von marinen Phytoplankton und deren Bedewtung für die Erforschung der Produktionsfähigkeit der Meerwassers. *Wiss. Meersunter*, **16** : 1-34
- Shinn M B, 1941. *Ind. Engng. Chem.*, analytic. Edit., **13** : 33
- Simonsen R, 1974. The diatom plankton of the Indian Ocean expedition of R/V *Meteor* 1964-5. "Meteor". *Forsch. – Ergebnisse Reihe D*, **19** : 1-107.

- Soletchnik P., Faury N., Razet D. & Gouletquer P., 1998. Hydrobiology of the Marennes-Oléron Bay. Seasonal indices and analysis of trends from 1978 to 1995. *Hydrobiologia*, **386**, 131-146.
- Solorzano L., 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenol-hypochlorite method. *Limnol. Oceanogr.*, **14** : 799-801.
- Sommer U., 1983. Nutrient competition between phytoplankton species in multispecies chemostat experiments. *Arch. Hydrobiol.*, **96** (4), 399-416.
- Sprat T., 1669. The history of the generation and ordering of green Oysters, commonly called Colchester Oysters. *Hist. of the Roy. Soc.*, London.
- Stolte W, Mc Collin T, Nooderloos A A M & Riegman R, 1994. Effect of nitrogen source on the size distribution within marine phytoplankton populations. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **184** : 83-97.
- Strickland, J D H & Parsons T R, 1972. A practical handbook of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. Bd. Can.*, **167** : 1-311.
- Sullivan C W & Volcani B E, 1981. Silicon in the cellular metabolism of diatoms. In : *Silicon and siliceous structures in biological systems*. Simpson T L & Volcani B E (eds). Springer-Verlag, New York. 15-42.
- Valiela I, 1984. Marine ecological processes. Springer Verlag, New York.
- Vilchez C., Garbayo I., Lobato M. V. & Vega J.-M., 1997. Microalgae-mediated chemicals production and wastes removal. *Enzyme Microb. Technol.*, **20** : 562-572.
- Vincendeau M-L, 1987. Etude expérimentale de la fertilité des eaux des milieux conchylicoles : Influence de l'excrétion des huîtres et des palourdes sur la production des diatomées dominantes. *Thèse Univ. Paris VI*. 172 p.
- Voisin P, 1931. Quelques observations sur l'absence de verdeur dans la région de Marennes (décembre 1930). *Rev. Trav. Off. Pêches Mar.*, **4** (2) : 223-230.
- Wheeler P A, North B B & Stephens G C, 1974. Amino acid uptake by marine phytoplankters. *Limnol. Oceanogr.*, **19**, 249-259.