

EVOLUTION DIVERGENTE DE CULTURES PHYTOPLANCTONIQUES MARINES  
EN RELATION AVEC LA QUALITE DES ENRICHISSEMENTS

par

P. DIVANACH et J. SUBE

Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Station de Biologie Marine  
et Lagunaire, 1 quai de Bosc prolongé à 34200 -SETE

R E S U M E

- Quatre cultures phytoplanctoniques marines inoculées à partir de souches naturelles de *Nanochlorelles* ont été soumises à des enrichissements différentiels dans des conditions d'éclairement et de température identiques.

La composition des enrichissements a été calculée de manière à introduire comme facteur de comparaison l'Azote.

Un témoin sans apport de nutrilités et trois cultures enrichies, l'une exclusivement par du nitrate de sodium, la seconde par un "milieu de Conway", enfin une dernière dont les nutrilités étaient fournies par un apport d'écume convenablement diluée ont fait l'objet d'un suivi physico-chimique et biologique d'une durée de trois mois. L'évaluation des températures, pH, salinité, oxygène dissous, pourcentage de transmittance, matières en suspension ; les dosages quantitatifs de carbone organique, Azote, Phosphore total, Calcium, Magnésium, Sodium, Potassium, oligo-éléments traces et les comptages biologiques ont été effectués périodiquement. Les premiers résultats de cette expérimentation permettent de dégager :

1) Une instabilité du témoin et des milieux enrichis minéralement qui ne tardent pas à accuser une chute brutale de la biomasse algale due à une contamination rapide par des Ciliés, Rotifères et Copépodes ;

2) Une stabilité du milieu enrichi en écume, pendant toute la durée de l'expérience, due à la richesse constante du milieu sélectif et au retard apporté à la contamination par une toxicité relative du milieu vis-à-vis des zooplanctontes de petite taille agents de cette contamination.

Enfin, il est possible d'envisager dès à présent la réalisation de cultures phytoplanctoniques sur des milieux pauvres mais sélectifs.

A B S T R A C T

- Four marine phytoplanktonic cultures from natural inoculum of *Nannochloris* sp. have been submitted to different fertilizers in identical light and temperature conditions.

The composition of enrichments has been studied to introduce Nitrogen as comparative factor. -

One tank without nutrients and three enriched cultures, the first only with sodium nitrate, the second with "Conway medium" and the last in which nutrients were provided by convenient dilution of "foam", have been followed for physical, chemical, biological parameters during three months. Temperature, pH, dissolved oxygen, optical density, particulate matters, Organic Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Calcium, Magnesium, Sodium, Potassium, metal traces and biological parameters were analysed periodically.

The first results of the experiments enable to show :

- the unsteadiness of non enriched and mineral enriched cultures in which algal biomass falls quickly according to a competition between algae Ciliates, Rotifers and Copepods ;

- the steadiness of the medium enriched with foam during all the experiments due to the permanent richness of this selective medium and the delay of contamination by a relative toxicity of this type of culture versus tiny zooplankton as grazing agent.

Finally it is possible to anticipate the applicability of poor but selective media for mass cultures of marine planktonic algae.

M O T S - C L E S : Enrichissements, Recyclage, Ecume, Phytoplancton, Déchets, Aquaculture.

K E Y W O R D S : Enrichments, Recycling, Foam, Phytoplankton, Wastes, Aquaculture.

## 1. INTRODUCTION

En aquaculture marine où la difficulté première est de produire des alevins en quantité suffisante, le facteur limitant est d'ordre nutritionnel. En effet, les pêches planctoniques traditionnelles ainsi que les cultures ne peuvent actuellement pas fournir le nombre de proies nécessaires à un élevage intensif.

La mise en exploitation de lagunes eutrophes avec des techniques de prélèvement industrielles (BARNABE, 1978), laisse entrevoir des perspectives intéressantes et la résolution d'une partie du problème (KENTOURI, 1978). Cependant, les fluctuations de biomasse et les aléas de la pêche (inhérents à tous les milieux naturels) limitent l'emploi du procédé.

Le contrôle de la productivité des eaux, la sélection des espèces intéressantes, l'éradication des nuisibles, sont des solutions qui valoriseraient ces zones déjà fort intéressantes. Or, nous avons préalablement constaté que l'écume est un milieu possédant certaines de ces qualités (DIVANACH et SUBE, 1978).

Le but de ce travail est de comparer l'évolution de cultures différemment enrichies et d'estimer les conséquences de la sélectivité d'un des milieux sur le développement des différents maillons biologiques.

## 2. MATERIEL ET METHODE

### 2.1. Matériel

Les cultures, au nombre de 4, sont effectuées dans le hall d'aquaculture de la Station de Biologie Marine et Lagunaire de Sète, c'est-à-dire une serre ayant une influence tampon. Les bassins servant à ces essais sont des cuves cylindriques en polyéthylène blanc remplies à 600 l (pl. 1).

Huit tubes fluorescents GROLUX (Sylvania Lifeline F65 T12 GRO), disposés à un mètre au-dessus des bassins, dispensent en permanence 320 W. Il s'ajoute à cet éclairage la luminosité naturelle qui est zénithale et la résultante lumineuse totale se situe alors entre 2 000 et 4 000 Lux.

De l'eau provenant de bassins d'élevage de poissons (témoin E<sub>1</sub>) sert en outre de support à 3 types d'enrichissements : NaNO<sub>3</sub> (E<sub>2</sub>), milieu de Conway (E<sub>3</sub>), écume fraîche (E<sub>4</sub>).

Dans tous les milieux enrichis la quantité d'azote est identique (1,8 mg/l). Le critère régissant cette teneur est la composition initiale de l'écume fraîche aux doses permettant d'obtenir les meilleures croissances c'est-à-dire à la limite entre eutrophie et toxicité (DIVANACH et SUBE, 1978).

L'inoculum, représentant 1/8 de la culture, provient d'une souche naturelle plurispécifique à haute densité cellulaire (95.10<sup>5</sup> cellules/ml) et à dominance de *Nanochloris* sp.. Il est prélevé dans les Salins de Villeroy (Hérault).

Ni l'eau des bassins, ni l'inoculum n'ont été filtrés, de sorte que les cultures contiennent en elles les germes d'une contamination zooplanctonique qui est inférieure en biomasse à 0,1 individu/l. L'injection de bulles d'air dont le diamètre est proche de 5 mm assure le maintien en suspension des cultures tout en évitant la perte d'engrais par moussage dans le milieu E<sub>4</sub>.

## 2.2. Méthode

Commencée le 11 janvier 1978, l'expérimentation a duré 126 jours. Au cours de cette période 17 prélèvements (1 par semaine) ont été effectués. Les paramètres mesurés et les techniques d'analyses sont présentés ci-dessous. Les protocoles expérimentaux sont décrits dans RODIER (1975).

*Température* : Thermomètres au 1/10ème de degré

*Salinité* : Salinomètre BECKMAN RS 5-3

*Oxygène dissous* : Méthode polarographique (YSI 5700)

*pH* : pHmètre électrométrique (MINSIS 5 000; électrode de verre)

*Pourcentage de transmission de la lumière (transmittance)* : Trousse HACH

*Matières en suspension* : Pesée après filtration sur membrane en fibre de verre WHATMAN GF/C

*Carbone organique* : Oxydation catalytique à 950°C des éléments carbonés et dosage de l'anhydride carbonique dans un analyseur à infrarouges (appareil BECKMAN) après décarbonatation

*Azote Kjeldahl* : Minéralisation de l'azote organique, puis dosage colorimétrique de l'ammoniaque

*Azote ammoniacal* : Méthode au bleu d'indophénol

*Azote nitrique* : Réduction à travers une colonne de cadmium de l'azote nitrique en azote nitreux puis dosage colorimétrique de celui-ci

*Azote nitreux* : Dosage colorimétrique du complexe coloré obtenu après diazotation de la sulfanilamide en milieu acide et copulation avec la N (1 naphtyléthylène diamine)

*Phosphore total* : Minéralisation du phosphore en milieu perchlorique puis dosage colorimétrique du complexe phosphomolybdique obtenu en présence de molybdate d'ammonium après réduction par l'acide ascorbique

*Calcium* } : Absorption atomique

*Magnésium* }

*Potassium* } : Spectrométrie de flamme

*Sodium* }

*Oligo-éléments* : (Zn, Mn, Cr, Cd, Ni, Co, Pb, Cu, Fe) : Spectrométrie de flamme après extraction à la méthyl-iso-butyl-cétone

*Chlorelles* } : Comptages au microscope sur hématimètre de Thoma

*Ciliés* }

*Flagellés* }

*Copépodes* } : Comptages à la loupe binoculaire sur cuve de Dolfuss

*Rotifères* }

Une partie de ces dosages a été réalisée au laboratoire SOLAIGUE C.N.A.B.R.L. (Nîmes).

A partir du 92ème jour, seule les observations biologiques ont été maintenues afin de mettre en évidence la conformité des résultats à long terme.

### 3. RESULTATS

#### 3.1. Caractéristiques des cultures

Bien que l'interprétation de tous les résultats (pl. 2 à 5) nécessite une analyse statistique plus détaillée, nous pouvons d'ores et déjà dégager certains faits marquants.

Sur la période testée, l'écart maximal entre les coefficients de variation des divers facteurs pour les 4 cultures est en moyenne de  $5 \cdot 10^{-3}$  pour les paramètres physiques (température et salinité), de  $6 \cdot 10^{-1}$  pour le pH, l'oxygène, dissous, les nitrates, les cations, les oligo-éléments et de 1,9 pour les paramètres biologiques (Chlorelles, Ciliés, Flagellés, Copépodes, Rotifères). Il en résulte que dans chaque bassin, l'évolution des différents paramètres au cours du temps a présenté des caractéristiques spéciales :

- parallèles : température, salinité ;
- légèrement différentes : pH, O<sub>2</sub>, Carbone organique, Azote kjeldahl, ammoniacal, nitrique, nitreux, Phosphore total, Magnésium, Potassium, Calcium, Sodium, oligoéléments ;
- franchement divergentes : paramètres biologiques.

Cependant, des valeurs d'écart type importantes, parfois surdispersées, traduisent dans chacune des classes sus-citées, la présence de particularités qui individualisent certaines cultures :

- les faibles variations, comparées aux autres milieux, de la culture E<sub>1</sub> qui mettent ainsi en évidence l'influence positive des enrichissements ;
- la richesse en Cobalt et en Phosphore du milieu de Conway (E<sub>3</sub>) ;
- le grand nombre de Chlorelles, les teneurs élevées en Cuivre dans E<sub>4</sub>. L'importance de la teneur initiale et la rapide disparition du Fer dans ce même milieu ;
- le caractère intermédiaire de la culture E<sub>2</sub>.

#### 3.2. Evolution biologique de chaque culture

C'est sur le plan biologique et notamment dans le cas de la population de Nanochlorelles que la divergence préalablement notée est la plus marquée.

- Le bassin E<sub>1</sub> se caractérise par une croissance algale lente, de faible amplitude mais sans fluctuations importantes ;
- Dans le milieu de Conway (E<sub>3</sub>), le bloom est rapide et intense, mais la phase stationnaire inexistante. Le déclin de la culture est rapide et total ;
- Avec les engrais à base de Na NO<sub>3</sub> (E<sub>2</sub>), l'évolution phytoplanctonique est similaire à la précédente mais la phase exponentielle est plus lente et la croissance se stabilise pendant plus d'un mois ;
- L'écume (E<sub>4</sub>), entraîne des poussées algales identiques à celles de E<sub>2</sub> mais, après une chute temporaire, la densité cellulaire remonte et se stabilise à un niveau élevé (170 jours après le début des expérimentations, les comptages donnent même  $75 \cdot 10^5$  Cell/ml).

Sur le plan quantitatif, les différences se retrouvent également. Sur la

Moyenne et coefficient de variation de la densité cellulaire au cours du temps				
milieux de culture	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>
moyenne	9,4	14,6	11,7	26,3
coefficient de variation	0,59	0,83	1	0,43

base d'une équivalence respective de la moyenne et du coefficient de variation avec la richesse et la stabilité du milieu, on peut dégager la classification suivante :

richesse croissante :  
 E<sub>1</sub> → E<sub>3</sub> → E<sub>2</sub> → E<sub>4</sub>  
stabilité croissante :  
 E<sub>3</sub> → E<sub>2</sub> → E<sub>1</sub> → E<sub>4</sub>

c'est-à-dire que le milieu E<sub>4</sub> est non seulement le plus riche mais le plus stable.

Or les comptages zooplanctoniques montrent que la richesse du milieu E<sub>4</sub> est une conséquence de sa stabilité car la contamination zooplanctonique y est en permanence restée faible : Témoin mis à part, E<sub>4</sub> est le moins colonisé de tous les milieux.

Densité zooplanctonique moyenne/l (Rotifères, Copépodes)			
E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>
3,2	842	259,5	34

La recherche de relations entre les développements phytoplanctoniques et les différents paramètres chimiques a permis de dégager certaines liaisons. (Tableau 1).

Facteur de corrélation moyen entre la densité cellulaire en Chlorelles et les 19 paramètres chimiques			
E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>
0,23	0,19	0,20	0,10

De plus, le facteur de corrélation moyen montre que, de toutes les cultures, E<sub>4</sub> est la moins dépendante des paramètres chimiques.

Par ailleurs, les cultures E<sub>2</sub> et E<sub>4</sub> d'une part, E<sub>1</sub> et E<sub>3</sub> d'autre part présentent des similitudes, car elles sont liées avec une intensité voisine à des paramètres communs.

Facteurs de corrélation				
relations milieux de culture	E <sub>1</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>4</sub>
	pH - O <sub>2</sub>	0,05	0,14	0,45
Chlorelles - O <sub>2</sub>	0,24	0,26	0,63	0,32
Chlorelles - pH	0,01	0,01	0,45	0,37

Cette ressemblance affecte en outre la dynamique d'apparition du bloom, la phase stationnaire (pendant les 40 premiers jours de culture :  $r = 0,76$ ) ainsi que les densités cellulaires moyennes pendant cette période (23,4 et 24,7 10<sup>5</sup> Cell/ml, pour les milieux respectifs E<sub>2</sub> et E<sub>4</sub>).

#### 4. DISCUSSION

Sur le plan chimique, le témoin et le milieu de Conway sont respectivement un milieu naturel pauvre et une formule de culture équilibrée permettant le développement harmonieux de nombreux phytoplanctons. En contrepartie, l'écume est un milieu riche mais déséquilibré car préférentiellement composé de produits tensioactifs (BIKERMAN, 1973), quant au milieu E<sub>2</sub>, il présente toutes les caractéristiques du témoin à une différence près : sa teneur particulière en Azote nitrique. Cette individualité, qui le rend partiellement déséquilibré, le marque d'une façon spéciale ( $r = 0,44$  et  $r = 0,45$  pour NO<sub>3</sub> et NO<sub>2</sub>), car de tous les bassins, il est le plus dépendant des deux formes d'Azote nitrique et nitreux.

Or, les milieux E<sub>1</sub> et E<sub>3</sub> entraînent des croissances phytoplanctoniques faibles mais stables (E<sub>1</sub>) ou des poussées importantes mais brèves (E<sub>3</sub>). Par opposition E<sub>2</sub> est déjà plus stable et à l'extrême les engraisements à base d'écume présentent une constance rare.

Dans tous les cas, la stabilité ou l'instabilité sont liées à la faiblesse ou à l'abondance d'un maillon herbivore. Or, on constate que ni les milieux très déséquilibrés (E<sub>4</sub>), ni ceux bien équilibrés (E<sub>3</sub>), ne sont le siège de poussées zooplanctoniques intenses. Les meilleurs résultats sont obtenus avec E<sub>2</sub> qui est intermédiaire.

Il est bien connu (ODUM, 1967, in DUVIGNAUD, 1974) qu'"équilibre écologique et productivité" ne vont pas de pair. Mais il est tout aussi évident que le déséquilibre entraîné par une sélectivité intense ne pourrait aboutir à une récolte abondante.

Si l'équilibre du milieu de Conway conduit à une rapide contamination herbivore pendant la phase exponentielle et de ce fait à un broutage des algues avant leur production maximale, l'écume engage un phénomène inverse : le résiduel toxique limite la contamination et inhibe toute production. Entre ces deux extrêmes,  $E_2$  a une croissance intéressante car la contamination animale se fait en phase stationnaire. Une légère sélectivité pourrait même exister (toxicité des nitrites), et entraîner, avec l'éradication de certaines espèces, un surplus d'énergie utilisable pour les maillons restants.

## 5. CONCLUSION

Dans l'optique appliquée d'une mise en valeur de zones littorales et de production zooplanctonique, l'utilisation sans précaution spéciale d'un milieu tel que l'écume, ne présente que peu d'intérêt car son avantage principal est justement de limiter la prolifération animale.

Il n'est cependant pas utopique d'envisager des productions phyto-planctoniques réalisées sur milieu sélectif et de supprimer à posteriori cette caractéristique le moment voulu par un artifice technique adéquat (écumage). Ce procédé permettrait alors d'inoculer de grands volumes de cultures d'algues à haute densité cellulaire en phase stationnaire, avec des germes zooplanctoniques précis et ainsi de programmer une chaîne alimentaire intensive, ceci autorisant par contrecoup une maîtrise du bloom.

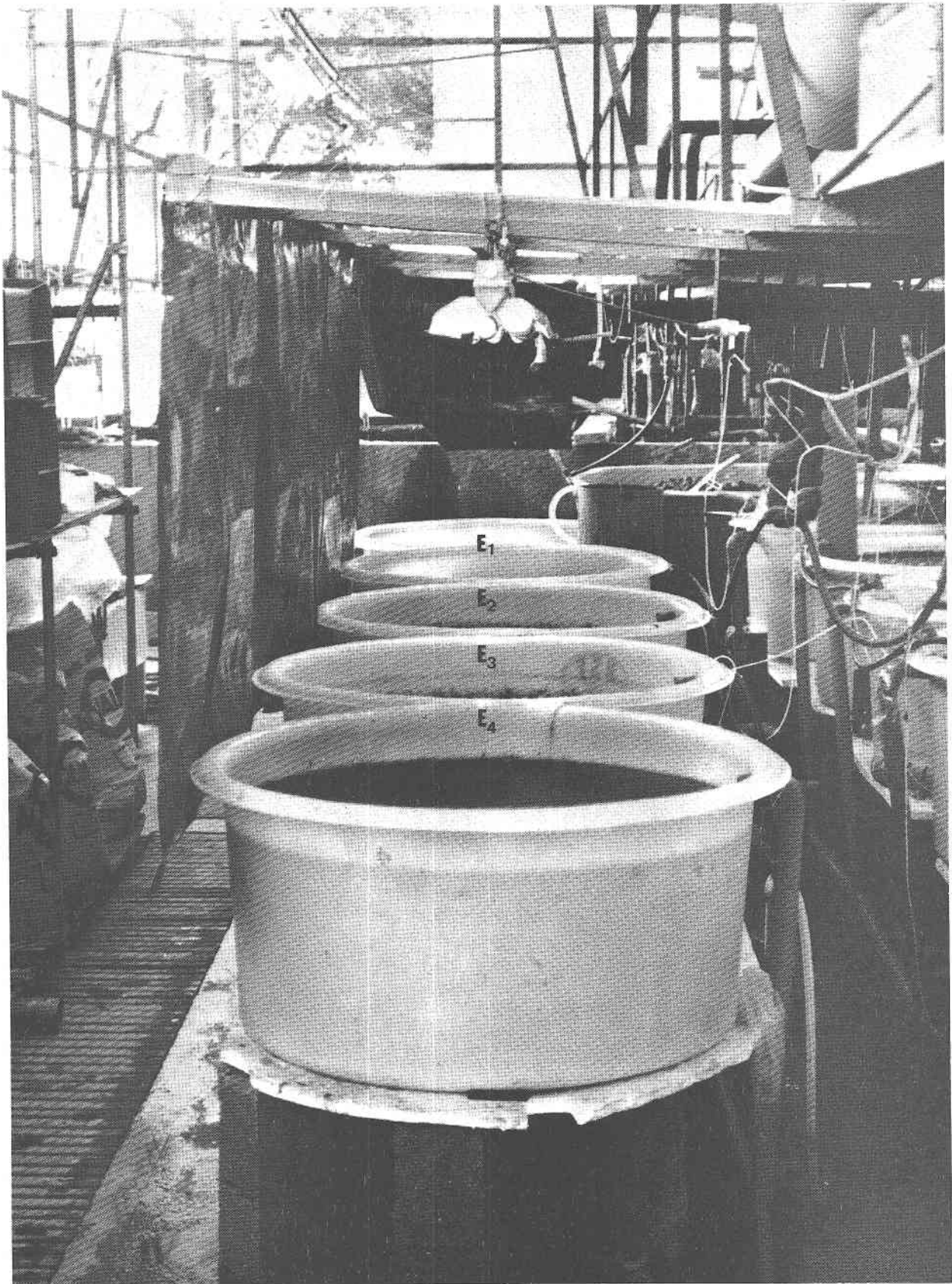
De plus, il semble, au vu des résultats, que la composition chimique des enrichissements aurait un rôle important dans la poussée du maillon secondaire et qu'une certaine sélectivité du milieu soit une condition de richesse ( $E_2$ ).

Dans ce cas, il est possible que des doses d'écume plus faibles permettent d'arriver sans aucun artifice au taux de sélection suffisant pour ne permettre le développement que des chaînes alimentaires voulues. Dans ce cas, la régulation des populations se ferait alors par simple dilution.

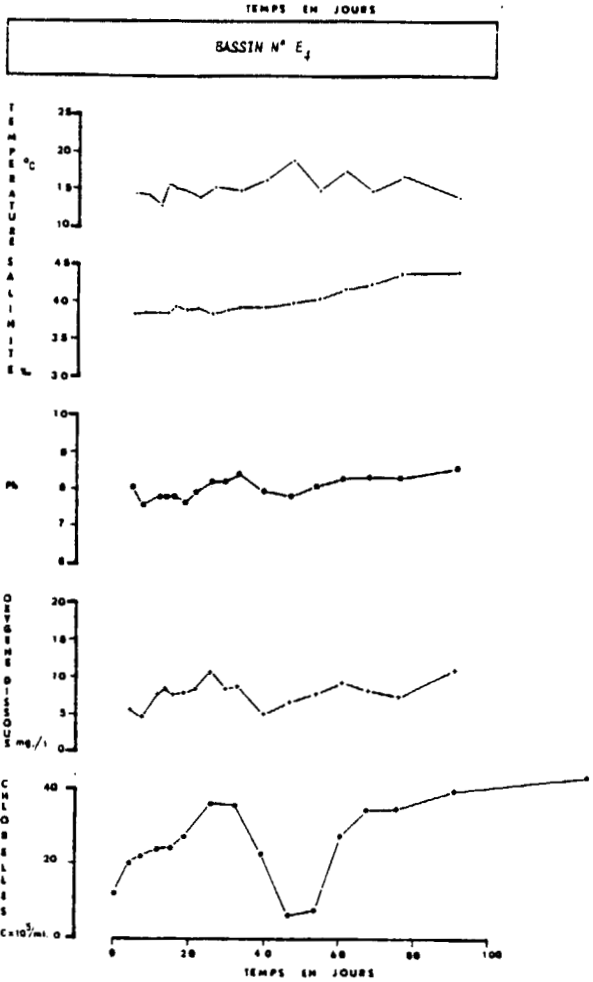
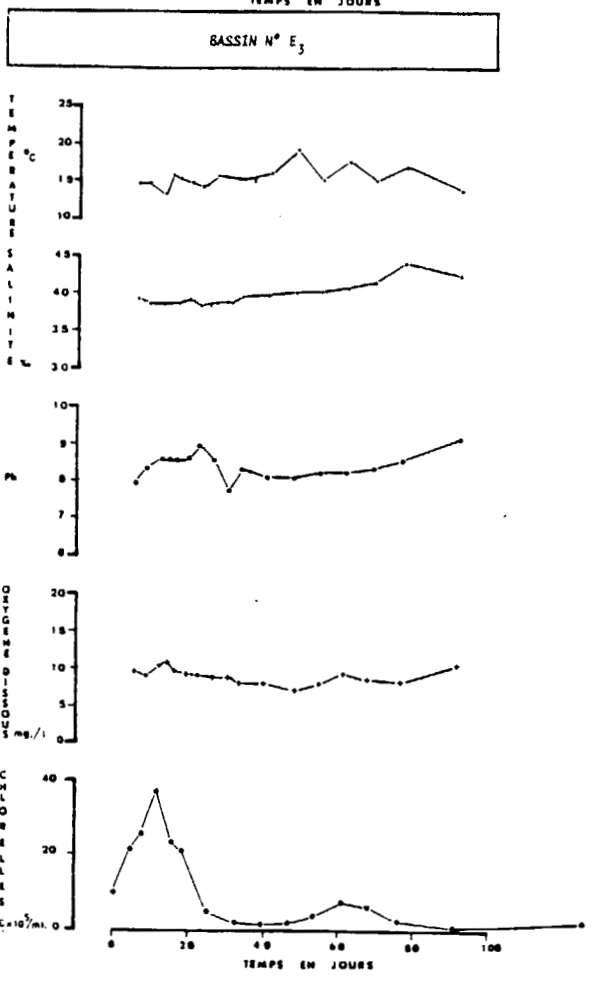
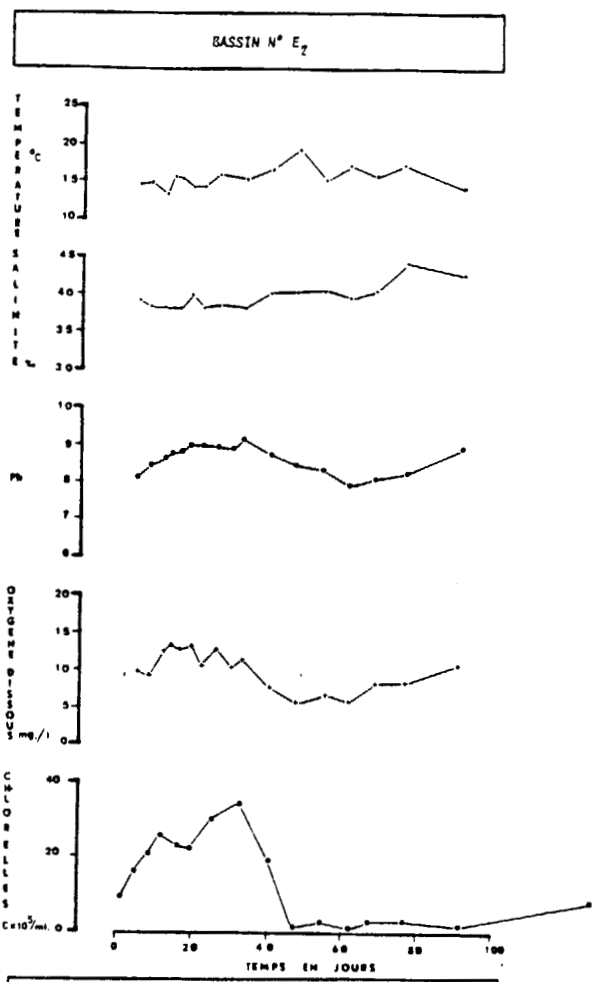
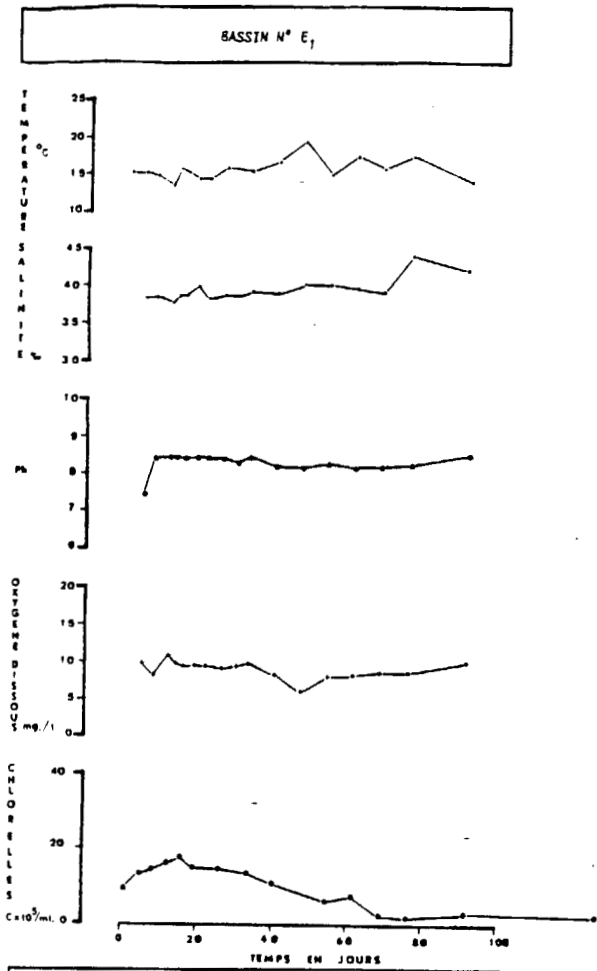
## BIBLIOGRAPHIE

- BARNABE G. -1978- Utilisation des chaines alimentaires naturelles et du recyclage des eaux usées dans la production à grande échelle de juvéniles pour l'aquaculture. Colloque ECOTRON; C.O.B. Brest. 3-6 juillet 1978.
- BIKERMAN J.J. -1973- Foams . Edit. Springer-Verlag, 320 pp.
- DIVANACH P. et SUBE J.-1978- Recyclage de déchets d'aquaculture marine; caractéristiques d'un effluent de pisciculture: l'écume.Colloque ECOTRON ; C.O.B. Brest. 3-6 juillet 1978.
- DUVIGNEAUD P. -1974- La synthèse écologique. DOIN Ed. 296 pp.
- KENTOURI M. -1978- Possibilité d'alimentation des larves de Loup sur proies naturelles congelées.Station Biologique de Sète, note interne. 3pp.
- ODUM E.P. -1967- The strategy of ecosystem development. Science, 164 : 262-270.
- RODIER J. -1975- L'analyse de l'eau. Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. DUNOD Ed. 2 tomes.

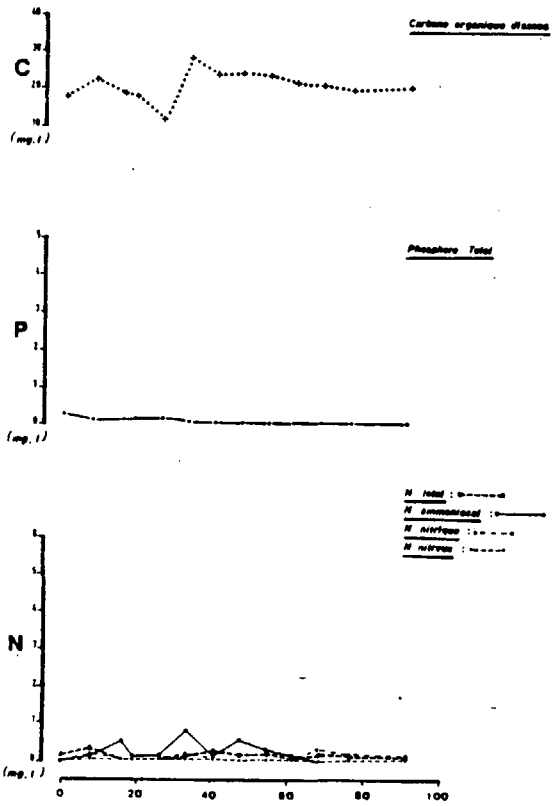




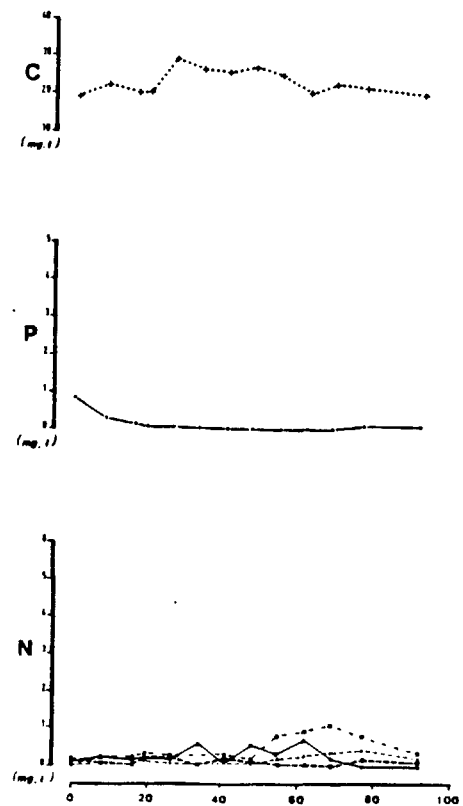
Bassins de culture



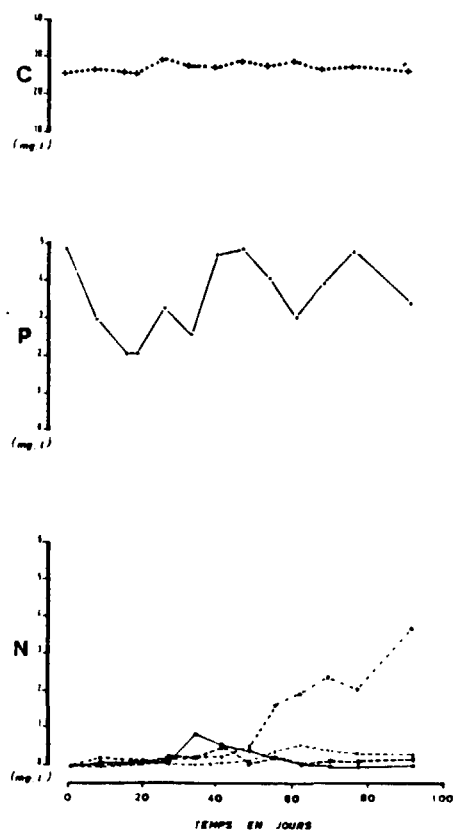
BASSIN N° E<sub>1</sub>



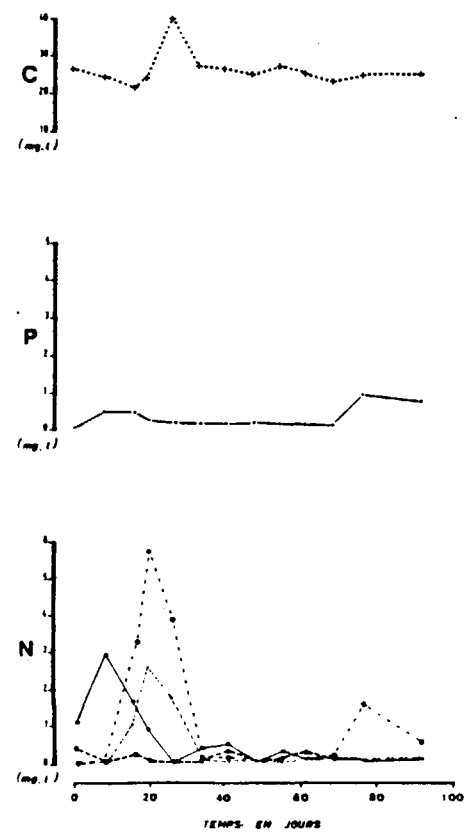
BASSIN N° E<sub>2</sub>



BASSIN N° E<sub>3</sub>



BASSIN N° E<sub>4</sub>



BASSINS N° E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>, E<sub>4</sub>

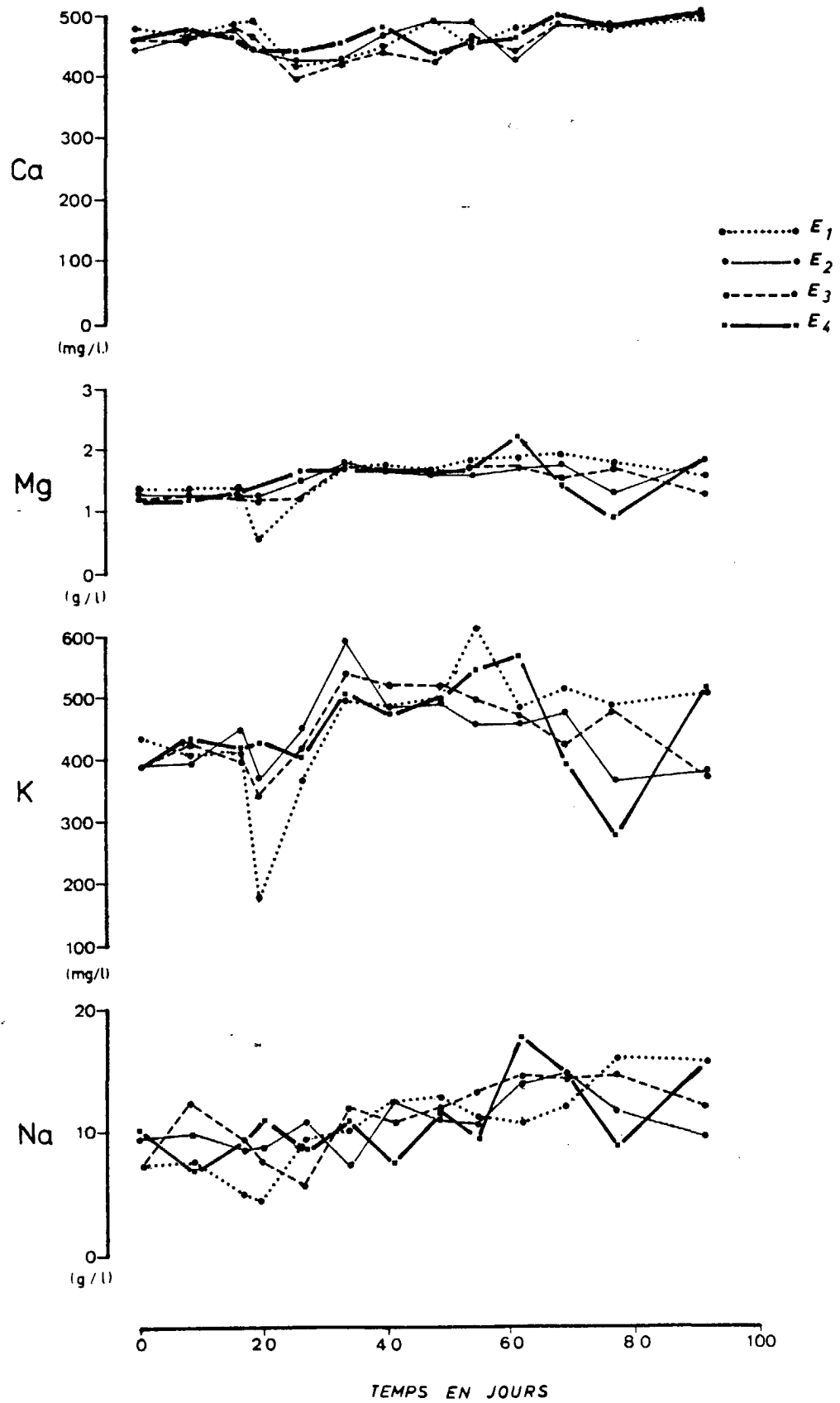
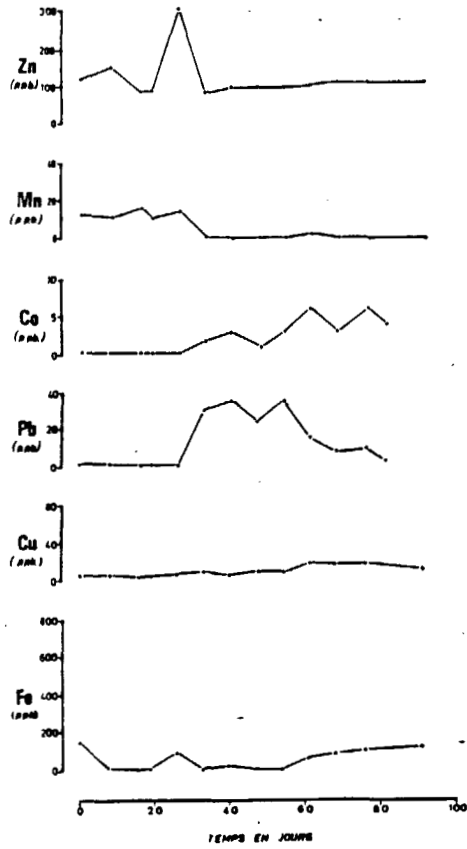
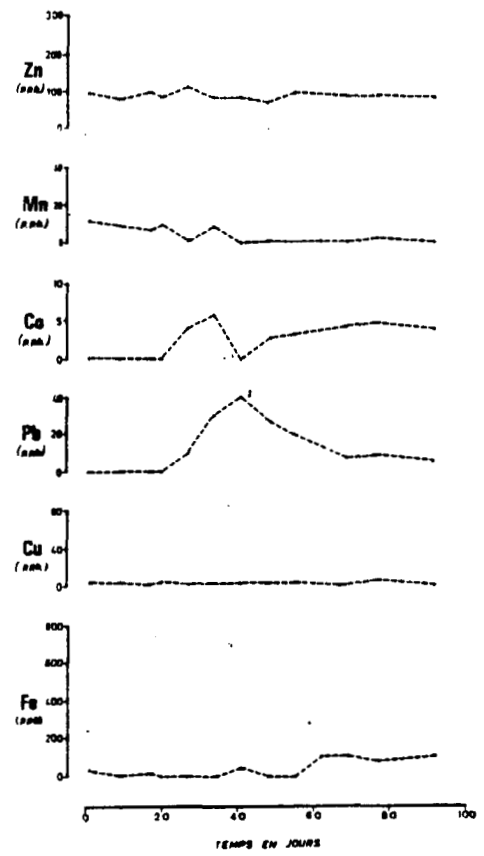


Planche 5

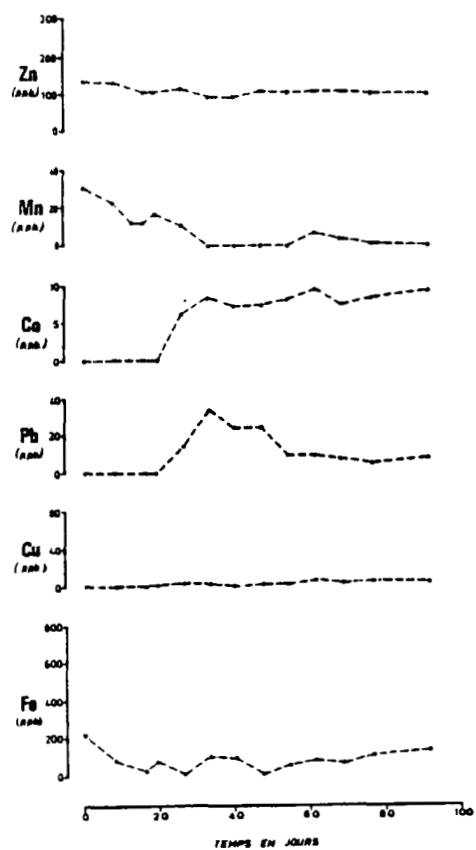
BASSIN N° E<sub>1</sub>



BASSIN N° E<sub>2</sub>



BASSIN N° E<sub>3</sub>



BASSIN N° E<sub>4</sub>

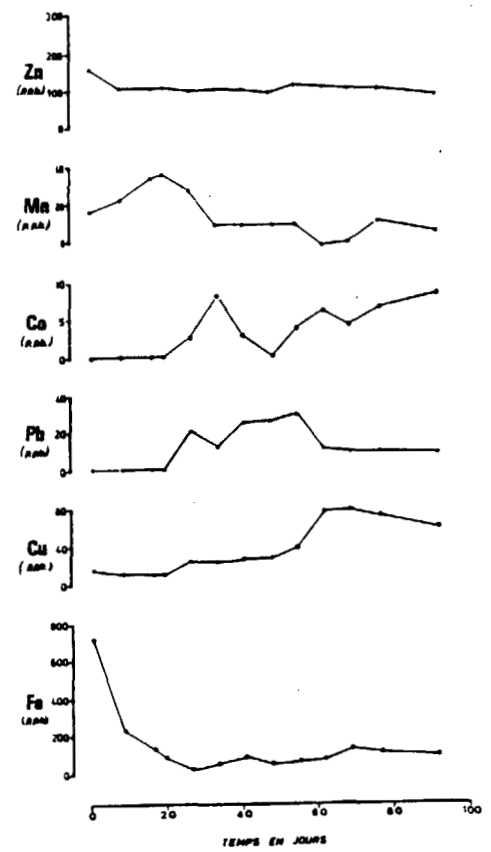


Tableau 1

FACTEURS DE CORRELATION				
Milieux de culture Relation	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>
Chlorelles - C	0,17	0,57	0,02	0,19
Chlorelles - N/Kjel-dahl	0,17	$2 \cdot 10^{-4}$	0,36	0,24
Chlorelles - N/NH <sub>4</sub>	0,08	0,04	0,18	0,08
Chlorelles - N/NO <sub>3</sub>	0,20	0,44	0,15	0,05
Chlorelles - N/NO <sub>2</sub>	$10^{-5}$	0,45	0,03	0,04
Chlorelles - P/PO <sub>4</sub>	0,02	0,07	0,42	0,18
Chlorelles - Ca	0,17	0,57	0,02	0,19
Chlorelles - Mg	0,49	0,06	0,20	0,01
Chlorelles - K	0,41	0,05	0,27	0,01
Chlorelles - Na	0,62	0,38	0,01	0,07
Chlorelles - Zn	0,06	0,03	0,14	0,17
Chlorelles - Mn	0,51	0,19	0,38	$10^{-3}$
Chlorelles - Cr	0,06	0,15	0	0,04
Chlorelles - Cd	$10^{-3}$	0,21	0,06	$10^{-3}$
Chlorelles - Ni	0,02	0,13	0,38	0,21
Chlorelles - Co	0,55	0,03	0,48	0,40
Chlorelles - Pb	0,07	$2 \cdot 10^{-3}$	0,47	0,08
Chlorelles - Cu	0,61	0,12	0,14	0,16
Chlorelles - Fe	0,27	0,38	0,03	0,16