

---

## **La culture du phytoplancton dans les bassins aquacoles Aspects théoriques et applications pratiques**



## Sommaire

Rôles du phytoplancton dans les bassins aquacoles en terre .....	3
Les deux modes classiques de cultures du phytoplancton : culture en « batch » et culture continue.....	4
La culture en « batch » ou culture « discontinue » .....	4
La culture continue en chémostat .....	7
Les deux types de limitation d'une culture de phytoplancton .....	8
La limitation au sens de Liebig .....	9
La limitation au sens de Blackman .....	10
Culture en batch et chémostat : quel type de limitation prévaut dans chaque mode de culture? .....	11
Cas de la culture discontinue en batch .....	11
Cas de la culture continue en chémostat .....	11
En résumé .....	13
Culture de phytoplancton et bassin d'élevage .....	13
Les applications au bassin : ce vers quoi il faudrait tendre .....	15
Quels sont les avantages de maintenir le phytoplancton à un taux de croissance relativement élevé dans les bassins ?.....	15
Avantages d'un niveau de biomasse phytoplanctonique le moins variable possible. ....	15
Le bassin d'élevage : une culture semi-continue de phytoplancton.....	16
Mise en œuvre d'une culture semi-continue en bassin: les facteurs à prendre en compte	17
Lectures complémentaires .....	22
ANNEXE 1 .....	23
ANNEXE 2 .....	25

# La culture du phytoplancton dans les bassins aquacoles

## Aspects théoriques et applications pratiques

### Rôles du phytoplancton dans les bassins aquacoles en terre

Comme dans tous les écosystèmes aquatiques, le phytoplancton des bassins aquacoles se situe à **la base du réseau trophique** planctonique (zooplancton et boucle microbienne) et aussi, compte tenu de leur faible profondeur (1 mètre en moyenne), il contribue au réseau trophique benthique (méiofaune et processus microbiens).

Par son activité photosynthétique, il est **le principal producteur d'oxygène**. Dans un bassin bien géré, le bilan net d'oxygène du phytoplancton est largement positif. Mais par sa respiration et sa dégradation par les bactéries, le phytoplancton peut être à l'origine de grandes consommations d'oxygène et le bilan devient alors négatif, voire très négatif (perte de la maîtrise des blooms).

Par le développement de sa biomasse, il contribue à **diminuer la pénétration de la lumière** dans la colonne d'eau. Cette réduction de l'éclairement est doublement favorable : (i) elle **limite le développement du tapis algaire benthique** (macro-algues et /ou micro-algues, dont le développement excessif perturbe le comportement des crevettes qui vivent préférentiellement sur le fond, (ii) elle fournit un ombrage aux crevettes qui préfèrent des éclaircissements modérés.

Enfin, en assimilant les déchets du métabolisme des crevettes (ammonium essentiellement) le phytoplancton **contribue à détoxifier** le milieu.

Le phytoplancton apparaît donc comme un « allié » de l'aquaculteur, que ce dernier a intérêt à entretenir à un « certain niveau de biomasse ». Si ce niveau est trop bas, trop de lumière atteindra le fond ce que n'apprécient guère les crevettes et il n'y aura pas assez de nourriture pour les maillons herbivores et supérieurs du réseau trophique dont la crevette bénéficie (zooplancton et méiofaune en particulier) ; si le niveau est trop élevé, la consommation d'oxygène par respiration favorisera l'hypoxie nocturne et les blooms, par manque de disponibilité en sels nutritifs, finiront par chuter plus ou moins brusquement sur le fond. Ces chutes entraîneront des excès de matière organique fraîche et labile que les bactéries hétérotrophes, autres consommateurs d'oxygène, vont dégrader ce qui accentuera les risques d'hypoxie, voire d'anoxie plus ou moins temporaires. De plus un bassin trop riche en phytoplancton génère des instabilités (alternance de maxima et de minima des variables environnementales associées comme l'oxygène et le pH, impossibles à maîtriser. En intervenant de manière radicale, l'aquaculteur entretient voire amplifie ces instabilités. Or on le sait, les crevettes sont sensibles aux brusques variations de grande amplitude des conditions environnementales qu'elles perçoivent comme autant de stress qui vont les affaiblir et donc entraîner une moindre résistance aux pathogènes.

Toute la difficulté consiste donc à fixer ce « certain niveau de phyto », ni trop, ni trop peu, pour que les crevettes bénéficient des retombées positives sans en subir les côtés négatifs.

#### Encadré N°1 : Définitions

**Biomasse.** C'est une quantité de matière vivante. Au sens strict, elle devrait être exprimée en poids (frais ou sec) mais dans les conditions naturelles ou dans un bassin c'est techniquement impossible puisqu'elle est indissociable des autres compartiments. On l'exprime soit en nombre de cellules ou par un autre « proxy » intégrateur de la composante phytoplanctonique dans son ensemble comme la Chl<sub>a</sub> ou la fluorescence *in vivo*. Elle est souvent exprimée par unité de volume d'eau. Sa dimension est donc « M L<sup>-3</sup> ».

**Production :** C'est la quantité de biomasse produite dans un intervalle de temps donné. On parle de *production brute* avant déduction de la respiration (et éventuellement de l'excrétion organique et du broutage par les herbivores) et de *production nette* après déduction des causes de diminution ou de pertes. Sa dimension est « M L<sup>-3</sup>T<sup>-1</sup> »

**Taux de croissance :** c'est le taux de changement de la biomasse par unité de temps et par unité de biomasse. Ce qui revient à diviser la production par la biomasse. Sa dimension est donc « T<sup>-1</sup> » ; si on choisit d'exprimer le taux de croissance en jours, on dira « par jour » ou « par 24h ». Il est souvent exprimé en « nombre de doublement par unité de temps » (heure, jour), unité plus « parlante » (Cf. texte et annexe n°1)

## Les deux modes classiques de cultures du phytoplancton : culture en « batch » et culture continue

### La culture en « batch » ou culture « discontinue »

Il n'existe pas de traduction française à la fois satisfaisante et concise de l'expression anglo-saxonne de « batch culture ». La moins mauvaise pourrait être celle qui définit la culture en batch par opposition à la culture continue. On parle alors de « *culture discontinue* ».

La culture en batch est la manière la plus simple de produire du phytoplancton : Un inoculum contenant des cellules de phytoplancton à cultiver est injecté dans un récipient exposé à la lumière (ballon, bouteille, bac, etc.) contenant tous les éléments nutritifs nécessaires à leur multiplication et donc à la croissance de la population phytoplanctonique. Après cette introduction initiale, il n'y a plus d'échanges d'éléments nutritifs, ni de biomasse avec l'extérieur : **le milieu est clos**. C'est pourquoi, toujours par analogie au fait que la culture continue est un système ouvert, on peut également appeler une culture en batch une **culture fermée**.

Typiquement, dans ce mode de culture la croissance du phytoplancton présente plusieurs phases (fig. 1) :

#### (i) une phase de latence

Pendant cette phase la croissance est lente ; sa durée dépend des volumes respectifs d'inoculum et de milieu et surtout du degré d'acclimatation de la culture mère par rapport aux nouvelles conditions rencontrées dans le récipient de culture. En réalité, cette phase serait davantage un artéfact de transfert plutôt qu'une propriété inhérente de la croissance. Elle peut être réduite au minimum en éliminant ces artéfacts (voir plus bas le cas des cultures semi-continues).

**(ii) une phase exponentielle**

Pendant cette phase, et par définition même du caractère exponentiel de la croissance, l'augmentation du nombre des cellules (dN) par unité de temps (dt) est proportionnelle au nombre de cellules présentes à l'instant t ; le facteur de proportion est appelé **le taux de croissance instantané ( $\mu$ )** qui s'exprime suivant la formule:

$$\mu = \ln (N_t/N_0) / \Delta t \quad (1)$$

avec      **ln**      le logarithme népérien  
              **N<sub>0</sub>**      la biomasse au temps t<sub>0</sub>,  
              **N<sub>t</sub>**      la biomasse au temps t > t<sub>0</sub>  
              **Δt**      l'intervalle de temps t – t<sub>0</sub>

Le taux de croissance est **souvent exprimé en nombre de doublements par unité de temps**, plutôt qu'en T<sup>-1</sup>, cette dernière unité n'étant pas facile à se représenter mentalement. Si par exemple le temps est exprimé en jours, le taux de croissance sera alors converti en nombre de « doublements par jour » (on appelle **k** ce taux de croissance). On passe de  $\mu$  à **k** en divisant  $\mu$  par le logarithme népérien de base 2:

$$k = \mu / \ln (2) = \mu / 0,693 \quad (2)$$

(Cf. l'annexe n°1 pour la démonstration mathématique et un exemple dans l'encadré N°2).

**Encadré N°2 : Exemple de passage d'un taux de croissance instantané (exprimé en T<sup>-1</sup>) au nombre de divisions par jour.**

Supposons que sur une période de 24h, le nombre de cellules d'une culture soit passé de 1000/ml à 4000/ml.

En appliquant la formule (1) le taux de croissance instantané  $\mu$  exprimé en T<sup>-1</sup> aura pour valeurs :

$$\begin{aligned} \mu_{(h)} &= \ln (4000/1000)/24 && = 0,0578 \text{ h}^{-1} && \text{si t est exprimé en heure} \\ \mu_{(j)} &= \ln (4000/1000)/1 && = 1,3863 \text{ j}^{-1} && \text{si t est exprimé en jour} \end{aligned}$$

En appliquant la formule (2) le taux de croissance **k**, exprimé en nombre de doublements, aura pour valeurs :

$$\begin{aligned} k_{(h)} &= 0,0578/0,693 && = 0,0833 && \text{si t est exprimé en nombre de doublements par heure} \\ k_{(j)} &= 1,3863/0,693 && = 2,000 && \text{si t est exprimé en nombre de doublements par jour} \end{aligned}$$

On remarquera que l'on retrouve bien une valeur de 2 divisions par jour  $k_{(j)} = 2$ , qui font passer le nombre initial de cellules de 1000 à 4000 après 24h, mais que le taux de croissance  $\mu$  ne vaut que 1,3863 !

Or intuitivement on pourrait penser qu'une cellule qui se divise 1 fois par jour aura un taux de croissance instantané de 1 j<sup>-1</sup>, qu'une cellule qui se divise 2 fois par jour un taux de croissance instantané de 2 j<sup>-1</sup>, etc. Ce serait oublier **le caractère continu de la croissance exponentielle** qui s'applique sur des intervalles de temps infiniment petits. C'est pourquoi une culture qui croît à un taux k d'une division par jour, a un temps de doublement d'un jour et un taux de croissance instantané de 0,693 j<sup>-1</sup>.

*Remarque :* en toute rigueur, lorsque N représente un nombre de cellules,  $\mu$  et k se rapportent à un taux de division cellulaire. Ils s'identifient correctement au taux de croissance de la biomasse seulement si la composition et le volume cellulaires

restent constants tout au long de la culture quelles que soient les conditions environnementales, ce qui est loin d'être le cas.

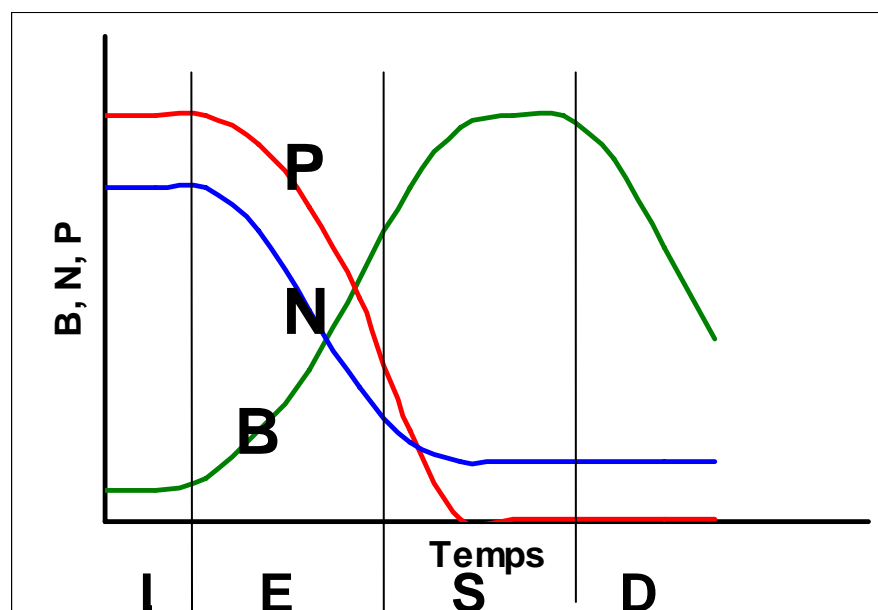
### (iii) une phase stationnaire

La phase exponentielle perdure jusqu'à ce qu'un élément, dit « limitant » (le plus souvent un élément nutritif comme l'azote ou le phosphore, cela peut être le CO<sub>2</sub> pour des cultures très denses), dont la concentration est la plus faible par rapport aux besoins du phytoplancton, atteigne une valeur qui ne peut plus satisfaire la demande des cellules (fig 1). A ce stade, le taux de croissance  $\mu$  décroît jusqu'à zéro et la culture entre dans une phase stationnaire : la biomasse (et/ou le nombre de cellules) n'augmente plus.

D'autres causes, comme la diminution de la lumière disponible due à l'auto-ombrage des cellules devenues très abondantes, peuvent être à l'origine d'un fléchissement du taux de croissance, sans toutefois, dans ce cas, l'annuler.

### (iv) une phase de déclin

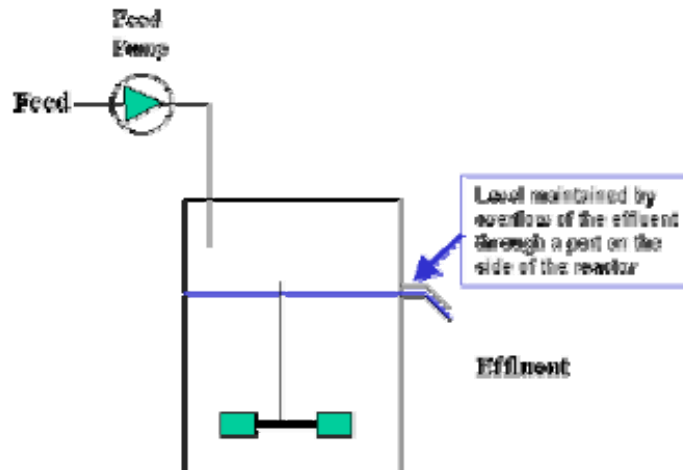
Si la culture n'est pas arrêtée, elle aboutit à une **phase de déclin**, encore appelée « **phase de sénescence**, se traduisant par la mort des cellules qui ne trouvent plus dans le milieu de culture les éléments nécessaires à leur survie. Elles libèrent alors leurs constituants cellulaires et si le milieu n'est pas stérile, celui-ci se transforme rapidement en bouillon de culture pour les bactéries hétérotrophes et en particulier des *Vibrio*, bien armés pour digérer les macro-molécules.



**Figure 1.** Représentation schématique de la croissance d'une culture de phytoplancton (B) en « batch ». On distingue classiquement 4 phases : I, une phase de latence ; E, une phase de croissance très active dite « exponentielle » ; S, une phase stationnaire ; D une phase de déclin. Cette figure montre aussi l'évolution simultanée des éléments nutritifs azote (N) et phosphore (P). Dans cet exemple la disponibilité de P devient insuffisante en regard des besoins des cellules, ce qui entraîne la limitation de leur multiplication et l'entrée dans la phase stationnaire bien qu'il reste encore de l'azote dans le milieu. *Sensu stricto*, la phase exponentielle de croissance ( $\mu$  constant) s'arrête au milieu de la phase E (voir texte).

## La culture continue en chémostat

A la différence d'une culture en batch, une culture continue se développe **dans un milieu ouvert** : Une solution contenant les nutriments (mais pas de phytoplancton), est introduite en continu dans le récipient contenant cette même solution et l'inoculum de la culture. Le récipient est muni d'un trop plein, de telle manière qu'un volume égal de milieu « usé » (contenant les cellules et les sels nutritifs non consommés) est évacué en même temps que du liquide nutritif « neuf » est ajouté. On appelle « chémostat » ce type de récipient ouvert.



**Figure 2.** Schéma d'un chémostat conçu pour les cultures continues de phytoplancton, ou de bactéries. Les nutriments sont introduits à un taux  $D$  et à des concentrations telles qu'il y en ait un qui soit limitant ; c'est-à-dire le moins concentré vis-à-vis des besoins des cellules donc le premier épuisé dans le chémostat. Les cellules et le substrat non consommé sont efflués au même taux  $D$  (MacIntyre, H.L., Cullen, J.J. 2005)

Dans un tel système, la quantité de biomasse (ou de cellules) présente(s) à l'instant «  $t$  » va dépendre de deux processus, l'un physique, l'autre biologique :

*Le processus physique* est la sortie des organismes par le trop plein qui va dépendre du **taux de renouvellement  $D$** , encore appelé **taux de dilution**, de la culture, qui s'écrit

$$D = F/V$$

$F$  étant le flux de sortie (et d'entrée, puisque par définition et construction de l'appareil ils sont égaux). Le flux est ici considéré comme un débit donc un volume par unité de temps.

$V$  le volume de la culture dans le chémostat.

*Le processus biologique* est la capacité des cellules à se diviser, c'est-à-dire à augmenter la biomasse de la population qui compensera les pertes par évacuation. Cette capacité à se diviser n'est autre que le taux de croissance  $\mu$  (défini plus haut)

En conséquence :

**Si  $\mu > D$**  : Les cellules se divisent plus vite qu'elles ne sont évacuées, leur nombre, donc leur concentration va augmenter dans le chémostat et la biomasse de la population augmentera.

**Si  $\mu < D$** . Les cellules se divisent moins vite qu'elles ne sont évacuées, la concentration va diminuer et la population finira par s'éteindre. On parle alors de **lessivage ou de rinçage de la culture**.

**Si  $\mu = D$**  : l'état de la culture est **stable**, le nombre de cellules demeure (du moins en théorie) constant dans le temps puisque le nombre de cellules évacuées avec le milieu sortant est remplacé par un nombre égal de cellules obtenues par leur multiplication au sein du récipient.

*Remarque* : Il ne faut pas confondre cet « état stable » de la culture continue avec « la phase stationnaire » de la culture en batch. Ils correspondent à des états physiologiques du phytoplancton très différents. Pendant la phase stationnaire d'une culture en batch, le taux de croissance est nul ( $\mu = 0$ ), les cellules sont en « repos » ou en latence. Au contraire pendant l'état stationnaire de la culture continue les cellules sont actives et se divisent ; le taux de croissance peut couvrir tout une gamme de valeurs qui vont dépendre du taux de dilution imposé par l'expérimentateur.

Cette équation très simple fait plusieurs hypothèses qu'il faut garder à l'esprit, surtout quand il s'agira de transposer le concept à des bassins aquacoles :

- Elle suppose que le *taux de mortalité des cellules est très inférieur* au taux de croissance et donc qu'il peut être négligé. C'est une hypothèse raisonnable dans la plupart des cas au laboratoire pour des cellules en phase exponentielle de croissance, mais elle peut être incorrecte quand les cultures ont un très faible taux de croissance, une très forte densité ou si elles sont soumises à des stress environnementaux.
- Elle suppose aussi que *le taux de mélange au sein de la culture est suffisant* pour que les cellules soient uniformément réparties dans un milieu homogène.
- Comme les algues requièrent de la lumière pour la photosynthèse, *le moment choisi pour les mesures doit toujours être le même* afin de tenir compte d'éventuels cycles nycthémeraux (jour/nuit) de division, de croissance ou d'indices utilisés pour mesurer la biomasse.

## Les deux types de limitation d'une culture de phytoplancton

En règle générale le terme de « limitation » d'une culture de phytoplancton (ou d'une autre culture végétale) est utilisé pour décrire toute forme de restriction de la production par un facteur environnemental (sels nutritifs,  $CO_2$ , lumière,... ou encore l'eau pour des cultures terrestres) dont la disponibilité n'est plus suffisante pour maintenir la croissance au rythme qu'elle avait jusque là. Mais ce terme **entretient la confusion car il se réfère à deux circonstances très différentes** dont les implications physiologiques et écologiques ne sont pas toujours bien comprises quand on parle de facteur « limitant ».

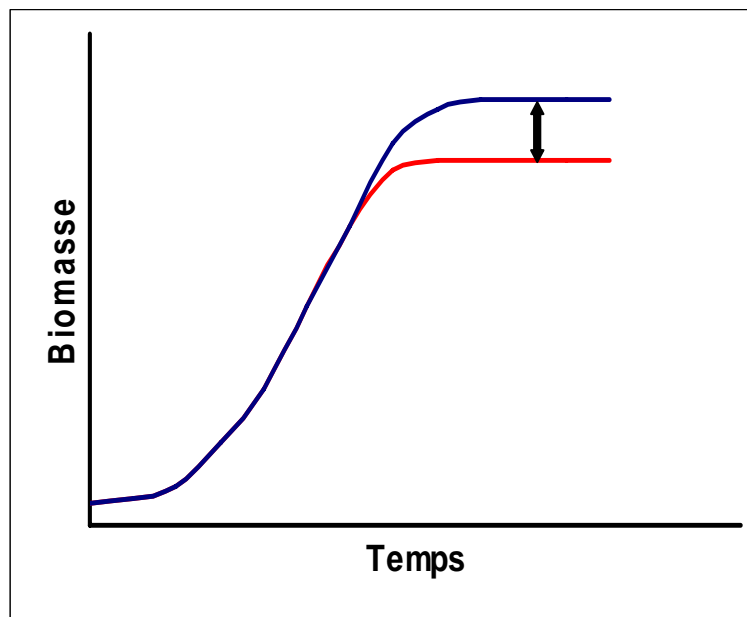
Il faut en effet distinguer **deux types de limitation**: la **limitation au sens de Liebig** et la **limitation au sens de Blackman**.



## La limitation au sens de Liebig

La loi du minimum de Liebig trouve ses bases en agronomie et elle concerne **le rapport ou le rendement d'une culture**. Cette loi prévoit que la récolte de la biomasse finale d'une culture sera conditionnée (= proportionnelle) à la concentration initiale du facteur le moins abondant vis-à-vis des besoins du végétal, et ce, **indépendamment de la vitesse** à laquelle la biomasse s'accumule.

Appliquée à une culture de phytoplancton elle se représente de la manière suivante (figure 3) :



**Figure 3.** Représentation schématique d'une culture où la **limitation de Liebig** s'applique. La récolte finale, qui correspond au maximum de biomasse atteint par la culture, est déterminée par l'abondance d'un seul facteur comme le veut la loi du minimum de Liebig. La différence de niveau entre les deux courbes à la fin de la culture, indiquée par la flèche, est causée par la différence d'abondance du facteur limitant introduit au début de la culture. On remarquera que pendant la phase exponentielle de croissance, les deux courbes ne se distinguent pas l'une de l'autre ce qui signifie que le facteur limitant n'est pas... limitant (!).

On a vu plus haut (paragraphe culture en batch) que la phase exponentielle se prolonge jusqu'à ce qu'un élément (un élément nutritif comme l'azote ou le phosphore ou encore le CO<sub>2</sub>), atteigne une valeur qui ne peut plus satisfaire la demande des cellules (fig 1b). A ce stade, les cellules sont soumises à l'équivalent de ce qu'on pourrait appeler un « jeûne » vis-à-vis de cet élément. Le terme anglosaxon de « **starvation** » (par opposition à « limitation », voir plus bas) traduit mieux **cet état de déséquilibre** : une forte demande par une biomasse élevée ne trouvant plus dans le milieu de quoi subvenir à ces besoins.

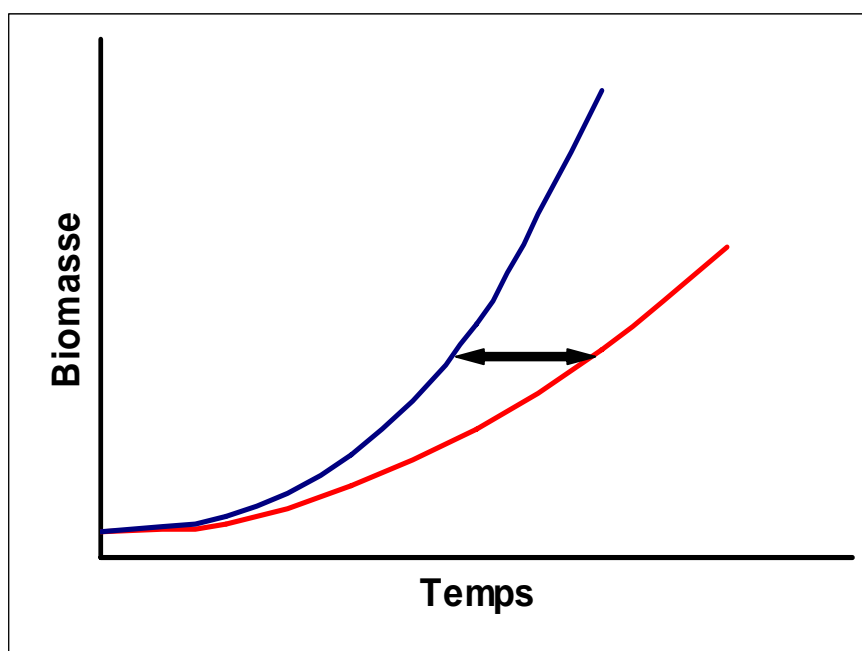
**Encadré N°3 : Exemple d'application de la loi de Liebig à une culture en batch**

Supposons qu'une espèce de phytoplancton assimile l'azote et le phosphore minéral dissous dans un rapport de 20 (at/at) ; ce qui veut dire que pour chaque atome de phosphore incorporé elle aura besoin pour « fonctionner normalement » de 20 atomes d'azote.

On réalise 2 cultures en batch d'un volume d'un litre avec des quantités initiales de 100  $\mu\text{atg N}$  dans les 2 cultures, 4  $\mu\text{atg P}$  dans la culture N°1 et 2  $\mu\text{atg P}$  dans la culture N°2. Selon la loi du minimum de Liebig, et en supposant qu'il n'existe aucune perte, la culture N°1 permettra d'obtenir une biomasse de phytoplancton équivalente à 80  $\mu\text{atg d'azote}$  ( $4 \times 20$ ), alors que la culture N°2 « plafonnera » à 40  $\mu\text{atg d'azote}$  ( $2 \times 20$ ). Dans les deux cultures, tout le phosphore aura été consommé (c'est le facteur limitant) tandis qu'il restera 20  $\mu\text{atg d'N}$  dans la culture N°1 et 40 dans la culture N°2. Pour que les deux éléments aient été complètement consommés, il aurait fallu ajouter initialement 5  $\mu\text{atg P}$  ( $5 \times 20 = 100$ ). Dans ce cas, on ne pourrait plus dire que le phosphore est l'élément limitant, mais le problème de la « starvation » demeurerait puisque la forte biomasse accumulée ne trouvera plus dans le milieu les 2 éléments nécessaires à sa croissance et même à sa survie.

**La limitation au sens de Blackman**

La limitation au sens de Blackman trouve ses bases dans **l'observation des vitesses de croissance** et non plus dans le rendement final. Elle se réfère aux effets d'un facteur régulant la vitesse d'un processus intervenant dans la croissance. Elle peut se représenter de la manière suivante (figure 4)



**Figure 4.** Représentation schématique d'une culture où la limitation de Blackman s'applique. Le taux de croissance est déterminé par la disponibilité d'un facteur limitant qui va freiner un ou plusieurs processus particuliers mais à laquelle les cellules peuvent s'adapter si on leur en donne le temps. La différence des taux de croissance est indiquée par la double flèche horizontale. Noter que dans ce cas les taux de croissance exponentiels sont différents, indépendamment du niveau de la récolte finale (voir texte et encadré N°4)

La manière dont fonctionne la limitation au sens de Blackman est moins évidente à saisir que la « starvation » de Liebig. Pour la comprendre on peut comparer une cellule phytoplanctonique à une « machine vivante » très complexe, aux multiples « rouages » interconnectés et hiérarchisés, (ce sont les réactions du métabolisme

cellulaire) mais qui, contrairement à une « machine mécanique » présente une **certaine capacité d'adaptation** aux conditions environnementales. En d'autres termes, le phytoplancton pourra poursuivre sa croissance même si tous les « rouages » (les réactions métaboliques) ne fonctionnent pas à leur vitesse optimale. En poursuivant l'analogie de la « machine », on peut dire que certaines parties des cellules vont **adapter leur composition cellulaire, sur la disponibilité de l'élément qui alimente la « rotation des rouages les plus lents »**. Mais **cette adaptation n'est pas instantanée** ; elle exige du temps, c'est à dire une ou deux générations (= une ou deux divisions des cellules) pour qu'un **équilibre finisse par s'instaurer** dans la culture entre la « sous-disponibilité » de l'élément limitant et la composition cellulaire vis-à-vis de cet élément.

En toute rigueur il faut aussi tenir compte des processus d'équilibrage liés à la physique du chémostat. En effet si on alimente un chémostat sans algue avec un milieu nourricier dont on supprime d'un seul coup le facteur limitant, il va falloir attendre un « certain temps » pour qu'il n'y en ait plus du tout dans le chémostat. Autrement dit quand on change le taux de dilution, les nouvelles conditions imposées à la culture ne se traduisent **pas par un nouvel environnement maintenu constant**, mais par un environnement qui tend asymptotiquement vers un nouvel état stable.

## Culture en batch et chémostat : quel type de limitation prévaut dans chaque mode de culture ?

Suite à ce qui a été décrit plus haut sur les deux modes de culture, on pourrait penser que la réponse à cette question est triviale : la culture en batch est le mode de culture où la « starvation » (limitation au sens de Liebig) va s'exercer, et la culture continue en chémostat celui où la « limitation » (limitation au sens de Blackman) prévaudra. Mais la réalité n'est pas si simple !

### Cas de la culture discontinue en batch

En se reportant à la figure 3, on peut distinguer 2 phases quant à l'effet du facteur limitant sur la croissance :

- une première phase où les 2 courbes sont confondues,
- une seconde phase où l'écart entre les 2 courbes s'accroît, puis devient constant.

Quand les courbes sont confondues, il n'y a pas de limitation vis-à-vis de l'élément limitant. Ce qui ne veut pas dire que la culture ne pourrait pas croître à une vitesse supérieure (ou inférieure) dans d'autres conditions de lumière, de température, etc., mais pour ce qui concerne l'élément testé dans ces conditions (un sel nutritif par exemple), la limitation est nulle.

Pendant la seconde phase, dont le début correspond exactement à la fin de la phase exponentielle de croissance pour les deux cultures, la limitation est de type « starvation » : les cellules ne trouvent plus dans le milieu de quoi satisfaire leurs exigences, le taux de croissance baisse jusqu'à s'annuler et la biomasse plafonne.

### Cas de la culture continue en chémostat

On a vu que dans le chémostat, la croissance du phytoplancton peut être maintenue en phase exponentielle et que son taux de croissance est réglé par le taux de renouvellement qu'on lui impose ; autrement dit le taux de croissance est

indépendant de la concentration de l'élément limitant dans le milieu de renouvellement. Cette propriété d'adaptation correspond bien à une limitation de type Blackman. (voir encadré N°4 «Le paradoxe de la culture continue en chémostat »).

**Encadré N°4 : Le paradoxe de la culture continue en chémostat : indépendance entre taux de croissance et concentration de l'élément limitant.**

On réalise une culture continue de phytoplancton alimentée par un milieu très limité en phosphore par rapport à l'azote, par exemple avec un rapport N/P = 160, (at/at), c'est-à-dire 10 fois la valeur du rapport de Redfield communément admise comme étant celle de la composition moyenne des cellules de phytoplancton dans l'océan. Supposons que, dans ces conditions de température et d'éclairement, le taux de renouvellement imposé soit proche du taux de croissance maximum des cellules ( $\mu_{\max}$ ). Contrairement à ce que le « bon sens » laisse supposer, non seulement le phytoplancton va croître à une vitesse proche de son  $\mu_{\max}$  mais son rapport N/P intracellulaire sera voisin de la valeur optimale (proche de 16, valeur du rapport de Redfield), exactement comme s'il n'y avait pas de limitation par le phosphore ! Si au contraire, toutes choses égales par ailleurs on impose un taux de renouvellement très faible ( $\sim 10\%$  du  $\mu_{\max}$ ) le phytoplancton va ralentir son taux de croissance d'autant et son rapport N/P intracellulaire sera beaucoup plus élevé (peut-être de l'ordre de 50 ou plus) traduisant une forte limitation par le phosphore. Ce résultat, totalement contre intuitif, montre qu'il ne faut pas confondre « concentration » et « disponibilité » d'un élément : la fourniture à « haut débit » d'un élément limitant permet aux cellules d'ajuster leur composition de manière quasi-optimale parce que c'est le flux de cet élément qui compte dans un milieu où elles ne stagnent pas. Au contraire, à faible débit l'élément est moins disponible et le phytoplancton **est contraint à des ajustements** qui vont diminuer les rapports N/P dans la cellule. Le phytoplancton ne meurt pas, il s'adapte après quelques générations. Nous sommes dans le cas de la limitation de Blackman.

Mais la théorie du fonctionnement du chémostat nous apprend (et les expériences le vérifient) qu'à l'état stable, non seulement le niveau de biomasse du phytoplancton, pour un taux de dilution donné, est constant, mais il est aussi proportionnel à la concentration de l'élément limitant (si la biomasse est exprimée dans la même unité) dans le milieu nourricier. Cela s'explique par le fait que la concentration résiduelle de l'élément nutritif limitant dans le trop plein est une petite fraction de sa concentration initiale dans le milieu nourricier : si par exemple le milieu nourricier contient 50  $\mu\text{atg/l}$  N sous forme de nitrate, et s'il n'y a pas de pertes par excréation d'azote organique dissous, la concentration d'azote particulaire sous forme de phytoplancton sera proche de 50  $\mu\text{atg/l}$  dans le chémostat.

Pourquoi ?

Parce que la très grande affinité des cellules pour les nutriments fait que presque tout l'élément limitant dans le chémostat est consommé, de sorte que la biomasse particulaire exprimée dans l'unité du facteur limitant est égale à la concentration de ce dernier dans le milieu nourricier. Voilà pourquoi le niveau de biomasse dans le chémostat à l'équilibre est proportionnel à la concentration du facteur limitant. Or ces caractéristiques se rapprochent d'une limitation de type « starvation ». Ce n'est qu'à l'approche du  $\mu_{\max}$  (taux de croissance maximal, fort taux de dilution proche du lessivage de la culture) que la concentration résiduelle de cet élément commence à augmenter dans le chémostat.

En définitive, dans un chémostat à l'équilibre, le taux de croissance de la culture est régi par une limitation de type Blackman ( $\mu^* = D$ ) et son niveau de biomasse par une limitation de type Liebig.

## En résumé

Culture en batch et culture continue en chémostat ont des propriétés à la fois semblables et différentes.

La culture en batch est une culture en milieu clos, dont les cellules passent par une phase de croissance exponentielle pendant laquelle elles ne subissent pas de limitation et où les paramètres de croissance varient dans une gamme qui n'affecte pas la stabilité du taux de croissance ; on peut dire que la croissance y est « équilibrée ». La culture « bascule » ensuite dans une phase de « starvation » faute de pouvoir s'adapter aux conditions changeantes du milieu, conditions que le phytoplancton a contribué lui-même à changer en épuisant le milieu en augmentant sa biomasse. Pendant cette phase les cellules sont en déséquilibre par rapport à la disponibilité en sels nutritifs.

La culture continue en chémostat est au contraire une culture en milieu ouvert, dans laquelle un équilibre s'instaure entre la disponibilité de l'élément limitant et la croissance des cellules. A l'équilibre, le taux de croissance du phytoplancton dépend uniquement du taux de renouvellement (= de dilution) du milieu de culture, tandis que le niveau de la biomasse entretenu dans le chémostat dépend de la concentration de l'élément limitant dans le milieu nourricier. Il en résulte que dans ce type de culture, le phytoplancton peut, en théorie du moins, être entretenu « indéfiniment » à un taux de croissance élevé sans que le niveau de biomasse le soit.

### Encadré N°5 : Pour le fun...

On a l'habitude d'associer biomasse élevée et taux de croissance élevé, comme si l'abondance allait nécessairement de paire avec une croissance rapide. C'est ainsi que l'on a longtemps cru que dans les vastes zones oligotrophes des océans centraux, les taux de croissance du phytoplancton étaient très faibles. On ne voyait pas comment ces régions, où les sels nutritifs sont à des concentrations à peine détectables, où les valeurs de chlorophylle sont inférieures à 0,1µg/l, auraient pu abriter un phytoplancton actif ! Or il a été démontré autour des années 1980 que ces zones, loin de ressembler à des « déserts biologiques » étaient habitées par un réseau trophique très dynamique composé d'organismes de très petites tailles. Autrement dit qu'il peut exister simultanément des taux de croissance élevés avec des niveaux de biomasse et des concentrations en sels nutritifs très faibles. En d'autres termes une indépendance quasi-totale entre biomasse et taux de croissance. L'analogie avec la culture continue n'a pas été pour rien dans cette découverte majeure de l'océanographie biologique de la fin du XX<sup>ème</sup> siècle.

## Culture de phytoplancton et bassin d'élevage

En apparence, les conditions qui règnent dans un bassin aquacole à fond de terre sont très éloignées de celles d'une culture en batch ou d'une culture continue pratiquée au laboratoire. A part le fait que du phytoplancton pousse en grande abondance dans ces milieux, on pourrait se demander en quoi la connaissance des caractéristiques des cultures au laboratoire peut aider l'aquaculteur à mieux contrôler ses blooms de phytoplancton.

En effet :

- Contrairement aux cultures en batch ou en chémostat plusieurs espèces de phytoplancton cohabitent et/ou se succèdent dans un bassin au cours de l'élevage. Leur biomasse mais aussi **leurs proportions varient en fonction des fluctuations environnementales**. La manipulation des apports et des rapports des éléments nutritifs jouera à la fois sur l'abondance et les capacités

d'adaptations physiologiques de plusieurs espèces qui se retrouvent en compétition.

- **Le zooplancton herbivore** est omniprésent et son action est un élément de variabilité supplémentaire sur la dynamique du phytoplancton. Quand il est de petite taille (nanoflagellés) il possède des taux de croissance intrinsèques très élevés (comme d'ailleurs les méduses et le plancton gélatineux), du même ordre de grandeur que ceux du phytoplancton. Il est alors capable de «décimer» une population phytoplanctonique très rapidement.

- **Les virus et bactériophages.** Depuis le début des années 1990, la découverte que les virus peuvent être les organismes planctoniques les plus abondants dans les eaux naturelles -leur nombre pouvant surpasser d'un ordre de grandeur celui des bactéries-, a inspiré un regain d'intérêt pour ce compartiment planctonique très mal connu. On sait aujourd'hui que les virus forment une composante très dynamique du plancton, variant énormément en fonction de la localisation géographique et de la saison. L'influence de l'infection virale et de la lyse sur les bactéries et le phytoplancton, appréhendée avec des nouveaux concepts (hôte-parasite) et des nouvelles méthodes (relatives à la génétique moléculaire) ont montré que les infections virales peuvent avoir un impact significatif sur les bactéries et le phytoplancton.

- Bien qu'à notre connaissance, aucune étude de bactérioplancton n'ait été conduite spécifiquement dans les bassins aquacoles, il est fort probable qu'il joue, ici comme ailleurs, un rôle que l'on sous-estime.

- **L'aliment distribué** n'est pas entièrement consommé par les crevettes. Une part inconnue se retrouve sur le fond ou dans la colonne d'eau. Cette part, en partie reprise par les bactéries et probablement croissante au fur et à mesure que les quantités distribuées augmentent avec la charge des animaux, entraîne une fertilisation difficile à estimer dans les apports nutritifs destinés au phytoplancton.

- **Les crevettes elles-mêmes excrètent** de l'ammonium et du phosphate qui seront assimilés par le phytoplancton. Elles prennent de plus en plus d'importance au fur et à mesure que l'élevage progresse. Ne pas tenir compte des flux d'azote et de phosphore qu'elles excrètent dans le programme de fertilisation reviendrait à surestimer les apports.

- **Le sédiment** du fond de bassin joue un rôle considérable avec des capacités de piégeage et de relargage non contrôlés, tant de nature physique que biologique qui vont interférer sur la dynamique du phytoplancton.

- **Un bassin de plusieurs hectares n'est pas homogène.** On est loin du milieu réputé homogène des cultures au laboratoire. Des zones de circulation préférentielle ou au contraire des zones plus ou moins stagnantes existent dans un bassin. On ne peut donc pas être assuré que les fertilisants, même distribués sur toute la surface, seront «équi-répartis». De même l'eau de sortie n'est pas toujours représentative de l'eau «moyenne» du bassin.

- Enfin, le but de l'aquaculteur est de produire des crevettes et non pas du phytoplancton ! Il peut donc être amené à **prendre des décisions contraires** à celles qui seraient optimales pour une bonne gestion du phytoplancton, mais nécessaires à la survie de son cheptel... !

Pour toutes ces raisons, il serait vain de croire que l'on puisse obtenir des cultures de phytoplancton aussi maîtrisées dans un bassin d'élevage que dans un ballon ou un bac au laboratoire. Cependant malgré la complexité du système, son état par définition non stationnaire (les crevettes grandissent, la charge des animaux aussi, les intrants augmentent) et les causes nombreuses de variabilité associées, l'application au bassin de quelques principes issus de la culture du phytoplancton au laboratoire devrait se révéler utile.

## Les applications au bassin : ce vers quoi il faudrait tendre

Dans la mesure du possible il faut tenter de :

- Maintenir les cellules à un taux de croissance relativement élevé,
- Maintenir un niveau de biomasse phytoplanctonique dans une fourchette que l'on se fixe empiriquement,
- Obtenir une biomasse la moins variable possible (tant en amplitude qu'en rapidité).

## Quels sont les avantages de maintenir le phytoplancton à un taux de croissance relativement élevé dans les bassins ?

On sait qu'en condition de croissance rapide, les cellules sénescents ou mortes sont rares. Or les cellules sénescents perdent leur flottabilité légèrement positive et tombent sur le fond. De même il a été montré expérimentalement que pendant cette phase, l'excrétion organique du phytoplancton reste faible. Il en résulte que du phytoplancton **en phase exponentielle de croissance produit un maximum de cellules et un minimum de déchets organiques**. Or ces déchets organiques, on l'a vu, alimentent le bactérioplancton, et notamment les *Vibrio*.

Autre avantage : puisque les processus anabolisants (construction de matière vivante) l'emportent largement sur les processus catabolisants (respiration, élimination des déchets), **le bilan net en oxygène d'une culture de phytoplancton en phase active de croissance est nettement positif** alors qu'il peut être nul, voire négatif en phase de sénescence (quand un bloom est en train de chuter sur le fond par exemple).

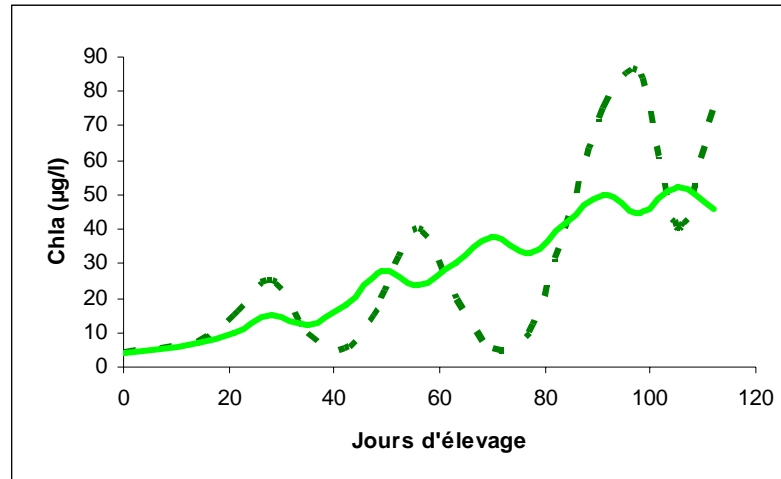
Il y a donc un double intérêt, pour celui qui veut utiliser au mieux les propriétés du phytoplancton (source trophique et production d'oxygène) tout en minorant la production des déchets du métabolisme (qui seront consommés par les bactéries, elle-même consommatrices d'oxygène), à maintenir la culture dans sa phase exponentielle de croissance.

## Avantages d'un niveau de biomasse phytoplanctonique le moins variable possible.

Des valeurs très élevées de chlorophylle ( $> \sim 60 \mu\text{g}/\text{l}$ ) engendrent des sursaturations en oxygène telles ( $\sim > 180\%$ ) qu'il se produit une évaporation d'oxygène vers l'atmosphère pendant l'après-midi (en particulier s'il y a du vent) ; autrement dit, **au-delà d'une certaine biomasse l'oxygène produit par le phytoplancton est perdu pour le système** (donc pour la crevette). En revanche cette biomasse phytoplanctonique respire pendant la nuit et pompe une partie de l'oxygène dissous dont les crevettes ont besoin.

De plus, cette alternance de sursaturations/sous saturations extrêmes est néfaste en elle-même pour les animaux qui doivent en permanence faire des efforts d'adaptation au détriment de leur résistance, voire de leur croissance. Elle peut même être néfaste pour certaines espèces et cultures de phytoplancton très denses (formation de radicaux libres toxiques pour le photosystème II).

Compte tenu de la charge croissante des intrants dans un élevage, il est très difficile de maintenir le phytoplancton à un niveau constant de biomasse du début jusqu'à la fin mais **il faut tendre vers une augmentation lente et sans à coups** (figure 5).



**Figure 5.** Deux exemples de progression des biomasses phytoplanctoniques dans un bassin à crevettes ; ce qu'il faut éviter (trait discontinu): de brusques montées suivies d'effondrements spectaculaires; ce vers quoi il faut tendre (trait continu): une lente et régulière progression en minimisant les maxima et les minima de chlorophylle *a*.

## Le bassin d'élevage : une culture semi-continue de phytoplancton

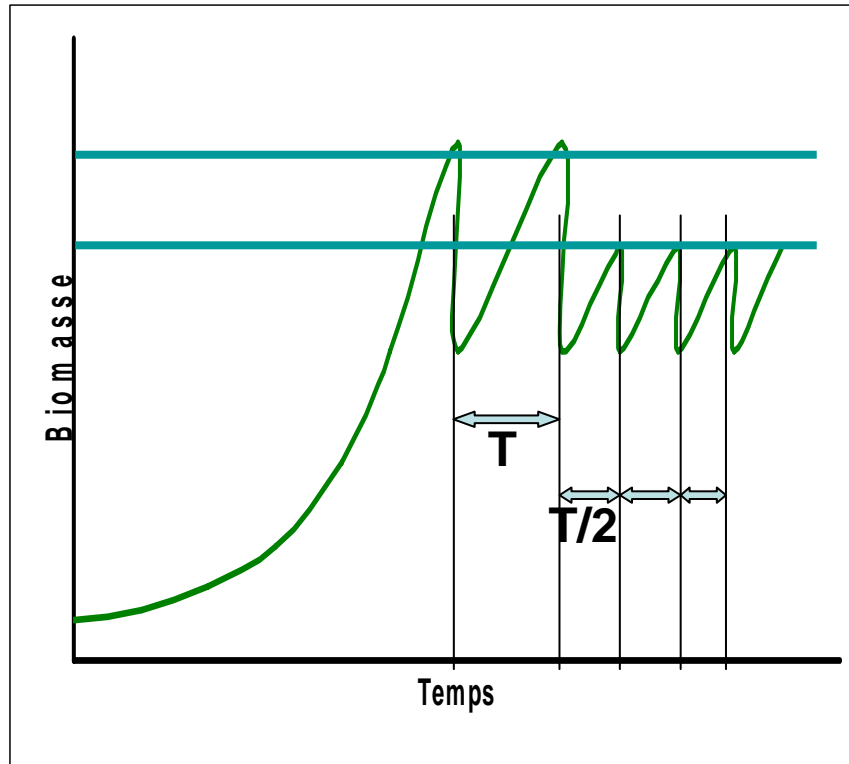
Pour atteindre l'objectif d'une augmentation lente et régulière le mode de culture en batch est inapproprié puisqu'il débouche sur de fortes biomasses « en manque » qu'il faudra évacuer rapidement faute de quoi elles pourriront sur place et provoqueront des anoxies. La culture continue est donc le mode qui convient puisqu'il permet à la fois de maintenir les cellules avec un taux de croissance élevé et une biomasse à un niveau désiré.

Il se trouve que par construction les bassins à crevettes se « rapprochent » d'un chémostat puisqu'ils sont munis d'une entrée d'eau et d'une ou plusieurs sortie(s) fonctionnant comme un trop plein (dont on peut d'ailleurs fixer le niveau). Cependant pour de multiples raisons (contraintes zootechniques, indisponibilité en eau de mer de renouvellement à toute heure du jour et de la nuit, contraintes économiques) il est impossible de mettre en œuvre une culture continue. Il faut donc avoir recours à une méthode intermédiaire, mais qui se rapprochera le plus possible de la culture continue. C'est celui de **la culture semi-continue**.

Ce mode de culture est proche de celui décrit dans le chémostat à cette différence près que l'apport d'eau et de fertilisant d'une part et la vidange par le trop plein du bassin d'autre part se font de manière séquentielle et découplée. Il en découle qu'en théorie la biomasse du phytoplancton ne peut être constante puisqu'il existe



un décalage entre les périodes de renouvellement et de fertilisation et les sorties d'eau (par exemple on profite des heures qui entourent la marée haute pour apporter de l'eau du lagon et les fertilisants dans le bassin, et l'évacuation par le trop plein se fera dans les heures qui entourent la marée basse). Dans ce cas, le phytoplancton peut avoir le temps de développer des « mini-blooms » avant d'être évacué. Toutes choses égales par ailleurs, l'amplitude des fluctuations est inversement proportionnelle à la fréquence des apports (fig. 6). La culture semi-continue pourrait être qualifiée de « mini-batch à répétition » (« mini » dans le sens où les pics de biomasse sont écrêtés par la vidange partielle).



**Figure 6.** Evolution théorique de la biomasse dans une culture semi-continue qui atteint son équilibre. Quand la biomasse a atteint le niveau souhaité (trait horizontal du haut), on en évacue rapidement (à l'échelle de la culture on considère que c'est instantané) une partie par le trop plein. Le volume évacué est remplacé immédiatement par un même volume d'eau qui contient les éléments nutritifs dont un est limitant. Après un temps  $T$ , la biomasse atteint à nouveau son niveau précédent. Si on évacue après un temps  $T/2$  au lieu de  $T$ , la biomasse atteint un niveau inférieur. Plus la fréquence des renouvellements est élevée, plus on se rapproche de la culture continue.

## Mise en œuvre d'une culture semi-continue en bassin: les facteurs à prendre en compte

Rappelons que le principe consiste **(i)** à apporter les éléments nutritifs nécessaires à la croissance du phytoplancton dans des proportions telles que l'on soit certain que l'un d'entre eux sera limitant ; la concentration de ce dernier fixant le niveau de biomasse moyen dans le bassin, **(ii)** à assurer un taux de renouvellement suffisant pour que le taux de croissance du phytoplancton dans son ensemble soit positif. En résumé, cela revient à **maximaliser la « limitation » (*sensu* Blackman) et à minimaliser la « starvation » (*sensu* Liebig).**

### ***Le facteur limitant***

Il est recommandé que ce soit **le phosphore plutôt que l'azote**. Ceci parce que les cyanobactéries, (qui fixent l'azote moléculaire N<sub>2</sub> dissous dans l'eau, ce dernier toujours à saturation donc en excès par rapport aux besoins des cyanobactéries qui ne seront donc jamais limitées en azote) risquent de prendre le pas sur les autres groupes si elles ont à leur disposition du phosphate en abondance. Or les cyanobactéries sont nuisibles dans le système, dans le sens où elles forment des tapis sur le fond et ne sont pas ou peu consommées par les crevettes et le benthos. **On fixera donc un rapport N/P (at/at) nettement en défaveur du phosphore, par exemple, pas moins de 30** (entre 30 et 50, ce qui équivaut à 2-3 fois le rapport classique de Redfield, égal à 16). Par exemple, sachant qu'un kilogramme d'urée équivaut à 33 atg-N et qu'un kilogramme de Triple Super Phosphate (TSP) équivaut à 5,4 atg-P soluble, **si l'on veut obtenir un rapport N/P (at/at) de 30, il faudra apporter 6 kg d'urée pour 1 kg de TSP**. Mais le rapport N/P n'est pas forcément le seul critère déterminant pour une limitation par le phosphore. Il faut par exemple veiller à ce qu'un autre facteur (comme la lumière par auto-ombrage, ou le carbone minéral) ne devienne pas limitant avant P quand la biomasse atteint de très fortes valeurs. D'où la nécessité de contrôler le niveau de biomasse.

### ***Le niveau de biomasse : viser un maximum de 40-50 µg Chla/l en fin d'élevage.***

Pour fixer le niveau de biomasse phytoplanctonique souhaité on se souviendra que pour fabriquer un g de chlorophylle *a* le phytoplancton utilise environ un atg d'azote (en culture axénique, sans aucune perte). Dans un bassin, avec toutes les causes de pertes possibles, on peut largement doubler cette estimation. Ce qui revient à dire que si l'on cherche à obtenir 50µg/l de Chla il faudra apporter 100 µatg N/l. Pour fixer les idées, cette quantité correspond à l'apport de 30 Kg/ha d'urée (pour un bassin ayant une profondeur d'un mètre), donc un apport de 5kg/ha de TSP si le rapport N/P est fixé à 30.

Cette quantité ne doit pas être apportée en une seule fois car on se retrouverait dans le cas de figure d'une culture en batch avec tous les inconvénients décrits plus haut.

Compte tenu de la nature différente du foncier, de la complexité et de la variabilité du système, il paraît difficile de recommander des doses constantes, valables pour tous les élevages de toute la Nouvelle-Calédonie en toutes saisons.

Il sera préférable de **procéder empiriquement** en mesurant périodiquement des variables de contrôle (variables « primaires » et variables « secondaires », voir ci-dessous) qui permettront de savoir où l'on se trouve par rapport aux objectifs fixés. Il faudra tenir compte, dans les calculs d'apport d'engrais, de l'azote et du phosphore ajouté par les aliments qui, à part les quantités que l'on retrouve dans la biomasse des crevettes se retrouvent dans le bassin à l'échéance de quelques jours (il est admis que les formes organiques sont *in fine* minéralisées et assimilées par le phytoplancton).

Ces variables seront de préférence mesurées dans un périmètre proche de la sortie (ou des sorties) du bassin en partant du principe, pas toujours vérifié, que l'eau de sortie est représentative de tout ce qui s'est passé dans le bassin depuis le dernier apport d'eau et de fertilisants.

Si les contraintes topographiques, techniques et humaines le permettent on aura intérêt, à volumes et quantités égales, compte tenu des propriétés de la culture semi-continue, à procéder à des apports d'eau, de fertilisants et des évacuations les plus simultanés possibles.

### ***Les variables primaires.***

Ce sont celles qui sont « en prise directe » sur la biomasse phytoplanctonique : les engrais et les flux d'eau. Elles sont au nombre de trois : *la Fluorescence* in vivo de la chlorophylle, *le phosphate* (plus éventuellement *la forme d'azote ajouté*) et le *taux de renouvellement*.

#### *La Fluorescence in vivo.*

A défaut de pouvoir mesurer la chlorophylle *a* qui est de loin, quoiqu'imparfaite, la meilleure estimation de la biomasse phytoplanctonique globale dans un milieu aquatique « naturel », la Fluorescence *in vivo* de la chlorophylle *a* (*F in vivo*) est un « proxy » utilisé par de nombreux biologistes marins pour sa simplicité et sa rapidité. La *F in vivo* étant un moyen pour les chloroplastes d'éliminer l'excès d'énergie non utilisée par la photosynthèse; son intensité est donc très dépendante de l'histoire lumineuse récente des cellules. Elle est aussi thermo-dépendante et présente donc des cycles nyctéméraux. C'est pourquoi on recommande de prendre quelques précautions : (i) maintien des échantillons au moins une heure à l'abri de l'exposition directe du soleil (par exemple dans une pièce munie de stores), (ii) mesure à la même heure de la journée (iii) à une température relativement constante. Ainsi on minimisera significativement les causes de variabilité du rapport *F in vivo*/Chl*a*.

Des petits fluorimètres de terrain (*Aquafluor*<sup>TM</sup>, Turner Designs) qui mesurent également la turbidité sont disponibles sur le marché.

#### *Le phosphate et les autres fertilisants.*

Il est important de mesurer les concentrations en phosphate, ne serait-ce que pour vérifier que c'est bien lui le facteur limitant. On estime généralement qu'une teneur résiduelle de l'ordre de 0,2µatg/l de PO<sub>4</sub>-P est satisfaisante pour diminuer les risques de prolifération des cyanobactéries tout en permettant la croissance des autres groupes de phytoplancton.

Une mesure simultanée de l'azote, même si elle n'est théoriquement pas nécessaire est souhaitable pour estimer la fourchette au sein de laquelle fluctue le rapport N/P dans l'eau.

#### *Le taux de renouvellement.*

On a vu qu'en théorie, c'est lui qui fixe le taux de croissance du phytoplancton. Ce qui veut dire, (à biomasse constante et sans d'autres pertes que l'évacuation par la sortie !) qu'un taux de renouvellement journalier de 20% correspond, à l'équilibre et en théorie, à un taux de croissance de 0,2 J<sup>-1</sup>.

### ***Les variables secondaires***

Rappelons que le terme « secondaire » est employé ici par rapport à son importance vis-à-vis du phytoplancton. Certaines variables comme la température ou l'oxygène sont évidemment primordiales pour la conduite de l'élevage. D'ailleurs la plupart de ces variables sont déjà mesurées en routine par l'aquaculteur.

*La température.*

Toutes choses égales par ailleurs, le taux de croissance du phytoplancton dépend de la température. Eppley (1972) a établi que le  $Q_{10}$  moyen serait de l'ordre de 1,7 (le  $Q_{10}$  étant le facteur par lequel une activité métabolique quelconque est multipliée quand la température s'élève de 10°C. Pour simplifier on supposera que le  $Q_{10}$  du phytoplancton est égal à 2. En clair, toutes choses égales par ailleurs, le phytoplancton à 20°C pousse en moyenne deux fois moins vite qu'à 30°C. C'est une donnée qu'il faut avoir en tête.

*Comptage et identification des cellules.*

Mesure couramment pratiquée par les aquaculteurs, elle doit être perçue davantage comme un indicateur qualitatif que quantitatif. Il est en effet très difficile de relier la biomasse globale du phytoplancton aux comptages des cellules quand plusieurs espèces se développent simultanément. Quels facteurs de conversion adopter selon le type de cellules ? C'est une question sur laquelle les spécialistes ne sont pas tous d'accord...

**Encadré N°6 : Quelle forme d'azote utiliser et quelle forme doser ?****- Urée, ammonium ou nitrate : quel est le fertilisant azoté idéal ?**

L'urée est le seul fertilisant (azoté ou pas) autorisé dans les bassins de la crevetteculture calédonienne. Le bien-fondé technico-scientifique de ce choix n'est pas évident. En effet, **l'urée est une molécule organique** qui, bien qu'assimilée directement par la plupart des espèces de phytoplancton pour l'azote qu'elle contient, peut favoriser le développement d'espèces mixotrophes ou hétérotrophes. Ces espèces pratiquent la photosynthèse de manière facultative (mixotrophes) ou pas du tout (hétérotrophes), et de ce fait ont **besoin d'une forme organique de carbone** pour se développer. Or l'urée est une petite molécule carbonée, facilement assimilable (poids moléculaire = 60). De même, certaines bactéries et certains vibrios sont capables d'utiliser l'urée comme seule source de carbone, d'azote et d'énergie.

Il se trouve que le groupe des dinoflagellés, bien connu pour ses espèces toxiques ou simplement ses effets « d'eau rouge » est celui qui renferme le plus de formes mixotrophes et hétérotrophes. Bien que l'on ne puisse pas aujourd'hui apporter la preuve que la fertilisation par l'urée favorise le développement des dinoflagellés dans les bassins et, encore moins, le développement d'algues toxiques, l'application du simple principe de précaution voudrait que l'on remplace cette forme d'azote organique par une forme minérale comme l'ammonium ou le nitrate.

L'avantage du nitrate ( $\text{NO}_3$ ) sur l'ammonium, est qu'il s'agit d'une forme oxydée alors que l'ammonium est une forme réduite. Il a été démontré expérimentalement que le « quotient photosynthétique », (quotient qui exprime la quantité d'oxygène libéré par unité de carbone fixé par les cellules) est entre 1,5 et 2 fois supérieur pour du phytoplancton alimenté par du  $\text{NO}_3$  par rapport à celui alimenté par de l'ammonium ou de l'urée (autre forme réduite de l'azote).

Quand on connaît le rôle majeur du phytoplancton dans la fourniture d'oxygène à l'écosystème bassin, on perçoit l'intérêt qu'il y aurait à utiliser du  $\text{NO}_3$  à la place de l'urée. Non pas pour augmenter encore le niveau d'oxygène, mais pour diminuer le niveau de biomasse du phytoplancton obtenu avec de l'urée tout en maintenant une production d'oxygène égale !

**Quelle forme d'azote doser ?**

Il faut doser la forme sous **laquelle l'azote a été introduit** comme fertilisant dans le bassin. Par exemple, ne doser que l'ammonium dans un bassin fertilisé à l'urée ne renseigne en rien sur le statut de l'azote puisque **l'urée est assimilée directement par le phytoplancton** sans qu'il y ait production d'ammonium dans l'eau. Des expériences en « batch cultures » conduites au DAC le montrent bien : l'urée ajoutée à la concentration initiale de 50  $\mu\text{atgN/l}$  décroît pendant que, de manière quasiment symétrique la Chl $a$  croît jusqu'à  $\sim 50\mu\text{g/l}$  sans qu'apparaisse d'ammonium dans le bac.

*L'oxygène.*

Variable essentielle que les aquaculteurs mesurent très régulièrement (au minimum 2 fois par 24h) étant donnée son importance pour la respiration du cheptel. Mais l'oxygène est également nécessaire au bon fonctionnement de l'ensemble du réseau trophique aérobie et en particulier à l'activité des bactéries de la minéralisation de la matière organique sur le fond. Cependant « point trop n'en faut » ! La comparaison *F in vivo*-O<sub>2</sub> produit dans la journée est intéressante de ce point de vue car elle donne une indication sur le niveau de phytoplancton à ne pas dépasser dans le bassin : S'il n'y a plus proportionnalité, en fin d'après midi, entre *F in vivo* et pourcentage de saturation d'O<sub>2</sub>, cela signifie qu'une partie de l'oxygène produit par la photosynthèse des algues s'échappe vers l'atmosphère. Il est donc perdu pour le système.

*Le Secchi et la turbidité.*

La mesure de la profondeur de disparition du disque de Secchi est également pratiquée en routine par les aquaculteurs pour apprécier la transparence de l'eau. Cette mesure pourra être avantageusement complétée par des mesures de turbidité (mesures effectuées par le même appareil que le fluorimètre de terrain cité plus haut) qui présente l'avantage de donner les résultats plus précis et surtout en unités normalisées (NTU, Nephelometric Turbidity Units).

**Diatomées ou pas diatomées ?**

“Diatoms are considered a better food for shrimps than other types of algae and the common high abundance of diatoms in brackish waters is viewed with favor by ponds manager” (Boyd, 1996).

Plus qu'une démonstration objective du bienfait des diatomées pour les crevettes, cette réputation vient du fait que dans les milieux tempérés ce sont elles qui se développent en premier lors des blooms printaniers ou qui dominent dans les grands upwellings côtiers tropicaux. Ces blooms sont un facteur de richesse pour les réseaux trophiques qui en dépendent (larves de poisson, zooplancton, petits pélagiques, mollusques en élevage, faune épibenthique...). De plus, à de très rares exceptions près, le groupe des diatomées ne comporte pas d'espèces toxiques. D'où l'idée de favoriser le développement des diatomées dans un bassin d'élevage de crevettes. Mais cette transposition n'est pas nécessairement justifiée, au moins pour deux raisons : D'une part, ce qu'on attend du phytoplancton dans un bassin d'élevage (voir introduction) ne relève pas du seul apanage des diatomées ; d'autres groupes peuvent remplir ces fonctions. D'autre part, pour leur développement les diatomées ont besoin de silicium, assimilé sous la forme d'acide orthosilicique, Si(OH)<sub>4</sub>, car elles sont constituées d'un frustule (sorte de « boîte avec un couvercle ») dont la matrice est riche en silicium. Le rapport Si/N idéal est en moyenne voisin de 1 (at/at), ce qui signifie qu'une culture de diatomées exige autant d'atomes de silicium que d'atomes d'azote ! Lors de la remise en eau, les diatomées peuvent se développer en abondance car un fond de bassin, riche en silicate d'alumine, libère des silicates en grande quantité. En revanche, une fois que ce premier bloom a épuisé la source, aucun des intrants (aliments, engrais, eau de renouvellement) ne contient suffisamment de silicates pour l'entretenir et elles sont vite limitées (au sens Liebig). Il faut donc ajouter une forme soluble et assimilable du silicium. Cette forme existe dans le commerce (silicate de sodium liquide, Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>O) mais son utilisation en grands volume, certes déjà réalisée, n'est pas aisée et son coût n'est pas neutre (voir les travaux d'Hussenot et collaborateurs).

En conséquence le bénéfice des diatomées n'étant pas avéré et la maîtrise de leur développement peu aisée et coûteuse, leur usage n'est pas entré dans la pratique journalière des aquaculteurs.

### Remerciements

L'auteur adresse ses plus sincères remerciements à **Antoine Sciandra**, Directeur de Recherche au CNRS (Observatoire de Villefranche sur Mer), spécialiste internationalement reconnu dans le domaine des cultures continues du phytoplancton qui a bien voulu assurer la relecture de cette note et ainsi vérifier qu'elle ne comportait pas d'erreurs et y compléter les fondements théoriques qui lui manquaient. L'auteur est aussi très redevable à **Luc Della Patrona**, cadre scientifique à IFREMER (DAC de Saint Vincent, Nouvelle-Calédonie) qui par ses conseils avisés, pratiques et diffusés en quasi-continu pendant les trois années de collaboration journalière lui a, bien au-delà de ce texte, appris tout ce qu'il sait sur « l'aquaculture zen » des crevettes en Calédonie...

## **Lectures complémentaires**

Burford, M. 1997. Phytoplankton dynamics in shrimp ponds. *Aqu. Res.* 28:351-360.

Clifford, H.C. 1994. Semi intensive sensation. A case study in marine shrimp pond management. *World aquaculture* 25:6-104.

Hussenot, J., Brossard, N., Lefebvre, S. 1997. 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. In Buchet V., Hussenot J., Eds « Marais maritimes et aquaculture : préservation et exploitation des zones humides littorales ». Ifremer Brest.

MacIntyre, H.L., Cullen, J.J. 2005. Using cultures to investigate the the physiological ecology of microalgae. In *Algal culturing techniques*, Ed. R.A. Andersen, Elsevier, 287-326. Les autres articles du livre « *Algal culturing techniques* » peuvent également être consultés avec profit.

Turner Designs 2004. Aquafluor™ Handheld Fluorometer and Turbidimeter. User's manual.

Wommack, K.E., Colwell, R.R. 2000. Viruses in Aquatic Ecosystems : Virioplankton. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64:69-114.

## ANNEXE 1

**Phase exponentielle de croissance et taux de croissance :  $\mu$  ( $T^{-1}$ ) et  $k$  (nombre de doublement par unité de temps).** (cf. l'exemple du passage de  $\mu$  à  $k$  dans l'encadré N°2)

Pendant la phase exponentielle de croissance, l'augmentation du nombre des cellules ( $dN$ ) par unité de temps ( $dt$ ) est proportionnelle au nombre de cellules présentes à l'instant  $t$  selon l'équation :

$$\mu = (1/N) dN/dt \text{ d'où}$$

$$dN/dt = \mu N \quad (1)$$

Si  $\mu$  est constant sur l'intervalle d'intégration  $\Delta t = t_1 - t_0$ , cette équation différentielle admet comme solution analytique une équation exponentielle :

$$N_t = N_0 e^{\mu(t-t_0)} \quad (2)$$

avec  $N_0$  la biomasse au temps  $t_0$ ,  
 $N_t$  la biomasse au temps  $t_1 > t_0$   
 $\mu$  le taux de croissance instantané.

On simplifie généralement l'écriture de l'équation 2 en écrivant que  $t = t_1 - t_0$

$$N_t = N_0 e^{\mu t} \quad (3)$$

**Pour calculer la valeur de  $\mu$** , la résolution de l'équation (3) se fait de la manière suivante :

$$N_t = N_0 e^{\mu t} \text{ peut s'écrire}$$

$$N_t / N_0 = e^{\mu t} \text{ ou encore} \quad (4)$$

$\ln$  étant le logarithme népérien et en se rappelant que  $\ln(e^a) = a$ , on peut écrire :

$$\ln(N_t / N_0) = \mu t \quad (5)$$

on en déduit  $\mu$  sur un intervalle de temps  $\Delta t$

$$\mu = \ln(N_t / N_0) / \Delta t \quad (6)$$

en tenant compte des propriétés des logarithmes  $\log(a/b) = \log(a) - \log(b)$   
 et en considérant l'intervalle de temps  $\Delta t = (t_1 - t_0)$   
 on peut encore écrire :

$$\mu = \ln(N_1) - \ln(N_0) / (t - t_0) \quad (7)$$

**Pour obtenir k**, c'est-à-dire **le taux de croissance exprimé en nombre de doublements par unité de temps**, il suffit de diviser  $\mu$  par le log népérien de 2, suivant la formule :

$$k = \mu / \ln (2) = \mu / 0,693 \quad (8)$$

En combinant (6) et (8), le nombre de divisions par unité de temps peut être calculé directement à partir des variations de biomasse pendant l'intervalle de temps considéré :

$$k = \log_2 (N_t / N_0) / (t - t_0)$$



## ANNEXE 2

**Equivalences entre azote et différentes formes d'engrais, Tri-Super-Phosphate et phosphate, grammes et atome-grammes, concentrations par litre et quantités par hectares.**

### Engrais utilisés :

Fertilisant azoté : urée, nitrate de calcium, nitrate de potassium  
Fertilisant phosphoré : Triple Super Phosphate (TSP)

**Formule chimique, poids moléculaire (PM) et teneur en azote et phosphore :**

**Urée** :  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$

PM = 60 ; teneur en azote 46,5 % (en poids) d'après la formule (produit pur). Le fabricant indique 46%. On est donc dans les clous !

Il y a 2 atomes d'azote par molécule d'urée, un atome-gramme d'N (atg-N) équivaut donc à 30 g d'urée ; Comme l'urée utilisée est pure et qu'elle se dissout totalement et rapidement dans l'eau de mer, on peut appliquer cette formule de conversion :

**1kg d'urée équivaut à 33 atg-N (1000/30).**

**Nitrate de calcium** :  $5 \text{Ca}(\text{NO}_3)_2, \text{NH}_4\text{NO}_3, 10\text{H}_2\text{O}$

PM= 1080, teneur en N : sous forme de nitrate = 14,3% et sous forme de  $\text{NH}_4$  = 1,3% selon la formule (produit pur), le fabricant donne respectivement 14,4% et 1,1%. On est encore dans les clous !

Il y a 11 atomes d'azote sous forme de  $\text{NO}_3$  (noté N- $\text{NO}_3$ ) et 1 atome d'azote sous forme d'ammonium (noté N- $\text{NH}_4$ ) par molécule de nitrate de calcium. Comme les analyses du fabricant et que le nitrate de calcium est très soluble dans l'eau on peut appliquer cette formule de conversion :

**1 kg de nitrate de calcium équivaut à 10,2 atg N- $\text{NO}_3$  (arrondi à 10) et 0,93 atg N- $\text{NH}_4$  (arrondi à 0,9).**

**Nitrate de potassium** :  $\text{KNO}_3$

PM= 101, teneur en N- $\text{NO}_3$  = 13,9 % selon la formule (produit pur), le fabricant donne 13,3% (donc présence de quelques impuretés). Il y a 1 atome d' N- $\text{NO}_3$  par molécule de nitrate de potassium, et comme il y a une très légère différence avec le fabricant (des impuretés ?) on prendra la teneur indiquée par le fabricant. Ce qui fait que pour obtenir 1 atg N- $\text{NO}_3$  il faut 101 (13,9/13,3) = 105,5 g de nitrate de potassium :

**1 kg de nitrate de potassium équivaut à 9,5 atg N- $\text{NO}_3$**

**Tri Super Phosphate, TSP** :  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \text{H}_2\text{O}$

PM = 252 selon Aminot (com. pers.) et  $\text{Ca}(\text{H}_3\text{PO}_4)_2$  PM = 236 selon la fiche technique d'un fabricant (Simplot).

L'unité habituelle en agriculture est le  $P_2O_5$  ; Le « poids moléculaire » de  $P_2O_5$  étant de 142 on devrait obtenir une teneur théorique (en poids) de  $P_2O_5$  respectivement de 56,3% (= 142/252) et 60% (= 142/236) si le produit est pur. Or le fabricant annonce une teneur de 45% en  $P_2O_5$  ce qui signifie que l'engrais n'est pas pur.

Comme il y a 2 atomes de P dans la « molécule » de  $P_2O_5$  (qui a un PM de 142), 71 g de  $P_2O_5$  correspondent à 1 atg-P.  
En conséquence, 1 atg-P correspond à  $71 \cdot 100 / 45 = 158$  g de TSP.

Mais il faut tenir compte du coefficient de solubilité dans l'eau de mer qui n'est que de ~85%

Au total **1atg-P** disponible équivaut à  $158 \cdot 100 / 85 = 186$  g de TSP ; ou encore **1 kg de TSP** correspond à **5,4 atg-P** (1000/186)

### Convertir des $\mu\text{atg/l}$ d'élément en kg/ha d'engrais : quelques exemples

Soit H (exprimé en mètres) la hauteur d'eau moyenne du bassin.  
Le volume d'eau d'un ha est  $10^4 \cdot H$

**Pour l'urée** : un atome-gramme d'N (atg-N) équivaut à 30 g d'urée  
Pour ajouter 1  $\mu\text{atg/l}$  (= 1  $\text{atg/m}^3$ ) il faudra donc ajouter  $30 \cdot 10^4 \cdot H$  mg d'urée soit 0,3 kg/ha pour un bassin d'1 mètre de profondeur

**Pour le TSP** : 1atome-gramme de P disponible équivaut à 186 g de TSP  
Pour ajouter 1  $\mu\text{atg/l}$  (= 1  $\text{atg/m}^3$ ) il faudra donc ajouter  $186 \cdot 10^4 \cdot H$  mg de TSP soit 1,86 kg/ha pour un bassin d'1 mètre de profondeur

En conséquence un **rapport N/P (at/at) = 30** équivaut à mettre les engrais dans les proportions de **1 Kg d'urée pour 200 g de TSP**.