

## Etude de diatomées d'écosystèmes marins côtiers. Observations nouvelles en microscopie électronique\*

Marie-Josèphe Chrétiennot-Dinet<sup>(1)</sup> et Nathalie Guillocheau<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> CREMA L'Houmeau, Case 5.17137 L'Houmeau, France

<sup>(2)</sup> IFREMER, Station d'Arcachon, quai du Cdt-Silhouette, 33120 Arcachon

**Résumé** : Le Bassin d'Arcachon (Gironde) et le Marais Castaing (Charente-Maritime) ont fait l'objet d'observations au microscope électronique sur des diatomées provenant de prélèvements *in situ*, de cultures et de broyats de larves d'huîtres. Après une description rapide des aires étudiées, les résultats concernant les formes de petite taille (<20 µm) sont présentés et 21 espèces appartenant à 10 genres (*Achnanthes*, *Amphora*, *Cocconeis*, *Cyclotella*, *Fragilaria*, *Minidiscus*, *Navicula*, *Rhopalodia*, *Skeletonema* et *Thalassiosira*) sont illustrées, la plupart d'entre elles n'ayant pas encore été signalées dans les zones étudiées.

**Abstract** : Diatoms from Arcachon Bay and oyster ponds near La Rochelle (Atlantic coast, France) have been examined by electron microscopy (TEM and SEM). Cells were obtained from natural samples, cultures and oyster larvae extracts. A brief description of the studied areas is given and the results focus on the smaller diatom forms (20 µm). Illustrations of 21 species belonging to 10 genera (*Achnanthes*, *Amphora*, *Cocconeis*, *Cyclotella*, *Fragilaria*, *Minidiscus*, *Navicula*, *Rhopalodia*, *Skeletonema* and *Thalassiosira*) are presented, most of them being newly reported for these areas.

### INTRODUCTION

Au cours des dernières décennies, la microscopie électronique a permis l'observation de la structure fine des diatomées et beaucoup de détails difficilement discernables en microscopie optique ont pu être précisés. La reconnaissance de formes même très petites est donc aujourd'hui possible, bien que des problèmes d'identification subsistent.

Des prélèvements réalisés dans le Bassin d'Arcachon et dans des marais maritimes ainsi que des cultures démontrent la présence d'une flore de petite taille dont le rôle écologique est encore mal connu mais intervient certainement dans l'économie générale des écosystèmes côtiers et plus particulièrement dans la nutrition des jeunes stades d'invertébrés. Quelques Diatomées de cette flore sont illustrées ici.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

#### LE MILIEU

Le Bassin d'Arcachon se présente comme une baie côtière peu profonde (20 m maximum) communicant avec l'océan Atlantique dans sa partie sud-ouest par une

\*Communication présentée au 6<sup>e</sup> Colloque des Diatomistes de Langue Française à la Station Biologique de Roscoff, France (27-30 septembre 1986).

passe de 2 à 3 km de large. Les apports d'eau douce proviennent du canal de Lege au nord et du canal de Cazaux au sud. Les points les plus internes du Bassin sont soumis aux variations annuelles de température et de salinité les plus prononcées.

Le Marais Castaing fait partie d'une aire ostréicole en exploitation mais certains bassins sont actuellement à l'état d'abandon ou de semi-abandon. Les différents bassins sont en relation avec le chenal de Lauzières et leur remplissage ou leur vidange se font sous contrôle dans les marais exploités, alors qu'ils ont lieu par simple submersion dans les marais abandonnés non endigués. Les marais étudiés sont peu profonds (30 à 80 cm), et plus ou moins étendus (1500 à 18000 m<sup>2</sup>). Les prélèvements ont été effectués dans un premier bassin, de type abandonné, submergé à partir d'un coefficient de marée voisin de 70 ; et dans un deuxième bassin, curé et remis en état, dont l'eau était renouvelée mensuellement.

Le Bassin d'Arcachon et les marais sont sous nette influence marine car les saillances varient entre 20 et 35 ‰ dans le Bassin d'Arcachon et entre 25 et 40 ‰ dans les marais maritimes. Les températures hivernales sont généralement inférieures à 10 °C, et elles peuvent descendre en dessous de 0 °C dans les marais en raison de leur faible volume. En période estivale, les températures se situent entre 18 et 25 °C dans le Bassin d'Arcachon, l'eau des marais pouvant être nettement surchauffée et avoisiner 30 °C. Le pH reste généralement stable (aux environs de 8,2) mais on peut noter une tendance à l'alcalinisation dans les marais lorsque les eaux ne sont pas renouvelées. L'oxygène dissous subit des variations importantes au cours de la journée, mais les eaux sont le plus souvent en sursaturation vis-à-vis de l'oxygène. La teneur moyenne en seston est voisine de 10 mg.l<sup>-1</sup> dans le Bassin d'Arcachon et dépend essentiellement de la météorologie dans les marais où elle peut atteindre 50 mg.l<sup>-1</sup> en période ventée. La fraction organique représente en moyenne 20 % du seston total dans les deux cas. Les teneurs en nitrates peuvent atteindre 15 µM dans le Bassin d'Arcachon au printemps, et 30 µM dans les marais au moment des remplissages, les sels nutritifs étant rapidement utilisés dans ce milieu. Les teneurs en silicates sont plus variables et fluctuent entre 0,2 et 20 µM. Plus de détail sur ces différents paramètres pourront être obtenus en consultant le rapport d'activité de l'équipe du Crema-L'Houmeau (Maestrini, 1986) pour les marais et une prochaine publication (Robert *et al*, 1987) pour le Bassin d'Arcachon.

## TECHNIQUES D'ÉTUDE

Les espèces présentes dans les prélèvements (eau récoltée à la bouteille ou trait au filet de 70 µm de vide de maille) ont été examinées soit directement après filtration sur membrane Nuclepore, soit après mise en culture par la méthode des dilutions (Throndsen, 1978) sur milieu d'Erdschreiber pour les espèces du Bassin d'Arcachon ou dans des boîtes de microtitration (en utilisant l'eau du relèvement filtrée sur 0,2 µm comme milieu) pour les espèces des marais. D'autres échantil-

lons proviennent de broyats de larves d'huîtres (His *et al.*, 1985) filtrés sur Nucleopore ou de cultures faites à partir de ces broyats. Le nettoyage des frustules à l'acide n'a pas été effectué systématiquement. L'étude en microscopie électronique à balayage a été réalisée soit à l'Université de Nantes sur un microscope Jeol JSM 35 C, soit au CREMA L'Houmeau sur un microscope Cambridge Stereoscan S 200. Les observations en microscopie à transmission ont été faites à l'Université de Nantes sur un microscope Jeol JEM 100 CX avec des échantillons nettoyés à l'acide.

## RÉSULTATS

### LE BASSIN D'ARCACHON

Le microphytoplancton du Bassin est dominé par les Diatomées, des espèces planctoniques et benthiques pouvant se trouver mélangées dans la colonne d'eau en raison des courants importants et de la faible profondeur d'eau du Bassin. Sur 70 genres répertoriés, on peut en attribuer environ la moitié au plancton *sensu stricto*, par exemple *Thalassiosira* ou *Minidiscus*, l'autre moitié étant composée de genres observés occasionnellement dans le plancton (*Cocconeis*, fig. 17 ou *Frgilaria*, fig. 9) ou de genres franchement benthiques se trouvant remis en suspension dans ce milieu particulier (*Amphora*, fig. 14 ou *Rhopalodia*, fig. 12). Une vingtaine d'espèces de Diatomées de petite taille y sont représentées. Les premières observations en microscopie électronique, réalisées sur des prélèvements au filet effectués pendant l'été 1983 avaient déjà permis de mettre en évidence des espèces de très petite taille, appartenant aux genres *Minidiscus* (*M. trioculatus*, fig. 4 A et B), *Thalassiosira* (*T. pseudonana*, fig. 1 A, B et C), *Cyclotella* (*C. atomus*, fig. 7), *Amphora* spl (Fig. 14) ou *Achnanthes hauckiana* (Fig. 20). Des cultures par dilution, entreprises l'année suivante, ont permis non seulement de retrouver les espèces précédemment citées, mais encore d'en obtenir de nouvelles, non encore signalées dans le Bassin d'Arcachon. Nous en donnerons comme exemple *Thalassiosira delicatula* (Fig. 3 A, B et C), *T. stellaris* (Fig. 2 A, B et C), *Fragilaria construens* var. *subrotunda* (Fig. 9 A, B et C) et *Navicula atomoides* (Fig. 10 A et B). Enfin, des larves prélevées *in situ* montrent que celles-ci jouent bien le rôle d'un filtre capable de concentrer les cellules de petite taille, car nous avons pu observer dans leurs broyats de nouvelles espèces comme *Minidiscus comicus* (Fig. 5) ainsi qu'une petite *Thalassiosira* (Fig. 4), non déterminée, mais que nous avons rapprochée de celle trouvée par Belcher et Swale (1986) (citée également comme *Thalassiosira* sp.). Des cultures faites à partir des broyats ont de plus abouti dans certains cas à des mélanges d'espèces difficiles à séparer en microscopie optique comme ces 2 *Nitzschia* dont l'observation en microscopie à balayage montre clairement la différence, l'une étant identifiée comme *N. frustulum* var. *subsalina* et l'autre *N. alexandrina* (Fig. 18).

MEB = Microscopie électronique à balayage ; MET = Microscopie électronique à transmission.

#### PLANCHE I

Fig. 1 : *Thalassiosira pseudonana* (Hust.) Hasle et Heimdal. Matériel nettoyé. Prélèvement naturel. Arcachon. 1A : valve en vue externe montrant les processus renforcés avec leurs pores satellites et le processus labié marginal (flèche). MET x 8500. 1B : valve en vue interne, montrant les processus renforcés et le processus labié (flèche). MEB x 7000. 1C : valve en vue externe montrant l'ouverture extérieure des processus renforcés et du processus labié. MEB x 6000.

Fig. 2 : *Thalassiosira stellaris* Hasle et Guillard. Matériel nettoyé. Prélèvement naturel. Arcachon. 2A : valve en vue externe montrant les 4 processus renforcés péri-centraux et le dessin particulier de l'aréolation. Le processus labié est indiqué par une flèche. MET x 3400. 2B : valve en vue interne (processus labié fléché). MEB x 3500. 2C : face valvaire montrant le détail de l'aréolation au niveau des processus péri-centraux. MET x 12800.

Fig. 3 : *Thalassiosira delicatula* Ostenfeld. Matériel nettoyé. Prélèvement naturel. Arcachon. 3A : valve en vue externe, montrant plusieurs rangées de processus renforcés et le processus labié marginal (flèche). MET x 1800. 3B : valve en vue interne montrant les tubules externes des processus renforcés marginaux et du processus labié (flèche). MEB x 2000. 3C : détail de la face valvaire montrant les cibles des aréoles au niveau du processus central. MET x 11200.

\*

Fig. 4 : *Minidiscus trioculatus* (Taylor) Hasle. Matériel nettoyé. Culture (4A), prélèvement naturel (4B). Arcachon. 4A : vue valvaire avec les 3 processus renforcés et le processus labié (flèche). MET x 14500. 4B : valve en vue interne avec 2 processus renforcés visibles et le processus labié (flèche). MEB x 15000.

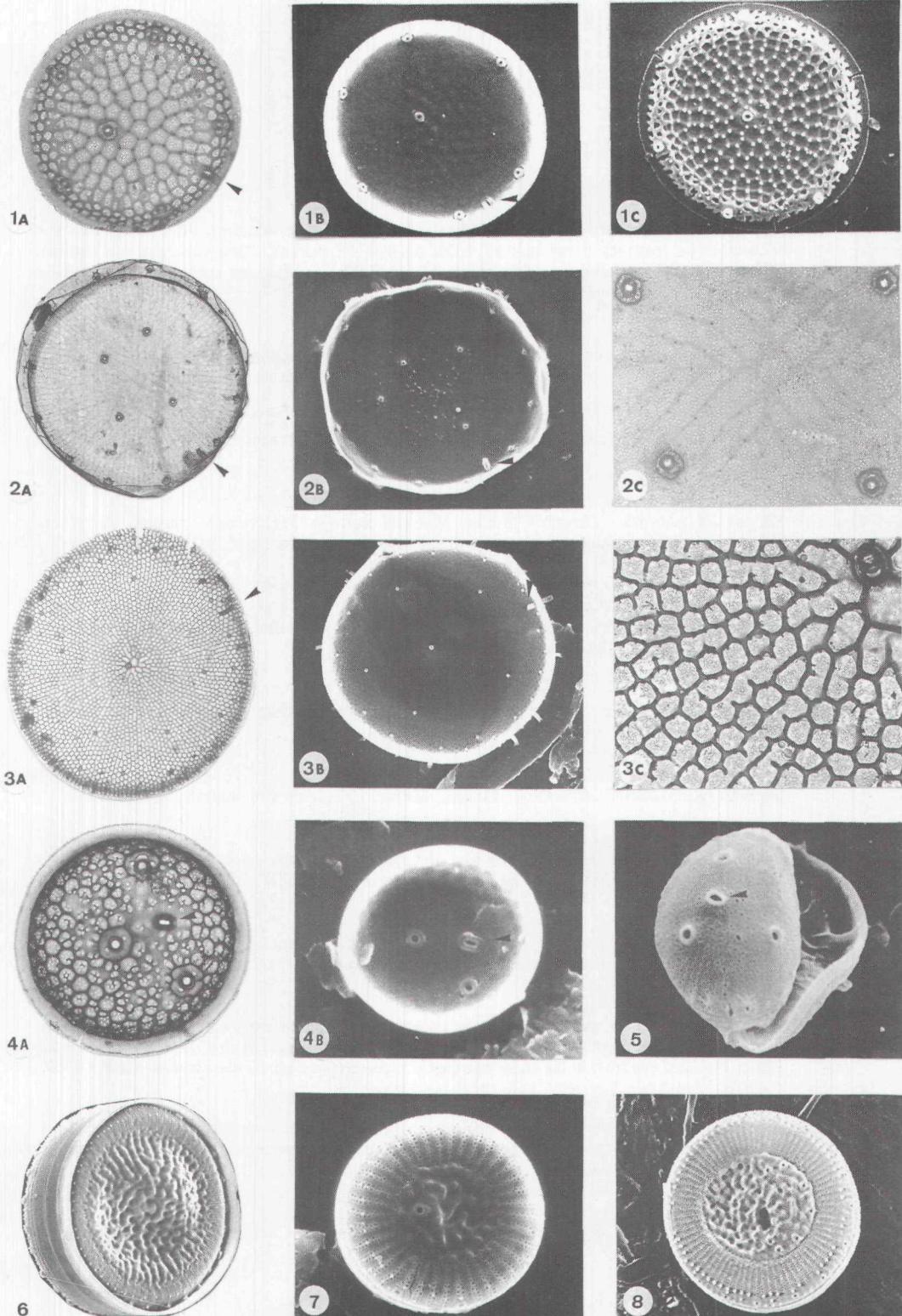
Fig. 5 : *Minidiscus comicus* Takano. Matériel non nettoyé. Broyat de larves. Arcachon. Frustule avec le processus labié près du centre de la valve (flèche). MEB x 8600.

Fig. 6 : *Cyclotella meneghiniana* Kützing. Matériel non nettoyé. Marais. Frustule en vue oblique externe montrant la faible largeur de la zone striée par rapport au diamètre de la valve. MEB x 3200.

Fig. 7 : *Cyclotella atomus* Hustedt. Matériel nettoyé. Prélèvement naturel. Arcachon. Valve en vue externe montrant la striation plus large et le processus central unique. MEB x 6500.

Fig. 8 : *Cyclotella striata* (Kützing) Grunow. Matériel non nettoyé. Marais et Arcachon. Valve en vue externe montrant la striation large et serrée, et les nombreux processus centraux. MEB x 4000.

## PLANCHE I



## PLANCHE II

Fig. 9 : *Fragilaria construens* var. *subrotunda* Mayer. Matériel nettoyé. Culture. Arcachon. 9A: vue d'ensemble de frustules d'une culture. MEB x 3000. 9B : détail d'une valve en vue externe. MEB x 9500. 9C : détail du système d'attache : la cellule centrale est complète, les 2 cellules adjacentes étant brisées. MEB x 10000.

Fig. 10 : *Navicula atomoides* Grunow. Matériel nettoyé. Culture. Arcachon. 10A: vue d'ensemble de frustules d'une culture. MEB x 3000. 10B : détail d'une valve en vue externe. MEB x 9000.

Fig. 11 : *Thalassiosira* sp. Matériel non nettoyé. Broyat de larves. Arcachon. Valve en vue externe. MEB x 8000.

Fig. 12 : *Rhopalodia gibberula* (Ehrenb.) Müller. Matériel nettoyé. Prélèvement naturel. Arcachon. Valve en vue externe montrant les côtes et les pores latéraux du raphé. MEB x 3000.

Fig. 13 : *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve. Matériel non nettoyé. Marais. Valve montrant le départ des tubules externes des processus assurant la cohésion des cellules en colonie. Valve terminale avec le processus labié subcentral. MEB x 8000.

Fig. 14 : *Amphora* spl. Matériel nettoyé. Prélèvement naturel. Arcachon. Vue externe du frustule. MEB x 6800.

Fig. 15 : *Amphora* sp2. Matériel non nettoyé. Culture. Marais. Cellule en vue ventrale. MEB x 2000.

Fig. 16 : *Thalassiosira rotula* Meunier. Matériel non nettoyé. Marais. Valve en vue externe montrant les processus renforcés répartis sur toute la surface de la valve. MEB x 1200.

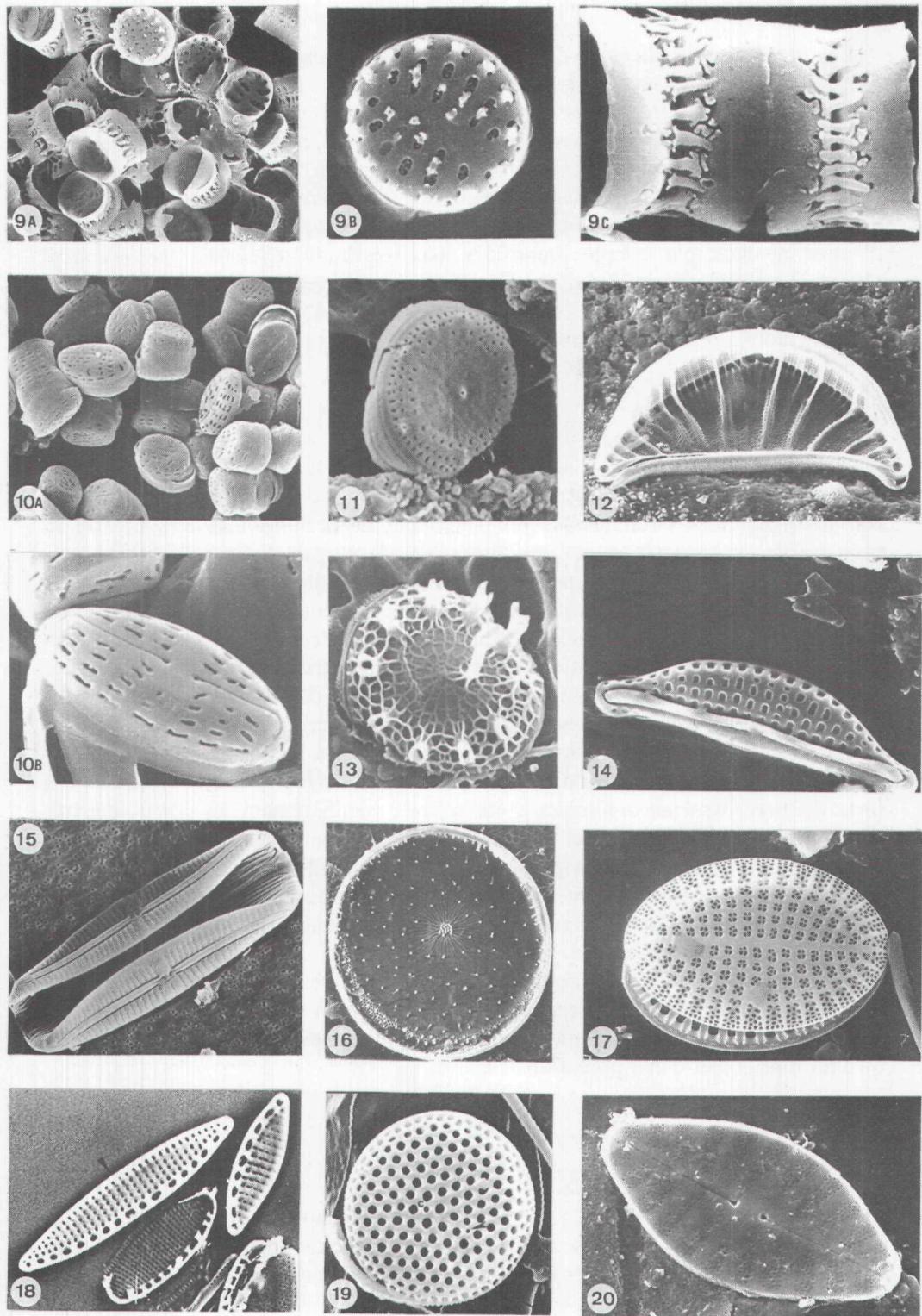
Fig. 17 : *Cocconeis scutellum* Ehrenberg. Matériel nettoyé. Prélèvement naturel. Arcachon. Frustule montrant la valve supérieure (sans raphé) en vue externe. MEB x 2200.

Fig. 18 : *Nitzschia frustulum* var. *subsalina* Hustedt (fléchée) et *N. alexandrina* Cholnoky. Matériel non nettoyé. Culture à partir d'un broyat de larves. Arcachon. Vue valvaire interne montrant les fibules du canal raphéen et les stries nettement plus serrées chez *N. alexandrina*. MEB x 3700.

Fig. 19 : *Thalassiosira oestrupii* var. *venrickae* Fryxell et Hasle. Matériel non nettoyé. Culture. Marais. Valve en vue externe montrant l'ouverture du processus renforcé central (c) et du processus labié (flèche). MEB x 3800.

Fig. 20 : *Achnanthes hauckiana* Grunow. Matériel nettoyé. Prélèvement naturel. Arcachon. Valve avec raphé. MEB x 5000.

## PLANCHE II



## LE MARAIS CASTAING

Les prélèvements effectués dans les différents marais montrent que les Diatomées y sont régulièrement présentes, mais qu'elles ne dominent pas toujours les peuplements. Là encore, en raison de la faible profondeur des bassins, les espèces benthiques peuvent se trouver en suspension dans la colonne d'eau, l'abondance des espèces planctoniques étant maximale au moment des remplissages grâce à l'apport d'eaux côtières. Plusieurs espèces de *Thalassiosira* ont été observées et déterminées ; *T. oestrupii* var. *venrickae* (Fig. 19), *T. pseudonana*, *T. rotula* (Fig. 16), d'autres ne sont pas encore identifiées avec certitude. *Cyclotella meneghiniana* (10 µm, fig. 6), *C. striata* (8 µm, fig. 8) et *Skeletonema costatum* (3 µm, fig. 13) font partie des plus petites espèces rencontrées. Une forme d'*Amphora* (Fig. 15), malgré une ornementation très nette n'a pu être rapportée à un taxon connu.

## DISCUSSION

L'étude en microscopie électronique des diatomées de ces milieux, que l'on peut considérer comme "paraliques" selon Guelorget et Perthuisot (1983), montre la présence de petites Diatomées considérées pour la plupart comme ubiquistes mais dont certaines n'étaient pas encore signalées sur la côte Atlantique française en raison sans doute de leur petite taille. Il est intéressant de noter la présence de *Thalassiosira pseudonana* car elle présente un intérêt économique important puisqu'elle est utilisée couramment en écloserie pour la nutrition des larves de bivalves (Chretiennot-Dinet *et al.*, 1986) et il est remarquable de retrouver, dans les broyats de larves, les deux seules espèces de *Minidiscus* décrites à ce jour (Hasle, 1973 et Takano, 1981). *Fragilaria construens* var. *subrotunda* a été trouvée à une station "interne" du Bassin d'Arcachon et s'est développée de façon assez considérable à forte dilution. *Navicula atomoides* a été trouvée régulièrement en des points très divers du Bassin d'Arcachon et dans les marais. Ces deux dernières espèces semblent plus inféodées au milieu parlique que les précédentes. Le genre *Cyclotella* est le seul dont les espèces soient à l'origine de floraisons importantes dans les milieux étudiés. On observe ainsi un fort développement de *Cyclotella striata* dans le Bassin d'Arcachon pendant l'été 1985 au moment de l'apparition des larves d'huîtres dans le milieu. L'importance écologique de ces petites espèces est donc difficile à définir de façon précise dans la mesure où leurs faibles dimensions rend leur étude difficile. Cependant, leur présence dans les larves d'huîtres montre qu'elles font l'objet d'une prédatation sélective.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'équipe IFREMER-Arcachon pour son aide sur le terrain, l'Université de Nantes pour l'accès à ses microscopes et M. Ricard pour ses commentaires et suggestions concernant l'illustration de ce document.

## INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BELCHER, J.-H. & E.M.F. SWALE, 1986. Note on small *Thalassiosira* species (Bacillariophyceae) from the plankton of the lower Thames and other british estuaries (identified by transmission electron microscopy). *Br. phycol. J.* 21:139-145.
- CHRETTENNOTDINET M.-J., R. ROBERT & E. His, 1986. Utilisation des "algues-fourrage" en aquaculture. *Ann. Biol.*, 25 : 97-119.
- GUELORGET, O. & J.-P. PERTHUISOT; 1983. Le domaine paralique. Expressions géologiques, biologiques et économiques du confinement. *Travaux du Laboratoire de Géologie. Presses de l'ENS*, 16 : 83 pp.
- HASLE, G.R., 1973. Thalassiosiraceae, a new diatom family. *Norw. J. Bot.*, 20: 67-69.
- His, E., R. ROBERT & M.-J. CHRÉTIENNOT-DINET, 1985. Nouvelle méthode pour étudier la nutrition de jeunes larves de *Crassostrea gigas* (Thunberg) en milieu naturel. Premières données expérimentales. *C.R. Acad. Sci., Paris*, 300: 319-321.
- MAESTRINI, S.Y., 1986. Estimation de la capacité biotique des marais maritimes et des eaux côtières atlantiques; valorisation par l'aquaculture extensive. L'Houmeau : rapport d'activité de l'ER mixte CNRS-Ifremer du 1<sup>er</sup> janvier 1985 au 30 avril 1986. 83 pp.
- ROBERT R., N. GUILLOCHEAU & Y. COLLOS, 1987. Hydrobiological parameters during an annual cycle in the Arcachon Basin. *Mar. Biol.* 95 : 631-640.
- TAKANO, J., 1981. New and rare diatoms from japanese marine waters. VI. Three new species in Thalassiosiraceae. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, 105: 31-43.
- THRONDSEN, I., 1978. The dilution culture method, 218-224. In : Phytoplankton manual, Sournia ed., Paris : Unesco, 337 pp.