





Centre d'Etude et de Valorisation
des Algues

Presqu'île de Pen Lan
BP 3 / 22610 PLEUBIAN

 02 96 22 93 50

 02 96 22 84 38

e-mail : algue@ceva.fr

Programme d'intervention du CEVA
en faveur de l'action régionale et interdépartementale
pour la maîtrise des phénomènes de marées vertes

CIMAV 2014

RAPPORT SUR LE PROJET 3

COMPLEMENT D'ETUDE SUR LES PROCESSUS BIOLOGIQUES,
HYDROLOGIQUES ET SEDIMENTOLOGIQUES IMPLIQUES DANS LES
BLOOMS MACROALGAUX



ANNEE 2014 - version 1



SOMMAIRE

1	INTRODUCTION.....	6
2	RAPPEL DES OBJECTIFS ET DU PROGRAMME DE TRAVAIL	7
3	CONTEXTE DE L'ETUDE ECOPHYSIOLOGIQUE DE <i>PYLAIELLA LITTORALIS</i> ET <i>ULVA SPP.</i>	8
4	ACQUISITION DE PARAMETRES ECOPHYSIOLOGIQUES POUR <i>PYLAIELLA LITTORALIS</i>	
	ET <i>ULVA SPP.</i>	10
4.1	MATERIEL ET METHODES	10
4.1.1	<i>Plan expérimental.....</i>	<i>10</i>
4.1.2	<i>Matériel biologique.....</i>	<i>10</i>
4.1.3	<i>Mesures d'absorption</i>	<i>11</i>
4.2	ANALYSES.....	13
4.2.1	<i>Dosage des nutriments dans l'eau de mer</i>	<i>13</i>
4.2.2	<i>Contenus internes azotés et phosphorés</i>	<i>13</i>
4.3	TRAITEMENT DES DONNEES ET ANALYSES STATISTIQUES	13
4.3.1	<i>Cinétique d'absorption</i>	<i>13</i>
4.3.2	<i>Analyses statistiques</i>	<i>14</i>
4.4	RESULTATS ET INTERPRETATIONS	15
4.4.1	<i>Cinétique d'absorption de l'azote</i>	<i>15</i>
4.4.1.1	<i>Conditions expérimentales</i>	<i>15</i>
4.4.1.2	<i>Vmax et Km</i>	<i>17</i>
4.4.2	<i>Synthèse et comparaison des Vmax et Km</i>	<i>21</i>
5	ETUDE DE L'ACTIVITE PHOTOSYNTHETIQUE DE <i>PYLAIELLA LITTORALIS</i> ET <i>ULVA SPP.</i>	26
5.1	PHOTOSYNTHESE EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN AZOTE DU MILIEU.....	26
5.1.1	<i>Matériel et Méthodes</i>	<i>26</i>
5.1.1.1	<i>Mesures de la photosynthèse</i>	<i>26</i>
5.1.1.2	<i>Calculs et analyses statistiques.....</i>	<i>28</i>
5.1.2	<i>Résultats et interprétations.....</i>	<i>29</i>
5.2	PHOTOSYNTHESE EN FONCTION DE L'ETAT PHYSIOLOGIQUE DES ALGUES	32
5.2.1	<i>Matériel et Méthodes</i>	<i>32</i>
5.2.1.1	<i>Plan expérimental.....</i>	<i>32</i>
5.2.1.2	<i>Mesure de la photosynthèse.....</i>	<i>34</i>
5.2.2	<i>Résultats et interprétations.....</i>	<i>35</i>
5.3	PHOTOSYNTHESE EN FONCTION DE L'INTENSITE LUMINEUSE : DETERMINATION DES COURBES DE PRODUCTIVITE EN FONCTION DE L'ECLAIREMENT (COURBES DE CINETIQUE PE)	38
5.3.1	<i>Matériel et Méthodes</i>	<i>38</i>
5.3.1.1	<i>Plan expérimental.....</i>	<i>38</i>
5.3.1.2	<i>Etablissement des courbes de Productivité/Eclairement (Courbes PE)</i>	<i>38</i>
5.3.2	<i>Résultats et interprétations.....</i>	<i>41</i>
5.4	CONCLUSIONS SUR L'ACTIVITE PHOTOSYNTHETIQUE DE <i>PYLAIELLA LITTORALIS</i> ET <i>ULVA SPP.</i>	42
6	AMELIORATION DES CONDITIONS DE CULTURE POUR ACCROITRE LA CROISSANCE DE <i>P. LITTORALIS</i> EN MILIEU CONTROLE :	44
6.1	AMELIORATION DE L'ESTIMATION DE LA MASSE FRAICHE DE <i>PYLAIELLA LITTORALIS</i>	44
6.1.1	<i>Méthode d'essorage de <i>Pylaiella littoralis</i> :</i>	<i>45</i>
6.1.2	<i>Atténuation de la lumière par la biomasse</i>	<i>45</i>
6.2	AMELIORATION DU PROTOCOLE DE CULTURE POUR L'OBTENTION DES CONCENTRATIONS INTERNES CRITIQUE (Q ₁) ET DE SUBSISTANCE (Q ₀) POUR L'AZOTE	48

6.2.1	<i>Protocole</i>	49
6.2.2	<i>Résultats et interprétations</i>	51
6.3	EFFET DE LA LUMIERE ARTIFICIELLE ET DE L'EAU DE MER RECONSTITUEE SUR LA CROISSANCE DE PYLAIELLA LITTORALIS	53
6.3.1	<i>Protocole</i>	53
6.3.2	<i>Résultats et interprétations</i>	55
6.4	EFFET DE L'INTENSITE LUMINEUSE SUR LA CROISSANCE DE PYLAIELLA LITTORALIS.....	57
6.4.1	<i>Protocole</i>	57
6.4.2	<i>Résultats et interprétations</i>	59
6.1	CONCLUSION SUR LA CROISSANCE DE PYLAIELLA LITTORALIS	61
7	CONCLUSIONS GENERALES	62
8	REFERENCES	63

1 Introduction

Les actions proposées dans ce programme sont avant tout destinées à l'opérationnalisation du modèle écologique Mars-ulves, mais aussi, d'une manière plus large, à la consolidation, par méthode expérimentale, des connaissances sur le fonctionnement écologique des blooms macroalgaux, la crédibilité des acquis scientifiques sur l'origine, les conditions de développement et les moyens de limitation des marées vertes étant encore régulièrement remis en cause, notamment par les acteurs agricoles des programmes bassins versants algues vertes.

Dans le cadre des programmes 2012 et 2013, l'accent a été mis sur une amélioration des connaissances des caractéristiques écophysologiques de *Pylaiella littoralis* qui semble proliférer durablement sur les baies de l'est des Côtes d'Armor (Baie de la Fresnaye et Baie de Saint-Brieuc) en remplaçant partiellement voire complètement la prolifération des ulves. Les premiers résultats obtenus indiquent que la prolifération de cette algue serait favorisée dans des eaux froides (lui permettant de se développer dès la fin de l'hiver) et elle peut poursuivre son développement dans des eaux dont les teneurs en éléments nutritifs ne sont pas suffisantes pour permettre le développement des ulves. La présence de ces algues pourrait donc être indicatrice d'une amélioration de la qualité des eaux.

En 2014, il a été proposé de poursuivre l'étude de cette algue afin d'acquérir des données complémentaires permettant de la positionner par rapport à l'ulve sur son rôle de bioindicateur du degré d'eutrophisation des eaux.

2 Rappel des objectifs et du programme de travail

L'objectif pour cette année 2014 était de poursuivre l'amélioration des connaissances sur les développements de blooms de *Pylaiella littoralis*, algue brune filamenteuse récurrente sur le site de la Fresnaye depuis 2006 et qui semble désormais persister sur le site de Saint-Brieuc.

Des incubations (culture en batch) selon un gradient croissant de nutriments (azote et phosphore) de *Pylaiella littoralis* et d'*Ulva* spp. ont été planifiées au cours de la saison afin de déterminer l'évolution des paramètres écophysio-logiques d'absorption des nutriments (la vitesse maximale : V_{max} et la constante de demi-saturation : K_m) au cours d'expérimentations. Le développement tardif des algues *in situ* n'a pas permis d'effectuer le plan expérimental prévu (entre cinq et six incubations sur la saison). Le matériel algal n'étant pas présent en début de saison ou bien en mauvais état, seules trois expérimentations ont pu être réalisées.

Compte tenu des difficultés rencontrées en début de saison pour obtenir suffisamment de matériel algal pour la mise en œuvre des cinétiques d'absorption, il a été décidé de focaliser l'étude sur l'azote. L'étude de l'absorption du phosphore n'a donc pas eu lieu comme initialement prévu. En remplacement, des expériences complémentaires ont été effectuées notamment sur les capacités photosynthétiques de *Pylaiella* et d'*Ulva*, toujours dans l'objectif de pouvoir discriminer ces deux genres d'un point de vue écophysio-logique, la capacité photosynthétique étant considérée comme *proxy* de la croissance pour les algues. De plus, de nouvelles expériences ont été menées dans le but de consolider les connaissances pour alimenter le module biologique *Pylaiella* du modèle écologique Mars-ulves par la mise en œuvre d'un modèle écologique 0D reproduisant l'absorption de l'azote et du phosphore au cours de la croissance de *Pylaiella* en fonction des paramètres environnementaux (température, pH, lumière). Ces derniers résultats sont présentés dans le cadre du projet 2 du cimav 2014 (cimav P2, volet 1).

Le programme de travail s'est divisé en plusieurs volets :

- 1) **Acquisition des paramètres écophysio-logiques V_{max} et K_m** pour *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp. au cours de la saison lors d'incubations en batch permettant les calculs de cinétique d'absorption de l'azote.
- 2) **Etude de l'activité photosynthétique** de *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp.
 - a. En fonction de la concentration en azote du milieu
 - b. En fonction de l'état physiologique des algues
 - c. En fonction de l'intensité lumineuse : détermination des courbes de Productivité en fonction de l'Eclairement (courbes de cinétique PE)

L'activité photosynthétique est un paramètre écophysio-logique important qui donne des informations sur la capacité de croissance des algues en fonction des paramètres environnementaux. Le but de ces expériences était d'améliorer les connaissances notamment sur la productivité de chaque algue afin d'expliquer les phénomènes de compétition entre *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp.

3) Amélioration des conditions de culture pour accroître la croissance de *P. littoralis* en milieu contrôlé :

- a. Culture de *Pylaiella* selon les conditions d'obtention des valeurs de concentration interne critique (Q_1) et de subsistance (Q_0) pour l'azote. Ces valeurs sont nécessaires pour consolider le module biologique *Pylaiella littoralis* du modèle écologique Mars-ulves. Les expérimentations menées en 2012 et 2013 n'ont pas abouti à une définition claire de ces valeurs et une nouvelle expérience a été proposée pour 2014 afin d'identifier les paramètres à améliorer.
- b. Comparaison de la croissance eau de mer filtrée et eau de mer reconstituée sous l'influence de la lumière soit naturelle, soit artificielle (conditions en laboratoire)
- c. Influence de la lumière sur la croissance de *Pylaiella* testée pour quatre intensités lumineuses

4) Culture de *P. littoralis* : croissance, absorption, auto-ombrage, luminosité, température : consolidation des connaissances pour alimenter le module biologique *Pylaiella* du modèle écologique 0D

3 Contexte de l'étude écophysiological de *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp.

En milieu eutrophe, les proliférations de macroalgues sont généralement expliquées par une augmentation des apports en nutriment qui favorisent le développement d'algues filamenteuses ou foliacées grâce à leurs avantages physiologiques (Duarte, 1995; Larsson et al., 1985; Pedersen & Borum, 1996; Raffaelli et al., 1998). Ces algues sont caractérisées par de **fortes capacités d'absorption** de nutriments, de **photosynthèse** et de **croissance** (Duarte, 1995; Sand-Jensen & Borum, 1991; Wallentinus, 1978, Wallentinus, 1984a). De plus, ces algues bénéficient d'une **forte tolérance face aux variations** de salinité, de température, de lumière et d'oxygène dissous, ce qui leur permet de se développer dans les estuaires ou sur les plages, généralement lieux de fortes fluctuations de conditions abiotiques (Fong et al., 1996; Peckol et al., 1994; Peckol & Rivers, 1995b; Raffaelli et al., 1998). Dans beaucoup de zones côtières, les proliférations de macroalgues sont dominées par une ou deux espèces d'algues vertes appartenant aux genres *Ulva*¹, *Cladophora* ou *Chaetomorpha* (revue dans Fletcher, 1996; Raffaelli et al., 1998). Des différences de capacités physiologiques ou de tolérances peuvent expliquer la dominance ou la compétition de certaines de ces espèces opportunistes lorsqu'elles coexistent. Toutefois, bien que confirmées par certaines études, ces hypothèses ne sont que rarement testées (Fong et al., 1996; Lavery & McComb, 1991; Peckol & Rivers, 1995a). De par ce manque d'étude, la prédiction des dominances de certaines espèces lors des proliférations de macroalgues reste encore difficile (Raffaelli et al., 1998).

Sur les côtes bretonnes, les baies de l'est des Côtes d'Armor (Baie de la Fresnaye et Baie de Saint-Brieuc) ont vu proliférer une algue brune filamenteuse opportuniste *Pylaiella littoralis* depuis 2006 qui a remplacé les proliférations d'*Ulva* spp. en Baie de la Fresnaye et semble désormais récurrente sur le site de Saint-Brieuc. Une telle compétition entre *Pylaiella littoralis* et les algues vertes a été

¹ Regroupant les genres historiquement appelés *Ulva* et *Enteromorpha*

étudié à plusieurs localités de la Mer Baltique avec *Ulva intestinalis* (anciennement *Enteromorpha intestinalis*) (Lotze et al., 2000b; Lotze & Schramm, 2000b; Lotze et al., 1999; Kiirikki & Lehto, 1997; Norkko & Bonsdorff, 1996; Wallentinus, 1984b).

Cependant, seules quelques publications s'intéressent directement à l'écophysiologie du *Pylaiella littoralis* et à notre connaissance seules deux publications font état de mesures de vitesses d'absorption des nutriments par *Pylaiella littoralis* (Lotze & Schramm, 2000b; Wallentinus, 1984b). La détermination des paramètres d'absorption des nutriments (V_{max} : vitesse maximum et K_m : la constante de demi-saturation) est essentielle à l'interprétation des phénomènes écologiques (Wallentinus, 1984b). Il est généralement admis, pour le phytoplancton ou les macroalgues, qu'une espèce ayant un K_m faible aura un avantage compétitif lorsque la concentration en nutriments sera faible dans le milieu alors que les espèces ayant un fort V_{max} seront favorisées par de fortes concentrations en nutriments dans le milieu (Raymont, 1980; Auby et al., 1994). Il a également été montré que les macroalgues avaient un V_{max} plus faible, un K_m plus fort et une pente α (V_{max}/K_m) plus faible que les microalgues et qu'elles étaient donc moins efficaces à l'absorption des nitrates que les microalgues, et ce, quelles que soient les concentrations en nitrates dans le milieu (Valiela et al., 1997). La morphologie des algues (filamenteuses, foliacées, finement branchues), leur rapport surface/volume et les processus de transport vers l'intérieur du thalle vont déterminer les vitesses d'absorption ainsi que la productivité des algues (Wallentinus, 1984b; Hein et al., 1995). La concentration du milieu en nutriment peut également influencer les taux d'absorption des algues : ainsi dans un milieu appauvri en nutriments, de fortes absorption peuvent survenir lorsque les nutriments redeviennent disponibles, pour compenser rapidement le manque (Wallentinus, 1984b). Une augmentation des nutriments dans le milieu va modifier la physiologie des algues (Valiela et al., 1997). Il s'en suit une augmentation de l'absorption des nutriments, des concentrations internes en nutriments, de la photosynthèse (des pentes initiales des courbes de productivité/éclairage (Courbes PE), des taux photosynthétiques maximum) et de la croissance des algues (Valiela et al., 1997). L'intensité des réponses de chacun de ces paramètres dépend de l'espèce d'algue considérée (Valiela et al., 1997).

Il est donc important d'étudier l'ensemble de ces paramètres écophysiologiques en fonction des paramètres environnementaux afin de pouvoir expliquer les phénomènes de compétition interspécifique, de dominance ou de disparition de certaines proliférations d'algues opportunistes. La régulation des proliférations de macroalgues peut également dépendre de facteurs abiotiques telle que la consommation des macroalgues par les herbivores (Lotze & Worm, 2000; Lotze et al., 2000a; Valiela et al., 1997). La combinaison de ces paramètres environnementaux, biotiques et écophysiologiques dans la régulation des proliférations de macroalgues peut rendre complexe la prédiction de ces phénomènes. Le manque actuel d'information sur les interactions et les effets de ces différents facteurs complexifie la compréhension des proliférations de macroalgues.

4 Acquisition de paramètres écophysologiques pour *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp.

4.1 Matériel et Méthodes

4.1.1 Plan expérimental

Trois journées d'incubation (culture en batch) ont pu être effectuées sur la saison en février, juillet et septembre. Les incubations de février ont porté uniquement sur *Pylaiella littoralis* car comme cela était attendu, aucune ulve n'était encore présente sous forme libre en milieu naturel à cette date. Pour les incubations de juillet et septembre, *Pylaiella* et *Ulva* ont pu être comparées. La saison tardive n'a pas permis d'effectuer le plan expérimental prévu (entre cinq et six incubations sur la saison). Le matériel algal n'étant pas présent en début de saison ou bien en mauvais état, seules trois dates ont pu être réalisées (voir annexe 1).

Le tableau ci-dessous présente le calendrier des expériences (Tableau 1).

Tableau 1 : Expériences de cinétique d'absorption de l'azote réalisées en 2014. Les expériences ont été réalisées à la date indiquée en fin de matinée sur une durée totale de 2h.

	Mois de référence des expériences	Février	Juillet	Septembre/Octobre
<i>Pylaiella</i>	Date et lieu de collecte	16/02/14, Baie de la Fresnaye	15/07/14, Baie de la Fresnaye	15/09/14, Baie de la Fresnaye
	Date de l'expérience	18/02/2014	16/07/2014	16/09/2014
<i>Ulva</i> spp.	Date et lieu de collecte	absente	29/07/2014, Trestel	13/10/14, St Michel en Grève
	Date de l'expérience	Pas d'expérience	30/07/14	14/10/14

4.1.2 Matériel biologique

Les algues ont généralement été prélevées la veille des expériences de cinétique et au maximum moins de trois jours avant l'expérience en février. Les spécimens de *P. littoralis* nécessaires aux expérimentations ont été prélevés dans le rideau et/ou les flaques afin d'éviter toute dessiccation, en Baie de la Fresnaye (48°38'14"N ; 2°16'28"O) pour *P. littoralis* et à Trestel (48° 48' 56" N ; 3° 21' 26" O) ou Saint-Michel-en-Grève (48°41'04"N ; 3°34'04"O) pour *Ulva* spp. . Une fois prélevés, les spécimens ont été transportés à l'obscurité dans une glacière jusqu'au laboratoire (CEVA). Les

macroalgues ont été stockées avant et après tri en bac d'eau de mer non filtrée avec bullage et conservées à l'extérieur en circuit fermé jusqu'aux expérimentations. Avant chaque expérimentation, un tri méticuleux afin d'éliminer tout matériel étranger à l'espèce considérée a été effectué. Les pesées des masses fraîches nécessaires aux différentes expérimentations ont été effectuées après égouttage pendant une minute pour *Ulva* spp. et après essorage (essoreuse Dito Sama EL 65) pendant 10 minutes à 330 tours.min⁻¹ pour *Pylaiella littoralis*.

4.1.3 Mesures d'absorption

Les mesures ont été effectuées de manière indirecte en considérant la quantité de nutriments disparue dans le milieu au cours du temps, considérant qu'elle a été assimilée par l'algue. La méthode en batch utilisant des bacs en circuit fermé sans renouvellement d'eau a été utilisée. Cette méthode est l'une des plus couramment utilisée actuellement (Martínez et al., 2012; Naldi & Viaroli, 2002; Lotze & Schramm, 2000a; Auby et al., 1994). La mesure de cette assimilation a été complétée par l'estimation des variations en concentrations internes de l'algue (Manaud et al. 1994, Auby 1995).

Les incubations consistaient à la réalisation de batch (pas de renouvellement d'eau) en extérieur pour se rapprocher le plus possible des conditions naturelles (intensité lumineuse, température). Des aquariums de 20 L remplis d'eau de mer et enrichis selon un gradient de nitrates ont été disposés en extérieur. Les incubations ont eu lieu en fin de matinée sur une période de 2h avoisinant le zénith solaire pour avoir un ensoleillement maximum. L'intensité lumineuse a été mesurée toutes les 5 minutes (LI-1000 DataLogger, LI-COR, sonde SPQA 1589) afin de s'assurer des conditions non limitantes de lumière pour la photosynthèse et donc d'une absorption maximale des nutriments. Les incubations ont eu lieu par batch (Harrison 1982) dans des bacs transparents en polypropylène remplis de 20 litres d'eau de mer filtrée à 0.22 µm, non renouvelée, brassée par bullage. Les bacs ouverts ont été espacés de façon à éviter des phénomènes d'ombrage. La température et le pH de l'eau contenue dans les bacs ont été mesurés régulièrement au cours des incubations (Multimètre 197i, WTW).

Afin d'obtenir des conditions non limitantes lors de l'absorption des nitrates, des compléments nutritifs, (composition en annexe 2, (Andersen et al., 2005)) ont été ajoutés dans tous les bacs à raison de 1mL. L⁻¹ de solution de phosphore, NaH₂PO₄, H₂O à 5g. L⁻¹, de 1mL. L⁻¹ de solution métallique, et de 0,5 mL. L⁻¹ de solution vitaminique (nécessité de la vitamine B12, Oudot Le Secq 2000). Des échantillons de *P. littoralis* ou d'*Ulva* spp. de 20g de Masse Fraîche (MF ; soit 1g MF. L⁻¹) ont été répartis entre les trois réplicats des différentes concentrations en azote testées. L'ajout de *P. littoralis* ou d'*Ulva* spp. a eu lieu en début d'incubation (T0), à l'exception de trois bacs contrôles uniquement remplis d'eau de mer filtrée et de compléments nutritifs (appelés ensuite blancs). Les blancs ont permis de contrôler l'absence de perturbation de la matrice et le cas échéant de faire une correction en fonction des mesures faites sur les blancs. Différentes concentrations d'azote (nitrates de sodium) ont été ajoutées à l'eau de trois bacs réplicats (n=3) en début d'incubation (T0) selon un gradient de sept concentrations : de 0, 5, 10, 20, 50, 100, 200 µmol L⁻¹, obtenues par addition de solution mère de NaNO₃ à 100 mmol L⁻¹ (Tableau 2).

Tableau 2 : Gradient de concentrations en nitrates utilisé lors des expériences de cinétique d'absorption et quantité en mL de solution mère NaNO_3 à 100 mmol.L^{-1} ajoutée à chaque réplicat.

Nutriment testé		Traitements							
NaNO_3 à 100 mmol.L^{-1}	[] en $\mu\text{mol.L}^{-1}$	Blanc	0	5	10	20	50	100	200
	mL ajoutés	0	0	1	2	4	10	20	40

Un prélèvement d'eau a été effectué dans chaque bac à T0 (simultanément à l'ajout de *P. littoralis* ou d'*Ulva* spp.), puis une demi-heure après (T30), puis après une heure d'incubation (T60) et à la fin des deux heures d'incubation (T120). La durée des mesures de cinétique d'absorption a été limitée à deux heures pour éviter l'épuisement total des nutriments dans l'eau de mer et ainsi la limitation des phénomènes d'absorption. Pour chaque prélèvement, une seringue de 300 mL munie d'un filtre à $300 \mu\text{m}$ (pour éviter le prélèvement de fragments de *P. littoralis*) a été rincée trois fois avec 100 mL d'échantillon prélevé ainsi que le flacon de prélèvement. Le flacon a ensuite été rempli de 500 mL d'eau et l'heure exacte du prélèvement a été notée. Les échantillons ont été immédiatement conservés en chambre froide à l'obscurité jusqu'à filtration (temps maximum de conservation < 48h).

Chaque échantillon a été ensuite filtré sur une colonne de filtration munie d'un filtre de $0,22 \mu\text{m}$ en acétate de cellulose (membrane Millipore MCE de Merk Millipore Lifescience). Un premier rinçage du dispositif à l'eau Ultra Pure (UP) a été suivi par un second rinçage avec 10 mL de l'échantillon, puis par la filtration de la totalité de l'échantillon. Les échantillons filtrés ont été reconditionnés dans leur flacon de prélèvement d'origine après rinçage de celui-ci avec 10 mL d'eau UP puis 10 mL de filtrat de manière à avoir un volume final de filtrat de 200 à 300 mL. Les échantillons filtrés ont été immédiatement congelés avant d'être envoyés au laboratoire d'analyse par transport congelé.

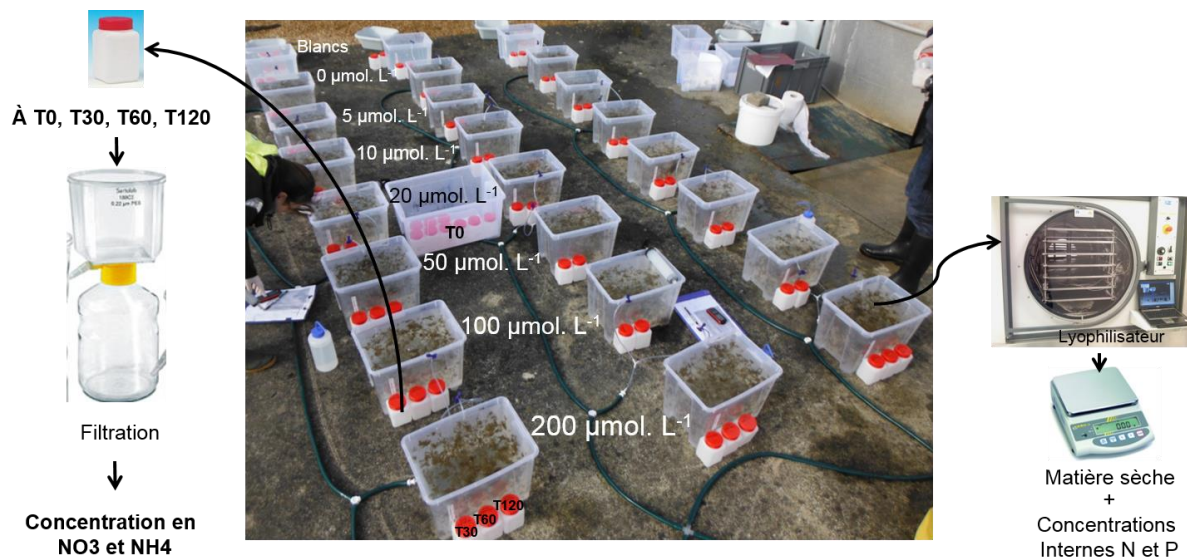


Figure 1. Système expérimental des expériences de cinétique d'absorption des nitrates. Disposition des bacs par gradient croissant de concentration en nitrates (0, 5, 10, 20, 50, 100, 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$), chaque rangée représentant un réplicat (n=3). Prélèvement des échantillons d'eau à 0, 30, 60 et 120 min (T0, T30, T60, T120). Echantillons d'eau filtrés sur colonne de filtration avant analyse de nitrates. Prélèvement des algues pour estimation de la matière sèche et des concentrations internes en azote (N) et phosphore (P).

En février, afin de déterminer la quantité de nutriments stockée par *P. littoralis* au cours des incubations de cinétique d'absorption de l'azote (contenus internes), 10 g MF ont été prélevés à la fin des deux heures d'incubation, dans chaque bac (n=3) puis rincés dans l'eau UP (10 secondes) et égouttés. Les échantillons ont ensuite été congelés, puis lyophilisés et immédiatement pesés afin d'estimer leur Masse Sèche (MS) avant d'être envoyés au laboratoire d'analyse. Les contenus internes azotés ont été analysés en fin d'expérience en février uniquement. Toutefois, pour chaque expérience, les contenus internes azotés et phosphorés ont été analysés sur les algues prélevées afin de connaître leurs valeurs initiales. La Masse Sèche des algues incubées a également été mesurée selon le même protocole pour les expériences de juillet et septembre afin d'en tenir compte dans les calculs d'absorption.

4.2 Analyses

4.2.1 Dosage des nutriments dans l'eau de mer

Les dosages des nitrates (NO_3^-), de l'azote ammoniacal (NH_4^+) et du phosphore (PO_4^-) ont été effectués par le laboratoire Eurofins IPL (Lille).

Pour le NO_3^- , les dosages ont été faits par spectrométrie en flux continu avec détection photométrique à la sulfanilamide et au N-(1-Naphthyl) éthylènediamine après réduction au cadmium. Pour le NH_4^+ , les dosages ont été faits par spectrométrie en flux continu avec détection photométrique au bleu d'indophénol. Pour le PO_4^- , les dosages ont été faits par spectrométrie en flux continu avec détection photométrique au molybdate d'ammonium.

4.2.2 Contenus internes azotés et phosphorés

Les contenus internes en azote et phosphore ont été analysés au laboratoire In Vivo Labs. Les dosages ont été faits par spectrométrie en flux continu avec détection photométrique.

Les contenus internes en phosphore ont été dosés selon la norme Pr NF EN 15510. Les échantillons ont été broyés, homogénéisés, séchés puis calcinés à 550°C. Les cendres ont été minéralisées par HCl puis une évaporation en milieu acide du solvant a été suivie d'une dissolution du résidu minéral dans une solution de HNO_3 à 5%. La solution obtenue a été analysée par ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer).

Les contenus internes en azote ont été dosés selon la méthode Azote total Dumas (NF EN ISO 16634-1-décembre 2008). Un gramme de matière sèche a été broyé au broyeur à billes puis brûlé à 850°C dans un tube hermétiquement fermé. La teneur en azote du gaz de combustion a été mesurée à l'aide d'un détecteur à conductivité.

4.3 Traitement des données et analyses statistiques

4.3.1 Cinétique d'absorption

La cinétique d'absorption des nitrates a été considérée à différents intervalles de temps : les trente premières minutes, T0-T30, les trente minutes suivantes, T30-T60, et la deuxième heure, T60-T120. Les vitesses d'absorption (V) des nutriments par les macroalgues ont été calculées pour chaque intervalle à partir des changements en concentration des nutriments mesurés dans l'eau et exprimées en $\mu\text{mol NO}_3 \cdot \text{g MS}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ selon l'équation suivante (Lotze et Schramm 2000) :

$$V = \frac{(S_i - S_f) \times \text{Vol}_f}{t \times m}$$

Où S_i est : la concentration initiale en nutriments contenus dans l'eau en début d'intervalle de temps, S_f : la concentration en nutriments contenus dans l'eau à la fin de l'intervalle de temps (30, 60 ou 120 minutes), Vol_f : le volume d'eau durant l'intervalle de temps, t : la durée de l'intervalle de temps et m : la masse sèche des algues incubées.

Les vitesses d'absorption ont été calculées pour chaque réplicat et intervalle de temps à partir des concentrations initiales et finales mesurées au début et à la fin de l'intervalle de temps. Une sélection des données a été effectuée lors de ces calculs afin d'éliminer les valeurs aberrantes. L'évolution des concentrations en nitrates dans le temps (0, 30, 60, 120 minutes) pour chaque réplicat a été examinée et les valeurs aberrantes rencontrées sur un intervalle de temps ont été remplacées par des valeurs moyennes d'absorption mesurées dans le même réplicat sur les intervalles de temps restant.

4.3.2 Analyses statistiques

Pour chaque réplicat et chaque intervalle de temps, les vitesses d'absorption ont été représentées graphiquement en fonction des concentrations initiales mesurées. La vitesse maximale d'absorption (V_{max}) et la constante de demi-saturation (K_m), paramètres écophysologiques caractéristiques de l'absorption de l'algue, ont été calculées en faisant passer, par les points correspondant aux vitesses d'absorption calculées, une courbe selon l'équation de Michaelis-Menten :

$$V = \frac{(V_{\text{max}} \times S_i)}{(K_m + S_i)}$$

où V (en $\mu\text{mol} \cdot \text{gms}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) est : la vitesse d'absorption pour une concentration donnée, V_{max} (en $\mu\text{mol} \cdot \text{gms}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) : la vitesse maximale d'absorption en conditions saturantes pour le nutriment testé, S_i ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) : la concentration en nitrates dans l'eau au début de l'intervalle, K_m ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) : la constante de demi-saturation qui est la concentration en nutriments pour laquelle la vitesse d'absorption est égale à $V_{\text{max}}/2$. La relation entre la diminution de l'azote dans le milieu et sa vitesse d'absorption par l'algue peut être décrite par l'équation de Michaelis et Menten, par analogie avec la cinétique enzymatique (Dugdale 1967). Le profil de cette courbe de vitesse d'absorption en fonction de la concentration suit celui d'une croissance exponentielle jusqu'à un maximum (plateau).

L'équation de Michaelis-Menten a été déterminée par une régression non-linéaire de type $f = a \cdot x / (b + x)$ avec itérations. Toutes les analyses de la présente étude ont été réalisées sous Sigmaplot 11. La normalité des données a été contrôlée par un test de Shapiro-Wilk. A ce stade, une nouvelle sélection des données a été effectuée afin d'éliminer les valeurs aberrantes, c'est-à-dire, celles qui étaient trop éloignées d'une cinétique Michaelienne (ex : valeurs négatives). Suite aux régressions, les valeurs de R^2 ont également été examinées et la totalité des valeurs des

cinétiques correspondant aux réplicats dont les R^2 n'étaient pas jugés suffisant ont été éliminées (valeurs avant sélection consultables en annexe 3).

Les valeurs moyennes de V_{max} et K_m ainsi que les écarts types correspondant ont été déterminés à partir des cinétiques restantes. Le calcul de la pente initiale (α) des courbes de Michaelis-Menten a été obtenu à partir des V_{max} et K_m selon la formule suivante :

$$\alpha = V_{max}/K_m$$

4.4 Résultats et interprétations

4.4.1 Cinétique d'absorption de l'azote

4.4.1.1 Conditions expérimentales

Pour chaque expérience, les conditions météorologiques et en particulier de lumière ont été relativement bonnes : beau temps, vent faible voir nul. La luminosité moyenne était de $1467 \pm 720 \mu\text{mol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ le 18 février, $2496 \pm 432 \mu\text{mol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ le 16 juillet, $2612 \pm 262 \mu\text{mol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ le 30 juillet et $2153 \pm 653 \mu\text{mol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ le 16 septembre. La température moyenne mesurée dans les bacs au cours des expériences de cinétique était de $12.75 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ le 18 février, de $26.78 \pm 0.6 \text{ }^\circ\text{C}$ le 16 juillet, $26.40 \pm 0.8 \text{ }^\circ\text{C}$ le 30 juillet, $24.95 \pm 2.1 \text{ }^\circ\text{C}$ le 16 septembre et de $15.69 \pm 0.6 \text{ }^\circ\text{C}$ le 14 octobre.

Les concentrations en nutriments contenues dans l'eau de mer filtrée utilisée lors des expériences sont présentées dans le Tableau 3. Bien que ces valeurs ne reflétaient pas exactement celles du milieu, elles peuvent donner une indication des concentrations du milieu car l'eau de mer a été prélevée sur le site du CEVA (Presqu'île de Pen Lan Côtes d'Armor) et filtrée environ 15 jours avant les expériences de cinétique.

Tableau 3. Concentration des nutriments contenus dans l'eau de mer filtrée utilisée pour les expériences de cinétique pour chaque date et chaque espèce. Les valeurs sont en $\mu\text{mol. L}^{-1}$. La même eau de mer filtrée a été utilisée pour les expériences de juillet (même valeurs). Les valeurs précédées de < sont en deçà des limites de détection des analyses.

Date	Espèce	Nitrates	Azote ammoniacal	Orthophosphates
18 février	<i>Pylaiella</i>	12	<0.1	
16 juillet	<i>Pylaiella</i>	<0.1	1.8	0.76
29 juillet	<i>Ulva</i> spp.	<0.1	1.8	0.76
16 septembre	<i>Pylaiella</i>	<0.1	3.5	<0.1
14 octobre	<i>Ulva</i> spp.	1.1	0.63	1.7

Les concentrations internes en azote et phosphore ont été mesurées soit sur les algues prélevées (*Pylaiella*, février) soit lors de suivi saisonnier (Cimav P4) à des dates très proches des expérimentations de cinétique. Ces valeurs sont présentées Tableau 4. Ces valeurs suivent le profil saisonnier couramment observé : les valeurs sont fortes en début de saison de prolifération, puis diminuent au fur à mesure que les algues prolifèrent et que le milieu s'appauvrit en nutriments. En

fin de saison, les eaux se réenrichissent et la croissance des algues diminue ce qui permet à *P. littoralis* de reconstituer ses quotas internes en nutriments

Tableau 4. Concentrations internes en azote (N) et phosphore (P) de *P. littoralis* et *Ulva* spp dans le milieu correspondant aux lieux et dates de prélèvement. Les valeurs sont exprimées en % de Masse Sèche.

Date cinétique	Espèce	Lieux de prélèvement	N % MS	P % MS	Date des mesures
18 février	<i>Pylaiella</i>	Baie de la Fresnaye	3.71		16/02/2014
16 juillet	<i>Pylaiella</i>	Baie de la Fresnaye	1.87	0.22	15/07/2014
16 septembre	<i>Pylaiella</i>	Baie de la Fresnaye	2.28	0.28	09/09/2014
29 juillet	<i>Ulva</i> spp.	Trestel	2.38	0.08	30/07/2014
14 octobre	<i>Ulva</i> spp.	St Michel en Grève	3.49	0.17	10/09/2014

A chaque expérience, les mesures effectuées dans les blancs (sans algues) ont montré des variations des concentrations en nitrates infimes et négligeables par rapport à celles observées en présence des algues.

L'étude de l'évolution des concentrations en nitrates a généralement montré une diminution au cours du temps (Figure 2). **Ces concentrations n'ont jamais atteint une valeur nulle donc limitante** après 2h d'expérience même pour les concentrations les plus faibles du gradient de nitrates appliqué. Une seule valeur a été mesurée comme inférieure à $1 \mu\text{mol. L}^{-1}$ en fin d'expérience pour la cinétique de *Pylaiella* en juillet (concentration théorique [5] : $0.23 \mu\text{mol. L}^{-1}$). Trois autres valeurs étaient comprises entre 1 et $2 \mu\text{mol. L}^{-1}$ en fin d'expérience en juillet (*Pylaiella* : [10] : $1.03 \mu\text{mol. L}^{-1}$; *Ulva* : [5] : $1.13 \mu\text{mol. L}^{-1}$ et [10] : $1.37 \mu\text{mol. L}^{-1}$). Toutefois, la diminution en nitrates dans le milieu en cours d'expérimentation peut être responsable d'un ralentissement des vitesses d'absorption des nitrates au cours du temps, comme généralement observé lors de telles expériences (Lotze et Schramm, 2000). En février, les concentrations en nitrates ont faiblement varié reflétant une faible absorption des nitrates (Figure 2).



Figure 2. Evolution des concentrations en nitrates ($\mu\text{mol. L}^{-1}$) au cours des cinétiques d'absorption pour *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp. en février, juillet, septembre et octobre. Les mesures ont été effectuées au début des expériences (T0), après 30 min (T30), après 60 min (T60) et après 120 min (T120) pour chaque concentration théorique du gradient en nitrates appliqué lors de la cinétique : 0, 5, 10, 20, 50, 100, 200 $\mu\text{mol. L}^{-1}$. Les valeurs représentent les moyennes des réplicats ($n=3$).

4.4.1.2 *Vmax* et *Km*

En début de saison, les expériences de cinétique ont été limitées faute de matériel algal présent dans le milieu. En effet, la saison de prolifération macroalgale a connu en 2014 un développement tardif notamment dû à la succession de tempêtes hivernales. En février, seule une petite quantité de *Pylaiella littoralis* a pu être récoltée. L'algue était en mauvais état : très fragmentée, elle ne formait pas les « pompons » habituellement caractéristiques de sa morphologie. La prolifération de *Pylaiella* a réellement débuté en juin et les expériences de cinétique ont pu être effectuées en juillet et en septembre. En février, comme cela était attendu, *Ulva* spp n'était pas présente sous forme libre dans le milieu. Les comparaisons des cinétiques de *Pylaiella* et *Ulva* ont eu lieu en été (juillet) et en fin de saison de prolifération (septembre-octobre).

Les expériences de cinétique ont permis de calculer les vitesses d'absorption des nitrates pour chaque réplicat de chaque intervalle de temps selon le gradient de concentration en nitrates (7 concentrations utilisées). Les Figure 3 et Figure 4 représentent les résultats, après sélection des données (voir matériel et méthodes), obtenus pour *Pylaiella* et *Ulva* respectivement.

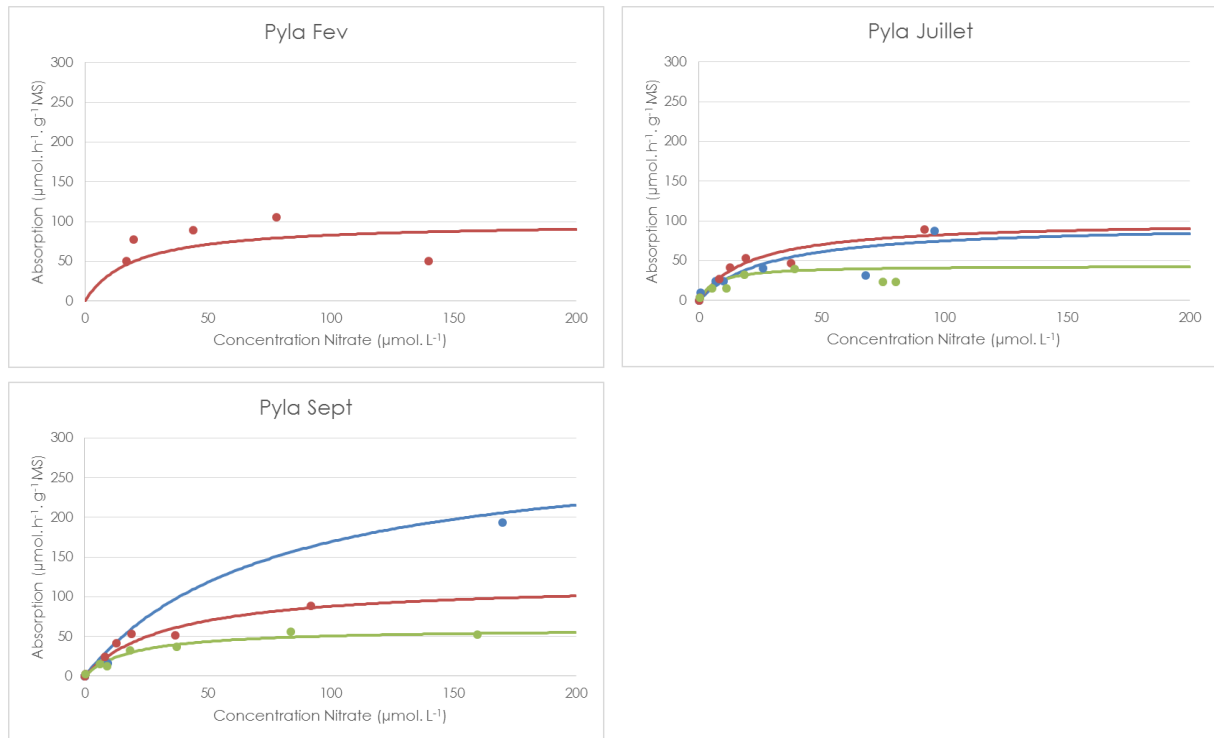


Figure 3. : Cinétique d'absorption des nitrates chez *P. littoralis* en fonction des concentrations de nitrates suivant la saison (février, juillet, septembre). Trois intervalles de temps ont été considérés : les trente premières minutes (T0-T30), les trente minutes suivantes (T30-T60), et la deuxième heure (T60-T120). Les symboles représentent la moyenne des vitesses mesurées par intervalle de temps exprimées en $\mu\text{mol. h}^{-1}. \text{g}^{-1} \text{MS}$, T0-T30 : en bleu, T30-T60 : en rouge, T60-T120 : en vert ($n=3$, moyenne par concentration et par intervalle de temps) à différentes concentrations en nitrates (0, 5, 10, 20, 50, 100, 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, ajout ponctuel à T0). Les courbes représentent l'évolution théorique (cinétique Michaelis-Menten) de la vitesse d'absorption des nitrates par intervalle de temps calculée à partir de la vitesse maximale d'absorption des nitrates (V_{max}) moyenne, en $\mu\text{mol. h}^{-1}. \text{g}^{-1} \text{MS}$, et la concentration en nitrates moyenne pour laquelle la $V_{\text{max}}/2$ est atteinte (K_m), en $\mu\text{mol. L}^{-1}$, moyennes calculées à partir des V_{max} et K_m obtenus par régression non-linéaire par intervalle de temps pour chaque réplicat.

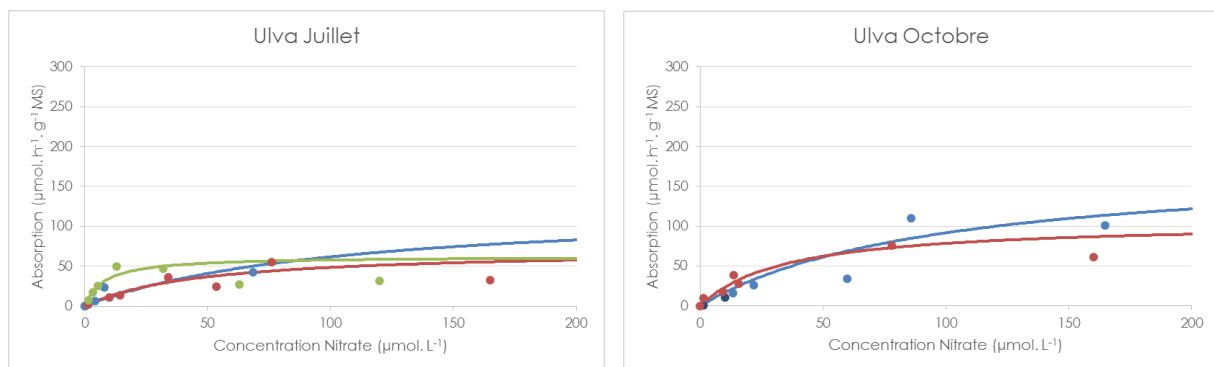


Figure 4. : Cinétique d'absorption des nitrates chez *Ulva* spp. en fonction des concentrations de nitrates suivant la saison (juillet, septembre). Trois intervalles de temps ont été considérés : les trente premières minutes (T0-T30), les trente minutes suivantes (T30-T60), et la deuxième heure (T60-T120). Les symboles

représentent la moyenne des vitesses mesurées par intervalle de temps exprimées en $\mu\text{mol. h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$, T0-T30 : en bleu, T30-T60 : en rouge, T60-T120 : en vert ($n=3$, moyenne par concentration et par intervalle de temps) à différentes concentrations en nitrates (0, 5, 10, 20, 50, 100, 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, ajout ponctuel à T0). Les courbes représentent l'évolution théorique (cinétique Michaelis-Menten) de la vitesse d'absorption des nitrates par intervalle de temps calculée à partir de la vitesse maximale d'absorption des nitrates (V_{max}) moyenne, en $\mu\text{mol. h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$, et la concentration en nitrates moyenne pour laquelle la $V_{\text{max}}/2$ est atteinte (K_m), en $\mu\text{mol. L}^{-1}$, moyennes calculées à partir des V_{max} et K_m obtenus par régression non-linéaire par intervalle de temps pour chaque réplicat.

Pour *Pylaiella* en février, les vitesses d'absorption d'un seul réplicat de l'intervalle de temps T30-T60 ont pu être utilisées dans le calcul des constantes d'absorption des nitrates : V_{max} et K_m . Pour *Ulva* en octobre, les vitesses d'absorption des réplicats du dernier intervalle de temps T60-T120 n'ont pas pu être utilisées. Le détail des résultats (V_{max} , K_m) pour chaque réplicat de chaque intervalle de temps est présenté en annexe 3.

Les valeurs de V_{max} , K_m et de la pente initiale calculées à partir des courbes de Michaelis-Menten sont présentées en Tableau 5. Une diminution des V_{max} et K_m a été observée au cours du temps d'expérimentation (entre chaque intervalle de temps). Ceci peut s'expliquer par une diminution des concentrations en nitrates dans les bacs au cours du temps et bien que des valeurs nulles n'aient jamais été atteintes, cette diminution a pu affecter les V_{max} et K_m . Ce phénomène est généralement observé lors de telles expériences (Lotze et Schramm, 2000). Afin de pouvoir comparer les capacités d'absorption de *Pylaiella littoralis* et d'*Ulva* spp., les valeurs maximales mesurées lors des 30 premières minutes (T0-T30) ont été considérées dans la présente étude.

Pour *Pylaiella*, en février, les vitesses d'absorption maximale (V_{max}) étaient faibles (99.18 $\mu\text{mol. h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$, Tableau 5). A cette période, les valeurs de concentrations internes azotées étaient extrêmement élevées (3.71 % MS, Tableau 4) et les concentrations dans le milieu pouvaient être également élevées (12 $\mu\text{mol. L}^{-1}$, Tableau 3). Le **faible V_{max} observé ainsi que le K_m** (Tableau 5) peuvent s'expliquer par des besoins faibles de l'algue en nitrates au vu de ses réserves internes élevées. Cette algue était également en mauvais état à cette période (très fragmentée) et certainement pas au mieux de ses capacités physiologiques.

En juillet, les valeurs de V_{max} de *Pylaiella* sont restées similaires à celles de février, mais leur K_m a légèrement augmenté (Figure 5). En parallèle, les concentrations en nitrates ont diminué que ce soit dans le milieu ou bien contenues dans l'algue (milieu : $< 0.1 \mu\text{mol. L}^{-1}$, Tableau 3 ; contenus internes : 1.87 % MS, Tableau 4). Le **K_m de *Pylaiella* reste cependant plus de trois fois inférieur à celui d'*Ulva***. Ceci confère un **avantage compétitif de *Pylaiella* sur *Ulva*** lorsque les concentrations du milieu sont faibles. En effet, un plus faible K_m traduirait une plus forte capacité à absorber les nitrates en faibles concentrations (Dean & Hurd, 2007; Martínez et al., 2012). Dans un tel milieu, le **V_{max} du *Pylaiella* légèrement plus faible que celui d'*Ulva*** (voir T0-T30, Tableau 5) représenterait également un **avantage**. Un V_{max} plus élevé, comme l'était celui d'*Ulva* en juillet, ne serait qu'un avantage dans des milieux riches en nutriments (Dean & Hurd, 2007; Martínez et al., 2012). Or les concentrations estivales en nitrates sont généralement faibles, excepté au niveau des rivières côtières débouchant sur l'estran des baies bretonnes touchées par les proliférations d'algues vertes. C'est d'ailleurs à partir de juillet que la population d'*Ulva*, déjà peu présente (quantité insuffisante pour les expérimentations de cinétiques), n'a plus été observée en Baie de la Fresnaye (contenus internes azotés proche du quota de subsistance : 0.9 % MS, données

Cimav P4). Les ulves utilisées pour la cinétique de juillet provenant de Trestel (22) avaient quant à elles un contenu interne en azote de 2.38 % MS (Tableau 4). Le Km élevé observé pour *Ulva* couplé au contenu interne supérieur au quota critique montre que l'algue n'a pas de besoin nutritionnel immédiat et n'a donc pas besoin d'absorber les nutriments de manière très efficace. .

En fin de saison de prolifération (septembre-octobre), le **Vmax de *Pylaiella* était à son maximum et une fois et demi supérieur à celui d'*Ulva*** (298 $\mu\text{mol. h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$ contre 180 $\mu\text{mol. h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$ pour *Ulva*, Tableau 5). **L'avantage était là encore au *Pylaiella*** pour qui, dans un milieu où les nitrates s'enrichissent à nouveau, un **fort Vmax** serait **favorable** à l'absorption de ces derniers. Par conséquence et du fait d'un ralentissement de la croissance, les contenus internes azotés du *Pylaiella* ont alors augmenté (2.28 % MS, Tableau 4). Il est à noter qu'en l'absence d'ulves en Baie de la Fesnaye, celles-ci ont été collectées à Saint-Michel-en-Grève où il n'y a pas de *Pylaiella* et donc pas de compétition. Sur ce site, la population d'ulves a connu une croissance en fin de saison qui se traduit par un Vmax plus élevé que celui mesuré en juillet sur les ulves provenant de Trestel, et une concentration interne azotée croissante (3.49 % MS). L'avantage de *Pylaiella* sur *Ulva* en fin de saison de prolifération (automne) avait également été illustré lors d'expériences de compétition dans le cadre du Cimav P3 2013. Lorsque les deux algues étaient cultivées ensemble, *Pylaiella* était devenue l'algue majoritaire quelle que soit sa densité de départ en conditions automnales. L'importance des facteurs environnementaux avaient également été mis en avant lors de ces expériences. En effet, l'état physiologique des algues est non seulement dépendant des disponibilités en nutriments mais aussi du rayonnement lumineux, de la photopériode et de la température (Dean & Hurd, 2007; Auby et al., 1994; Nishihara et al., 2005). Ces facteurs interagissent et sont à considérer dans leur ensemble pour la compréhension des phénomènes de prolifération macroalgale.

Tableau 5. Vitesses moyennes d'absorption des nitrates (Vmax) en $\mu\text{mol. h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$, concentration moyenne en nitrates pour laquelle le Vmax/2 est atteinte (Km), en $\mu\text{mol. L}^{-1}$ et la pente α ($\alpha = \text{Vmax}/\text{Km}$) pour *P. littoralis* et *Ulva* spp. obtenues lors des cinétiques d'absorption de février, juillet, septembre/octobre. Les valeurs sont les moyennes des trois réplicats pour chaque intervalle de temps: les trente premières minutes (T0-T30), les trente minutes suivantes (T30-T60), et la deuxième heure (T60-T120). Les valeurs manquantes sont dues à l'impossibilité de déterminer un Vmax et Km et/ou un R² significatif. En juillet, la cinétique d'absorption pour *Ulva* spp. n'a pas eu lieu faute d'algues présentes dans le milieu. **Les valeurs de février en rouge sont à considérer avec précautions (*Pylaiella* en mauvais état). Les valeurs en gras sont celles qui représentaient un avantage compétitif du *Pylaiella littoralis* par rapport à *Ulva* spp.**

Date	Temps	<i>Pylaiella</i>			<i>Ulva</i>		
		Vmax	Km	α	Vmax	Km	α
Février	T0-T30						
	T30-T60	99.18	19.56	5.07			
	T60-T120						
Juillet	T0-T30	96.44	28.91	3.34	126.05	103.76	1.21
	T30-T60	100.12	21.29	4.70	71.36	47.06	1.52
	T60-T120	43.53	6.65	6.54	62.43	7.90	7.90
Septembre /Octobre	T0-T30	297.63	75.98	3.92	180.77	97.24	1.86
	T30-T60	118.57	34.83	3.40	105.62	34.78	3.04
	T60-T120	60.24	19.23	3.13			

4.4.2 Synthèse et comparaison des V_{max} et K_m

Dans le cadre du Cimav P3, des mesures de cinétiques d'absorption des nitrates ont été conduites sur plusieurs années pour *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp. (CEVA, 2010, 2011, 2012). Une synthèse des V_{max} et K_m alors mesurés a été établie (Figure 5 et Figure 6) afin de suivre ces paramètres au cours de la saison de prolifération. D'une manière générale, la tendance observée pour les **V_{max}** correspond à des **valeurs plus fortes en début et fin de saison de prolifération** (avril et/ou septembre-octobre, Figure 5 et Figure 6) **pour *Pylaiella* et *Ulva***.

Pour *Pylaiella*, les valeurs faibles de V_{max} et K_m observées en février (2014, Figure 5) sont probablement dues à une algue en mauvais état ne permettant pas la pleine expression des capacités d'absorption de cette algue. Les V_{max} et K_m du *Pylaiella* mesurés en avril 2012 étaient bien plus forts, en accord avec les concentrations en azote du milieu généralement élevées en cette période de l'année, ce qui suppose une capacité d'absorption adaptée à un milieu plutôt riche en nutriments. Par ailleurs, le contenu interne des algues en azote est généralement élevé à cette période, ce qui ne nécessite pas une forte activité d'absorption par les algues. En été, le **faible K_m profiterait au *Pylaiella* dans un milieu appauvri en nitrates**, lui permettant d'absorber les nitrates nécessaires à son maintien. Cependant, **les températures estivales plus fortes pourraient limiter sa croissance** comme observé lors des expériences de compétition entre *Pylaiella* et *Ulva* (CEVA, 2013b). Ce paramètre n'intervient pas dans les expérimentations menées du fait de leur durée très courte. En septembre, les forts V_{max} et K_m mesurés en 2014 (Figure 5), correspondraient à un milieu à nouveau enrichi en nitrates.

La tendance du profil saisonnier des V_{max} d'*Ulva* était similaire à *Pylaiella* avec de fortes valeurs en début de saison de prolifération et une diminution en été (Figure 6). Ces valeurs semblent suivre l'évolution des concentrations en nitrates dans le milieu ainsi que les profils des contenus internes azotés d'*Ulva*. Concernant l'évolution saisonnière du K_m , celui-ci semble être plus fort en été pour *Ulva* (Figure 6) indiquant que celle-ci serait **mieux adaptée à un milieu plus riche en nitrates que *Pylaiella*** dont le K_m semble diminuer en été.

La comparaison des valeurs des constantes d'absorption est plus délicate car il faut prendre en considération les différences de protocoles pour l'obtention des cinétiques d'absorption des nitrates entre 2010-2011 et 2014 pour *Ulva* (pour *Pylaiella*, la méthode en batch a toujours été utilisée). Pour la période 2010-2011, les expérimentations ont été menées dans des bassins en circuit ouvert et flux continu d'eau de mer et de nutriments (méthode dans Probyn & Chapman, 1982). En 2014, les expérimentations ont été menées en batch (circuit fermé sans circulation d'eau de mer et apport ponctuel des nutriments en début d'expérience) selon la méthode de Lotze & Schramm, (2000b). Les résultats obtenus en batch sont parfois plus élevés que ceux obtenus en flux continus (Probyn & Chapman, 1982). Il ne faut cependant pas les considérer comme des surestimations, mais comme le potentiel de l'algue à utiliser des nutriments devenus soudainement disponibles comme à la suite d'épisodes pluvieux par exemple (Wallentinus, 1984b). L'algue peut alors augmenter son absorption en nutriments et sa concentration interne, qui pourra être utilisée par la suite pour sa croissance (Wallentinus, 1984b). Les constantes d'absorption ainsi obtenues sont à considérer comme le potentiel de l'algue, alors que la croissance n'est pas forcément couplée à l'absorption des

nutriments (Wallentinus, 1984b; Probyn & Chapman, 1982). La différence de méthode employée peut donc expliquer les valeurs plus fortes obtenues en 2014 par rapport à celles de 2010 et 2011.

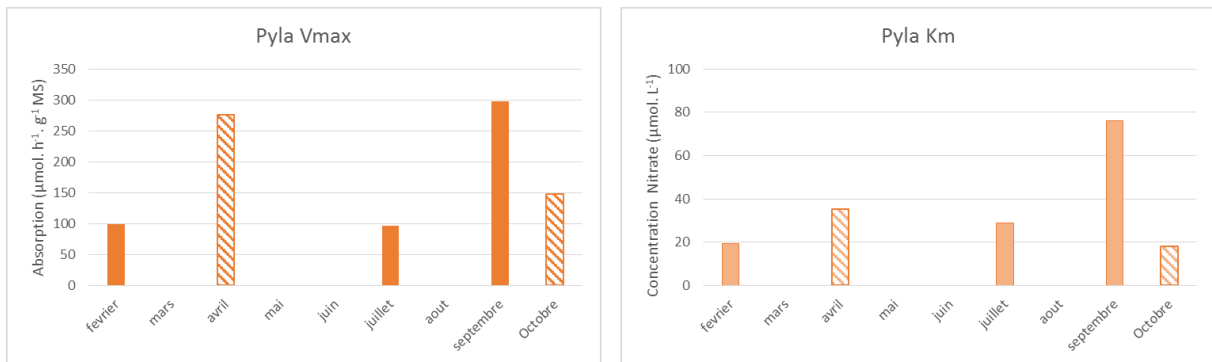


Figure 5. Synthèse des valeurs de Vmax et Km acquises pour *Pylaiella littoralis* au cours de la saison de prolifération dans le cadre du Cimav P3. Vmax : en $\mu\text{mol. h}^{-1}. \text{g}^{-1} \text{MS}$ et Km : en $\mu\text{mol. L}^{-1}$. les valeurs des années 2014 sont représentées en couleur pleines et celles de 2012 en hachurés. Pour toutes les années, le *Pylaiella* provenait de la Baie de la Fresnaye.

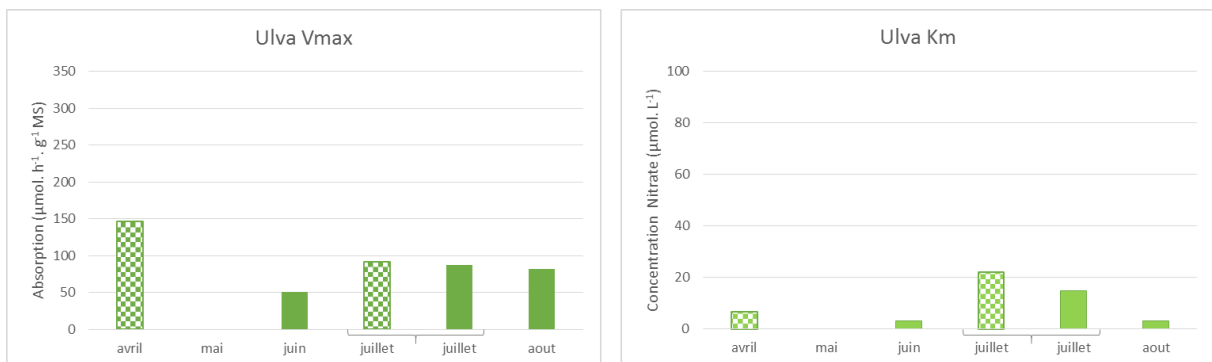


Figure 6. Synthèse des valeurs de Vmax et Km acquises pour *Ulva* spp. au cours de la saison de prolifération dans le cadre du Cimav P3. Vmax : en $\mu\text{mol. h}^{-1}. \text{g}^{-1} \text{MS}$ et Km : en $\mu\text{mol. L}^{-1}$. Les valeurs des années 2010 sont représentées en motifs à carreaux et celles de 2011 en couleur pleine. Pour toutes les années, les *Ulva* provenaient de Saint Michel en Grève. La méthode expérimentale de mesure était en flux d'eau de mer continu. Les données 2014 obtenues par une méthode différente en batch ne sont pas présentées ici.

En comparaison avec les valeurs de la littérature, les constantes d'absorption (Vmax, Km, α) obtenues au CEVA sont du même ordre de grandeur que celles d'autres auteurs. Les variations observées avec la littérature s'expliquent par l'influence des facteurs environnementaux qui peuvent varier fortement en fonction de la géographie (Pérez-Mayorga et al., 2011). Ces facteurs, tels que la température, le rayonnement lumineux, la photopériode, la concentration en nitrates dans le milieu, agissant de façon couplée (Auby et al., 1994), il n'est pas possible d'obtenir exactement les mêmes conditions à des fins de comparaison précises. Les constantes d'absorption des nitrates (CEVA et littérature) sont présentées pour *Pylaiella littoralis* en Tableau 6 et pour *Ulva* spp. en Tableau 7.

Tableau 6. Comparaison des constantes d'absorption (V_{max} , K_m , α) de la cinétique des nitrates pour *Pylaiella littoralis* entre les valeurs obtenues dans la présente étude (2014), celles de 2012 et celles disponibles dans la littérature. * : *Pylaiella* en mauvais état. V_{max} : en $\mu\text{mol. h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$ et K_m : en $\mu\text{mol. L}^{-1}$, $\alpha = V_{max}/K_m$. Expérience : détails des conditions expérimentales : température, luminosité, date, temps de cinétique.

Origine	Expérience	V_{max}	K_m	α	Source
La Fresnaye	13°C, 1470 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, février, 0-30 min	99,18*	19,56*	5,07*	Ceva, 2014
La Fresnaye	26°C, 2500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, juillet, 0-30 min	96,44	28,91	3,34	Ceva, 2014
La Fresnaye	24°C, 2150 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, sept, 0-30 min	297,63	75,98	3,92	Ceva, 2014
La Fresnaye	15°C, 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, avril	275,89	35,45	7,81	Ceva, 2012
La Fresnaye	15°C, 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, octobre	148,18	18,23	8,13	Ceva, 2012
Mer Baltique	6°C	32,50	3,63	8,96	Wallentinus, 1984
Mer Baltique	1°C	70,14	13,64	5,14	Wallentinus, 1984
Mer Baltique	15°C, 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 0-30 min	300,1	116,4	2,6	Lotze & Schramm, 2000
Mer Baltique	15°C, 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 30-60 min	166,5	54,5	3,1	Lotze & Schramm, 2000
Mer Baltique	15°C, 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 60-120 min	65,8	19,9	3,3	Lotze & Schramm, 2000
Mer Baltique	15°C, 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 120-180 min	33,6	5,2	6,5	Lotze & Schramm, 2000

Tableau 7. Comparaison des constantes d'absorption (V_{max} , K_m , α) de la cinétique des nitrates pour *Ulva* spp. entre les valeurs obtenues dans la présente étude (2014), celles obtenues depuis 2009 par le CEVA et celles disponibles dans la littérature. V_{max} : en $\mu\text{mol. h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$ et K_m : en $\mu\text{mol. L}^{-1}$, $\alpha = V_{max}/K_m$. La méthode expérimentale est indiquée par « Flux » pour les expériences en flux continu de nutriments et circuit ouvert et « Batch » pour les expériences avec apport ponctuel de nitrates et circuit fermé.

Date	Type d'algues	Méthode	V_{max}	K_m	α	Source
08/07/2009	<i>Ulva armoricana</i> (Lernnot)	Flux	108,7	5,9	18,42	Ceva, 2009
10/07/2009	<i>Ulvaria obscura</i> (La Fresnaye)	Flux	76,2	1,3	58,6	Ceva, 2009
25/08/2009	<i>Ulva rotundata</i> (Douarnenez)	Flux	56,8	2,3	24,70	Ceva, 2009
21/04/2010	<i>Ulva armoricana</i> (St Michel)	Flux	146,0	6,6	22,12	Ceva, 2010
12/05/2010	<i>Ulva armoricana</i> vasière (Rance)	Flux	223,0	46,0	4,85	Ceva, 2010
30/07/2010	<i>Ulva armoricana</i> (St Michel)	Flux	91,7	22,1	4,15	Ceva, 2010
06/06/2011	<i>Ulva armoricana</i> (St Michel)	Flux	50,4	3,1	16,26	Ceva, 2011
19/07/2011	<i>Ulva armoricana</i> (St Michel)	Flux	87,5	14,6	5,99	Ceva, 2011
02/08/2011	<i>Ulva rotundata</i> vasière (Rance)	Flux	121,8	30,9	3,94	Ceva, 2011
31/08/2011	<i>Ulva armoricana</i> (St Michel)	Flux	81,6	3,1	26,32	Ceva, 2011
29/07/2014	<i>Ulva</i> spp. (Trestel)	Batch	126,1	103,8	1,21	Ceva, 2014
14/10/2014	<i>Ulva</i> spp. (St Michel)	Batch	180,8	97,2	1,86	Ceva, 2014
Mai	<i>Ulva rigida</i> (Italie)	Batch	68,16	87,03	0,78	Naldi Viaroli 2002
Avril-Octobre	<i>Ulva lactuca</i> (Australie)	Batch	116	34	3,47	Runcie et al 2003
Juillet	<i>Ulva prolifera</i> (Chine)	Batch	124,25	15,15	8,20	Luo et al 2012
Mai	<i>Ulva linza</i> (Chine)	Batch	109,13	22,99	4,75	Luo et al 2012

Les profils saisonniers d'*Ulva* spp. obtenus en synthétisant les données du CEVA correspondaient également à ceux utilisés dans le modèle Mars 3D-Ulve permettant de reproduire l'évolution des contenus internes azotés (Perrot et al., 2014). En effet, les valeurs élevées de V_{max} en début et fin de saison de prolifération ainsi qu'une diminution en milieu de saison étaient utilisées dans le modèle et ont été **confirmées par les mesures expérimentales** acquises au cours du Cimav P3 (Figure 7). De même, en considérant les différences liées au mode expérimental (flux continu et batch), le profil saisonnier des K_m de 2010-2011 et les valeurs de 2014 tendent à montrer que les K_m d'*Ulva* sont élevés en milieu de saison et confirment également les valeurs utilisées dans le modèle (Figure 7).

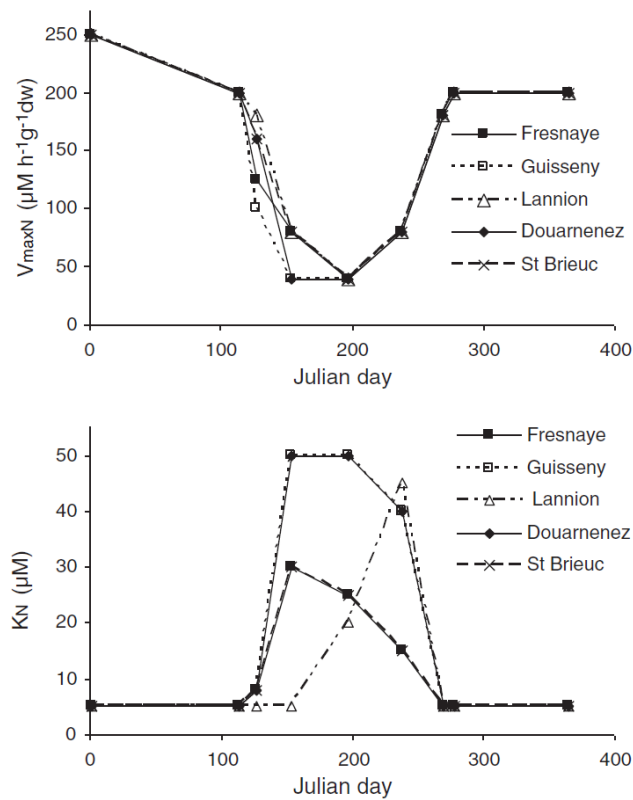


Figure 7. Profil saisonnier des constantes d'absorption des nitrates (V_{max} et K_m) pour *Ulva* spp. utilisé dans le modèle Mars 3D-Ulve après calibration avec les mesures des contenus internes azotés (Perrot et al., 2014).

*Les constantes d'absorption des nitrates (V_{max} , K_m) de *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp. suivent un profil saisonnier en fonction de la concentration en nitrates du milieu et des concentrations internes azotées des algues. Les tendances obtenues correspondent à celles appliquées dans le modèle Mars 3D-Ulve.*

*Pour *Pylaiella* et *Ulva*, les vitesses maximales d'absorption étaient plus grandes en début et fin de saison de prolifération. Les constantes de demi-saturation (K_m) d'*Ulva* étaient quant à elles plus importantes en milieu et fin de saison de prolifération.*

*Ces constantes d'absorption ont permis de mettre en évidence l'avantage écophysologique de *Pylaiella littoralis* sur *Ulva* spp. pouvant expliquer les phénomènes de compétition observés en Baie de Saint-Brieuc. Les K_m faibles mesurés pour le ***Pylaiella* en été** démontrent que cette algue est **bien adaptée lorsque les nitrates sont en faibles concentrations dans le milieu**, alors que les K_m plus forts mesurés pour ***Ulva*** pour cette même période traduisent un **besoin pour cette algue d'un milieu riche en nitrates pour son développement**.*

Il est toutefois nécessaire de rappeler que d'autres paramètres peuvent intervenir dans la compétition entre ces deux algues telle que la température de l'eau qui n'intervient pas dans les expérimentations menées du fait de la durée très courte de celles-ci.

5 Etude de l'activité photosynthétique de *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp.

Le processus photosynthétique est essentiel à la croissance des algues mais comme tout autre paramètre écophysio­logique, il est sensible aux facteurs environnementaux (température, lumière, nutriment du milieu). L'un des facteurs essentiels à la photosynthèse et donc à la croissance de l'algue est l'irradiance lumineuse. La relation entre la photosynthèse et l'irradiance donnée par l'établissement de courbes de productivité par rapport à l'éclair­ement, permet de comparer la capacité physiologique à utiliser la lumière entre différentes algues (Lobban & Harrison, 1997). Les algues les plus efficaces dans l'utilisation de la lumière auront une croissance supérieure par rapport à celles qui sont moins efficaces.

De plus, jusqu'à 50 % du carbone intégré par le processus de photosynthèse dans les tissus des algues lors de la croissance est couplé avec le métabolisme d'assimilation de l'azote (Vanlerberghe et al., 1990). Comme l'assimilation de l'azote sous forme de protéines requiert à la fois de l'énergie et du carbone inorganique, des interactions majeures existent entre l'assimilation de l'azote et le métabolisme photosynthétique (Turpin, 1991).

Dans le but d'identifier certains paramètres écophysio­logiques pouvant expliquer les phénomènes de compétition observés entre *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp., la photosynthèse de ces algues a été étudiée par des mesures d'évolution de l'oxygène dissous dans l'eau de mer en fonction de la concentration en azote du milieu et en fonction de l'état physiologique de ces algues. Finalement, la capacité de ces deux algues à utiliser la lumière a été établie grâce à des courbes de productivité en fonction de l'éclair­ement.

5.1 Photosynthèse en fonction de la concentration en azote du milieu

5.1.1 Matériel et Méthodes

5.1.1.1 Mesures de la photosynthèse

Afin d'obtenir une estimation des capacités de production primaire de *P. littoralis* et *Ulva* spp. en fonction d'un gradient de concentration en nitrates dans le milieu, les variations de concentration en dioxygène dissous (O₂ dissous) ont été mesurées dans le temps et ont été utilisées comme *proxy* de la photosynthèse et de la respiration (Kraufvelin et al., 2010; Littler & Murray, 1974). Les mesures d'O₂ dissous ont été effectuées en début et fin d'une période d'exposition à la lumière (estimation de la photosynthèse nette, environ une heure) et d'une période à l'obscurité (estimation de la respiration, environ une heure) (Noël et al., 2010).

Les mesures d'O₂ dissous ont été obtenues lors d'incubations effectuées à la suite des incubations de cinétique d'absorption, le même jour. Les dates d'expérimentations et le matériel biologique étaient les mêmes que pour les cinétiques d'absorption des nitrates présentées paragraphe 4. Les incubations ont eu lieu dans le même dispositif de bacs en batch (n=3) et milieu expérimental (eau

de mer filtrée et ajout de nutriments) après 2 heures d'exposition aux différentes concentrations en nitrates (Figure 8). Le brassage par bullage a été arrêté lors de ces incubations pour pouvoir enregistrer les variations en O₂ dissous. En l'absence de vent, la diffusion d'oxygène à l'interface air-eau dans ce système ouvert a été considérée comme négligeable (Noël et al., 2010).

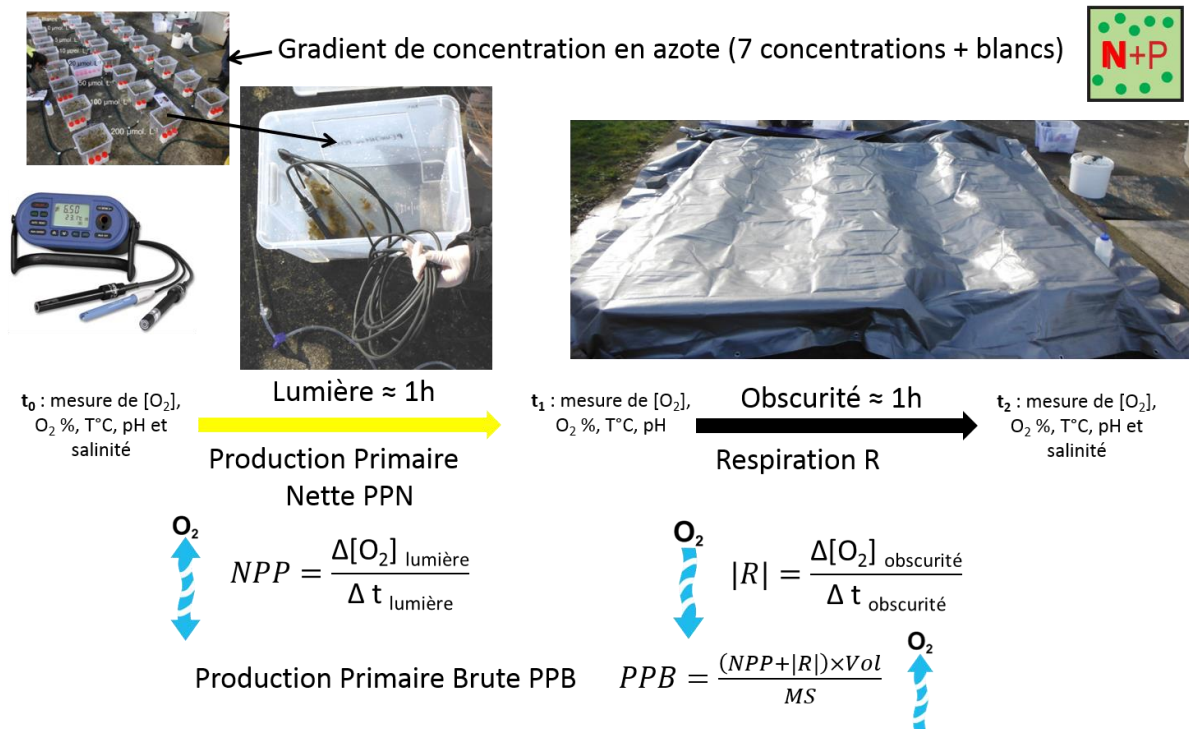


Figure 8. Protocole d'incubation pour estimer la productivité primaire brute (PPB) lors de la photosynthèse par *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp. . L'oxygène dissous produit lors d'une première phase à la lumière a permis l'estimation de la productivité primaire nette (PPN), c'est-à-dire une mesure à la fois de la photosynthèse et de la photorespiration. L'oxygène dissous consommé par les algues lors d'une seconde phase à l'obscurité a permis l'estimation de la respiration (R). La PPB a été obtenue par la correction de PPN par R pour compenser l'oxygène disparu lors de la photorespiration. La PPB a été standardisée par la masse sèche (MS) et le volume d'eau des bacs (Vol).

Une première mesure de chaque paramètre (concentration en O₂ dissous, saturation en O₂, température, pH et heure des prélèvements) a été effectuée à t_0 pour chaque bac en début de période d'exposition à la lumière. Une deuxième mesure des paramètres a été faite à t_1 à la fin de la période d'exposition à la lumière. Les échanges d'O₂ dissous mesurés lors de l'exposition à la lumière (entre t_0 et t_1) correspondaient à la Productivité Primaire Nette (PPN), c'est à dire aux échanges à la fois dus à la photosynthèse (production d'O₂ dissous) et à la photorespiration (consommation d'O₂ dissous). Suite à la mesure à t_1 , les bacs ont été immédiatement couverts par une bâche opaque. Les mesures enregistrées à t_1 correspondaient alors également aux paramètres de début de période à l'obscurité. Une troisième et dernière mesure a été effectuée à t_2 en fin de période à l'obscurité. Les échanges d'O₂ dissous mesurés à l'obscurité (entre t_1 et t_2) correspondaient à la consommation d'O₂ dissous uniquement lié à la respiration. Les mesures ont été acquises en utilisant un Multimètre 197i (WTW).

A la fin des incubations, la biomasse des macroalgues de chaque bac a été prélevée, rincée à l'eau UP (10 secondes), égouttée, congelée puis lyophilisée et immédiatement pesée afin d'obtenir la masse sèche.

Afin de s'assurer que les conditions n'étaient pas limitantes pour la photosynthèse lors des incubations, plusieurs paramètres ont été vérifiés. Les temps d'incubations ont été prévus dans le but d'éviter d'atteindre la supersaturation en O₂ pouvant devenir limitante aux alentours de 160% (Noël et al., 2010). La température a été mesurée pour vérifier que les macroalgues se trouvaient dans des conditions proches de celles dans lesquelles elles sont dans le milieu (en particulier lorsqu'elles sont en suspension dans une faible épaisseur d'eau) et s'assurer que les variations de température ne puissent affecter le métabolisme (photosynthèse et respiration) des macroalgues (Brooks & Farquhar, 1985; Orduña-Rojas et al., 2013; Simon et al., 1999). Toutefois, pour des espèces habituées à de fortes variations environnementales (rideau, flaque, milieu intertidal), une fluctuation plus faible que celles observées naturellement aurait des effets négligeables sur le métabolisme (Noël et al., 2010). Des mesures de pH ont été faites pour s'assurer que les concentrations en dioxyde de carbone n'étaient pas limitantes pour la photosynthèse car une forte élévation du pH pourrait entraîner une diminution de fixation du carbone (Smith & Bidwell, 1989). La salinité a été contrôlée ponctuellement au cours des incubations afin de s'assurer de sa constance. Une homogénéisation de l'eau a été effectuée avant chaque mesure par une agitation modérée afin d'éviter toute stratification des concentrations en O₂ dissous (Noël et al., 2010).

5.1.1.2 **Calculs et analyses statistiques**

La productivité primaire a été déterminée selon la méthode suivante (Noël et al., 2010).

La Productivité Primaire Nette (PPN), qui correspond aux échanges de dioxygène dissous pendant la période de lumière, c'est-à-dire à la fois lors de la photosynthèse et de la respiration des macroalgues, a été calculée comme suit :

$$PPN = \frac{\Delta[\text{O}_2]_{\text{lumière}}}{\Delta t_{\text{lumière}}}$$

Où $\Delta[\text{O}_2]_{\text{lumière}}$ est la différence de concentration en dioxygène dissous entre les mesures prises respectivement à la fin et au début de la période de lumière et $\Delta t_{\text{lumière}}$ est la différence de temps entre ces mesures.

La consommation d'O₂ dissous lors de la respiration (R) au cours de la période d'obscurité a été calculée de la manière suivante :

$$|R| = \left| \frac{\Delta[\text{O}_2]_{\text{obscurité}}}{\Delta t_{\text{obscurité}}} \right|$$

Où $\Delta[\text{O}_2]_{\text{obscurité}}$ est la différence de concentration en oxygène dissous entre les mesures effectuées respectivement au début et fin de la période d'obscurité et $\Delta t_{\text{obscurité}}$ est la différence de temps entre ces mesures. R est exprimé en valeur absolue.

Les flux de R et PPN sont exprimés en concentration de dioxygène dissous par unité de temps (mg O₂. L⁻¹. min⁻¹).

La Productivité Primaire Brute (PPB) correspond uniquement à la photosynthèse des macroalgues et correspond à la productivité primaire nette corrigée par la respiration :

$$PPB = (PPN + |R|) \times V$$

Pour la normalisation des résultats, la PPB exprimée par unité de volume et par unité de temps (mg O₂. L⁻¹. min⁻¹) a été corrigée par le volume d'eau des bacs (V, en L) afin d'obtenir les flux de photosynthèse (mg O₂. min⁻¹) (Martins et al., 2007). Les taux photosynthétiques (mg O₂. L⁻¹. min⁻¹).

gms⁻¹) ont été obtenus en corrigeant les flux par la biomasse algale en masse sèche contenue dans chacun des bacs.

Les résultats ont été présentés avec l'erreur type (\pm SE). Toutes les données ont été testées pour la normalité (test de Shapiro-Wilk) et d'homoscédasticité (test de Cochran) sous Sigmaplot 11. La production primaire brute (PPB) et la respiration (R) ont été comparées par analyse de variance (ANOVA) à trois facteurs : (1) concentration en nutriments (7 niveaux : 0, 5, 10, 20, 50, 100, 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NaNO_3), (2) espèce de macroalgues (2 niveaux : *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp.) et (3) date de l'expérimentation (Juillet et Septembre/Octobre). Du fait de l'absence de donnée pour *Ulva* spp. en février, la PPB et R ont été également comparées par analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs : (1) concentration en nutriments (7 niveaux : 0, 5, 10, 20, 50, 100, 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NaNO_3) et (2) date de l'expérimentation (Février, Juillet et Septembre/Octobre).

5.1.2 Résultats et interprétations

La Production Primaire Brute (PPB) mesurée au cours de la saison de prolifération selon un gradient de concentrations en nitrates (après 2h d'incubation) pour *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp. est présentée en Figure 9. **Aucun effet de la concentration en nitrates n'a été observé sur la PPB.** La PPB était similaire quelle que soit la concentration en nitrates pour *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp à toutes les dates (ANOVA, $p > 0.05$). Des différences significatives de PPB au cours de la saison de prolifération et entre *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp. ont été mises en évidence (interaction date et espèces, ANOVA, $F_{1,56} = 15.89$, $p < 0.001$). **La PPB d'*Ulva* spp. était supérieure à celle de *Pylaiella* en milieu et fin de saison de prolifération (juillet et septembre/octobre) (SNK, $p < 0.01$).** De plus, **la PPB de *Pylaiella* n'a pas varié au cours de la saison (ANOVA, $p > 0.05$)** alors que **la PPB d'*Ulva* spp. était significativement plus forte en milieu de saison qu'en fin de saison (SNK, juillet > octobre, $p < 0.001$).**

La capacité photosynthétique d'*Ulva* spp. serait donc plus forte que celle de *Pylaiella* dans les conditions environnementales existantes lors des expérimentations (température et luminosité). D'autre part, **la concentration en nitrates du milieu aurait une influence négligeable sur la capacité photosynthétique d'*Ulva* spp. et de *Pylaiella*.**



Figure 9. Productivité Primaire Brute (PPB) de *P. littoralis* et *Ulva* spp. en fonction des concentrations en nitrates (0, 5, 10, 20, 50, 100, 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, ajout ponctuel à T0) pour les mois de février, juillet, septembre et octobre. PPB est exprimée en $\text{mg O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g MS}$, ($n=3$, moyenne par concentration \pm SE).

La Respiration (R) mesurée au cours de la saison de prolifération selon un gradient de concentrations en nitrates (après 2h d'incubation) pour *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp. est présentée Figure 10. **Aucun effet de la concentration en nitrates** n'a été observé sur R. R était similaire quelle que soit la concentration en nitrates pour *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp à toutes les dates (ANOVA, $p > 0.05$). Des différences significatives de R au cours de la saison de prolifération et entre *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp. ont été mises en évidence (interaction date et espèces, ANOVA, $F_{1,56} = 17.33$, $p < 0.001$). **La Respiration d'*Ulva* spp. était supérieure à celle de *Pylaiella* en fin de saison de prolifération** (septembre/octobre) (SNK, $p < 0.001$). De plus, **la Respiration de *Pylaiella* était plus importante en début de saison** (ANOVA, $F_{2,42} = 1.6$, $p < 0.001$, SNK : février > juillet = septembre, $p < 0.01$) alors que **la Respiration d'*Ulva* spp. était significativement plus forte en fin de saison** (SNK, juillet < octobre, $p < 0.001$).

La Respiration de *Pylaiella* était donc plus forte que celle d'*Ulva* spp. en début de saison alors que c'était l'inverse en fin de saison de prolifération dans les conditions environnementales existantes lors des expérimentations (température et luminosité). D'autre part,

la concentration en nitrates du milieu aurait une influence négligeable sur la respiration d'*Ulva* spp. et de *Pylaiella*.

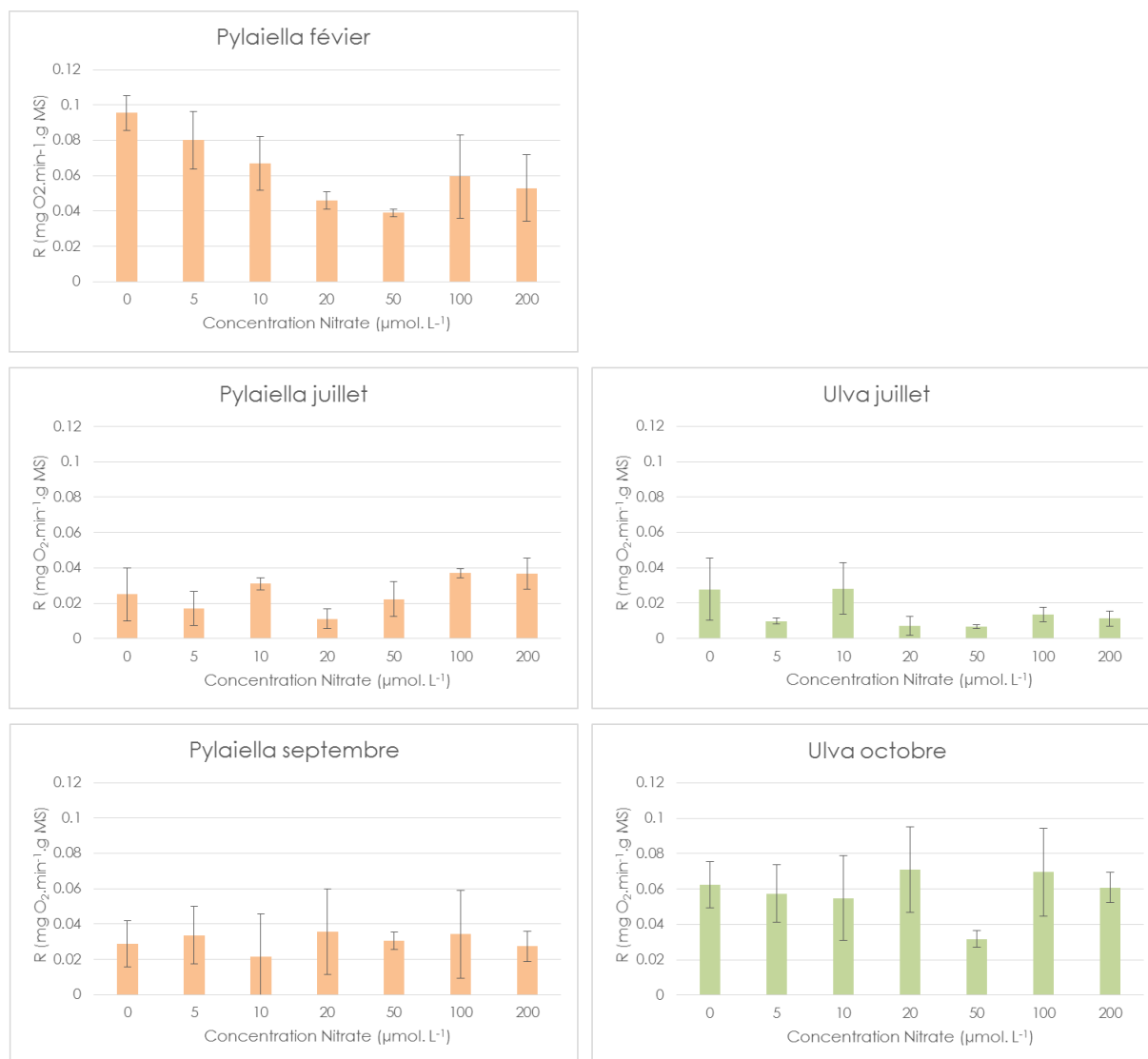


Figure 10. Respiration (R) de *P. littoralis* et *Ulva* spp. en fonction des concentrations en nitrates (0, 5, 10, 20, 50, 100, 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, ajout ponctuel à T0) pour les mois de février, juillet, septembre et octobre. R est exprimé en $\text{mg O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$, ($n=3$, moyenne par concentration \pm SE).

D'une manière générale, la concentration en nutriments semblait avoir un effet négligeable sur les capacités photosynthétiques de *Pylaiella littoralis* et d'*Ulva* spp. . Les différences observées entre les deux espèces au cours de la saison de prolifération sembleraient plutôt liées aux conditions environnementales telles que la température et la lumière. La capacité photosynthétique de *Pylaiella* serait favorisée en début de saison, période à laquelle la température est favorable à son développement et à sa croissance. En effet une température optimum de 15°C a été identifiée comme optimum pour *Pylaiella* (Lotze et al., 2000b; Lotze et al., 1999). Au cours des expérimentations sur les capacités photosynthétiques de *Pylaiella* pendant la saison de prolifération, les températures les plus favorables à cette algue étaient en début de saison (13°C , février, Tableau 8) alors qu'en milieu et fin de saison les températures relevées au cours des mesures étaient de 27°C et 25°C (Tableau 8). Les capacités photosynthétiques d'*Ulva* spp.

étaient favorisées en milieu de saison. *Ulva* spp. a une température optimale de développement plus élevée que celle de *Pylaiella*. Lors des expérimentations, une température de 26°C était enregistrée correspondant au maximum de Production Primaire Brute d'*Ulva* spp. observé (Tableau 8).

Il est également probable que la photopériode ait eu une influence sur la productivité de ces algues au cours de la saison de prolifération (Lobban & Harrison, 1997; Ménesguen, 2003). Le rôle de la photopériode sur les proliférations d'*Ulva* spp. et de *Pylaiella* reste à tester.

Tableau 8. Production Primaire Brute (PPB) et Respiration (R) mesurées au cours de la saison de prolifération (effet négligeable des nutriments, seuls les résultats sans ajout de nutriments sont présentés). PPB et R sont exprimés en mg O₂.min⁻¹.g⁻¹ de MS avec l'Ecart Type (ET) (n=3). Les mesures ont été effectuées sans ajout de nutriments. La température (T°C) représente la moyenne ± ET. En gras, les valeurs maximales observées.

Espèces	Date expériences	T°C	PPB	ET	R	ET
<i>Pylaiella littoralis</i>	18 février 2014	12.75 ± 0.5	0.16	± 0.04	0.10	± 0.02
<i>Pylaiella littoralis</i>	16 juillet 2014	26.78 ± 0.6	0.13	± 0.03	0.02	± 0.03
<i>Pylaiella littoralis</i>	16 septembre 2014	24.95 ± 2.1	0.12	± 0.03	0.03	± 0.02
<i>Ulva</i> spp.	30 juillet 2014	26.40 ± 0.8	0.48	± 0.19	0.03	± 0.03
<i>Ulva</i> spp.	14 octobre 2014	15.69 ± 06	0.24	± 0.05	0.06	± 0.02

5.2 Photosynthèse en fonction de l'état physiologique des algues

5.2.1 Matériel et Méthodes

5.2.1.1 Plan expérimental

Afin de comparer les capacités métaboliques (photosynthèse, respiration) des espèces opportunistes *P. littoralis* et *Ulva* spp. en fonction de leurs états physiologiques (fragmentation, épiphyte par les diatomées, enrichissement en nutriments) ainsi que l'influence de leur forme de développement (forme fixée, libre), des incubations ont été effectuées.

Les contributions métaboliques des formes libres de *P. littoralis* et d'*Ulva* spp. ont été mesurées suivant différents états physiologiques et leur mode de vie : 1) ***P. littoralis* libre et épiphyte** par des diatomées, 2) ***P. littoralis* libre fragmenté par hydrodynamisme**, 3) ***P. littoralis* libre fragmenté mécaniquement**, 4) ***U. armoricana* libre fragmentée par hydrodynamisme**, 5) ***U. armoricana* libre provenant d'arrachage et non fragmentée**. La contribution métabolique des 6) **diatomées épiphytes sur *P. littoralis*** a également été estimée. Les formes de 7) ***P. littoralis* fixé** et 8) **d'*U. rotundata* fixée** ont aussi été étudiées. Des mesures supplémentaires ont été effectuées sur du 9) ***P. littoralis* libre cultivé en eau de mer** et sur du 10) ***P. littoralis* libre cultivé et enrichi en nutriments (N et P)** afin d'estimer l'effet des nutriments sur le métabolisme de *P. littoralis*.

Tableau 9. Etats physiologiques et formes (libre ou fixé) des espèces *P. littoralis* et *Ulva* spp. comparés lors des expériences d'estimation de la photosynthèse et respiration. Les états fragmentés par hydrodynamisme s'apparentaient à des algues ayant séjournées longuement dans le milieu et constituant les stocks hivernaux (en vert). Les algues fragmentées mécaniquement ou épiphytées par des diatomées correspondaient à des algues endommagées (en orange). Les algues fixées ou non fragmentées d'arrachage correspondaient à des algues ayant peu ou pas séjournées sous forme libre dans le milieu (en bleu). La contribution des diatomées récupérées par lavage du *Pylaiella* a été estimée (en blanc). L'effet des nutriments sur la photosynthèse de *Pylaiella* a été testé après 15 jours de culture en comparant les algues non enrichies et enrichies (en rouge). Les numéros en exposant font référence aux intitulés des différents types d'algues dans le texte ci-dessus. † : espèces utilisées pour les mesures d'O₂ dissous en continu (n=1). * : espèces utilisées pour les calculs de Production Primaire Brute (PPB) et de Respiration (R) (n=3).

Espèce	Forme	Etat physiologique	Date et lieu de collecte
<i>Pylaiella littoralis</i>	Libre	Fragmenté par hydrodynamisme ^{(2)†*}	16 février 2014, Fresnaye
		Fragmenté Mécaniquement ^{(3)*}	31 mars 2014, Fresnaye
		Epiphyté ^{(1)*}	31 mars 2014, Fresnaye
		Cultivé non enrichi ^{(9) †}	5 mars 2014, Fresnaye
		Cultivé enrichi ^{(10) †}	5 mars 2014, Fresnaye
	Fixée	Bon ^{(7) †*}	9 avril 2014, Pen Lan
Diatomées		Obtenues par lavage du <i>Pylaiella</i> ^{(6) †}	31 mars 2014, Fresnaye
<i>Ulva</i> spp.	Libre	Fragmenté par hydrodynamisme ^{(4) †*} (<i>U. armoricana</i>)	26 juillet 2012, Morieux (en culture au Ceva)
		Non fragmenté d'arrachage ^{(5) †*} (<i>U. armoricana</i>)	19 mars 2014, Saint Jouan des Guérets
	Fixée	Bon ^{(8) (<i>U. rotundata</i>) †*}	9 avril 2014, Pen Lan

Par comparaison avec le *P. littoralis* récolté le 16 février, les individus de *P. littoralis* prélevés le 31 mars étaient largement épiphytés par des diatomées de type *Nitzschia* sp. identifiées au microscope optique. Les mesures métaboliques du ***P. littoralis* libre fragmenté par hydrodynamisme** ont été effectuées sur le prélèvement du 16 février et celles du ***P. littoralis* libre et épiphyté** sur celui du 31 mars. La contribution métabolique des **diatomées** a été mesurée sur des échantillons obtenus de la manière suivante. Trois réplicats de 10 grammes de ***P. littoralis* libre et épiphyté** (du 31 mars), lavés par cinq lavages successifs dans 100 mL d'eau de mer, avec une forte agitation manuelle à la cuillère, suivie d'un essorage manuel, ont fourni des diatomées en quantité comparable à celles fixés sur 10 grammes de *P. littoralis* épiphyté. La comparaison au microscope optique de 5 individus lavés et de 5 individus non lavés a permis d'estimer la diminution des diatomées fixées à de plus de 75%. Une suspension de diatomées (960 ± 100 cellules par mL avec $n = 3$, moyenne \pm ET) de 500 mL a été incubée.

Afin de simuler une fragmentation par fort hydrodynamisme (***P. littoralis* libre fragmenté par hydrodynamisme**), pouvant survenir lors de tempêtes hivernales, ***P. littoralis* fragmenté mécaniquement** récolté le 31 mars a été broyé mécaniquement dans 200mL d'eau de mer non filtrée pendant trente secondes au mixer, filtré sur passoire puis rincé trois fois à l'eau de mer non filtrée, puis filtré sur passoire après chaque lavage.

U. armoricana* libre fragmentée par hydrodynamisme** a été maintenue pendant un an et demi en culture en eau de mer non filtrée en flux continu, agitée assez fortement par bullage, entraînant une fragmentation des thalles au-delà d'une taille de quelques centimètres et supplémentée de façon hebdomadaire en milieu de culture avec compléments nutritifs (composition en Annexe 2) et nitrates de sodium à 75 g. L^{-1} utilisé à raison de 1 mL. L^{-1} . L'état physiologique d'U. armoricana***

libre fragmentée par hydrodynamisme correspondrait à une simulation du maintien d'un stock hivernal libre fragmenté par hydrodynamisme.

L'effet des nutriments sur le métabolisme a été testé en comparant *P. littoralis* libre cultivé en eau de mer **enrichie** et **non-enrichie**. Le *P. littoralis* a été cultivé dans deux bacs avec bullage de 20L d'eau de mer non filtrée renouvelée tous les 2 jours pendant 15 jours : l'un supplémenté en compléments nutritifs (composition en Annexe 2) et nitrate de sodium à 75 g. L⁻¹ utilisé à raison de 1 mL. L⁻¹, à chaque renouvellement (*P. littoralis* libre cultivé et enrichi) et l'autre non supplémenté (*P. littoralis* libre cultivé).

5.2.1.2 Mesure de la photosynthèse

Les différentes incubations se sont déroulées les jours suivants la collecte des algues entre février et avril en extérieur (en prenant les mêmes précautions que lors des incubations précédentes). Les conditions météorologiques des jours d'incubation étaient similaires (températures, vent, ensoleillement > 1000 mol photons. m⁻². s⁻¹). Les incubations ont eu lieu dans 10 litres d'eau de mer non filtrée (EMNF), non enrichie en nutriments, brassée par un agitateur magnétique (pas de bullage pour ne pas augmenter les échanges à l'interface air/eau et pouvoir estimer les échanges d'O₂ dissous), dans 3 bacs répliqués (n=3). Une biomasse de 1 gramme de matière fraîche par litre a été ajoutée dans chaque bac.

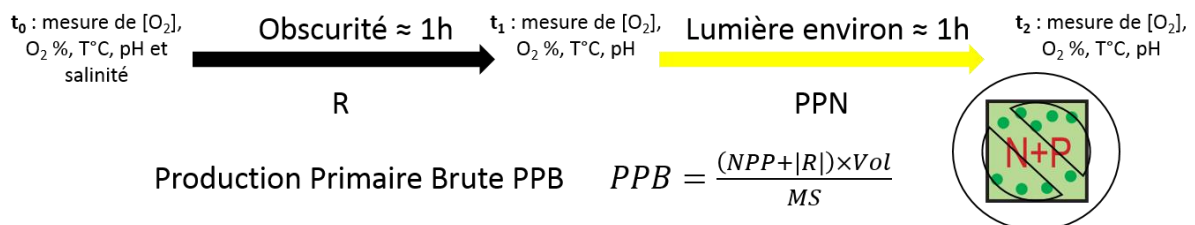


Figure 11. Protocole d'incubation pour estimer la productivité primaire brute (PPB) lors de la photosynthèse de *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp. selon leur état physiologique. L'oxygène dissous consommé par les algues lors d'une première phase à l'obscurité a permis l'estimation de la respiration (R). L'oxygène dissous produit lors d'une seconde phase à la lumière a permis l'estimation de la productivité primaire nette (PPN), c'est-à-dire une mesure à la fois de la photosynthèse et de la photorespiration. La PPB a été obtenue par la correction de PPN par R pour compenser l'oxygène disparu lors de la photorespiration. La PPB a été standardisé par la masse sèche (MS) et le volume d'eau des bacs (Vol). L'eau de mer n'a pas été enrichie lors de ce protocole.

Les incubations ont comporté une période d'exposition à l'obscurité (environ 1h) obtenue comme décrit précédemment (5.1.1.1), suivi d'une période d'exposition à la lumière (environ 1h). L'ordre des périodes de lumière et d'obscurité n'influence pas les résultats car les processus de

photosynthèse et de respiration sont stables en quelques minutes (Noël et al., 2010). Lors des expériences du Cimav P3 de cette année, l'ordre de ces périodes a été choisi afin que la période à la lumière corresponde au milieu de journée lorsque le soleil était proche de son zénith. Les expérimentations sur l'état physiologique des algues débutant le matin, la période à l'obscurité a été placée avant la période à la lumière pour toutes les expérimentations.

En début et fin de période d'obscurité, les mesures de chaque paramètre (concentration en O₂ dissous, saturation en O₂, température, pH et heure des prélèvements) ont été effectuées à t₀ et t₁ respectivement. Comme précédemment, les mesures à t₁ correspondaient également aux mesures de début de période d'exposition à la lumière. Une troisième et dernière mesure t₂ a été effectuée au cours de la période d'exposition à la lumière avant d'atteindre la supersaturation en O₂ dissous (au bout d'environ une heure, vers environ 160 % d'O₂ dissous, Noël et al 2010). De plus, un enregistrement en continu de la concentration en O₂ dissous (une mesure par minute) a été obtenu avec un multimètre dans l'un des bacs répliqués uniquement, afin d'observer l'évolution de l'O₂ dissous au cours du temps et d'estimer le temps nécessaire pour atteindre la supersaturation lors de la période d'exposition à la lumière. Cette période d'exposition à la lumière a donc été étendue au-delà des mesures à t₂ d'environ une heure.

A la fin de chaque incubation, les macroalgues de chaque bac, après rinçage à l'eau UP, ont été déshydratées à l'étuve à 63°C pendant 72 h avant pesée de la masse sèche.

Les calculs de la Productivité Primaire Brute et de la Respiration ont été effectués comme indiqué au paragraphe 5.1.1.2. Les capacités métaboliques (photosynthèse : PPB, respiration : R) des espèces opportunistes *P. littoralis* et *Ulva* spp. ont été comparées suivant leurs états physiologiques (fragmentation, épiphyté par les diatomées, enrichissement) ainsi que l'influence de leur forme de développement (forme fixée, libre) par une analyse de variance (ANOVA) pour la PPB et de Kruskal-Wallis pour R (test non-paramétrique car les données de respiration ne suivaient pas une loi normale) entre les 7 niveaux suivant : ***P. littoralis* libre épiphyté, *P. littoralis* libre fragmenté par hydrodynamisme, *P. littoralis* libre fragmenté mécaniquement, *P. littoralis* fixé, *Ulva* libre d'arrachage, *Ulva* libre fragmentée par hydrodynamisme, *Ulva* fixée**. Un test post-hoc de Student-Newman-Keuls (SNK) a été effectué pour détailler les différences détectées par les analyses précédentes.

5.2.2 Résultats et interprétations

Les profils d'échanges d'O₂ dissous au cours des périodes d'obscurité et de lumière sont présentés pour chaque espèce et état physiologique en Figure 12. D'une manière générale, une diminution linéaire de concentration en O₂ dissous était observée à partir de la mise à l'obscurité (t₀) correspondant à la respiration mesurée au cours de la période à l'obscurité. Puis, une augmentation de concentration en O₂ dissous correspondant à la photosynthèse ou Production Primaire Nette (photosynthèse et photorespiration) lorsque les algues étaient exposées à la lumière. Cette augmentation était linéaire dans un premier temps puis s'écartait de la linéarité au fur à mesure que la concentration en O₂ dissous devenait saturante voire supersaturante dans l'eau de mer. En effet, la photosynthèse est inhibée à partir d'un certain % d'O₂ dissous (environ 160%, Noël et al., 2010). Afin de pouvoir comparer la production primaire entre les espèces, il est donc important de considérer les échanges d'O₂ dissous dans leur phase linéaire, c'est-à-dire au maximum de la

productivité des algues. C'est pourquoi, les temps de période lumineuse sont assez courts (fin de la période lumineuse : t_2). Le temps d'adaptation des algues entre le passage de l'obscurité à la lumière en matière de photosynthèse était très rapide (quelques minutes). C'est pourquoi lors des estimations de la productivité primaire la concentration en O_2 dissous mesurée lors de la fin de la période à l'obscurité est également généralement admise (Noël et al., 2010) comme la concentration en O_2 dissous mesurée en début de période à la lumière (t_1).

Les algues présentant les **échanges d' O_2 dissous les plus forts lors de la photosynthèse** étaient le ***Pylaiella* cultivé en milieu enrichi** ainsi que l'***Ulva* spp. fixée** (Figure 12). Le ***Pylaiella* fixé** et l'***Ulva* spp. d'arrachage** étaient le deuxième groupe d'algues les plus performantes, venait ensuite l'***Ulva* spp. fragmentée par hydrodynamisme**. Finalement, les échanges d' O_2 dissous les plus faibles pour ces algues étaient ceux du ***Pylaiella* cultivé (non enrichi)** et du ***Pylaiella* fragmenté par hydrodynamisme**. La contribution des **diatomées** seules aux échanges en O_2 dissous était très faible et **négligeable**. C'est-à-dire que lorsqu'une algue était épiphytée par des diatomées, leur métabolisme photosynthétique ne pouvait pas influencer sur les mesures en O_2 dissous. Cependant, une algue fortement épiphytée pouvait tout de même pâtir de l'ombrage de ces diatomées et donc présenter une photosynthèse réduite.

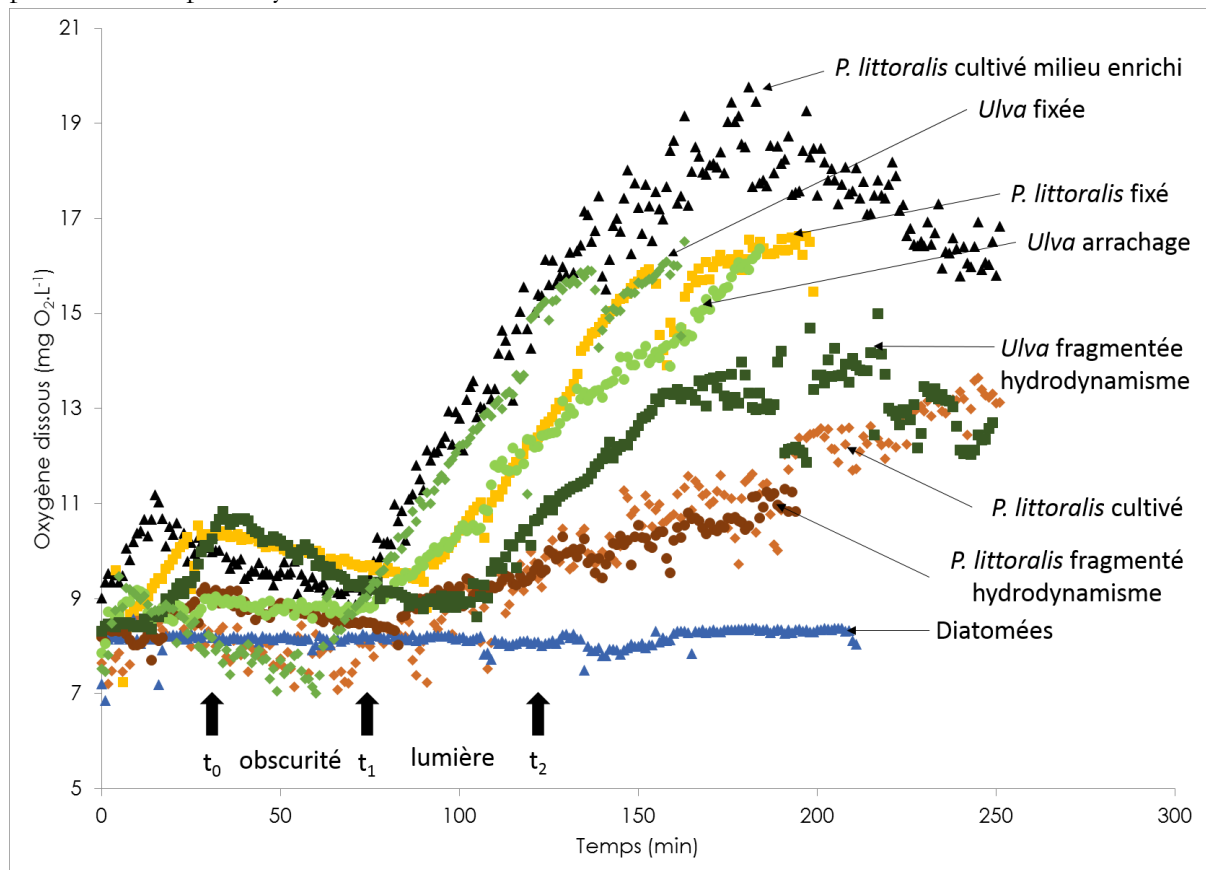


Figure 12. Concentrations en dioxygène dissous (mg. L⁻¹) au cours du temps (min) mesurées au cours des incubations (période d'obscurité et d'exposition à la lumière) pour les différentes espèces de *P. littoralis* (en bruns, jaune, noir), *Ulva* spp. (en vert), selon leurs états physiologiques (fragmenté, croissance en milieu enrichi en N ou non) et leur mode de vie (fixée ou libre) et diatomées. Les détails des états physiologiques est indiqué Tableau 9 (les profils d' O_2 dissous de *P. littoralis* fragmenté mécaniquement et épiphyté n'ont pas été suivis au cours du temps et seules les valeurs en début et fin des périodes à la lumière et à l'obscurité ont été mesurées, voir Figure 13). Les valeurs d' O_2 dissous étaient mesurées et enregistrées toutes les minutes dans un seul bac (n=1) par le multimètre. Les flèches noires représentent les temps, à titre indicatif (pouvant varier de quelques minutes suivant les expérimentations), auxquels les mesures d' O_2 dissous sont prises pour

les périodes à l'obscurité et à la lumière pour les calculs de productivité primaire brute. Ces mesures interviennent lorsque la consommation ou production d'O₂ dissous est linéaire et avant la supersaturation en O₂ dissous (fin des courbes non linéaires).

Les taux de Production Primaire Brute (PPB) et de Respiration (R) calculés à partir des mesures d'O₂ dissous ci-dessus sont présentés Figure 13. Des différences significatives des capacités photosynthétiques de ces algues ont été mises en évidence selon leur état physiologique (Kruskal-Wallis, H = 18,165, p < 0.01). Trois groupes se distinguaient avec un premier groupe ayant les capacités photosynthétiques les plus élevées : *Pylaiella* fixé, *Ulva* spp. d'arrachage (groupe b, Figure 13, SNK, p < 0.01). Avec l'*Ulva* spp. fixée (troisième algue la plus productive), ces algues correspondaient à celle qui n'avaient pas (fixées) ou peu séjourné (arrachage) sous forme libre dans le milieu. Un deuxième groupe composé d'algues jusqu'à 4 fois moins productives que les précédentes était constitué par *Pylaiella* libre épiphyté, *Pylaiella* fragmenté mécaniquement et *Ulva* spp. fragmenté par hydrodynamisme (groupe a, Figure 13). Ces algues correspondaient à des états endommagés (épiphyte, fragmentation). L'algue la moins productive était le *Pylaiella* fragmenté par hydrodynamisme récolté en fin d'hiver et représentant le stock hivernal.

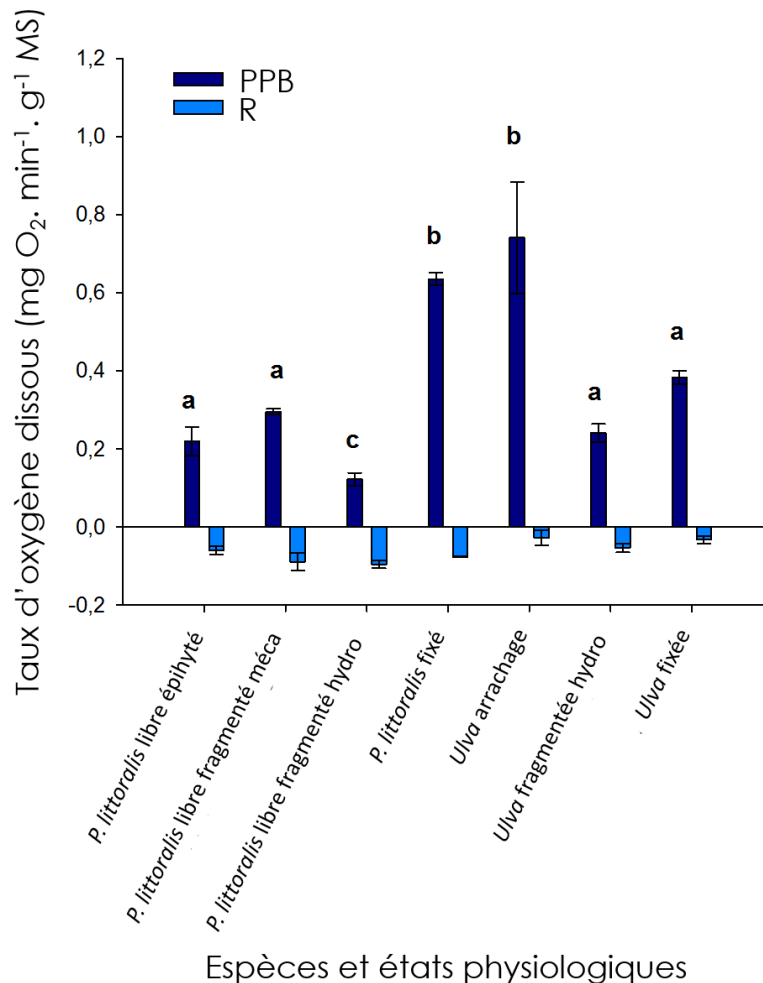


Figure 13. Production primaire brute (PPB) et Respiration (R), en mg O₂.min⁻¹.g⁻¹ MS, des espèces opportunistes *P. littoralis* et *Ulva* spp. selon leur état physiologique (fragmentation par hydrodynamisme (hydro) ou mécanique (méca), épiphyté ou non par des diatomées, récemment arraché) ainsi que leur mode de vie (fixé ou libre) (n=3, moyenne ± ET). PPB : différences significatives entre les macroalgues (Kruskal-Wallis, H = 18,165, ddl = 6, p < 0.01). Test SNK : Groupe b (*P. littoralis* fixé = *Ulva* libre) > Groupe a (*Ulva* fragmentée hydro = *P. littoralis* libre fragmenté méca = *P. littoralis*

libre épiphyte) > Groupe c (*P. littoralis* libre fragmenté hydro). R : différences significatives (ANOVA, $F_{6,14} = 3,736$, $p < 0.05$) non confirmés par SNK.

Les états physiologiques des algues prédominaient sur les espèces en termes de conséquences sur leur capacité de production. Les états physiologiques des algues les plus productives, c'est-à-dire à plus fort pouvoir de croissance et donc de prolifération, correspondaient à des algues fixées, récemment arrachées ou enrichies sur plusieurs jours. Les algues les moins productives étaient celles ayant subi des dommages : fragmentation, épiphyte. Les algues en fin d'hiver ayant subi un long séjour dans le milieu, bien que ce dernier ait été riche en nutriments (fragmentation par hydrodynamisme), étaient 4 à 2 fois moins productives que celles récemment arrachées ou fixées.

5.3 Photosynthèse en fonction de l'intensité lumineuse : détermination des courbes de Productivité en fonction de l'Eclairement (courbes de cinétique PE)

5.3.1 Matériel et Méthodes

5.3.1.1 Plan expérimental

Dans le but d'obtenir une estimation des capacités de production primaire de *P. littoralis* en fonction d'un gradient d'intensité lumineuse, les variations de concentrations en dioxygène dissout (O_2 dissous) ont été mesurées dans le temps et utilisées comme proxy de mesure pour la photosynthèse et la respiration. Afin d'approfondir les connaissances sur les phénomènes de compétition entre *P. littoralis* et *Ulva* spp., les capacités de production primaire de *U. armoricana* ont été également estimées.

Tableau 10. Date de collecte et d'expérimentation pour l'établissement des courbes de productivité en fonction de l'éclairement (courbe PE).

Espèces	Date et lieu de collecte	Date d'expérimentation
<i>Pylaiella littoralis</i>	28 juillet 2014, Baie de Fresnaye	29 juillet 2014
<i>Ulva armoricana</i>	19 août 2014, Trestel	20 août 2014

5.3.1.2 Etablissement des courbes de Productivité/Eclairement (Courbes PE)

Les mesures d' O_2 dissous ont été obtenues lors d'incubations successives avec des filtres neutres d'opacité décroissante permettant d'établir un gradient d'intensité lumineuse. Sept incubations ont été réalisées allant de l'obscurité à la lumière naturelle. Les incubations ont eu lieu dans des bacs en propylène (n=3) remplis par 2L d'eau de mer filtrée à 0.22 μ m. Les bacs étaient disposés dans un système de bain-marie régulé par un refroidisseur et une pompe afin de maintenir une température

de 15°C (Figure 14). Des échantillons de 2 g de Matière Fraîche (soit 1 g de MF.L⁻¹) ont été déposés dans chacun des répliqués. La première mesure d'O₂ dissous a été réalisée immédiatement après ajout de la matière algale dans les répliqués. Les mesures d'O₂ dissous ont été effectuées en début et fin de période à l'obscurité (phase de respiration), et de période d'exposition à la lumière avec ou sans filtre, suivant un gradient croissant d'intensité lumineuse (phase de photosynthèse). Les intensités lumineuses ont été mesurées à l'aide d'un photomètre (LI-COR ; LI-188B) pour chaque période en plaçant le capteur à la surface de l'eau sous chaque filtre lorsqu'ils étaient présents. Les temps moyens d'incubation par intensité lumineuse reçue sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 11 : Intensités lumineuses appliquées par l'utilisation de filtres neutres permettant d'établir un gradient lumineux et pour lesquelles la Production Primaire Brute a été estimée. Les temps d'incubation ont été diminués à mesure que l'intensité lumineuse augmentait afin d'éviter une supersaturation en O₂ dissous : la production d'oxygène étant plus forte à de forte intensité. L'intensité lumineuse est exprimée en $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Traitement	Obscurité	Filtre 5	Filtre 4	Filtre 3	Filtre 2	Filtre 1	Lumière
Temps d'incubation	60 min	60 min	60 min	45 min	30 min	15 min	15 min
Intensité lumineuse	0	100	200	400	700	1000	1200

Le brassage par bullage n'a pas été utilisé lors des incubations pour permettre l'enregistrement des variations en O₂ dissous. Le respect des conditions non-limitantes pour la photosynthèse lors des incubations a été vérifié comme indiqué paragraphe 5.1.1.1. La température d'incubation a été fixée à 15°C afin d'éviter une augmentation extrême de la température dans les faibles volumes d'eau utilisés qui pourrait ralentir le métabolisme des algues (Noël et al., 2010). La température de 15°C est également reconnue comme optimum pour la croissance et le développement de *P. littoralis* (Lotze et al., 2000b; Lotze et al., 1999). Un bac (appelé blanc), sans ajout d'algues, a été utilisé afin de mesurer une éventuelle variation dans l'eau de mer filtrée (échanges gazeux avec l'atmosphère) et de pouvoir corriger les résultats en conséquence. Les mesures d'O₂ dissous ont été acquises en utilisant un Multimètre 197i (WTW). A la fin des incubations, la biomasse des macroalgues de chaque bac a été prélevée, rincée à l'eau UP, égouttée, congelée puis lyophilisée. Les biomasses sèches ont ensuite été pesées.

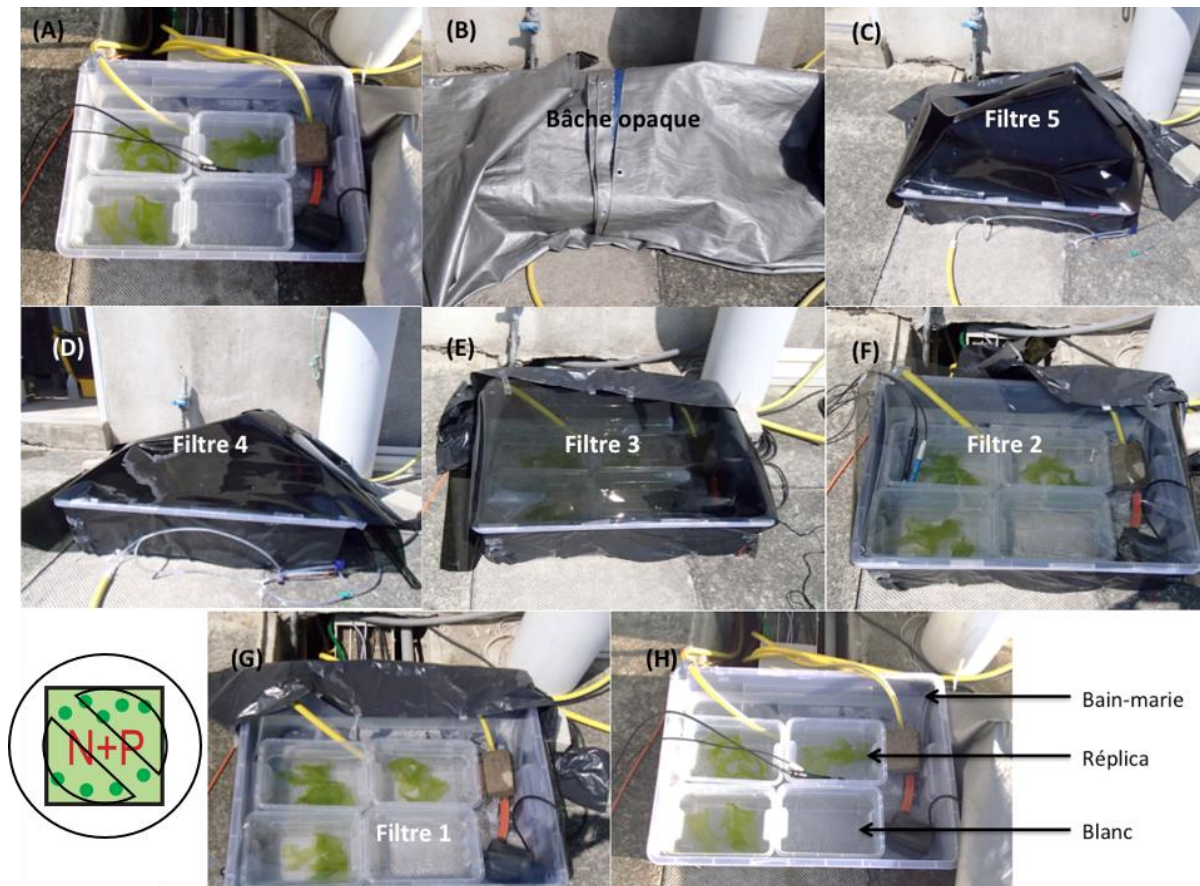


Figure 14 : Dispositif expérimental productivité-éclairage. Mesures effectuées après ajout des ulves (A), à la fin de la période d'obscurité (B), à la fin de la période d'exposition à $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (C), à $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (D), à $400 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (E), à $700 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (F), à $1000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (G) et à $1500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (H). L'eau de mer n'a pas été enrichie lors de ces expériences.

Les calculs de la Productivité Primaire Brute (PPB) pour chaque intensité lumineuse ont été effectués selon les formules présentées au paragraphe 5.1.1.2. Les courbes de productivité en fonction de l'éclairage (courbe PE) ont été déterminées par la formule décrite par Webb et al. (1974). Cette relation correspond à une courbe biphasique avec une production linéaire à faible intensité lumineuse puis à une saturation de la photosynthèse à des intensités lumineuses plus fortes correspondant à une PPB maximum (un plateau) (Figure 15) :

$$PPB = PPB_{max} (1 - \exp^{-I/I_s})$$

Où PPB_{max} représente la Production Primaire Brute maximum lorsque l'irradiance est saturante ; I est l'irradiance appliquée durant l'incubation ; I_s correspond à la quantité de lumière saturante minimale à laquelle la productivité est maximale (PPB_{max}). Les PPB obtenues lors des mesures ont été comparées par analyse de variance (ANOVA) à mesures répétées à deux facteurs : espèces (*P. littoralis* et *Ulva*) et lumière (7 niveaux d'intensité lumineuse). Un test post-hoc de Student-Newman-Keuls (SNK) a été effectué pour détailler les différences détectées par l'ANOVA. PPB_{max} et I_s ont été déterminés graphiquement.

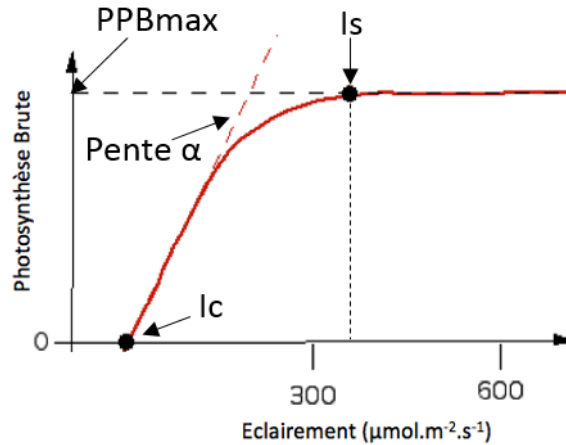


Figure 15. Courbe PE : Productivité en fonction de l'Eclairement théorique. La courbe est composée d'une pente linéaire initiale α qui représente l'efficacité photosynthétique lorsque l'intensité lumineuse est limitante. Le point de compensation I_c représente l'intensité lumineuse à laquelle la production d'O₂ (photosynthèse) est égale à la consommation d'O₂ (respiration) : $I_c = R/\alpha$. L'intensité de saturation I_s correspond à la quantité de lumière saturante minimale à laquelle la productivité est maximale (PPBmax) : $I_s = PPB_{max}/\alpha$.

5.3.2 Résultats et interprétations

Les incubations de *P. littoralis* et de *U. armoricana* à des intensités lumineuses différentes ont permis d'estimer les taux photosynthétiques (PPB) et respiratoires présentés dans la Figure 16. **La PPB de *P. littoralis* a augmenté jusqu'à des valeurs significativement supérieures** (PPB max : $0,31 \pm 0,11$ mg O₂.min⁻¹.g⁻¹ de MS) **par rapport à celle de *U. armoricana*** (PPB max : $0,12 \pm 0,04$ mg O₂.min⁻¹.g⁻¹ de MS), en interaction avec l'intensité lumineuse (ANOVA, $F_{5,35} = 3,88$, $p < 0,05$). Les différences étaient significatives à partir d'une intensité lumineuse de $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (SNK, $p = 0,002$). Aux fortes intensités lumineuses, ***P. littoralis* ne semblait pas subir de photoinhibition** (réduction de la photosynthèse) alors que **pour *U. armoricana*, une photoinhibition était observée** avec une diminution de la PPB mesurée (Lobban & Harrison, 1997). La courbe PE, tracée selon le modèle de Webb pour *U. armoricana*, ne tient pas compte de la photoinhibition (Webb et al., 1974), elle n'a donc pas suivie la diminution des PPB mesurée. **L'irradiance minimale de saturation (I_s), de *P. littoralis*, était atteinte pour environ $350 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, inférieure à $1000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ pour *U. armoricana*.** Une faible I_s présente un **avantage pour *Pylaiella* aux faibles intensités lumineuses par rapport à *U. armoricana***, c'est-à-dire que *Pylaiella* a la capacité d'atteindre une production primaire maximale dès $350 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ et donc de croître à de faibles intensités lumineuses, confirmant les premières mesures faites en 2012 (CEVA, 2012) et le I_s de $124 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ trouvé pour *Pylaiella* en Mer Baltique (Johansson & Snoeijs, 2002). Au contraire, *U. armoricana* a besoin de fortes lumières pour se développer de façon optimale.

La PPB plus forte pour *Pylaiella* par rapport à *Ulva* peut s'expliquer par la régulation de la température pendant cette expérimentation. En effet, la température était de 17°C donc proche de l'optimum de température de 15°C pour cette algue (Lotze et al., 2000b; Lotze et al., 1999) alors

qu'*Ulva* a besoin de température plus forte pour être à son optimum (entre 19°C et 28°C selon les espèces (Geertz-Hansen et al., 1993; Merceron et al., 2007; Pádua et al., 2004)).

L'établissement des courbes PE au cours de la saison de prolifération avec régulation des températures propres à celles du milieu permettrait de connaître l'évolution des capacités photosynthétiques de *Pylaiella* et *Ulva* spp., c'est-à-dire leur capacité de croissance et de prolifération. Cela permettrait également d'affiner les hypothèses de compétition établies entre ces deux algues.

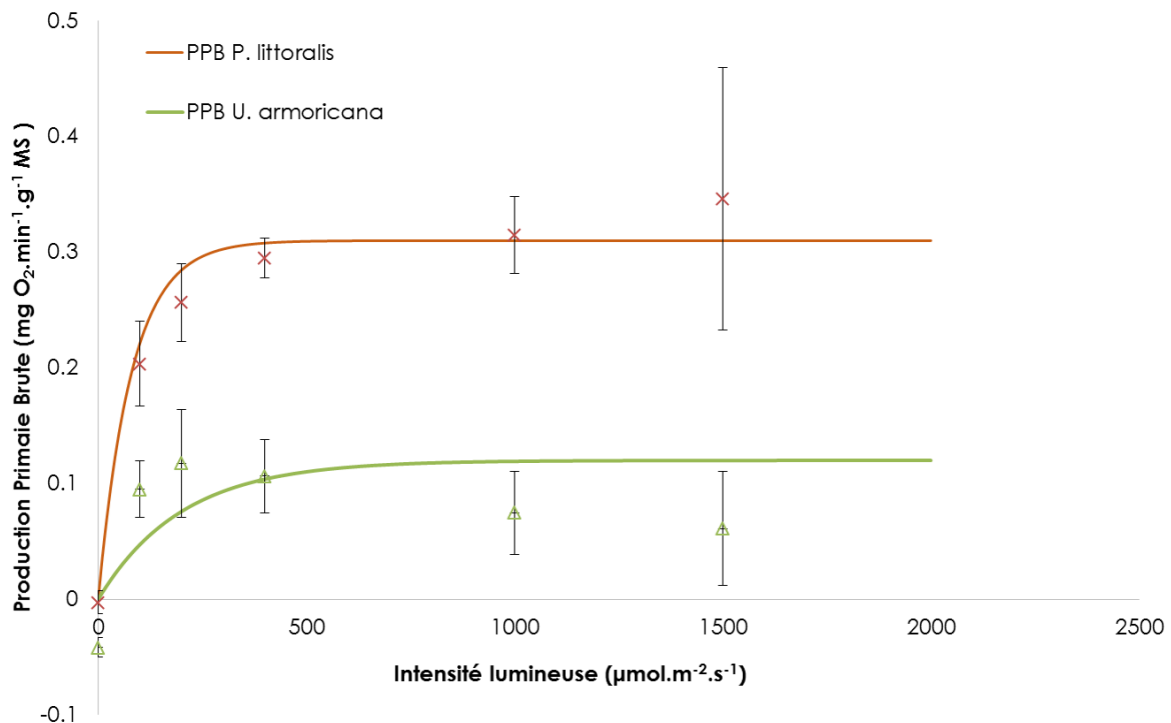


Figure 16. Production Primaire Brute (PPB) de *P. littoralis* et d'*U. armoricana* en fonction de l'intensité lumineuse. La PPB s'exprime en mg O₂.min⁻¹.g⁻¹ de MS (n=3, moyenne par traitement ± ET) et l'intensité lumineuse en µmol.m⁻².s⁻¹. Différences significatives entre la PPB du *P. littoralis* et la PPB de *U. armoricana* (ANOVA, F_{5, 35}= 3,88, p<0,05) à partir d'une intensité lumineuse égale à 100 µmol.m⁻².s⁻¹ (SNK, p=0,002).

5.4 Conclusions sur l'activité photosynthétique de *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp.

Les mesures selon un gradient de concentration en nitrates ont montré un **effet négligeable des nitrates sur les capacités photosynthétiques de *Pylaiella* et *Ulva* spp. à court terme** (deux heures après ajout des nitrates). Cependant, lorsque *Pylaiella* a été cultivé pendant 15 jours en milieu enrichi (N+P), sa capacité photosynthétique semblait être parmi les plus fortes de tous les états physiologiques testés pour les deux espèces. **L'effet d'un enrichissement à plus long terme serait donc envisageable.** La réponse des algues à un enrichissement soudain (ex : suite à des pluies) ne serait pas immédiate. Cette hypothèse reste à tester car il y a peu d'informations dans la littérature à ce sujet.

La **température** du milieu semble jouer un **rôle essentiel sur la capacité photosynthétique** et par conséquent sur la croissance de *Pylaiella* et d'*Ulva* spp. . Les productions primaires brutes les plus fortes ont été enregistrées au cours des expérimentations à des températures basses et proches de la température optimale pour *Pylaiella* et à des températures fortes pour *Ulva* spp. (valeurs en gras, Tableau 12). Cet effet de la température sur la photosynthèse a été également mis en évidence dans la littérature (Olabarria et al., 2013; Tait, 2014).

Les courbes PE ont montré qu'à 17°C, *Pylaiella* était adapté aussi bien à de faibles intensités lumineuses (Is faible) qu'à de fortes intensités (pas de photoinhibition) ce qui représenterait un avantage de *Pylaiella* sur *Ulva* spp., qui nécessite une intensité lumineuse plus forte pour atteindre une productivité maximale (Is plus grand) et présente une photoinhibition donc une sensibilité à de très fortes intensités lumineuses.

Les valeurs de PPB établies au cours de la présente étude se situent dans le même ordre de grandeur que celles présentes dans la littérature (Tableau 13). Elles correspondent à des PPB typiques d'espèces opportunistes à croissance rapide et à forte capacité photosynthétique contrairement à des espèces pérennes dont la croissance est plus lente et donc avec des PPB plus faibles (Tableau 13).

Tableau 12. Production Primaire Brute (PPB) et Respiration (R) mesurées au cours des expérimentations du Cimav P3 2014. PPB et R sont exprimées en mg O₂.min⁻¹.g⁻¹ de MS avec l'Ecart Type (ET) (n=3). Les mesures ont été effectuées sans ajout de nutriments. La température (T°C) représente la moyenne ± ET. * : indique une régulation de la température par bain-marie.

Espèces	Date expériences	T°C	PPB	ET	R	ET
<i>Pylaiella littoralis</i>	18 février 2014	12.75 ± 0.5	0.16	± 0.04	0.10	± 0.02
<i>Pylaiella littoralis</i>	16 juillet 2014	26.78 ± 0.6	0.13	± 0.03	0.02	± 0.03
<i>Pylaiella littoralis</i>	29 juillet 2014	*17.76 ± 1.1	0.31	± 0.10	0.05	± 0.01
<i>Pylaiella littoralis</i>	16 septembre 2014	24.95 ± 2.1	0.12	± 0.03	0.03	± 0.02
<i>Ulva</i> spp.	30 juillet 2014	26.40 ± 0.8	0.48	± 0.19	0.03	± 0.03
<i>Ulva</i> spp.	20 août 2014	*17.30 ± 1.5	0.12	± 0.04	0.04	± 0.01
<i>Ulva</i> spp.	14 octobre 2014	15.69 ± 06	0.24	± 0.05	0.06	± 0.02

Tableau 13. Production Primaire Brute maximum (PPBmax) estimée chez différentes espèces. PPB en mg O₂.min⁻¹.g⁻¹ de MS. * : espèces pérennes, sans astérisque : espèces opportunistes.

Espèces	PPBmax	Saisons	Sources
<i>Chaetomorpha linum</i>	0.19	Hiver	(Menéndez, 2005)
<i>Harmosira banksii</i> *	0.005	Eté	(Tait, 2014)
<i>Ulva lactuca</i>	0.31	Printemps	(Rivers & Peckol, 1995)
<i>Ulva</i> spp.	0.23	Printemps	(Merceron et al., 2007)
<i>Fucus serratus</i> *	0.09	Printemps	(Noël et al., 2010)

Les **capacités photosynthétiques** de *Pylaiella littoralis* et d'*Ulva* spp. étaient peu impactées à court terme (quelques heures) par les **concentrations en nitrates** alors que lors d'une exposition de plusieurs jours à un milieu enrichi, la photosynthèse était maximale pour *Pylaiella*.

La température semble influencer les capacités photosynthétiques de *Pylaiella littoralis* et d'*Ulva* spp. , chaque algue étant la plus productive à des températures optimum de leur croissance. *Pylaiella* était plus productive à des températures proches de 15°C correspondant au début de saison de prolifération. *Ulva* spp. était plus productive à des températures plus élevées (26°C) présentes en milieu de saison.

La productivité de *Pylaiella* est adaptée à de faibles intensités lumineuses avec un maximum dès **350 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$** ce qui confirme ses capacités de développement en début et fin de saison de prolifération. *Ulva* spp. nécessite beaucoup plus de lumière pour atteindre sa productivité maximale à **1000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$** ce qui correspondrait à des facultés de développement plus favorable en saison estivale.

Pour une température de 17°C, la productivité de ***Pylaiella* n'était pas impactée par de très fortes intensités lumineuses** (pas de photoinhibition) alors que celle d'*Ulva* spp. diminuait (photoinhibition). ***Pylaiella* a donc un avantage sur *Ulva* à de très fortes intensités lumineuses à 17°C donc plutôt dans des eaux froides.**

6 Amélioration des conditions de culture pour accroître la croissance de *P. littoralis* en milieu contrôlé :

6.1 Amélioration de l'estimation de la masse fraîche de *Pylaiella littoralis*

Les masses fraîches de *Pylaiella* sont difficiles à estimer du fait de la morphologie de cette algue, formée de filaments fins, l'eau de mer retenue par ces filaments est particulièrement difficile à extraire. Les mesures de la croissance journalière sont par conséquent difficiles à obtenir pour la masse fraîche (mesures répétées d'un même échantillon au cours du temps). Seul un échantillonnage destructif permet d'obtenir une masse sèche constante par déshydratation à l'étuve ou au lyophilisateur. Mais, elle n'est pas adaptée pour un suivi dans le temps de l'évolution de la biomasse de *Pylaiella* (suivi de croissance).

Une nouvelle méthode d'essorage a été testé afin d'obtenir une masse fraîche constante ainsi qu'une méthode indirecte pour estimer la croissance de *Pylaiella* par une mesure de réduction de la lumière du fait de sa biomasse.

6.1.1 Méthode d'essorage de *Pylaiella littoralis* :

La méthode d'essorage a été inspirée de celle employée par Lotze & Schramm (2000b). Le Dr Heike K. Lotze a été contactée afin d'obtenir des précisions sur la méthode qu'elle avait employé. Un échantillon unique d'environ 25 g MF de *Pylaiella* a été rincé à l'eau UP, pressé manuellement, puis disposé dans un textile non-tissé et mis à essorer dans uneessoreuse industrielle (essoreuse Dito Sama EL 65). Différents temps d'essorage ont été testés : 1, 3, 6 et 10 minutes à 330 tours.min⁻¹. Entre chaque essorage, l'échantillon de *Pylaiella* a été réhydraté dans de l'eau de mer non filtrée pendant une à deux minutes puis le protocole ci-dessus a été à nouveau appliqué. Pour chaque temps, l'échantillon a été essoré puis pesé 9 fois (n=9).

La masse fraîche estimée après essorage pour chacun des temps testés est présentée Figure 17. La masse fraîche est devenue constante à partir de 6 min d'essorage (pas de différence significative entre 6 et 10 min d'essorage, (ANOVA, $F_{3,32} = 8,916$, $p < 0.001$, SNK : 1 min > 3 min > 6 min = 10 min). Par mesure de précaution, le **temps d'essorage optimal a été fixé à 10 min** et appliqué dans les pesées de la présente étude.

Si cette méthode s'est avérée **précise pour peser des biomasses fraîches de *Pylaiella* entre 15 et 30 g MF**, il a cependant été remarqué au cours de la présente étude qu'en dessous de 15 g MF les mesures de masse fraîche étaient moins précises (plus grand écart type) et que cette imprécision augmentait à mesure que les masses fraîches diminuaient (imprécision plus grande pour de faibles masses fraîches ≈ 5 g MF).

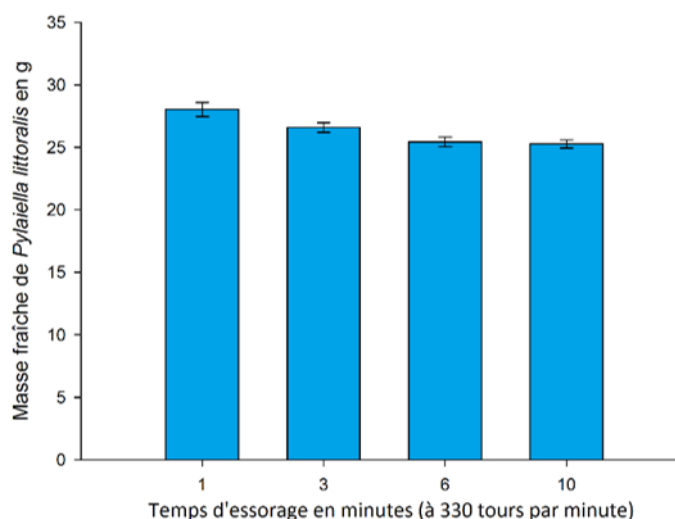


Figure 17. Masse fraîche (g) d'un même échantillon de *Pylaiella littoralis* pesé à différents temps d'essorage (1, 3, 6, 10 min) à l'aide d'uneessoreuse industrielle. Pour chaque temps est présenté la moyenne des 10 essorages de l'échantillon effectués (n=10) \pm ET.

6.1.2 Atténuation de la lumière par la biomasse

Pour de faibles biomasses de *Pylaiella*, la précision des mesures directes de la masse fraîche reste insuffisante pour pouvoir estimer la croissance journalière de cette algue (voir ci-dessus 6.1.1). Une

méthode indirecte a été testée afin d'estimer la croissance. L'ombrage induit par la biomasse de *Pylaiella* a été mesuré de façon quotidienne au cours d'une expérimentation de croissance.

Une culture en extérieur de cette algue a été mise en place sur 5 jours du 01/09/2014 au 05/09/2014 après 3 jours d'acclimatation de *Pylaiella* dans les bacs en eau de mer (date de collecte : 29 aout 2014, Baie de la Fresnaye). Pour une durée de 5 jours d'expérimentation, 15 bacs ont été utilisés. Les bacs ont été disposés en extérieur dans un bain marie à 15°C, remplis de 3 L d'eau de mer filtrée et l'agitation de l'eau a été obtenue par bullage d'air (Figure 18). L'eau des bacs n'a pas été renouvelée mais un ajout de 1 ml.l⁻¹ de solution azoté, phosphoré et métallique ainsi que 0.5 ml.l⁻¹ de solution vitaminique ont été ajoutées tous les jours afin de s'assurer des conditions non limitantes pour la croissance (composition des solutions, Annexe 2). Dans chaque bac, 5 g de Masse Fraiche de *Pylaeilla* ont été placés (soit 1.7 g de MF.l⁻¹). Les masses fraîches ont été pesées comme indiqué ci-dessus (6.1.1). Dans le cadre de cette expérience, l'estimation des biomasses de *Pylaiella* a été effectuée par un échantillonnage destructif avec 3 réplicats prélevés chaque jour pour obtenir la masse sèche après rinçage à l'eau UP et lyophilisation (n=3).

En parallèle, l'ombrage de *Pylaiella* a été estimé en fin de journée avant lyophilisation des algues. Une sonde LICOR a été utilisée. La sonde étant assez haute, elle n'a pas pu être immergée directement dans les bacs de culture. Elle a été placée dans une éprouvette d'1 L dans laquelle le *Pylaiella* a été transvasé (Figure 18). Un bullage assurait le maintien de *Pylaiella* en mouvement dans l'éprouvette. La sonde enregistrait la lumière toutes les minutes. Une première série de mesures a été effectuée avec l'eau de mer et le bullage seul sur une durée de 10 min. La moyenne des mesures sur 10 min représentait la quantité de lumière passant à travers la hauteur d'eau dans l'éprouvette. Les algues filtrées depuis les bacs sur une passoire (maillage de 1 mm) étaient alors ajoutées dans l'éprouvette. La sonde a enregistré une mesure de lumière au sein des algues toutes les minutes, pendant 10 min. La moyenne des mesures représentait la lumière passant à travers la hauteur d'eau et le *Pylaiella* contenus dans l'éprouvette. La différence entre ces deux moyennes a donné la quantité de lumière atténuée par les algues uniquement :

$$\text{Lumière atténuée} = \text{Lumière hauteur d'eau+ algues} - \text{Lumière hauteur d'eau}$$

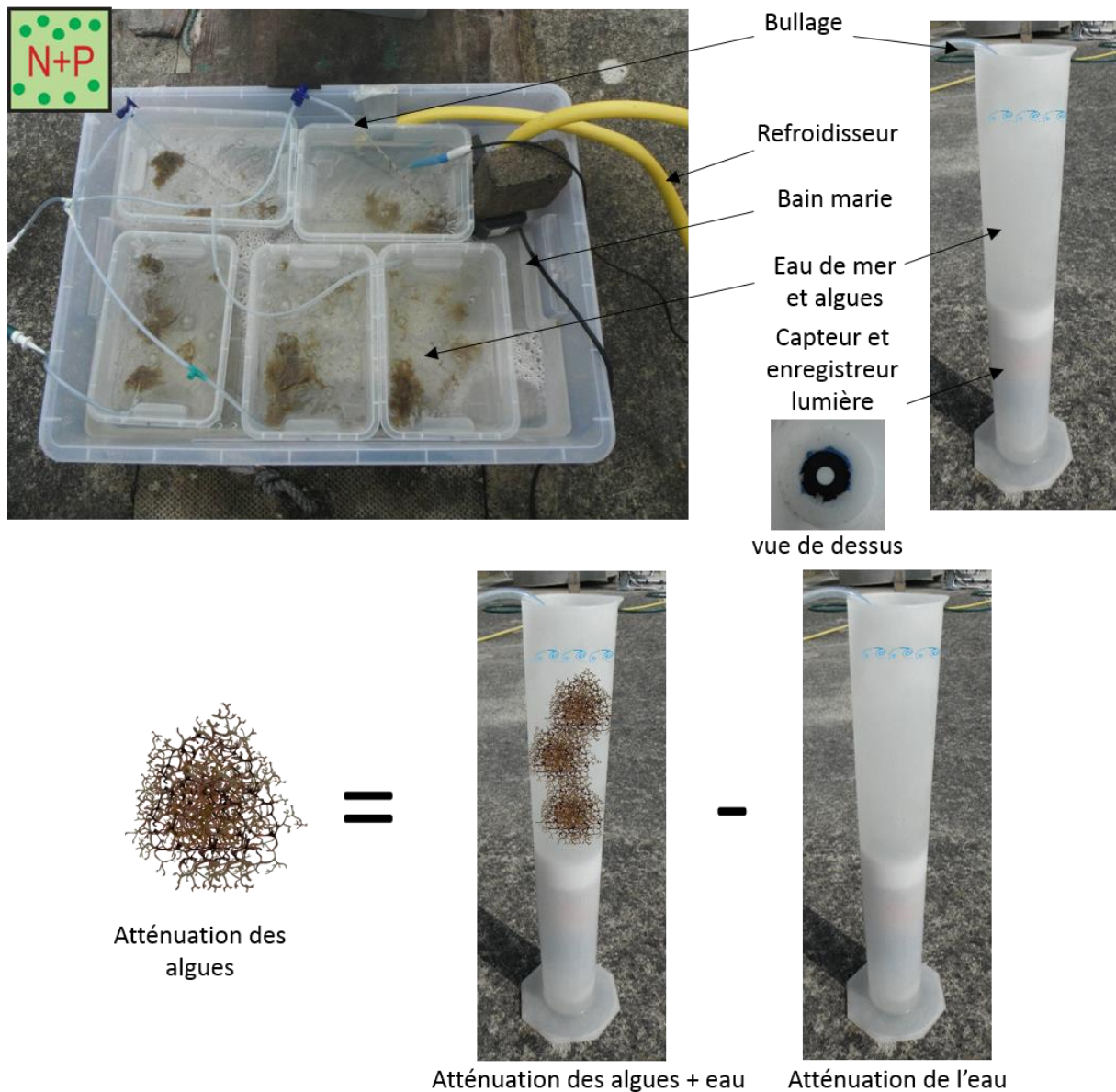


Figure 18. Protocole de mesure de l'atténuation de la lumière en fonction de la biomasse algale comme mesure indirecte de la croissance.

Les mesures d'atténuation de la lumière par *Pylaiella* et les mesures de biomasse au cours de l'expérimentation sont présentées Figure 19. Les mesures **d'atténuation de la lumière par les biomasses de *Pylaiella* ont montré une augmentation claire de la biomasse au cours du temps**. Les mesures de **biomasse en matière sèche n'ont pas montré la même croissance**. En effet, les inocula de départ de cette expérience ont été pesés en masse fraîche pour chacun des 15 bacs selon le protocole d'essorage décrit précédemment (6.1.1). Une masse fraîche de 5 g avait été pesée pour chacun des bacs. Or l'imprécision de la méthode d'essorage pour estimer des masses fraîches < 15 g MF n'a pas permis d'obtenir une masse sèche similaire dans les bacs inoculés (moyenne au premier jour : 0.84 ± 0.07 g MS). Ce qui explique les écarts-types importants observés sur les mesures de biomasse (Figure 19) et rendant le calcul d'un taux de croissance impossible. La **mesure de l'atténuation de la lumière n'est pas dépendante de la masse fraîche** de l'inoculum car elle représente une mesure relative à un temps donné entre deux mesures de lumière (avec et sans algues). Grâce à une courbe d'étalonnage atténuation de la lumière en fonction de la biomasse

sèche, il serait probablement possible d'obtenir une estimation plus précise de la biomasse relative de façon indirecte. Ceci permettrait de s'affranchir en cours d'expérimentation des mesures de masse fraîche plutôt imprécises.

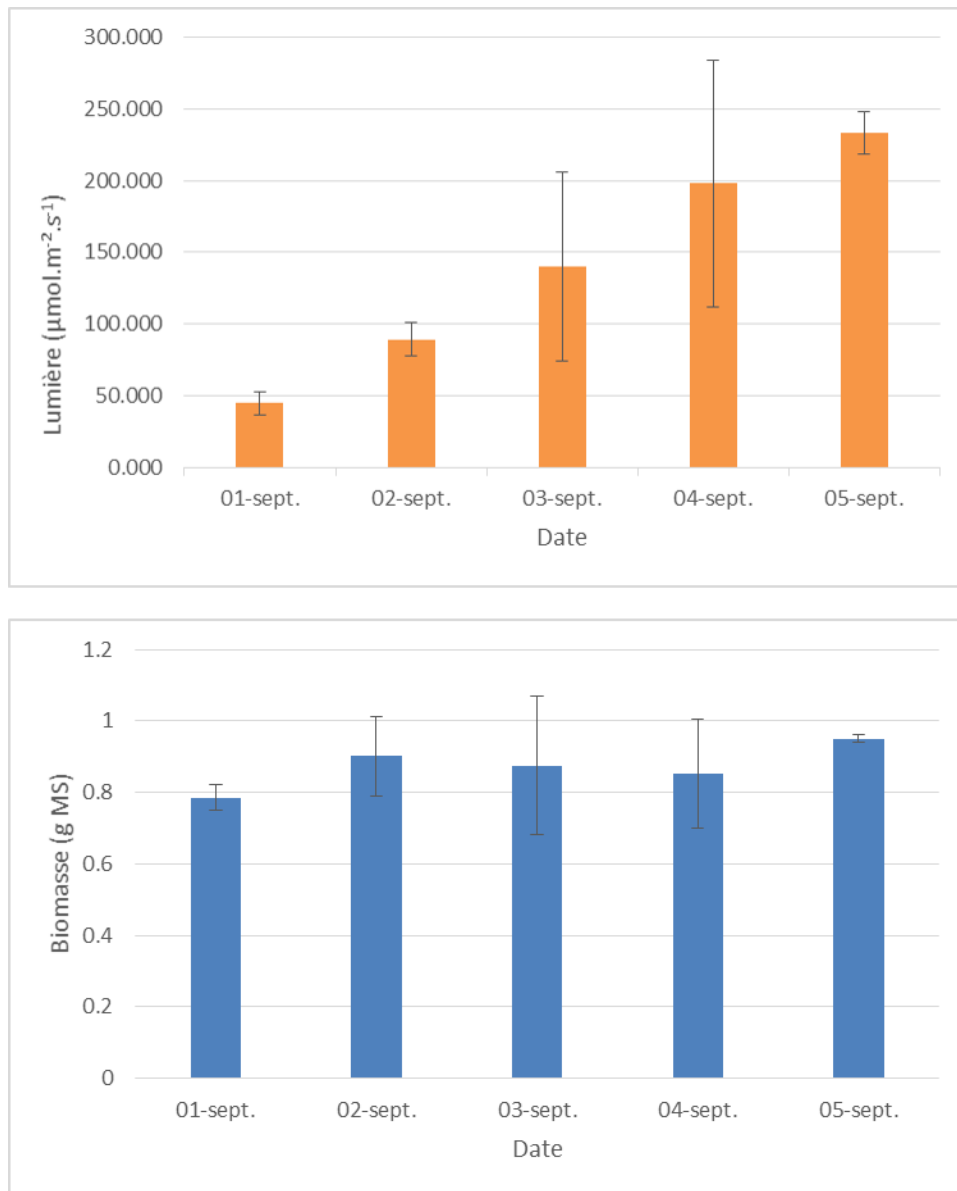


Figure 19. Croissance de *Pylaiella littoralis* au cours du temps (jours) mesuré : en haut) de manière indirecte par l'atténuation de la lumière ($\mu\text{mol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) par *Pylaiella littoralis* et en bas) de manière directe par sa masse sèche (g MS). Les données représentent les moyennes \pm ET (n=3).

6.2 Amélioration du protocole de culture pour l'obtention des concentrations internes critique (Q_1) et de subsistance (Q_0) pour l'azote

La concentration en azote des tissus des macroalgues reflète leur stock d'azote disponible pour la croissance et la reproduction. La consommation et l'épuisement de ce stock dans un milieu à faible concentration en azote disponible vont faire que la croissance ralentit puis s'arrête, ce qui va définir

un seuil critique puis de subsistance de la concentration tissulaire en azote (Probyn & Chapman, 1983; Dion P., Le Bozec, S., 1999). Lors de proliférations algales, il est important de savoir si leur développement peut être limité par les nutriments présents dans le milieu.

Lors d'une précédente étude du Cimav P3 (CEVA, 2013b), une première expérimentation avait été menée afin d'obtenir les concentrations internes critique et de subsistance de *Pylaiella littoralis*. Au cours de cette expérience, une croissance significative de *Pylaiella* n'avait pu être obtenue alors qu'elle était attendue dans le milieu de culture non-limitant (témoin). Des différences entre les données de masse fraîche (baisse de la croissance pour tous les traitements : témoin et milieu carencé en azote) et la masse sèche (maintien de la biomasse du témoin et diminution pour les algues carencées en azote) avaient été observées. Ceci peut s'expliquer par la difficulté à mesurer la masse fraîche de *Pylaiella* de façon précise comme souligné précédemment (6.1). De plus, un ajustement de la photopériode à des conditions plus optimales pour *Pylaiella* (jour court) avait été suggéré afin d'améliorer sa croissance (Salovius & Bonsdorff, 2004).

Dans la présente étude, un protocole de culture de *Pylaiella* en milieu carencé en azote et dans un milieu non limitant a été mis en place afin d'affiner les connaissances sur la croissance de *Pylaiella* en laboratoire. Il semble en effet assez difficile de maintenir la croissance de *Pylaiella* en culture en laboratoire selon le Dr Heike K. Lotze (communication personnelle) contactée dans le cadre de la présente étude. La photopériode a été ajustée à des jours courts et les pesées de masse fraîche ont été effectuées selon le protocole décrit précédemment (6.1).

6.2.1 Protocole

Pylaiella littoralis a été prélevé le 5 mars 2014 et préalablement cultivé en extérieur et eau de mer non filtrée pendant 15 jours en milieu enrichi. Cette culture avait pour but d'augmenter la biomasse de *Pylaiella* qui était encore à cette période difficilement disponible dans le milieu afin d'avoir le matériel algal nécessaire à l'expérience. *Pylaiella* a été ensuite placé, pendant une durée de 14 jours (du 16 au 30 avril), soit dans un milieu carencé en azote, soit dans un milieu enrichi non limitant (Tableau 14) et sa croissance et ses contenus internes ont été estimés quotidiennement.

Des masses fraîches de 25 g MF ont été incubés dans six bacs de quinze litres d'eau de mer reconstituée (Andersen 2005), composition en annexe 2, agitée par bullage et non renouvelée pendant 24h. Le milieu carencé en azote, appliqué à trois bacs répliqués, a été supplémenté par des compléments nutritifs afin que seul l'azote soit limitant pour la croissance. Le milieu non limitant, appliqué aux trois autres bacs répliqués, a été supplémenté par des compléments nutritifs (composition en annexe 2) et du nitrate de sodium à 75 g. L utilisé à raison de 1 mL. L⁻¹. Les aquariums ont été placés en laboratoire permettant de maintenir une température de l'eau d'environ 13°C, une intensité lumineuse moyenne d'environ 100 $\mu\text{mol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ et une photopériode de 8 h de lumière et 16 h d'obscurité (8L :16D), conditions semblables à celles observées *in situ* au mois de février. Chaque jour, les milieux de cultures (carencé et non limitant) ont été renouvelés à 9h30 et *P. littoralis* a été collecté sur passoire (maillage de 1 mm), essoré (10 min à 330 tr. min⁻¹) et pesé pour estimer sa croissance journalière. Pour estimer les concentrations internes en azote, un prélèvement d'environ 1,2 g MF a été effectué sur chaque répliqué, puis rincé à l'eau UP, lyophilisé et envoyé au laboratoire (analyse voir partie 4.2.2). Les contenus internes en phosphore ont été mesurés sur ces échantillons en début et fin d'expérience afin de s'assurer d'une concentration non limitante pour cet élément.

Tableau 14 : Conditions de culture lors de l'expérience de détermination des concentrations critiques et de substances (n=3) (voir annexe 2 pour composition)

Milieu de culture		Enrichissement			
		solution à 75 g. L ⁻¹ de NaNO ₃	solution à 5 g. L ⁻¹ de NaH ₂ PO ₄	solution métallique	solution vitaminique
milieu non limitant	Eau de mer reconstituée (15L)	1 mL. L ⁻¹	1 mL. L ⁻¹	1 mL. L ⁻¹	0,5 mL. L ⁻¹
milieu carencé		-	1 mL. L ⁻¹	1 mL. L ⁻¹	0,5 mL. L ⁻¹

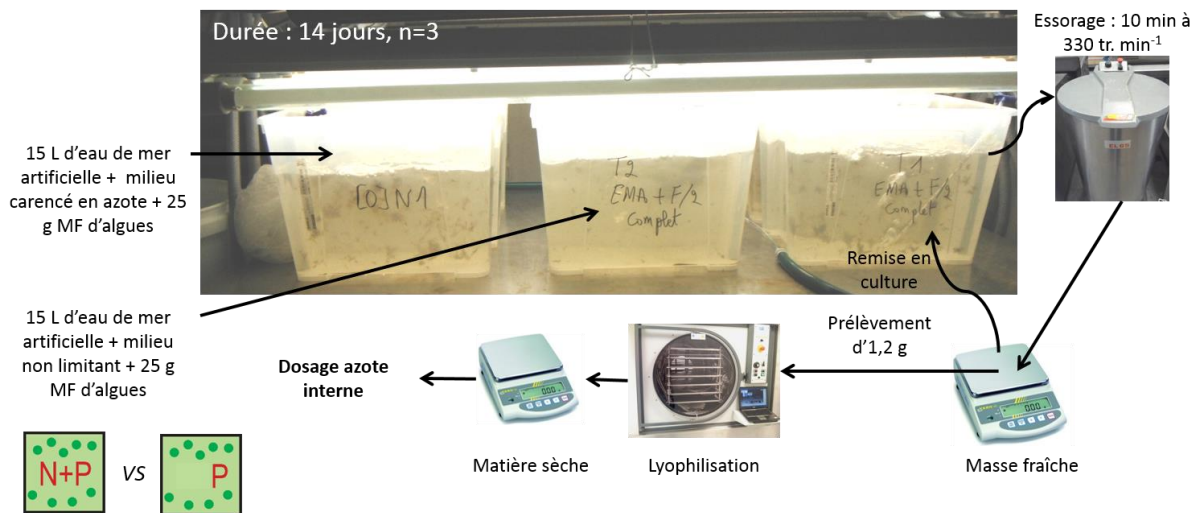


Figure 20. Protocole de culture en laboratoire et de suivi de la croissance et du contenu interne azoté de *Pylaiella littoralis* dans un milieu non limitant pour la croissance (supplémenté en azote et phosphore : N+P) et un milieu carencé (supplémenté en phosphore uniquement : P). La croissance était suivie par des pesées en masse fraîche (MF) essorée. Les contenus internes azotés ont été dosés après lyophilisation sur matière sèche. Ces mesures étaient quotidiennes pendant une durée de 14 jours (n=3).

La croissance a été exprimée comme le taux de croissance relative (RGR : Relative Growth Rate) en %. J⁻¹ selon l'équation suivante (Hoffmann & Poorter, 2002) :

$$RGR = \frac{\ln MF2 - \ln MF1}{t2 - t1} \times 100$$

où MF représente la masse fraîche mesurée en g aux temps en jour t1 et t2 de l'expérience.

Les RGR et les concentrations internes azotées obtenues ont été comparés par analyse de variance (ANOVA) à mesures répétées à deux facteurs : milieu de culture (non limitant et carencé) et temps (14 niveaux correspondant aux jours d'expérimentation). Un test post-hoc de Student-Newman-Keuls (SNK) a été effectué pour détailler les différences détectées par l'ANOVA.

6.2.2 Résultats et interprétations

La mise en culture de *Pylaiella* en extérieur préalablement à l'expérimentation en laboratoire a permis d'obtenir une augmentation de la biomasse conséquente avec une des plus fortes productivités observée dans la présente étude (voir *Pylaiella* cultivé en milieu enrichi, Figure 12, 5.2.2). La concentration interne azotée était également importante pour cette algue : $6.12\% \pm 0.18$ MS, soit deux à trois fois supérieure aux valeurs observées dans la nature au cours de la saison de prolifération (voir Tableau 4).

Les évolutions du taux de croissance relative et de la concentration interne azoté du *Pylaiella* en fonction du milieu (non limitant ou carencé) sont présentées Figure 21. Le taux de croissance relative paraît avoir diminué jusqu'au 7^{ème} jour d'expérimentation suivant la même tendance dans les deux milieux (non limitant et carencé). Une différence graphique entre les deux milieux est apparue clairement à partir du 8^{ème} jour avec une diminution du taux de croissance plus marqué pour le milieu carencé, alors que la croissance en milieu non limitant est restée stable. Le test statistique confirme **une différence significative entre la croissance dans les deux milieux avec d'une manière générale une croissance plus faible en milieu carencé qu'en milieu non limitant** et ce, quel que soit le temps d'expérimentation (ANOVA, $F_{1,24} = 43.77$, $p < 0.05$). A partir du 8^{ème} jour, la biomasse de *Pylaiella* était inférieure à 15 g MF spécialement dans le milieu carencé, ce qui explique les écarts-types plus importants liés à la difficulté de peser de la masse fraîche de *Pylaiella* pour de faibles biomasses. **Un ralentissement de la croissance de *Pylaiella* a pu être déterminé au 8^{ème} jour pour le milieu carencé par rapport au milieu non limitant. Cependant, l'arrêt de la croissance de *Pylaiella* dans le milieu carencé n'a pas pu être observé.**

L'évolution des concentrations internes azotées de *Pylaiella* en **début d'expérimentation** montre comme cela était attendu une **augmentation des contenus en milieu non limitant et une diminution en milieu carencé** (Figure 21). Cependant **après le 4^{ème} jour d'expérimentation, les contenus internes azotés ont également diminué en milieu non limitant** suivant une tendance similaire à celle du milieu carencé jusqu'en fin d'expérimentation. Une interaction significative entre le temps d'expérimentation et les milieux de culture confirme ce résultat (ANOVA, $F_{14,28} = 3,82$, $p < 0.01$) avec une différence marqué au 4^{ème} jour de l'évolution des contenus (SNK, $p < 0.001$). Ce résultat était surprenant et **contraire à l'augmentation ou un maintien attendu des contenus internes azotés de *Pylaiella* dans le milieu non limitant (à moins d'une croissance importante qui aurait pu expliquer une telle diminution si elle avait été avérée).**

Une diminution de la croissance et des contenus internes azotés pour *Pylaiella* dans le milieu non limitant témoin reflète des conditions expérimentales qui ne sont pas optimales. Il est donc important d'obtenir ces conditions afin de pouvoir déterminer les contenus internes critiques (Q_1) et de subsistance (Q_0) nécessaires à la consolidation du module biologique *Pylaiella littoralis* du modèle écologique Mars-ulves et à la compréhension des phénomènes de prolifération de *Pylaiella*. Pour cette expérience, la photopériode et la température avaient été ajustées afin d'être à l'optimum pour *Pylaiella*. Cependant, l'intensité lumineuse produite par les néons était faible ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) comparée à celle de la lumière naturelle même hivernale. De plus, l'eau de mer reconstituée supplémentée en vitamine et en fer peut tout de même manquer d'un ou de plusieurs éléments essentiels au développement de *Pylaiella*. L'effet de la lumière artificielle obtenue par les néons, de l'intensité lumineuse et de l'eau de mer reconstituée sur la croissance de *Pylaiella* a donc été explorée en le comparant à des conditions naturelles dans les paragraphes suivants (6.3 et 6.4).

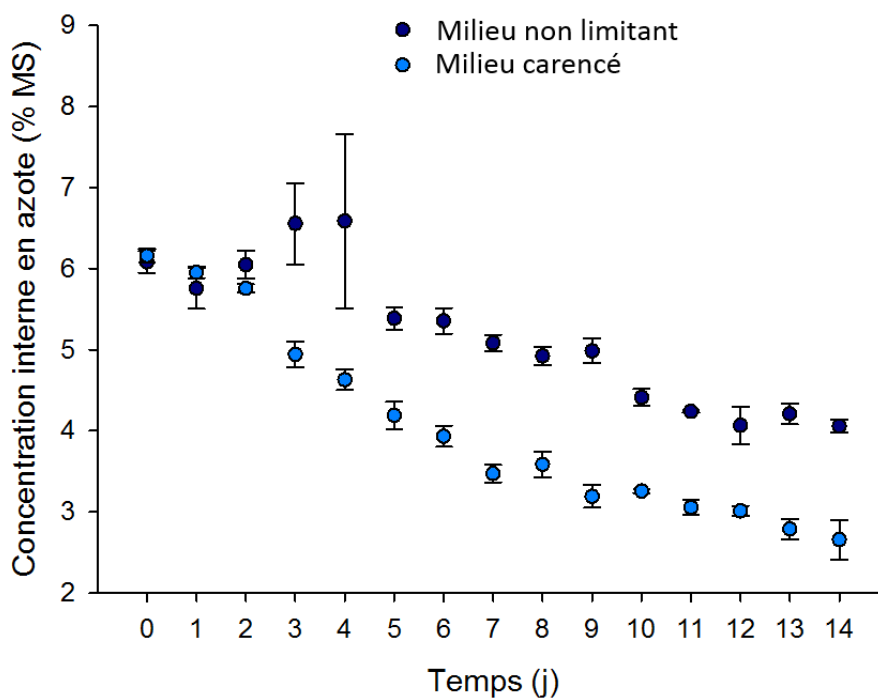
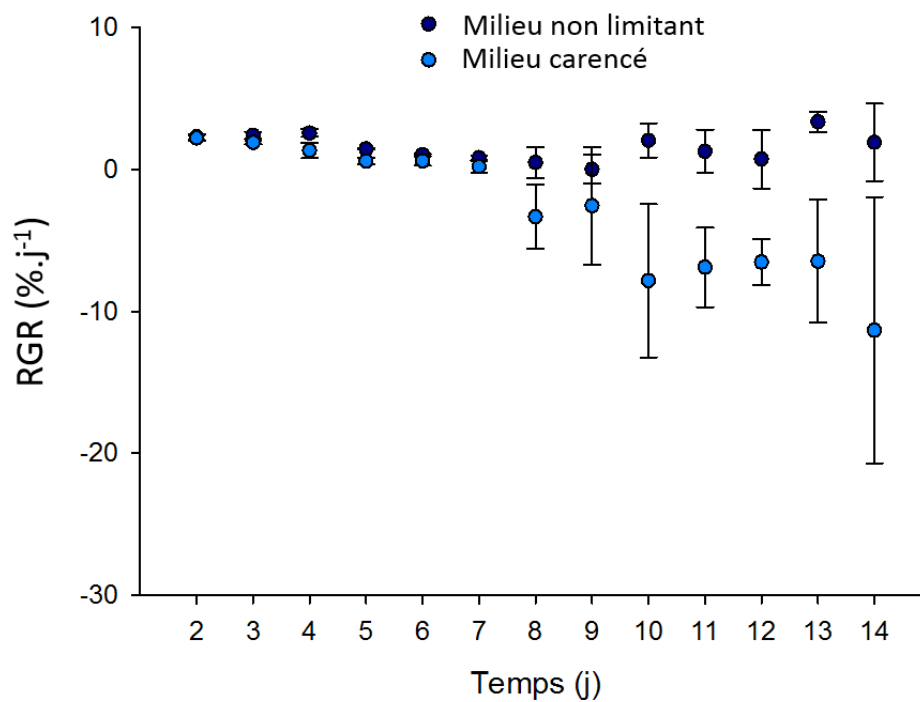


Figure 21. Taux de croissance relative (RGR, %·j⁻¹, en haut) et concentration interne azotée (% MS, en bas) de *P. littoralis* cultivée dans un milieu carencé en nitrates et en milieu non limitant en fonction des jours (j) d'expérimentation (n=3, moyenne par jour ± ET).

6.3 Effet de la lumière artificielle et de l'eau de mer reconstituée sur la croissance de *Pylaiella littoralis*

Les expérimentations précédentes (paragraphe 6.2) ont montré que les conditions de culture en laboratoire n'étaient pas optimales pour obtenir une croissance de *Pylaiella littoralis* sur du long terme au-delà de quelques jours (4 jours). Il est pourtant important de pouvoir cultiver cette algue en laboratoire afin d'obtenir les paramètres écophysologiques pouvant expliquer les phénomènes de prolifération. L'effet, sur la croissance de *Pylaiella*, de la lumière artificielle obtenue par des néons et de l'eau de mer reconstituée tous deux utilisés en laboratoire ont été testés en comparant ces deux paramètres à des conditions naturelles selon le protocole suivant.

6.3.1 Protocole

La croissance de *P. littoralis* a été estimée lors de culture en extérieur et en laboratoire à deux luminosités différentes (naturelle et artificielle) et dans des milieux de cultures distincts (eau de mer filtrée et eau de mer reconstituée). *Pylaiella* a été collecté le 16 juin 2014 en Baie de la Fresnaye et l'expérimentation a été menée pendant 9 jours, entre le 18/06/14 et le 27/06/14. L'expérimentation avait un design croisé (lumière et milieu de culture) : la croissance de *Pylaiella* a été étudiée dans les deux milieux de culture (eau de mer filtrée et eau de mer reconstituée) pour chaque condition lumineuse : en extérieur à la lumière naturelle et en laboratoire à la lumière artificielle. En extérieur, l'intensité lumineuse a été mesurée toutes les heures (LI-1000 DataLogger, Li-COR, sonde SPQA 1589) pendant la période de culture (Figure 24). En laboratoire, deux néons « True light » d'une puissance de 65 W, avec une qualité spectrale voisine de celle de la lumière du jour, ont été utilisés pour la luminosité artificielle. L'intensité lumineuse s'élevait à $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ avec une photopériode de 16L:8D comparable aux conditions extérieures. Pour chaque condition lumineuse, les cultures ont eu lieu dans des ballons en verre remplis, selon le traitement, de 2 litres d'eau de mer filtrée à $0.22 \mu\text{m}$ ou de 2 litres d'eau de mer reconstituée (voir composition annexe 2). Chaque traitement disposait de trois réplicats ($n=3$) où 2 g de Masse Fraiche essorée (MF) de *P. littoralis* ont été déposés (soit $1\text{g MF}\cdot\text{L}^{-1}$). Le tableau suivant résume les traitements appliqués lors de l'expérimentation :

Tableau 15 : Traitements appliqués lors de l'expérimentation du 18 au 27 juin 2014.

Traitements	Lumière naturelle	Lumière artificielle
Eau de mer filtrée	3 réplicats (2L + 2g MF)	3 réplicats (2L + 2g MF)
Eau de mer reconstituée	3 réplicats (2L + 2g MF)	3 réplicats (2L + 2g MF)

Afin d'obtenir des conditions non-limitantes de croissance des algues, la température a été contrôlée. Selon les expériences de Müller (Müller et al., 1999), le développement optimal de *P. littoralis* se situe à 15°C . Les ballons ont donc été placés dans des bacs en propylène transparents servant de bain-marie. Une pompe a été reliée à un groupe froid thermorégulé pour assurer le maintien de cette température optimale. Les ballons étaient munis d'un système de bullage

permettant le mouvement et l'oxygénation de l'eau (Figure 22). Des compléments nutritifs (Andersen, 2005) ont été ajoutés dans les ballons à raison de 1 mL.L⁻¹ de solution azotée, de solution phosphorée, de solution métallique et de 0,5 mL.L⁻¹ de solution vitaminique pour recréer des conditions non-limitantes (voir composition des solutions annexe 2).

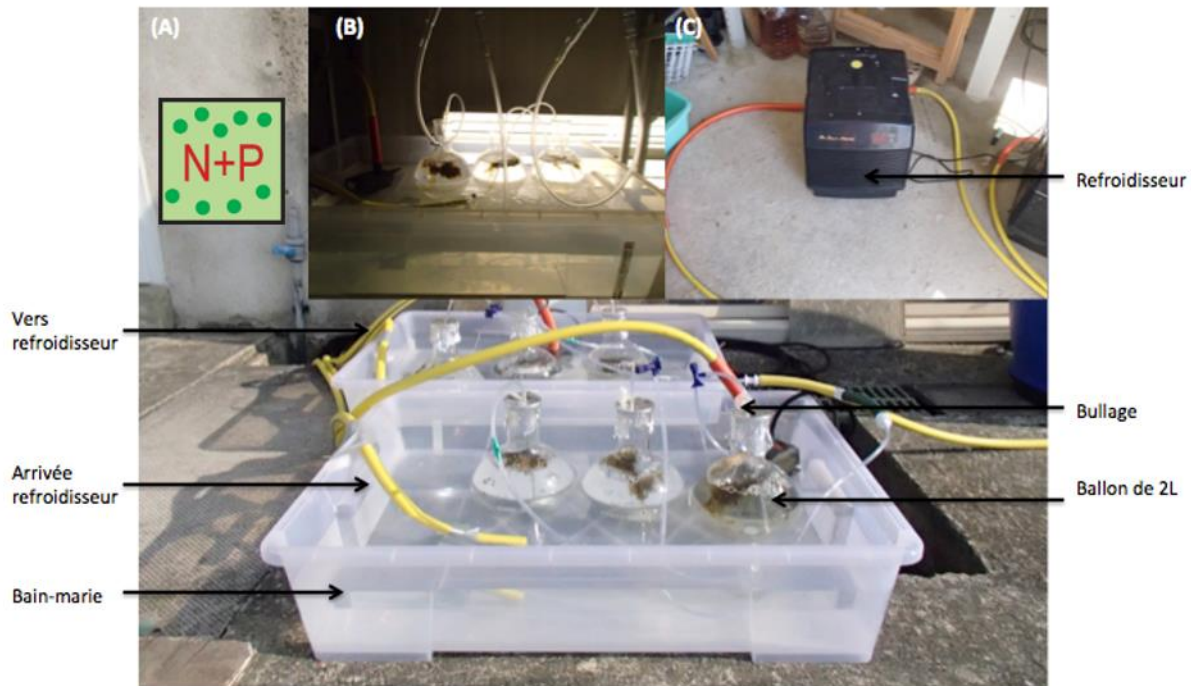


Figure 22 : Dispositif expérimental du bain-marie en extérieur (A) et en intérieur (B), relié au refroidisseur (C).

La croissance de *P. littoralis* a été suivie quotidiennement. Les ballons étaient vidés et la matière algale collectée par filtration sur une passoire (maillage de 1 mm), puis essorée pendant 10 minutes à 330 tours.min⁻¹. Après pesée (en g de MF), les échantillons étaient remis en culture. L'eau de mer (filtrée et reconstituée) et les compléments nutritifs étaient renouvelés tous les jours après les pesées.

En fin d'expérimentation, les échantillons ont été rincés à l'eau ultra pure (UP), puis congelés avant d'être lyophilisés. La lyophilisation a permis d'obtenir la masse sèche (MS) des algues qui ont été pesées (en g de MS).

En fin d'expérimentation, le taux de croissance relative (RGR : Relative Growth Rate) en %. J⁻¹ a été calculé selon l'équation suivante (Hoffmann & Poorter, 2002) :

$$RGR = \frac{\ln MF_f - \ln MF_i}{t_f - t_i} \times 100$$

où MF représente la Masse Fraîche (en g) aux temps (en jour) initial t_i et final t_f de l'expérience. La biomasse et les RGR obtenus ont été comparés par analyse de variance (ANOVA) à mesures répétées à deux facteurs : Eau de mer (filtrée et reconstituée) et lumière (naturelle et artificielle). Les biomasses en masse sèche (MS) obtenues en fin d'expérimentation ont été comparées par analyse de variance (ANOVA) avec ces deux mêmes facteurs. Un test post-hoc de Student-Newman-Keuls (SNK) a été effectué pour détailler les différences détectées par l'ANOVA.

6.3.2 Résultats et interprétations

Les évolutions de la biomasse et du taux de croissance relative en fonction de la lumière (naturelle et artificielle) et de l'eau de mer (filtrée ou reconstituée) sont présentées Figure 23. Au cours de l'expérimentation, la **croissance de *Pylaiella* cultivé en eau de mer reconstituée a diminué à partir du 5^{ème} jour** d'expérimentation, alors que *Pylaiella* en eau de mer filtrée continuait sa croissance (interactions entre le facteur eau de mer et les jours d'expérimentation : ANOVA, $F_{6,60} = 6,78$, $p < 0,01$, à partir du 5^{ème} jour : SNK, $p < 0,01$). **Le taux de croissance relative de *Pylaiella* (RGR) calculé entre le début et la fin de l'expérimentation a été en moyenne 5 fois et demi supérieur en eau de mer filtrée qu'en eau de mer reconstituée, et ce, quelle que soit la lumière utilisée (naturelle ou artificielle).** Le RGR était d'une moyenne de $16.61 \pm 1.68 \text{ \%} \cdot \text{J}^{-1}$ en eau de mer filtrée contre $2.94 \pm 1.81 \text{ \%} \cdot \text{J}^{-1}$ en eau de mer reconstituée. **La différence de croissance observée entre ces deux milieux confirme que l'eau de mer reconstituée n'est pas en l'état adaptée au maintien et la croissance de *Pylaiella*.** Ce constat a été confirmé par des chercheurs de la Station Biologique de Roscoff qui ont en culture une autre algue brune filamenteuse du même ordre que *Pylaiella* (ectocarpales) et qui ont rencontrés les mêmes difficultés. Ces derniers ont suggéré l'ajout d'une hormone qui semble nécessaire à la croissance d'*Ectocarpus* et qui pourrait s'avérer également nécessaire pour *Pylaiella*. Cette amélioration de l'eau de mer reconstituée reste à tester sur *Pylaiella*.

La lumière, qu'elle soit naturelle ou artificielle, n'a pas eu d'effet sur la croissance de *Pylaiella* (ANOVA, $p > 0.05$). La lumière utilisée en laboratoire bien que de **faible intensité lumineuse** ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) était **suffisante à la croissance de *Pylaiella***. Sa croissance était même légèrement supérieure (bien que sans différence significative) à celle mesurée en extérieur. En effet, en extérieur la croissance a pu être réduite par des phénomènes de photoinhibition aux heures d'ensoleillement le plus fort (moyenne intensité lumineuse : $2250 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, pics jusqu'à 3250, Figure 24). Ceci **confirme l'adaptation de *Pylaiella* aux faibles intensités lumineuses** pour lesquelles sa **productivité a déjà atteint son maximum** (voir 5.3).

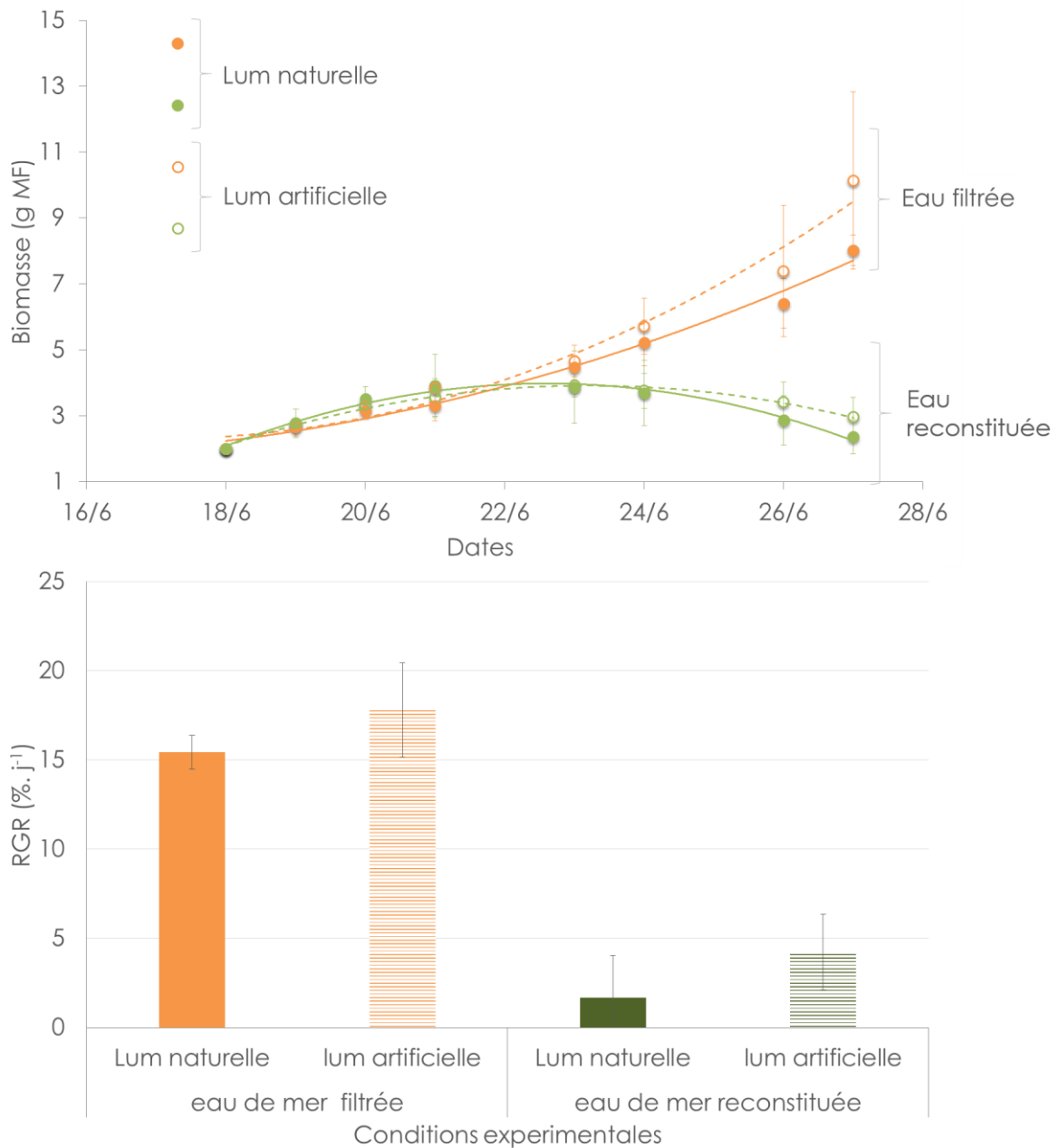


Figure 23. Croissance de la biomasse (en haut, en g MF) et taux de croissance relative entre le début et la fin de l'expérimentation (RGR, en bas, %·J⁻¹, calculé sur MF) de *Pylaiella littoralis* en fonction de la lumière naturelle (Lum naturelle, couleur unie) et artificielle (Lum artificielle, symbole ouvert ou hachuré) et de l'eau de mer filtrée (Eau filtrée, en orange) et reconstituée (Eau reconstituée, en vert). Les données représentent les moyennes ± ET (n=3).

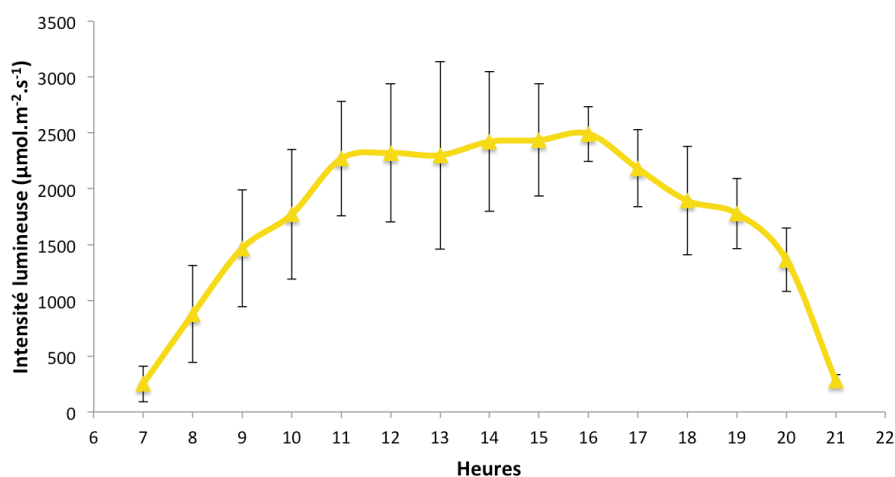


Figure 24 : Intensité lumineuse moyenne par heure (\pm ET) durant la période de culture du 18/06/14 au 27/06/14 pour la croissance du *P. littoralis* en Eau De Mer Filtrée et Eau De Mer Reconstituée sous Lumière Naturelle.

6.4 Effet de l'intensité lumineuse sur la croissance de *Pylaiella littoralis*

Cette dernière expérience avait pour objectif de déterminer la croissance de *P. littoralis* à différentes intensités lumineuses.

6.4.1 Protocole

L'expérimentation a duré 12 jours, entre le 01/08/2014 et le 13/08/2014. *P. littoralis* a été collecté le 31 juillet 2014 en Baie de la Fresnaye. La croissance de *P. littoralis* a été estimée lors de culture en extérieur. Les différentes intensités lumineuses ont été obtenues en plaçant des filtres neutres d'opacités différentes sur les bacs de culture. Le choix des quatre intensités lumineuses a été effectué afin de reproduire les conditions d'éclairement observées au cours de l'année. Le tableau suivant résume les traitements appliqués lors de l'expérimentation :

Tableau 16 : Intensités lumineuses mesurées au premier jour de l'expérimentation (01/08/2014) sous chaque filtre ou en lumière directe pour chacun des traitements.

Traitements	Filtre 3	Filtre 2	Filtre 1	Sans Filtre
Intensité lumineuse	400 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	700 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	1000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	1500 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

L'intensité lumineuse estivale a été mesurée toutes les heures (LI-1000 DataLogger, Li-COR, sonde SPQA 1589) pendant la période de culture pour déterminer la luminosité naturelle moyenne (traitement sans filtre). Les intensités lumineuses sous chaque filtre ont été estimées au premier jour d'expérimentation par une série de mesures effectuées alors que le soleil était au zénith. Les cultures ont eu lieu dans des bacs en propylène ($n=3$) remplis de 2L d'eau de mer filtrée à 0.22 μm . Afin d'obtenir des conditions non-limitantes pour la croissance de *P. littoralis*, les bacs étaient disposés

dans un système de bain-marie régulé par un refroidisseur et une pompe afin de maintenir une température de 15°C. Un système de bullage, permettant le mouvement et l'oxygénation de l'eau était également en place. Des compléments nutritifs ont été ajoutés dans les bacs à raison de 1 mL.L⁻¹ de solution azotée, de solution phosphorée, de solution métallique et de 0,5 mL.L⁻¹ de solution vitaminique pour recréer des conditions non-limitantes (voir composition des solutions annexe 2). Des échantillons de *P. littoralis* de 2 g de masse fraîche (soit 1g MF.L⁻¹) essoré (10 minutes à 330 tours.min⁻¹) ont été disposés dans chacun des trois réplicats pour chaque condition lumineuse appliquée. La croissance du *P. littoralis* a été suivie quotidiennement. Chaque jour, les bacs étaient vidés et la matière algale récupérée par filtration sur une passoire (maillage de 1 mm), essorée pendant 10 minutes à 330 tours.min⁻¹, puis pesée. Après pesée (en g de MF), les échantillons étaient remis en culture. L'eau de mer filtrée et les compléments nutritifs du milieu de culture étaient renouvelés tous les jours après les pesées. En fin d'expérimentation, les échantillons ont été rincés à l'eau Ultra Pure (UP), puis congelés avant d'être lyophilisés. La lyophilisation a permis d'obtenir la masse sèche (MS) des algues qui ont été pesées (en g de MS).

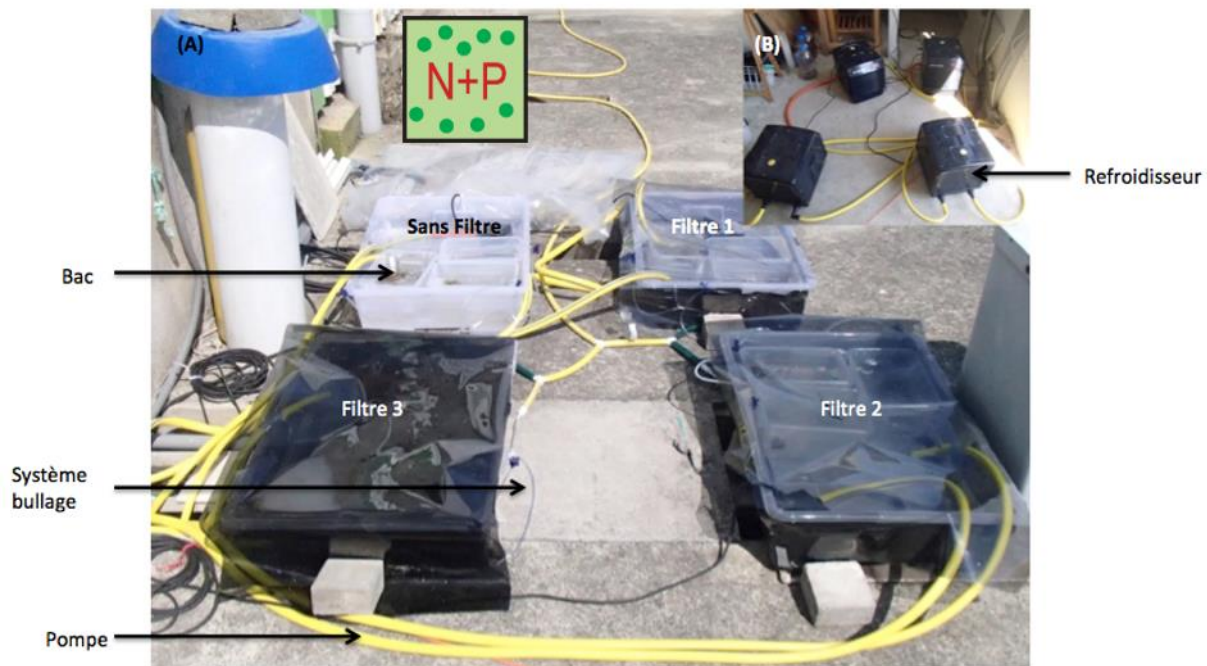


Figure 25 : Dispositif expérimental pour la croissance de *P. littoralis* sous différentes intensités lumineuses : Filtre 3 = 400 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, Filtre 2 = 700 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, Filtre 3 = 1000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, Sans Filtre = 1500 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. (A) Système de bain-marie. (B) Refroidisseur.

En fin d'expérimentation, le taux de croissance relative (RGR : Relative Growth Rate) en % . J⁻¹ a été calculé selon l'équation suivante (Hoffmann & Poorter, 2002) :

$$RGR = \frac{\ln MF_f - \ln MF_i}{t_f - t_i} \times 100$$

où MF représente la Masse Fraîche (en g) aux temps (en jour) initial t_i et final t_f de l'expérience. Les biomasses (MF) ont été comparées par analyse de variance (ANOVA) à mesures répétées à deux facteurs : intensités lumineuses (400, 700, 1000, 1500 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) et jours d'expérimentation (13 jours). Les RGR calculés à partir des Masses Fraîches (MF) obtenues en fin d'expérimentation

ont été comparés par analyse de variance (ANOVA) simple à un facteur : intensités lumineuses. Un test post-hoc de Student-Newman-Keuls (SNK) a été effectué pour détailler les différences détectées par l'ANOVA.

6.4.2 Résultats et interprétations

L'intensité lumineuse maximale naturelle a varié durant la période d'expérimentation avec des extrêmes allant entre $3000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ et $500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Figure 26). La lumière reçue par les algues dans les différents bacs a donc également varié en conséquence selon l'opacité des filtres. *Pylaiella* a donc été exposé au cours de l'expérimentation à des intensités lumineuses supérieures ou inférieures à celles mesurées le premier jour d'expérimentation et présentées Tableau 16.

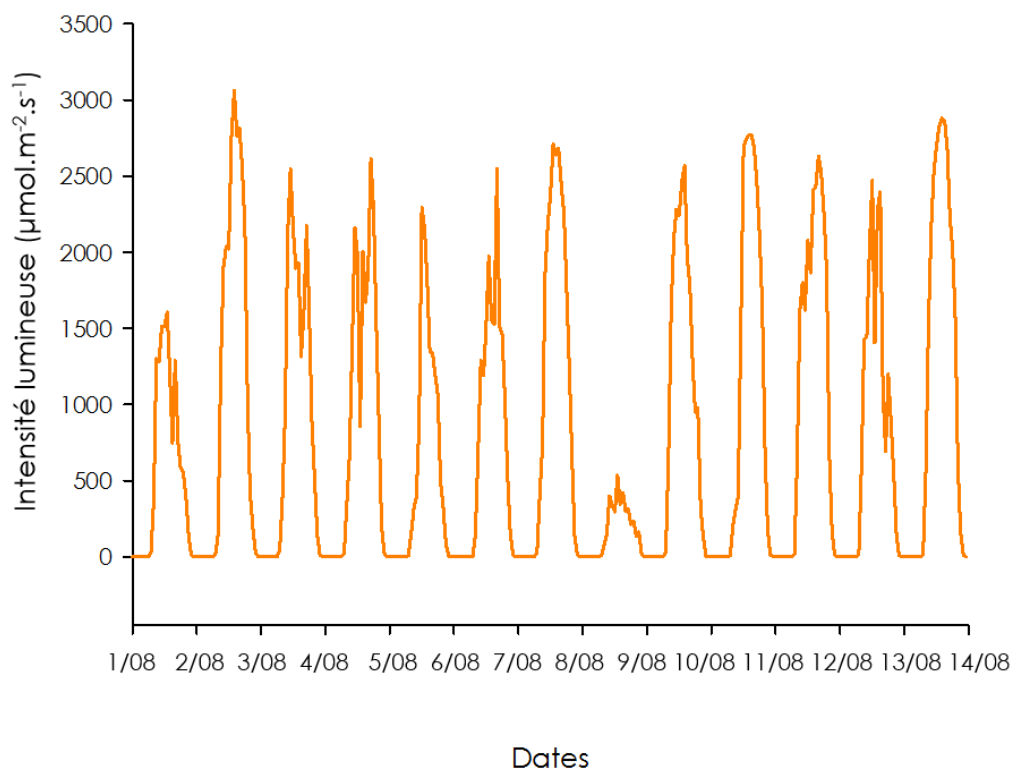


Figure 26. Intensité lumineuse ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) durant la période de culture du 01/08/14 au 13/08/14 pour l'expérimentation de croissance du *P. littoralis* à quatre intensités lumineuses.

L'évolution de la biomasse (masse fraîche) au cours de l'expérimentation et le taux de croissance relative (RGR) calculés sur la masse sèche en fin d'expérience sont présentés Figure 27.

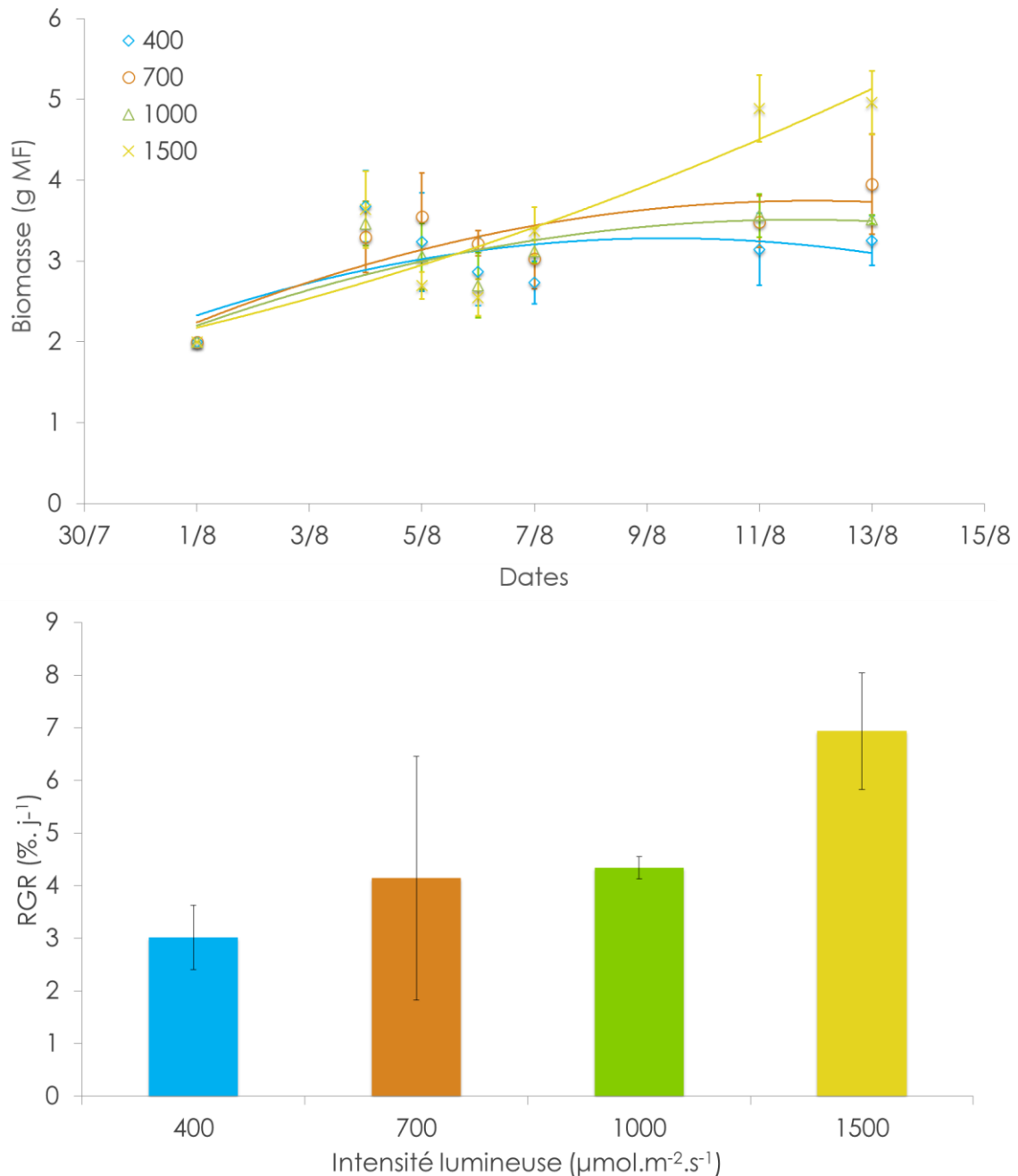


Figure 27. Croissance de *P. littoralis* à quatre intensités lumineuses différentes (400, 700, 1000 et 1500) : en haut) évolution de la biomasse exprimée en g de Masse Fraîche (MF) ($n=3$, moyenne par intensité \pm ET) ; en bas) Taux de croissance relative (RGR, $\%. \text{j}^{-1}$) calculé sur la MF mesurée en fin d'expérience pour les quatre intensités.

Des différences significatives de biomasses (MF) sont apparues à partir du 11^{ème} jour d'expérimentation avec une **croissance plus grande pour une intensité de 1500 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$** que les croissances mesurées à 400, 700 et 1000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (interaction intensité lumineuse et jour d'expérimentation : ANOVA, $F_{18,36} = 3.63$, $p < 0.001$, SNK, $p < 0.05$). Au 13^{ème} jour, les différences n'étaient plus significatives qu'entre les croissances à 1500 et 400 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (SNK, $p < 0.05$). Ce

résultat était similaire pour le taux de croissance relative (RGR) avec une différence significative entre $1500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ et $400 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (ANOVA, $F_{3,8} = 4.91$, $p < 0.05$, SNK, $p < 0.05$). Toutefois, ces **différences ne sont que peu marquées et n'interviennent que sur la fin de l'expérimentation** (11^{ème} jour). Ceci peut être expliqué par un évènement de très faible luminosité (max $500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) survenu la journée du 8 août (Figure 26). Ce jour-là, les algues sous les filtres ont donc été exposées approximativement à des valeurs de 333, 238, 133 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (calcul effectué à partir des réductions relatives d'intensité par les filtres au premier jour d'expérimentation : facteur de réduction entre 1500 et 1000 : 1.5 ; entre 1500 et 700 : 2.1 ; entre 1500 et 400 : 3.75, appliqué au maximum d'intensité du 8/08 : $500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). Ces valeurs étaient toutes inférieures à l'intensité de saturation I_s de $350 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ trouvée pour les mêmes conditions expérimentales de température (température régulée). Ce qui implique qu'à ces intensités lumineuses la productivité de *Pylaiella* n'était pas maximum, alors qu'elle l'était à $500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Un décalage dans la production de biomasse a pu alors se créer comme le témoignent les différences observées au 11^{ème} jour et qui semblent s'estomper au 13^{ème} jour. Par ailleurs, il est important de rappeler qu'une incertitude de pesée des biomasses fraîches pourrait également induire cette différence significative.

Sans cet épisode de faible intensité lumineuse et sans cette incertitude de pesée, il est probable que les **croissances aux quatre intensités lumineuses** testées aient été similaires car toutes mesurées **en condition de lumière non limitante pour *Pylaiella*** ($>350 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, voir 5.3). Ces intensités lumineuses testées étaient proches de celles observées en moyenne aux cours de l'année ($400 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ en hiver, $700 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ en automne, $1000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ au printemps et $1500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ en été). *Pylaiella* pourrait donc croître en toutes saisons si cette algue n'était pas limitée par d'autres conditions environnementales de nutriment, température et photopériode.

6.5 Conclusion sur la croissance de *Pylaiella littoralis*

L'étude de la croissance de *Pylaiella* repose sur des données précises de pesées de masse fraîche pour un suivi dans le temps de cette croissance. Les différentes expériences menées dans le cadre de cette étude ont montré qu'un **essorage mécanique pendant 10 min à 330 tours.min⁻¹ était suffisant pour obtenir une masse fraîche constante et suffisamment précise** pour des échantillons supérieurs à 15 g. Une **méthode indirecte par mesure de l'atténuation de la lumière** pourrait permettre d'estimer les échantillons de masse fraîche inférieure à 15 g, mais cette dernière reste à être éprouvée.

La **qualité de l'eau de mer est importante pour la croissance de *Pylaiella***. La composition de l'eau de mer reconstituée doit être améliorée pour pouvoir l'utiliser dans les expériences de croissance. Cependant, les croissances obtenues en **eau de mer filtrée** ont donné de **bons résultats** avec des **taux de croissance relative (RGR) en milieu non limitant pour *Pylaiella*** (luminosité, nutriment et température) de $16 \pm 2 \text{ \%}.\text{J}^{-1}$ et $7 \pm 1 \text{ \%}.\text{J}^{-1}$ (voir 6.3 et 6.4 respectivement). Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celle de $12.5 \text{ \%}.\text{J}^{-1}$ trouvé par Lotze et Schramm (2000). Les résultats de croissance de la présente étude ont **confirmé l'adaptation de *Pylaiella* à de faibles intensités lumineuses rendant ce facteur rarement limitant**. Il faut toutefois considérer l'action des autres facteurs environnementaux entrant dans la régulation de la croissance de *Pylaiella*, tels que les nutriments, la température et la photopériode.

Pylaiella littoralis est adapté à de faibles intensités lumineuses lui permettant de croître quelle que soit la saison à condition que les autres facteurs environnementaux (nutriments, température et photopériode) lui soient favorables.

7 Conclusions générales

La présente étude a permis d'avancer dans l'explication des phénomènes de compétition entre *Pylaiella littoralis* et *Ulva* spp. au cours de la saison de prolifération ainsi que de dégager l'importance de certains facteurs environnementaux et leur rôle sur les capacités écophysologiques de ces deux algues.

***Pylaiella littoralis* semble avantagé au cours de la saison de prolifération par rapport à *Ulva* spp. par :**

- Une grande réactivité par rapport aux changements en nitrates du milieu grâce à un **Vmax élevé lorsque les concentrations en nitrates sont fortes** dans le milieu (début et fin de saison)
- Un **Km faible** en milieu de saison **lorsque les concentrations en nitrates sont faibles** dans le milieu contrairement à *Ulva* dont le Km était fort et traduisait un besoin de milieu plus riche en nitrates pour assurer son bon développement
- Une **productivité supérieure à celle d'*Ulva* après un séjour prolongé à de fortes concentrations en nitrates**
- Une **adaptation à de faibles intensités lumineuses** (début et fin de saison), lui permettant d'atteindre une productivité maximale bien avant *Ulva*, cette dernière nécessitant des intensités bien plus fortes
- Un **faible impact sur sa productivité d'une exposition à de fortes intensités lumineuses** rencontrées en milieu de saison (pas de photoinhibition) alors que la productivité d'*Ulva* diminuait (photoinhibition)

La présente étude a également confirmé, de façon indirecte, le **rôle primordial de la température sur la croissance de *Pylaiella littoralis***. En effet, sa **croissance et sa productivité ont été favorisées** lorsque les expérimentations se déroulaient à **température régulée proche d'une température optimale** pour *Pylaiella* (15°C), alors que la productivité d'*Ulva* a été favorisée à des températures plus fortes (25°C). **La température peut être considérée comme un régulateur important de prolifération agissant sur le métabolisme de *Pylaiella* en matière d'absorption des nutriments, de photosynthèse et de croissance.** La température doit donc être prise en compte dans l'étude de ces paramètres écophysologiques et régulée de façon à être en adéquation avec les valeurs de saison testées.

8 References

- Andersen RA, Berges JA, Harrison PJ, Watanabe MM (2005) Recipes for freshwater and seawater media. Algal culturing techniques. Elsevier, Amsterdam:429–538
- Auby I, Manaud F, Maurer D, Trut G (1994) Etude de la prolifération des algues vertes dans le bassin d'Arcachon. Etude IFREMER-CEMAGREF-SSASARBAC. Plouzané, France: IFREMER, 146 p
- Brooks A, Farquhar G (1985) Effect of temperature on the CO₂/O₂ specificity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and the rate of respiration in the light. *Planta* 165:397–406
- CEVA (2010) Programme d'intervention du CEVA en faveur de l'action régionale et interdépartementale pour la maîtrise des phénomènes de marées vertes CIMAV 2010: Rapport sur le projet 3
- CEVA (2011) Programme d'intervention du CEVA en faveur de l'action régionale et interdépartementale pour la maîtrise des phénomènes de marées vertes CIMAV 2011: Rapport sur le projet 3
- CEVA (2012) Programme d'intervention du CEVA en faveur de l'action régionale et interdépartementale pour la maîtrise des phénomènes de marées vertes CIMAV 2012: Rapport sur le projet 3
- CEVA (2013a) Programme d'intervention du CEVA en faveur de l'action régionale et interdépartementale pour la maîtrise des phénomènes de marées vertes CIMAV 2013: Rapport pour le projet 4
- CEVA (2013b) Programme d'intervention du CEVA en faveur de l'action régionale et interdépartementale pour la maîtrise des phénomènes de marées vertes CIMAV 2013 Rapport sur le projet 3 complément d'étude sur les processus biologiques, hydrologiques et sédimentologies impliqués dans les blooms macroalgues: Rapport sur le projet 3
- Dean PR, Hurd CL (2007) Seasonal growth, erosion rates, and nitrogen and photosynthetic ecophysiology of *Undaria pinnatifida* (Heterokontophyta) in southern New Zealand. *Journal of Phycology* 43:1138–48
- Dion P., Le Bozec, S. (1999) Contenu tissulaire des ulves en azote et phosphore comme facteurs limitants de leur croissance en Baie de Douarnenez. In: Merceron M (ed) *Pollutions diffuses: Du bassin versant au littoral actes de colloques*, Ploufragan, Saint-Brieuc, [23-24] septembre 1999: Ifremer, Plouzané, p 77–85
- Duarte CM (1995) Submerged aquatic vegetation in relation to different nutrient regimes. *Ophelia* 41:87–112
- Fletcher RL (1996) The occurrence of “green tides”—a review. In: Schramm W, Nienhuis PH (eds) *Marine Benthic Vegetation: Recent Changes and the Effects of Eutrophication*: Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, p 7–43
- Fong P, Boyer KE, Desmond JS, Zedler JB (1996) Salinity stress, nitrogen competition, and facilitation what controls seasonal succession of two opportunistic green macroalgae? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 206:203–21
- Geertz-Hansen O, Sand-Jensen K, Hansen DF, Christiansen A (1993) Growth and grazing control of abundance of the marine macroalga, *Ulva lactuca* L. in a eutrophic Danish estuary. *Aquatic Botany* 46:101–09

- Hein M, Pedersen MF, Sand-Jensen K (1995) Size-dependent nitrogen uptake in micro- and macroalgae. *Marine Ecology-progress Series* 118:247–53
- Hoffmann WA, Poorter H (2002) Avoiding Bias in Calculations of Relative Growth Rate. *Annals of Botany* 90:37–42
- Johansson G, Snoeijs P (2002) Macroalgal photosynthetic responses to light in relation to thallus morphology and depth zonation. *Marine Ecology Progress Series* 244:63–72
- Kiirikki M, Lehvo A (1997) Life strategies of filamentous algae in the northern Baltic Proper. *Sarsia* 82:259–67
- Kraufvelin P, Lindholm A, Pedersen MF, Kirkerud LA, Bonsdorff E (2010) Biomass, diversity and production of rocky shore macroalgae at two nutrient enrichment and wave action levels. *Marine Biology* 157:29–47
- Larsson U, Elmgren R, Wulff F (1985) Eutrophication and the Baltic Sea: causes and consequences. *Ambio* (Sweden)
- Lavery PS, McComb AJ (1991) The Nutritional Eco-physiology of *Chaetomorpha linum* and *Ulva rigida* in Peel Inlet, Western Australia. *Botanica Marina* 34
- Littler MM, Murray SN (1974) The primary productivity of marine macrophytes from a rocky intertidal community. *Marine Biology* 27:131–35
- Lobban CS, Harrison PJ (1997) *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge University Press, Cambridge
- Lotze HK, Schramm W (2000a) Ecophysiological traits explain species dominance patterns in macroalgal blooms. *Journal of Phycology* 36:287–95
- Lotze HK, Schramm W (2000b) Ecophysiological traits explain species dominance patterns in macroalgal blooms. *Journal of Phycology* 36:287–95
- Lotze HK, Schramm W, Schories D, Worm B (1999) Control of macroalgal blooms at early developmental stages: *Pilayella littoralis* versus *Enteromorpha* spp. *Oecologia* 119:46–54
- Lotze HK, Worm B (2000) Variable and complementary effects of herbivores on different life stages of bloom-forming macroalgae. *Marine Ecology Progress Series* 200:167–75
- Lotze HK, Worm B, Sommer U (2000a) Propagule banks, herbivory and nutrient supply control population development and dominance patterns in macroalgal blooms. *Oikos* 89:46–58
- Lotze HK, Worm B, Sommer U (2000b) Propagule banks, herbivory and nutrient supply control population development and dominance patterns in macroalgal blooms. *Oikos* 89:46–58
- Martínez B, Pato LS, Rico JM (2012) Nutrient uptake and growth responses of three intertidal macroalgae with perennial, opportunistic and summer-annual strategies. *Aquatic Botany* 96:14–22
- Martins GM, Hawkins SJ, Thompson RC, Jenkins SR (2007) *Marine Ecology Progress Series* 329:43. *Marine Ecology Progress Series* 329:43–55
- Menéndez M (2005) Effect of nutrient pulses on photosynthesis of *Chaetomorpha linum* from a shallow Mediterranean coastal lagoon. *Aquatic Botany* 82:181–92
- Ménesguen A (2003) Les "marées vertes" en Bretagne, la responsabilité du nitrate
- Merceron M, Antoine V, Auby I, Morand P (2007) In situ growth potential of the subtidal part of green tide forming *Ulva* spp. stocks. *Science of the Total Environment* 384:293–305
- Müller DG, Küpper FC, Küpper H (1999) Infection experiments reveal broad host ranges of *Eurychasma dicksonii* (Oomycota) and *Chytridium polysiphoniae* (Chytridiomycota), two eukaryotic parasites in marine brown algae (Phaeophyceae). *Phycological Research* 47:217–23

- Naldi M, Viaroli P (2002) Nitrate uptake and storage in the seaweed *Ulva rigida* C. Agardh in relation to nitrate availability and thallus nitrate content in a eutrophic coastal lagoon (Sacca di Goro, Po River Delta, Italy). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 269:65–83
- Nishihara GN, Terada R, Noro T (2005) Effect of temperature and irradiance on the uptake of ammonium and nitrate by *Laurencia brongniartii* (Rhodophyta, Ceramiales). *Journal of Applied Phycology* 17:371–77
- Noël LM, Griffin JN, Thompson RC, Hawkins SJ, Burrows MT, Crowe TP, Jenkins SR (2010) Assessment of a field incubation method estimating primary productivity in rockpool communities. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 88:153–59
- Norkko A, Bonsdorff E (1996) Rapid zoobenthic community responses to accumulations of drifting algae. *Marine ecology progress series*. Oldendorf 131:143–57
- Olabarria C, Arenas F, Viejo RM, Gestoso I, Vaz-Pinto F, Incera M, Rubal M, Cacabelos E, Veiga P, Sobrino C (2013) Response of macroalgal assemblages from rockpools to climate change: effects of persistent increase in temperature and CO₂. *Oikos* 122:1065–79
- Orduña-Rojas J, García-Rodríguez LD, López-Meyer M, Riosmena-Rodríguez R (2013) Photosynthetic and respiratory responses of *Gracilaria parvispora* from the southeastern Gulf of California. *Journal of Applied Phycology* 25:1855–61
- Pádua Md, Fontoura, Paulo Sérgio Growoski, Mathias AL (2004) Chemical composition of *Ulvaria oxysperma* (Kützinger) bliding, *Ulva lactuca* (Linnaeus) and *Ulva fascita* (Delile). *Brazilian archives of biology and technology* 47:49–55
- Peckol P, DeMeo-Anderson B, Rivers JS, Valiela I, Maldonado M, Yates J (1994) Growth, nutrient uptake capacities and tissue constituents of the macroalgae *Cladophora vagabunda* and *Gracilaria tikvahiae* related to site-specific nitrogen loading rates. *Marine Biology* 121:175–85
- Peckol P, Rivers JS (1995a) Competitive interactions between the opportunistic macroalgae *Cladophora vagabunda* (chlorophyta) and *Gracilaria tikvahiae* (rhodophyta) under eutrophic conditions. *Journal of Phycology* 31:229–32
- Peckol P, Rivers JS (1995b) Physiological responses of the opportunistic macroalgae *Cladophora vagabunda*(L.) van den Hoek and *Gracilaria tikvahiae*(McLachlan) to environmental disturbances associated with eutrophication. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 190:1–16
- Pedersen MF, Borum J (1996) Nutrient control of algal growth in estuarine waters. Nutrient limitation and the importance of nitrogen requirements and nitrogen storage among phytoplankton and species of macroalgae. *Marine Ecology-progress Series* 142:261–72
- Pérez-Mayorga DM, Ladah LB, Zertuche-González JA, Leichter JJ, Filonov AE, Lavín MF (2011) Nitrogen uptake and growth by the opportunistic macroalga *Ulva lactuca* (Linnaeus) during the internal tide. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 406:108–15
- Perrot T, Rossi N, Ménesguen A, Dumas F (2014) Modelling green macroalgal blooms on the coasts of Brittany, France to enhance water quality management. *Journal of Marine Systems* 132:38–53
- Probyn TA, Chapman AR (1982) Nitrogen uptake characteristics of *Chordaria flagelliformis* (Phaeophyta) in batch mode and continuous mode experiments. *Marine Biology* 71:129–33
- Probyn TA, Chapman AR (1983) Summer growth of *Chordaria flagelliformis* (OF Muell.) C. Ag.: physiological strategies in a nutrient stressed environment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 73:243–71

- Raffaelli DG, Raven JA, Poole L (1998) Ecological impact of green macroalgal blooms. *Oceanography and Marine Biology: an annual review* 36:97–125
- Raymont J (1980) Plankton and productivity in the oceans. *Phytoplankton*. Pergamon Press. Oxford
- Rivers JS, Peckol P (1995) Summer decline of *Ulva lactuca* (chlorophyta) in a eutrophic embayment: interactive effects of temperature and nitrogen availability? *Journal of Phycology* 31:223–28
- Salovius S, Bonsdorff E (2004) Effects of depth, sediment and grazers on the degradation of drifting filamentous algae (*Cladophora glomerata* and *Pilayella littoralis*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 298:93–109
- Sand-Jensen K, Borum J (1991) Interactions among phytoplankton, periphyton, and macrophytes in temperate freshwaters and estuaries. *Aquatic Botany* 41:137–75
- Simon C, Ar Gall E, Levvasseur G, Deslandes E (1999) Effects of Short-Term Variations of Salinity and Temperature on the Photosynthetic response of the red alga *Grateloupia doryphora* from Brittany (France). *Botanica Marina* 42:437–40
- Smith RG, Bidwell RG (1989) Mechanism of Photosynthetic Carbon Dioxide Uptake by the Red Macroalga, *Chondrus crispus*. *Plant Physiology* 89:93–99
- Tait LW (2014) Impacts of natural and manipulated variations in temperature, pH and light on photosynthetic parameters of coralline–kelp assemblages. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 454:1–8
- Turpin DH (1991) Effects of inorganic N availability on algal photosynthesis and carbon metabolism. *Journal of Phycology* 27:14–20
- Valiela I, McClelland J, Hauxwell J, Behr PJ, HERSH D, FOREMAN K (1997) Macroalgal blooms in shallow estuaries: Controls and ecophysiological and ecosystem consequences. *Limnology and Oceanography* 42:1105–18
- Vanlerberghe GC, Schuller KA, Smith RG, Feil R, Plaxton WC, Turpin DH (1990) Relationship between NH_4^+ Assimilation Rate and in Vivo Phosphoenolpyruvate Carboxylase Activity Regulation of Anaplerotic Carbon Flow in the Green Alga *Selenastrum minutum*. *Plant Physiology* 94:284–90
- Wallentinus I (1978) Productivity studies on Baltic macroalgae. *Botanica Marina* 21:365–80
- Wallentinus I (1984a) Comparisons of nutrient uptake rates for Baltic macroalgae with different thallus morphologies. *Marine Biology* 80:215–25
- Wallentinus I (1984b) Comparisons of nutrient uptake rates for Baltic macroalgae with different thallus morphologies. *Marine Biology* 80:215–25

ANNEXES

ANNEXE 1



Figure 28. Evolution des proliférations de *Pylaeilla littoralis* en Baie de la Fresnaye (Côtes d'Armor) pour la saison 2014. La prolifération a été tardive suite à la succession de tempêtes hivernales précédant la saison. La prolifération a réellement débuté en juin.

ANNEXE 2

Composition du milieu nutritif (F/2), (Andersen et al., 2005)

SOLUTION AZOTEE	Qsp 1L eau UP	
NaNO ₃	75	g

SOLUTION PHOSPHOREE	Qsp 1L eau UP	
NaH ₂ PO ₄ , H ₂ O	5	g

SOLUTION METALLIQUE	Qsp 1L eau UP	
FeCl ₃ , 6H ₂ O	3,15	g
Na ₂ EDTA ou <u>Na₂EDTA, 2H₂O</u>	4,36	g
CuSO ₄ , 5H ₂ O	1	mL
Na ₂ Mo ₄ , 2H ₂ O	1	mL
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	1	mL
CoCl ₂ , 6H ₂ O	1	mL
MnCl ₂ , 4H ₂ O	1	mL

SOLUTION VITAMINIQUE	Qsp 1L eau UP	
Vitamine B1 (ou thiamine)	0,2	g
Vitamine B12 d'une solution à 1g/L	1	mL
Vitamine H (ou biotine) d'une solution à 0,1g/L	10	mL

UTILISATION	Qsp 1L EDM	
solution azotée	1	ml
solution phosphorée	1	ml
solution métallique	1	ml
solution vitaminique	0,5	ml

Eau de mer reconstituée

Préparer les solutions de sels 1 et 2 séparément puis rassembler.

SELS 1	Qsp 1000L eau osmosée	
NaCl	23,38	kg
KCl	0,75	kg
CaCl ₂	1,12	kg
NaHCO ₃	0,168	kg

SELS 2	Qsp 1000L eau osmosée	
MgSO ₄ . 7H ₂ O	4,93	kg
MgCl ₂ . 6H ₂ O	4,93	kg

ANNEXE 3

Tableau 17. Valeurs de Vmax et Km calculées lors des cinétiques d'absorption des nitrates pour *Pylaeilla littoralis* et *Ulva* spp. pour chaque date, chaque réplicat (n = 3 ; N1, N2, N3) de chaque intervalle de temps (0-30 min : T0-T30, 30-60 min : T30-T60, 60-120 min : T60-T120). La pente ($\alpha = V_{max}/K_m$) a été calculée. En bleu foncé : moyenne des Vmax et Km des trois réplicats d'un intervalle de temps. En bleu clair : Ecart type des Vmax et Km des trois réplicats d'un intervalle de temps. Les valeurs en jaune ont été écartées des calculs soit parce que les valeurs étaient aberrantes, soit parce que le R² n'était pas satisfaisant (trop faible ou non significatif), soit parce que le nombre de points représentatifs par lesquels la régression correspondant à la courbe de Michaelis-Menten était tracée n'étaient pas suffisant. Lorsque les Vmax et Km des trois réplicats d'un même intervalle de temps étaient écartés, la moyenne et écart type des Vmax et Km étaient également écartés (en rouge).

Date	Temps		Pylaeilla				Ulva			
			Vmax	Km	pente	R ²	Vmax	Km	pente	R ²
Fevrier	NO3	N1	-5.07E+10	3.02E+10	-1.68	0.33				
		N2	-10.41	-11.04	0.94	0.86				
		N3	-636.11	371.93	-1.71	0.00				
		Moy	-1.6886E+10	10076676292	-1.68					
		ET	2.9248E+10	17453314997						
	T30-T60	N1	99.18	19.56	5.07	0.42				
		N2	-4.66E+10	-2.45E+10	1.90	0.66				
		N3	4.37E+01	-1.83E+00	-23.82	0.06				
		Moy	99.18	19.56	5.07					
		ET	2.69E+10	1.41E+10						
	T60-T120	N1	37.82	8.44	4.48	0.04				
		N2	1.89E+10	7450872476	2.54	0.94				
		N3	1.16E+09	2.28E+09	0.51	0.68				
		Moy	37.82	8.44	4.48					
ET		8.17E+08	1.61E+09							
Juillet	NO3	N1	86.05	23.52	3.66	0.43	27.49	8.64	3.18	0.75
		N2	48.36	13.96	3.46	0.54	224.60	198.87	1.13	0.99
		N3	106.82	34.30	3.11	0.95	79.09	19.86	3.98	0.98
		Moy	96.44	28.91	3.34		126.05	103.76	1.21	
		ET	14.69	7.62			139.37	134.51		
	T30-T60	N1	101.88	29.55	3.45	0.97	23.05	4.67	4.94	0.57
		N2	90.84	16.34	5.56	0.84	99.51	66.68	1.49	0.91
		N3	109.41	26.24	4.17	0.99	43.21	27.44	1.57	0.98
		Moy	100.12	21.29	4.70		71.36	47.06	1.52	
		ET	13.13	7.00			39.81	27.75		
	T60-T120	N1	45.00	7.24	6.22	0.97	95.44	14.36	6.65	0.91
		N2	91.44	50.52	1.81	0.75	32.54	4.00	8.14	0.92
		N3	42.06	6.07	6.93	0.99	59.32	5.35	11.08	0.93
		Moy	43.53	6.65	6.54		62.43	7.90	7.90	
ET		2.08	0.83			31.56	5.63			
Septembre / Octobre	NO3	N1	1.48E+10	9.67E+09	1.53	1.00	262.44	107.17	2.45	0.89
		N2	47.72	67.61	0.71	0.21	99.10	87.32	1.13	0.96
		N3	297.63	75.98	3.92	0.98	65.42	26.31	2.49	0.18
		Moy	297.63	75.98	3.92		180.77	97.24	1.86	
		ET					115.50	14.04		
	T30-T60	N1	45.18	3.40	13.29	0.91	137.50	52.16	2.64	0.94
		N2	122.77	45.69	2.69	0.85	73.74	17.41	4.24	0.93
		N3	114.37	23.98	4.77	0.96	37.02	10.70	3.46	0.91
		Moy	118.57	34.83	3.40		105.62	34.78	3.04	
		ET	5.94	15.35			45.08	24.57		
	T60-T120	N1	56.45	18.60	3.03	0.97	91.64	113.81	0.81	0.99
		N2	64.0228	19.8536	3.22	0.96	112.29	191.70	0.59	0.93
		N3	28.51	3.38	8.43	0.71	13.99	16.98	0.82	0.49
		Moy	60.24	19.23	3.13		101.96	152.75	0.67	
ET		5.35	0.89			14.60	55.07			

