

Centre d'Etude et de Valorisation des Algues

BP 3 - 22610 PLEUBIAN

Téléphone : 02 96 22 93 50 - Télécopie : 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 2017

RAPPORT SUR LE PROJET 3
COMPLEMENT D'ETUDE SUR LES PROCESSUS BIOLOGIQUES,
HYDROLOGIQUES ET SEDIMENTOLOGIQUES IMPLIQUES DANS LES
BLOOMS MACROALGAUX



ANNEE 2017 – Rapport final



Sommaire

1	CONTEXTE ET OBJECTIFS	4
2	EXPERIMENTATION <i>IN SITU</i>	5
2.1	SITE D'ETUDE.....	5
2.2	MATERIEL ET METHODE.....	6
2.2.1	<i>Améliorations 2017</i>	6
2.2.2	<i>Dispositif expérimental</i>	6
2.2.3	<i>Protocole expérimental in situ</i>	7
2.3	RESULTATS.....	10
2.3.1	<i>Suivi de la biomasse algale</i>	10
2.3.2	<i>Quotas azotés et phosphorés des algues</i>	17
3	EXPERIMENTATION EN CONDITIONS CONTROLEES	21
3.1	MATERIEL ET METHODE.....	21
3.1.1	<i>Dispositif expérimental</i>	21
3.1.2	<i>Protocole expérimental</i>	22
3.2	RESULTATS.....	24
3.2.1	<i>Evolution de la biomasse</i>	24
3.2.2	<i>Analyses des algues, de l'eau et de la vase</i>	26
4	ESTIMATION DU FLUX SEDIMENTAIRE ET DU FONCTIONNEMENT ECOPHYSIOLOGIQUE DE L'ALGUE EN CONDITIONS CONTROLEES AU MOYEN DU MODELE 0D	33
4.1	PRESENTATION DU MODELE 0D.....	33
4.2	RESULTATS.....	34
4.2.1	<i>Bacs dépourvus de sédiment en condition anoxique</i>	35
4.2.2	<i>Bacs avec sédiment en conditions anoxique</i>	38
5	EXPERIMENTATIONS COMPLEMENTAIRES <i>IN SITU</i> ET EN CONDITIONS CONTROLEES	41
5.1	BIOLOGIE D'HYDROBIA ULVAE.....	41
5.2	EXPERIMENTATIONS <i>IN SITU</i>	42
5.2.1	<i>Matériel et méthode</i>	42
5.2.2	<i>Résultats</i>	44
5.3	EXPERIMENTATION EN CONDITIONS CONTROLEES.....	49
5.3.1	<i>Matériel et méthode</i>	49
5.3.2	<i>Résultats</i>	52
6	DISCUSSION GENERALE	58
7	CONCLUSION	64
8	BIBLIOGRAPHIE	66
	ANNEXES	68

Figures

Figure 1 : Illustration de la vasière du Lédano (estuaire du Trieux, Côtes d'Armor) et localisation de la station d'expérimentation (cercle blanc).....	5
Figure 2 : Photo du dispositif expérimental sur le site d'étude.....	7
Figure 3 : Sondes Hobo installées soit à l'intérieur de la cage (photo à gauche) soit à l'extérieur (photo à droite).....	7
Figure 4 : Biomasse algale (poids frais) des lots H et B à la fin de chaque campagne de 7 jours de mai à septembre 2017.....	11
Figure 5 : Evolution mensuelle des couvertures algales en 2017 sur la vasière du Lédano (estimation visuelle).....	12
Figure 6 : Distribution des médianes (1er et 3ème quartile) des biomasses algales de chaque triplicat H et B lors des 9 campagnes.....	14
Figure 7 : Evolution de la température au cours de la campagne 4 (du 29 juin au 5 juillet 2017)..	16
Figure 8 : Evolution des moyennes de température et de lumière enregistrées dans le milieu (Ext) lors de l'expérimentation <i>in situ</i> de la campagne 2 à 9.....	16
Figure 9 : Evolution saisonnière des quotas azotés des ulves du milieu et des lots H et B	17
Figure 10 : Evolution saisonnière des quotas phosphorés des ulves du milieu et des lots H et B.	18
Figure 11 : Photo et schéma du dispositif expérimental réalisé au CEVA	22
Figure 12 : Biomasse des lots d'ulves obtenues lors des 3 séries d'expérience de 5 jours.....	25
Figure 13 : Distribution des médianes (1er et 3ème quartile) des biomasses algales de chaque triplicat ASVA (Algues Sans Vase et Anoxie), AVA (Algues avec Vase et Anoxie) et AVSA (Algues avec Vase Sans Anoxie) lors des 3 expériences de 5 jours.	26
Figure 14 : Moyenne des biomasses algales et des quotas azotés (en haut à gauche) et phosphorés (en bas à gauche) des lots d'ulves, moyenne des quotas azotés (en haut à droite) et phosphorés (en bas à droite) et moyenne des quantités d'azote ou de phosphore fixées par les algues à l'issue des 3 expériences de 5 jours (du 16 juin au 6 juillet 2017)	29
Figure 15 : Contenus azotés et phosphorés des échantillons de vase prélevée initialement (V0) et en fin d'expérimentation dans le bac 3 de la modalité Vase Sans Anoxie (VSA3) et dans le bac 3 de la modalité Vase et Anoxie (VA3).	32
Figure 16 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour les sels nutritifs pour le protocole sans sédiment	36
Figure 17 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour le quota en azote et phosphore, la densité en ulves et le taux de croissance moyen journalier pour le protocole sans sédiment.....	37
Figure 18 : Evolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans la croissance de l'ulve pour le protocole sans sédiment.....	37
Figure 19 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour les sels nutritifs pour le protocole avec sédiment	39
Figure 20 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour le quota en azote et phosphore, la densité en ulves et le taux de croissance moyen journalier pour le protocole avec sédiment.....	40
Figure 21 : Evolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans la croissance de l'ulve pour le protocole avec sédiment	40
Figure 22 : Photo d' <i>Hydrobia ulvae</i> (Source : conchology.be) et de l'intérieur d'une cage en présence d'hydrobies	41

Figure 23 : Photo du dispositif expérimental (2 cages nommées C1 et C2) situé à droite du dispositif principal.	42
Figure 24 : Photo illustrant la dégradation du milieu (zones blanches de moisissures) devant les cages C1 et C2 (à gauche) et à l'intérieur de la cage C1 (à droite). CEVA, août 2017	45
Figure 25 : Evolution des biomasses algales obtenues dans les cages C1 (sans hydrobies) et dans les cages C2 (avec hydrobies) et évolution comparative des biomasses algales obtenues dans les cages B de l'expérimentation principale <i>in situ</i> . Les quantités d'hydrobies introduites initialement sont précisées au-dessus de chaque barre correspondant à la cage C2.	46
Figure 26 : Photo du dispositif expérimental réalisé au CEVA.....	49
Figure 27 : Moyennes des biomasses des lots d'ulves obtenues après 7 jours d'expérience.....	52
Figure 28 : Evolution des biomasses algales après 7, 9 et 12 jours d'expérience.....	53
Figure 29 : Distribution des biomasses algales et quantités d'hydrobies dans chaque bac.....	54
Figure 30 : Graphique représentant la biomasse des lots d'algues en fonction de la quantité d'hydrobies présentes dans les bacs.....	54
Figure 31 : Moyennes des biomasses algales obtenues après 7, 9 et 12 jours d'expérience	56
Figure 32 : Moyennes des biomasses algales après 3, 7, 10 et 13 jours d'expérience	57
Figure 33 : Schéma du captage/relargage du phosphore sous condition soit anoxique soit oxicque du sédiment (Rozan et al. 2002).	61

Tableaux

Tableau 1 : Liste des améliorations 2017 établies sur la base des constats de 2016	6
Tableau 2 : Calendrier des campagnes et des prélèvements d'ulves dans le milieu et dans les cages pour l'analyse des quotas azotés et phosphorés des ulves.....	9
Tableau 3: résultat du test de Student sur la comparaison des moyennes des biomasses des lots H et B lors des 9 campagnes	13
Tableau 4 : Résultats et interprétations du test « One-Way ANOVA » effectué sur les données de température toutes campagnes confondues et selon certaines conditions (Emersion/Immersion)	15
Tableau 5 : Résultats et interprétations des tests statistiques réalisés selon certaines périodes sur les données de quotas azotés et phosphorés des ulves de modalité H et B (médiane et 1 ^{er} et 3 ^{ème} quartiles).....	20
Tableau 6 : Plan d'échantillonnage et analyses pour les expériences en laboratoire.....	23
Tableau 7 : Dosages des échantillons d'eau de mer (ammonium, nitrate et orthophosphate) prélevés à T0, T3 et T5 jours lors des 3 expériences. Les cases grisées correspondent au seuil de détection.	30
Tableau 8 : Paramètres biochimiques du modèle 0D pour les ulves	34
Tableau 9 : Valeurs de flux sédimentaire ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$) prescrits au modèle 0D.....	38
Tableau 10 : Calendrier des expériences et des différentes quantités d'hydrobies testées lors de l'expérimentation complémentaire <i>in situ</i>	44
Tableau 11 : Photos illustrant les différentes modalités des expériences effectuées en laboratoire	51

1 Contexte et objectifs

La disposition 10A-2 du SDAGE Loire-Bretagne 2016-2021 prévoit l'initiation d'études d'identification de l'origine des apports d'azote, et notamment la part issue du relargage sédimentaire, sur les sites de vasières contribuant au déclassement des masses d'eau au titre des marées vertes. Sont concernés par la disposition 10A-2 en priorité les sites de vasières des masses d'eau de transition suivantes :

- FRGT02 : Bassin maritime de la Rance
- FRGT03 : Le Trieux
- FRGT06 : Rivière de Morlaix
- FRGT07 : La Penzé
- FRGT08 : L'Aber Wrac'h
- FRGT14 : Rivière de Pont l'Abbé
- FRGT20 : Le Blavet
- FRGT21 : Rivière d'Étel
- FRGT24 : Rivière de Vannes
- FRGC39 : Golfe du Morbihan

En 2014, dans le cadre du CIMAV P1, le CEVA a réalisé une synthèse bibliographique des méthodes employées pour estimer les flux sédimentaires et des valeurs de flux qui en étaient issues. L'annexe 4 du CIMAV P1 2014 présente les différents flux issus du sédiment et les différentes méthodes permettant de les évaluer. La très forte variabilité des flux mesurés, les différents processus à l'œuvre et la diversité des méthodologies rend l'appréciation de ces flux complexe.

Du fait de la complexité de la mesure directe des différents flux sédimentaires et de façon à appuyer les SAGEs dans la mise en œuvre d'études d'identification de l'origine des apports d'azote et notamment de la part issue du relargage, le CEVA a proposé en 2016 et en 2017 d'utiliser les ulves pour déterminer la contribution de la fourniture sédimentaire à la biomasse créée. Des expérimentations *in situ* (vasière du Lédano, estuaire du Trieux, Côtes d'Armor) et en conditions contrôlées, ont été réalisées afin de suivre l'impact du sédiment sur la croissance et les contenus internes en azote et en phosphore des algues.

Les résultats obtenus en 2016 ont démontré que l'approche était satisfaisante pour appréhender le rôle du sédiment dans la croissance des algues moyennant des améliorations techniques pour mieux cibler les paramètres testés .

Les améliorations suivantes ont été apportées aux expériences menées en 2017 :

- amélioration du dispositif et du plan expérimental *in situ*,
- amélioration de la méthode expérimentale mise en place pour induire le relargage sédimentaire proche des conditions naturelles (période d'anoxie).
- utilisation de la modélisation 0D pour estimer les valeurs de flux de relargage sédimentaire dans le cadre des expérimentations en conditions contrôlées.
- mise en place d'expérimentations complémentaires *in situ* et en laboratoire pour évaluer l'impact d'autres facteurs environnementaux sur le développement des algues (i.e. broutage).

2 Expérimentation *in situ*

2.1 Site d'étude

Afin d'évaluer la contribution du sédiment au développement des algues vertes, le CEVA a choisi de reconduire les expérimentations *in situ* sur la vasière du LEDANO (estuaire du Trieux, Côtes d'Armor). Cette vasière présente le double avantage d'être située dans une masse d'eau prioritaire dans le SDAGE 2016-2021 sur la problématique de la prolifération des algues vertes sur vasière et de se trouver à proximité du CEVA, ce qui permet une optimisation des coûts. Le site d'étude et la station d'expérimentation sont présentés Figure 1.



Figure 1 : Illustration de la vasière du Lédano (estuaire du Trieux, Côtes d'Armor) et localisation de la station d'expérimentation (cercle blanc)

Il a été choisi de conserver la même station d'expérimentation d'une part pour son accessibilité et d'autre part pour conserver des conditions environnementales comparables à l'étude menée en 2016 (temps d'émersion, bathymétrie...).

2.2 Matériel et méthode

2.2.1 Améliorations 2017

Sur la base des observations *in situ* et des résultats obtenus en 2016, des améliorations techniques ont été apportées au dispositif et au plan expérimental en 2017 afin de limiter l'impact d'autres facteurs environnementaux sur les résultats obtenus (Tableau 1).

Tableau 1 : Liste des améliorations 2017 établies sur la base des constats de 2016

Constat 2016	Amélioration 2017
Risque de perte de biomasse et présence d'hydrobies (brouetteurs) dans les cages	Installation de fermetures « velcro » sur les cages et d'une toile (maille 1mm) en fond des cages en contact avec le sédiment.
Fouling des cages à partir de mi-août.	Les cages sont retirées après 1 à 2 semaines d'expériences, nettoyées, stockées à terre et réinstallées pour la campagne suivante.
Milieu dégradé devant les cages.	Utilisation de planches de « bodyboard » plus rigides pour travailler autour des cages plutôt que les tapis souples utilisés en 2016.
Risque de dégradation des algues au bout de 15 jours	Diminution du temps d'expérience à 7 jours.
Pas de suivi en continu des paramètres environnementaux <i>in situ</i> .	Achat de sondes HOBO étanches mesurant la température et l'intensité lumineuse.

2.2.2 Dispositif expérimental

Il a été choisi de replacer sur le site d'étude un dispositif expérimental comparable à celui utilisé en 2016 en conservant les modalités suivantes (Figure 2):

- 3 cages à proximité du sédiment.
- 3 cages disposées en hauteur (environ 20 cm au-dessus du sédiment) pour éviter le contact avec le sédiment.

Les cages ont été installées alternativement et ont été codées de 1 à 3 avec la lettre H pour Haut et B pour Bas (Figure 2).



Figure 2 : Photo du dispositif expérimental sur le site d'étude.

Afin de suivre les variations de température et de luminosité dans les cages au cours de l'expérimentation, des sondes Hobo ont été suspendues à l'intérieur des cages à raison d'une par modalité. Une sonde supplémentaire a été placée à l'extérieur des cages dans le but de vérifier si les mesures effectuées dans les cages étaient cohérentes (Figure 3).



Figure 3 : Sondes Hobo installées soit à l'intérieur de la cage (photo à gauche) soit à l'extérieur (photo à droite)

2.2.3 Protocole expérimental *in situ*

Cette approche expérimentale a pour but d'utiliser les ulves comme intégrateurs des concentrations en nutriments dans l'environnement dans lequel elles évoluent (Barr 2007) pour évaluer la contribution sédimentaire à la biomasse créée.

Le protocole décrit ci-dessous respecte les mêmes consignes de manipulation sur le terrain et en laboratoire, que celles établies lors de l'expérimentation de 2016 (Annexe 1).

Pour débiter chaque série d'expérience de 7 jours, deux sorties terrain sur le site d'étude étaient planifiées le même jour pendant les heures de basse-mer.

La première sortie terrain consistait à prélever des ulves *in situ* pour la mise en place de l'expérience.

Les algues prélevées dans le milieu étaient triées, lavées, pressées à la main et pesées au laboratoire du CEVA de manière à obtenir 6 lots de 100 g (poids frais) d'ulves qui, lors de la **deuxième sortie terrain**, étaient disposés dans les cages pour initier l'expérience. Lors de cette deuxième sortie, les sondes Hobos sont également mises en place.

Les 6 lots d'ulves prélevés dans les cages à l'issue des 7 jours d'expérience étaient lavés, pressés à la main, pesés, lyophilisés et envoyés dans le laboratoire agréé pour la mesure de leurs contenus internes en azote et en phosphore (quotas azotés et phosphorés).

Dans le cas où des expériences débutaient à la suite d'une autre, la première sortie terrain permettait également l'échantillonnage T7 jours des ulves et la récupération des données enregistrées sur les sondes Hobos.

Ce cycle de prélèvement/renouvellement des lots d'ulves a été maintenu une ou deux fois par mois, de mai à septembre pour un total de 9 campagnes de prélèvement (Tableau 2).

En début et fin d'expérience, des ulves du milieu, à proximité du site d'étude, ont été prélevés et préparés pour l'analyse des quotas azotés et phosphorés. Cela permet de disposer des valeurs initiales de quotas internes des ulves utilisées pour l'expérimentation et aussi de vérifier, en fin d'expérimentation, qu'aucun biais n'est induit par le dispositif (algues disposées dans les enceintes au contact du sédiment et celles du milieu présentent une évolution de leurs quotas similaire). De plus, une fois par mois, deux échantillons supplémentaires d'ulves du milieu ont été prélevés de manière à évaluer la variabilité des quotas sur un même site (Tableau 2).

A l'issue de chaque campagne, des photos de l'ensemble du dispositif et de chaque cage en vue extérieure et intérieure étaient prises.

Tableau 2 : Calendrier des campagnes et des prélèvements d'ulves dans le milieu et dans les cages pour l'analyse des quotas azotés et phosphorés des ulves

Date	Campagne	Nb lots d'ulves prélevées dans le milieu	Nb lots d'ulves prélevées dans les cages	Nb total d'échantillons pour l'analyse des quotas azotés et phosphorés des ulves
27 avril		1		1
23 mai	Début campagne 1	3		3
30 mai	Fin campagne 1 Début campagne 2	1	6	7
6 juin	Fin campagne 2	3	6	9
21 juin	Début campagne 3	1		1
28 juin	Fin campagne 3 Début campagne 4	3	6	9
5 juillet	Fin campagne 4	1	6	7
18 juillet	Début campagne 5	3		3
25 juillet	Fin campagne 5	1	6	7
26 juillet	Début campagne 6			
2 août	Fin campagne 6	1	6	7
22 août	Début campagne 7	3		3
29 août	Fin campagne 7 Début campagne 8	1	6	7
5 septembre	Fin campagne 8	1	6	7
18 septembre	Début campagne 9	3		3
25 septembre	Fin campagne 9	1	6	7
Total				
9 campagnes du 23 mai au 25 septembre 2017		27	54	81

2.3 Résultats

2.3.1 Suivi de la biomasse algale

2.3.1.1 Comparaison avec les résultats de 2016

L'expérimentation *in situ* s'est déroulée entre le 23 mai et le 25 septembre 2017. Les proliférations d'algues vertes ont été précoces en 2017 sur la vasière du Lédano par rapport à 2016, année pour laquelle les ulves étaient très peu présentes en début de saison et sont apparues en quantités significatives au cours du mois de juillet.

La Figure 4 présente les biomasses d'ulves de chaque lot obtenues lors des 9 campagnes. Durant l'expérimentation, tous les lots d'ulves ont augmenté leur biomasse initiale définie à 100 g. Ce n'était pas le cas en 2016 : à la fin du mois d'août, de nombreux lots présentait de très faibles gains de biomasse voire des pertes de biomasses (dégradation). Ce constat avait été expliqué en partie par de fortes chaleurs et des dégradations du milieu observées également à l'extérieur des cages (zones blanches signe de putréfaction) et probablement par une durée de campagne trop longue. Les effets du broutage par les hydrobies et de l'ombrage dû au fouling des cages avaient aussi été avancés pour expliquer cette baisse de biomasse.

L'évolution saisonnière des biomasses algales dans les cages semble cohérente avec l'évolution mensuelle des couvertures algales estimées par interprétation des photos aériennes de la vasière du Lédano (Figure 5) acquises dans le cadre du programme RCO/RCS Loire-Bretagne. En effet, les gains de biomasse les plus importants sont relevés en fin mai et juin, période durant laquelle la vasière se couvre fortement pour obtenir le maximum apparent de couverture le 22 juin (Figure 4 et Figure 5). Cette concordance entre les plus forts taux de croissance relevés et le taux de couverture de la vasière, estimé par photo-interprétation était notée également en 2016 mais la date était plus tardive (fin juillet début août).

Tout lot d'ulves présentant un écart de biomasse avec la moyenne du triplicat a fait l'objet d'une analyse, notamment à partir des photos des cages prises à la fin de chaque campagne (Annexe 2). Aucun évènement important pouvant biaiser l'évolution de la biomasse algale n'a été détecté lors de l'expérimentation. Il a donc été décidé de conserver l'intégralité des données obtenues pour chaque lot et de prendre en compte les médianes des triplicats dans les analyses postérieures.

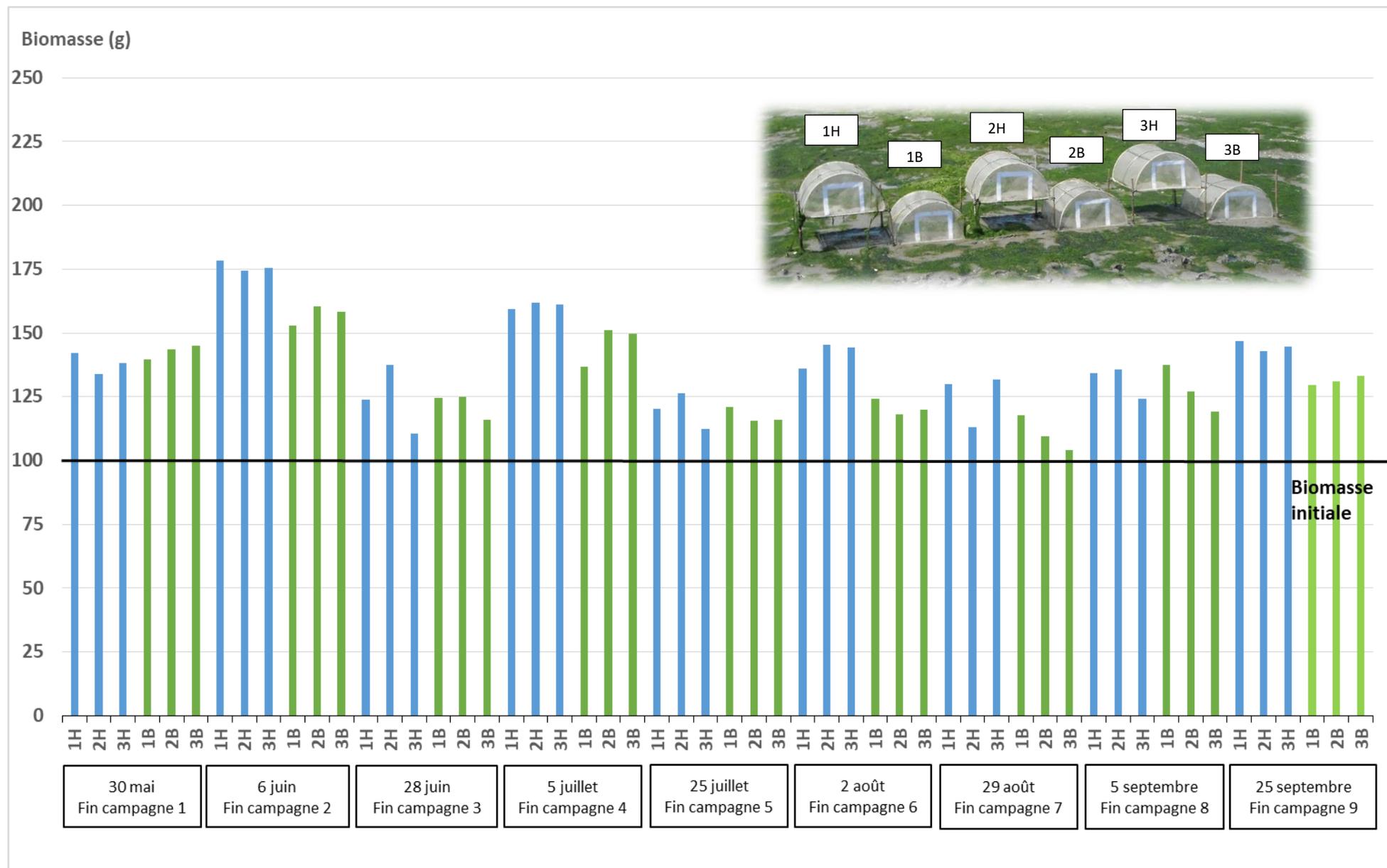


Figure 4 : Biomasse algale (poids frais) des lots H et B à la fin de chaque campagne de 7 jours de mai à septembre 2017.

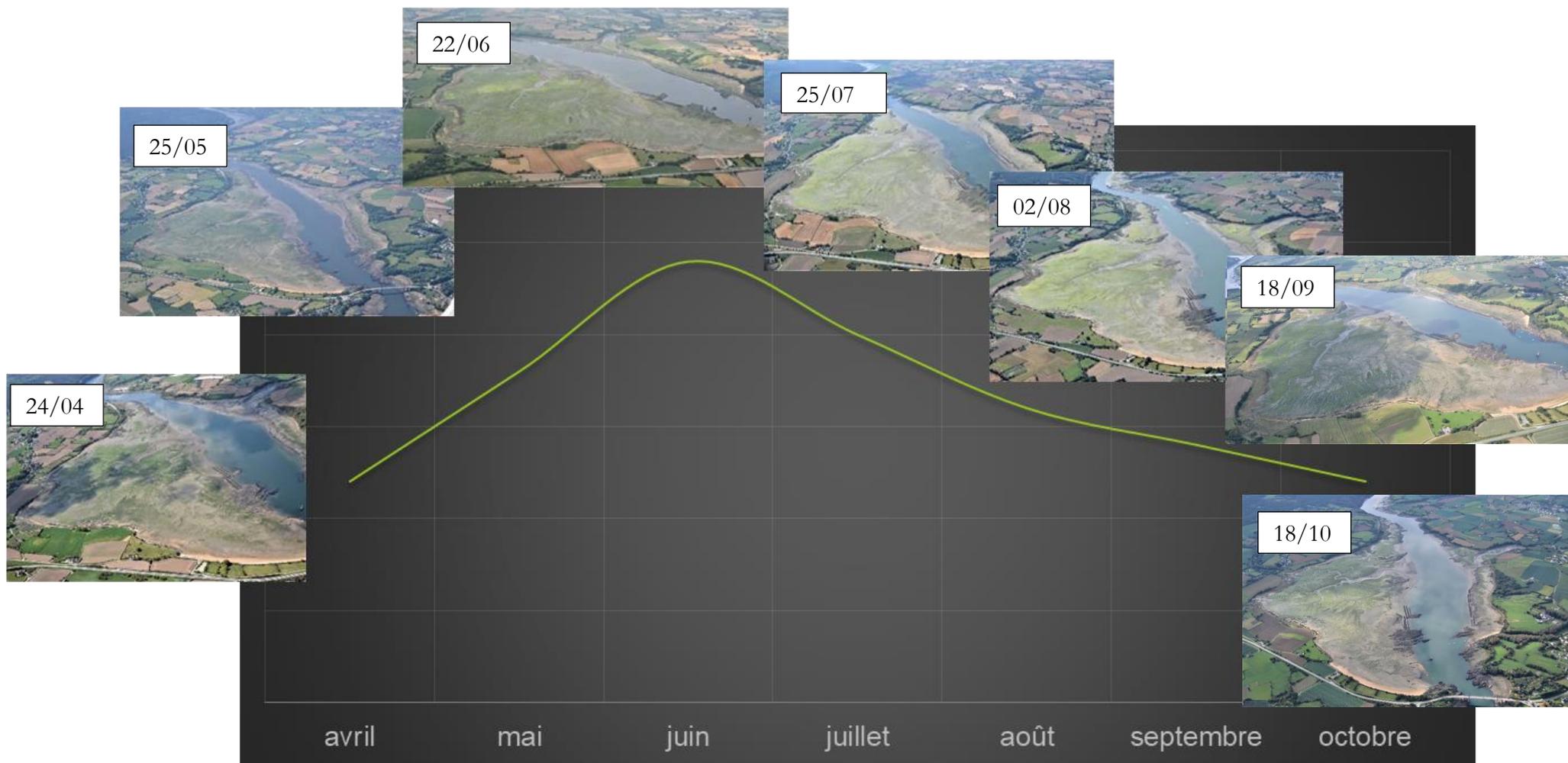


Figure 5 : Evolution mensuelle des couvertures algales en 2017 sur la vasière du Lédano (estimation visuelle)

Une première analyse a été effectuée sur l'ensemble des données de biomasses obtenues lors de l'expérimentation. Les données répondant à une loi normale, un test paramétrique (test de Student à 2 échantillons) a été utilisé selon l'hypothèse H_0 que les deux modalités H et B étaient égales. Le résultat du test illustré Tableau 3, indique une P value $< 0,05$ rejetant ainsi l'hypothèse H_0 . La croissance des lots H était de manière générale significativement plus importante que celle des lots B avec respectivement des moyennes de biomasse obtenue de 140,2 g et de 130,6 g.

Tableau 3: résultat du test de Student sur la comparaison des moyennes des biomasses des lots H et B lors des 9 campagnes

Campagne	Lot B			Lot H			P value
	N	Moyenne	Ecart-type	N	Moyenne	Ecart-type	
9	27	130,6	15,3	27	140,2	18,7	0,044

Afin d'identifier plus précisément ces différences entre les lots H et B, une comparaison des médianes des biomasses de ces deux lots a été testée par campagne. Le nombre d'échantillons étant réduit à 3, un test non paramétrique (Test de Mood) a été appliqué. Les résultats de ce test sont disponibles en Annexe 3 et sont représentés en Figure 6 illustrant les médianes et les premiers et troisièmes quartiles des biomasses de chaque triplicat d'ulves obtenues à chaque campagne.

Les résultats du test (Annexe 3 et Figure 6) indique que les lots H et B sont significativement différents (P value $< 0,05$) pour les campagnes 2 (du 30 mai au 6 juin), 4 (du 28 juin au 5 juillet), 6 (du 25 juillet au 2 août) et 9 (du 18 au 25 septembre) avec pour chacune une croissance des lots H supérieure aux lots B.

Les biomasses algales de chaque modalité « Haut » et « Bas » ont évolué de manière similaire au cours de la saison avec une croissance plus importante pour des campagnes avec des coefficients de marée en moyenne inférieurs à 75. Ce lien avec le phénomène de marée (marée haute en pleine journée lors des petits coefficients) est visible jusqu'à fin août pour les campagnes 2, 4 et 6 pour lesquelles des différences significatives de croissance entre les modalités H et B ont été observées (Annexe 3 et 4).

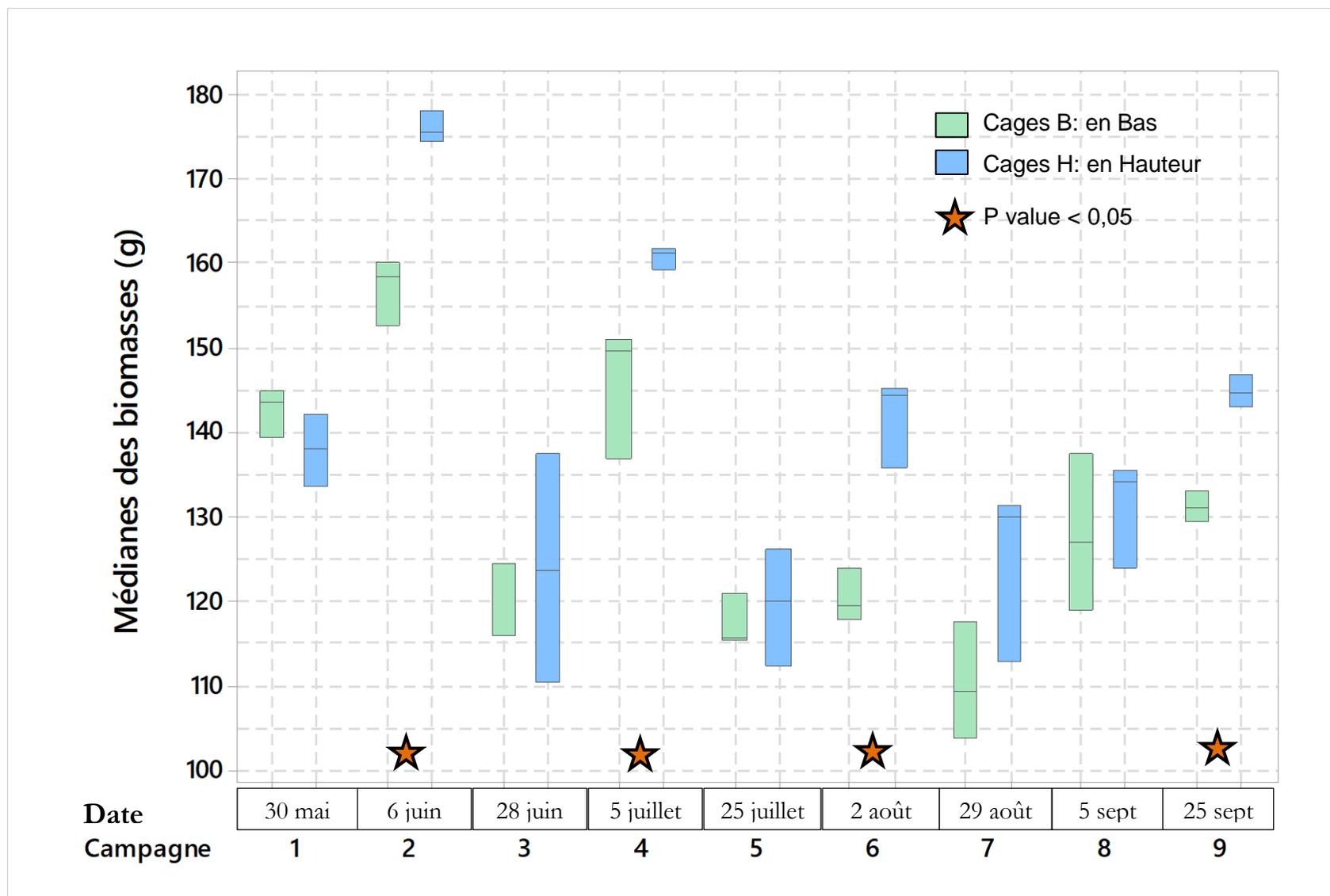


Figure 6 : Distribution des médianes (1er et 3ème quartile) des biomasses algales de chaque triplicat H et B lors des 9 campagnes

2.3.1.1 Analyse des données de température et d'intensité lumineuse

Toutes les données, enregistrées toutes les minutes par les sondes Hobo, ont été extraites à la fin de chaque campagne et placées dans une base de données commune. Chaque enregistrement contenait les champs « date », « heure », « température en °C » et « luminosité en lux ». Des champs supplémentaires ont été ajoutés à la base, tels que « code cage », « Emersion/Immersion » et « luminosité en $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ». Les périodes d'émersion ou d'immersion ont été ajoutées manuellement en fonction des hauteurs d'eau calculées pour le secteur de Lézardrieux selon des données disponibles en ligne (maree.info), le niveau de 7 mètres étant celui des cages (Annexe 4). L'intensité lumineuse était fournie par la sonde en lux et a été convertie en $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de manière à travailler sur les mêmes références qu'usuellement proposées dans la littérature scientifique.

Les données environnementales n'ont été acquises qu'à partir de la campagne 2, les sondes Hobo n'ayant pas été disponibles plus tôt.

Suite à un problème technique lors de l'acquisition des données de lumière à l'intérieur des cages, seules les données mesurées à l'extérieur seront présentées et discutées dans la suite de ce rapport. A titre indicatif, les mesures de lumière à l'intérieur des cages lors de la campagne 4 ont été reportées en Annexe 3.

Les données de température répondent à une loi normale, ainsi le test paramétrique « One-Way ANOVA » a été utilisé de manière à analyser les variances entre deux échantillons indépendants sous un seul facteur. Les graphiques associés au test sont inclus dans l'Annexe 3.

Les interprétations des tests et les moyennes calculées sur toutes les campagnes et selon certaines conditions sont résumées dans le Tableau 4. Sur l'ensemble des campagnes sans tenir compte de la condition d'émersion ou d'immersion, aucune différence significative de température n'a été observée entre les cages H et B. La température moyenne relevée de mai à septembre était de $18,55^{\circ}\text{C}$. La sonde HOB0 située à l'extérieure indiquait une température significativement inférieure à celles enregistrées dans les cages sur l'ensemble des campagnes et en situation d'émersion. Par contre, aucune variation de température n'est apparue lorsque les sondes étaient immergées.

Tableau 4 : Résultats et interprétations du test « One-Way ANOVA » effectué sur les données de température toutes campagnes confondues et selon certaines conditions (Emersion/Immersion)

Conditions	Jour/Nuit		
	Emersion+Immersion	Emersion	Immersion
Interprétations des tests	Ext < B = H	Ext < B = H	Ext = B = H
Moyenne température	$18,36 < 18,53 = 18,57$	$18,13 < 18,40 = 18,46$	$18,71 = 18,72 = 18,74$

La Figure 7 montre l'évolution de température au cours de la campagne 4 (du 29 juin au 5 juillet 2017) pour laquelle des différences significative de la croissance des lots d'ulves ont été observées

entre les modalités H et B. La température enregistrée selon les 3 modalités a évolué de façon homogène et cohérente avec les résultats statistiques décrits dans le Tableau 4.

Les données de température et de lumière seules ne permettent pas d'expliquer les différences de croissance entre les lots H et B. Cependant, ces paramètres sont à prendre en considération dans la compréhension des résultats de biomasse.

Des statistiques descriptives (moyennes, min, max) de la température effectuées par campagne, sont aussi disponibles en Annexe 3. La température mesurée dans le milieu a notamment augmenté de la campagne 2 à 7 (de 17,5 à 19,5 °C) et a diminué ensuite pour atteindre 17 °C à la campagne 9 (Figure 8).

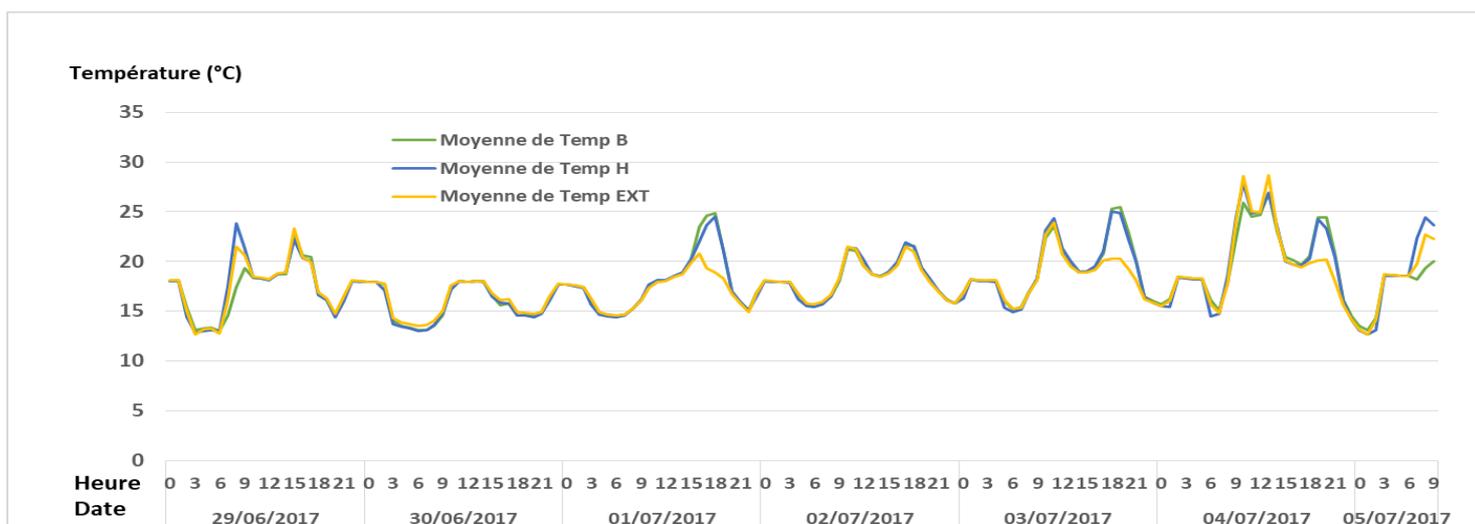


Figure 7 : Evolution de la température au cours de la campagne 4 (du 29 juin au 5 juillet 2017)

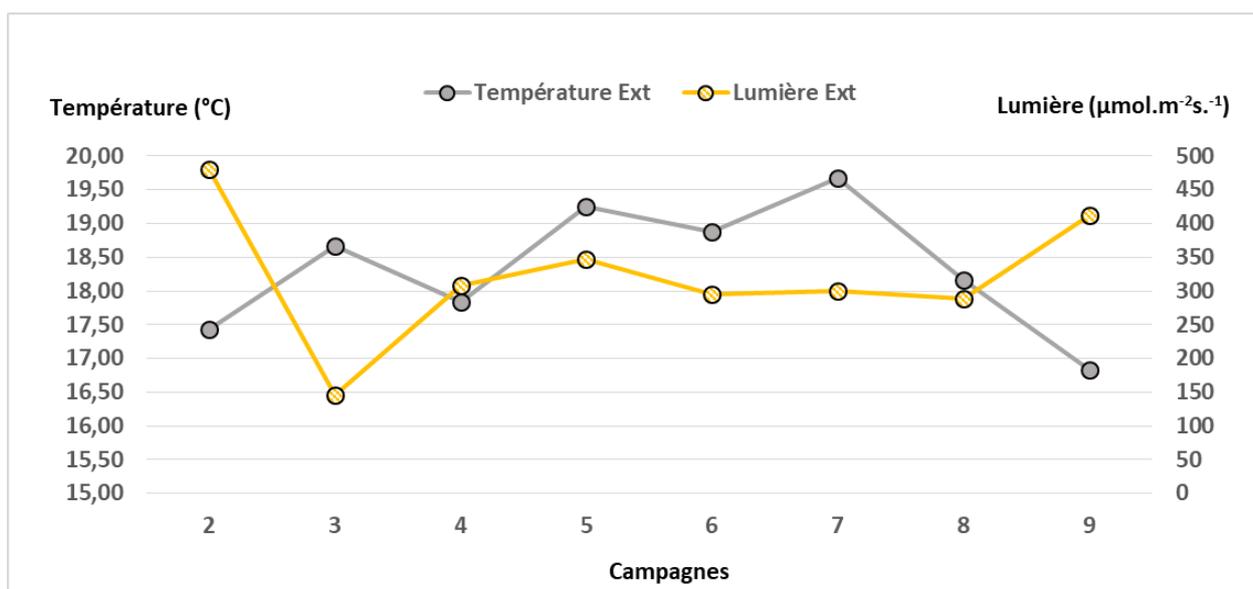


Figure 8 : Evolution des moyennes de température et de lumière enregistrées dans le milieu (Ext) lors de l'expérimentation *in situ* de la campagne 2 à 9.

2.3.2 Quotas azotés et phosphorés des algues

2.3.2.1 Evolution saisonnière des quotas azotés et phosphorés des lots d'algues

L'évolution saisonnière des **quotas azotés** (Figure 9) a montré que :

- Les quotas azotés des algues, élevés en début de saison, diminuaient au cours de l'été avec des plus faibles valeurs en fin juillet et augmentaient en fin de saison jusqu'à atteindre des valeurs proches de celles du début de saison.
- De fin juin à début septembre, les lots d'algues présentaient, pour la plupart, des quotas azotés légèrement en-dessous du seuil du quota critique (Q_{1N}), ce qui signifie que **durant cette période estivale, l'azote semblait être un élément nutritif limitant pour la croissance des algues**.
- Durant toute la saison, les quotas azotés des lots H et B ont dans l'ensemble suivi la même évolution que les quotas des algues prélevées dans le milieu. Même si les quotas azotés des lots d'ulves H et B ont été, de manière générale, plus élevés que ceux des algues du milieu, ces résultats montrent que le dispositif n'a pas apporté de biais important durant l'expérience. En particulier, **les algues présentes dans les cages en contact avec le sédiment semblent avoir eu des niveaux proches et une évolution similaire à celles situées dans la vasière**.
- Durant toute la saison, les niveaux des quotas azotés des lots d'ulves présents dans les cages en contact avec le sédiment ou surélevés sont proches excepté de fin août à début septembre (campagne 7 et 8), période durant laquelle les quotas sont plus éloignés.

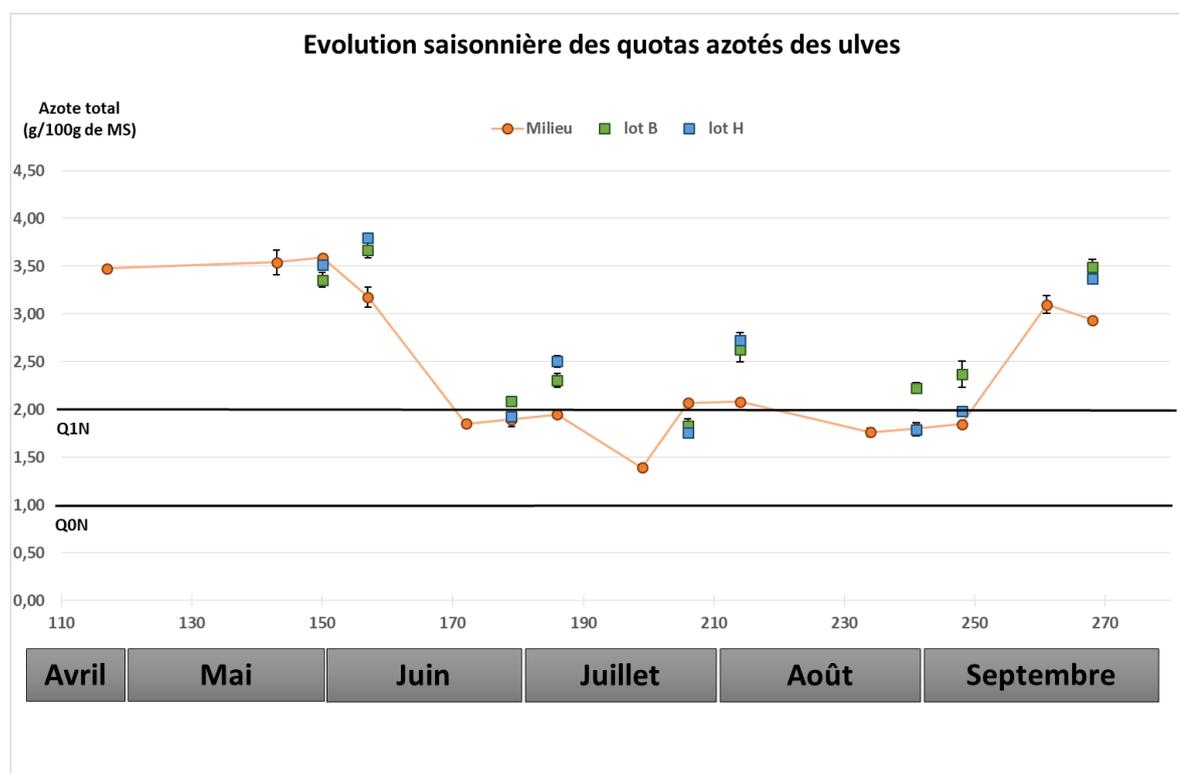


Figure 9 : Evolution saisonnière des quotas azotés des ulves du milieu et des lots H et B

L'évolution saisonnière des quotas phosphorés (Figure 10) a montré que :

- Les quotas phosphorés de tous les lots d'algues, faibles en début de saison (mai/juin) ont augmenté progressivement au cours de la saison après une phase de fin mai à fin juin de diminution (en lien avec la croissance soutenue).
- Les teneurs en phosphore de tous les lots d'algues étaient au-dessus du seuil du quota critique (Q_1P) excepté fin avril pour les algues du milieu et fin juin date pour laquelle les quotas ont été à la limite de ce seuil pour les lots B et en dessous pour les algues du milieu et les lots H. **Le phosphore a donc été ponctuellement limitant à ces périodes pour la croissance des algues.**
- Durant toute la saison, les quotas phosphorés des lots H et B ont, dans l'ensemble, suivi la même évolution que les quotas des algues prélevées dans le milieu. Cela confirme que le dispositif n'a pas apporté de biais important lors de l'expérimentation.
- Les quotas phosphorés des lots H et B, proches en début de saison (campagne 1 à 4), présentaient des écarts plus importants à partir de juillet et jusqu'à la fin de l'expérience avec des quotas plus faibles pour les lots H (campagne 5 à 9).

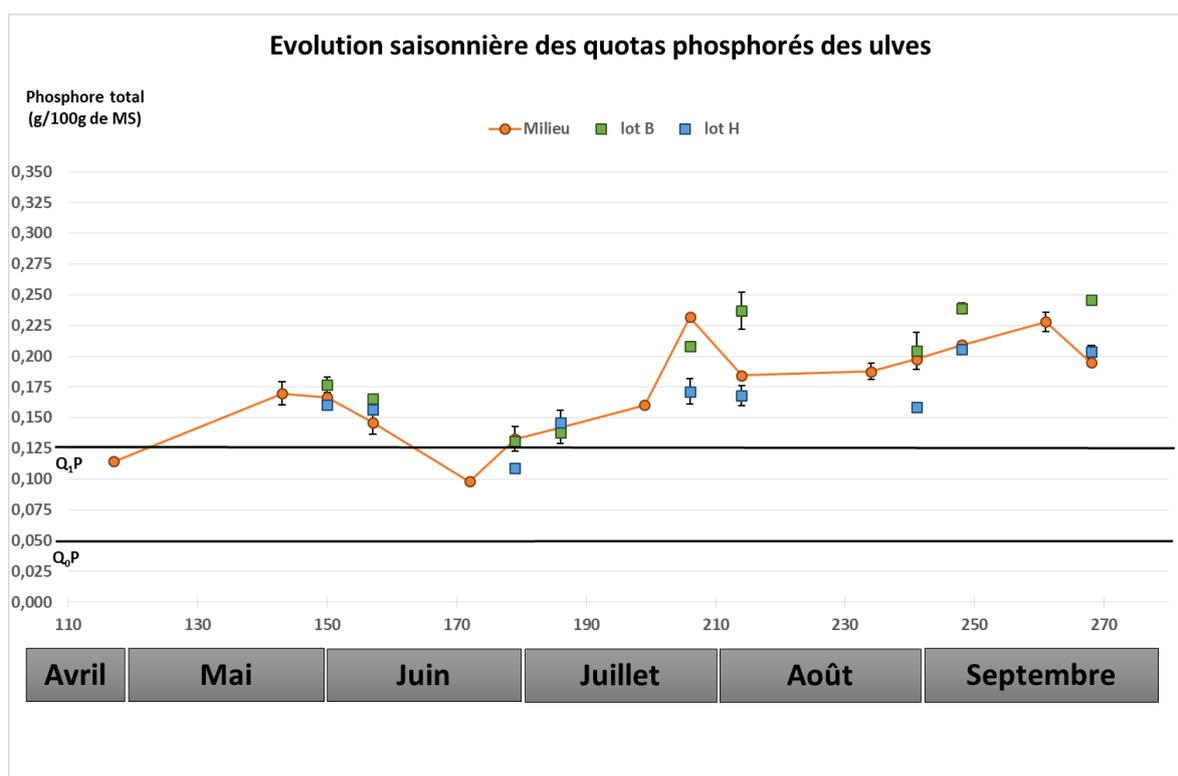


Figure 10 : Evolution saisonnière des quotas phosphorés des ulves du milieu et des lots H et B

2.3.2.2 Analyse détaillée des quotas azotés et phosphorés des algues

- **Calcul d'indice de fixation des nutriments par les algues**

L'utilisation des algues comme indicatrices des apports de nutriments par le sédiment repose sur l'analyse de la fixation des nutriments par les lots en contact avec le sédiment comparée à celle des lots plus écartés du sédiment. A partir des données de quotas et de biomasse algale en début et fin de

campagne, la quantité de nutriments assimilés par les ulves au bout de 7 jours, qui sera nommé N fixé ou P fixé dans le rapport, a été calculée pour chaque lot d'ulves et chaque campagne. L'équation suivante permet de calculer l'indice de fixation de l'azote (N):

$$N \text{ fixé} = \% \text{ QN} (T_{\text{final}}) * P \text{ sec} (T_{\text{final}}) - \% \text{ QN} (T_{\text{initial}}) * P \text{ sec} (T_{\text{initial}})$$

Avec « % QN » : pourcentage d'azote sur la Matière Sèche des ulves et « P sec » : poids sec du lot d'algues en début (T_{initial}) et fin de campagne (T_{final}).

Ces indices de fixation permettent de comparer le bilan nutritionnel des lots d'algues en fonction des modalités. Un effet positif de la proximité du sédiment pourra être avancé pour les valeurs d'indices N/P fixé des lots B > aux lots H.

Des analyses statistiques ont été réalisées sur l'ensemble des jeux de données. Une synthèse des résultats est présentée Tableau 5.

Les quotas et les quantités de nutriments fixées pour chaque modalité étaient **(1)** similaires pour l'azote et **(2)** significativement différents pour le phosphore avec des valeurs inférieures pour les lots H par rapport aux lots B.

Le constat **(1)** indique que sur l'ensemble des campagnes, la source d'azote sédimentaire ne semblait pas prépondérante probablement du fait de concentrations en nitrate suffisantes dans la colonne d'eau. Toutefois, lors des campagnes 7 et 8 (du 22 août au 5 septembre 2017), les tests statistiques ont mis en évidence l'effet positif de la proximité avec le sédiment étant donné que pour une croissance similaire entre les deux lots H et B, les quotas et donc les quantités en azote fixées des lots H étaient significativement inférieurs à ceux des lots B. On note que les quotas azotés des lots H étaient respectivement inférieurs et égaux au seuil critique (Q_1N), pour les campagnes 7 et 8. **L'azote a donc été ponctuellement un facteur limitant pour la croissance des lots H. Ainsi, lorsque la concentration en nitrate dans la masse d'eau est basse (période d'étiage, surtout en 2017, année de flux bas) l'apport sédimentaire de ce nutriment devient perceptible pour les cages « en contact avec le sédiment » par rapport aux cages légèrement écartées du sédiment.**

Le constat **(2)** indique que sur l'ensemble des campagnes et particulièrement de la campagne 5 à la campagne 9, un effet du sédiment en tant que pourvoyeur de phosphore est décelable entre les deux modalités avec des quotas et des quantités en phosphore fixées des lots B supérieurs aux lots H. De la campagne 1 à la campagne 4, on ne relève pas de différence significative entre les deux modalités ce qui signifie alors qu'aucun effet de la proximité du sédiment dans l'apport de phosphore n'a été perceptible par notre dispositif à cette période de l'année. Dans la mesure où les niveaux de quotas et les quantités en phosphore fixés des lots d'ulves H et B étaient faibles lors des campagnes 1 à 4 et ensuite plus importants lors des campagnes suivantes (Tableau 5), **il semble donc que cela indique un relargage sédimentaire en phosphore peu actif en début de saison.**

Tableau 5 : Résultats et interprétations des tests statistiques réalisés selon certaines périodes sur les données de quotas azotés et phosphorés des ulves de modalité H et B (médiane et 1^{er} et 3^{ème} quartiles).

Campagne	Médiane	lots H	Lots B	Quartile 1		Quartile 3		Test de Mood (non paramétrique)	
				lots H	Lots B	lots H	Lots B	Valeur de P	Interprétation
1 à 9	QN	2,51	2,46	1,86	2,16	3,45	3,43	0,467	H = B
	Nfixé	0,186	0,193	0,141	0,159	0,256	0,24	0,785	H = B
	QP	0,161	0,2	0,15	0,15	0,19	0,24	0,004	H < B
	Pfixé	0,008	0,011	0,007	0,011	0,0121	0,0125	0,014	H < B
1 à 6 et 9	QN	2,71	2,55	2,27	2,2	3,42	3,41	0,758	H = B
	Nfixé	0,219	0,189	0,17	0,15	0,316	0,246	0,355	H = B
7 et 8	QN	1,89	2,33	1,77	2,21	1,98	2,84	0,001	H < B
	Nfixé	0,13	0,2	0,09	0,15	0,15	0,27	0,021	H < B
1 à 4	QP	0,151	0,155	0,119	0,132	0,158	0,169	1	H = B
	Pfixé	0,0116	0,0117	0,007	0,011	0,018	0,012	1	H = B
5 à 9	QP	0,177	0,235	0,161	0,208	0,202	0,245	0	H < B
	Pfixé	6,88	11,64	-0,53	9,99	8,45	14,92	0,001	H < B

3 Expérimentation en conditions contrôlées

En 2016 des expériences en laboratoire ont été mises en place en complément des expériences de terrain pour pouvoir contrôler certaines variables environnementales (i.e. température, lumière) et ainsi mieux comprendre les processus biogéochimiques d'intérêt.

Comme en 2016, le sédiment et les algues utilisés pour cette expérience, ont été prélevés à proximité de la station d'expérimentation de la vasière du Lédano, l'objectif étant de mieux compléter les résultats obtenus *in situ*.

3.1 Matériel et méthode

Suite aux expériences de 2016, des modifications ont été apportées pour la mise en place des expériences de 2017 comme l'utilisation d'eau de mer filtrée, l'utilisation de toiles « barrière » contre les hydrobies et une période d'incubation réduite à 5 jours. Des phases d'anoxie sont également intégrées au protocole afin d'induire le relargage sédimentaire observé dans le milieu naturel.

3.1.1 Dispositif expérimental

En 2016, toutes les modalités comportaient du bullage en continu, empêchant la survenue d'anoxie dans les bacs. Sachant que dans le milieu naturel, les flux de nutriments, notamment de phosphore, provenant du sédiment sont favorisés par les épisodes naturels d'anoxie (respiration algale, colmatage du sédiment par la biomasse algale, décomposition de la matière organique,...), le CEVA a proposé en 2017 d'introduire des phases d'anoxie selon les modalités suivantes (Figure 11) :

- 3 bacs contenant du sédiment (5 cm), des ulves et de l'eau de mer filtrée avec un bullage continu, codés VSA1, VSA2 et VSA3 (Vase Sans Anoxie),
- 3 bacs contenant du sédiment (5 cm), des ulves et de l'eau de mer filtrée avec un arrêt du bullage pendant la phase nocturne, codés VA1, VA2 et VA3 (Vase avec Anoxie),
- 3 bacs sans sédiment, avec des ulves et de l'eau de mer filtrée avec un arrêt du bullage pendant la phase nocturne, codés SVA1, SVA2, SVA3 (Sans Vase avec Anoxie).

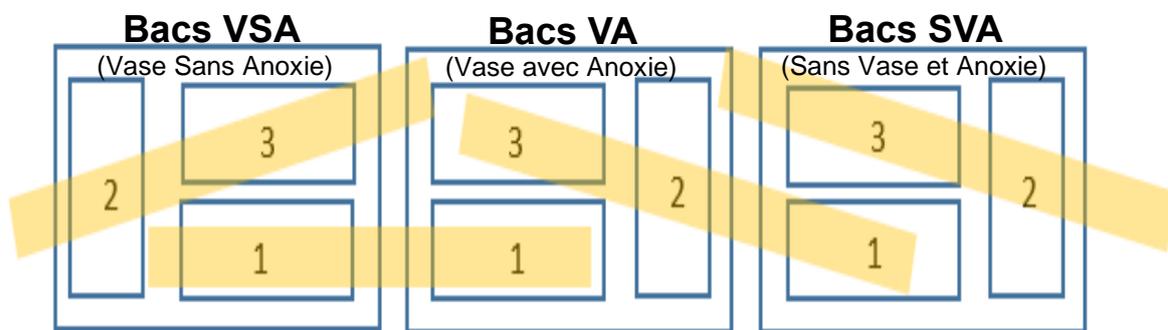


Figure 11 : Photo et schéma du dispositif expérimental réalisé au CEVA

Un bullage modéré a été appliqué dans chaque bac pour maintenir les algues en suspension et permettre les échanges gazeux. Un arrêt du bullage a été programmé lors de chaque cycle de nuit de manière à permettre une éventuelle anoxie dans les bacs concernés par cette condition (VA et SVA).

Pour éviter le broutage des algues par les hydrobiees présentes dans la vase, des toiles à mailles fines (1 mm de côté), ont été utilisées de nouveau en 2017 et placées entre la couche de vase et les algues.

Chaque triplicat est placé dans un grand bac contenant de l'eau dont la température est maintenue à 19°C grâce à un groupe froid.

Quatre néons (Philips Master TLD 58W/840) suspendus (Figure 11), étaient reliés à un programmeur permettant d'assurer un cycle jour/nuit, 16h : 8h. Ces néons assuraient une intensité lumineuse près de 3000 lux (soit $40 \mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) valeur critique pour la croissance de l'ulve (Parker 1981; in Pagand, 1999).

3.1.2 Protocole expérimental

Ce dispositif expérimental a été utilisé pour trois expériences de 5 jours. Le sédiment, prélevé près du site d'étude *in situ*, est conservé dans les 6 bacs pendant les 15 jours d'expérience. Un prélèvement de vase a été effectué de manière à caractériser le sédiment en début d'expérimentation (granulométrie, teneur en azote et phosphore, matière organique). L'échantillonnage a été réalisé sur les 5 premiers cm du sédiment de manière à analyser la même épaisseur de sédiment que celle utilisée dans l'expérimentation. Dans le programme DIETE d'Ifremer de 2016, cette épaisseur était également choisie dans leur protocole d'échantillonnage (comm. pers. P. Souchu). Deux prélèvements de vase,

à raison d'un prélèvement par modalité, ont été réalisés aléatoirement dans les bacs en fin d'expérience pour caractériser l'évolution du sédiment.

Les algues, prélevées près du site d'étude *in situ*, ont été lavées, pressées à la main et pesées afin d'obtenir en début de chaque expérience, 16 g d'ulves en poids frais dans chaque bac. La densité d'1 g d'algues par litre d'eau a été choisie pour permettre une croissance optimale des algues. Toutefois, de manière à obtenir le même niveau d'eau de mer dans tous les bacs, les bacs avec du sédiment ne contenaient que 12 l d'eau de mer au lieu de 16 l pour les bacs sans sédiment. Des échantillons d'algues ont été prélevés en début d'expérience pour l'analyse des teneurs initiales en azote et phosphore. A la fin de chaque expérience de 5 jours, l'intégralité des algues a été prélevée dans chaque bac pour la mesure des biomasses et des contenus internes en azote et en phosphore.

Des prélèvements d'eau (pour le dosage des nitrates, de l'ammonium et des orthophosphates dissous) ont été effectués à T0, T3 et T5 jours. Pour éviter le développement de microorganismes, de l'eau de mer filtrée à 0,22 µm a été utilisée. Afin d'identifier un éventuel flux sédimentaire vers la colonne d'eau en l'absence de biomasse algale, la première expérience n'a débuté qu'au bout de 24 heures et les prélèvements d'eau ont été réalisés juste avant l'introduction des algues dans les bacs. Tous ces prélèvements d'eau ont été filtrés à 0,22 µm avant analyse de manière à ne doser que les nutriments dissous.

L'ensemble des prélèvements destinés aux analyses est résumé dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Plan d'échantillonnage et analyses pour les expériences en laboratoire

Type de prélèvement	Expérience 1			Expérience 2			Expérience 3			Nombre d'échantillons analysés
	T0	T3	T5	T0	T3	T5	T0	T3	T5	
Prélèvement du sédiment pour analyse	1								2	3
Prélèvement des algues pour analyse	3		9	3		9	3		9	40
Prélèvement d'eau pour analyse	9*	9	9	0	9	9	9	9	9	72

* : Les prélèvements d'eau ont été effectués 24 heures après avoir rempli les bacs d'eau de mer filtrée et avant d'ajouter les algues dans les bacs.

Tous ces échantillons ont été conditionnés et envoyés à un laboratoire extérieur agréé pour analyse selon un protocole décrit en Annexe 5.

3.2 Résultats

3.2.1 Evolution de la biomasse

A chaque début d'expérience, 16 g d'ulves ont été introduits dans les 9 bacs. La Figure 12 présente les résultats de biomasse obtenue pour chaque lot d'ulves à la fin des trois expériences réalisées de façon consécutive du 16 juin au 6 juillet 2017. Les mesures individuelles sont présentées pour mettre en évidence la réplicabilité des résultats. Par la suite seules les moyennes seront présentées.

Les résultats étant homogènes, les analyses suivantes ont été effectuées sur les médianes des biomasses obtenues pour chaque lot d'ulves (Figure 13).

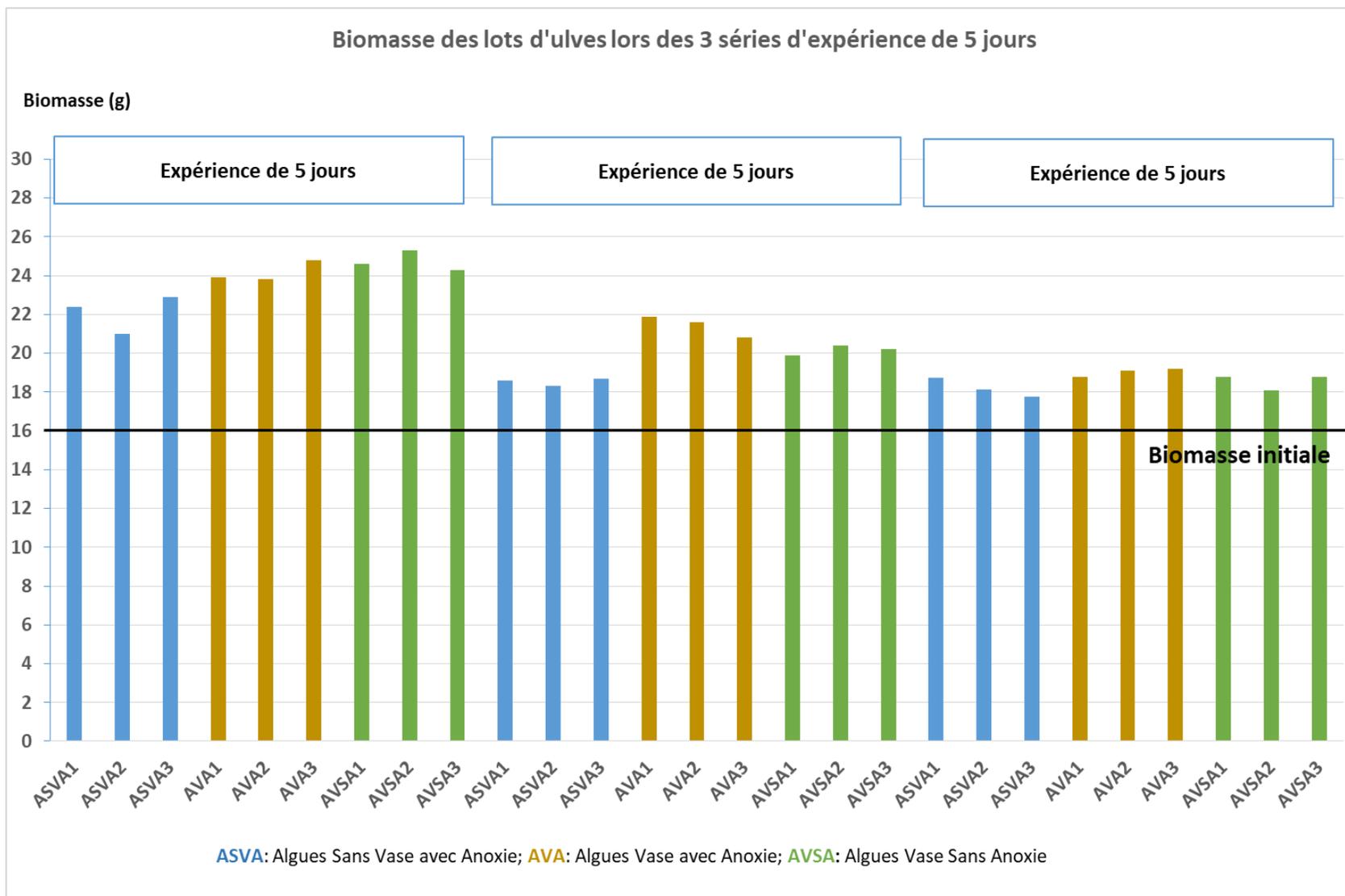


Figure 12 : Biomasse des lots d'ulves obtenues lors des 3 séries d'expérience de 5 jours

L'analyse de la Figure 13 et les résultats statistiques montrent que :

- La biomasse obtenue au bout de 5 jours pour chaque triplicat est supérieure à la biomasse initiale mais l'accroissement des biomasses diminue avec le temps pour les trois modalités. **Les conditions au cours de ces 3 expériences semblent être de moins en moins favorables à la croissance des ulves.**
- Pour les 3 séries d'expériences, les lots d'ulves présents dans les bacs contenant du sédiment (excepté les lots AVSA de l'expérience 3) ont eu une croissance significativement plus importante que les lots d'ulves présents dans les bacs sans sédiment.
- Lors des expériences 2 et 3, la croissance des lots AVA étaient significativement plus importante que celle des lots AVSA.

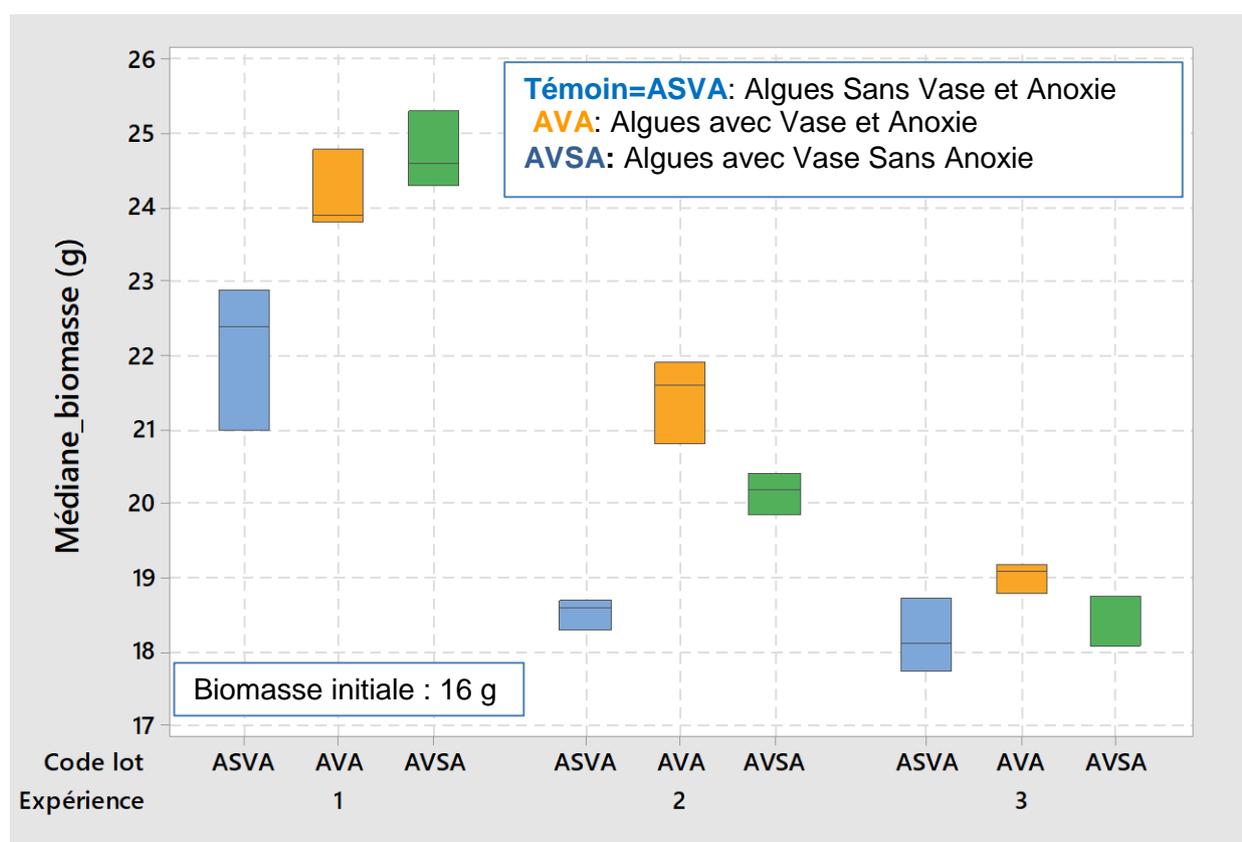


Figure 13 : Distribution des médianes (1er et 3ème quartile) des biomasses algales de chaque triplicat ASVA (Algues Sans Vase et Anoxie), AVA (Algues avec Vase et Anoxie) et AVSA (Algues avec Vase Sans Anoxie) lors des 3 expériences de 5 jours.

3.2.2 Analyses des algues, de l'eau et de la vase

3.2.2.1 Quotas azotés et phosphorés des algues

A partir des résultats de biomasse obtenue pour chaque lot au bout de 5 jours et de leurs contenus internes en azote et en phosphore, des indices de fixation de ces nutriments par les algues ont été calculés pour chaque lot (Figure 14).

Les résultats montrent que :

- **Pour l'azote :**

- A la fin de chaque expérience, les niveaux de quotas azotés étaient inférieurs au seuil critique (Q_1N) de 2% de Matière Sèche. A noter que les quotas azotés initiaux des Algues du Milieu (AM) n'étaient pas élevés au début de chaque série d'expérience (moyenne de 2,15 % de MS), confirmant les niveaux de quotas azotés des algues mesurés à partir de mi-juin dans le cadre des expériences *in situ* (Figure 9).
- Pour les expériences 1 et 2, les quotas azotés et les quantités d'azote fixées des lots d'ulves « Vase et Anoxie » étaient significativement supérieurs à ceux des lots d'ulves « Sans Vase et Anoxie ». De plus la quantité d'azote fixée des lots « Vase et Anoxie » apparaissait significativement supérieure aux lots d'ulves « Vase Sans Anoxie » pour l'expérience 1 et supérieure pour l'expérience 2.

- **Pour le phosphore :**

- A la fin de chaque expérience, les niveaux de quotas phosphorés de l'ensemble des lots d'ulves étaient inférieurs au seuil critique (Q_1P) de 0,125 % de Matière Sèche. A noter que les quotas phosphorés initiaux des Algues du Milieu (AM) n'étaient pas élevés au début de chaque série d'expérience (moyenne de 0,130 % de MS), comme déjà noté dans les expérimentations *in situ* à partir de mi-juin (Figure 10).
- Pour l'expérience 2, les quotas phosphorés et les quantités de phosphore fixées par les d'ulves en condition « Vase et Anoxie » étaient significativement supérieurs aux lots d'ulves en condition « Sans Vase et Anoxie. De plus les quotas et les quantités en phosphore fixées des lots « Vase et Anoxie » était significativement supérieurs aux lots d'ulves « Vase Sans Anoxie » pour les expériences 1 et 2.
- **Pour l'expérience 3**, aucune différence significative n'a été observée entre les modalités « Vase et Anoxie » et « Sans Vase et Anoxie » et entre les modalités « Vase et Anoxie » et « Vase Sans Anoxie » aussi bien au niveau des teneurs internes en azote et phosphore que des quantités fixées. Les quotas initiaux des lots d'Algues du Milieu étant au début de l'expérience proches ou inférieurs au seuil critique (Q_1N et Q_1P) et l'eau de mer n'étant pas enrichie en nutriments lors des expériences, cela constituait des conditions non optimales pour l'absorption des nutriments et la croissance des ulves pour les 3 modalités.

3.2.2.1 Dosage de l'eau de mer filtrée

Des dosages en ammonium, nitrate et orthophosphate ont été effectués à T0, T3 et T5 jours. Les résultats sont présentés dans le Tableau 7.

Les résultats suggèrent que :

- L'ammonium a été l'élément chimique dont les concentrations étaient les plus élevées et les plus variables au sein de chaque triplicat et entre les triplicats. Ces fortes variations sont probablement dus (1) à l'activité microbienne présente dans le sédiment ou dans le milieu sans sédiment, dans ce cas apportée par l'introduction des ulves en début d'expérience, (2) à l'absorption de ce nutriment par les algues et (3) au captage/relargage de ce nutriment par le sédiment.

- Pour l'expérience 1, les concentrations en ammonium et en nitrate étaient plus élevées à T0 dans les bacs contenant du sédiment (VA et VSA) que sans sédiment (SVA). Bien que les prélèvements d'eau aient été réalisés 24 heures après avoir rempli d'eau les bacs, les teneurs en ammonium et en nitrate mesurées dans les bacs sans vase (SV) correspondent a priori aux valeurs initiales de l'eau de mer préparée pour les 3 expériences. Celles, plus élevées, mesurées dans les bacs avec du sédiment ont mis en évidence un relargage sédimentaire de ces deux éléments nutritifs.

A partir du 3^{ème} jour de l'expérience 1 et jusqu'à la fin de l'expérience 3, les teneurs en nitrate et en orthophosphate étaient généralement en limite de détection (0,1 µmol/l) pour les 3 modalités indiquant (1) une eau de mer constamment pauvre en nitrate et en orthophosphate durant les 3 expériences et (2) aucun effet visible du sédiment dans l'enrichissement de la colonne d'eau ; l'apport potentiel de ces deux nutriments seraient probablement rapidement absorbés par les algues.

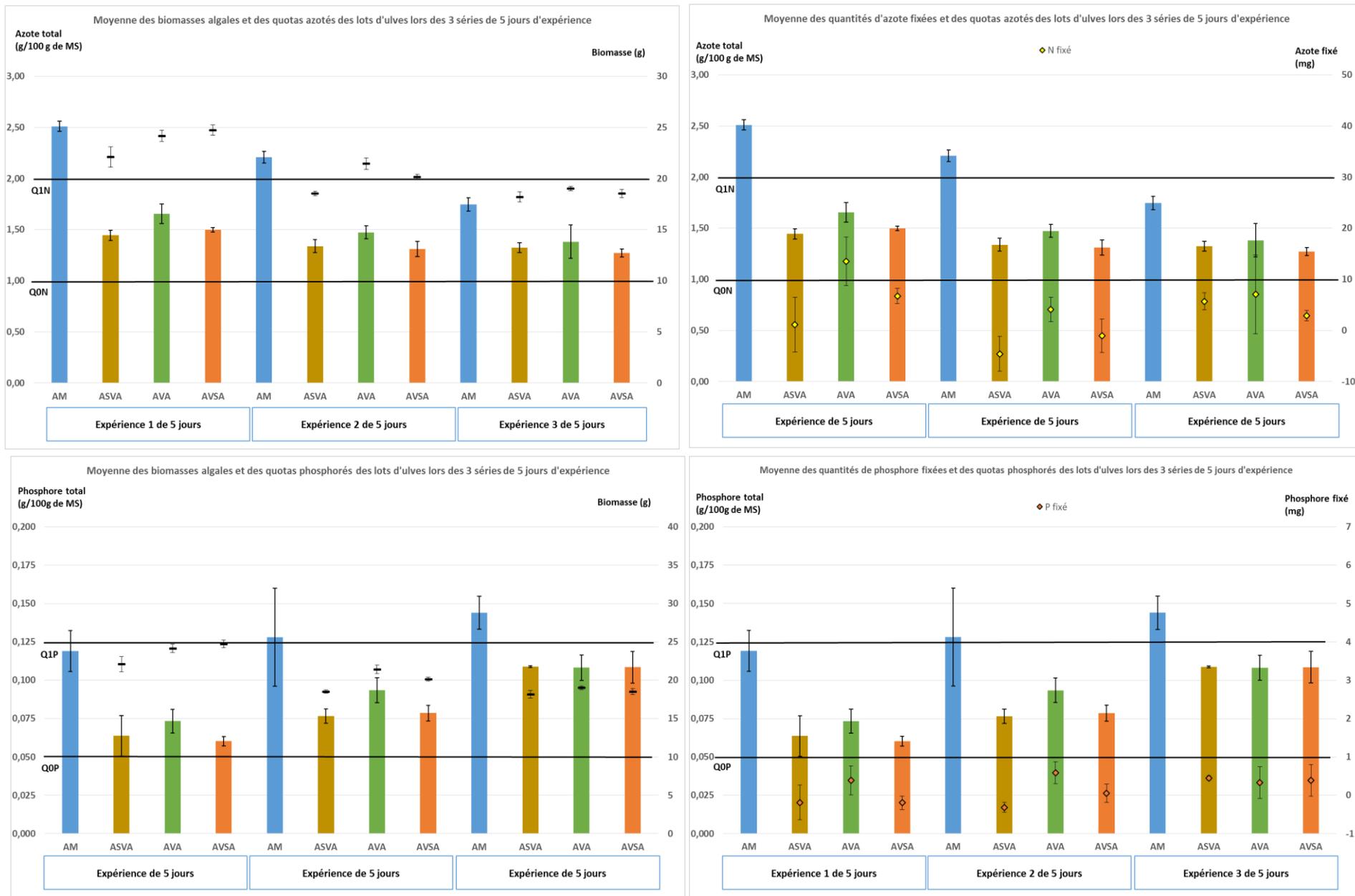


Figure 14 : Moyenne des biomasses algales et des quotas azotés (en haut à gauche) et phosphorés (en bas à gauche) des lots d'ulves, moyenne des quotas azotés (en haut à droite) et phosphorés (en bas à droite) et moyenne des quantités d'azote ou de phosphore fixées par les algues à l'issue des 3 expériences de 5 jours (du 16 juin au 6 juillet 2017)

Tableau 7 : Dosages des échantillons d'eau de mer (ammonium, nitrate et orthophosphate) prélevés à T0, T3 et T5 jours lors des 3 expériences. Les cases grisées correspondent au seuil de détection.

Expérience	Lot	Ammonium NH ₄ ⁺ (µmol/l)			Nitrates NO ₃ ⁻ (µmol/l)			Orthophosphates PO ₄ ³⁻ (µmol/l)		
		T0 *	T3	T5	T0 *	T3	T5	T0 *	T3	T5
Exp 1	SVA	0,74 ± 0,57	0,47 ± 0,47	2,97 ± 4,27	0,1	0,1	0,1	0,18 ± 0,14	0,14 ± 0,06	0,14 ± 0,06
	VA	8,35 ± 12,69	5,70 ± 1,47	1,41 ± 1,2	0,35 ± 0,43	0,16 ± 0,11	0,1	0,1	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01
	VSA	6,23 ± 1,24	2,17 ± 0,85	4,67 ± 1,2	0,88 ± 0,75	0,1	0,1	0,17 ± 0,12	0,1	0,13 ± 0,04
Exp 2	SVA	--	2,83 ± 0,96	2,18 ± 1,54	--	0,1	0,1	--	0,14 ± 0,03	0,14 ± 0,07
	VA	--	0,61 ± 0,41	1,70 ± 1,10	--	0,1	0,1	--	0,10 ± 0,01	0,1
	VSA	--	0,84 ± 0,23	1,62 ± 1,81	--	0,1	0,1	--	0,10 ± 0,01	0,1
Exp 3	SVA	2,63 ± 1,30	2,88 ± 3,41	2,97 ± 1,75	0,1	0,1	1,37 ± 2,19	0,26 ± 0,28	0,14 ± 0,07	0,1
	VA	5,47 ± 2,11	0,92 ± 1,19	3,12 ± 3,18	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,33 ± 0,4
	VSA	1,67 ± 0,7	1,54 ± 2,22	1,12 ± 0,52	0,1	0,1	0,1	0,15 ± 0,05	0,13 ± 0,03	0,11 ± 0,01

3.2.2.2 Dosage de la vase

Un échantillon de vase a été prélevé et analysé de manière à caractériser le sédiment en début d'expérience. Au bout des 3 expériences, deux prélèvements de vase ont été réalisés dans les bacs contenant du sédiment : 1 pour la modalité « avec Anoxie » et 1 pour la modalité « Sans Anoxie ». Les données granulométriques de ces échantillons sont consultables en Annexe 6. Les résultats des contenus azotés et phosphorés de ces 3 échantillons sont présentés en Figure 15.

Les résultats semblent montrer :

- une légère diminution des contenus azotés par rapport à la valeur initiale, plus marquée pour la modalité avec anoxie.
- une légère diminution des contenus phosphorés par rapport au contenu initial mais aucune différence n'est détectée entre les deux modalités avec ou sans anoxie.
- des contenus azotés et phosphorés de la vase encore élevés au bout de 15 jours d'expérimentation.

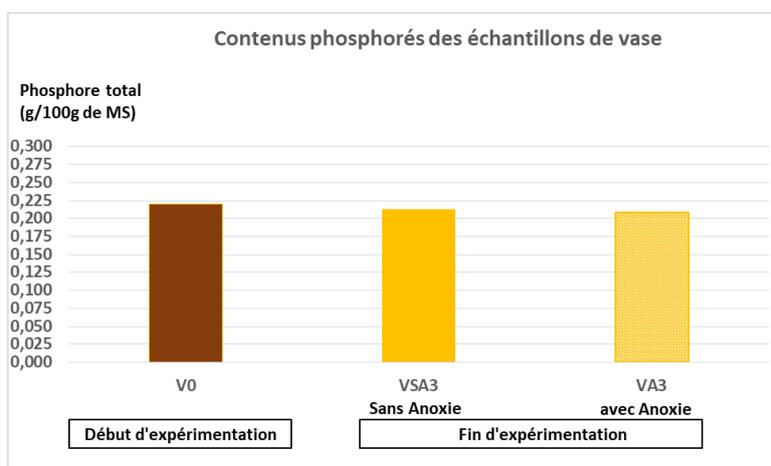
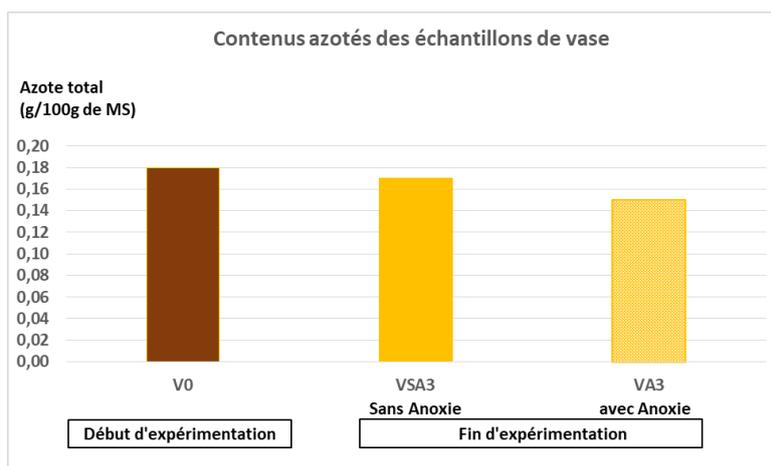


Figure 15 : Contenus azotés et phosphorés des échantillons de vase prélevée initialement (V0) et en fin d'expérimentation dans le bac 3 de la modalité Vase Sans Anoxie (VSA3) et dans le bac 3 de la modalité Vase et Anoxie (VA3).

4 Estimation du flux sédimentaire et du fonctionnement écophysologique de l'algue en conditions contrôlées au moyen du modèle 0D

4.1 Présentation du modèle 0D

L'objectif initial du modèle 0D est de simuler les principaux processus bio-physico-chimiques intervenant dans la croissance de l'ulve et de les confronter directement aux résultats des mesures (teneurs en sels nutritifs dans la colonne d'eau, croissance et biomasse algale, quotas N&P des algues). La mise en place d'un modèle 0D représente une étape importante pour valider, à très petite échelle et dans des conditions environnementales maîtrisées, le bon fonctionnement du nouveau module biologique avant de procéder à son implantation à plus grande échelle (exemple du modèle de production *Pylaiella* testé en 0D puis implanté en baie de Fresnaye). En outre, le modèle 0D présente l'énorme avantage de **pouvoir tester très rapidement différents jeux de paramètres** à la différence du modèle complet tridimensionnel pour lequel les temps de calcul deviennent prohibitifs pour ce type d'opération.

Dans cette section, le modèle 0D est utilisé non plus pour reproduire une dynamique de croissance algale mais pour estimer des ordres de grandeurs du relargage sédimentaire en fonction des teneurs en sels nutritifs mesurées dans les algues et dans l'eau. Pour ce faire, les résultats de mesures des expérimentations en conditions contrôlées décrites ci-avant ont été utilisés pour calibrer le modèle 0D (croissance, biomasse, quotas et sels nutritifs) dans le cas de la modalité sans vase. Une fois le modèle calibré pour cette modalité, les valeurs de relargage sédimentaire ont été obtenues en recherchant les valeurs théoriques de flux sédimentaire permettant de respecter l'évolution mesurée du quota en N et P, les teneurs en sels nutritif dans la colonne d'eau ainsi que la biomasse et la croissance en ulves dans les bacs pourvus en sédiment.

Le module de production 0D pour *Ulva spp.* a été implémenté sous le logiciel de calcul scientifique Matlab. Le schéma de fonctionnement du modèle 0D est directement calqué sur le module de production en ulves issu du modèle MARS3D-Ulves (Perrot et al. (2014)). La mise en œuvre du modèle 0D a consisté à reprendre le module de production écrit en fortran en l'adaptant sous Matlab de façon à ne conserver que la variable temporelle qui est l'unique variable d'itération du modèle 0D (aucune itération spatiale selon les axes X/Y/Z). Les séries de mesures portant sur l'évolution journalière de la température, de la lumière, des sels nutritifs ont été utilisées pour forcer le modèle 0D. A chaque pas de temps, un bilan de masse sur l'azote et le phosphore a été effectué de façon à s'assurer de la conservativité du modèle 0D.

Le Tableau 8 récapitule les valeurs de l'ensemble des paramètres biochimiques du modèle 0D appliqués aux ulves.

Tableau 8 : Paramètres biochimiques du modèle 0D pour les ulves

Symbole	Définition	Unité	Valeur
μ_{maxulva}	Taux de croissance maximum	j^{-1}	0.8
K_{Nulva}	Constante de demi-saturation de N	$\mu\text{mol l}^{-1}$	10
K_{Pulva}	Constante de demi-saturation de P	$\mu\text{mol l}^{-1}$	2.8
V_{maxNulva}	Vitesse maximale d'absorption de N	$\mu\text{mol g}^{-1}$	100
V_{maxPulva}	Vitesse maximale d'absorption de P	$\mu\text{mol g}^{-1}$	17.2
q_{maxNulva}	Quota maximal en azote	g.kg^{-1} (M.S.)	30
$Q_{\text{critNulva}}$	Quota critique en azote	g.kg^{-1} (M.S.)	20
q_{minNulva}	Quota de subsistance en azote	g.kg^{-1} (M.S.)	10
q_{maxPulva}	Quota maximal en phosphore	g.kg^{-1} (M.S.)	2.0
$Q_{\text{critPulva}}$	Quota critique en phosphore	g.kg^{-1} (M.S.)	1.3
q_{minPulva}	Quota de subsistance en phosphore	g.kg^{-1} (M.S.)	0.5
M_{ulvadep}	Taux de mortalité	j^{-1}	0.085
b_{surfulva}	Surface spécifique en biomasse (poids sec)	g m^{-2}	0.005
k_{minN}	Taux de reminéralisation de N	j^{-1}	0.02
k_{nitrif_0}	Taux de nitrification à 0°C	j^{-1}	0.02
k_{minP}	Taux de reminéralisation de P	j^{-1}	0.07

4.2 Résultats

Il est rappelé que les mesures expérimentales ont été réalisées en créant ou non de l'anoxie selon les trois modalités suivantes :

- 1 Bacs sans sédiment avec des algues et un arrêt du bullage pendant la phase nocturne (condition avec anoxie),
- 2 Bacs contenant du sédiment et des algues avec un arrêt du bullage pendant la phase nocturne (condition avec anoxie),
- 3 Bacs contenant du sédiment et des algues avec un bullage en continu (condition sans anoxie).

Etant donné que le modèle 0D a été calé et validé sur la base de la modalité 1 (sans sédiment avec une phase anoxique), seule la modalité 2 (avec sédiment et phase anoxique) a été retenue pour la détermination des valeurs de relargage sédimentaire. Les résultats expérimentaux de la modalité 3 (avec sédiment mais sans anoxie) n'ont pas été confrontés au modèle 0D car il n'existait pas de mesures permettant de caler/valider le modèle 0D.

Les valeurs d'intensité lumineuse acquises en lumière artificielle se sont avérées très basses par rapport aux données classiques d'entrée du modèle fondées sur des données mesurées en lumière naturelle. Un facteur multiplicatif a dû être appliqué au modèle 0D pour ne pas pénaliser artificiellement la croissance simulée. Ce facteur a été fixé à la valeur 2.5 pour l'ensemble des expérimentations numériques.

Préalablement à l'exploitation du modèle 0D, les valeurs de mesure semblant aberrantes présentes dans certains triplicats ont été filtrées (1 valeur sur 81 mesures pour l'ammonium et pour le phosphate, 2 valeurs sur 81 mesures pour le nitrate).

Pour chacune des trois expériences conduites sur cinq jours et après avoir effectué la moyenne des triplicats, on dispose au final de trois points de mesures pour les sels nutritifs (une valeur en début, milieu et fin d'expérience) et de deux points de mesure pour les quotas en N et P et la biomasse en ulves (une valeur en début et fin d'expérience). Dans ces conditions au vu du faible nombre de points de mesures disponibles, l'évaluation de la qualité du modèle 0D par rapport aux mesures n'a pu faire l'objet d'une analyse statistique (coefficient de détermination entre les mesures et le modèle 0D, erreur quadratique moyenne, estimation du biais entre mesure et modèle ...). **Dans ces conditions, la validation du modèle 0D a consisté à s'assurer que les ordres de grandeurs des variables simulées par le modèle respectaient les gammes de valeurs mesurées.**

4.2.1 Bacs dépourvus de sédiment en condition anoxique

Il est rappelé que ce protocole expérimental dont les bacs sont dépourvus de sédiment est utilisé ici pour caler et valider le modèle 0D avant de l'appliquer sur des bacs pourvus en sédiment et en déduire des ordres de grandeurs de relargage sédimentaire.

Concernant l'évolution en sels nutritifs (Figure 16), la comparaison du modèle 0D avec les mesures montre que :

- Pour les trois expériences réalisées, les teneurs en **nitrate** simulées sont cohérentes par rapport aux teneurs mesurées. Toutefois, étant donné que les concentrations mesurées sont systématiquement inférieures au seuil de détection ($0,1 \mu\text{mol.l}^{-1}$), il paraît délicat de valider complètement les ordres de grandeurs simulés par le modèle 0D,
- L'évolution des concentrations simulées en **ammonium** est cohérente par rapport aux mesures même si pour les expériences 2 et 3, les teneurs simulées paraissent un peu faibles par rapport aux mesures. Sur la Figure 16 a été reporté les écarts type des mesures qui sont globalement élevés ce qui ne facilite pas la validation du modèle 0D,
- Les mêmes remarques émises pour l'ammonium pourraient s'appliquer au **phosphate** pour ce qui est des teneurs simulées globalement en deçà des valeurs mesurées et également des écarts type des mesures qui apparaissent élevés.

Expérience 1

Expérience 2

Expérience 3

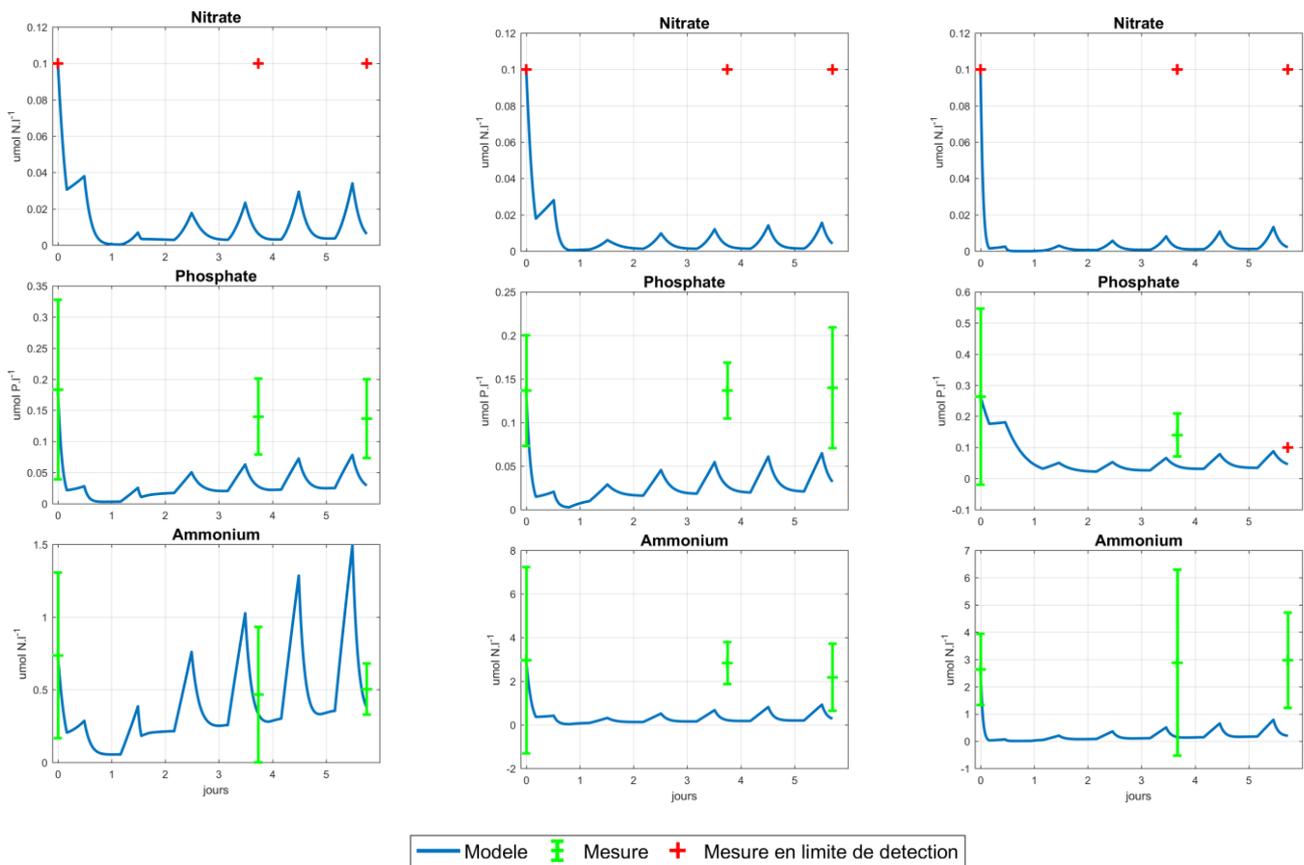


Figure 16 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour les sels nutritifs pour le protocole sans sédiment

- Pour les trois expériences, l'évolution des quotas internes en azote et phosphore des ulves est correctement reproduite par le modèle (Figure 17). La présence de plateaux régulièrement espacés est liée, dans le modèle, à l'arrêt de l'absorption en nutriments durant la phase nocturne,
- La densité (biomasse en grammes de poids sec) simulée en ulves en fin d'expérience de 5 jours est proche de la valeur mesurée (Figure 17). On retrouve logiquement la progression en escalier liée à l'arrêt de la croissance des ulves durant la nuit,
- Les taux de croissance journaliers simulés (7,4 % en moyenne) sont proches des valeurs mesurées (8,04 % \pm 0,82 en moyenne) et cohérents par rapport à ceux rencontrés dans la littérature. Pour cette variable, le cycle jour/nuit est clairement visible dans les données simulées,
- L'évolution des effets limitants intervenant dans la croissance de l'ulve, simulée par le modèle 0D montre pour l'expérience 1 une limitation par le phosphore marquée en début d'expérience tandis que les expériences 2 et 3 montrent une limitation par l'azote (forte limitation pour l'expérience 3). Malgré le rehaussement dans le modèle des valeurs mesurées pour l'intensité lumineuse, la lumière apparait comme l'une des variables les plus limitantes. En réalité, tel qu'implémenté dans le modèle, l'effet limitant de la lumière est à relativiser et concerne essentiellement un arrêter de la croissance la nuit.

Expérience 1

Expérience 2

Expérience 3

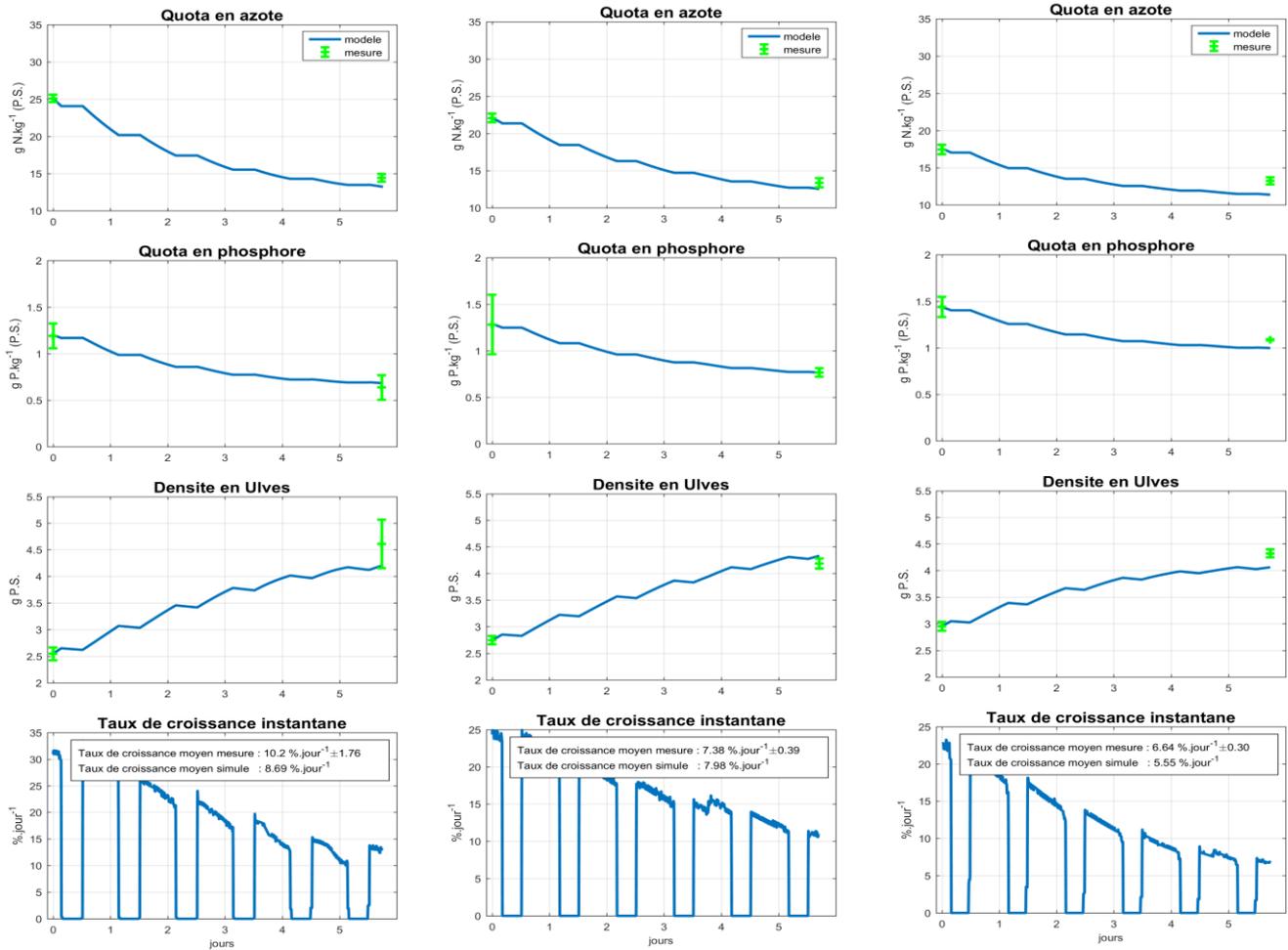


Figure 17 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour le quota en azote et phosphore, la densité en ulves et le taux de croissance moyen journalier pour le protocole sans sédiment

Expérience 1

Expérience 2

Expérience 3

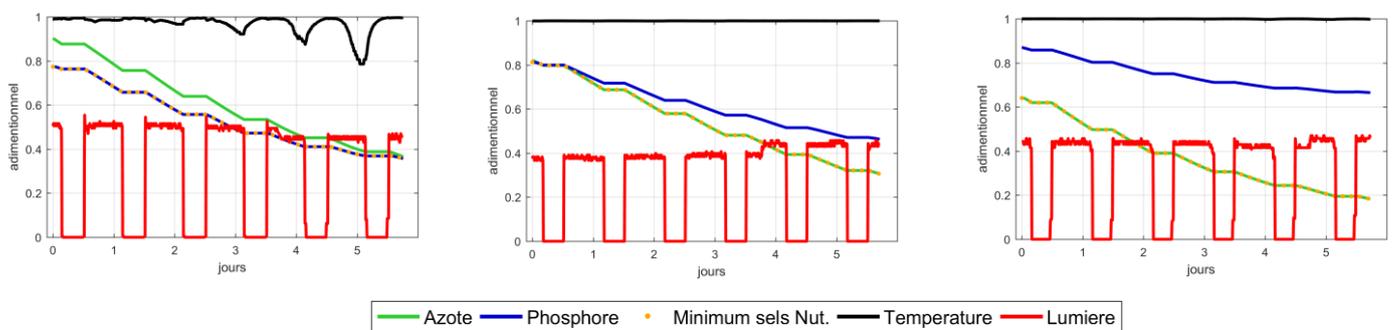


Figure 18 : Evolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans la croissance de *P. luteus* pour le protocole sans sédiment

4.2.2 Bacs avec sédiment en conditions anoxique

Les valeurs de relargage sédimentaire introduites dans le modèle 0D permettant de respecter au mieux les valeurs mesurées pour les quotas en azote et phosphore, la biomasse en ulves et les teneurs en sels nutritifs sont décrites dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Valeurs de flux sédimentaire ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$) prescrits au modèle 0D

	Expérience 1	Expérience 2	Expérience 3
Flux en phosphate	20	20	20
Flux en ammonium	1500	800	1500
Flux en nitrate	0	0	0

L'application de ces valeurs de flux sédimentaire à chaque pas de temps de calcul du modèle 0D a globalement permis de rehausser les teneurs en ammonium et en phosphate par rapport aux résultats obtenus par le modèle en utilisant le protocole précédent, sans sédiment. L'introduction d'un relargage s'avère donc efficace pour expliquer la hausse des teneurs mesurées dans les bacs avec sédiment.

La Figure 17 montre l'évolution simulée et mesurée des sels nutritifs. Il en ressort que :

- Pour chacune des trois expériences, les teneurs en **nitrate** simulées sont cohérentes par rapport aux teneurs mesurées qui demeurent faibles comme dans le cas sans sédiment (mesures à nouveau systématiquement en deçà du seuil de détection de $0,1 \mu\text{mol.l}^{-1}$),
- La gamme de valeurs des concentrations simulées en **ammonium** reste globalement cohérente par rapport aux mesures. Dans les conditions expérimentales choisies (faibles teneurs initiales en sels nutritifs dans les bacs), la diminution drastique des teneurs journalières en ammonium simulées par le modèle montre que l'ajout d'un relargage sédimentaire ne suffit pas à couvrir les besoins journalier en azote des ulves,
- De la même façon que pour le précédent protocole (bacs sans sédiment), les remarques formulées pour l'ammonium s'appliquent également au **phosphate** (forte oscillation diurne en raison du pompage par les ulves et des faibles teneurs en sels nutritifs dans les bacs).

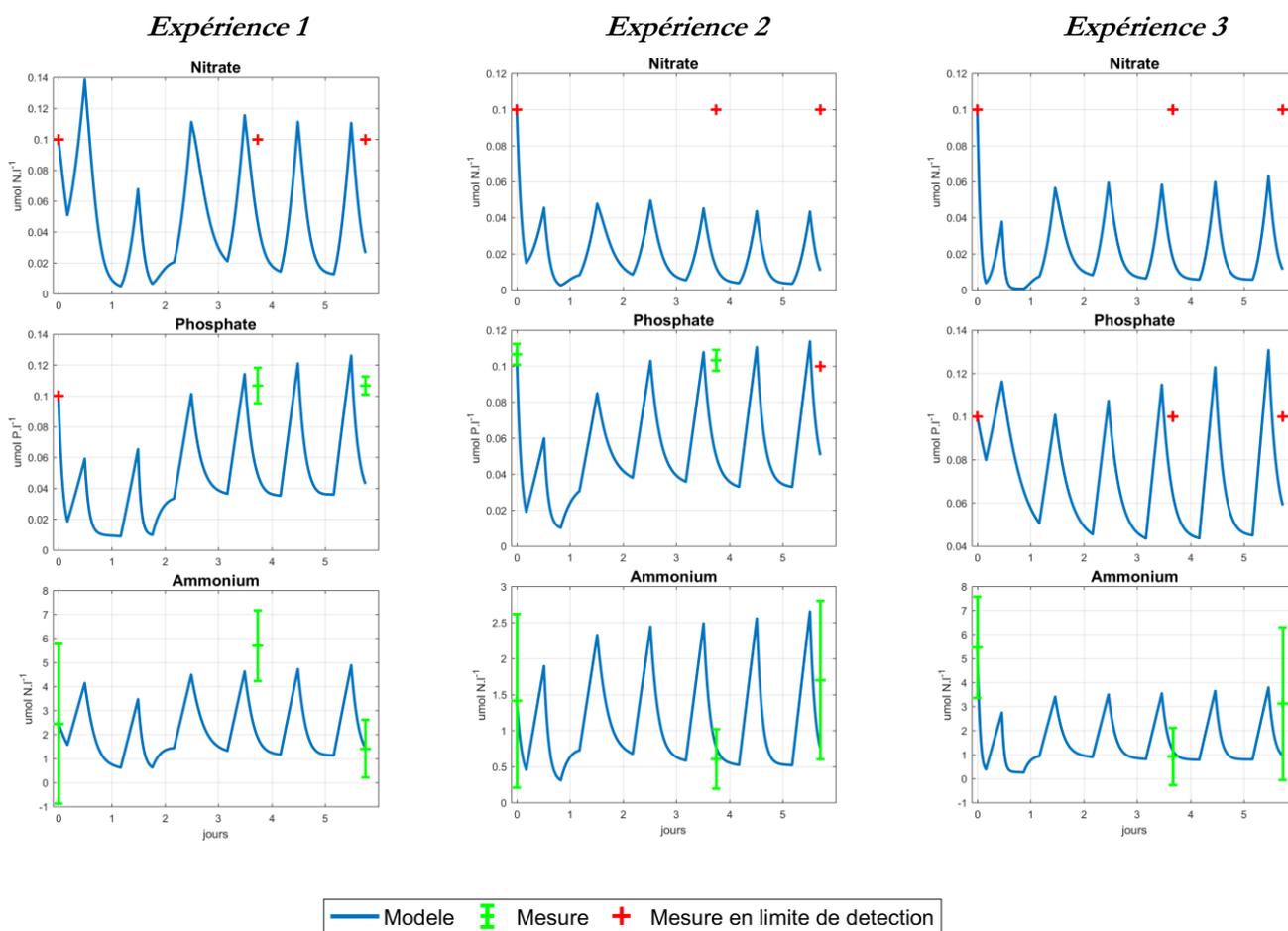


Figure 19 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour les sels nutritifs pour le protocole avec sédiment

- En présence de sédiment dans les bacs (Figure 19), l'évolution des quotas interne en azote et phosphore des ulves est reproduite de manière satisfaisante par le modèle 0D,
- Au 5^{ème} jour d'expérimentation, la biomasse en ulves est légèrement sous-estimée par le modèle en comparaison de la valeur mesurée pour l'expérience 1 et inversement pour l'expérience 3 (Figure 19). Globalement, les ordres de grandeurs et l'évolution qualitative de la biomasse simulée restent conformes aux mesures,
- Les taux de croissance journaliers simulés (8,45 % en moyenne) sont cohérents par rapport aux valeurs mesurées (8,47 % \pm 0,20 en moyenne). Il est intéressant de noter à la fois dans les données simulées et mesurées une augmentation du taux de croissance moyen par rapport au protocole sans sédiment.
- L'évolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans le calcul du taux de croissance instantanée de l'ulve montre, en particulier pour l'expérience 3, une moindre limitation par la disponibilité en azote qui s'explique par la prescription d'un relargage sédimentaire en ammonium. Les évolutions et les ordres de grandeurs sont toutefois proches de celles décrites avec le protocole sans sédiment du fait des teneurs en sels nutritifs qui restent relativement basse même en présence de sédiment.

Expérience 1

Expérience 2

Expérience 3

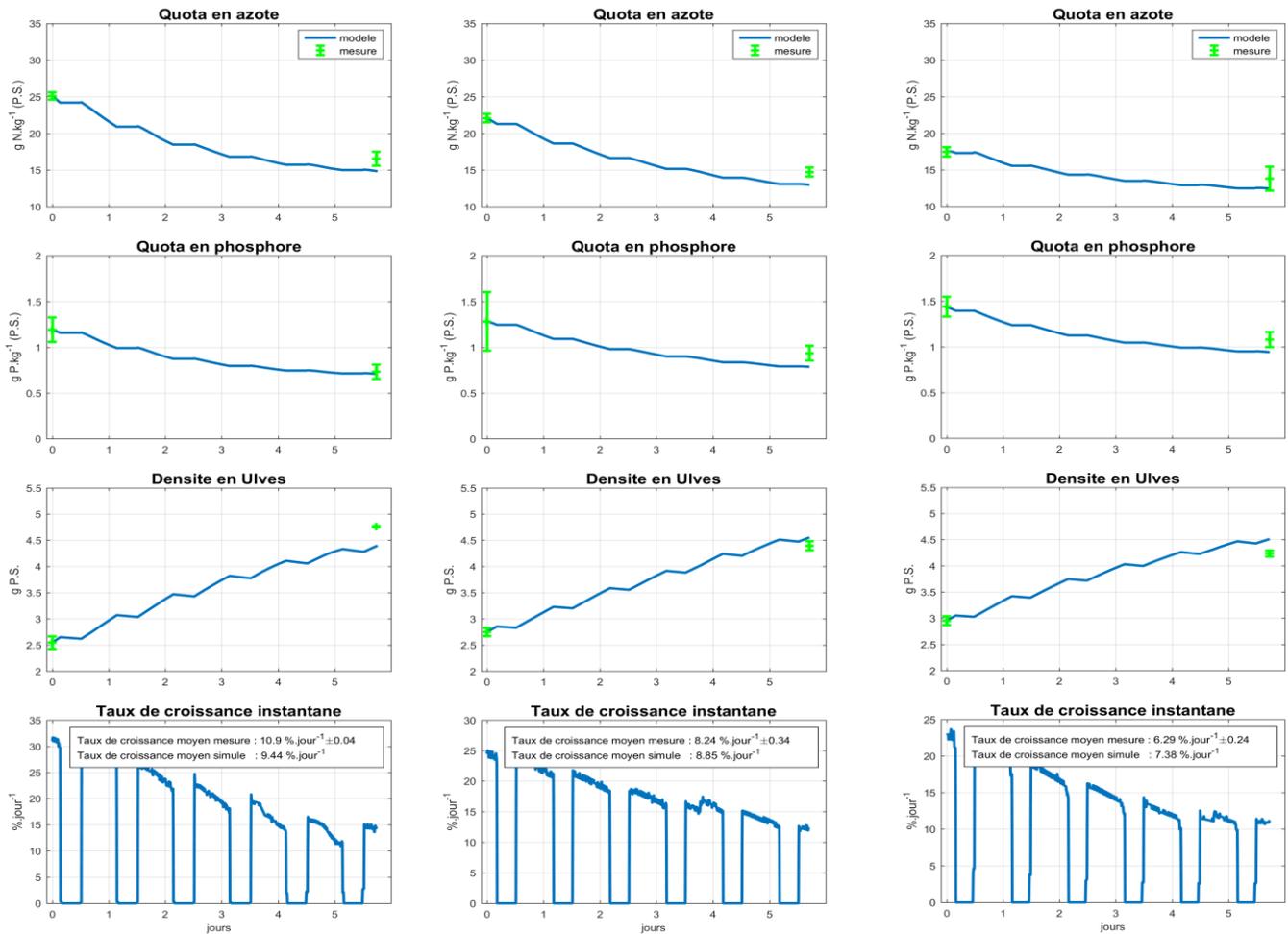


Figure 20 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour le quota en azote et phosphore, la densité en ulves et le taux de croissance moyen journalier pour le protocole avec sédiment

Expérience 1

Expérience 2

Expérience 3

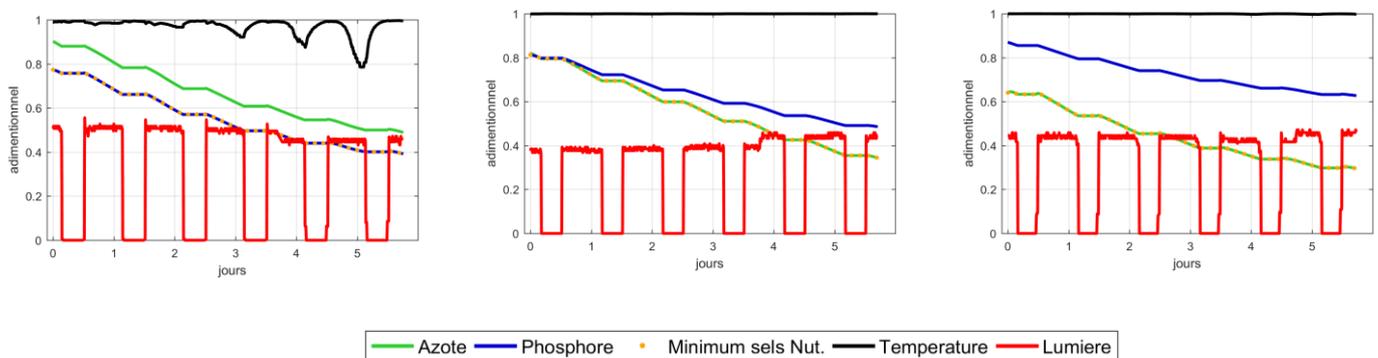


Figure 21 : Evolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans la croissance de l'ulve pour le protocole avec sédiment

5 Expérimentations complémentaires *in situ* et en conditions contrôlées

Les résultats obtenus lors de l'expérimentation *in situ* réalisée en 2016 semblaient montrer que l'impact des hydrobies sur la croissance des ulves en contact avec le sédiment était non négligeable (disparition de biomasse associée à une disparition d'azote fixé calculé). Afin de quantifier cet éventuel impact, le CEVA a proposé en 2017, en complément de son étude, de tester l'effet d'organismes brouteurs (*Hydrobia ulva*) sur la croissance algale en réalisant des expériences *in situ* et en laboratoire. Cette étude complémentaire a été effectuée dans le cadre d'un stage (IUT 2^{ème} année), encadrée du 18 avril au 23 juin 2017. En ce qui concerne l'expérimentation *in situ*, ciblant l'effet du broutage sur le développement des ulves, celle-ci a été prolongée après le stage, jusqu'au 5 septembre 2017.

5.1 Biologie d'*Hydrobia ulva*

Hydrobia ulva est un gastéropode marin de petite taille (3 à 6 mm) peuplant principalement les vasières côtières de l'Europe du nord-ouest, plus communément appelé hydrobie (Figure 22). En raison de son abondance, ce gastéropode représente une biomasse importante des écosystèmes intertidaux de substrats meubles (Bachelet, Yacine-Kassab 1987). Il se nourrit essentiellement d'algues et de microorganismes tels que les bactéries.



Figure 22 : Photo d'*Hydrobia ulva* (Source : conchology.be) et de l'intérieur d'une cage en présence d'hydrobies

Hydrobia ulva est l'une des espèces benthiques marines dont la biologie est la mieux connue. La durée de vie de *H. ulva* est d'environ 21 ± 3 mois. Les œufs des hydrobies sont contenus dans des capsules ovigères. Ces œufs, au nombre de 3 à 25 par capsules, éclosent au bout de 10 jours à 3 semaines et engendrent des véligères. La durée totale du développement embryonnaire et larvaire serait de 45 à 60 jours. Il possède deux phases de reproduction annuelle : de mars à juin et de août à septembre (Bachelet, Yacine-Kassab 1987).

H. ulva possède une coquille très résistante qui lui permet de résister à la digestion d'un de ses prédateurs (oiseaux marins). Ce qui se révèle être un moyen de dispersion très efficace, pouvant propager cette espèce sur des distances qui atteignent parfois 350 km. Cela indique que *H. ulva* est une espèce particulièrement adaptée aux variations des conditions environnementales.

5.2 Expérimentations *in situ*

Le principe de cette expérimentation est d'évaluer en conditions réelles, l'effet du broutage sur la croissance algale et de pouvoir quantifier cet impact.

5.2.1 Matériel et méthode

Non loin du dispositif expérimental précédent (Figure 23), 2 cages supplémentaires ont été placées avec les modalités suivantes :

- C1 : Cage en contact avec le sédiment contenant des ulves et nettoyée régulièrement pour éliminer des hydrobies visibles dans la cage
- C2 : Cage en contact avec le sédiment contenant des ulves et une quantité X d'hydrobies établie en fonction de la densité mesurée sur le terrain



Figure 23 : Photo du dispositif expérimental (2 cages nommées C1 et C2) situé à droite du dispositif principal.

Le matériel biologique (ulves et hydrobies) utilisé pour cette expérimentation a également été prélevé sur la vasière du Lédano. Toutes les manipulations liées aux ulves (prélèvement, lavage, pressage, pesée) ont été effectuées dans le respect du protocole décrit précédemment dans le cadre de l'expérimentation principale *in situ* et détaillé en Annexe 1.

Les ulves ont été prélevées, lavées, pesées de manière à introduire 100 g d'algues dans chaque cage. Au bout d'une semaine d'expérience, seule la biomasse algale a été mesurée (lavage-tri des algues).

Les hydrobies introduites au début de chaque expérience dans la cage C2, ont été obtenues après tamisage d'échantillons de vase de dimension 21*29*5 cm (profondeur) prélevée sur la vasière à l'aide d'une boîte en inox. La densité (X) initiale d'hydrobies a été déterminée comme étant le poids moyen d'hydrobies obtenues après tamisage de 6 échantillons de vase. Cette densité a été vérifiée régulièrement au cours de la saison afin d'identifier une variation saisonnière. Au cours de chaque

expérience, la cage C1 était nettoyée de manière à s'assurer qu'aucune hydrobie n'était présente. Dans le cas contraire, les hydrobies étaient enlevées et comptabilisées. A l'issue de chaque expérience, la quantité d'hydrobies était comptabilisée et comparée à la valeur initiale introduite dans la cage C2.

Ces expériences ont été renouvelées avec différentes quantités d'hydrobies (X, 2X et 3X) selon le planning détaillé en Tableau 10.

Tableau 10 : Calendrier des expériences et des différentes quantités d'hydrobies testées lors de l'expérimentation complémentaire *in situ*.

Expérience	Date	Cage C1 (quantité d'hydrobies)	Cage C2 (quantité d'hydrobies)
1	Du 16 au 23 mai 2017	Aucune hydrobies	Quantité X (=13,95 g)
2	Du 23 au 30 mai 2017	Aucune hydrobies	Quantité 2X
3*	Du 30 mai au 6 juin 2017	Aucune hydrobies	Quantité 3X
4	Du 18 au 25 juillet 2017	Aucune hydrobies	Quantité 2X
5	Du 26 juillet au 2 août 2017	Aucune hydrobies	Quantité 3X
6*	Du 22 au 29 août 2017	Aucune hydrobies	Quantité 2X
7	Du 29 août au 5 sept 2017	Aucune hydrobies	Quantité 3X

* : Un suivi de la température et de l'intensité lumineuse a été effectué lors de ces expériences par l'utilisation d'une sonde HOBO (Temp/Light Data Logger) fixée à l'intérieur d'une des cages.

5.2.2 Résultats

Ces expérimentations complémentaires *in situ* avaient pour objectif d'étudier la croissance des ulves en fonction des quantités d'hydrobies présentes ou non dans les cages. Les résultats de biomasses algales obtenues à l'issue de chaque expérience, dans les cages C1 et C2 sont présentés Figure 25. Excepté pour l'expérience 1, Les moyennes de biomasse d'ulves obtenues dans les cages C1 ont pu être comparées aux données de l'expérience principale (modalité B) car les mêmes conditions ont été appliquées.

La Figure 25 suggère :

- **pour les expériences 1 à 5 :**
 - les lots d'ulves présents dans les cages C2 contenant des hydrobies ont eu une croissance légèrement plus importante que les lots d'ulves présents dans les cages C1 sans hydrobies. Les algues en présence d'hydrobies seraient donc probablement dans des meilleures conditions de croissance.
 - Les croissances des lots C1 et C2 ont évolué de façon similaire avec les lots B mais les biomasses obtenues dans les cages C1 étaient de manière générale (exception de l'expérience 3), inférieures aux lots d'ulves B qui pourtant étaient présentes dans des cages de modalité similaire (sans hydrobie).
 - les différences de biomasses entre les deux modalités C1 et C2 ne sont visiblement pas proportionnelles à la quantité d'hydrobies présente. **L'effet du broutage ne serait donc pas proportionnel à la densité d'hydrobies.**

- pour les expériences 6 et 7 :

- Les lots d'ulves C1 et C2 ont respectivement subi une décroissance par rapport à la biomasse initiale tandis que les lots B ont créée de la biomasse (niveau faible).
- La perte de biomasse était plus importante dans la cage C2 en présence d'hydrobies que dans la cage C1. Dans des conditions défavorables de croissance (milieu dégradé par les algues en putréfaction), la présence d'hydrobies aurait un impact défavorable au développement des ulves. La pression du broutage par les hydrobies serait plus importante que la biomasse algale créée.



Figure 24 : Photo illustrant la dégradation du milieu (zones blanches de moisissures) devant les cages C1 et C2 (à gauche) et à l'intérieur de la cage C1 (à droite). CEVA, août 2017

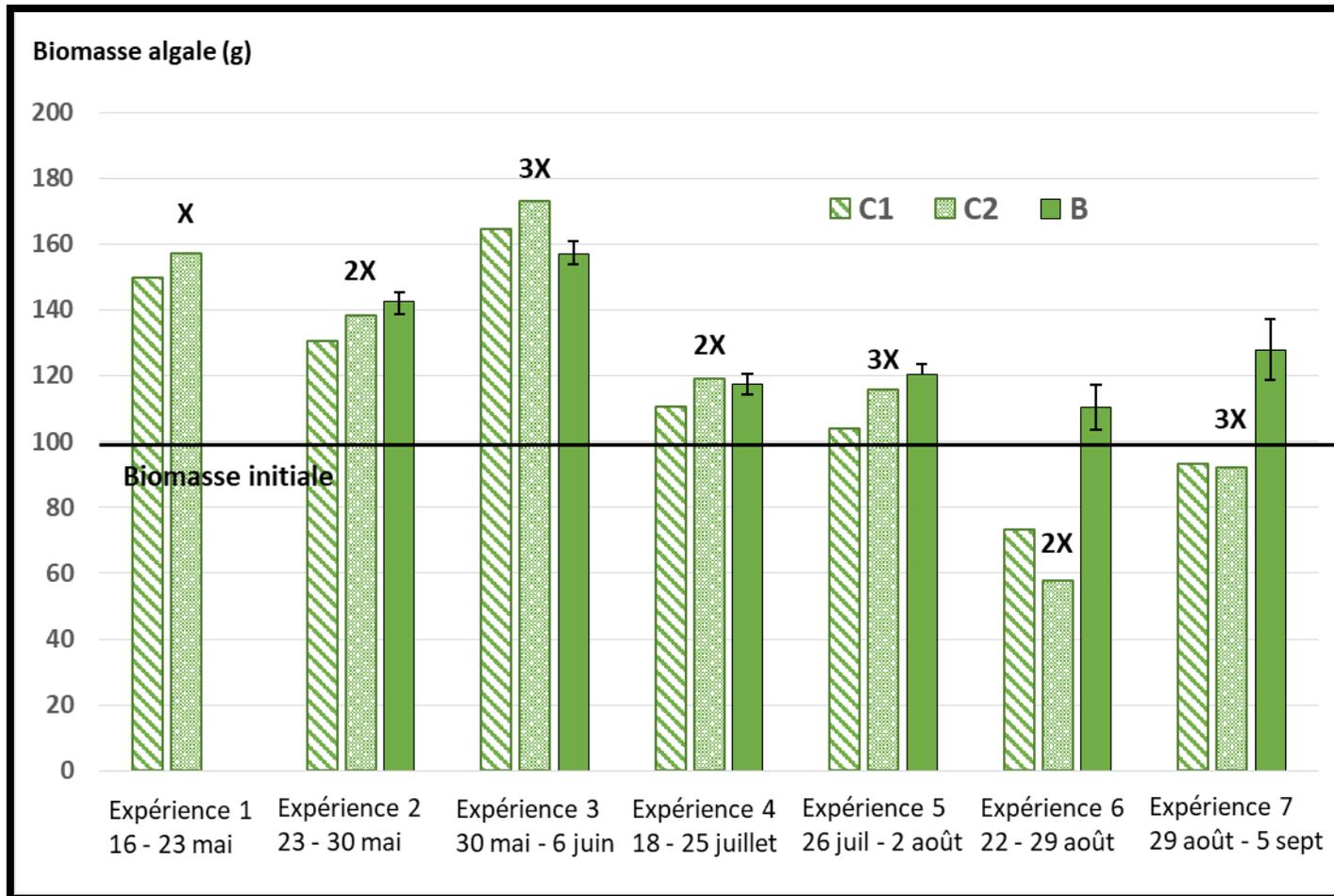


Figure 25 : Evolution des biomasses algales obtenues dans les cages C1 (sans hydrobies) et dans les cages C2 (avec hydrobies) et évolution comparative des biomasses algales obtenues dans les cages B de l'expérimentation principale *in situ*. Les quantités d'hydrobies introduites initialement sont précisées au-dessus de chaque barre correspondant à la cage C2.

Expérience/Date	Cage C1		Cage C2	
Expérience 1 16 – 23 mai				
Expérience 2 23 – 30 mai				
Expérience 3 30 mai – 6 juin				
Expérience 4 18 – 25 juillet				

<p>Expérience 5 26 juillet – 2 août</p>				
<p>Expérience 6 22 – 29 août</p>				
<p>Expérience 7 29 août – 5 sept</p>				

5.3 Expérimentation en conditions contrôlées

Afin d'identifier les différentes interactions entre les compartiments sédiment, algues et brouteurs et d'évaluer l'effet du broutage de ces gastéropodes sur la croissance des ulves, 3 expériences ont été conduites au CEVA en complément de celles réalisées *in situ*.

Pour ces expériences, le sédiment, les algues et les hydrobiees ont été collectés sur la vasière du Lédano de manière à disposer du même matériel biologique.

5.3.1 Matériel et méthode

Les incubations ont été effectuées dans des bacs de 20 L selon trois modalités en triplicats. Pour les bacs contenant des ulves, 16 g de poids frais ont été utilisés afin d'obtenir une densité d'algues d'1 g/L permettant une croissance optimale. Pour les conditions avec vase, une épaisseur d'environ 5 cm de sédiment a été introduite dans les bacs. Les bacs avec sédiment contenaient ainsi un volume de 12 L d'eau de mer filtrée contre 16 L pour les bacs sans sédiment permettant un éclairage homogène des bacs d'incubation. Un bullage, réglé à 1,7 Nm³/h, a été appliqué pour maintenir les algues en suspension et permettre les échanges gazeux. De l'eau de mer filtrée à 0,22 µm a été utilisée dans chaque bac pour éliminer une partie des microorganismes présents dans l'eau de mer. La température a été maintenue à 19°C par un système de bain-marie. Une intensité lumineuse de 3000 lux a été appliquée (Pagand, 1999) suivant un cycle J/N de 16H/8H. Les données de température et de lumière ont été enregistrées grâce à des sondes (HOBO Data Logger). Le taux d'oxygène dissous et le pH ont aussi été mesurés au cours de l'incubation.



Figure 26 : Photo du dispositif expérimental réalisé au CEVA

- **Pour la première expérience**, les bacs ont été préparés selon les modalités suivantes (Tableau 11) :
 - Bacs A (n=3) : sédiment, algues, toile de protection entre le sédiment et les algues. En cas de présence d'hydrobies, celles-ci ont été retirées et comptées.
 - Bacs B (n=3) : sédiment, algues. Pas de toile de protection entre le sédiment et les algues.
 - Bacs C (n=3) : sans sédiment, algues et pas d'hydrobies.

L'expérience 1 s'est déroulée pendant 7 jours du 28 avril au 5 mai 2017. Une toile à mailles fines (1 mm de côté) a été installée dans les bacs A de manière à séparer les algues de la vase et d'ainsi éviter le broutage des algues par les hydrobies contenues dans la vase. Après 7 jours d'expérience, l'intégralité des lots d'algues a été prélevée pour la mesure de leurs biomasses et les hydrobies présentes dans les bacs A ont été comptabilisées.

- **Pour la deuxième expérience**, les bacs ont été préparés selon les modalités suivantes (Tableau 11) :
 - Bacs A (n=3) : sédiment, ulves et une quantité 2X d'hydrobies (une quantité X ajoutée et une quantité X déjà présente dans le sédiment)
 - Bacs B (n=3) : sédiment, ulves et une quantité X d'hydrobies (quantité X initialement présente dans la vase)
 - Bacs C (n=3) : sans sédiment, ulves et une quantité X d'hydrobies ajoutée

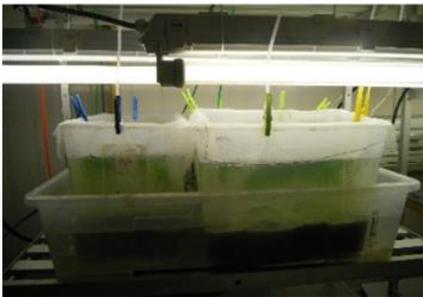
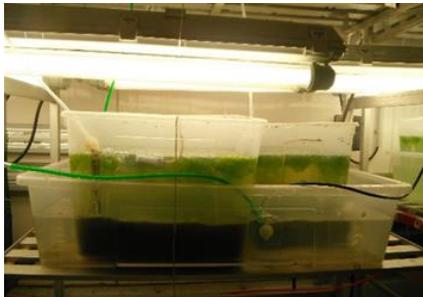
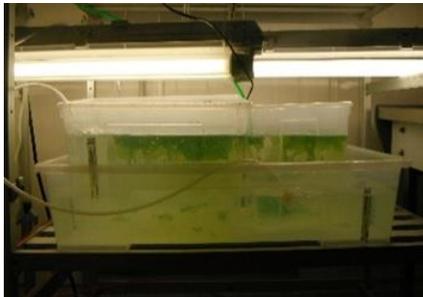
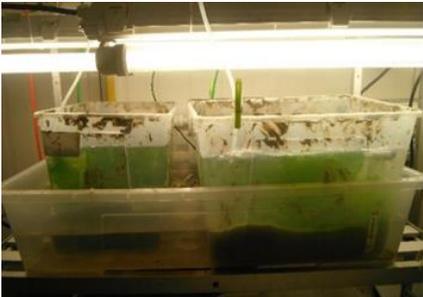
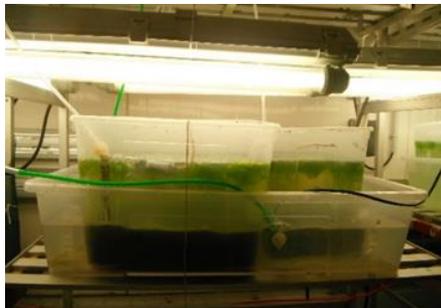
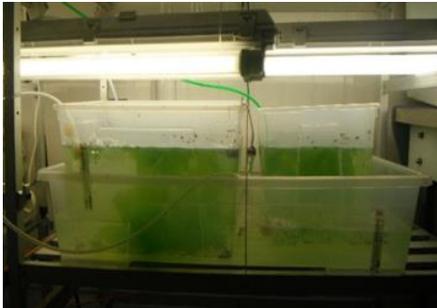
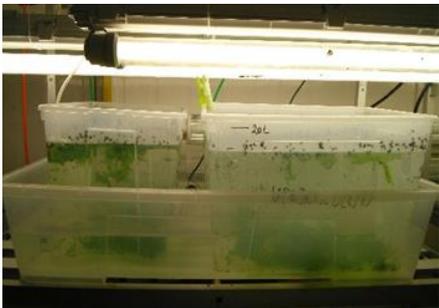
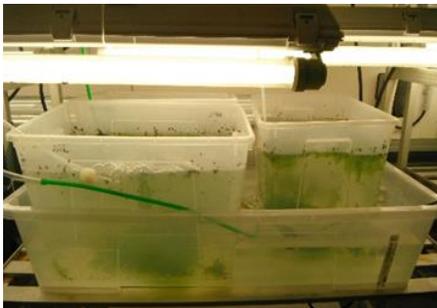
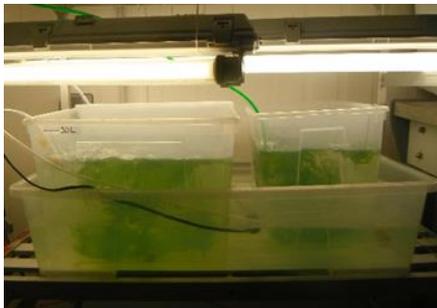
La quantité (X) d'hydrobies à ajouter a été déterminée selon le poids moyen d'hydrobies obtenues après tamisage d'échantillons de vase (n=6) prélevés sur la vasière du Lédano. Il était supposé que la quantité X présente naturellement dans le sédiment des bacs B soit équivalente à la densité d'hydrobies moyenne estimée précédemment. L'expérience 2 s'est déroulée pendant 12 jours du 10 au 22 mai 2017. Des mesures de biomasse ont été effectuées à T7, T9 et T12 jours. Le sédiment a été tamisé en fin d'expérience de manière à peser l'intégralité des hydrobies contenus dans les bacs.

- **Pour la troisième expérience**, les bacs ont été préparés selon les modalités suivantes (Tableau 11) :
 - Bacs A (n=3) : sans sédiment, algues, et une quantité 2X d'hydrobies ajoutée
 - Bacs B (n=3) : sans sédiment, algues, et une quantité X d'hydrobies ajoutée
 - Bacs C (n=3) : sans sédiment, algues, et pas d'hydrobies

Des quantités d'hydrobies similaires aux expériences 1 et 2 ont été utilisées.

L'expérience 3 s'est déroulée pendant 13 jours du 30 mai au 12 juin 2017 avec un arrêt de l'éclairage artificiel pendant les 3 derniers jours. Des mesures de biomasse ont été effectuées à T3, T7, T10 et T13 jours. Après 13 jours d'expérimentation, l'intégralité des hydrobies a été pesée.

Tableau 11 : Photos illustrant les différentes modalités des expériences effectuées en laboratoire

	Bacs A	Bacs B	Bacs C
Expérience 1	 <p>Sédiment, toile et pas d'hydrobies</p>	 <p>Sédiment, pas de toile et X hydrobies</p>	 <p>Pas de sédiment et pas d'hydrobies</p>
Expérience 2	 <p>Sédiment, pas de toile et 2X hydrobies</p>	 <p>Sédiment, pas de toile et X hydrobies</p>	 <p>Pas de sédiment et X hydrobies</p>
Expérience 3	 <p>Pas de sédiment et 2X hydrobies</p>	 <p>Pas de sédiment et X hydrobies</p>	 <p>Pas de sédiment et pas d'hydrobies</p>

5.3.2 Résultats

5.3.2.1 Expérience 1

L'objectif de cette expérience était de suivre l'impact du sédiment et du broutage sur la croissance des algues. Les résultats de biomasse obtenue après 7 jours d'expérience sont présentés dans la Figure 27.

L'analyse de la Figure 27 permet de mettre en évidence les interprétations suivantes :

- Les lots d'ulves présents dans les bacs contenant du sédiment présentent des valeurs de biomasse plus élevées que les lots d'ulves présents dans les bacs sans sédiment.
- Aucune différence significative n'est observable entre les lots A et B. La présence d'hydrobies dans les bacs B n'a donc pas provoqué de perte de biomasse significative.

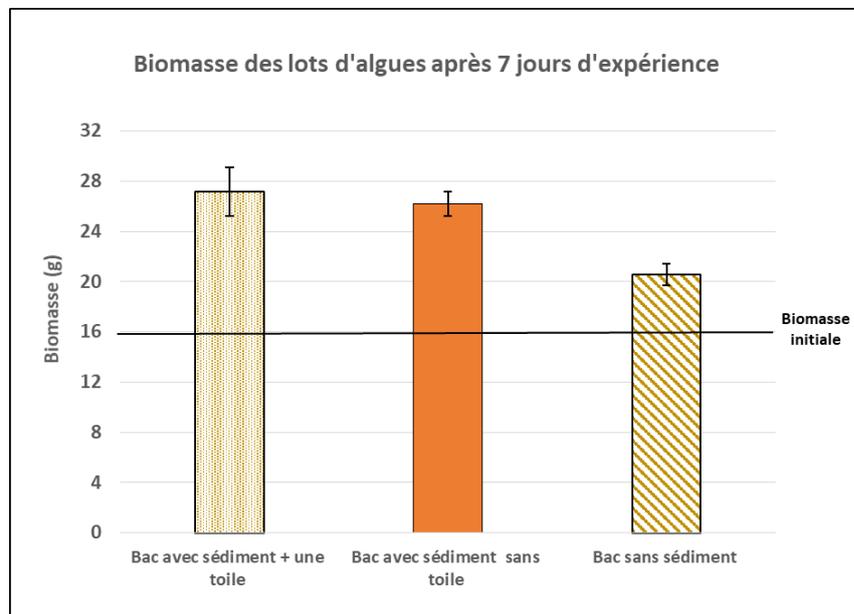


Figure 27 : Moyennes des biomasses des lots d'ulves obtenues après 7 jours d'expérience

5.3.2.2 Expérience 2

L'objectif de l'expérience 2 était de mettre en évidence si la pression de broutage était liée à la présence de sédiment et si l'intensité de broutage était proportionnelle à la densité d'hydrobies présentes.

Les résultats obtenus à T7, T9 et T12 jours sont présentés Figure 28. Les lots d'ulves des bacs A2 et B1 n'ont pas évolué de la même façon que les lots d'ulves des autres bacs. De plus, les lots d'ulves du bac C3 étaient en décroissance après 12 jours d'expérience ce qui est anormal au regard des bacs C1 et C2. Les différents paramètres environnementaux ont été vérifiés et aucune différence de luminosité ou de température entre chaque bac n'a pu donner une explication à cette variation de biomasse. De plus, les hydrobies contenues dans chaque bac à la fin de l'expérimentation ont été triées et pesées pour pouvoir étudier les éventuelles variations de densités (Figure 29). La corrélation entre les valeurs de biomasse et la masse d'hydrobies (Figure 30) ont permis d'écarter des valeurs aberrantes. Ainsi, les résultats concernant les lots d'ulves des bacs A2 et B1 ont été exclus des analyses postérieures. Les résultats de biomasse du lot d'ulves du bac C3 ont également été écartés mais seulement pour l'analyse des résultats après 12 jours d'expérience. L'analyse de la Figure 30 montre que **plus la densité d'hydrobies était élevée plus la biomasse créée était importante**.

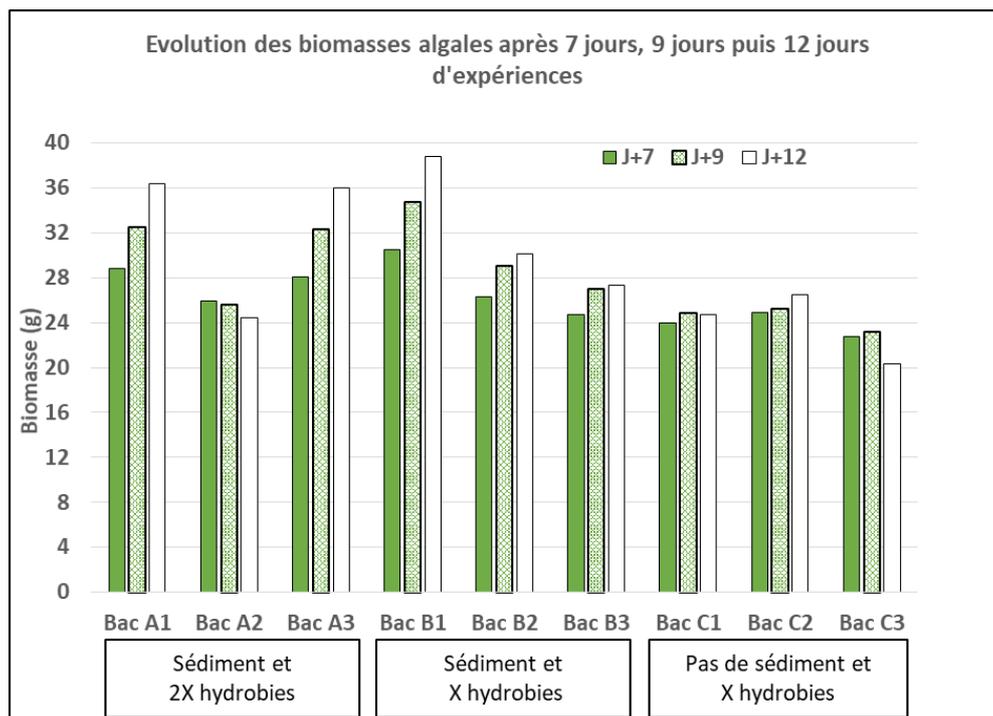


Figure 28 : Evolution des biomasses algales après 7, 9 et 12 jours d'expérience

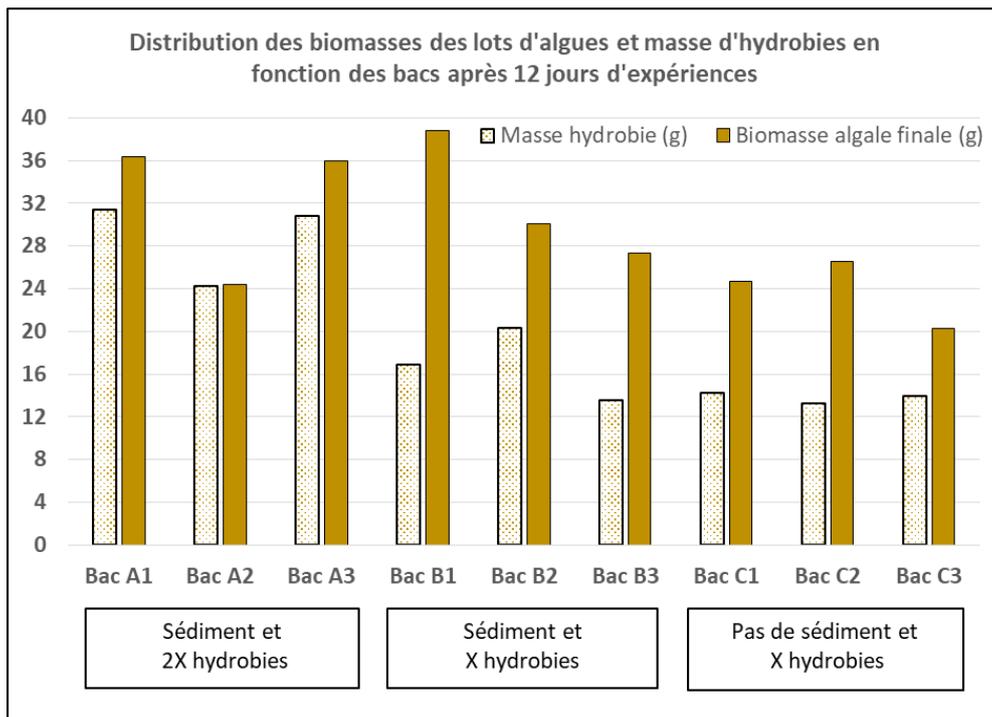


Figure 29 : Distribution des biomasses algales et quantités d'hydrobies dans chaque bac

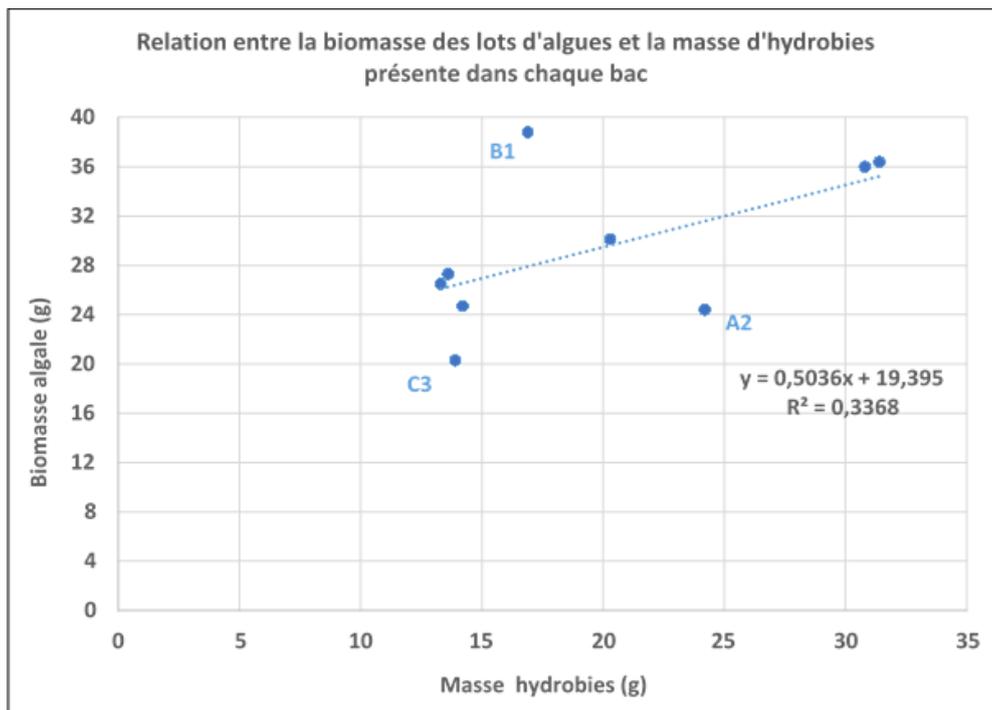


Figure 30 : Graphique représentant la biomasse des lots d'algues en fonction de la quantité d'hydrobies présentes dans les bacs

Les résultats de biomasses algales obtenus au cours de l'expérience 2 ont été moyennés en excluant les lots A2, B1 pour toute la durée de l'expérience et le lot C3 pour le temps d'expérience de 13 jours (Figure 31).

L'analyse de la Figure 31 permet de mettre en avant les interprétations suivantes :

- A l'issue des 7 jours d'expérience :
 - Les biomasses obtenues dans les bacs contenant une quantité X et dans les bacs contenant une quantité 2X d'hydrobies étaient significativement différentes. Dans ces conditions expérimentales, plus la quantité d'hydrobies est importante, plus l'impact sur la croissance des algues semble être favorable.
 - Les lots d'ulves présents dans les bacs contenant du sédiment et une quantité X d'hydrobies ne semblent pas avoir une croissance plus importante que les lots d'ulves présents dans les bacs sans sédiment avec une quantité X d'hydrobies. A ce stade de l'expérience, le sédiment ne semble pas apporter un effet positif sur la croissance des ulves en présence d'une densité X d'hydrobies.

- A l'issue des 9 jours d'expérience :
 - La différence de croissance relevée entre les lots d'algues des bacs A et B à 7 jours d'expérience était plus importante après 9 jours d'expérience.
 - Les lots d'ulves présents dans les bacs contenant du sédiment ont eu une croissance plus importante que les lots d'ulves présents dans les bacs sans sédiment. Les algues en présence de sédiment seraient donc probablement dans de meilleures conditions de croissance à ce stade de l'expérience, ce qui est en concordance avec les résultats trouvés précédemment lors de l'expérience n°1.

- A l'issue des 12 jours d'expérience :
 - La différence de croissance relevée entre les lots d'algues des bacs A et B à 9 jours d'expérience était plus importante après 12 jours d'expérience.
 - Aucune différence de croissance entre les lots d'algues des bacs B et C n'a été observée. En présence d'hydrobies, l'effet du sédiment sur le développement de l'algue serait négligeable à ce stade de l'expérience.

Concernant les différences de biomasses entre les bacs A et B, les lots d'ulves des bacs avec sédiment et une quantité 2X d'hydrobies ont eu une croissance toujours plus importante que les lots d'ulves présents dans les bacs avec sédiment en présence d'une quantité X d'hydrobies. Ce qui est en continuité avec les résultats trouvés précédemment.

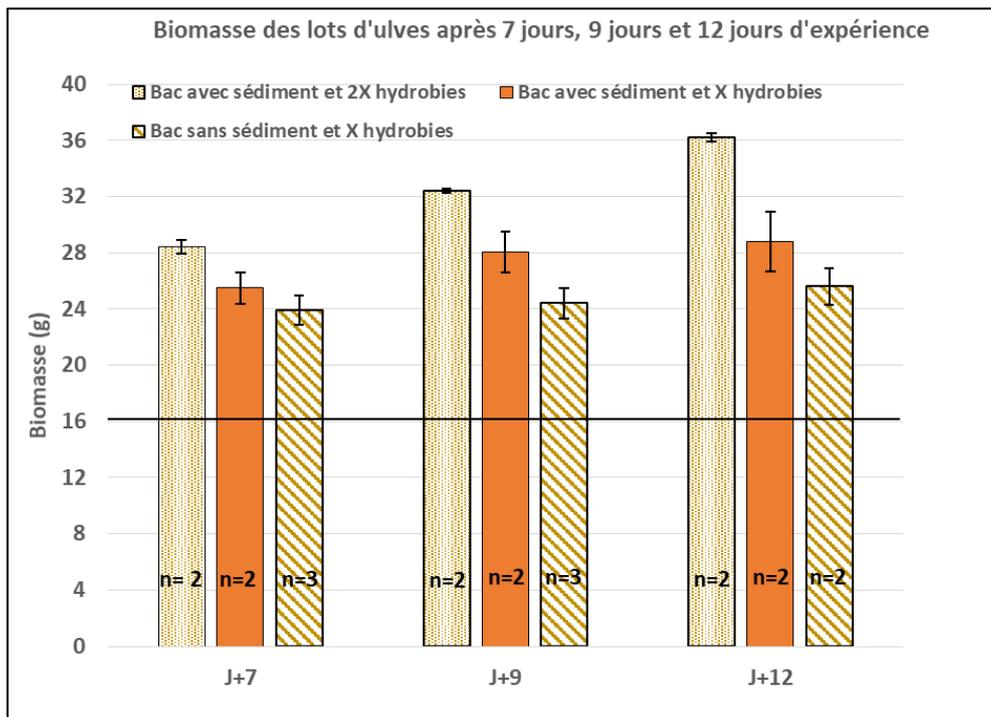


Figure 31 : Moyennes des biomasses algales obtenues après 7, 9 et 12 jours d'expérience

5.3.2.3 Expérience 3

L'expérience 3 avait pour objectif, tout d'abord, d'évaluer l'impact du broutage sur la croissance des algues en absence de sédiment et de voir si l'intensité de broutage était proportionnelle à la densité d'hydrobies présentes. De plus, l'absence de lumière, paramètre essentiel dans le développement des algues, à partir du 10^{ème} jour était provoquée dans le but d'observer les interactions entre algues et hydrobies en conditions non optimales de croissance.

A l'exception de la phase entre le 10^{ème} et 13^{ème} jour d'expérience en condition d'extinction de lumière, les variabilités des biomasses au sein de chaque triplicat étant faibles, il a donc été choisi de présenter les résultats moyennés. Les résultats sont présentés Figure 32.

L'analyse de la Figure 32 permet de mettre en avant les interprétations suivantes :

- A T3 et T7, aucune différence de biomasse n'a été observée entre les lots d'ulves des bacs A, B et C.
- A T10, une diminution de la biomasse algale a été mesurée. Les biomasses étaient significativement différentes entre les lots d'ulves des bacs A et B et entre les bacs A et C. En effet, les lots d'ulves présents dans les bacs contenant une quantité 2X d'hydrobies (bac A) ont eu une croissance plus faible que les lots d'ulves présents dans les bacs contenant une quantité X d'hydrobies (bac B) et les lots d'ulves sans présence d'hydrobies (bac C).
- Aucune différence de croissance nette n'a été observée entre les lots d'ulves des bacs contenant une quantité X d'hydrobies (bac B) et les lots d'ulves des bacs sans hydrobies

(bac C). La pression de broutage ne serait pas assez importante pour provoquer une diminution de la biomasse algale.

- Après 13 jours d'expérience, les résultats de biomasses obtenus entre les différentes modalités n'étaient plus significatifs. En effet, les algues ont commencé à se dégrader du fait probablement du manque de luminosité et d'éléments nutritifs dans l'eau de mer filtrée. Les lots d'ulves en présence d'une quantité 2X d'hydrobies (bac A) semblaient toutefois montrer une décroissance plus importante que les lots d'ulves présents dans les bacs contenant une quantité X d'hydrobies (bac B).

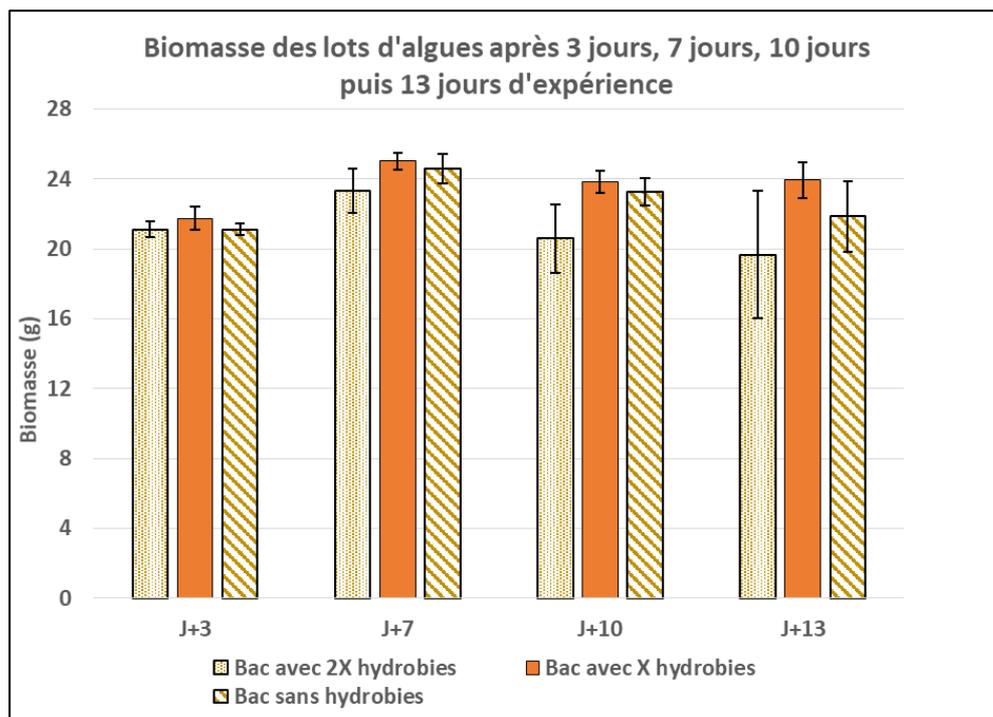


Figure 32 : Moyennes des biomasses algales après 3, 7, 10 et 13 jours d'expérience

6 Discussion générale

Expérimentation *in situ*

Les améliorations apportées en 2017 sur le dispositif et le plan expérimental *in situ* ont permis de mener à bien les 9 campagnes prévues dans le cadre de ce programme : pas de fouling sur les cages, aucune dégradation majeure du milieu devant les cages et bon état des ulves à la fin de chaque campagne de 7 jours.

Durant toute l'expérimentation *in situ*, tous les lots d'ulves ont présenté de la croissance par rapport à la biomasse initiale introduite à chaque début d'expérience. Toutefois, les lots d'ulves présents dans les cages situées en hauteur (lots H) ont produit de manière générale plus de biomasse que les lots d'ulves situés à proximité du sédiment (lots B). Les analyses statistiques ont précisément montré des différences significatives entre ces deux modalités pour les campagnes 2 (du 30 mai au 6 juin), 4 (du 28 juin au 5 juillet), 6 (du 25 juillet au 2 août) et 9 (du 18 au 25 septembre) avec pour chacune une croissance des lots H supérieure aux lots B. Ce résultat n'était pas attendu dans la mesure où plusieurs études réalisées dans les estuaires ont mis en évidence que les nutriments assimilés par les macroalgues provenaient en partie du flux sédimentaire (Kamer et al. 2004). Ainsi, il aurait été plus cohérent de constater une croissance favorisée des algues à proximité du sédiment, ces algues étant a priori dans des conditions nutritives privilégiées.

Les données de température et de lumière enregistrées par les sondes HOBO présentes dans les cages n'ont pas permis de déterminer avec précision des différences de température ou de lumière entre les deux modalités pouvant ainsi expliquer des conditions de croissance plus optimales pour les lots H. Toutefois, il se pourrait que les lots H disposent d'une quantité de lumière plus importante en situation d'immersion étant plus proche de la surface que les cages en contact du sédiment et du fait de turbidité éventuellement plus importantes pour les cages en contact du sédiment. Ces différences de conditions entre les deux modalités en phase d'immersion pourraient expliquer notamment les différences de croissance significative entre les deux lots lors des campagnes 2, 4 et 6 correspondant à des périodes de mortes-eaux durant lesquelles les phases d'immersion se situent en milieu de journée lorsque la température et la luminosité sont maximales et ainsi propices au développement algal. Les données de température et de lumière enregistrées à l'aide des sondes HOBO situées à l'extérieur des cages ont permis toutefois de suivre l'évolution de ces paramètres durant les campagnes 2 à 9, les valeurs moyennes de luminosité par campagne pouvant expliquer les taux de croissance atteints par les lots d'ulves et l'augmentation de température pouvant traduire une disponibilité de plus en plus importante des nutriments d'origine sédimentaire.

De plus, les températures significativement supérieures à celles enregistrées hors des cages sur l'ensemble des campagnes et en situation d'émersion peuvent s'expliquer par une protection contre les éléments extérieurs (i.e. vent) conférée par la structure. Les valeurs de luminosité significativement plus faibles à l'intérieur des cages pourraient également s'expliquer par un léger biais dû à l'auto-ombrage créé par le maillage de la toile.

L'analyse de l'évolution saisonnière des quotas de chaque triplicat et des algues du milieu a permis de mettre en évidence un profil type de variation saisonnière des quotas, observé sur la vasière du Lédano :

- **Pour l'azote**, les quotas élevés en début de saison (plus de 3 % de la matière sèche (M.S.) jusqu'à début juin) ont diminué au cours de l'été avec des plus faibles valeurs en fin juillet (inférieures à 2% de M.S. correspondant au seuil critique Q_{1N}) et ont augmenté en fin de saison jusqu'à atteindre fin septembre, des valeurs proches du début de saison. Cette diminution généralisée des quotas internes est normale et attendue en période estivale car elle correspond à l'augmentation naturelle des besoins de la croissance des algues (photopériode, température) dans un contexte de raréfaction de la ressource nutritive (baisse saisonnière des flux d'azote provenant des rivières). Les stocks intracellulaires en nitrate sont utilisés par les algues en période d'appauvrissement d'azote (Barr 2007). En 2017, les quotas azotés ont diminué à partir de juin, un mois plus tôt qu'en 2016. Ceci s'explique par le fait qu'en 2017, les proliférations d'ulves sont apparues dès le mois d'avril avec une quantité maximale atteinte en juin tandis que l'année 2016 était plus tardive avec des surfaces maximales d'ulves observées en juillet. En outre, en 2017 les flux apportés par le Trieux en juin étaient probablement nettement plus faibles qu'en 2016, année déjà de flux inférieurs à la moyenne pluriannuelle (base flux des cours d'eau voisins sur lesquels les mesures de flux sont effectuées Ic : 46 % de flux en juin 2017 de moins qu'en 2016 et Yar : 42 %). En 2017, lors de cette baisse estivale, les lots d'algues présentaient pour la plupart des quotas azotés en-dessous du seuil du quota critique (Q_{1N}), ce qui signifie que **durant cette période estivale, l'azote était un élément nutritif limitant pour la croissance des algues**. En 2016, aucune limitation par l'azote ni de différences entre les modalités (H et B) n'avaient été observées, ce qui signifie que la masse d'eau était suffisamment enrichie en azote pour les besoins de croissances des ulves ce qui ne permettait pas de distinguer un éventuel apport sédimentaire de ce nutriment. En 2017, un appauvrissement plus marqué de l'azote dans le milieu (d'après les teneurs dans les tissus des algues) et la contribution significative du sédiment dans l'apport d'azote ont été détectés lors des campagnes 7 et 8 effectuées du 22 août au 5 septembre. En effet, les quotas et les quantités en azote fixées des lots d'ulves proches du sédiment (lots B) étaient significativement plus élevés que pour les ulves situées en hauteur (lots H) malgré une croissance similaire. Ainsi, lorsque la masse d'eau est très appauvrie en azote comme en 2017, en particulier en milieu d'été, le relargage sédimentaire devient perceptible. Cela semble donc montrer que durant la période estivale, le sédiment peut jouer un rôle de soutien dans l'approvisionnement en azote nécessaire au développement ou au maintien des ulves. En effet, quand le niveau de nutriments est élevé dans la colonne d'eau, celle-ci est la première source pour les algues, les apports nutritifs provenant du sédiment n'intervenant que dans un second temps lorsque la source nutritive dans la colonne d'eau diminue (Kamer et al. 2004). En fin de saison (campagne 9), aucun effet du sédiment n'a été détecté et tous les quotas avaient augmenté, en relation, probablement, avec la diminution normale des besoins en sels nutritifs des algues (baisse progressive de la croissance en relation avec celles de la lumière et de la température).

- **Pour le phosphore**, l'évolution saisonnière des quotas observée en 2017 était similaire à celle constatée en 2016 avec en début de saison, des quotas proches ou inférieurs au seuil critique Q_{1P} (0,125 % de M.S.) et une augmentation des quotas à partir de fin juillet jusqu'en fin de saison atteignant des valeurs proches de 0,2 % de la matière sèche. Le phosphore utilisé par les ulves serait majoritairement d'origine sédimentaire et la progression des températures

estivales va d'une manière générale favoriser son flux de relargage. En effet, dans les régions tempérées, les flux de phosphate entre le sédiment et la colonne d'eau augmentent avec la température (Asmus et al. 2000). L'augmentation des quotas phosphorés des ulves de fin juillet jusqu'en fin de saison estivale serait donc expliquée par le fait que les ulves absorbent le phosphore issu de la reminéralisation sédimentaire tout en ne bénéficiant plus des conditions optimales de croissance (lumière et température), notamment en fin de saison estivale. En début de saison, du 23 mai au 5 juillet (campagne 1 à 4), tous les lots d'ulves (H, B et algues du milieu) ont présentés des quotas faibles et similaires n'indiquant pas un effet visible du relargage sédimentaire. Villares, Carballeira (2006) ont supposé dans leur étude que le sédiment ne libérait pas de phosphates dans l'eau en zone intertidale lorsque les couches supérieures du sédiment étaient oxydées, expliquant ainsi des basses concentrations de phosphore dans les algues. A partir de fin juillet (campagne 5) et jusqu'à fin septembre (campagne 9), les différences significatives des quotas et des quantités en phosphore fixées entre les lots d'ulves des modalités H et B ont mis en évidence l'effet de la proximité du sédiment dans l'apport de cet élément nutritif dans la mesure où les valeurs des lots B étaient significativement supérieures à celles des lots H.

Expérimentation en conditions contrôlées

Les recommandations émises en 2016 au niveau du dispositif et du plan expérimental ont été respectées en 2017. L'utilisation d'une eau de mer filtrée à 0,22 μm durant les expériences a permis de s'assurer qu'aucun développement de microorganismes (i.e. phytoplancton) pouvait biaiser les résultats. L'utilisation de toiles en maille d'1 mm placées entre la vase et les algues a permis d'éviter toutes interactions avec les hydrobies présentes dans le sédiment. Raccourcir les expériences à 5 jours a permis de maintenir les algues en bon état à la fin de chaque expérience. Enfin, arrêter le système de bullage la nuit avait pour but de provoquer des phases d'anoxie, favorisant le relargage sédimentaire de nutriments, phénomène existant dans le milieu naturel. Le relargage du phosphore en condition anoxique a été en effet établi par de nombreux auteurs. Hernandez et al. 1997 a démontré par ses expériences que la décomposition des biomasses algales dues aux fortes températures et les conditions anaérobiques dans les couches sédimentaires expliquaient des pics d'orthophosphates dans l'eau. Dans des conditions anaérobiques, Fe^{3+} dans le sédiment est réduit en composé soluble de Fe^{2+} et le phosphore lié initialement au complexe ferrique (Fe^{3+}) est ainsi diffusé graduellement dans l'eau (Rozan et al. 2002; Gao et al. 2013). La Figure 23 résume le phénomène de captage et de relargage du phosphore par le sédiment suivant des conditions anoxiques ou non.

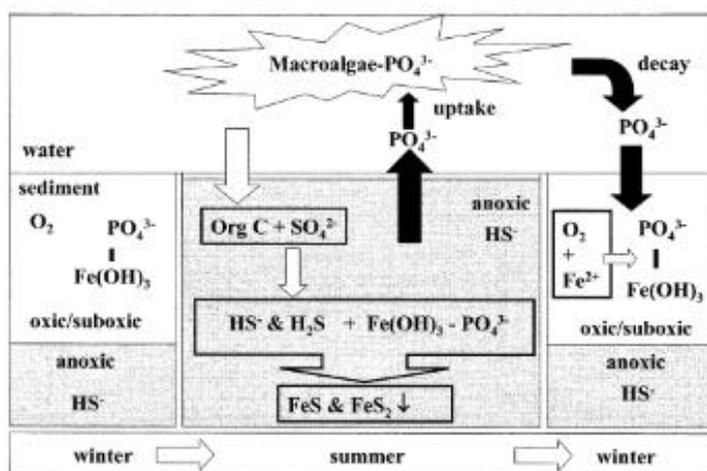


Fig. 6. Schematic of phosphate cycling (indicated with the filled darker arrows) as redox state changes in sediments. Phosphate adsorbed to Fe(III) solid phases is stored in oxic and suboxic sediments in the winter and early spring (lower left), then is converted to the dissolved phase and taken up by macroalgae (with a N : P of 20) in the summer as sulfate reduction occurs in the sediments (center and top) and finally is re-adsorbed to and stored on Fe(III) phases as oxic conditions are reestablished in the sediments in late fall and winter (lower right).

Figure 33 : Schéma du captage/relargage du phosphore sous condition soit anoxique soit oxygène du sédiment (Rozan et al. 2002).

Le relargage de l'azote en situation d'anoxie est par contre très peu démontré. Selon certains auteurs (Jørgensen, Richardson 1996), les effets de l'eutrophisation et de l'hypoxie induisent une inhibition de la nitrification et un relargage préférentiel d'ammonium.

L'analyse globale des résultats obtenus lors des trois séries d'expérience (biomasses, quotas, dosage eau de mer et vase), permet de discuter sur le niveau de contribution du sédiment dans la croissance des algues en fonction de l'élément nutritif ciblé (azote ou phosphore) et des conditions d'oxygénation.

Comme en 2016, les expériences testant des modalités avec ou sans sédiment ont montré que la croissance des ulves était plus importante en présence de sédiment. Toutefois, les taux de croissance des ulves ont, de manière générale, diminué au cours des 3 expériences successives de 5 jours, mettant en évidence un appauvrissement en nutriments de l'eau. Les quotas azotés et phosphorés de l'ensemble des lots d'ulves étaient en fin d'expérience, inférieurs aux niveaux critiques (Q_{1N} et Q_{1P}), ce qui indiquerait que ces deux nutriments étaient des éléments co-limitants pour la croissance des ulves lors de ces trois expériences. Ainsi, disposant probablement de peu de nutriments dans le milieu, les différents lots d'algues ont puisé dans leur stock interne les quantités d'azote et de phosphore nécessaires à leur développement. Les quotas initiaux des algues prélevées sur la vase du Lédano étaient limités en phosphore pour l'expérience 1, proches des seuils de limitation (Q_{1N} et Q_{1P}) pour l'expérience 2 et limités en azote pour l'expérience 3.

Les faibles teneurs en azote dans les algues et dans le milieu au début de l'expérience 3 a probablement co-limité l'absorption et l'utilisation d'autres nutriments tels que le phosphore, ce qui expliquerait la faible croissance algale observée lors de cette expérience. En effet, il a été démontré un processus de co-limitation des nutriments (azote et phosphore) chez les algues (Villares et Carballeira, 2006).

L'assimilation du phosphate peut notamment être limitée par une carence en azote dans l'algue en raison de la faible activité enzymatique et de la teneur en protéine, même si la disponibilité en phosphore est élevée.

Dans la mesure où les conditions lors de l'expérience 3 n'étaient pas suffisamment optimales pour obtenir des résultats homogènes au sein de chaque modalité et bien différenciés entre les modalités, il a été décidé de ne pas tenir compte de cette expérience. Afin d'éviter toutes réponses physiologiques des ulves limitées soit par l'azote soit par le phosphore soit par les 2 éléments nutritifs, il est recommandé pour de futures expériences (1) d'utiliser une eau suffisamment enrichie en nutriments et (2) de s'assurer que les quotas initiaux des algues soient supérieurs aux niveaux critiques. Pour la première recommandation, l'eau du milieu pourrait être renouvelée à chaque expérience en conservant les mêmes conditions d'enrichissement (sur l'un des deux sels nutritifs étudiés) établies de manière à éviter toute inhibition des réponses physiologiques des algues. Concernant le point (2) une période d'acclimatation des ulves dans des bassins d'eau de mer enrichie en nutriments qui permettrait d'homogénéiser les quotas initiaux et de les maintenir au-dessus d'un seuil critique serait préconisée.

Hormis l'expérience 3, l'analyse des expériences 1 et 2 a mis en évidence :

- le rôle du sédiment dans le développement des ulves lorsque la colonne d'eau est appauvrie en nutriments. Les résultats montrent une croissance et des valeurs en azote et phosphates fixés supérieurs en présence de vase et sous anoxie.
- un relargage sédimentaire favorisé par une période d'anoxie. Les résultats montrent des quotas et des quantités fixées en azote et en phosphore significativement supérieures en présence de vase et sous anoxie.

Afin de suivre le relargage sédimentaire en absence d'algue, des échantillons d'eau ont été prélevés après 24h au cours de l'expérience 1. Les résultats montrent de fortes concentrations en ammonium et très peu ou pas de phosphates dans l'eau. Ces résultats corroborent les hypothèses avancées par Thybo-Christesen et al. (1993). En parallèle, les analyses effectuées sur les échantillons de vase prélevés à T0 et T5 jours montrent une baisse des concentrations en azote sédimentaire et particulièrement pour la modalité avec anoxie et de très faibles variations des concentrations en phosphore sédimentaires. L'ensemble de ces résultats suggèrent un relargage sédimentaire dominés par les éléments azotés en présence d'anoxie nocturne. Ces résultats sont en contradiction avec les conclusions proposées pour les expériences de terrain suggérant relargage important de phosphate d'origine sédimentaire (cf ci-dessus) mais pourrait s'expliquer par la période de prélèvement de la vase pour la mise en place des expériences en milieu contrôlé. En effet, la vase a été prélevée mi-juin et l'effet du sédiment dans l'apport de phosphore n'a été perceptible d'après les résultats de l'expérimentation *in situ* qu'à partir de mi-juillet. Ainsi, de manière à percevoir plus finement les effets du relargage sédimentaire notamment du phosphore, il aurait été préférable de mettre en place cette expérimentation en juillet-août période à partir de laquelle ce phénomène a été observé dans les expérimentations *in situ* réalisées en 2016 et 2017. Etant donné que la condition anoxique, permet le relargage important du phosphore dans l'eau (Rozañ et al. 2002), il est possible que le sédiment prélevé mi-juin était suffisamment oxydé (pas de dégradation algale *in situ*, températures non élevées) et que les conditions anoxiques imposées ne soient pas suffisantes pour provoquer le relargage du phosphore de façon plus prononcée.

Estimation du flux sédimentaire et du fonctionnement écophysologique de l'algue en conditions contrôlées au moyen du modèle 0D

Un modèle 0D visant à simuler les processus bio-physico-chimiques intervenant dans la croissance de l'ulve a été élaboré et confronté directement aux résultats des expérimentations menées dans le cadre de ce rapport en conditions contrôlées utilisant des bacs pourvus ou non de sédiments qui ont été extraits de la vase du Lédano. Le protocole expérimental utilisant des bacs dépourvus de sédiment a permis la calibration et la validation du modèle 0D tandis que le protocole en présence de sédiment a permis d'approcher des valeurs de flux sédimentaires qui permettent de suivre l'évolution mesurée des quotas en N&P, de la biomasse en ulve et des teneurs en nitrate, ammonium et phosphate dans la colonne d'eau. **Les valeurs de relargage estimées avec le modèle 0D** (800 à 1500 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$ soit 30 à 60 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ pour l'ammonium et 20 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$ soit moins de 1 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ pour le phosphate) **sont cohérentes avec les valeurs fournies par la littérature** si l'on se réfère à la compilation des données de flux sédimentaire présentée dans CEVA (2015). Cette étude situe pour la plupart des sites un flux en ammonium compris entre 0 et 100 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ et un flux en phosphate compris entre 0 et 5 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$. Si la comparaison de ces mesures avec le modèle reste délicate en raison de la forte dispersion des valeurs issues de la littérature (fonction de nombreux paramètres tels que la nature du site étudié, la méthode de mesure utilisée, la saison étudiée), le modèle 0D apparaît comme un outil pertinent pour mieux comprendre le fonctionnement de l'ulve en interaction avec le sédiment et fournir des ordres de grandeurs de flux sédimentaires au modèle tridimensionnel.

Expérimentations complémentaires *in situ* et en conditions contrôlées

Ces expérimentations complémentaires réalisées *in situ* et au CEVA avait pour but d'évaluer l'effet de la présence des brouteurs tels que les hydrobie sur la croissance des ulves dans la mesure où cette interaction avait été désignée comme une des causes potentielles des pertes de biomasse algales observées à partir du mois d'août 2016 lors de l'expérimentation *in situ*.

Les résultats de ces expériences réalisées sur le terrain ou en conditions contrôlées ont permis de mettre en avant deux interprétations :

- En conditions optimales de croissance algale, la présence d'hydrobie favoriserait le développement des ulves sans relation évidente avec la biomasse d'hydrobie introduites. L'impact du broutage serait donc inférieur à la biomasse créée en conditions optimales de développement (nutriments, température, lumière). Le fouling des thalles d'ulves par des microalgues peut créer une interaction compétitive entre l'ulve et les microalgues pour la lumière créant des conditions dans lesquelles le broutage du biofilm couvrant les ulves pourrait faciliter la croissance de l'algue (Guidone et al. 2010).
- En conditions « non optimales », l'impact du broutage sur les ulves serait négatif. En effet, lors de l'expérience 3, lorsque les ulves ne disposaient plus au cours du 10^{ème} jour des paramètres tels que la lumière nécessaire à leur développement, il a été mis en évidence la perte de biomasse dû au broutage qui n'est pas compensé par de la croissance dans ces conditions. Lors des dernières expériences *in situ*, aucun effet négatif des hydrobie n'a été observé, ce qui peut s'expliquer par le fait que le milieu était très dégradé devant les cages. Dans ces conditions, les deux lots d'ulves ont perdu autant de biomasse en fin d'expérience sans relation avec la présence d'hydrobie introduites.

7 Conclusion

L'utilisation des ulves pour déterminer l'importance de la source sédimentaire dans l'apport de nutriments est une approche prometteuse qui permet d'effectuer une première évaluation de l'implication des flux dans la biomasse algale sans pour autant disposer du détail des différents processus dont la mesure est complexe.

Les expérimentations *in situ* réalisées en 2016 et en 2017 ont mis en évidence **la contribution du sédiment dans l'apport de phosphore pour les ulves**. Les vases estuariennes constituent un réservoir très important de phosphate pouvant être relargués dans la colonne d'eau plus ou moins rapidement en fonction de l'oxygénation du milieu (Menesguen 2018). En effet, sur l'ensemble des campagnes 2017, les quotas et les fixations en phosphore se sont révélés plus importants pour les algues en contact avec le sédiment. Au contraire en 2016, aucun impact positif du sédiment n'avait été observé après le mois d'août probablement du fait de concentrations en phosphate dans la colonne d'eau suffisantes pour le développement algal.

En 2016, aucune contribution en azote sédimentaire n'a été mise en évidence au cours des expérimentations. Les teneurs en azote dans la colonne d'eau seraient globalement suffisantes pour assurer la croissance algale. En 2017, l'effet de la proximité du sédiment sur les teneurs en azote des ulves et leur fixation a été observé lors des campagnes 7 et 8 du mois d'août. Lors de ces campagnes, les quotas et les quantités fixées en azote des algues des cages B en contact direct du sédiment étaient significativement plus élevés que pour les cages H surélevées. Ainsi, les résultats obtenus en 2016 et en 2017 suggèrent que le sédiment jouerait un rôle de pourvoyeur d'azote lorsque la disponibilité de ce dernier est faible dans la colonne d'eau.

Afin d'augmenter la représentativité des résultats et obtenir des données interannuelles concernant la contribution sédimentaire aux biomasses algales de la vasière du Lédano, une nouvelle série d'expérimentation s'impose avec les propositions suivantes :

- augmenter le nombre de cages de 3 à 4 par modalité de manière à renforcer les analyses statistiques
- écarter suffisamment les cages H des cages B de manière à éviter tout effet éventuel d'ombrage en situation d'émergence et de diminuer la turbidité éventuelle créée par les cages voisines en situation d'immersion.

Les expérimentations en conditions contrôlées ont, comme en 2016, mis en évidence une augmentation de la croissance des ulves en présence de sédiment, ce qui suggère que le sédiment serait une source de nutriments pour les ulves lorsque les concentrations dans l'eau sont faibles.

Il a été mis en évidence une augmentation de la fixation d'azote et de phosphore suite à des périodes d'anoxie (arrêt du bullage en nocturne) qui accentuerait le relargage sédimentaire. Dans le but d'affiner l'évaluation des flux sédimentaires de nutriments captés par les ulves et alimenter le modèle 0D, il serait nécessaire :

- de maintenir des périodes d'anoxie de manière à accentuer le relargage sédimentaire,
- D'ajouter une modalité « Vase sans Ulves » afin de disposer d'un bac témoin permettant d'identifier les flux sédimentaires non absorbés par les algues,

- Amender les concentrations en nutriments afin d'éviter des carences qui affecteraient la physiologie des algues,
- D'ajouter une période d'acclimatation du matériel biologique de manière à homogénéiser les quotas de base des algues,
- D'augmenter le nombre de réplicats à $n=4$ par modalité pour renforcer les analyses statistiques.

Concernant l'étude complémentaire sur l'effet des interactions hydrobies/ulves, il a été mis en évidence un effet positif du broutage des hydrobies sur la croissance des ulves probablement due à l'élimination du biofilm présent sur les thalles augmentant ainsi l'accès à la lumière des algues. Néanmoins, lorsque les algues sont soumises à un stress (manque de nutriments et de luminosité), la présence des hydrobies (broutage) provoquerait une perte de biomasse en accélérant le processus de dégradation de l'algue. Dans un souci d'homogénéité entre les modalités (avec et sans sédiment), il apparaît donc indispensable de s'affranchir de la présence d'hydrobies.

8 Bibliographie

- Asmus, R. M.; Sprung, M.; Asmus, H. (2000): Nutrient fluxes in intertidal communities of a South European lagoon (Ria Formosa) - similarities and differences with a northern Wadden Sea bay (Sylt-Romo Bay). In *Hydrobiologia* 436, pp. 217–235. DOI: 10.1023/a:1026542621512.
- Bachelet, Guy; Yacine-Kassab, Mohamed (1987): Intégration de la phase post-recrutée dans la dynamique des populations du gastéropode intertidal *Hydrobia ulvae* (Pennant). In *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 111 (1), pp. 37–60. DOI: 10.1016/0022-0981(87)90019-0.
- Barr, N. G. (2007): Aspects of nitrogen metabolism in the green alga *Ulva*; Developing an indicator of seawater nitrogen loading. University of Auckland.
- Carlos Sola, J. (1996): Population dynamics, reproduction, growth, and secondary production of the mud-snail *Hydrobia ulvae* (Pennant). In *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 205 (1-2), pp. 49–62. DOI: 10.1016/S0022-0981(96)02597-X.
- CEVA (2015). Contribution du sédiment aux cycles de l'azote et du phosphore en zone côtière - Impact potentiel sur les marées vertes. Annexe au rapport 2014 du projet 1 du programme CIMAV.
- Gao, Li; Zhang, Luhua; Hou, Jinzhi; Wei, Quan; Fu, Feng; Shao, Hongbo (2013): Decomposition of macroalgal blooms influences phosphorus release from the sediments and implications for coastal restoration in Swan Lake, Shandong, China. In *Ecological Engineering* 60 (0), pp. 19–28. Available online at <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925857413003066>.
- Guidone, M.; Thornber, C. S.; Field, E. (2010): Snail grazing facilitates growth of a bloom-forming alga. In *Marine Ecology Progress Series* 420, pp. 83–89. DOI: 10.3354/meps08894.
- Hernandez, I.; Peralta, G.; PerezLlorens, J. L.; Vergara, J. J.; Niell, F. X. (1997): Biomass and dynamics of growth of *Ulva* species in Palmones river estuary. In *Journal of Phycology* 33 (5), pp. 764–772. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1997.00764.x.
- Jørgensen, Bo Barker; Richardson, Katherine (1996): Eutrophication in Coastal Marine Ecosystems. Washington, D. C.: American Geophysical Union (52).
- Kamer, K.; Fong, P.; Kennison, R. L.; Schiff, K. (2004): The relative importance of sediment and water column supplies of nutrients to the growth and tissue nutrient content of the green macroalga *Enteromorpha intestinalis* along an estuarine resource gradient. In *Aquatic Ecology* 38 (1), pp. 45–56.
- Menesguen, Alain (2018): Les marées vertes. 40 clés pour comprendre.
- Pagand, Pascal: Traitement des effluents piscicoles marins par lagunage à haut rendement algal. Université de Montpellier 1. Available online at <http://ppagand.free.fr/>.
- Parker, H. S. (1981): Influence of relative water motion on the growth, ammonium uptake and carbon and nitrogen composition of *Ulva lactuca* (Chlorophyta). In *Mar. Biol.* 63 (3), pp. 309–318. DOI: 10.1007/BF00396001.
- Perrot, Thierry; Rossi, Nadège; Ménesguen, Alain; Dumas, Franck (2014): Modelling green macroalgal blooms on the coasts of Brittany, France to enhance water quality management. In *Journal of Marine Systems* 132, pp. 38–53. DOI: 10.1016/j.jmarsys.2013.12.010.

Rozan, T. F.; Taillefert, M.; Trouwborst, R. E.; Glazer, B. T.; Ma, S. F.; Herszage, J. et al. (2002): Iron-sulfur-phosphorus cycling in the sediments of a shallow coastal bay: Implications for sediment nutrient release and benthic macroalgal blooms. In *Limnology and Oceanography* 47 (5), pp. 1346–1354.

Thybo-Christesen, Mette; Rasmussen, Michael Bo; Blackburn, T. Henry (1993): Nutrient fluxes and growth of *Cladophora sericea* in a shallow Danish bay. In *Marine Ecology Progress Series* 100, p. 273.

Villares, R.; Carballeira, A. (2003): Seasonal variation in the concentrations of nutrients in two green macroalgae and nutrient levels in sediments in the Rias Baixas (NW Spain). In *Estuarine Coastal and Shelf Science* 58 (4), pp. 887–900. DOI: 10.1016/j.ecss.2003.07.004.

Villares, R.; Carballeira, A. (2006): Trophic categorization in the Rias Baixas (NW Spain): Nutrients in water and in macroalgae. In *Scientia Marina* 70 (1), pp. 89–97.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Protocole expérimentation *in situ*

ANNEXE 2: Evolution saisonnière de l'état des algues et des cages à la fin de chaque campagne

ANNEXE 3 : résultats des tests statistiques réalisés sur les données de biomasses algales et des données environnementales obtenues lors de l'expérience *in situ*

ANNEXE 4 : Tableau de synthèse des coefficients de marée et des périodes d'immersion et d'émersion des cages *in situ* (7m de hauteur) à chaque date de campagne

ANNEXE 5 : Protocole expérimentation en conditions contrôlées

ANNEXE 6 : Données granulométriques des échantillons de vase

ANNEXE 1 : Protocole expérimentation *in situ*

Protocole sur le terrain

- **Matériel :**
 - Waders ou bottes avec pantalon ciré
 - 6 Sachets plastiques de congélations avec les codes cage, date et lieu à noter au préalable
 - Glacière sans bloc de glace
 - Sac de plongée (pour le prélèvement d'algues)
 - Appareil photo
 - 2 Planches de Body-board
- **Prélèvement des ulves dans le milieu**
 - Prendre des photos de la zone de prélèvement proche du dispositif.
 - Remplir d'ulves un sac de plongée jusqu'à la moitié
- **Prise de photos du dispositif expérimental**
 - Une photo vue d'ensemble du dispositif
 - De gauche à droite, prendre pour chaque cage une photo extérieure de la cage et une photo intérieure.
 - Enlever ensuite toutes algues présentes sur le dispositif
- **Prélèvement/renouvellement des ulves dans les cages**
 - Pour chaque cage, prélever toutes les ulves, les mettre dans les sacs de congélation correspondants, les fermer et les stocker dans la glacière.
 - Si renouvellement d'expérience : mettre chaque nouveau lot d'ulves dans les cages respectives.
 - Avant de partir, bien vérifier si les fenêtres des cages sont bien refermées.

Protocole au CEVA

- **Préparation des lots d'ulves pour le renouvellement de l'expérimentation *in situ***
 - Préparer 6 sacs de congélation en inscrivant le code cage
 - Trier et nettoyer les ulves prélevées sur la vasière : utiliser 3 bassines remplies d'eau de mer.
 - Presser les ulves à la main et peser pour obtenir un poids frais total de 600 g.
 - Répartir 100 g d'ulves dans chaque sac de congélation.
 - Humidifier légèrement à l'eau de mer chaque lot d'ulves.
 - Fermer les sacs et les remettre dans la glacière.
 - Garder le surplus d'ulves restant dans le sac de plongée et les mettre dans la chambre froide, elles serviront pour effectuer les quotas du lot d'algues prélevées dans le milieu.
- **Préparation des lots d'ulves pour l'analyse au laboratoire**
 - Préparer 7 sacs de congélation en inscrivant le site de l'étude, le code cage ou le code 1M (M pour milieu) et la date
 - Trier et nettoyer les lots d'ulves prélevées dans les cages ou sur la vasière (algues du milieu): utiliser 3 bassines remplies d'eau de mer.
 - Presser les ulves à la main et peser.
 - Rincer rapidement les ulves dans une bassine d'eau distillée et presser les algues à la main avant de les mettre dans les sacs de congélation correspondants.
 - Pour chaque sac, ne garder que 100 g d'ulves pour l'analyse en laboratoire.
 - Fermer les sacs et les placer au congélateur (-20 °C).

ANNEXE 2: Evolution saisonnière de l'état des algues et des cages à la fin de chaque campagne

30 mai 2017



6 juin 2017



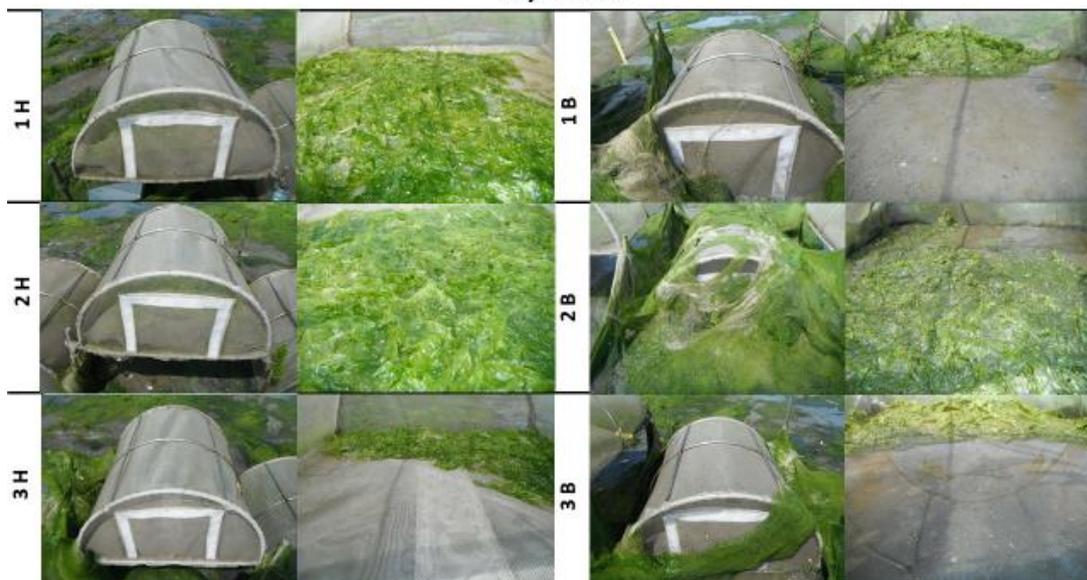
28 juin 2017



5 juillet 2017



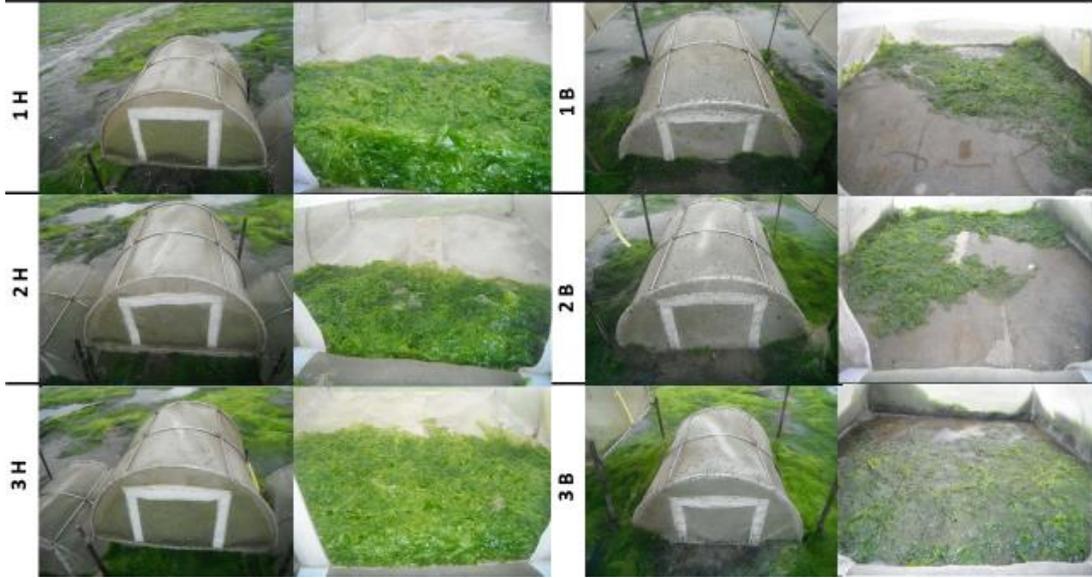
25 juillet 2017



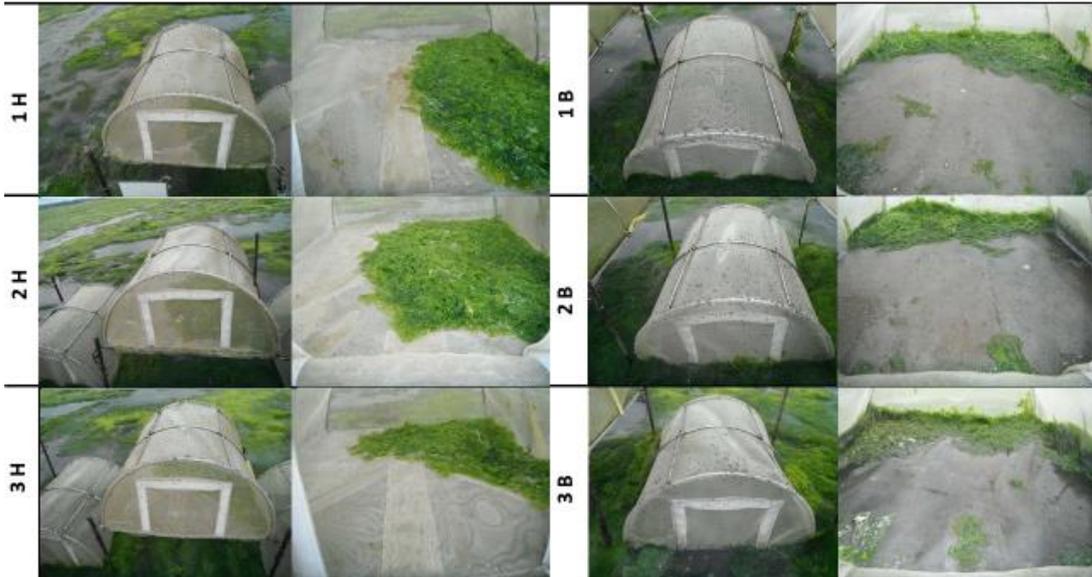
2 août 2017



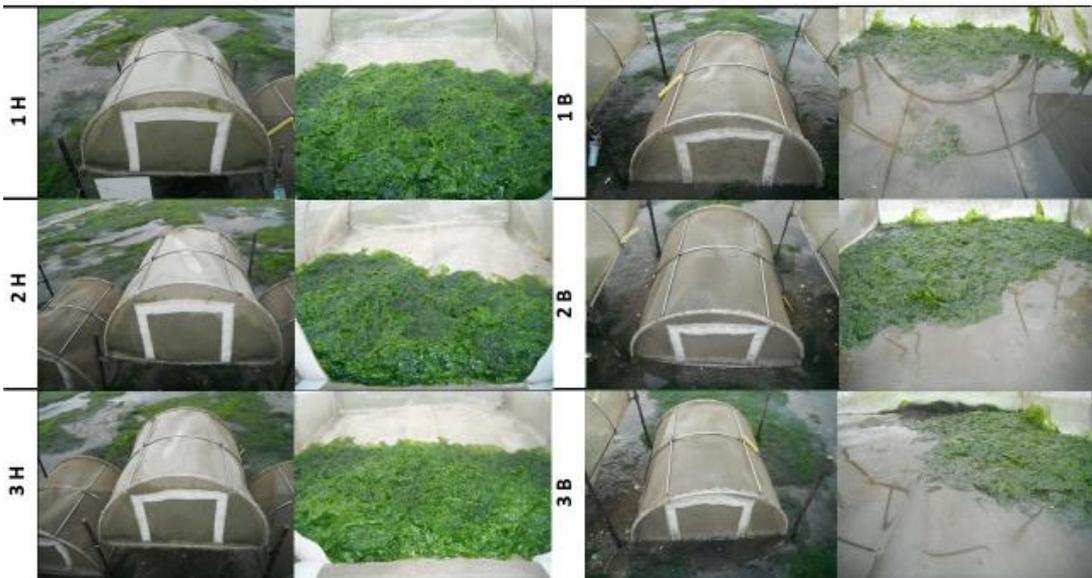
29 août 2017



5 septembre 2017



25 septembre 2017



ANNEXE 3 : résultats des tests statistiques réalisés sur les données de biomasses algales et des données environnementales obtenues lors de l'expérience *in situ*

Résultats des tests statistiques (Mood) réalisés sur les données de biomasses des lots d'ulves H et B à chaque campagne.

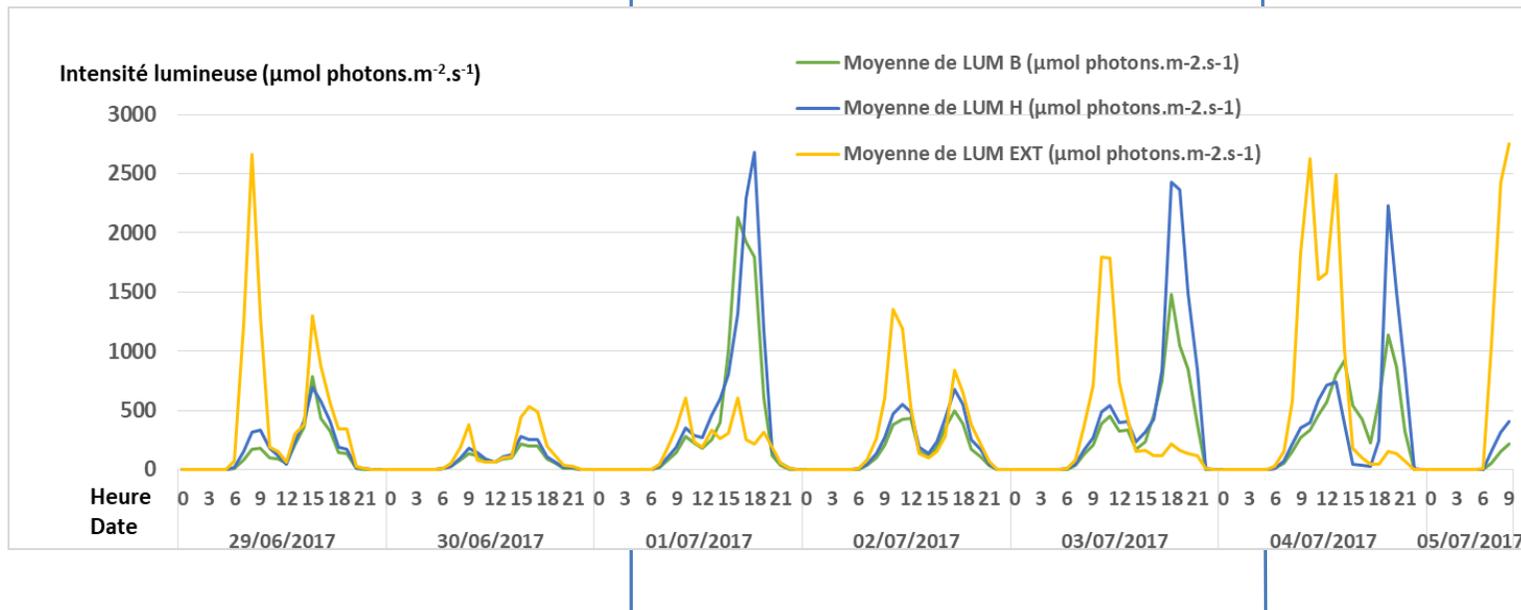
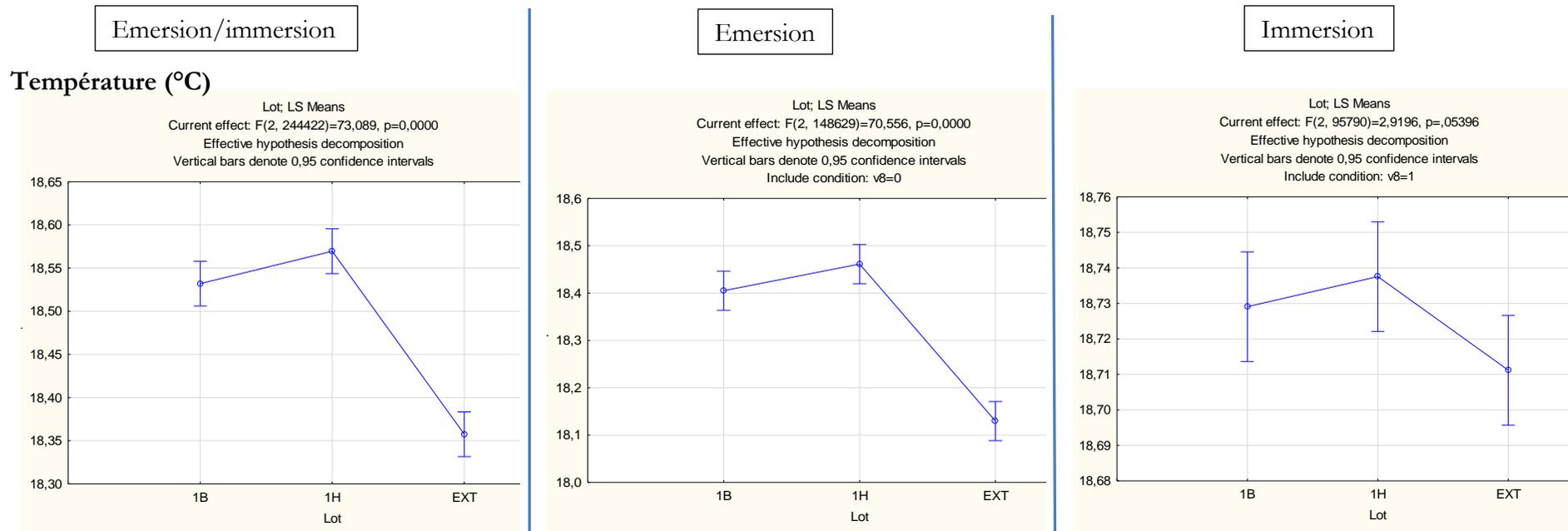
Campagne	Médiane			Quartile 1		Quartile 3		Test de Mood (non paramétrique)	
		lots H	Lots B	lots H	Lots B	lots H	Lots B	Valeur de P	Interprétation
1	Biomasse	138,1	143,5	133,7	139,5	142,2	144,9	0,414	H = B
2	Biomasse	175,5	158,4	174,5	152,7	178,2	160,3	0,014	H > B
3	Biomasse	123,88	124,56	110,55	115,95	137,58	124,72	0,414	H = B
4	Biomasse	161,29	149,73	159,34	136,86	161,95	151,02	0,014	H > B
5	Biomasse	120,2	115,8	112,4	115,6	126,2	121,1	0,414	H = B
6	Biomasse	144,4	119,7	135,9	118	145,3	124,1	0,014	H > B
7	Biomasse	130	109,5	113	104	131,6	117,7	0,414	H = B
8	Biomasse	134,3	127,1	124	119,1	135,7	137,6	0,414	H = B
9	Biomasse	114,8	131,1	143	129,6	146,8	133	0,014	H > B

Analyses statistiques réalisées sur les données environnementales enregistrées à l'extérieur ou à l'intérieur des cages H et B lors de l'expérimentation *in situ*.

- Statistiques descriptives des données environnementales enregistrées par campagne :

Campagne	Lot	N	TEMPERATURE (°C)				LUMIERE ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)			
			Moyenne	Min	Max	SD	Moyenne	Min	Max	SD
2	1B	10711	17,27322	10,45500	33,53500	3,492528	146,0612	0,00	2854,774	228,5085
3	1B	10580	19,19132	12,78700	31,77800	3,285825	153,1093	0,00	3466,512	302,6781
4	1B	9181	18,01012	12,69000	30,15400	3,115221	212,8216	0,00	3670,424	390,7790
5	1B	10440	19,52304	12,01300	31,67600	3,629787	156,4813	0,00	3466,512	305,0206
6	1B	10741	18,92609	10,65100	27,17300	2,807305	96,01325	0,00	1937,168	196,2944
7	1B	10470	19,91993	9,866000	32,39400	4,316188	132,2108	0,00	1937,168	237,5921
8	1B	9361	18,44349	11,33400	29,65200	3,459709	187,2338	0,00	2548,906	395,8934
9	1B	9991	16,83253	6,978000	28,15900	4,036694	133,1180	0,00	2039,126	318,4607
2	1H	10711	17,59942	9,669000	33,74300	4,028212	224,4372	0,00	2243,036	382,2499
3	1H	10580	19,13709	12,20700	31,47200	3,451162	192,5901	0,00	3262,599	359,3945
4	1H	9181	18,06052	12,30400	31,26800	3,322683	270,2933	0,00	3058,686	516,5076
5	1H	10440	19,61423	12,01300	31,88000	3,827525	251,9362	0,00	3262,599	458,9471
6	1H	10741	19,02969	9,669000	29,15200	3,203010	158,3764	0,00	2446,949	315,1502
7	1H	10470	19,88711	9,077000	32,29100	4,630305	300,8356	0,00	2446,949	519,9153
8	1H	9361	18,19487	10,84600	28,06000	3,494303	202,0243	0,00	3160,644	386,2426
9	1H	9991	16,86071	5,655000	30,86200	4,562718	182,5037	0,00	2446,949	378,9707
2	EXT	10711	17,43600	9,965000	33,74300	3,692254	480,5196	0,00	4893,899	916,9407
3	EXT	10580	18,65939	12,59400	32,60000	2,864941	145,2046	0,00	4282,162	383,0621
4	EXT	9181	17,83308	12,30400	31,98300	2,911754	308,0782	0,00	5505,637	612,9530
5	EXT	10440	19,24442	12,01300	33,95300	3,435346	346,8818	0,00	5505,637	788,4852
6	EXT	10741	18,87785	9,965000	30,05400	2,908898	295,4268	0,00	5097,812	561,9822
7	EXT	10470	19,67639	9,275000	32,80700	4,286509	300,4523	0,00	3670,424	656,0796
8	EXT	9361	18,15486	10,94400	30,55800	3,445528	288,5209	0,00	4486,074	741,1145
9	EXT	9991	16,82937	6,268000	31,67600	4,422012	412,8330	0,00	4893,899	1012,587

- Test « One Way Anova » sur toutes les campagnes



ANNEXE 4 : Tableau de synthèse des coefficients de marée et des périodes d'immersion et d'émersion des cages *in situ* (7m de hauteur) à chaque date de campagne

Campagne	Date	Coefficient	Période d'immersion			Période d'émersion		
			Hauteur d'eau (7m)	Heure PM (matin)	Hauteur d'eau (7m)	Hauteur d'eau (7m)	Heure PM (soir)	Hauteur d'eau (7m)
1	24/05/2017	88	03:53	06:29	08:59	16:19	18:56	21:28
	25/05/2017	99	04:43	07:22	09:55	17:06	19:46	22:20
	26/05/2017	105	05:32	08:13	10:47	17:53	20:34	23:10
	27/05/2017	107	06:21	09:01	11:36	18:39	21:20	23:57
	28/05/2017	103	07:09	09:48	12:22	19:24	22:04	00:42
	29/05/2017	95	07:58	10:33	13:07	20:11	22:49	01:26
	30/05/2017	83	08:48	11:19	13:51	21:01	23:34	02:10
2	30/05/2017	83	08:48	11:19	13:51	21:01	23:34	02:10
	31/05/2017	70	09:43	12:08	14:35	--:--		
	01/06/2017	64	21:56	00:24	02:56	10:45	13:03	15:24
	02/06/2017	54	23:01	01:24	03:48	11:55	14:09	16:23
	03/06/2017	50	00:15	02:34	04:51	13:07	15:22	17:34
	04/06/2017	51	01:28	03:46	06:02	14:10	16:29	18:45
	05/06/2017	56	02:30	04:50	07:09	15:01	17:25	19:47
06/06/2017	62	03:21	05:45	08:07	15:45	18:13	20:38	
3	21/06/2017	70	02:30	04:57	07:21	15:00	17:30	19:58
	22/06/2017	81	03:28	06:01	08:29	15:54	18:30	21:02
	23/06/2017	92	04:23	07:00	09:31	16:46	19:25	22:00
	24/06/2017	99	05:17	07:56	10:28	17:36	20:17	22:53
	25/06/2017	103	06:09	08:48	11:20	18:24	21:06	23:43
	26/06/2017	102	06:59	09:36	12:09	19:11	21:52	00:30
	27/06/2017	96	07:47	10:22	12:55	19:58	22:37	01:14
28/06/2017	87	08:35	11:07	13:37	20:45	23:20	01:55	
4	28/06/2017	87	08:35	11:07	13:37	20:45	23:20	01:55
	29/06/2017	75	09:24	11:50	14:17		--:--	
	30/06/2017	69	21:35	00:03	02:35	10:15	12:34	14:57
	01/07/2017	58	22:28	00:50	03:16	11:11	13:25	15:41
	02/07/2017	49	23:30	01:45	04:02	12:15	14:25	16:35
	03/07/2017	45	00:40	02:51	05:00	13:22	15:34	17:43
	04/07/2017	46	02:51	04:01	07:16	15:14	16:40	19:56
05/07/2017	51	03:41	05:05	08:15	15:57	17:36	20:48	
5	18/07/2017	55	23:39	01:56	04:14	12:20	14:34	16:49
	19/07/2017	56	00:54	03:12	05:29	13:32	15:52	18:12
	20/07/2017	63	02:08	04:31	06:51	14:38	17:07	19:33
	21/07/2017	74	03:14	05:43	08:08	15:38	18:13	20:44
	22/07/2017	85	04:13	06:47	09:15	16:33	19:11	21:45
	23/07/2017	94	05:08	07:45	10:15	17:24	20:05	22:40
	24/07/2017	100	05:59	08:37	11:07	18:12	20:54	23:30
25/07/2017	102	06:47	09:24	11:55	18:58	21:39	00:15	
6	26/07/2017	98	07:32	10:07	12:37	19:42	22:20	00:56
	27/07/2017	90	08:16	10:47	13:16	20:24	22:59	01:33
	28/07/2017	79	08:57	11:24	13:51	21:07	23:35	02:06
	29/07/2017	67	09:39	12:00	14:23		--:--	
	30/07/2017	61	21:51	00:12	02:37	10:24	12:38	14:56
	31/07/2017	49	22:42	00:54	03:10	11:19	13:25	15:36
	01/08/2017	40	23:48	01:49	03:52	12:30	14:31	16:33
02/08/2017	37	01:10	03:05	04:55	13:46	15:52	17:52	
7	22/08/2017	101	17:58	20:39	23:15	06:30	09:07	11:37
	23/08/2018	101	18:40	21:20	23:56		--:--	
	24/08/2017	99	07:10	09:45	12:15	19:20	21:58	00:32
	25/08/2017	92	07:48	10:20	12:50	19:58	22:31	01:05
	26/08/2017	82	08:24	10:52	13:20	20:34	23:03	01:33
	27/08/2017	69	08:59	11:22	13:48	21:12	23:33	01:58
	28/08/2017	56	09:36	11:53	14:14		--:--	
29/08/2017	50	21:55	00:06	02:23	10:22	12:29	14:43	
8	29/08/2017	50	21:55	00:06	02:23	10:22	12:29	14:43
	30/08/2017	38	22:53	00:49	02:50	11:29	13:24	15:24
	31/08/2017	31	00:22	02:00	03:36	13:05	14:57	16:40
	01/09/2017	33	02:03	03:43	05:12	14:24	16:27	18:22
	02/09/2017	42	03:00	05:00	06:55	15:11	17:29	19:42
	03/09/2017	54	03:40	05:54	08:08	15:50	18:17	20:40
	04/09/2017	66	04:16	06:40	09:03	16:27	18:59	21:28
05/09/2017	77	04:52	07:21	09:49	17:04	19:40	22:12	
9	18/09/2017	80	03:57	06:31	08:59	16:10	18:50	21:25
	19/09/2017	90	04:43	07:21	09:51	16:56	19:38	22:13
	20/09/2017	97	05:27	08:04	10:36	17:39	20:20	22:55
	21/09/2017	99	06:06	08:43	11:15	18:18	20:57	23:32
	22/09/2017	97	06:42	09:18	11:49	18:54	21:31	00:05
	23/09/2017	91	07:15	09:49	12:21	19:28	22:01	00:34
	24/09/2017	82	07:47	10:18	12:49	20:01	22:30	01:00
25/09/2017	71	08:18	10:45	13:14	20:34	22:57	01:23	

ANNEXE 5 : Protocole expérimentation en conditions contrôlées

Protocole sur le terrain

Le sédiment et les ulves seront prélevés à la vasière du Ledano où se trouve l'expérience *in situ*. Sur les 9 bacs prévus pour l'expérimentation en laboratoire, 6 bacs contiennent du sédiment. Le prélèvement du sédiment sera effectué qu'une seule fois tandis que le prélèvement des algues fera l'objet de 3 sorties terrain à raison d'un prélèvement par expérience.

- **Matériel :**

- Waders ou bottes avec pantalon ciré
- 7 bacs en plastique (dont 1 pour analyse de vase initiale)
- Boîte de prélèvement de sédiment en inox
- Plaquette blanche
- Couteau
- Règle
- Gants
- Sac de plongée (pour le prélèvement d'algues)
- Appareil photo
- 2 Planches de Body-board

- **Prélèvement du sédiment**

Prélever la vase dans un environnement proche du dispositif de l'expérience *in situ* et sur une zone de préférence non recouverte par les algues.



Utiliser la règle pour vérifier la profondeur de la vase qui doit être minimum à 5 cm d'épaisseur. Utiliser la plaquette blanche pour avoir la bonne dimension de la zone à prélever et marquer aussi avec le couteau une zone à côté pour pouvoir accéder avec la boîte en inox. Enlever la vase à côté de la zone à prélever et insérer la boîte pour effectuer le prélèvement jusqu'à la moitié.



Pour que le carottage de vase soit de la même épaisseur partout, couper avec le couteau la partie basse de l'échantillon et enlever le surplus pour obtenir une épaisseur de 5 cm. Il faut ensuite introduire la boîte en inox dans le bac et faire glisser la vase en la poussant à l'aide d'une plaquette.



Effectuer les mêmes étapes pour compléter le bac de l'autre moitié de vase.



Le port de gants peut être conseillé pour éviter toute coupure avec la boîte, le couteau et les coquillages présents dans la vase.

Cette manipulation est à reproduire 7 fois comprenant 6 prélèvements pour l'expérimentation et 1 prélèvement supplémentaire pour caractériser le sédiment en début d'expérimentation (granulométrie, teneur en azote et phosphore et matière organique).

- **Prélèvement des algues vertes**

Avant chacune des 3 expériences réalisées au CEVA, prélever les ulves à différents endroits proches du site d'étude de l'expérimentation *in situ*. Remplir le sac de plongée jusqu'au quart pour obtenir suffisamment d'algues qui serviront à initier chaque expérience et à analyser les quotas initiaux des algues en azote et phosphore au début de chaque expérience. Cette opération est donc à renouveler au total 3 fois.

Expérimentation complémentaire sur l'impact des hydrobies sur les algues

Les prélèvements de vase et d'algues sont à réaliser en respectant le protocole décrit précédemment.

Pour chacune des 3 expériences, 7 prélèvements de vase sont à réaliser dont 6 pour initier chaque expérience et 1 pour déterminer la densité d'hydrobies sur le lieu de prélèvement.

La densité d'hydrobies moyenne sur 1 dm³ est obtenue de la manière suivante :

- Diviser 1 prélèvement de vase dont le volume est estimé à 3 dm³ en 3 échantillons de 1 dm³.
- Passer au tamis les 3 échantillons
- Déterminer le nombre d'hydrobies sur chaque dm³
- Déterminer le poids de l'effectif total d'hydrobies présentes sur ce dm³
- En déduire la densité moyenne (Nb/Masse) d'hydrobies au dm³

Protocole au CEVA

- **Préparation des bacs en début d'expérimentation :**

- Mettre délicatement de l'eau de mer dans les 6 bacs contenant du sédiment de manière à ne pas trop remettre en suspension les particules de vase. Remplir les 6 bacs jusqu'à 16 l d'eau.
- Laisser décanter la vase au minimum 12 h et enlever les hydrobiees au fur et à mesure qu'elles remontent à la surface par manque d'oxygène.
- Placer les toiles dans les bacs de manière à créer une barrière entre la vase et les algues.
- Trier et nettoyer à l'aide de bassines remplies d'eau de mer, les algues prélevées dans le milieu et les presser pour obtenir un poids frais total de 192 g (9 lots de 16 g pour l'expérience et 3 lots de 16 g pour les échantillons témoins à T0)
- Avant d'introduire les algues dans les bacs déclenchant le début d'expérience, effectuer les prélèvements d'eau prévus à T0.

- **Préparation des échantillons de vase en début et fin d'expérimentation (analyses):**

3 échantillons de vase seront à préparer :

- 1 échantillon en début d'expérimentation (7^{ème} prélèvement de vase effectué sur le terrain) pour l'analyse de la granulométrie et des teneurs initiales en azote et phosphore.
- 2 échantillons en fin d'expérimentation (un bac par modalité « Vase et Anoxie » et par modalité « Vase Sans Anoxie ») pour l'analyse de la granulométrie et des teneurs finales en azote et phosphore. Avant de réaliser les deux prélèvements, siphonner l'eau des bacs choisis.

Chaque échantillon doit être prélevé sur toute la colonne de sédiment et doit peser au moins 265 g pour obtenir un poids sec minimum de 120 g (poids demandé par le laboratoire d'analyses).

Placer chaque échantillon sur une barquette en alu et mettre à l'étuve plus de 24 h à 50°C.

Après séchage, conserver chaque échantillon dans un flacon nettoyé au préalable dans une solution acide à 10 % et rincé à l'eau distillée.

- **Préparation des échantillons d'algues (analyses) :**

Ce protocole concerne les algues prélevées dans le milieu pour déterminer les quotas initiaux des algues avant expérience et les algues prélevées dans les bacs en fin d'expérience.

- Nettoyer les lots d'ulves: utiliser 3 bassines remplies d'eau de mer.
- Presser les ulves à la main (la quantité d'ulves à prendre doit pouvoir être contenue dans la paume de la main et bien presser 3 fois chaque boulette jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de gouttes) et peser.

- Rincer rapidement les ulves dans une bassine d'eau distillée (pas plus de 15 secondes) et presser les algues à la main avant de les mettre dans des sacs de congélation.
- Fermer les sacs marqués de la date, du nom de projet et du n° de lot et les placer au congélateur (-20 °C).
- Après lyophilisation des sacs, noter le poids sec et étiqueter chaque sac avant de les envoyer au laboratoire pour analyses.

• Prélèvement EAU DE MER :

Préparation des flacons avant prélèvement

- Laver les flacons à l'acide à 10 % (solution HCl) en les trempant dans une bassine.
Attention : ne jamais mettre de l'eau dans l'acide mais toujours de l'acide dans l'eau pour éviter le risque d'une réaction chimique violente.
- Rincer les flacons à l'eau distillée 3 fois.

Préparation des échantillons d'eau

- Rincer les flacons dans l'eau des bacs 3 fois. La manipulation des flacons doit se faire avec des gants sans poudre pour éviter toute contamination.
- Après rinçage, faire les prélèvements d'eau.
- Noter sur les flacons les codes de la manière suivante suivant le temps d'expérience et le bac concerné par le prélèvement :
EF0VA1 (Eau Filtrée à T₀ Vase et Anoxie bac n°1) ; EF3VSA2 (Eau Filtrée à T₃ Vase Sans Anoxie bac n°2) ou EF5SVA3 (Eau Filtrée à T₅ Sans Vase et Anoxie bac n°3)

Filtration des échantillons d'eau

- L'unité de filtration est à nettoyer à l'acide à 10 %.
- Rincer le matériel à l'eau distillée
- Utiliser un filtre de 0,22 µm.
- Filtrer 10 ml de l'échantillon afin de rincer le filtre.
- Jeter le filtrat
- Filtrer 10 ml de l'échantillon afin de rincer l'unité de filtration (partie inférieure)
- Jeter le filtrat et renouveler cette étape deux fois
- Filtrer le reste de l'échantillon
- Utiliser une partie du filtrat obtenu pour rincer le flacon dans lequel sera stocké l'échantillon (rinçage à effectuer 3 fois)
- Verser ensuite le reste du filtrat dans le flacon.
- Etiqueter le flacon d'un numéro échantillon délivré par la base de données du CEVA où sont enregistrés au préalable tous les échantillons à analyser.

Pour chaque échantillon d'eau, un volume minimum de 100 ml est demandé par le laboratoire agréé pour effectuer les analyses.

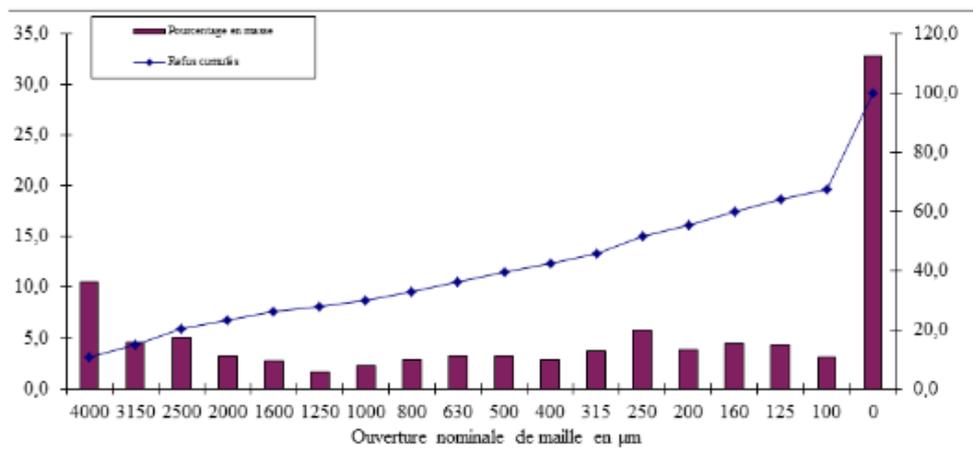
ANNEXE 6 : Données granulométriques des échantillons de vase

InVivo Labs		Granulométrie de poudres			Date d'analyse: 17/10/2017	
Réf échantillon: 17SA066410 Usine: Date de prélèvement: Refus sur chaque tamis Lieu de prélèvement: Durée de tamisage: 10 minutes Masse initiale: 100g				Tamiseur: Retsch AS 200 digit Méthode: à sec Norme tamis: DIN/ISO 3310-1 Dimension-forme tamis: 200 mm circulaire Fond du tamis: tissus métallique Ouvertures: carrées		
Dimensions des particules: d	Refus sur chaque tamis			Ouverture nominale de maille	Refus cumulés	Passants cumulés
	Mesure	Total				
μm	g	g	%	μm	%	%
d>4000	10,5		10,5	4000	10,5	89,5
4000>d>3150	4,5		4,5	3150	15,0	85,0
3150>d>2500	5,1		5,1	2500	20,1	79,9
2500>d>2000	3,2		3,2	2000	23,3	76,7
2000>d>1600	2,7		2,7	1600	26,0	74,0
1600>d>1250	1,7		1,7	1250	27,7	72,3
1250>d>1000	2,2		2,2	1000	29,9	70,1
1000>d>800	2,9		2,9	800	32,8	67,2
800>d>630	3,2		3,2	630	36,0	64,0
630>d>500	3,2		3,2	500	39,2	60,8
500>d>400	2,9		2,9	400	42,1	57,9
400>d>315	3,7		3,7	315	45,8	54,2
315>d>250	5,8		5,8	250	51,6	48,4
250>d>200	3,8		3,8	200	55,4	44,6
200>d>160	4,4		4,4	160	59,8	40,2
160>d>125	4,8		4,8	125	64,1	35,9
125>d>100	3,1		3,1	100	67,2	32,8
100>d>0	32,8		32,8	0	100,0	0,0
TOTAL	100,0		100,0			

D50= 395,4 μm

Sg= 4,32

**68% de la masse des particules ont un diamètre compris entre
91,5 μm et 1708,0 μm**

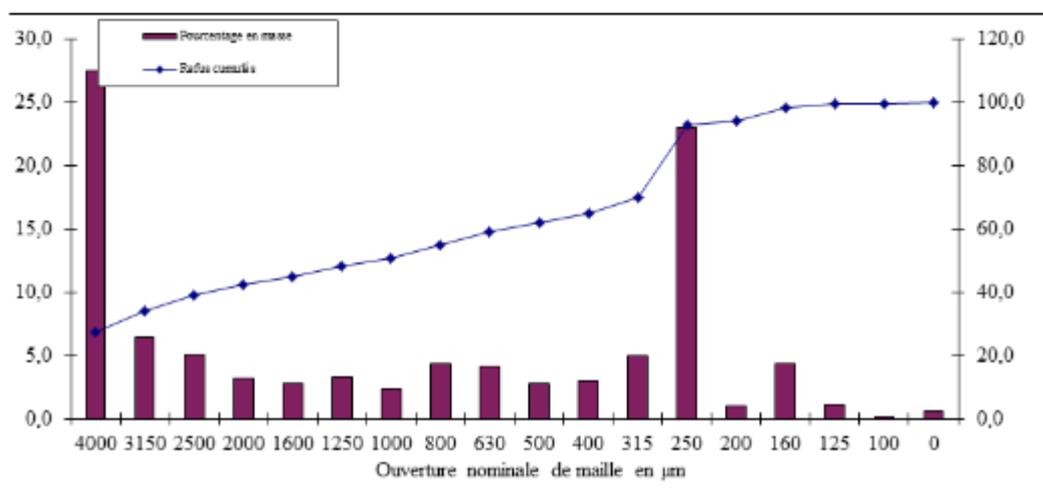


InVivo Labs		Granulométrie de poudres		Date d'analyse: 17/10/2017		
Réf échantillon: 17SA066411 Usine:			Tamiseur: Retsch AS 200 digit			
Date de prélèvement: Refus sur chaque tamis			Méthode: à sec			
Lieu de prélèvement:			Norme tamis: DIN/ISO 3310-1			
Durée de tamisage: 10 minutes			Dimension-forme tamis: 200 mm circulaire			
Masse initiale: 100g			Fond du tamis: tissus métallique			
			Ouvertures: carrées			
Dimensions des particules: d	Refus sur chaque tamis			Ouverture nominale de maille	Refus cumulés	Passants cumulés
	Mesure	Total	%			
μm	g	g	%	μm	%	%
d>4000	27,5	27,5	27,5	4000	27,5	72,5
4000>d>3150	6,4	6,4	6,4	3150	33,9	66,1
3150>d>2500	5,1	5,1	5,1	2500	39,0	61,0
2500>d>2000	3,2	3,2	3,2	2000	42,2	57,8
2000>d>1600	2,8	2,8	2,8	1600	45,0	55,0
1600>d>1250	3,3	3,3	3,3	1250	48,8	51,7
1250>d>1000	2,3	2,3	2,3	1000	50,6	49,4
1000>d>800	4,3	4,3	4,3	800	54,9	45,1
800>d>630	4,1	4,1	4,1	630	59,0	41,0
630>d>500	2,8	2,8	2,8	500	61,8	38,2
500>d>400	3,0	3,0	3,0	400	64,8	35,2
400>d>315	5,0	5,0	5,0	315	69,8	30,2
315>d>250	23,0	23,0	23,0	250	92,8	7,2
250>d>200	1,0	1,0	1,0	200	93,8	6,2
200>d>160	4,3	4,3	4,3	160	98,1	1,9
160>d>125	1,1	1,1	1,1	125	99,2	0,8
125>d>100	0,2	0,2	0,2	100	99,4	0,6
100>d>0	0,6	0,6	0,6	0	100,0	0,0
TOTAL	100,0	100,0				

D50= 1071,5 μm

Sg= 3,40

**68% de la masse des particules ont un diamètre compris entre
314,9 μm et 3645,6 μm**



InVivo Labs		Granulométrie de poudres		Date d'analyse: 17/10/2017		
Réf échantillon: 17SA066412 Usine:			Tamiseur: Retsch AS 200 digit			
Date de prélèvement: Refus sur chaque tamis			Méthode: à sec			
Lieu de prélèvement:			Norme tamis: DIN/ISO 3310-1			
Durée de tamisage: 10 minutes			Dimension-forme tamis: 200 mm circulaire			
Masse initiale: 100g			Fond du tamis: tissu métallique			
			Ouvertures: carrées			
Dimensions des particules: d	Refus sur chaque tamis			Ouverture nominale de maille	Refus cumulés	Passants cumulés
	Mesure	Total				
μm	g	g	%	μm	%	%
d>4000	23,8		23,8	4000	23,8	76,2
4000>d>3150	4,6		4,6	3150	28,4	71,6
3150>d>2500	3,2		3,2	2500	31,6	68,4
2500>d>2000	2,2		2,2	2000	33,8	66,2
2000>d>1600	1,4		1,4	1600	35,2	64,8
1600>d>1250	0,9		0,9	1250	36,1	63,9
1250>d>1000	1,1		1,1	1000	37,2	62,8
1000>d>800	2,0		2,0	800	39,2	60,8
800>d>630	3,3		3,3	630	42,5	57,5
630>d>500	3,2		3,2	500	45,7	54,3
500>d>400	3,6		3,6	400	49,3	50,7
400>d>315	6,0		6,0	315	55,3	44,7
315>d>250	23,7		23,7	250	79,0	21,0
250>d>200	1,7		1,7	200	80,7	19,3
200>d>160	8,5		8,5	160	89,2	10,8
160>d>125	7,3		7,3	125	96,5	3,5
125>d>100	1,4		1,4	100	97,9	2,1
100>d>0	2,1		2,1	0	100,0	0,0
TOTAL	100,0		100,0			

D50= 710,2 μm

Sg= 3,81

**68% de la masse des particules ont un diamètre compris entre
186,4 μm et 2705,5 μm**

