

CENTRE D'ÉTUDE  
& DE VALORISATION  
DES ALGUES



ALGAE TECHNOLOGY  
& INNOVATION  
CENTRE

Programme d'intervention du CEVA en faveur de l'action régionale  
et interdépartementale pour la maîtrise des phénomènes de  
marées vertes CIMAV P3 2018

COMPLEMENT D'ETUDE SUR LES PROCESSUS  
BIOLOGIQUES, HYDROLOGIQUES ET  
SEDIMENTOLOGIQUES IMPLIQUES DANS LA MAREE VERTE

Rapport final

Avril 2019



CEVA



# Sommaire

<b>1.</b>	<b>CONTEXTE ET OBJECTIFS .....</b>	<b>7</b>
<b>2.</b>	<b>EXPERIMENTATIONS <i>IN SITU</i>.....</b>	<b>8</b>
2.1.	SITE D'ETUDE.....	8
2.2.	MATERIEL ET METHODE.....	9
2.2.1.	<i>Dispositif expérimental .....</i>	<i>9</i>
2.2.2.	<i>Protocole expérimental in situ.....</i>	<i>11</i>
2.3.	RESULTATS .....	13
2.3.1.	<i>Observation du milieu.....</i>	<i>13</i>
2.3.2.	<i>Suivi de la biomasse algale.....</i>	<i>14</i>
2.3.3.	<i>Comparaison des lots H et B .....</i>	<i>16</i>
2.3.4.	<i>Analyse des données de concentrations en sels nutritifs.....</i>	<i>18</i>
2.3.5.	<i>Analyse des données de température et d'intensité lumineuse. ....</i>	<i>19</i>
2.3.6.	<i>Quotas azotés et phosphorés des algues .....</i>	<i>25</i>
2.4.	DISCUSSION .....	33
2.4.1.	<i>Évolution saisonnière .....</i>	<i>33</i>
2.4.2.	<i>Comparaison des lots H et B .....</i>	<i>35</i>
2.4.3.	<i>Comparaison interannuelle des proliférations d'ulves.....</i>	<i>36</i>
<b>3.</b>	<b>EXPERIMENTATION EN CONDITIONS CONTROLEES.....</b>	<b>38</b>
3.1.	PRINCIPE .....	38
3.2.	MATERIEL ET METHODE.....	38
3.2.1.	<i>Dispositif expérimental .....</i>	<i>38</i>
3.2.2.	<i>Protocole expérimental.....</i>	<i>40</i>
3.3.	RESULTATS .....	42
3.3.1.	<i>Evolution de la biomasse algale .....</i>	<i>42</i>
3.3.2.	<i>Dosage de l'eau de mer filtrée.....</i>	<i>46</i>
3.3.3.	<i>Analyse des quotas azotés et phosphorés des tissus algaux et des indices de fixation d'azote total et de phosphore .....</i>	<i>54</i>
3.3.4.	<i>Dosage de la vase .....</i>	<i>66</i>
3.4.	DISCUSSION .....	69
<b>4.</b>	<b>ESTIMATION DU FLUX SEDIMENTAIRE ET DU FONCTIONNEMENT ECOPHYSIOLOGIQUE DE L'ALGUE EN CONDITIONS CONTROLEES AU MOYEN DU MODELE 0D .....</b>	<b>75</b>
4.1.	PRESENTATION DU MODELE 0D.....	75
4.2.	RESULTATS .....	77
4.2.1.	<i>Modalité « U+V- » : sans vase et avec ulves.....</i>	<i>78</i>
4.2.2.	<i>Modalité « U+V+ » : avec vase et avec ulves .....</i>	<i>91</i>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSION.....</b>	<b>95</b>

## Figures

Figure 1. Illustration de la vasière du Lédano (estuaire du Trieux, Côtes d’Armor) et localisation de la station d’expérimentation (cercle blanc).....	8
Figure 2. Photo du dispositif expérimental sur le site d’étude. Les cages en hauteur (désignée par la lettre « H ») et en contact avec le sédiment (désignée par la lettre « B ») ont été numérotées de 1 à 4 par modalité. Les cages disposant d’une sonde HOBO sont signalées par une étoile noire. ....	9
Figure 3. Photographie du système de prélèvement d’eau de mer mis en place sur les tiges supportant les cages en hauteur et schéma associé.....	10
Figure 4. Prise de vue des sondes HOBO placées dans le dispositif expérimentale, de l’extérieur (a) et de l’intérieur (b) de la cage.....	11
Figure 5. Représentation schématique du déroulement des expériences <i>in situ</i> .....	12
Figure 6. Photographie des ulves présentes sur la vasière du Lédano au début de chaque campagne de prélèvement .....	14
Figure 7. Biomasse algale moyenne (poids frais) des lots présents dans les cages B (marron) et H (bleu) à la fin de chaque campagne de 7 jours. Les valeurs indiquées au-dessus des histogrammes correspondent aux taux de croissance, exprimés en % par jour. La ligne noire en pointillée représente la valeur de la biomasse algale initiale définie à 100 g. ....	15
Figure 8. Concentrations moyennes en nitrates (a), orthophosphates (b) et ammonium (c) de l’eau de mer échantillonnée au début de chaque campagne (C1-6). Les barres verticales représentent l’écart-type des concentrations. ....	18
Figure 9. Box-plots des données de températures (a) et d’intensités lumineuses (b) mesurées par les sondes HOBO dans chacune des cages B et H sur les 7 jours de chaque campagne. Les bords du rectangle illustre les quartiles, le trait horizontal à l’intérieur des boîtes représente la médiane, les extrémités des moustaches sont calculés en multipliant l’espace interquartile par 1,5 et les valeurs à l’extérieur de cet intervalle sont représentés par des croix et sont associées à des valeurs aberrantes. La lettre « n » correspond au nombre de données associé à chaque boxplot. ....	21
Figure 10. Evolutions saisonnières des quotas azotés (a) et phosphorés (b) des ulves présentes dans le milieu à T0 et dans les cages H et B. Les lignes en pointillés grises représentent les seuils des quotas critiques (Q <sub>1</sub> N et Q <sub>1</sub> P) et des quotas de subsistance (Q <sub>0</sub> N et Q <sub>0</sub> P) pour les deux éléments (± écart type ; n=4). ....	25
Figure 11. Evolutions saisonnières des indices de fixations en azote (a) et phosphore (b) par les ulves présentes dans les cages en hauteur (H) et en contact avec le sédiment (B), mesurés à l’issue de 7 jours d’expérimentation <i>in situ</i> . Les barres verticales correspondent aux écart-types des données (n=4). ....	30
Figure 12. Schéma du dispositif expérimental en conditions contrôlées de 2018 ; 4 conditions ; 3 modalités (V+U+ : Vase et Ulves; V+U- : Vase sans Ulves; V-U+ : sans Vase et Ulves) .....	39
Figure 13. Taux de croissance moyens (en %) des algues aux 3 <sup>ème</sup> (T3) et 7 <sup>ème</sup> jours (T7) d’incubation en fonction de la présence ou non de vase, et des quatre conditions de concentrations en nutriments (R : référence, N+ : enrichissement en nitrates, P+ : enrichissement en phosphates, NP+ : enrichissement en nitrates et phosphates) au cours des trois expériences (± écart-types ; n=4).....	44
Figure 14. Concentrations moyennes en ammonium, nitrates et orthophosphates mesurées dans l’eau de mer (en $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) dans les quatre conditions nutritives (R: référence, N+: enrichi en nitrates, P+: enrichi en phosphates, NP+: enrichi en nitrates et phosphates) et pour les trois modalités (U: algues sans vase, VU: Algue avec vase; V: vase sans algue) au temps initiale (T0), au 3 <sup>ème</sup> jour	

(T3) et au 7 <sup>ème</sup> jour (T7) de l'expérience 1 ( $\pm$ écart-types ; n=4). L'absence de donnée indique que les valeurs étaient < à la limite de détection, s'élevant à 0,1 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .....	49
Figure 15. Concentrations moyennes en ammonium, nitrates et orthophosphates mesurées dans l'eau de mer (en $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) dans les quatre conditions nutritives (R: référence, N+: enrichi en nitrates, P+: enrichi en phosphates, NP+: enrichi en nitrates et phosphates) et pour les trois modalités (U: algues sans vase, VU: Algue avec vase; V: vase sans algue) au temps initiale (T0), au 3 <sup>ème</sup> jour (T3) et au 7 <sup>ème</sup> jour (T7) de l'expérience 2. ( $\pm$ écart-types ; n=4). L'absence de donnée indique que les valeurs étaient < à la limite de détection, s'élevant à 0,1 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .....	50
Figure 16. Concentrations moyennes en ammonium, nitrates et orthophosphates mesurées dans l'eau de mer (en $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) dans les quatre conditions nutritives (R: référence, N+: enrichi en nitrates, P+: enrichi en phosphates, NP+: enrichi en nitrates et phosphates) et pour les trois modalités (U: algues sans vase, VU: Algue avec vase; V: vase sans algue) au temps initiale (T0), au 3 <sup>ème</sup> jour (T3) et au 7 <sup>ème</sup> jour (T7) de l'expérience 3 ( $\pm$ écart-types ; n=4). L'absence de donnée indique que les valeurs étaient < à la limite de détection, s'élevant à 0,1 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .....	51
Figure 17. Quotas azotés moyens (en g/100g de matière sèche) des ulves au temps T0 et au terme des 7 jours d'incubation pour chacune des modalités testées (présence ou non de vase, et quatre conditions de concentrations) au cours des trois expériences ( $\pm$ écart-types : n=4). Les barres verticales représentent les écart-types estimés sur quatre mesures. Les lignes en pointillés grises représentent les seuils des quotas critiques (Q <sub>1</sub> N) et des quotas de subsistance (Q <sub>0</sub> N) pour l'azote. ....	56
Figure 18. Quotas phosphorés moyens (en g/100g de matière sèche) des ulves au temps T0 et au terme des 7 jours d'incubation pour chacune des modalités testées (présence ou non de vase, et quatre conditions de concentrations) au cours des trois expériences. L'indication « n.d. » signale l'absence de données pour cette modalité due aux contraintes analytiques rencontrées par le laboratoire prestataire ( $\pm$ écart-types ; n=4). Les lignes en pointillés grises représentent les seuils des quotas critiques (Q <sub>1</sub> P) et des quotas de subsistance (Q <sub>0</sub> P) pour le phosphore. ....	57
Figure 19. Azote total fixé (en mg) par les ulves en 7 jours en fonction de la présence ou non de vase, et des quatre conditions de concentrations au cours des trois expériences. ( $\pm$ écart-types ; n=4 ou 3 dans le cas de la condition NP+ sans vase de l'expérience 3). ....	59
Figure 20. Phosphore total fixé (en mg) par les ulves en 7 jours en fonction de la présence ou non de vase, et des quatre conditions de concentrations au cours des trois expériences ( $\pm$ écart-types ; n=4).....	60
Figure 21. Teneurs moyennes en azote total (a) et phosphore total (b) contenus dans le sédiment au temps T0, avant incubation, et à l'issue des 21 jours d'expérimentations dans chacune des 8 conditions testées ( $\pm$ écart-types ; n=4). Les valeurs de pourcentages correspondent à l'évolution des teneurs moyennes entre T0 et T21.....	66
Figure 22 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour les sels nutritifs (modalité « U+V- en condition R »).....	80
Figure 23 : 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 (modalité « U+V- en condition R ») .....	81
Figure 24 : Evolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans la croissance de l'ulve (modalité « U+V- en condition R ») .....	81
Figure 25 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour les sels nutritifs (modalité « U+V- en condition N+ ») .....	83
Figure 26 : 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 (modalité « U+V- en condition N+ »).....	84

Figure 27 : Evolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans la croissance de l'ulve (modalité « U+V- en condition N+ »).....	84
Figure 28 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour les sels nutritifs (modalité « U+V- en condition P+ »).....	86
Figure 29 : 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 (modalité « U+V- en condition P+ ») .....	87
Figure 30 : Evolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans la croissance de l'ulve (modalité « U+V- en condition P+ »).....	87
Figure 31 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour les sels nutritifs (modalité « U+V- en condition NP+ »).....	89
Figure 32 : 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 (modalité « U+V- en condition NP+ ») .....	90
Figure 33 : Evolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans la croissance de l'ulve (modalité « U+V- en condition NP+ »).....	90
Figure 34 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour les sels nutritifs (modalité « U+V+ en condition R »).....	93
Figure 35 : 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 (modalité « U+V+ en condition R ») .....	94
Figure 36 : Evolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans la croissance de l'ulve (modalité « U+V+ en condition R »).....	94

## Tableaux

Tableau 1. Calendrier des campagnes associées aux coefficients de marée et au nombre d'échantillons (d'ulves et d'eau de mer) prélevés sur le terrain et destinés à l'analyse. ....	13
Tableau 2. Résumé statistique des données de taux de croissance et des résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des lots H et B à un niveau de confiance de 95 % pour les 6 campagnes réalisées.....	17
Tableau 3. Résumé statistique des données de températures mesurées par les sondes HOBO au cours des 6 campagnes et des résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des lots H et B à un niveau de confiance de 95 % . ....	23
Tableau 4. Résumé statistique des données d'intensités lumineuses mesurées par les sondes HOBO au cours des 6 campagnes et des résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des lots H et B à un niveau de confiance de 95 %.....	24
Tableau 5. Résumé statistique des données de quotas azotés mesurées dans les tissus algaux au cours des 6 campagnes et des résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des lots H et B à un niveau de confiance de 95 % . ....	27
Tableau 6. Résumé statistique des données de quotas phosphorés mesurées dans les tissus algaux au cours des 6 campagnes et des résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des lots H et B à un niveau de confiance de 95 %.....	28
Tableau 7. Résumé statistique des données de fixation d'azote réalisée par les algues au cours des 6 campagnes et des résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des lots H et B à un niveau de confiance de 95 % . ....	31
Tableau 8. Résumé statistique des données de fixation de phosphore réalisée par les algues cours des 6 campagnes et des résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des lots H et B à un niveau de confiance de 95 % . ....	32
Tableau 9. Plan d'échantillonnage et analyses pour les expériences en laboratoire .....	42
Tableau 10. Résumé statistique des données de taux de croissance des algues au 3 <sup>ème</sup> jour d'incubation pour les 8 modalités testées au cours des trois expériences successives et résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des modalités avec vase (V+) et sans vase (V-) à un niveau de confiance de 95 %.....	45
Tableau 11. Résumé statistique des données de concentrations en nitrates, ammonium et orthophosphates de l'eau de mer pour les 8 modalités testées au cours de l'expérience 1 et résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des concentrations pour les modalités avec vase (V+) et sans vase (V-) à un niveau de confiance de 95 %.....	52
Tableau 12. Résumé statistique des données de concentrations en nitrates, ammonium et orthophosphates de l'eau de mer pour les 8 modalités testées au cours de l'expérience 2 et résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des concentrations pour les modalités avec vase (V+) et sans vase (V-) à un niveau de confiance de 95 %.....	53
Tableau 13. Comparaison des concentrations en ammonium mesurées dans les milieux pourvus de vase au cours des expériences 1 et 2, à partir d'un test de Mann-Whitney-Wilcoxon (95 %). ....	54
Tableau 14. Résumé statistique des données de quotas azotés des tissus algaux pour les huit modalités testées lors des trois expériences et résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des données pour les modalités avec vase (V+) et sans vase (V-) à un niveau de confiance de 95 % . ....	62

Tableau 15. Résumé statistique des données de fixation d'azote par les algues pour les huit modalités testées lors des trois expériences et résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des données pour les modalités avec vase (V+) et sans vase (V-) à un niveau de confiance de 95 % .	63
Tableau 16. Résumé statistique des données de quotas phosphorés des algues pour les huit modalités testées lors des trois expériences et résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des données pour les modalités avec vase (V+) et sans vase (V-) à un niveau de confiance de 95 % .	64
Tableau 17. Résumé statistique des données de fixation de phosphore par les algues pour les huit modalités testées lors des trois expériences et résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des données pour les modalités avec vase (V+) et sans vase (V-) à un niveau de confiance de 95 % .	65
Tableau 18. Résumé statistique des teneurs en azote et phosphore de la vase au temps T0 et à l'issue des 21 jours d'expérimentation (T21) pour les huit modalités testées; et résultats des tests de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les teneurs obtenues au temps T21 à celles mesurées initialement à T0, à un niveau de confiance de 95 % .	68
Tableau 19 : Paramètres biochimiques du modèle 0D pour les ulves	76
Tableau 20 : Valeurs de flux sédimentaire ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$ ) prescrits au modèle 0D.	91

## 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 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'Etel
- 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 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. L'approche consiste à suivre la croissance et les contenus en azote et phosphore des algues, en faisant varier leur proximité au sédiment. Ces deux dernières années, le CEVA a réalisé de manière complémentaire des expérimentations *in situ* (vasière du Lédano, estuaire du Trieux, Côtes d'Armor) et en conditions contrôlées.

Les résultats acquis et présentés dans les rapports annuels ont mis en évidence le rôle du sédiment dans la croissance des algues et notamment en 2017 où des améliorations techniques avaient été apportées (amélioration du dispositif expérimental *in situ* et en laboratoire).

En 2018, le CEVA s'est proposé de reconduire à la fois des expérimentations *in situ* et en laboratoire afin de poursuivre l'étude de la contribution du sédiment dans la biomasse algale

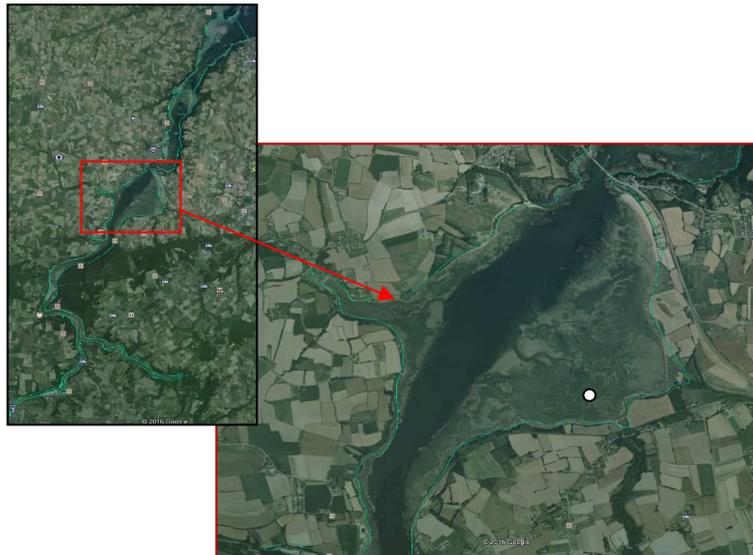
créée sur la vasière du Lédano. Ce nouveau programme avait pour but (1) de renforcer le jeu de données déjà acquis sur la vasière du Lédano et (2) d'évaluer la contribution du sédiment en faisant varier les apports en nutriments en milieu contrôlé et enfin (3) d'alimenter par les résultats obtenus le modèle 0D déjà utilisé fin 2017 pour l'estimation des flux sédimentaires. Afin d'améliorer la robustesse et la significativité des résultats, le nombre de répliquats biologiques a été augmenté en 2018 pour chaque expérimentation. Cette modification a eu pour conséquence d'augmenter le nombre d'échantillons à analyser mais aussi le jeu de données à traiter statistiquement et à interpréter.

## 2. Expérimentations *in situ*

### 2.1. Site d'étude

Les expérimentations *in situ* ont été reconduites sur la même station d'expérimentation de la vasière du Lédano (estuaire du Trieux, Côtes d'Armor ; Figure 1) afin de conserver des conditions environnementales (e.g. temps d'émersion, bathymétrie) comparables aux études menées en 2016 et 2017, et de réaliser une comparaison interannuelle en lien avec les paramètres climatiques.

Cette vasière avait été préalablement sélectionnée pour deux raisons principales : (1) elle se situe dans une masse d'eau identifiée comme prioritaire dans le SDAGE 2016-2021 sur la problématique de la prolifération des algues vertes sur vasière, et (2) elle est localisée à proximité du CEVA, ce qui permet d'initier un suivi renforcé pour un coût acceptable.



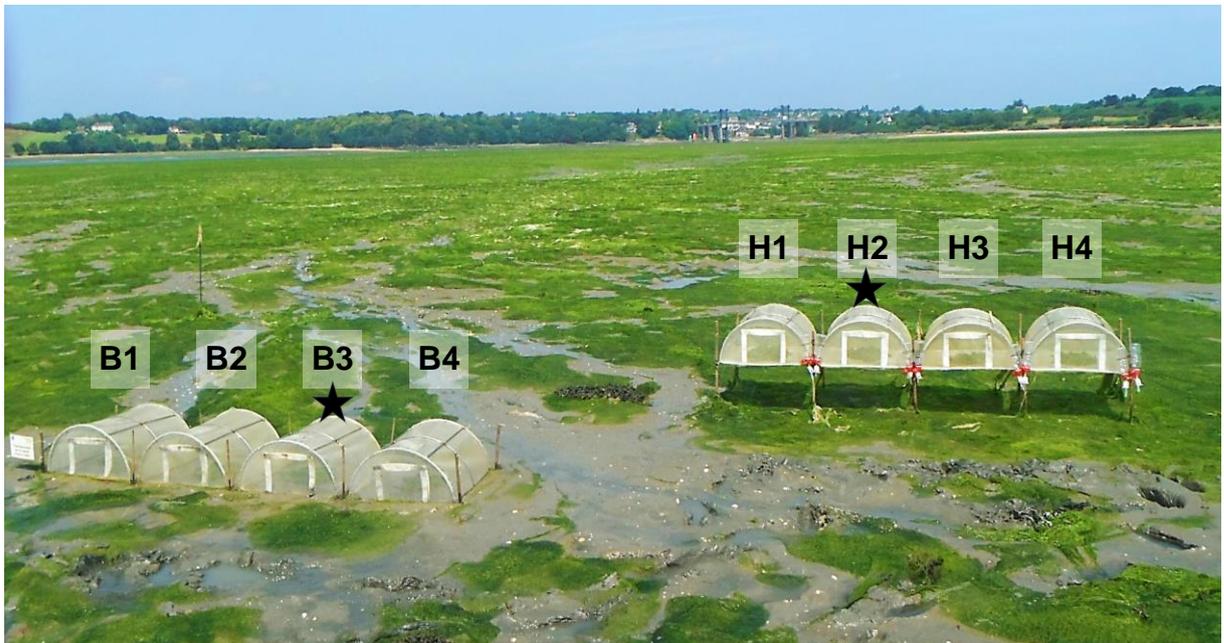
**Figure 1. Illustration de la vasière du Lédano (estuaire du Trieux, Côtes d'Armor) et localisation de la station d'expérimentation (cercle blanc)**

## 2.2. Matériel et méthode

### 2.2.1. Dispositif expérimental

Un dispositif expérimental comparable à celui de 2017 a été placé sur le site d'étude (Figure 2). Il se compose de cages recouvertes de toile à maille fines permettant le maintien des algues et empêchant l'intrusion d'organismes (e.g. hydrobies). Des tiges métalliques ont été utilisées pour fixer la hauteur des cages, et ainsi moduler la proximité des algues au sédiment :

- (1) Quatre cages ont été déposées sur le sédiment, mettant les algues en contact direct avec la vase (**Cages B**, « B » pour « bas »).
- (2) Quatre cages ont été surélevées à environ 20 cm de hauteur au-dessus du sédiment, évitant tout contact des algues avec la vase (**Cages H**, « H » pour « haut »).

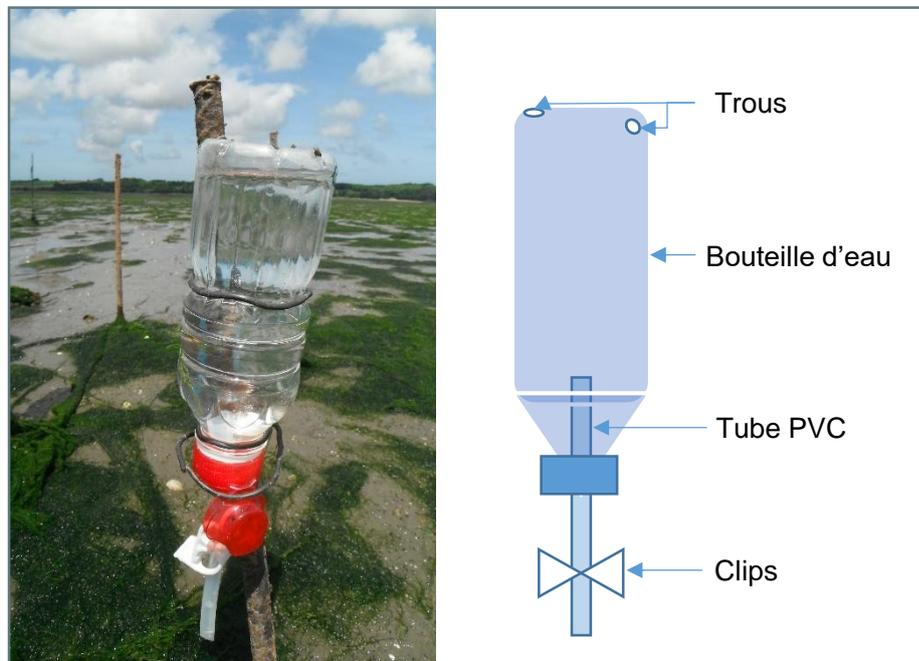


**Figure 2. Photo du dispositif expérimental sur le site d'étude. Les cages en hauteur (désignée par la lettre « H ») et en contact avec le sédiment (désignée par la lettre « B ») ont été numérotées de 1 à 4 par modalité. Les cages disposant d'une sonde HOBO sont signalées par une étoile noire.**

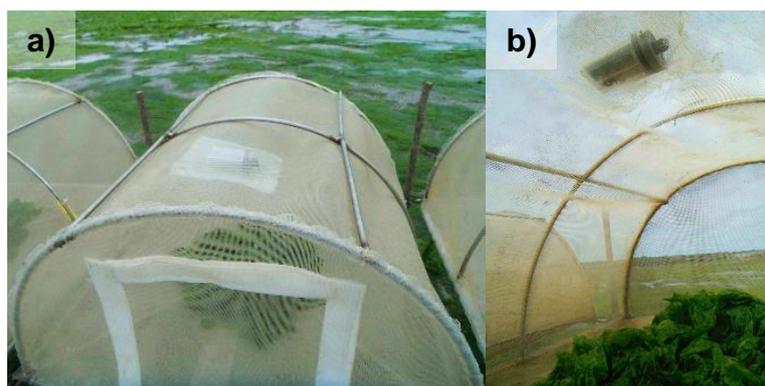
En plus des améliorations techniques mises en place en 2017 (e.g. installation de fermetures velcros et de toile sous les cages ; Rapport CIMAV P3 2017), d'autres modifications ont été apportées au dispositif expérimental de 2018 (Figure 2):

- Le nombre de cages a été augmenté à quatre pour chaque modalité. Cette augmentation vise à renforcer l'analyse statistique des données en estimant de manière plus précise la variabilité des mesures.

- Les cages « B » ont été placées au sud des cages « H » afin d'éviter d'éventuels effets d'ombrage provoqués par les cages en hauteur.
- Quatre dispositifs de prélèvement d'eau ont été mis en place sur les tiges de fixation des cages en hauteur, afin de suivre les concentrations en sels nutritifs dans l'eau au cours de la saison (Figure 3).
- La toile maillée a été doublée sur le dessus de la cage pour former une poche permettant d'immobiliser la sonde HOBO (Figure 4), destinée au suivi de température et d'intensité lumineuse durant l'expérimentation. La position des capteurs a été préalablement testée, afin de vérifier que les valeurs acquises dans les poches soient représentatives des conditions de température et de luminosité à l'intérieur des cages contenant les algues (ANNEXE 1).



**Figure 3. Photographie du système de prélèvement d'eau de mer mis en place sur les tiges supportant les cages en hauteur et schéma associé.**

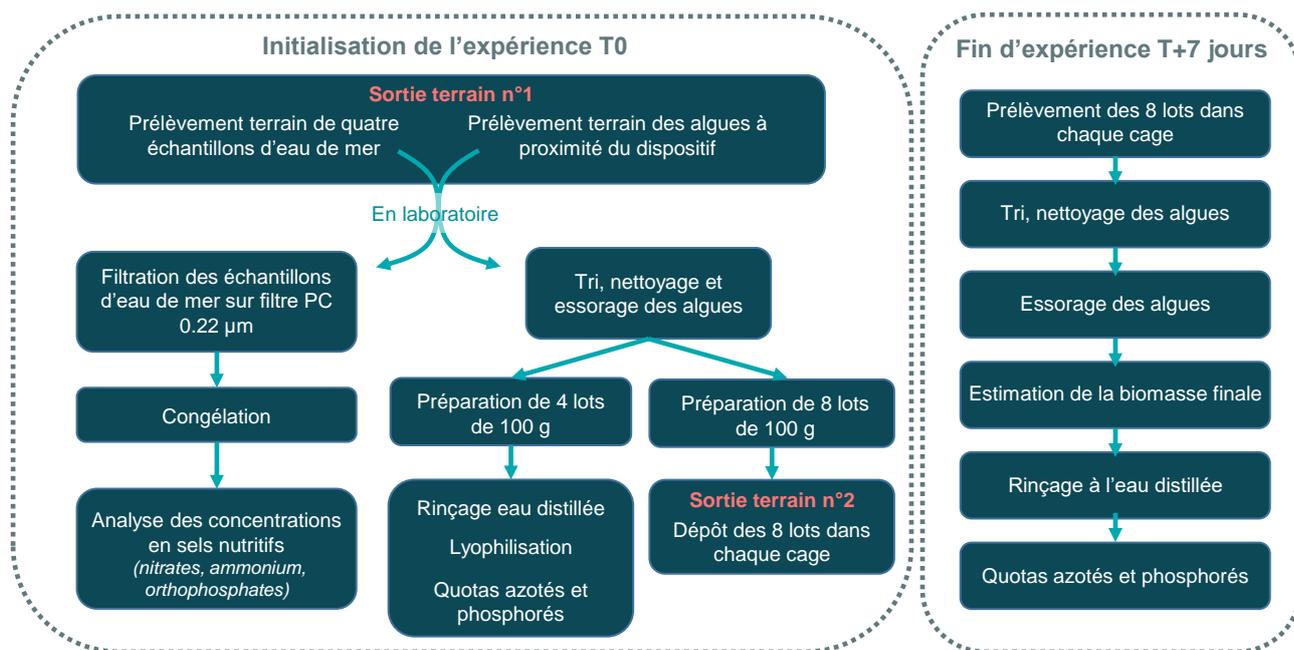


**Figure 4.** Prise de vue des sondes HOBO placées dans le dispositif expérimentale, de l'extérieur (a) et de l'intérieur (b) de la cage.

### 2.2.2. Protocole expérimental *in situ*

Cette approche expérimentale utilise les ulves comme indicatrices des concentrations en nutriments de l'environnement dans lequel elles évoluent (Barr, 2007) pour évaluer la contribution sédimentaire à la biomasse créée. Les manipulations de terrain et de laboratoire suivent les consignes établies en 2016 et 2017 (ANNEXE 2 et ANNEXE 3). Une amélioration a été apportée concernant l'essorage des algues qui était antérieurement réalisé manuellement. Une procédure standardisée a été appliquée au moyen d'une centrifugeuse, dans le but d'obtenir un essorage normalisé et reproductible (des détails sont fournis en ANNEXE 4)

L'expérimentation permet d'estimer l'évolution de la biomasse algale et des contenus en azote et phosphore sur une période de 7 jours, en fonction des conditions de proximité des algues avec le sédiment. Le déroulement de chaque expérience est schématisé par la Figure 5.



**Figure 5. Représentation schématique du déroulement des expériences *in situ***

#### *Initialisation de l'expérience (T0)*

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

La première sortie terrain a consisté à (1) prélever des ulves du milieu, à proximité du site d'étude pour la mise en place de l'expérience, (2) échantillonner l'eau de mer prélevée dans les bouteilles de prélèvement et (3) obtenir un aperçu de la zone d'étude par des photographies. De retour au CEVA, les algues fraîchement prélevées ont été triées, lavées, essorées et pesées, de manière à obtenir 12 lots de 100 g (poids frais). Quatre d'entre eux ont été conditionnés pour l'estimation des contenus en phosphore et azote des ulves dans le milieu en début d'expérience. Ce conditionnement a consisté à rincer les algues avec de l'eau distillée puis à les lyophiliser, avant leur envoi pour analyse vers un laboratoire extérieur agréé (Upscience). L'eau de mer a, quant à elle, été filtrée sur filtre polycarbonate 0,22 µm au CEVA et conditionnée dans des flacons adéquats pour l'estimation des concentrations en sels nutritifs (nitrates, ammonium, phosphore). Les échantillons d'eau de mer ont été congelés jusqu'à leur envoi pour analyse au laboratoire extérieur agréé (Eurofins).

Lors de la deuxième sortie terrain, les 8 lots d'ulves restants ont été répartis dans chacune des 8 cages, initiant alors l'expérience (T0). À l'occasion de cette deuxième sortie, des photographies du dispositif expérimental (aperçu global, intérieur et extérieur des cages) ont

été prises. Deux sondes HOBO ont également été insérées dans les cages (cages B3 et H2) pour l'enregistrement de la température et de l'intensité lumineuse au cours des 7 jours d'expérience.

#### *Fin de l'expérience après 7 jours (T7)*

Les 8 lots d'ulves ont été prélevés 7 jours après l'initiation de l'expérience. Au laboratoire, chaque lot a été nettoyé et essoré avant d'être pesé pour une estimation de la biomasse finale. Les lots ont ensuite été rincés à l'eau distillée et lyophilisés avant envoi en laboratoire agréé (Upsciences) pour la mesure de leurs contenus internes en azote et en phosphore. Les données mesurées par les sondes HOBO ont été récoltées entre chaque campagne et les cages ont été soigneusement nettoyées pour limiter le phénomène de fouling.

Dans le cas où deux expérimentations se succédaient, la première sortie terrain permettait également l'échantillonnage à T7 des ulves et la récupération des données enregistrées sur les sondes HOBO.

Ce cycle de prélèvement/renouvellement des lots d'ulves a été maintenu une ou deux fois par mois, de juillet à septembre pour un total de 6 campagnes de prélèvement (Tableau 1). Sur la base des résultats de 2017, les campagnes ont été planifiées selon les coefficients de marée de vive-eau et de morte-eau en privilégiant les situations de morte-eau qui avaient montré des taux de croissance plus élevés (suggérant un rôle potentiellement plus visible du sédiment).

**Tableau 1. Calendrier des campagnes associées aux coefficients de marée et au nombre d'échantillons (d'ulves et d'eau de mer) prélevés sur le terrain et destinés à l'analyse.**

Campagne	Date de début	Date de fin	Coefficients de marée		Nombre d'échantillons	
					Ulves	Eau de mer
1	03/07/2018	10/07/2018	46-65	Morte-eau	12	4
2	10/07/2018	17/07/2018	75-104	Vive-eau	12	4
3	02/08/2018	09/08/2018	48-68	Morte-eau	12	4
4	31/08/2018	06/09/2018	45-72	Morte-eau	12	4
5	06/09/2018	13/09/2018	64-111	Vive-eau	12	4
6	13/09/2018	20/09/2018	31-69	Morte-eau	12	4

## **2.3. Résultats**

### **2.3.1. Observation du milieu**

L'expérimentation *in situ* s'est déroulée du 03 juillet au 20 septembre 2018, période pendant laquelle six campagnes de 7 jours ont été menées. Le début de l'expérimentation a été défini à partir des observations terrain et des suivis aériens réalisés dans le cadre du programme

RCO/RCS Loire-Bretagne. Il correspond au moment où les ulves ont commencé leur prolifération saisonnière sur la vasière du Lédano. Cette prolifération a été relativement tardive par rapport à l'année précédente (fin du mois de mai ; CIMAV P3, 2017). Sur l'ensemble de la saison 2018 étudiée, les ulves présentes sur la vasière du Lédano ont, de manière générale, montré un bon état physiologique de juillet à septembre (i.e. thalles de grandes tailles, couleur verte affirmée et peu de fragmentation ; Figure 6). Quelques signes de dégradation ont été visibles début septembre (campagnes 5 et 6) bien que mineurs, et étaient associés à des thalles légèrement blanchis (indicateur de mortalité de tissu) ou troués par les phénomènes de broutage.



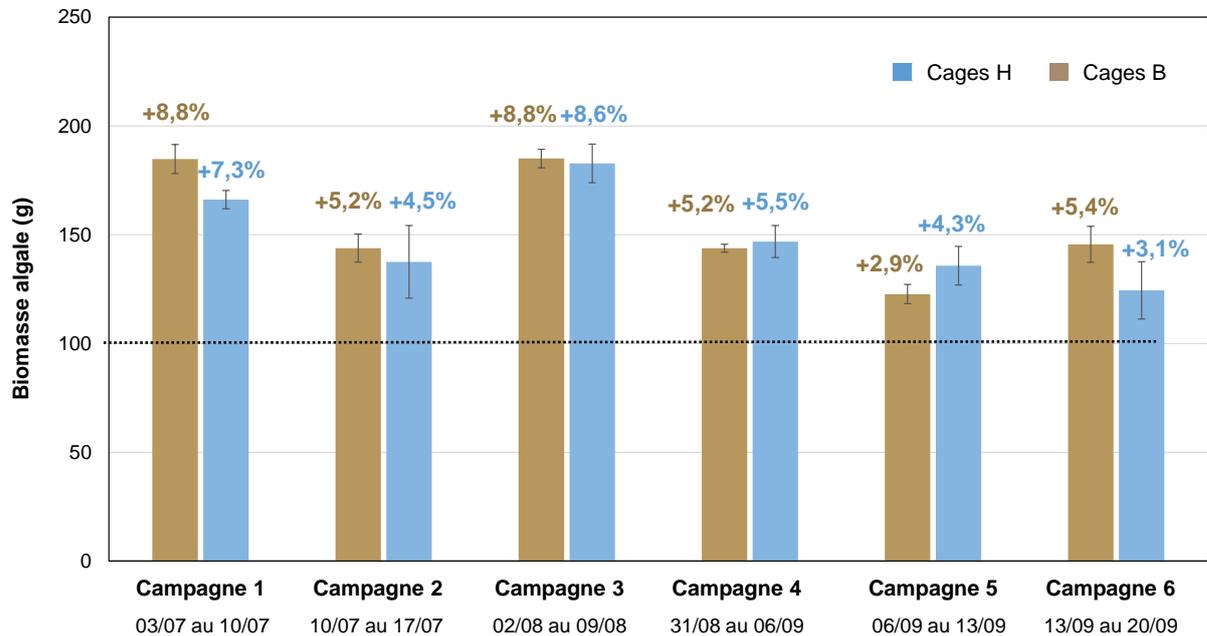
**Figure 6. Photographie des ulves présentes sur la vasière du Lédano au début de chaque campagne de prélèvement**

### 2.3.2. Suivi de la biomasse algale

La Figure 7 illustre les biomasses algales et les taux de croissance moyens estimés au terme des 7 jours d'expérience dans les quatre cages en contact avec la vase (cages B) et les quatre cages en hauteur (cages H), au cours des 6 campagnes. Le détail des résultats est fourni en ANNEXE 5. Le taux de croissance ( $\mu$ ) a été calculé selon l'équation (Eq.1) (Hoffmann et Poorter, 2002) :

$$\mu = \frac{\ln \frac{W_t}{W_0}}{t} \quad \text{Eq. 1}$$

avec  $W_0$ , la biomasse algale au temps initial  $t_0$  (en g, poids sec) ;  $W_t$ , la biomasse algale au temps  $t$  (en g, poids sec); et  $t$ , la durée de l'expérience (en jours).



**Figure 7. Biomasse algale moyenne (poids frais) des lots présents dans les cages B (marron) et H (bleu) à la fin de chaque campagne de 7 jours. Les valeurs indiquées au-dessus des histogrammes correspondent aux taux de croissance, exprimés en % par jour. La ligne noire en pointillée représente la valeur de la biomasse algale initiale définie à 100 g.**

### *Evolution saisonnière*

De juillet à septembre, l'ensemble des lots d'ulves a montré une augmentation de la biomasse algale initiale (définie à 100 g). Seuls deux échantillons, lors de la campagne 2 (cages H1 et H2), ont présenté une perte de biomasse associée à un état de dégradation avancé. Les algues de ces deux cages ont été retrouvées blanchies et agglomérées dans un coin de la cage, ce qui semble lié à un fond de cage légèrement incliné. Ces deux échantillons n'ont pas été inclus dans l'analyse. Une attention particulière a été portée à la fixation des cages pour les campagnes suivantes (3 à 6).

De début juillet à début septembre, les taux de croissance des ulves ont montré les mêmes tendances d'évolution quelle que soit la proximité du sédiment. Cette évolution s'est caractérisée par :

- De forts taux de croissance début juillet (en moyenne  $8,8 \pm 0,5$  %/jour et  $7,4 \pm 0,4$  %/jour pour les cages B et H respectivement) et début août (en moyenne  $8,8 \pm 0,3$  %/jour et  $8,6 \pm 0,7$  %/jour pour les cages B et H respectivement).

- Des taux de croissance plus modérés mi-juillet et fin août, atteignant des valeurs moyennes de 5,5 %/jour pour les cages B et de 4,5 – 5,5 %/jour pour les cages H.

- Une diminution significative des taux de croissance début septembre pour les cages en contact avec le sédiment ( $2,9 \pm 0,5$  %/jour) et un maintien des valeurs moyennes pour les cages en hauteur ( $4,3 \pm 0,9$  %/jour).

À noter que les campagnes 2 et 5 présentant des taux de croissance particulièrement bas (surtout au regard de la saison) sont toutes deux en coefficient de vive-eau. Cela confirme les résultats trouvés en 2017 de croissance moindre lors de ces coefficients (algues soumises aux périodes d'éclairement maximal).

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 acquises dans la cadre du programme RCO/RCS Loire-Bretagne (comm. pers. S. Ballu, CEVA : couvertures encore faibles le 12 juin, en forte progression le 11 juillet, restant à un niveau élevé le 11 août et 11 septembre, signe d'une croissance probablement plus limitée compensant les dispersions ou prédatations).

### 2.3.3. Comparaison des lots H et B

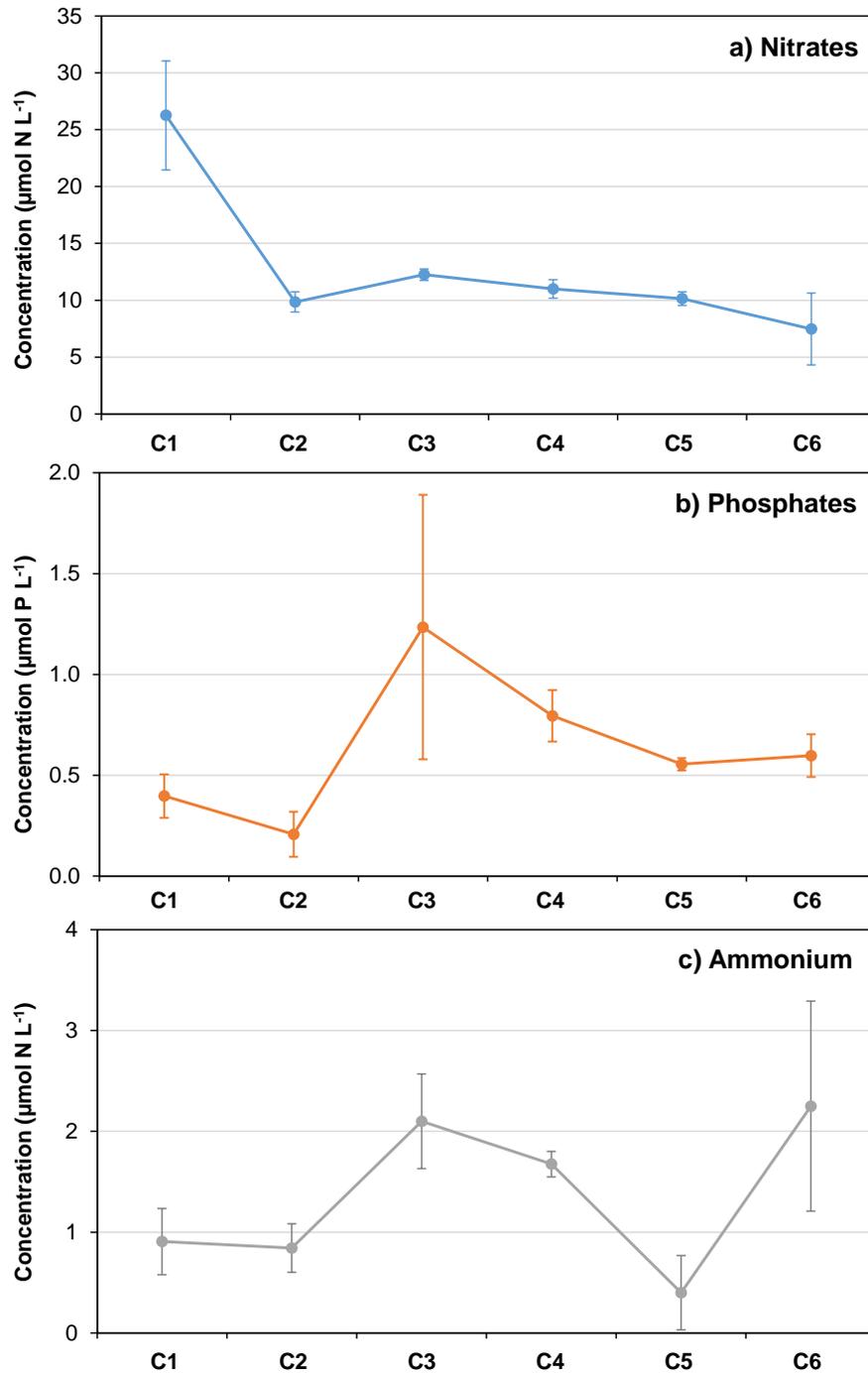
Une analyse statistique des données de biomasse (n=4) a été réalisée afin de comparer les taux de croissance obtenus pour les lots H de ceux des lots B. Le test de Mann-Whitney-Wilcoxon a été sélectionné pour comparer les médianes des taux de croissance obtenus pour chaque type de lots. Il teste l'hypothèse nulle  $H_0$  que les médianes des deux types de lots H et B sont identiques pour un risque d'erreur de 5 %. Le Tableau 2 expose les résultats obtenus pour chacune des six campagnes. L'analyse révèle que les taux de croissance des lots en hauteur sont statistiquement inférieurs aux taux de croissance des lots en contact avec le sédiment pour un seuil de risque de 5 % (P-value < 0,05) au cours de la première et de la dernière campagne. À l'inverse, les valeurs P-value > 0,05 obtenues pour les autres campagnes, suggèrent que les taux de croissance des lots H et B ne sont pas statistiquement différents à niveau de confiance de 95 %.

**Tableau 2. Résumé statistique des données de taux de croissance et des résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des lots H et B à un niveau de confiance de 95 % pour les 6 campagnes réalisées.**

Taux de croissance (%/jour)		Nombre de réplicats	Moyenne (%/j)	Médiane (%/j)	Ecart-type (%/j)	Coefficient de variation (%)	Minimum (%/j)	Maximum (%/j)	Test de Mann-Whitney- Wilcoxon	
									P-value	Interprétation
Campagne 1	H	4	7.3	7.2	0.4	4.9	6.9	7.7	0.0303826	<b>H ≠ B</b>
	B	4	8.8	8.7	0.5	5.8	8.3	9.4		
Campagne 2	H	2	4.5	4.1	1.7	38.7	3.3	5.7	0.816957	<b>H = B</b>
	B	4	5.2	5.1	0.6	12.3	4.5	6.0		
Campagne 3	H	4	8.6	8.6	0.7	8.1	7.8	9.4	0.665002	<b>H = B</b>
	B	4	8.8	8.8	0.3	3.7	8.4	9.1		
Campagne 4	H	4	5.5	5.5	0.7	13.2	4.6	6.3	0.470484	<b>H = B</b>
	B	4	5.2	5.2	0.2	3.5	5.0	5.4		
Campagne 5	H	4	4.3	4.5	0.9	21.8	3.1	5.4	0.191266	<b>H = B</b>
	B	4	2.9	3.1	0.5	18.1	2.1	3.3		
Campagne 6	H	4	3.1	3.3	1.5	50.6	1.0	4.7	0.0303826	<b>H ≠ B</b>
	B	4	5.3	5.1	0.8	14.9	4.8	6.5		

### 2.3.4. Analyse des données de concentrations en sels nutritifs

Les analyses de concentrations en sels nutritifs (nitrates, orthophosphates, ammonium) ont permis de suivre l'évolution saisonnière des stocks de nutriments dans la colonne d'eau potentiellement disponibles pour la croissance des ulves (Figure 8).



**Figure 8. Concentrations moyennes en nitrates (a), orthophosphates (b) et ammonium (c) de l'eau de mer échantillonnée au début de chaque campagne (C1-6). Les barres verticales représentent l'écart-type des concentrations.**

Les concentrations en nitrates suivent un profil saisonnier classique, avec de fortes concentrations en début de saison (03 juillet), diminuant ensuite rapidement (divisées par 2,5 entre le 03 et le 10 juillet) du fait principalement de la forte diminution des débits à cette période mais aussi probablement des coefficients de marées plus élevés le 10 que le 03 juillet (plus grande dispersion). De mi-juillet à début septembre, les concentrations se sont maintenues à un niveau élevé (au-dessus de  $10 \mu\text{mol N L}^{-1}$ ) sur la vasière du Lédano, pour descendre en dessous de ce niveau le 13 septembre. Les concentrations en phosphates sont restées faibles et relativement constantes au cours de la saison, atteignant des valeurs moyennes comprises entre  $0,21 \pm 0,10$  et  $1,2 \pm 0,70 \mu\text{mol P L}^{-1}$  de juillet à septembre. On note toutefois un profil assez classique avec des valeurs de début de saison plus faibles et une forte augmentation début août (lien avec l'augmentation des températures et l'accumulation de matières organiques associée aux processus de décomposition des dépôts algaux saisonniers). Les concentrations en ammonium ont, quant à elles, oscillé entre 0,1 et  $3,8 \mu\text{mol N L}^{-1}$  d'une campagne à l'autre.

Les valeurs obtenues pour chacun des trois nutriments sont cohérentes avec les concentrations mesurées mensuellement au niveau du pont de Lézardrieux dans le cadre du programme REPHY (Ifremer).

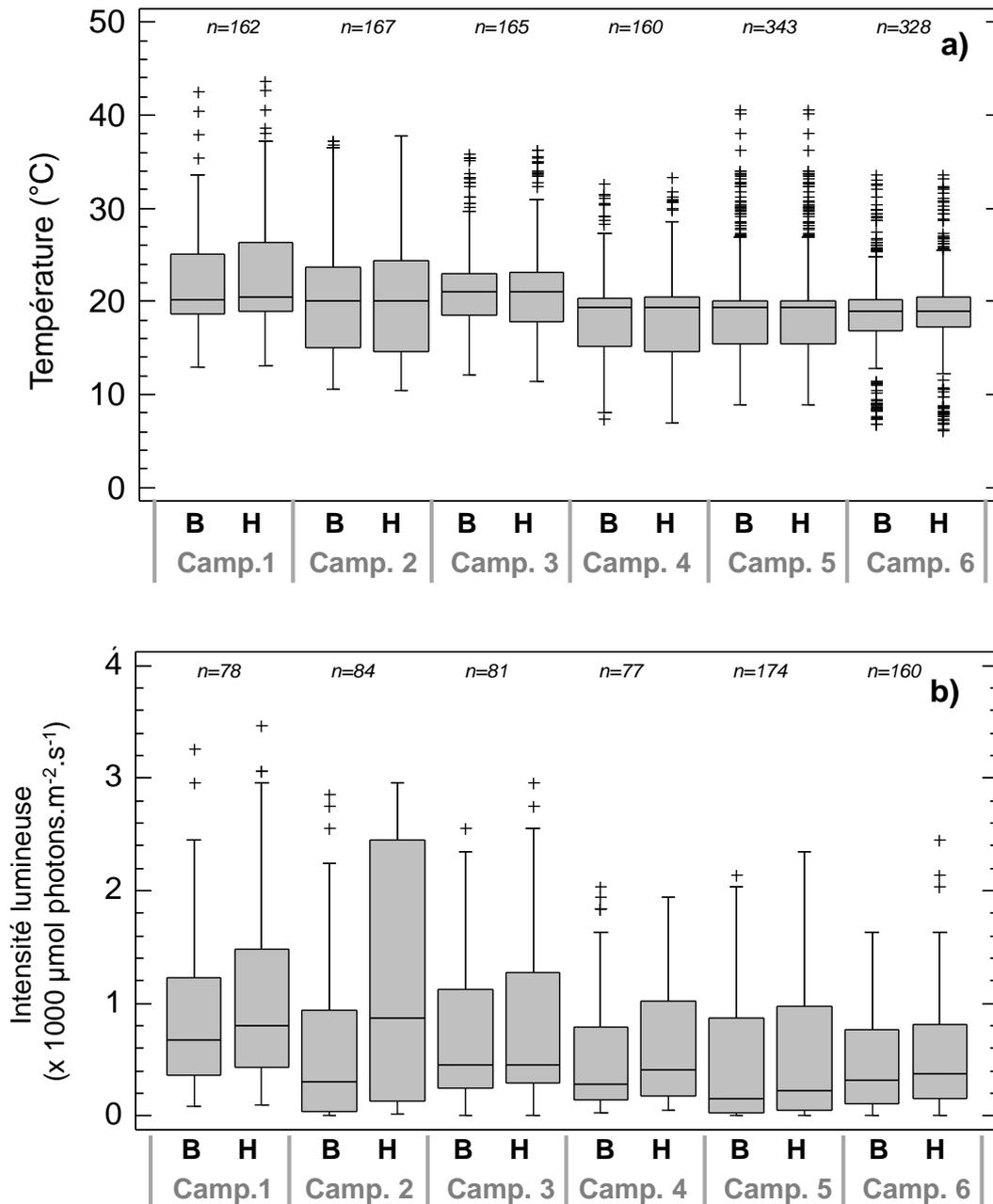
#### 2.3.5. Analyse des données de température et d'intensité lumineuse.

Les données enregistrées toutes les heures par les sondes HOBO, ont été extraites à la fin de chaque campagne et placées dans une base de données CEVA. 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 7). L'intensité lumineuse, initialement fournie en lux par la sonde, 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 évolutions de la température, de l'intensité lumineuse et des conditions d'immersion sont illustrées heure par heure en ANNEXE 7.

Les données de températures et de luminosité obtenues pour chaque campagne dans les cages H et B sont illustrées par des box-plots sur la Figure 9. L'ensemble des données de températures ont été utilisées pour les graphiques. En revanche, seules les données de

luminosité acquises entre 8h00 et 20h00 ont été sélectionnées pour l'analyse statistique, de manière à comparer les intensités lumineuses en période de « jour ». Cette représentation en box-plot permet de visualiser la répartition des données collectées : la barre centrale correspond à la médiane des données, les bords de la boîte représentent leurs quartiles (1<sup>er</sup> et 3<sup>ème</sup> quartile), les extrémités de moustaches sont égales à 1,5 fois l'espace interquartile (distance entre le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>ème</sup> quartile) et les données non comprises dans cet intervalles sont représentées par des croix. Les résultats montrent que les températures enregistrées par le capteur (différentes des températures de l'air ; le capteur n'étant pas à l'ombre) sont restées relativement stables de juillet à septembre, avec une valeur moyenne maximale observée début août (~ 21,7°C) et minimale mi-septembre (~ 18,9°C) pour les deux types de cages.

Quant aux données de luminosité, elles ont, de manière générale, montré de fortes valeurs en juillet avant de diminuer progressivement jusqu'en septembre. Ces données sont cohérentes avec les données d'ensoleillement récoltées par Météo-France sur la zone de Saint-Brieuc au cours de la saison.



**Figure 9. Box-plots des données de températures (a) et d'intensités lumineuses (b) mesurées par les sondes HOBO dans chacune des cages B et H sur les 7 jours de chaque campagne. Les bords du rectangle illustre les quartiles, le trait horizontal à l'intérieur des boîtes représente la médiane, les extrémités des moustaches sont calculés en multipliant l'espace interquartile par 1,5 et les valeurs à l'extérieur de cet intervalle sont représentés par des croix et sont associées à des valeurs aberrantes. La lettre « n » correspond au nombre de données associé à chaque boxplot.**

Les graphiques mettent également en évidence que la température et la luminosité ont évolué de manière similaire dans les cages H et B au cours de la saison, à l'exception de la deuxième campagne, où la luminosité reçue par les cages B était plus faible que celle des cages H. Le test de Mann-Whitney-Wilcoxon a été appliqué afin de comparer les médianes des données entre les lots H et B pour un risque d'erreur de 5 %. Ce test non-paramétrique a été

sélectionné car les données ne suivent pas une loi normale, après vérification par le test de Shapiro-Wilks. Les résultats des tests statistiques réalisés sur les données de température et de luminosité sont fournis dans les Tableau 3 et Tableau 4 respectivement. Ces résultats montrent qu'au cours des 6 campagnes, les températures mesurées dans les cages B n'étaient pas statistiquement différentes de celles des cages H (P-value < 0,05), à un niveau de confiance de 95 %. La même observation peut être réalisée pour les intensités lumineuses, excepté pour la deuxième campagne, pendant laquelle la luminosité reçue dans les cages en hauteur était statistiquement différente (i.e. supérieure) de celle captée dans les cages en contact avec le sédiment (P-value > 0,05). Les différences de luminosité lors de la deuxième campagne, n'ont pour autant pas eu d'impact sur le taux de croissance des algues (Figure 7). L'explication la plus probable est le recouvrement du capteur de la sonde par des algues échouées sur la toile de la cage.

Ces résultats suggèrent ainsi que les différences de croissance observées entre les algues des cages B et H en début et fin de saison (campagnes 1 et 6) ne peuvent pas être uniquement imputées à des variations de température ni de luminosité. L'évolution saisonnière de ces paramètres est néanmoins à considérer pour comprendre l'évolution des taux de croissance estimés au cours de la saison.

**Tableau 3. Résumé statistique des données de températures mesurées par les sondes HOBO au cours des 6 campagnes et des résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des lots H et B à un niveau de confiance de 95 %.**

		Nombre de données	Moyenne (°C)	Médiane (°C)	Ecart-type (°C)	Coefficient de variation (%)	Minimum (°C)	Maximum (°C)	Test de Mann-Whitney-Wilcoxon	
									P-value	Interprétation
Campagne 1	B	162	21.9	20.2	5.6	25.6	13.0	42.5	0.57514	H = B
	H	162	22.5	20.4	6.4	28.4	13.1	43.6		
Campagne 2	B	167	20.9	20.0	7.0	33.3	10.6	37.3	0.70915	H = B
	H	168	21.7	20.0	9.1	42.0	10.4	86.0		
Campagne 3	B	165	21.8	21.1	5.3	24.5	12.1	35.9	0.723101	H = B
	H	165	21.6	21.1	5.6	26.0	11.4	36.3		
Campagne 4	B	160	18.8	19.3	5.1	27.1	7.3	32.6	0.99984	H = B
	H	160	18.6	19.3	5.4	29.0	6.9	33.3		
Campagne 5	B	343	19.5	19.3	5.6	28.7	9.1	41.2	0.881323	H = B
	H	343	19.4	19.3	5.7	29.3	8.9	40.5		
Campagne 6	B	328	18.9	18.9	4.7	25.1	6.8	33.6	0.649687	H = B
	H	328	19.0	18.9	5.0	26.3	6.1	33.6		

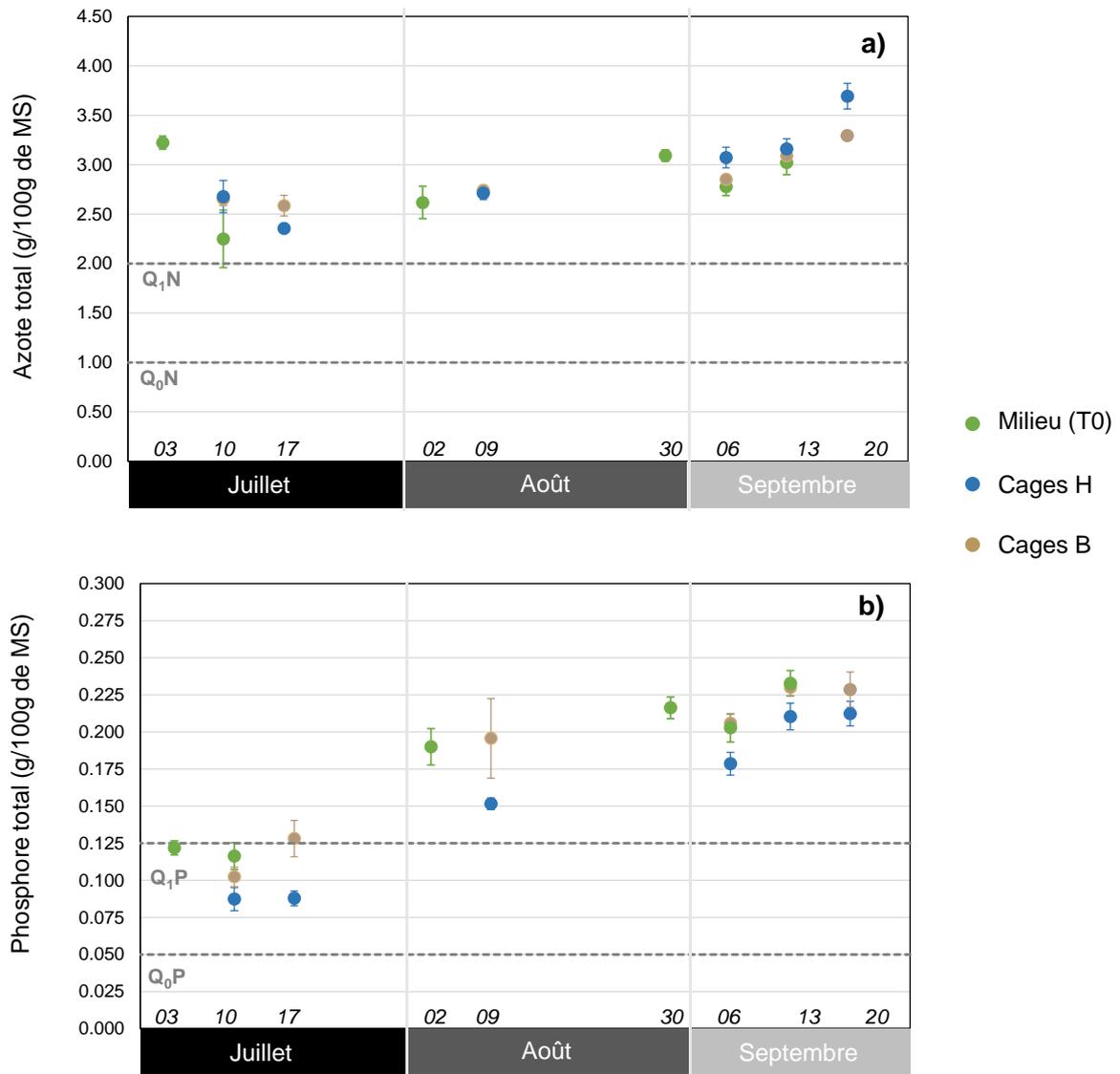
**Tableau 4. Résumé statistique des données d'intensités lumineuses mesurées par les sondes HOBO au cours des 6 campagnes et des résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des lots H et B à un niveau de confiance de 95 %.**

		Nombre de données	Moyenne ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	Médiane ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	Ecart-type ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	Coefficient de variation (%)	Minimum ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	Maximum ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	Test de Mann-Whitney-Wilcoxon	
									P-value	Interprétation
Campagne 1	B	78	846.2	675.5	674.5	0.8	86.0	3262.6	0.0798783	<b>H = B</b>
	H	78	1075.9	802.9	838.7	0.8	92.4	3466.5		
Campagne 2	B	84	611.8	305.9	721.6	1.2	0.0	2854.8	2.5886E-05	<b>H <math>\neq</math> B</b>
	H	84	1205.0	866.6	1107.4	0.9	18.9	2956.7		
Campagne 3	B	81	725.2	458.8	674.5	0.9	0.0	2548.9	0.493239	<b>H = B</b>
	H	81	804.1	458.8	742.9	0.9	1.4	2956.7		
Campagne 4	B	77	541.9	280.4	561.0	1.0	28.7	2039.1	0.133627	<b>H = B</b>
	H	77	642.0	407.8	582.1	0.9	54.2	1937.2		
Campagne 5	B	174	473.1	156.1	549.5	1.2	0.0	2141.1	0.139201	<b>H = B</b>
	H	174	556.7	226.2	623.5	1.1	1.6	2345.0		
Campagne 6	B	160	480.5	312.2	457.7	1.0	1.6	1631.3	0.156803	<b>H = B</b>
	H	160	553.9	376.0	509.6	0.9	2.2	2447.0		

### 2.3.6. Quotas azotés et phosphorés des algues

#### *Evolution saisonnière des quotas azotés et phosphorés*

Les quotas azotés et phosphorés des ulves ont été estimés dans le milieu au début de chaque campagne (T0) et au terme des 7 jours d'expérience dans les cages en hauteur (H) et en contact avec la vase (B) (Figure 10). Dans l'ensemble, les quotas azotés et phosphorés des lots H et B ont suivi la même évolution saisonnière que les quotas des algues prélevées dans le milieu, ce qui confirme que le dispositif n'a pas apporté de biais significatif à l'expérimentation.



**Figure 10. Evolutions saisonnières des quotas azotés (a) et phosphorés (b) des ulves présentes dans le milieu à T0 et dans les cages H et B. Les lignes en pointillés gris représentent les seuils des quotas critiques ( $Q_1N$  et  $Q_1P$ ) et des quotas de subsistance ( $Q_0N$  et  $Q_0P$ ) pour les deux éléments ( $\pm$  écart type ;  $n=4$ ).**

Les résultats montrent que les contenus internes en azote des ulves se sont maintenues à des valeurs supérieures au seuil du quota critique ( $Q_1N$ , défini à 2 g /100g de matière sèche (MS)) de juillet à septembre, suggérant que l'azote n'a pas été un élément limitant pour la croissance des algues au cours de la saison. L'évolution saisonnière des quotas azotés s'est caractérisée par de fortes valeurs en début de saison ( $3,22 \pm 0,07$  g /100g de MS), qui ont rapidement diminué au cours du mois de juillet ( $2,25 \pm 0,29$  g /100g de MS), avant de ré-augmenter d'août ( $2,62 \pm 0,16$  g /100g de MS) à septembre ( $3,02 \pm 0,12$  g /100g de MS).

Les quotas phosphorés des tissus algaux ont, quant à eux, montré des valeurs légèrement inférieures au seuil du quota critique ( $Q_1P$ , défini à 0,125 g /100g de MS) en juillet, avant d'augmenter d'août ( $0,19 \pm 0,01$  g /100g de MS) à septembre ( $0,23 \pm 0,01$  g /100g de MS). Cette évolution saisonnière suggère que le phosphore a pu être un facteur limitant pour la croissance des ulves en début de saison.

#### *Comparaison des quotas azotés et phosphorés entre les deux modalités (cages H et B)*

Les quotas azotés des tissus algaux présents dans les cages H et B ont suivi la même évolution saisonnière, bien que les contenus en azote soient apparus plus élevés dans les cages proches de la vase en septembre. Le test non-paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon a été appliqué pour comparer ces deux jeux de données (Tableau 5 et Tableau 6). Les résultats montrent qu'à un niveau de confiance de 95%, les quotas azotés des lots H et B ne sont pas statistiquement différents de la campagne 1 à 5 (03 juillet au 13 septembre). En revanche, une différence significative a été décelée entre les deux modalités au cours de la dernière campagne (du 13 au 20 septembre).

Quelle que soit la proximité des ulves au sédiment, les quotas phosphorés des tissus algaux ont également suivi la même évolution saisonnière. Néanmoins, les algues présentes dans les cages en hauteur, ont montré des contenus internes en phosphore généralement plus faibles que celles des cages en contact avec la vase. L'analyse statistique (test de Mann-Whitney-Wilcoxon) montre que les quotas phosphorés des algues des deux modalités sont statistiquement différents, à un niveau de risque de 5 %, pour les campagnes 3 à 5 (09 août au 13 septembre).

**Tableau 5. Résumé statistique des données de quotas azotés mesurées dans les tissus algaux au cours des 6 campagnes et des résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des lots H et B à un niveau de confiance de 95 %.**

Quotas azoté (g/100g MS)		Nombre de réplicats	Moyenne (g/100g MS)	Médiane (g/100g MS)	Ecart-type (g/100g MS)	Coefficient de variation (%)	Minimum (g/100g MS)	Maximum (g/100g MS)	Test de Mann-Whitney- Wilcoxon	
									P-value	Interprétation
Campagne 1	H	4	2.68	2.73	0.16	0.06	2.44	2.81	0.885229	<b>H=B</b>
	B	4	2.65	2.60	0.18	0.07	2.50	2.91		
Campagne 2	H	2	2.36	2.36	0.01	0.00	2.35	2.36	0.105192	<b>H=B</b>
	B	4	2.59	2.58	0.12	0.05	2.46	2.72		
Campagne 3	H	4	2.71	2.71	0.06	0.02	2.65	2.79	0.665002	<b>H=B</b>
	B	4	2.74	2.74	0.19	0.07	2.52	2.97		
Campagne 4	H	4	3.07	3.08	0.11	0.03	2.94	3.19	0.0606016	<b>H=B</b>
	B	4	2.85	2.82	0.10	0.03	2.78	2.99		
Campagne 5	H	4	3.16	3.16	0.10	0.03	3.06	3.28	0.470484	<b>H=B</b>
	B	4	3.09	3.03	0.19	0.06	2.95	3.36		
Campagne 6	H	4	3.69	3.67	0.13	0.04	3.58	3.84	0.0303826	<b>H≠B</b>
	B	4	3.29	3.29	0.07	0.02	3.22	3.37		

**Tableau 6. Résumé statistique des données de quotas phosphorés mesurées dans les tissus algaux au cours des 6 campagnes et des résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des lots H et B à un niveau de confiance de 95 %.**

Quotas phosphorés (g/100g MS)		Nombre de réplicats	Moyenne (g/100g MS)	Médiane (g/100g MS)	Ecart-type (g/100g MS)	Coefficient de variation (%)	Minimum (g/100g MS)	Maximum (g/100g MS)	Test de Mann-Whitney- Wilcoxon	
									P-value	Interprétation
Campagne 1	H	4	0.087	0.085	0.008	0.090	0.080	0.099	0.0606016	<b>H=B</b>
	B	4	0.102	0.105	0.007	0.065	0.093	0.107		
Campagne 2	H	2	0.088	0.088	0.005	0.056	0.084	0.091	0.105192	<b>H=B</b>
	B	4	0.128	0.128	0.012	0.096	0.115	0.140		
Campagne 3	H	4	0.152	0.151	0.004	0.026	0.148	0.157	0.0303826	<b>H≠B</b>
	B	4	0.196	0.199	0.027	0.137	0.163	0.222		
Campagne 4	H	4	0.179	0.179	0.008	0.043	0.169	0.187	0.0303826	<b>H≠B</b>
	B	4	0.206	0.206	0.006	0.030	0.199	0.213		
Campagne 5	H	4	0.210	0.211	0.009	0.043	0.201	0.219	0.0303826	<b>H≠B</b>
	B	4	0.230	0.229	0.006	0.025	0.224	0.238		
Campagne 6	H	4	0.212	0.215	0.008	0.039	0.200	0.219	0.19393	<b>H=B</b>
	B	4	0.229	0.231	0.012	0.052	0.213	0.239		

### *Fixation des nutriments par les algues*

L'utilisation des algues comme indicateur de l'apport en 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. À partir des données de quotas et de biomasses algales en début et fin de campagne, la quantité de nutriments assimilée 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, en suivant les équations (Eq.2) et (Eq.3) respectivement :

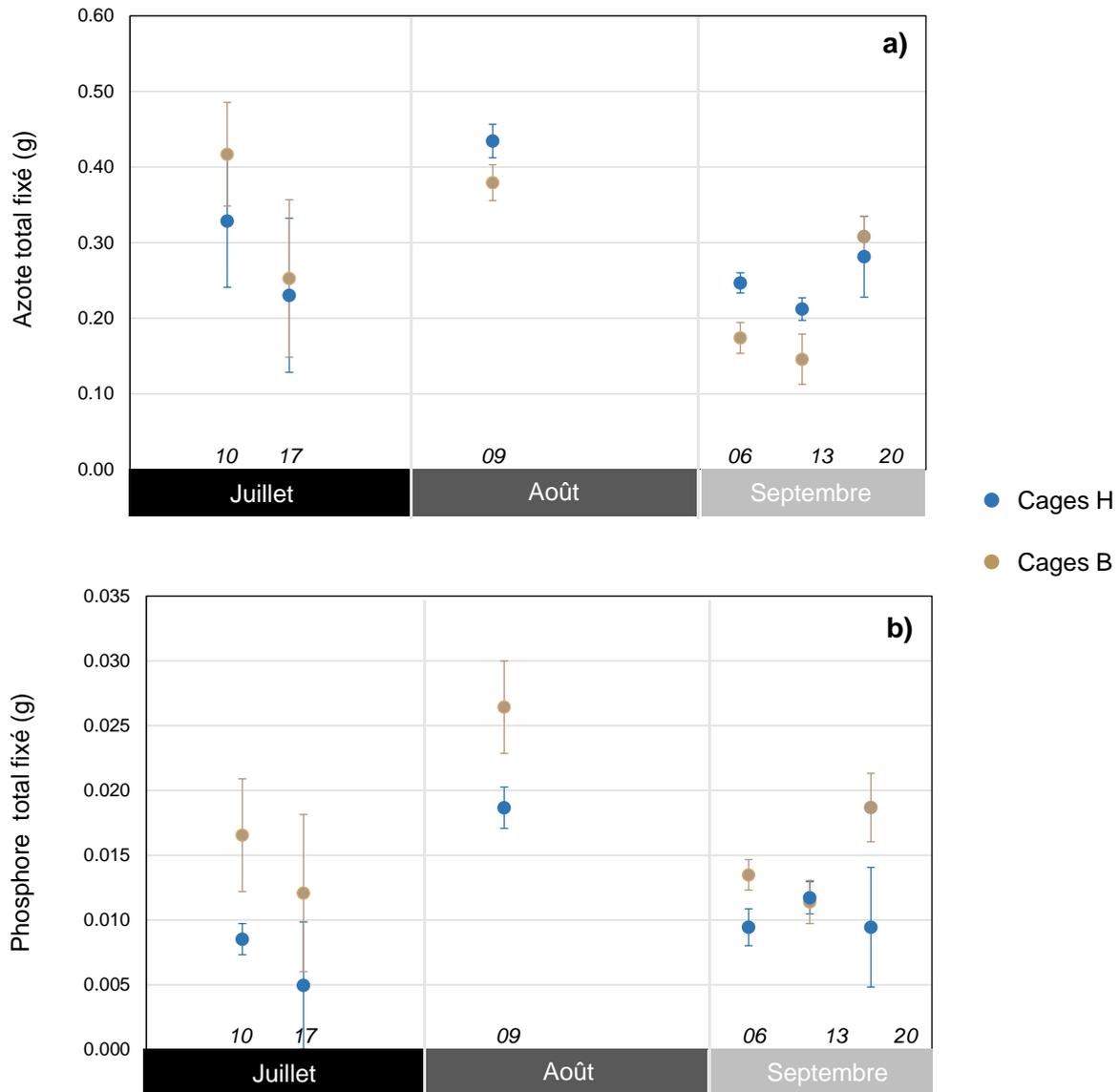
$$\mathbf{N\ fixé = \% QN (T_f) * m (T_f) - \% QN (T_0) * m (T_0) \quad Eq. 2}$$

$$\mathbf{P\ fixé = \% QP (T_f) * m (T_f) - \% QP (T_0) * m (T_0) \quad Eq. 3}$$

Avec « % QN » pourcentage d'azote sur la matière sèche des ulves, « % QP » pourcentage de phosphore sur la matière sèche des ulves et « m » : poids sec du lot d'algues en début (T<sub>0</sub>) et fin de campagne (T<sub>f</sub>). Les indices de fixation calculés sont représentés sur la Figure 11.

Ces indices permettent de comparer le bilan nutritionnel des lots d'algues en fonction des deux modalités testées. 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.

Les données ont fait l'objet d'une analyse statistique (test de Mann-Whitney-Wilcoxon) afin de déterminer d'éventuelles différences entre les données des lots H et celles des lots B (Tableau 7 et Tableau 8). Les résultats montrent que les valeurs d'azote total fixé par les ulves des lots H et B au cours de la saison ne sont pas statistiquement différentes à un niveau de confiance de 95 %, excepté pour la campagne 5, où l'indice de fixation de l'azote par les lots H est significativement supérieur à celui des lots B. Ainsi, aucun effet du sédiment ne peut être mis en évidence à partir des données d'azote total fixé, la seule différence significative étant associée à des fixations d'azote supérieures pour les algues en hauteur. En revanche, l'analyse statistique montre que les indices de fixation en phosphore des lots B sont statistiquement supérieurs à ceux des lots H pour les campagnes 1, 3, 4 et 6 (à un niveau de confiance de 95 %), suggérant un apport de phosphore d'origine sédimentaire.



**Figure 11. Evolutions saisonnières des indices de fixations en azote (a) et phosphore (b) par les ulves présentes dans les cages en hauteur (H) et en contact avec le sédiment (B), mesurés à l'issue de 7 jours d'expérimentation *in situ*. Les barres verticales correspondent aux écart-types des données (n=4).**

**Tableau 7. Résumé statistique des données de fixation d'azote réalisée par les algues au cours des 6 campagnes et des résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des lots H et B à un niveau de confiance de 95 %.**

Fixation d'azote (g)		Nombre de réplicats	Moyenne (g)	Médiane (g)	Ecart-type (g)	Coefficient de variation (%)	Minimum (g)	Maximum (g)	Test de Mann-Whitney- Wilcoxon	
									P-value	Interprétation
Campagne 1	H	4	0.329	0.341	0.088	0.267	0.211	0.421	0.19393	<b>H=B</b>
	B	4	0.417	0.396	0.069	0.164	0.358	0.516		
Campagne 2	H	2	0.230	0.230	0.102	0.443	0.158	0.302	0.816957	<b>H=B</b>
	B	4	0.253	0.269	0.104	0.413	0.111	0.361		
Campagne 3	H	4	0.434	0.438	0.022	0.051	0.405	0.457	0.0606016	<b>H=B</b>
	B	4	0.379	0.375	0.024	0.062	0.356	0.412		
Campagne 4	H	4	0.247	0.250	0.013	0.054	0.229	0.258	0.0303826	<b>H≠B</b>
	B	4	0.174	0.170	0.020	0.118	0.156	0.198		
Campagne 5	H	4	0.212	0.203	0.015	0.070	0.195	0.226	0.31232	<b>H=B</b>
	B	4	0.146	0.211	0.033	0.229	0.119	0.193		
Campagne 6	H	4	0.281	0.280	0.054	0.191	0.218	0.349	0.31232	<b>H=B</b>
	B	4	0.308	0.300	0.027	0.088	0.287	0.344		

**Tableau 8. Résumé statistique des données de fixation de phosphore réalisée par les algues cours des 6 campagnes et des résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des lots H et B à un niveau de confiance de 95 %.**

Fixation de phosphore (g)		Nombre de réplicats	Moyenne (g)	Médiane (g)	Ecart-type (g)	Coefficient de variation (%)	Minimum (g)	Maximum (g)	Test de Mann-Whitney- Wilcoxon	
									P-value	Interprétation
Campagne 1	H	4	0.009	0.009	0.001	0.141	0.007	0.010	0.0303826	<b>H≠B</b>
	B	4	0.017	0.016	0.004	0.262	0.013	0.022		
Campagne 2	H	2	0.005	0.005	0.005	0.987	0.001	0.008	0.247159	<b>H=B</b>
	B	4	0.012	0.013	0.006	0.502	0.004	0.019		
Campagne 3	H	4	0.019	0.018	0.002	0.086	0.017	0.021	0.0303826	<b>H≠B</b>
	B	4	0.026	0.027	0.004	0.135	0.021	0.030		
Campagne 4	H	4	0.009	0.010	0.001	0.151	0.007	0.010	0.0303826	<b>H≠B</b>
	B	4	0.013	0.014	0.001	0.087	0.012	0.015		
Campagne 5	H	4	0.012	0.012	0.001	0.106	0.010	0.013	0.885229	<b>H=B</b>
	B	4	0.011	0.012	0.002	0.146	0.009	0.013		
Campagne 6	H	4	0.009	0.009	0.005	0.488	0.005	0.016	0.0303826	<b>H≠B</b>
	B	4	0.019	0.020	0.003	0.141	0.015	0.020		

## 2.4. Discussion

### 2.4.1. Évolution saisonnière

Le suivi des taux de croissance des ulves au cours de la saison a permis de mettre en évidence une évolution saisonnière classique du développement algal sur la vasière du Lédano. Les meilleurs taux de croissance ont été mesurés lors de la première et de la troisième campagne. De début juillet à début août, les conditions météorologiques étaient favorables au développement des algues vertes, car marquées par des températures estivales et un ensoleillement record au mois de juillet (Bulletin MétéoFrance, juillet 2018). À partir de fin août (campagne 4), les taux de croissance relevés dans la présente étude étaient plus faibles (< 5,5 %) en cohérence avec la diminution progressive de l'ensoleillement mais aussi avec les faibles flux d'azote relevés à cette période pour le Leff et le Trieux (données CEVA).

En comparaison aux campagnes 1 et 3, la campagne 2 a montré des taux de croissance relativement plus faibles malgré des conditions météorologiques propices (i.e. température de l'eau, forte luminosité, concentrations en nutriments). Contrairement aux campagnes 1 et 3, menées en période de morte-eau, la campagne 2 s'est déroulée lors d'une période de fort coefficient de marée (vive-eau). Or, l'amplitude du balancement des marées impacte le développement des algues présentes sur l'estran, en soumettant ces organismes à des périodes d'immersion et d'émersion plus ou moins longues (Ji et Tanaka, 2002). Les conditions d'émersion, associées aux marées basses, engendrent une perte d'eau des tissus algaux, et par conséquent, les confrontent à un stress de dessiccation (Flores-Molina, 2014). Ce stress peut induire une diminution des vitesses de croissance, en inhibant l'activité photosynthétique des algues (Heber *et al.*, 2010; Pan *et al.*, 2011). Lors des marées de vive-eau (par exemple et notamment lors de la campagne 2), les périodes d'émersion sont associées aux phases d'ensoleillement les plus forts, et les « températures ressenties » (mesure par capteur qui n'est pas à l'ombre) à l'intérieur des cages ont atteint des valeurs proches de 35-40°C en milieu de journée. Il est très probable que ces périodes d'exposition répétées à de fortes intensités lumineuses et de relativement fortes températures aient soumis les algues à un stress à la dessiccation non- négligeable, limitant en conséquence leur croissance. Flores-Molina *et al.* (2014) ont montré qu'en condition d'émersion, le phénomène de dessiccation serait à l'origine d'une diminution des performances photosynthétiques de l'algue verte *Ulva compressa*. Ce stress induirait, chez cette espèce algale, un dysfonctionnement (et non une photo-inhibition) des processus impliqués dans la photosynthèse.

Les quotas azotés et phosphorés des tissus algaux ont également suivi une évolution saisonnière classique sur la vasière du Lédano. Les contenus internes en azote ont diminué en début de saison, pour atteindre un minimum (environ 2,5 % de la matière sèche) mi-juillet et début août, avant de ré-augmenter jusqu'en septembre (valeurs proches du début de saison). La diminution typique des quotas azotés en début de saison traduit l'augmentation naturelle des besoins de la croissance des algues (photopériode, température) dans un contexte de diminution des ressources nutritives (baisse saisonnière des flux d'azote provenant des cours d'eau). Lorsque le milieu s'appauvrit en azote, les algues puisent en effet dans leurs stocks intracellulaires pour maintenir leur croissance (Barr, 2007). L'augmentation des contenus internes en azote en fin de saison s'explique essentiellement par une diminution des besoins en sels nutritifs des algues, du fait de l'affaiblissement progressif de leur croissance (lié à la diminution de l'ensoleillement et des températures saisonnières). Par ailleurs, les valeurs des contenus en azote, toujours supérieures au seuil critique  $Q_{1N}$ , indiquent que l'azote n'a pas été un élément limitant pour la croissance des algues sur la vasière du Lédano au cours de la saison 2018.

Les contenus internes en phosphore des algues ont, quant à eux, augmenté progressivement au cours de la saison, traduisant une fixation croissante de phosphore par les ulves (absorption supérieure à la métabolisation). Cette observation pourrait s'expliquer par une augmentation des teneurs en phosphates disponible dans la colonne d'eau au cours de la saison, en parallèle de la diminution saisonnière classique des taux de croissance. L'apport de phosphates dans le milieu serait majoritairement d'origine sédimentaire. L'évolution saisonnière des paramètres physico-chimiques (e.g. pH, température, teneurs en oxygène) et biologiques (e.g. activités du microphytobenthos et de la macrofaune) du milieu tend à favoriser le relargage sédimentaire en phosphore vers la colonne d'eau (e.g. Asmus *et al.*, 2000 ; Clavero *et al.*, 2000 ; Kamer *et al.*, 2004 ; Zilius *et al.*, 2011). Il est, par exemple, établi que l'augmentation progressive des températures estivales a pour conséquence de favoriser les processus de relargage sédimentaire, et plus particulièrement les flux de phosphates du sédiment vers la colonne d'eau (Asmus *et al.*, 2000 ; Zilius *et al.*, 2011). L'augmentation des concentrations en phosphates de l'eau de mer en parallèle de celle des quotas phosphorés des algues au cours de la saison semble soutenir cette hypothèse. Le début de saison (campagnes 1 et 2) s'est en effet caractérisé par des quotas phosphorés algaux légèrement inférieurs au seuil critique ( $Q_{1P}$ ) et par des concentrations en phosphates inférieures à  $0,5 \mu\text{mol P L}^{-1}$  dans la colonne d'eau. L'augmentation de ces concentrations dès début août (valeurs  $> 0,5 \mu\text{mol P L}^{-1}$ ) s'est accompagnée d'un

enrichissement des contenus internes en phosphore des algues, ce qui a pu permettre le soutien de leur croissance au cours de la saison.

#### 2.4.2. Comparaison des lots H et B

De manière générale, l'évolution des taux de croissance des algues ont suivi les mêmes tendances au cours de la saison, selon qu'elles soient en contact direct avec le sédiment (lots B) ou disposées en hauteur (lots H). Néanmoins, les analyses statistiques ont permis de mettre en évidence que les lots B avaient présenté de meilleures croissances que les lots H, pendant la première et la dernière campagne. L'absence de différence significative des conditions de températures et de luminosités à l'intérieur des cages H et B, suggère que la proximité de la vase a eu un impact positif sur le développement des ulves au cours de ces deux campagnes.

Lors de la première campagne (03 au 10 juillet), les quantités d'azote fixées ne semblent pas corrélées à la proximité au sédiment, et les quotas azotés ont évolué de la même manière dans les deux modalités (i.e. diminution des contenus azotés). Les quotas phosphorés initialement inférieurs au seuil critique ( $Q_1P$ ) ont également diminué pendant cette période pour les deux types de lots. Cette observation suggère que les algues ont puisé dans leur contenu interne en phosphore pour soutenir leur croissance. Par ailleurs, pour cette campagne, la fixation de phosphore réalisée par les algues en contact avec la vase était statistiquement supérieure à celle des algues en hauteur. Ce résultat reflète l'effet positif de la proximité du sédiment dans l'apport de phosphore aux algues : les algues en contact avec le sédiment ont bénéficié d'une source de phosphore non-accessible aux algues en hauteur dans la colonne d'eau.

Au cours de la dernière semaine d'expérimentation (campagne 6), les quotas azotés des algues ont augmenté plus fortement pour les cages en hauteur que pour celles en contact avec la vase, pour des valeurs de fixation d'azote non significativement différentes. Cette observation traduit une utilisation plus importante des stocks internes d'azote par les algues en contact avec la vase, en cohérence avec leurs taux de croissance significativement plus élevés que ceux calculés pour les algues en hauteur. Par ailleurs, ces algues en contact avec le sédiment présentent une plus forte fixation de phosphore que les algues en hauteur, expliquant un maintien des quotas phosphorés des lots B comparables aux quotas initiaux, *a contrario* des lots H qui ont dû utiliser leurs stocks cellulaires internes.

Pour les autres campagnes (2-5) pour lesquelles les taux de croissance n'étaient pas significativement différents entre les deux modalités, l'effet positif de la proximité du sédiment dans l'apport de phosphore a quand-même pu être observé au cours de la saison : la fixation en

phosphore dans les lots B était quasiment toujours supérieure à celle des lots H, excepté pour les campagnes 2 et 5. En revanche, à aucun moment de la saison 2018, le rôle de pourvoyeur d'azote du sédiment n'a pu être mis en évidence par cette expérimentation. Les quotas internes en azote des algues des deux modalités sont restés élevés et ont évolué de façon similaire au cours de la saison. Par ailleurs, les lots B n'ont pas fixé plus d'azote que les lots H. L'absence d'effet positif de la proximité du sédiment à l'apport d'azote est très probablement liée à l'absence de limitation en nitrates dans la colonne d'eau tout au long de la saison 2018.

#### 2.4.3. Comparaison interannuelle des proliférations d'ulves

Le renouvellement, sur trois saisons, des expérimentations *in situ* sur la vasière du Lédano permet d'intégrer la variabilité interannuelle des développements d'algues vertes dans l'interprétation des résultats obtenus. Les proliférations d'ulves sur cette vasière se caractérisent par un cycle annuel de développement qui dépend notamment des conditions météorologiques (e.g. luminosité) et des propriétés physico-chimiques de l'eau (e.g. sels nutritifs, température). La variation de ces conditions d'une année à l'autre peut générer une variabilité dans l'initiation, l'intensité et l'évolution des proliférations au cours de la saison.

En 2016 et 2018, les proliférations saisonnières ont débuté tardivement (densification du tapis d'ulves courant juillet), et ont été marquées par de forts taux de croissance de juillet à août. Ces deux années ont aussi montré une forte similarité concernant l'évolution des contenus cellulaires en azote des ulves au cours de la saison. Bien qu'une diminution des quotas azotés ait été observée en début de saison en parallèle de la croissance rapide des ulves, les valeurs des contenus azotés sont toujours restées supérieures au seuil critique  $Q_{1N}$ . Cette observation indique que l'azote n'a pas été un élément limitant pour la croissance des algues sur la vasière du Lédano au cours des saisons 2016 et 2018. Par ailleurs, aucune différence significative de fixation d'azote n'a pu être mise en évidence entre les ulves en contact avec le sédiment et celles en hauteur, ce qui suggère que la principale source d'azote pour la croissance des ulves au cours de ces deux années provenait de la colonne d'eau.

En comparaison à ces deux années, le développement des ulves a été particulièrement précoce au cours de l'année 2017 (i.e. début en avril-mai), avec un maximum apparent de surfaces couvertes d'algues vertes atteint fin juin. Cette prolifération saisonnière s'est accompagnée d'une évolution des quotas azotés et phosphorés similaires aux deux années précédentes. En revanche, les quotas azotés ont atteint des valeurs inférieures au seuil critique à plusieurs reprises dès la fin du mois de juin, suggérant que l'azote a été un facteur limitant

pour la croissance des ulves en 2017. Cette limitation résulte probablement du caractère précoce de la prolifération associé à des flux d'azote particulièrement bas relevés dès le mois d'avril pour le Leff et le Trieux (débits d'avril 2017 trois fois inférieurs à la moyenne pluriannuelle, puis systématiquement inférieures aux débits moyens sur les mois suivants, avec des sommes de débits, sur mai à août inclus, 1,7 fois inférieur à la situation moyenne pluriannuelle sur le Trieux à Saint Clet ; données CEVA). Les données de fixation d'azote ont par ailleurs permis de mettre en évidence une contribution sédimentaire en azote significative pour les cages en contact avec le sédiment, uniquement lorsque les concentrations en nitrates dans la masse d'eau avaient atteint les plus faibles niveaux (du 22 août au 5 septembre 2017) dans un contexte de croissance soutenue. Cette observation suggère que, l'azote sédimentaire intervient uniquement en soutien à la biomasse constituée, en arrière-saison, au moment où les concentrations en nitrates dans la colonne d'eau sont plus faibles (années de faibles flux d'azote).

L'évolution saisonnière des quotas phosphorés a été similaire pour les trois années de suivis successives (2016-2018) et s'est caractérisée par une augmentation progressive des valeurs au cours de la saison. De plus, en 2017 et 2018, les ulves en contact avec la vase ont montré une meilleure fixation de phosphore que celles maintenues en hauteur de juillet à septembre, suggérant que le sédiment représente une source de phosphore significative pour les ulves sur la vasière du Lédano, quelle que soit l'évolution des concentrations en phosphore dans la colonne d'eau. La contribution sédimentaire en phosphore semble augmenter au cours du temps, comme le suggère l'augmentation saisonnière des quotas phosphorés des ulves. Le relargage sédimentaire du phosphore dans la colonne d'eau est dépendant des paramètres physico-chimiques (e.g. pH, température, teneur en oxygène) du milieu, de la resuspension des particules, et de l'activité du microphytobenthos et de la macrofaune en présence (Zilius, 2011). Tous ces paramètres conditionnent les flux biogéochimiques entre le compartiment sédimentaire et celui de la colonne d'eau (e.g. Auby *et al.*, 1994 ; Asmus *et al.* 2000 ; Clavero *et al.*, 2000 ; Kamer *et al.*, 2004). L'intensification du relargage sédimentaire en phosphore au cours de la saison sur la vasière du Lédano pourrait ainsi résulter de la modification saisonnière de ces paramètres. Il est néanmoins difficile d'identifier avec certitude le ou les paramètre(s) jouant un rôle clé à partir des expérimentations *in situ*, réalisées dans le cadre du programme CIMAV P3. Il est en outre probable, que les ulves qui ne sont pas en contact direct avec le sédiment bénéficient également du relargage sédimentaires en phosphore de l'ensemble de cette vaste vasière.

### 3. Expérimentation en conditions contrôlées

#### 3.1. Principe

En 2016 et 2017, 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 évaluer la contribution des nutriments d'origine sédimentaire dans la croissance des ulves. Ces expériences antérieures ont notamment permis de mettre en évidence (1) une meilleure croissance des algues en présence de sédiment et (2) un relargage sédimentaire du phosphore et dans une moindre mesure de l'azote en situation d'anoxie.

De manière à suivre le relargage sédimentaire en fonction des concentrations en azote et phosphore du milieu, le CEVA a reconduit en 2018 de nouvelles expérimentations en conditions contrôlées en mettant en place différentes modalités (Figure 12). Des améliorations testées et évaluées comme satisfaisantes en 2016 et en 2017 (i.e. eau de mer filtrée à 0,22 µm pour enlever les biais liés à la présence de micro-organismes, condition d'anoxie nocturne pour favoriser un relargage sédimentaire) ont été appliquées.

Comme pour les deux années précédentes, 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 compléter les résultats obtenus *in situ*.

Suite aux observations réalisées en 2017, l'analyse statistique des données et la significativité des résultats ont été renforcées par une augmentation du nombre de réplicats biologiques par bac (n=4). Des modifications ont également été appliquées au dispositif expérimental : le volume des bacs d'incubation a été augmenté (de 25 à 46 L), le système de régulation thermique a été remplacé par un bain thermostaté de taille adéquate et une luminosité plus proche de l'optimal de développement des ulves a été appliquée.

#### 3.2. Matériel et méthode

##### 3.2.1. Dispositif expérimental

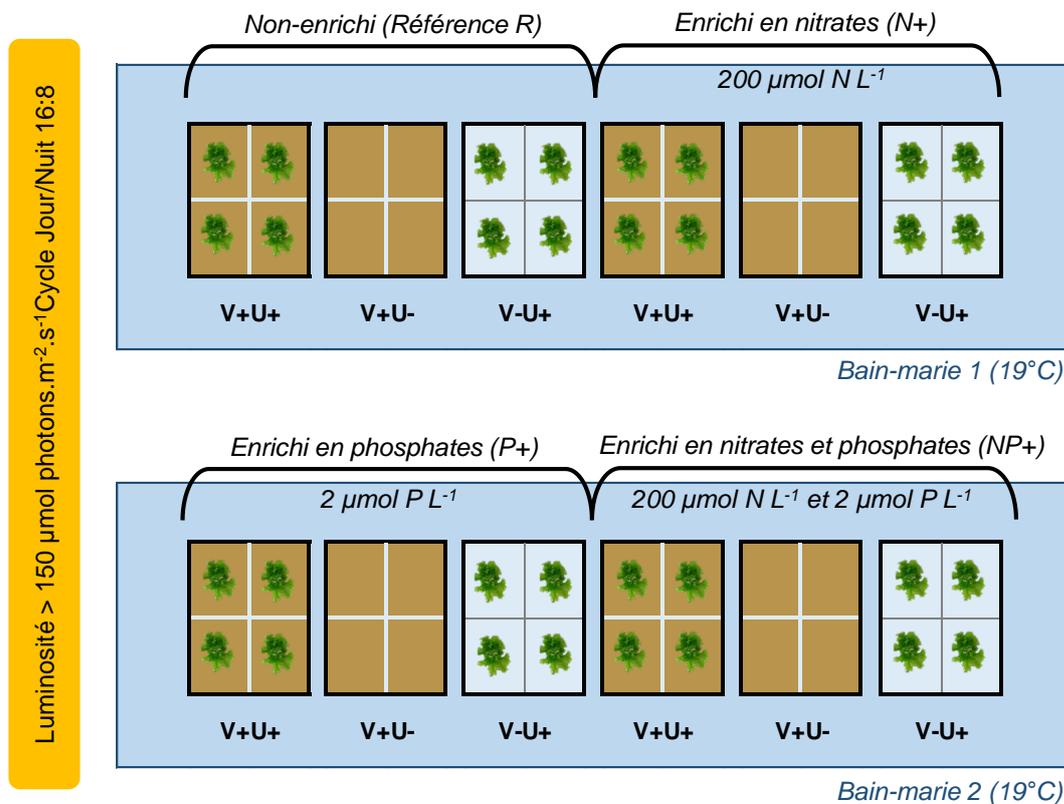
Le dispositif expérimental proposé en 2018 est illustré en Figure 12. Il est constitué des trois modalités suivantes:

- 1 bac contenant de la Vase et 4 lots d'Ulves disposés dans des sacs de toile (**V+U+**)
- 1 bac contenant de la Vase et 4 sacs de toile sans lots d'Ulves (**V+U-**)
- 1 bac sans Vase et 4 lots d'Ulves disposés dans des sacs de toile (**V-U+**)

Pour l'ensemble des modalités, des pondoirs (n=48) ont été utilisés de manière à (1) séparer les lots d'algues entre eux dans le bac, (2) les protéger des brouteurs potentiellement présents dans le sédiment (hydrobies) pour la modalité « Vase et Ulves » et (3) respecter les mêmes conditions expérimentales pour la modalité « Vase sans Ulves ». Des échantillons de vase d'une épaisseur de 5 cm, prélevés *in situ* (à proximité de la station d'expérimentation du Lédano) ont été placés au fond des bacs concernés par la modalité « avec vase » (V+).

Pour chacune des trois modalités, quatre conditions de concentrations en sels nutritifs ont été testées :

- **Milieu de référence (R)** : eau de mer filtrée non-enrichie
- **Milieu enrichi en nitrates (N+)** : eau de mer filtrée + nitrates (à  $200 \mu\text{mol.L}^{-1}$  de  $\text{NaNO}_3$ )
- **Milieu enrichi en phosphates (P+)** : eau de mer filtrée + phosphates (à  $2 \mu\text{mol.L}^{-1}$  de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )
- **Milieu enrichi en nitrates et phosphates (NP+)** : eau de mer filtrée + nitrates ( $200 \mu\text{mol.L}^{-1}$  de  $\text{NaNO}_3$ ) + phosphates ( $2 \mu\text{mol.L}^{-1}$  de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )



**Figure 12. Schéma du dispositif expérimental en conditions contrôlées de 2018 ; 4 conditions ; 3 modalités (V+U+ : Vase et Ulves; V+U- : Vase sans Ulves; V-U+ : sans Vase et Ulves)**

Douze néons (Philips Master TLD 58W/840) suspendus, ont été reliés à un programmeur permettant d'assurer un cycle jour/nuit, 16h : 8h. Ces néons ont assuré une intensité lumineuse minimum et proche de  $150 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Un bullage modéré a été appliqué dans chaque bac pour maintenir les algues en suspension et permettre un brassage du milieu. Deux grands bains thermostatés ont été installés pour maintenir l'eau de mer contenue dans les 12 bacs de 46 L à  $19^\circ\text{C}$  (chacun des bains accueillant 6 bacs).

Ce dispositif expérimental a été utilisé pour les trois expériences de 7 jours. Entre chaque expérience, l'eau des bacs a été renouvelée avec de l'eau de mer fraîchement filtrée et enrichie en nutriments pour les conditions qui le nécessitent. En revanche, la vase a été conservée dans les 8 bacs pour les trois expériences. L'expérience 1 a été réalisée en appliquant le bullage en continu, tandis que, pour les expériences 2 et 3, ce bullage a été arrêté pendant la période nocturne afin de provoquer des conditions d'anoxie ; le but étant de comparer les deux types d'expérimentation et de mettre en évidence l'impact de l'anoxie nocturne sur le relargage sédimentaire.

### 3.2.2. Protocole expérimental

Deux sorties terrain sur la vasière du Lédano ont été organisées pour prélever les ulves (le 11 juillet 2018) et la vase (le 18 juillet 2018) nécessaires à l'élaboration de l'expérimentation. Les procédures de prélèvement et de conditionnement des échantillons au laboratoire sont tirées du projet CIMAV P3 2017 et sont décrites en ANNEXE 3.

Les algues (*Ulva* sp.) ont été prélevées 10 jours avant le début de l'expérimentation. De retour en laboratoire, elles ont été triées, nettoyées et essorées (comme détaillé en ANNEXE 3). Une biomasse d'algues de 1 kg a été répartie dans deux grands bacs d'acclimatation de 500 L remplis d'eau de mer filtrée à  $0,22 \mu\text{m}$ , de manière à respecter une densité d'1 g d'algues par litre d'eau. Une température à  $19^\circ\text{C}$ , un système de bullage en continu, et une intensité lumineuse de  $100 \mu\text{mol photons m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{h}$  avec un cycle jour/nuit de 16h:8h ont été appliqués à ces bacs. Les deux grands bacs d'acclimatation ont été enrichis tous les 7 jours en nitrates ( $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) et phosphates ( $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

Concernant le dispositif expérimental, les bacs de 46 L ont été remplis avec de l'eau de mer filtrée (à  $0,22 \mu\text{m}$ ) un jour avant le début de l'expérimentation, de manière à laisser le milieu se stabiliser dans les bacs contenant de la vase (l'ajout d'eau de mer engendrant une légère mise en suspension de particules sédimentaires).

Avant le début de l'expérimentation (comprenant trois expériences de 7 jours), un prélèvement de quatre échantillons de vase a été effectué afin de caractériser le sédiment (teneurs en azote et phosphore, matière organique). L'échantillonnage a été réalisé sur les 5 premiers cm du sédiment pour 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). Le conditionnement des échantillons en laboratoire est décrit en ANNEXE 3.

L'enrichissement des bacs de 46 L a été réalisé en suivant les directives du dispositif expérimental énoncées plus haut (Figure 12) et, une heure avant le début de chaque expérience, afin de laisser le milieu s'homogénéiser avant d'introduire les algues.

Pendant cette phase de stabilisation, une masse d'environ 700 g d'ulves a été prélevée des bacs d'acclimatation puis essorée. Quatre échantillons de 100 g d'algues en poids frais ont été conditionnés pour l'analyse des teneurs initiales en azote et phosphore, et 32 lots de 8 g d'algues en poids frais ont été formés. Avant le début de l'expérience, quatre échantillons d'eau de mer ont également été prélevés dans chacun des 12 bacs d'incubation, et conditionnés pour l'analyse des concentrations en sels nutritifs (nitrates, ammonium, orthophosphates). Les lots de 8 g d'algues ont ensuite été répartis dans les 32 pondoires concernés par cette modalité (Figure 12), initiant alors l'expérience de 5 jours (T0).

Une mesure des biomasses des 32 lots d'algues a été réalisée trois jours après le début de l'expérience (T+3 jours) puis à la fin de l'expérience (T+7 jours). À ces deux temps, quatre échantillons d'eau de mer ont également été prélevés dans chacun des bacs pour un suivi des concentrations en sels nutritifs. À T+7 jours, chaque lot d'algues a été collecté et conditionné pour l'estimation des contenus internes en azote et en phosphore.

Pour la caractérisation du sédiment en fin d'expérimentation, quatre échantillons de vase ont été prélevés dans chaque bac et conditionnés à la fin des 3 expériences de 7 jours (T+21 jours).

Comme pour l'expérimentation *in situ*, les analyses chimiques des échantillons ont été réalisées par deux laboratoires extérieurs agréés : Eurofins (pour l'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer) et Upscience (pour la caractérisation du sédiment et l'analyse des contenus internes en azote et phosphore (algues et sédiment)). Le récapitulatif des échantillons destinés aux analyses est fourni dans le Tableau 9.

**Tableau 9. Plan d'échantillonnage et analyses pour les expériences en laboratoire**

Type de prélèvement	Expérience 1			Expérience 2			Expérience 3			Total d'échantillons analysés
	T0	T3	T7	T0	T3	T7	T0	T3	T7	
<b>Sédiment</b>	4								32	36
<b>Algue</b>	4		32	4		32	4		32	108
<b>Eau de mer</b>	48	48	48	48	48	48	48	48	48	432

Les conditions des milieux d'acclimatation et d'incubation ont été régulièrement contrôlées (tous les deux jours) afin de s'assurer du maintien des paramètres de lumière et de température fixés pour l'étude et de vérifier l'évolution des paramètres clés suivant : le pH, la salinité et la teneur en dioxygène dans l'eau de mer (ANNEXE 9).

### 3.3. Résultats

#### 3.3.1. Evolution de la biomasse algale

À l'issue du 3<sup>ème</sup> et de 7<sup>ème</sup> jour d'incubation, chaque lot d'algue introduit a été pesé pour estimer la biomasse algale intermédiaire et finale de l'expérience. Puis les taux de croissance ont été calculés à partir du poids sec selon l'équation (1) utilisée précédemment. Les résultats obtenus pour les trois expériences sont détaillés en ANNEXE 10 et moyennés sur la Figure 13 et dans le Tableau 10.

Au cours des deux premières expériences, les taux de croissance ont montré les mêmes tendances corrélées aux conditions nutritives auxquelles les algues avaient été soumises, qu'il y ait présence ou non de vase. Les taux de croissance ont été plus élevés sur les 3 premiers jours d'incubation qu'entre le 4<sup>ème</sup> et le 7<sup>ème</sup> jour d'incubation, traduisant un ralentissement ou un arrêt du développement algal après le troisième jour d'expérience. La comparaison des taux de croissance sera donc réalisée à partir des données obtenues au 3<sup>ème</sup> jour d'incubation. Pour chacune des deux expériences, les plus fortes croissances ont été observées lorsque le milieu était à la fois enrichi en nitrates et en orthophosphates (NP+) ( $8,2 \pm 0,3$  %/j et  $7,6 \pm 1,1$  %/j au terme de l'expérience 1 et de l'expérience 2 respectivement), tandis que les taux de croissance sous conditions enrichies en phosphates uniquement (P+) étaient comparables aux conditions de référence (R) sans enrichissement ( $5,4 \pm 0,6$  %/j et  $4,6 \pm 0,5$  %/j pour l'expérience 1 et 2 respectivement). La dernière condition nutritive, i.e. enrichissement en nitrates (N+), a engendré des croissances relativement élevées au cours des expériences 1 et 2 ( $6,2 \pm 0,8$  %/j et  $6,9 \pm 1,3$  %/j respectivement).

La troisième expérience s'est démarquée des deux premières par une dégradation de la majorité des lots d'algues à la fin des 7 jours d'incubation (Figure 13). L'observation de taux de croissance positifs au 3<sup>ème</sup> jour a néanmoins permis de mettre en évidence que cette dégradation avait été précédée d'une courte période de croissance de faible intensité (avec des taux de croissance compris entre  $0,7 \pm 0,3$  %/j et  $3,7 \pm 1,7$  %/j. Par ailleurs, certaines conditions particulières ont permis de soutenir la croissance des algues, bien que faible (taux de croissance compris entre  $0,8 \pm 1,2$  %/j et  $2,7 \pm 0,7$  %/j), pendant 7 jours : le milieu non-enrichi R et les milieux enrichi N+ et NP+ en présence de vase. En comparaison aux deux premières expériences, ces taux de croissance ont été particulièrement faibles. Étant donné que les algues ont été incubées dans des conditions identiques (nutriments, lumière, température), il est probable que cette dégradation soit due à l'évolution de l'état physiologique des algues dans le bac d'acclimatation au cours du temps.

Le test statistique non paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon a été sélectionné afin de comparer les taux de croissance obtenus en absence et en présence de vase au troisième jour d'incubation. Les résultats montrent que, pour l'ensemble des expériences, les taux de croissance des ulves ne sont pas statistiquement différents à un niveau de confiance de 95 %, qu'il y ait présence ou absence de vase pour un même milieu nutritif. La seule différence statistique a été relevée lors de la troisième expérience, en milieu enrichi NP+, au cours de laquelle les algues s'étaient dégradées uniquement en absence de vase. Cette analyse statistique démontre que la variabilité des taux de croissance n'est pas directement dépendante de la présence ou non de vase, mais plutôt des conditions d'enrichissement appliquées lors de l'expérience. Une analyse des concentrations en sels nutritifs et des quotas azotés et phosphorés des algues s'avère donc essentielle pour comprendre cette variabilité.

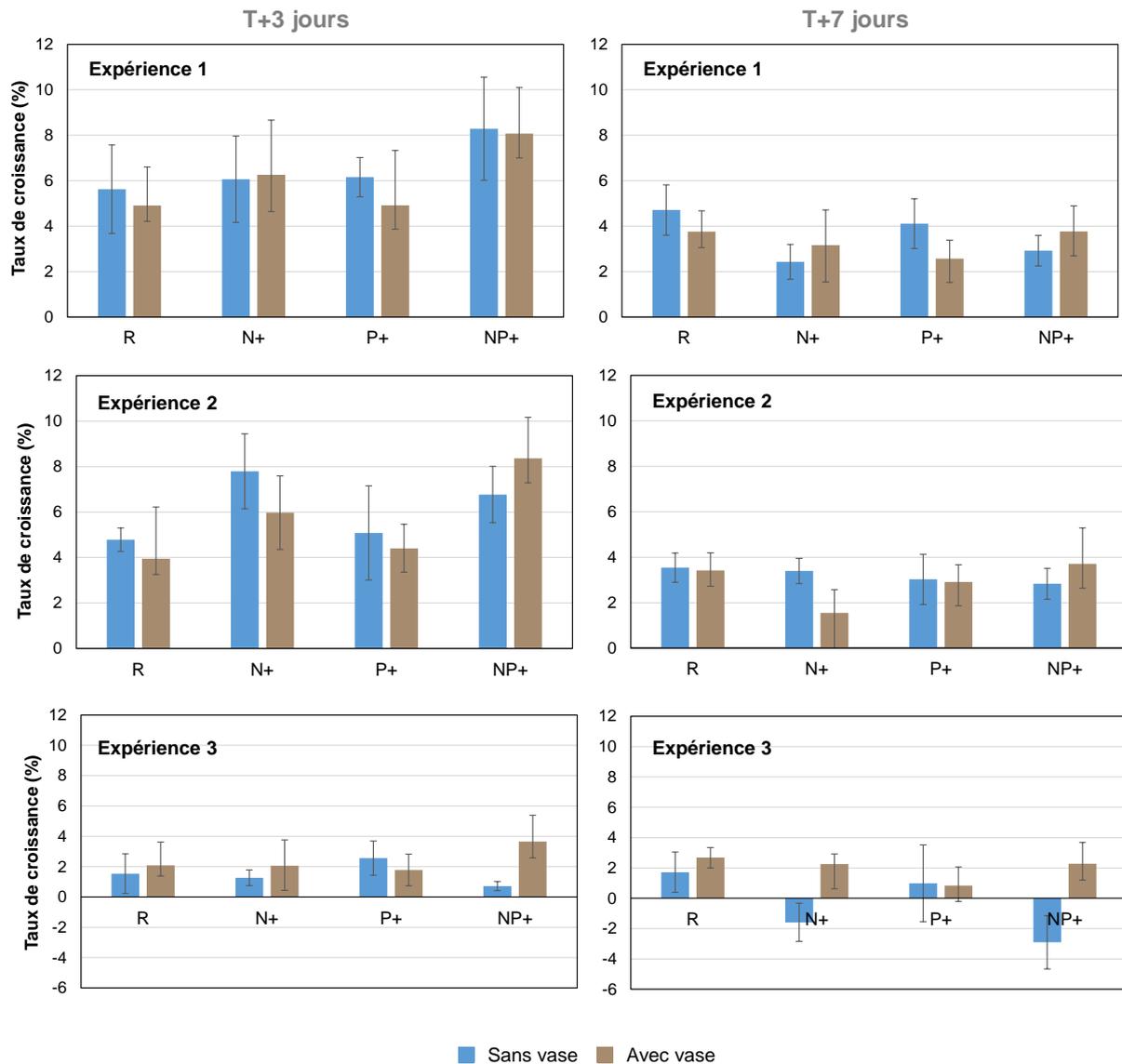


Figure 13. Taux de croissance moyens (en %) des algues aux 3<sup>ème</sup> (T3) et 7<sup>ème</sup> jours (T7) d'incubation en fonction de la présence ou non de vase, et des quatre conditions de concentrations en nutriments (R : référence, N+ : enrichissement en nitrates, P+ : enrichissement en phosphates, NP+ : enrichissement en nitrates et phosphates) au cours des trois expériences ( $\pm$  écart-types ; n=4).

**Tableau 10. Résumé statistique des données de taux de croissance des algues au 3<sup>ème</sup> jour d'incubation pour les 8 modalités testées au cours des trois expériences successives et résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des modalités avec vase (V+) et sans vase (V-) à un niveau de confiance de 95 %.**

Taux de croissance T3 (%/j)	Modalité	Nombre de réplicats	Moyenne (%/j)	Médiane (%/j)	Ecart-type (%/j)	Coefficient de variation (%)	Minimum (%/j)	Maximum (%/j)	Test de Mann-Whitney-Wilcoxon	
									P-value	Interprétation
Expérience 1	[R] V+	4	4.91	4.54	1.70	34.7%	3.4	7.14	0.665002	V+ = V-
	[R] V-	4	5.63	5.59	1.94	34.5%	3.29	8.03		
	[N+] V+	4	6.26	5.95	2.41	38.5%	3.96	9.19	0.885229	V+ = V-
	[N+] V-	4	6.07	6.32	1.90	31.3%	3.52	8.1		
	[P+] V+	4	4.92	4.75	2.41	49.1%	2.14	8.03	0.31232	V+ = V-
	[P+] V-	4	6.16	6.13	0.86	14.0%	5.38	7		
	[NP+] V+	4	8.08	7.32	2.02	25.0%	6.63	11.04	0.885229	V+ = V-
	[NP+] V-	4	8.29	8.44	2.27	27.4%	5.59	10.68		
Expérience 2	[R] V+	4	3.95	3.64	2.27	57.6%	1.82	6.7	0.665002	V+ = V-
	[R] V-	4	4.78	4.77	0.52	10.8%	4.22	5.38		
	[N+] V+	4	5.97	5.95	1.62	27.1%	4.37	7.6	0.245383	V+ = V-
	[N+] V-	4	7.80	8.04	1.65	21.2%	5.8	9.32		
	[P+] V+	4	4.40	4.77	1.07	24.2%	2.87	5.2	0.665002	V+ = V-
	[P+] V-	4	5.08	5.07	2.07	40.8%	2.6	7.57		
	[NP+] V+	4	8.36	8.39	1.81	21.7%	6.66	10	0.31232	V+ = V-
	[NP+] V-	4	6.77	6.54	1.24	18.2%	5.73	8.29		
Expérience 3	[R] V+	4	2.08	1.98	1.54	74.1%	0.41	3.96	0.470484	V+ = V-
	[R] V-	4	1.54	1.19	1.30	84.8%	0.37	3.4		
	[N+] V+	4	2.06	2.17	1.70	82.7%	0.33	3.55	0.665002	V+ = V-
	[N+] V-	4	1.26	1.07	0.51	40.5%	0.90	2.02		
	[P+] V+	4	1.78	1.77	1.04	58.6%	0.82	2.76	0.245383	V+ = V-
	[P+] V-	4	2.56	2.89	1.13	44.3%	0.94	3.52		
	[NP+] V+	4	3.65	3.90	1.74	47.6%	1.43	5.38	0.0303826	V+ ≠ V-
	[NP+] V-	4	0.72	0.64	0.30	41.2%	0.46	1.15		

### 3.3.2. Dosage de l'eau de mer filtrée

Des dosages en ammonium, nitrates et orthophosphates de l'eau de mer ont été effectués à T0, T3 et T7 jours dans chaque bac d'incubation. Les résultats sont présentés sur les Figure 14, Figure 15 et Figure 16 et sont détaillées en ANNEXE 11 pour chaque expérience.

#### *Expérience 1 – Bullage continu (oxygénation continue du milieu)*

Dans les milieux non-enrichis (R), les concentrations en nitrates et phosphates étaient faibles ( $0,77 \pm 0,37 \mu\text{mol N.L}^{-1}$  et  $0,15 \pm 0,11 \mu\text{mol P.L}^{-1}$  respectivement), voire inférieures à la limite de détection de  $0,1 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . Les concentrations en ammonium étaient, quant à elles, plus fortes en présence de vase ( $3,9 \pm 2,3 \mu\text{mol N.L}^{-1}$ ), qu'en son absence ( $0,97 \pm 1,06 \mu\text{mol N.L}^{-1}$ ). Cette même observation peut être faite pour les trois autres conditions d'enrichissement, suggérant d'éventuels relargages d'ammonium du sédiment vers l'eau de mer. L'application du test non-paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon a permis de démontrer que les concentrations en ammonium dans les milieux contenant de la vase sont bien significativement supérieures à celles des milieux dépourvus de vase (à un niveau de confiance de 95 % ; Tableau 11). En revanche, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence pour les autres sels nutritifs.

En conditions d'enrichissement N+, P+ et NP+, une chute drastique des concentrations en nitrates et phosphates a été observée en présence d'ulves. Ces résultats illustrent les fortes vitesses d'absorption en nitrates et phosphates de ces algues en période de croissance. L'absorption en nitrates a été particulièrement marquée dans les bacs contenant du sédiment, où une réduction d'environ 96 % du nitrate dans le milieu a été relevée à T3, contre un pourcentage de 70 % en absence de vase. En conditions P+, les concentrations en nitrates ont rapidement diminué. Néanmoins, la diminution des concentrations en ammonium au cours du temps suggère que les algues ont également puisé dans cette deuxième source d'azote.

En absence d'ulves dans le milieu, la diminution des concentrations en nutriments a été plus amortie, montrant une réduction de 1 à 3 % des concentrations initiales en nitrates pour les conditions d'enrichissement N+ et NP+ au bout des 7 jours d'incubation et, une réduction de 22 % et 61 % des concentrations initiales en phosphates pour les conditions d'enrichissement P+ et NP+ respectivement. Cette consommation en nutriments est très probablement due aux micro-organismes (i.e. phytobenthos. phytoplancton), introduit avec la vase prélevée sur la vasière du Lédano (l'eau de mer ayant été préalablement filtrée pour s'affranchir de la présence de tout organisme).

### *Expérience 2 – Bullage interrompu en nocturne (simulation d'anoxie)*

Lors de la deuxième expérience, les concentrations en ammonium étaient généralement supérieures dans les milieux contenant de la vase que dans ceux qui en étaient dépourvus. Ces différences sont statistiquement significatives à un niveau de confiance de 95 % (test Mann-Whitney-Wilcoxon, Tableau 12). Comme remarqué dans l'expérience 1, cette observation suggère un transfert d'ammonium du sédiment vers l'eau de mer.

Afin d'évaluer l'effet de l'anoxie sur le phénomène de relargage sédimentaire, l'expérience 2 a été menée sans bullage en période nocturne (arrêt de l'oxygénation). Les concentrations en ammonium initiales, pour chaque milieu pourvu de vase uniquement (V+U-), relevées lors des expériences 1 et 2 ont été comparées au moyen du test non-paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon (Tableau 13). Les résultats montrent que les concentrations en ammonium de l'expérience 1 sont statistiquement différentes (i.e. supérieures) à celles de l'expérience 2, à un niveau de confiance de 95 %. L'effet positif attendu de l'anoxie nocturne dans le relargage sédimentaire d'ammonium n'est donc pas visible dans les conditions de cette expérimentation. Par ailleurs, lors de la deuxième expérience, l'intensité du relargage a été particulièrement variable d'un bac à l'autre, les concentrations initiales variant de valeurs inférieures à  $0,1 \mu\text{mol N.L}^{-1}$  à  $3,4 \mu\text{mol N.L}^{-1}$ . Cette variabilité peut être associée aux caractéristiques propres à chaque parcelle de sédiment prélevé *in situ* (i.e. compositions chimiques, granulométriques ou biologiques) de la parcelle de sédiment qui a été prélevée pour chaque bac, même si chacune d'entre-elles a été échantillonnée proche des autres.

Cette deuxième expérience soutient les résultats observés lors de la première, en montrant également (1) une chute drastique des concentrations en nitrates et phosphates induite par la croissance des ulves et (2) une légère diminution de ces nutriments en absence d'ulves pour les milieux enrichis N+ et NP+ qui pourrait être due aux échanges avec le sédiment (activités microbiennes, séquestration).

Concernant les milieux enrichis en phosphates (P+), les concentrations en nitrates étaient majoritairement inférieures à la limite de détection ( $0,1 \mu\text{mol N L}^{-1}$ ), excepté au 7<sup>ème</sup> jour d'incubation en présence de vase ( $0,26 \pm 0,64 \mu\text{mol N.L}^{-1}$ ). En présence d'ulves, les concentrations en phosphates initiales ont été étonnamment faibles ( $< 1,0 \mu\text{mol P.L}^{-1}$ ) malgré l'enrichissement. Cette observation pourrait être liée à un prélèvement trop précoce après enrichissement, le milieu n'ayant pas eu le temps de s'homogénéiser.

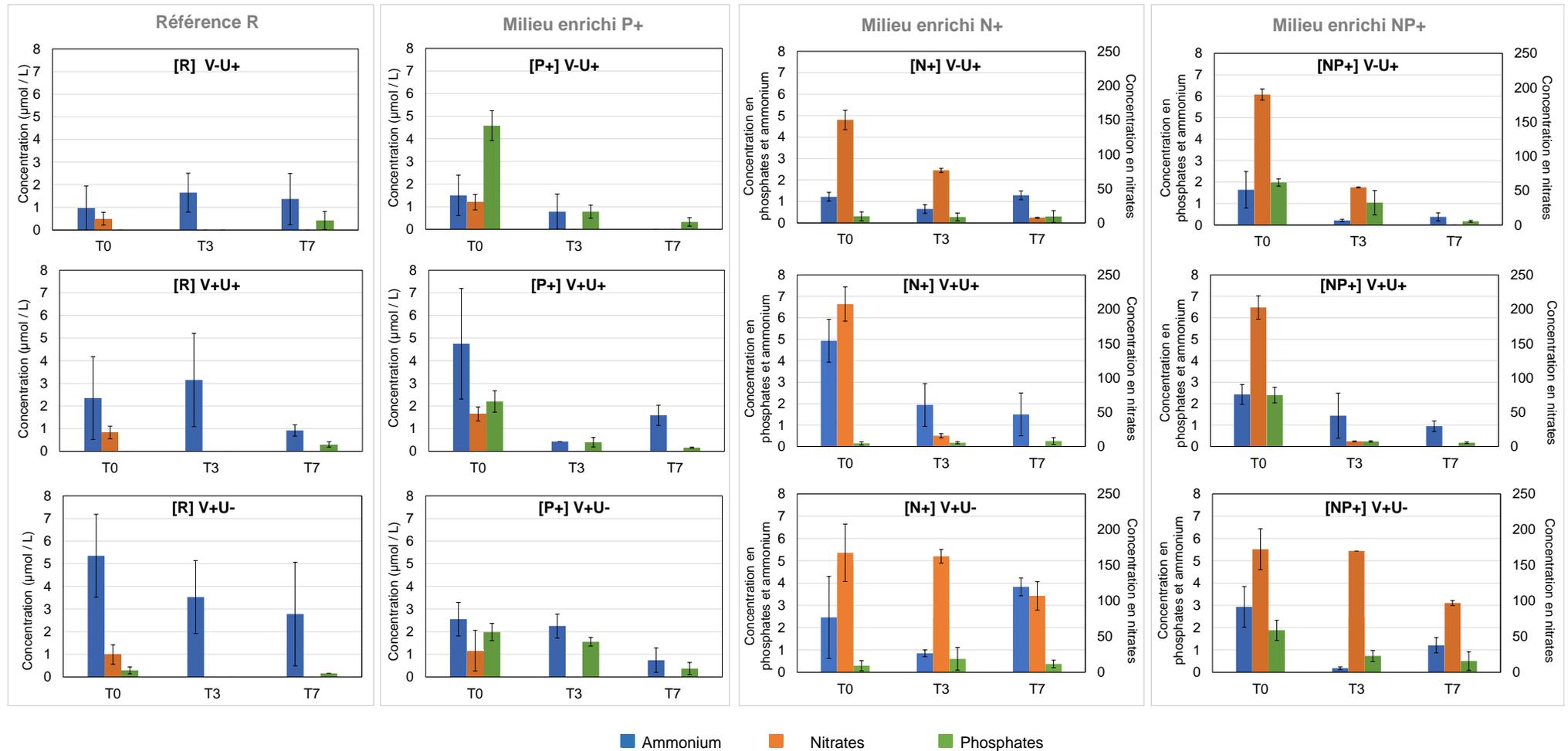
### *Expérience 3 – Bullage interrompu en nocturne (simulation d'anoxie)*

La troisième expérience n'est pas comparable aux deux autres expériences car elle s'est achevée par une dégradation des algues au terme des 7 jours d'incubation. En outre, cette dégradation peut impacter les concentrations en sels nutritifs du milieu, et notamment celles en ammonium, issu de la reminéralisation de l'azote organique dans le milieu. Ce phénomène pourrait expliquer les concentrations en ammonium particulièrement fortes relevées dans les bacs contenant des ulves au 7<sup>ème</sup> jour d'incubation (Figure 16), et même en absence de vase. Par ailleurs, le relargage en ammonium du sédiment apparaît moins évident lors de cette troisième expérience, avec des valeurs de concentrations particulièrement faibles par rapport aux deux précédentes expériences ( $0,84 \pm 0,21 \mu\text{mol N.L}^{-1}$ ), malgré l'absence de bullage.

En comparaison avec les deux autres expériences, la diminution des concentrations en nitrates a été plus lente au cours de la période d'incubation, pour les milieux enrichis N<sup>+</sup> et NP<sup>+</sup>, bien que les concentrations aient été épuisées par les ulves au 7<sup>ème</sup> jour en présence de vase. On note également qu'en milieu enrichi P<sup>+</sup>, les concentrations en phosphates ont été rapidement réduites en présence d'ulves, malgré les faibles concentrations en nitrates (toujours inférieures à la limite de détection).

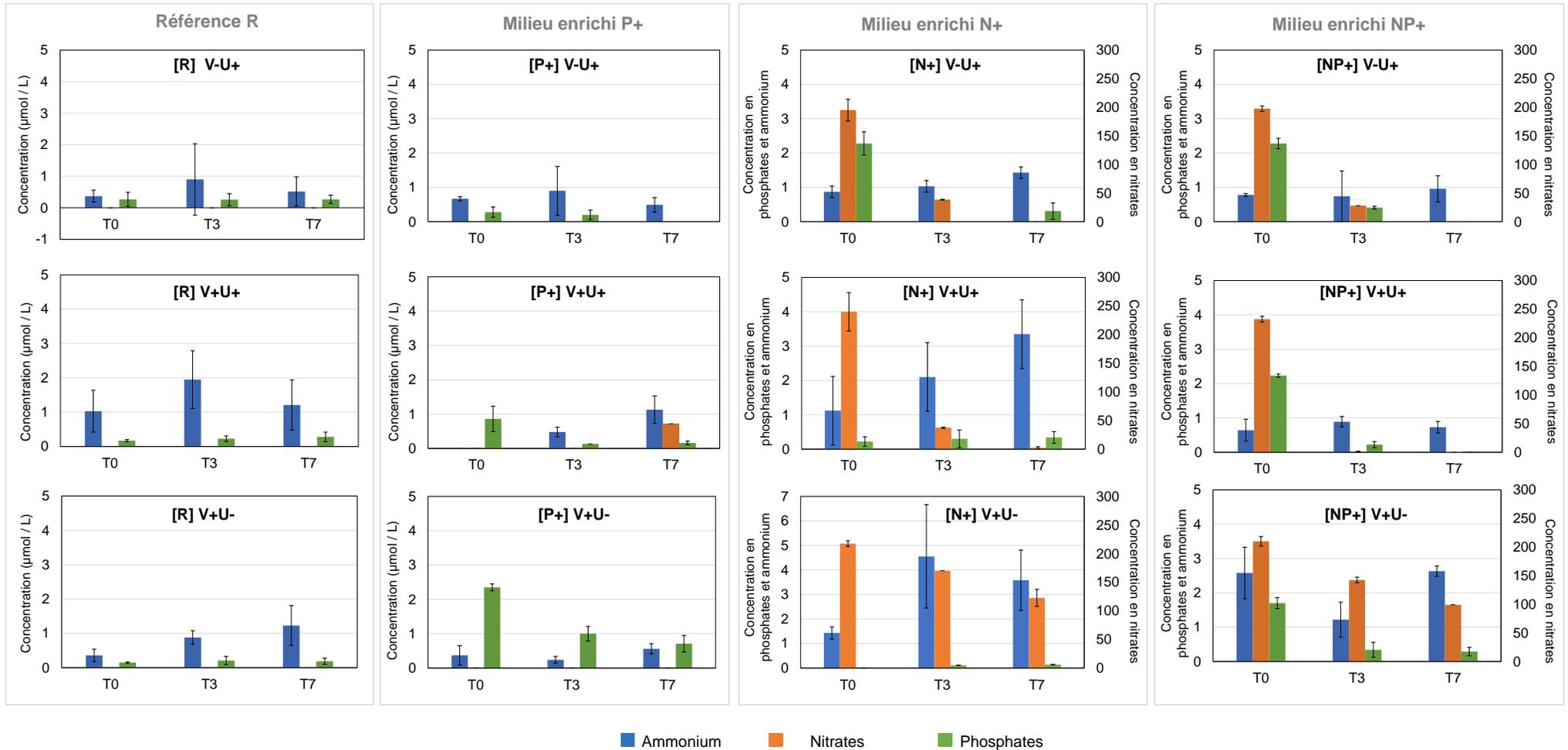
Les milieux contenant du sédiment et dépourvus d'ulves se sont comportés de la même manière que décrit précédemment pour les expériences 1 et 2 (i.e. diminution légère des concentrations en nitrates et phosphates), suggérant que la particularité des résultats de cette troisième expérience serait à imputer aux algues et à la modification de leur état physiologique au cours du temps.

EXPÉRIENCE 1



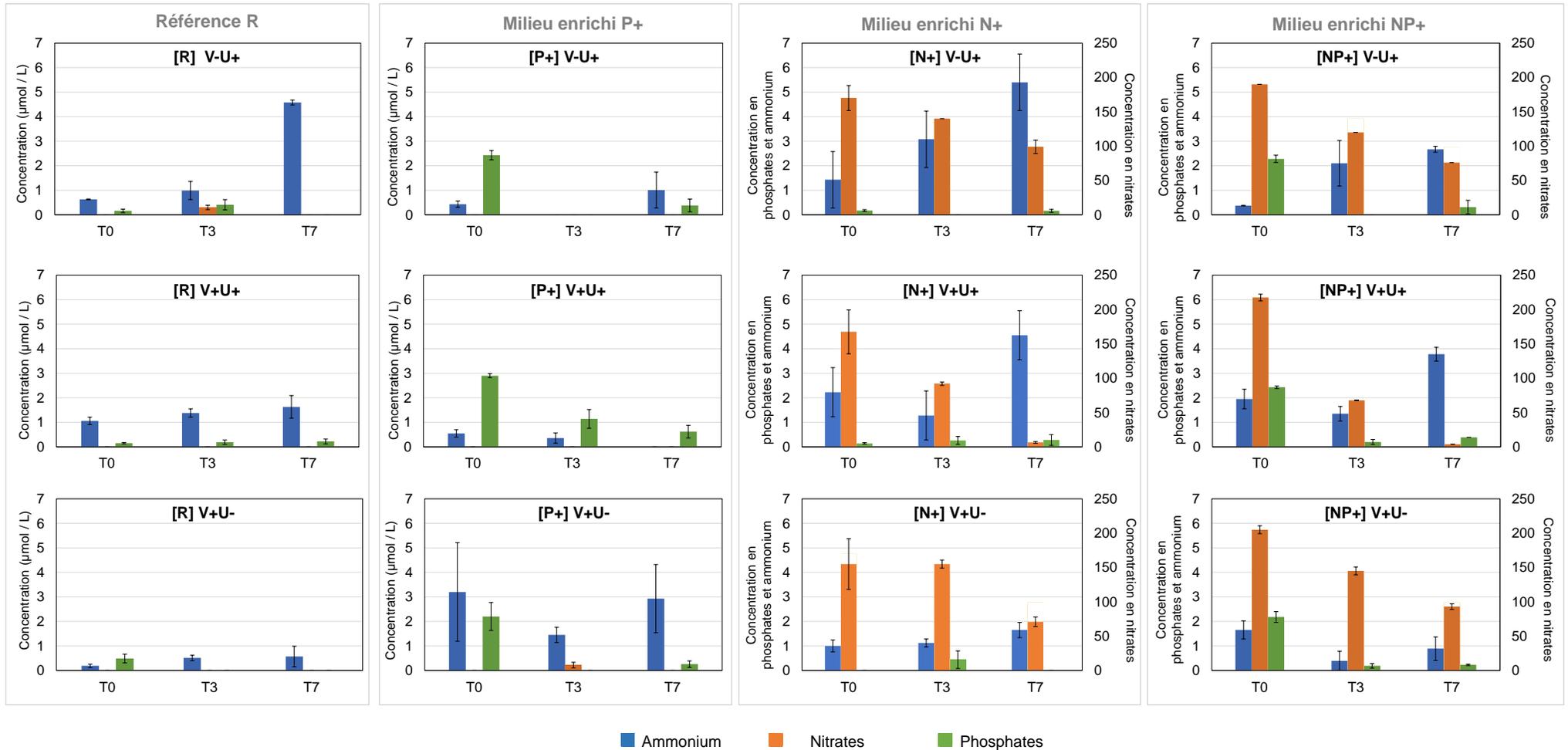
**Figure 14. Concentrations moyennes en ammonium, nitrates et orthophosphates mesurées dans l'eau de mer (en  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) dans les quatre conditions nutritives (R: référence, N+: enrichi en nitrates, P+: enrichi en phosphates, NP+: enrichi en nitrates et phosphates) et pour les trois modalités (U: algues sans vase, VU: Algue avec vase; V: vase sans algue) au temps initial (T0), au 3<sup>ème</sup> jour (T3) et au 7<sup>ème</sup> jour (T7) de l'expérience 1 ( $\pm$ écart-types ; n=4). L'absence de donnée indique que les valeurs étaient  $<$  à la limite de détection, s'élevant à  $0,1 \mu\text{mol.L}^{-1}$ .**

EXPÉRIENCE 2



**Figure 15. Concentrations moyennes en ammonium, nitrates et orthophosphates mesurées dans l'eau de mer (en  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) dans les quatre conditions nutritives (R: référence, N+: enrichi en nitrates, P+: enrichi en phosphates, NP+: enrichi en nitrates et phosphates) et pour les trois modalités (U: algues sans vase, VU: Algue avec vase; V: vase sans algue) au temps initial (T0), au 3<sup>ème</sup> jour (T3) et au 7<sup>ème</sup> jour (T7) de l'expérience 2. ( $\pm$ écart-types ; n=4). L'absence de donnée indique que les valeurs étaient  $<$  à la limite de détection, s'élevant à 0,1  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .**

EXPÉRIENCE 3



**Figure 16. Concentrations moyennes en ammonium, nitrates et orthophosphates mesurées dans l'eau de mer (en  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) dans les quatre conditions nutritives (R: référence, N+: enrichi en nitrates, P+: enrichi en phosphates, NP+: enrichi en nitrates et phosphates) et pour les trois modalités (U: algues sans vase, VU: Algue avec vase; V: vase sans algue) au temps initial (T0), au 3<sup>ème</sup> jour (T3) et au 7<sup>ème</sup> jour (T7) de l'expérience 3 ( $\pm$  écart-types ; n=4). L'absence de donnée indique que les valeurs étaient  $<$  à la limite de détection, s'élevant à  $0,1 \mu\text{mol.L}^{-1}$ .**

**Tableau 11. Résumé statistique des données de concentrations en nitrates, ammonium et orthophosphates de l'eau de mer pour les 8 modalités testées au cours de l'expérience 1 et résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des concentrations pour les modalités avec vase (V+) et sans vase (V-) à un niveau de confiance de 95 %.**

EXPERIENCE 1			Nombre de données	Moyenne (µmol/L)	Ecart-type (µmol/L)	Coeff. variation (%)	Minimum (µmol/L)	Maximum (µmol/L)	Médiane (µmol/L)	Test de Mann-Whitney-Wilcoxon
Concentrations en ammonium	R	V+	24	2.98	2.12	0.71	0.10	7.30	2.10	V+ ≠ V-
		V-	12	1.22	0.97	0.80	0.10	2.90	1.10	
	N+	V+	24	2.51	2.05	0.82	0.10	8.10	1.80	V+ ≠ V-
		V-	12	0.96	0.94	0.98	0.10	3.30	0.69	
	P+	V+	24	2.38	2.23	0.94	0.10	8.90	1.85	V+ ≠ V-
		V-	12	0.68	0.85	1.25	0.10	2.80	0.13	
	NP+	V+	24	1.51	1.09	0.72	0.10	3.80	1.35	V+ ≠ V-
		V-	11	0.77	0.84	1.10	0.10	2.60	0.39	
Concentrations en nitrates	R	V+	24	0.63	0.92	1.45	0.10	3.60	0.10	V+ = V-
		V-	12	0.31	0.31	0.99	0.10	0.92	0.14	
	N+	V+	24	110.06	81.93	0.74	0.10	220.00	120.00	V+ = V-
		V-	12	78.03	61.21	0.78	6.90	160.00	78.00	
	P+	V+	24	0.55	0.73	1.33	0.10	2.50	0.10	V+ = V-
		V-	12	0.48	0.56	1.18	0.10	1.70	0.10	
	NP+	V+	24	108.30	82.99	0.77	0.10	220.00	125.00	V+ = V-
		V-	11	89.04	83.29	0.94	0.10	200.00	55.00	
Concentrations en phosphates	R	V+	24	0.16	0.10	0.63	0.10	0.43	0.10	V+ = V-
		V-	12	0.23	0.26	1.12	0.10	0.98	0.11	
	N+	V+	24	0.38	0.47	1.24	0.10	2.20	0.21	V+ = V-
		V-	12	0.25	0.20	0.80	0.10	0.71	0.16	
	P+	V+	24	1.11	0.88	0.80	0.12	2.60	1.03	V+ = V-
		V-	12	1.90	2.03	1.07	0.13	5.50	0.70	
	NP+	V+	24	0.99	0.91	0.92	0.14	2.70	0.58	V+ = V-
		V-	11	1.14	1.15	1.00	0.13	3.40	0.36	

**Tableau 12. Résumé statistique des données de concentrations en nitrates, ammonium et orthophosphates de l'eau de mer pour les 8 modalités testées au cours de l'expérience 2 et résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des concentrations pour les modalités avec vase (V+) et sans vase (V-) à un niveau de confiance de 95 %.**

EXPERIENCE 2		Nombre de données	Moyenne (µmol/L)	Ecart-type (µmol/L)	Coefficient de variation (%)	Minimum (µmol/L)	Maximum (µmol/L)	Médiane (µmol/L)	Test de Mann-Whitney-Wilcoxon	
Concentrations en ammonium	R	V+	24	1.47	1.40	0.96	0.10	5.70	0.95	V+ ≠ V-
		V-	12	0.75	1.02	1.35	0.10	3.60	0.36	
	N+	V+	24	2.69	1.56	0.58	0.57	7.70	2.70	V+ ≠ V-
		V-	12	1.11	0.53	0.48	0.35	2.20	1.11	
	P+	V+	24	0.50	0.42	0.85	0.10	1.70	0.42	V+ = V-
		V-	12	0.85	1.18	1.39	0.10	4.40	0.61	
	NP+	V+	24	1.45	0.93	0.64	0.20	3.40	1.01	V+ ≠ V-
		V-	12	0.68	0.58	0.86	0.10	2.10	0.65	
Concentrations en nitrates	R	V+	24	0.16	0.18	1.16	0.10	0.94	0.10	V+ = V-
		V-	12	0.11	0.03	0.29	0.10	0.21	0.10	
	N+	V+	24	131.62	90.72	0.69	0.64	280.00	150.00	V+ = V-
		V-	12	77.96	88.52	1.14	0.33	210.00	38.50	
	P+	V+	24	0.26	0.64	2.51	0.10	3.20	0.10	V+ = V-
		V-	12	0.10	0.01	0.14	0.10	0.15	0.10	
	NP+	V+	24	114.21	93.34	0.82	0.10	240.00	119.50	V+ = V-
		V-	12	75.22	91.13	1.21	0.10	200.00	28.00	
Concentrations en phosphates	R	V+	24	0.23	0.24	1.05	0.10	1.30	0.16	V+ = V-
		V-	12	0.25	0.17	0.66	0.10	0.60	0.19	
	N+	V+	24	0.21	0.16	0.75	0.10	0.68	0.15	V+ = V-
		V-	12	0.89	1.05	1.17	0.10	2.60	0.21	
	P+	V+	24	1.04	1.05	1.00	0.10	4.40	0.85	V+ ≠ V-
		V-	12	0.21	0.19	0.92	0.10	0.76	0.13	
	NP+	V+	24	0.81	0.86	1.07	0.10	2.30	0.31	V+ = V-
		V-	12	0.90	1.02	1.14	0.10	2.40	0.40	

**Tableau 13. Comparaison des concentrations en ammonium mesurées dans les milieux pourvus de vase au cours des expériences 1 et 2, à partir d'un test de Mann-Whitney-Wilcoxon (95 %).**

	Concentrations en ammonium	
	Expérience 1	Expérience 2
Nombre de données	16	16
Moyenne ( $\mu\text{mol/L}$ )	3.32187	1.16938
Ecart-type ( $\mu\text{mol/L}$ )	1.76569	1.03117
Coefficient de variation (%)	53.15%	88.18%
Minimum ( $\mu\text{mol/L}$ )	0.95	0.1
Maximum ( $\mu\text{mol/L}$ )	7.3	3.4
Médiane ( $\mu\text{mol/L}$ )	2.85	1
Test de Mann-Whitney-Wilcoxon	<b>Exp 1 <math>\neq</math> Exp2</b> <i>W= 32 et P-value = 0.000314328</i>	

### 3.3.3. Analyse des quotas azotés et phosphorés des tissus algaux et des indices de fixation d'azote total et de phosphore

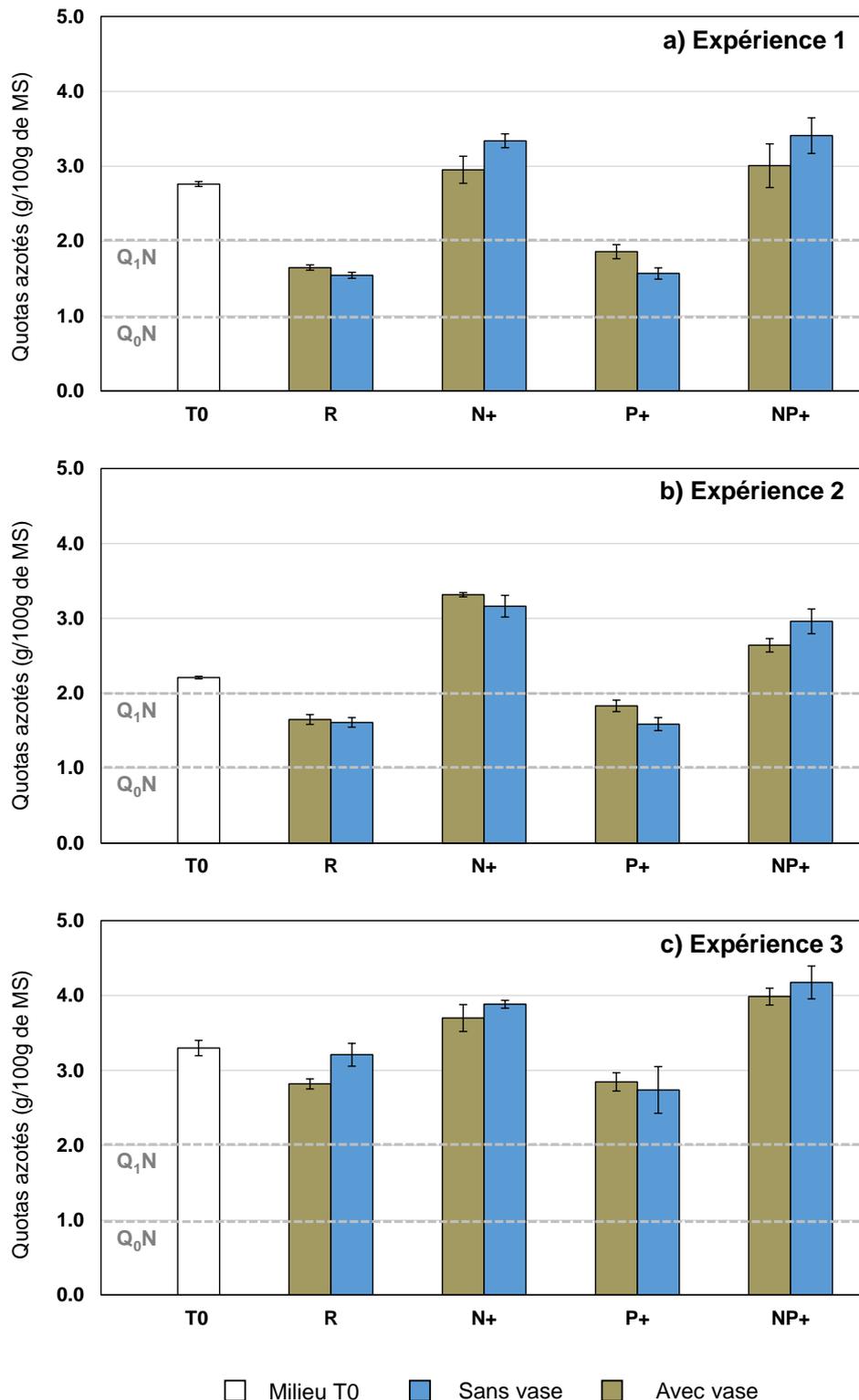
#### *Quotas azotés et phosphorés des algues*

Les quotas azotés et phosphorés des ulves ont été estimés dans le milieu au début de chaque campagne (T0) et au terme des 7 jours d'expérience pour chacune des 8 modalités. Les Figure 17 et Figure 18 illustrent les résultats obtenus pour les trois expériences successives. Chaque modalité a été répliquée 4 fois (4 pondoirs par bac). Toutefois, pour des raisons analytiques (quantité de biomasse trop limitée), certains échantillons n'ont pas pu être analysés par le laboratoire prestataire (soit au total 1 échantillon pour les quotas azotés, et 9 échantillons pour les quotas phosphorés). Le détail des analyses est fourni en ANNEXE 12.

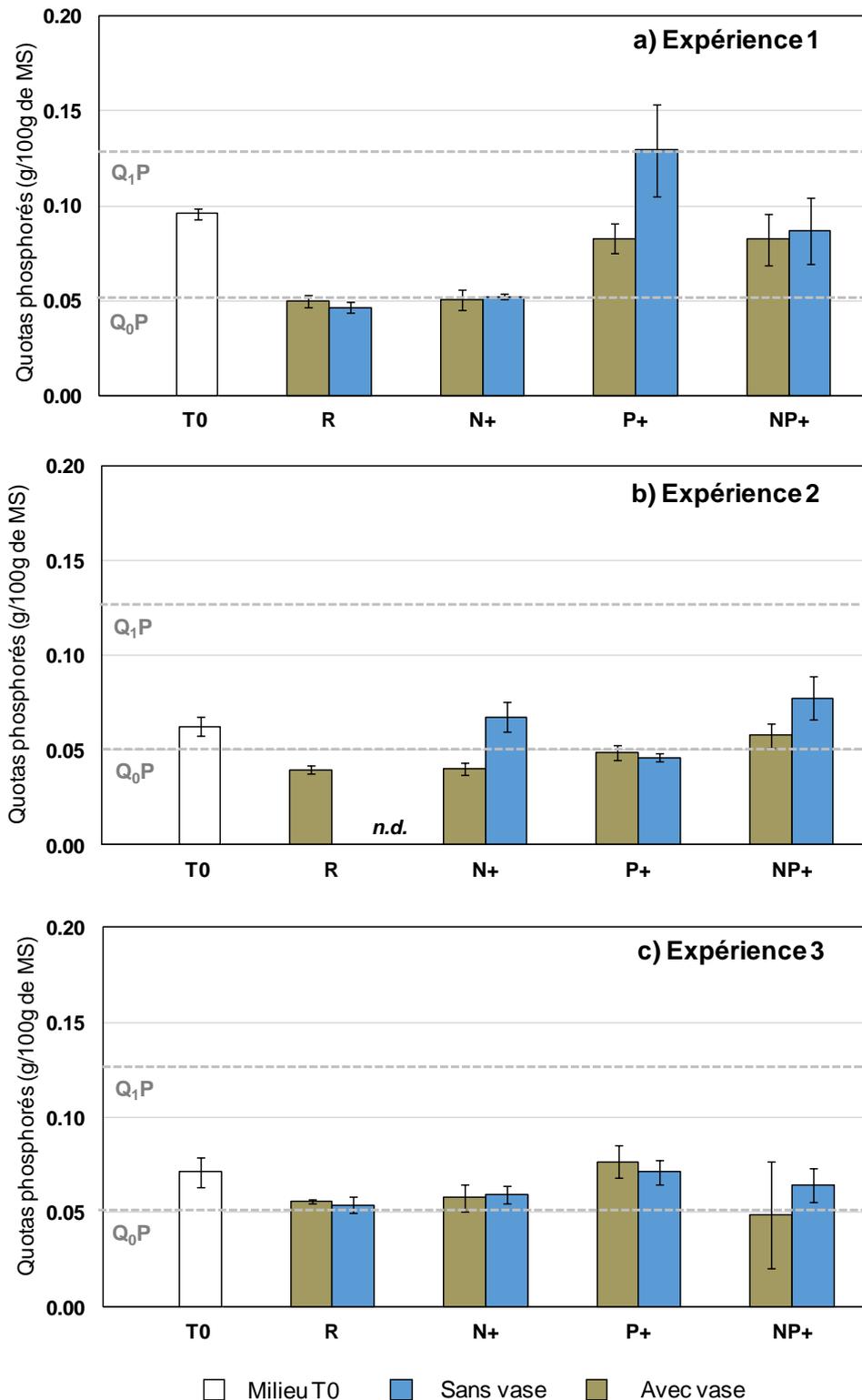
Au début de chaque expérience, les quotas azotés des ulves étaient supérieurs au quota critique  $Q_1N$  ( $> 2$  g/100g de MS), indiquant que les algues n'étaient pas limitées par l'azote au moment de leur prélèvement dans le bac d'acclimatation (Figure 17). Les quotas azotés estimés à l'issue des 7 jours d'incubation pour chaque modalité ont évolué de façon similaire pour les deux premières expériences. Une diminution des contenus cellulaires en azote a été observée pour les ulves incubées dans les milieux R et P+, pour atteindre des quotas inférieures au seuil critique  $Q_1N$  (compris entre 1,5 et 1,8 g/100g de MS). À l'inverse, une augmentation des quotas azotés a été mesurée pour les ulves présentes dans les milieux enrichis N+ (en moyenne  $3,1 \pm$

0,3 g/100g de MS et  $3,2 \pm 0,1$  g/100g de MS pour l'expérience 1 et 2 respectivement) et NP+ (en moyenne  $3,2 \pm 0,3$  g/100g de MS et  $2,8 \pm 0,2$  g/100g de MS pour l'expérience 1 et 2 respectivement). Au terme de l'expérience 3, les quotas azotés des ulves étaient, de manière générale, supérieurs aux valeurs mesurées lors des deux premières expériences (en moyenne  $> 2,7$  g/100g de MS). Les plus forts contenus cellulaires en azote ont été observés dans les conditions d'enrichissement N+ (en moyenne  $3,8 \pm 0,2$  g/100g de MS) et NP+ (en moyenne  $4,1 \pm 0,2$  g/100g de MS). Contrairement aux deux premières expériences, les quotas azotés des modalités de l'expérience 3 étaient tous supérieurs au quota critique  $Q_1N$  pour les milieux R et P+.

Au début de chaque expérience, les quotas phosphorés des ulves étaient inférieurs au quota critique  $Q_1P$  ( $0,125$  g/100g de MS), indiquant que les tissus algaux étaient appauvris en phosphore au moment de leur prélèvement dans le bac d'acclimatation (Figure 18). À l'issue des 7 jours d'incubation de l'expérience 1, les quotas phosphorés ont fortement diminué pour les ulves cultivées dans les milieux R, P+ (avec vase) et N+, atteignant des valeurs proches du quota de subsistance ( $Q_0P$  à  $0,05$  g/100g de MS). Les quotas phosphorés étaient légèrement plus élevés dans le cas des conditions d'enrichissement NP+ (en moyenne  $0,085 \pm 0,015$  g/100g de MS) et du milieu P+ dépourvu de vase (en moyenne  $0,129 \pm 0,024$  g/100g de MS). Au cours des expériences 2 et 3, les quotas phosphorés des ulves se sont maintenus à des valeurs proche du seuil de subsistance ( $Q_0P$  à  $0,05$  g/100g de MS).



**Figure 17. Quotas azotés moyens (en g/100g de matière sèche) des ulves au temps T0 et au terme des 7 jours d'incubation pour chacune des modalités testées (présence ou non de vase, et quatre conditions de concentrations) au cours des trois expériences ( $\pm$ écart-types :  $n=4$ ). Les barres verticales représentent les écarts-types estimés sur quatre mesures. Les lignes en pointillés grises représentent les seuils des quotas critiques ( $Q_1N$ ) et des quotas de subsistance ( $Q_0N$ ) pour l'azote.**



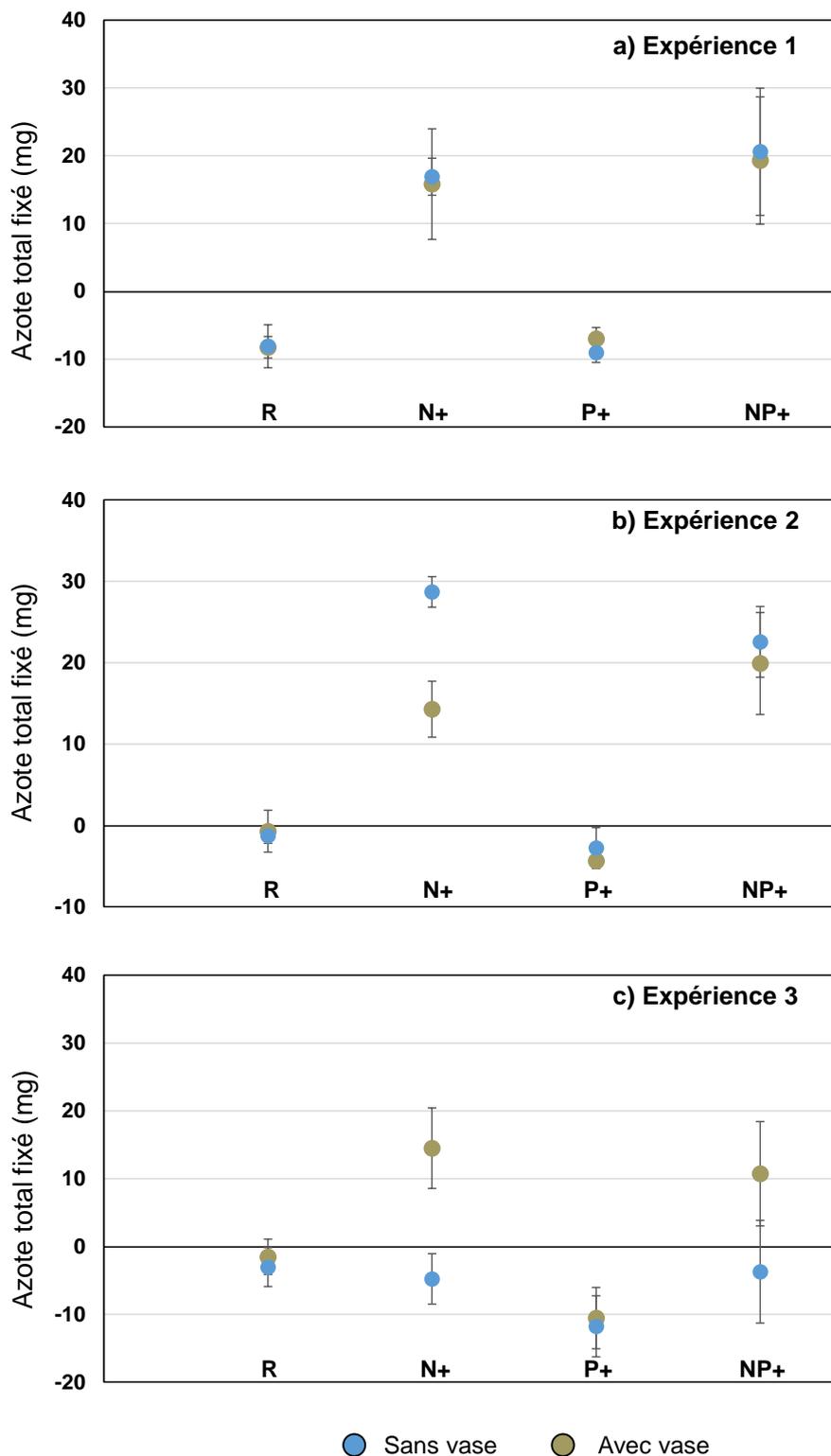
**Figure 18. Quotas phosphorés moyens (en g/100g de matière sèche) des ulves au temps T0 et au terme des 7 jours d'incubation pour chacune des modalités testées (présence ou non de vase, et quatre conditions de concentrations) au cours des trois expériences. L'indication « n.d. » signale l'absence de données pour cette modalité due aux contraintes analytiques rencontrées par le laboratoire prestataire ( $\pm$  écart-types ; n=4). Les lignes en pointillés grises représentent les seuils des quotas critiques ( $Q_1P$ ) et des quotas de subsistance ( $Q_0P$ ) pour le phosphore.**

### *Fixations d'azote et de phosphore par les algues*

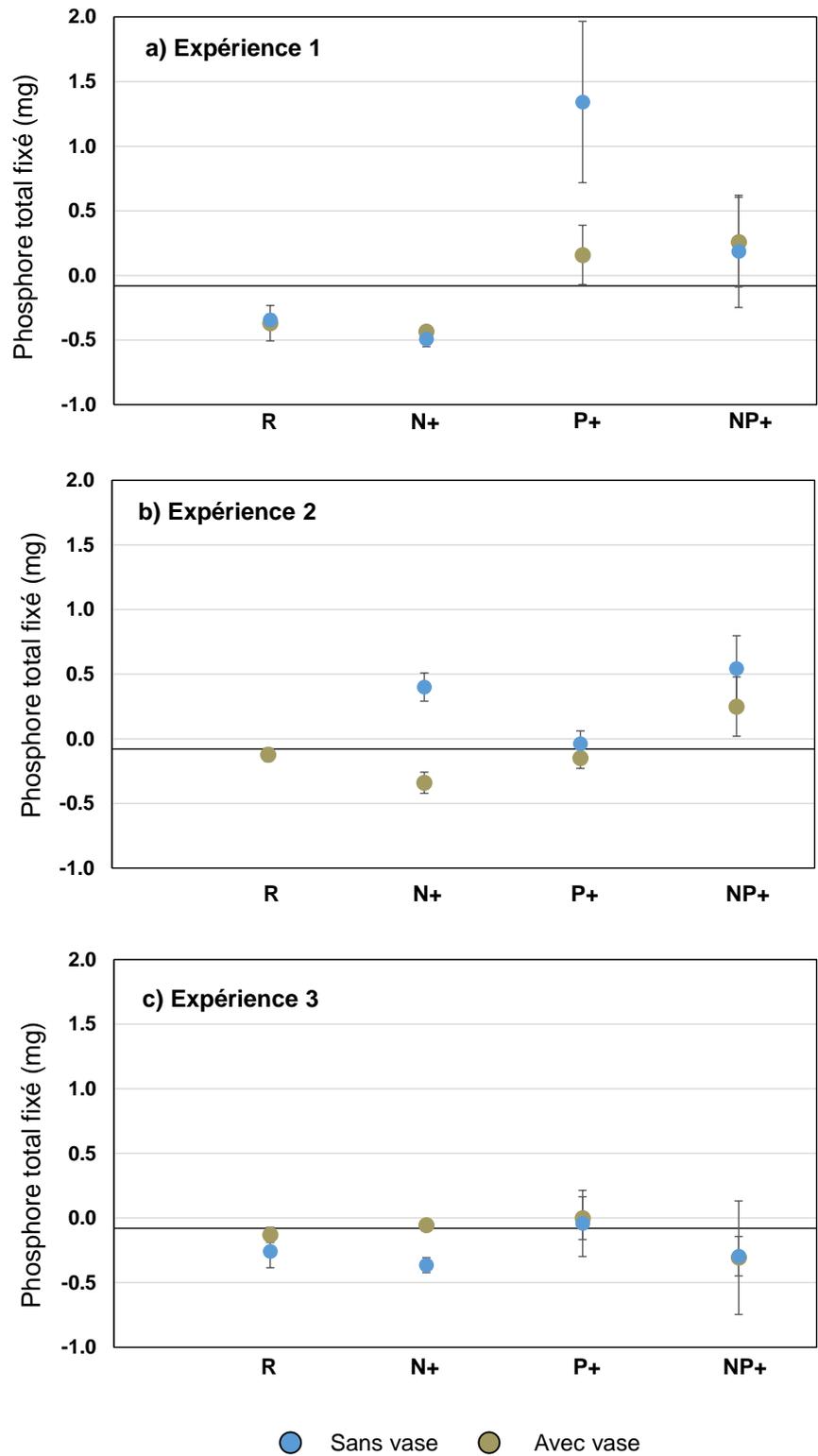
Les indices de fixation d'azote et de phosphore des ulves ont été calculés à partir de leurs quotas azotés et phosphorés respectifs, en appliquant les formules utilisées précédemment (Eqs. 2 et 3). Les données calculées pour chacune des trois expériences sont représentées sur les Figure 19 et Figure 20, et le détail est fourni en ANNEXE 12.

Lors des expériences 1 et 2, les indices de fixation d'azote des ulves incubées dans les milieux de référence (R) et enrichis uniquement en phosphates (P+) étaient négatifs ou proches de 0. Ce résultat traduit l'absence de fixation d'azote du milieu par les algues et donc l'utilisation de leur stock cellulaire azoté en conditions R et P+. En revanche, pour les deux autres milieux enrichis N+ et NP+, les indices de fixation étaient positifs au cours des deux premières expériences, suggérant des processus d'absorption d'azote dans le milieu par les algues. Les valeurs étaient de  $20,6 \pm 1,4$  mg dans le cas de la condition NP+, et étaient comprises en moyenne entre  $14,3 \pm 3,4$  et  $28,7 \pm 1,9$  mg pour la condition N+. Au cours de la troisième expérience, les indices de fixation d'azote étaient beaucoup plus faibles que ceux de l'expérience 1 et 2, et quasiment toujours négatifs, excepté pour les milieux enrichis N+ et NP+ et pourvus de vase. Les indices de fixation positifs sont associés aux conditions pour lesquelles les algues avaient montré des taux de croissance positifs à l'issue des 7 jours d'incubation lors de l'expérience 3, alors que les valeurs négatives correspondent aux milieux où les algues s'étaient dégradées.

Au cours de l'expérience 1, les indices de fixation de phosphore étaient négatifs pour les algues incubées dans les milieux R et N+, indiquant que le phosphore n'a pas été puisé dans le milieu. Pour les autres modalités, les quantités de phosphore fixées moyennes atteignaient des valeurs positives proches de 0 et  $< 0,26$  mg, à l'exception du milieu enrichi P+ et dépourvu de vase, dont les valeurs étaient relativement plus élevées (en moyenne  $1,34 \pm 0,62$  mg). Pour l'expérience 2, les indices de fixation de phosphore étaient supérieurs à 0, uniquement pour le milieu N+ en absence de vase (moyenne de  $0,40 \pm 0,11$  mg) et le milieu NP+ (moyenne de  $0,40 \pm 0,27$  mg). Lors de l'expérience 3, les indices de fixation étaient majoritairement négatifs ou proche de 0, traduisant l'absence de fixation de phosphore quelle que soit la modalité testée.



**Figure 19. Azote total fixé (en mg) par les ulves en 7 jours en fonction de la présence ou non de vase, et des quatre conditions de concentrations au cours des trois expériences. ( $\pm$  écart-types ; n=4 ou 3 dans le cas de la condition NP+ sans vase de l'expérience 3).**



**Figure 20. Phosphore total fixé (en mg) par les ulves en 7 jours en fonction de la présence ou non de vase, et des quatre conditions de concentrations au cours des trois expériences ( $\pm$  écart-types ;  $n=4$ ).**

### *Comparaison des deux modalités*

Dans le but d'évaluer l'impact de la présence de vase dans le milieu sur les quotas azotés et phosphorés des tissus algaux et les indices de fixation d'azote et de phosphore associés, les données ont été analysées statistiquement via le test non-paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon pour un seuil de risque de 5 %. Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux 14 à 17.

L'analyse statistique des quotas azotés montre que des différences significatives ont été observées entre les modalités « avec vase » et « sans vase », pour des conditions d'enrichissement variables d'une expérience à l'autre. Lors de l'expérience 1, les différences entre les deux modalités ont été significatives à un niveau de confiance de 95 % pour les conditions R, N+ et P+ ; au cours de l'expérience 2, pour les conditions P+ et NP+ ; et enfin pour la condition R lors de l'expérience 3. Les différences significatives d'indices de fixation d'azote entre les milieux pourvus ou dépourvus de vase ont été uniquement observées au cours des deux dernières expériences : pour la condition N+ lors de l'expérience 2, et pour les conditions N+ et NP+ lors de l'expérience 3. Ces différences correspondent aux milieux où les algues ont montré des différences de développement et d'état physiologique entre la modalité « avec vase » et « sans vase », à l'issue des 7 jours d'incubation (Figure 13).

Concernant les données de quotas phosphorés et les indices de fixation en phosphore, des différences significatives entre les deux modalités ont été mises en évidence à partir de l'analyse statistique, uniquement pour le milieu enrichi N+ mais non systématiquement lors des trois des expériences : des différences entre les quotas phosphorés ont été repérées lors de l'expérience 2 et celles concernant les indices de fixation de phosphore au cours des expériences 2 et 3 (à un niveau de confiance de 95 %). Elles ne mettent néanmoins pas en évidence une meilleure fixation de phosphore pour les algues incubées en présence de vase.

**Tableau 14. Résumé statistique des données de quotas azotés des tissus algaux pour les huit modalités testées lors des trois expériences et résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des données pour les modalités avec vase (V+) et sans vase (V-) à un niveau de confiance de 95 %.**

Quotas azotés (g/100g MS)	Nombre de réplicats	Moyenne	Médiane	Ecart-type	Coefficient de variation	Minimum	Maximum	Test de Mann-Whitney- Wilcoxon		
								P-value	Interprétation	
Expérience 1	R_V+U+	4	1.65	0.65	0.04	2.2%	1.60	1.69	0.0284294	V-≠V+
	R_V-U+	4	1.55	1.56	0.04	2.4%	1.49	1.57		
	N+_V+U+	4	2.95	2.96	0.18	6.2%	2.77	3.12	0.0303826	V-≠V+
	N+_V-U+	4	3.34	3.37	0.09	2.7%	3.21	3.42		
	P+_V+U+	4	1.86	1.83	0.10	5.2%	1.78	2.00	0.0303826	V-≠V+
	P+_V-U+	4	1.57	1.57	0.07	4.8%	1.48	1.66		
	NP+_V+U+	4	3.01	3.01	0.29	9.7%	2.73	3.28	0.19393	V-=V+
	NP+_V-U+	4	3.41	3.44	0.24	6.9%	3.15	3.62		
Expérience 2	R_V+U+	4	1.65	1.68	0.07	4.1%	1.55	1.70	0.306491	V-=V+
	R_V-U+	4	1.61	1.61	0.06	4.0%	1.55	1.67		
	N+_V+U+	4	3.32	3.33	0.03	0.9%	3.28	3.34	0.309423	V-=V+
	N+_V-U+	4	3.16	3.15	0.15	4.6%	3.01	3.35		
	P+_V+U+	4	1.83	1.85	0.07	4.0%	1.74	1.90	0.0303826	V-≠V+
	P+_V-U+	4	1.59	1.58	0.09	5.6%	1.50	1.68		
	NP+_V+U+	4	2.64	2.66	0.09	3.4%	2.52	2.74	0.0303826	V-≠V+
	NP+_V-U+	4	2.96	2.97	0.17	5.6%	2.75	3.15		
Expérience 3	R_V+U+	4	2.82	2.84	0.07	2.4%	2.73	2.87	0.0294009	V-≠V+
	R_V-U+	4	3.21	3.17	0.15	4.7%	3.09	3.41		
	N+_V+U+	4	3.70	3.67	0.18	4.8%	3.54	3.94	0.31232	V-=V+
	N+_V-U+	4	3.88	3.90	0.05	1.3%	3.81	3.93		
	P+_V+U+	4	2.85	2.87	0.12	4.2%	2.69	2.96	0.665002	V-=V+
	P+_V-U+	4	2.74	2.77	0.31	11.3%	2.35	3.07		
	NP+_V+U+	4	3.99	3.96	0.11	2.9%	3.89	4.15	0.771499	V-=V+
	NP+_V-U+	3	3.13	4.06	2.09	66.9%	0.00	4.41		

**Tableau 15. Résumé statistique des données de fixation d'azote par les algues pour les huit modalités testées lors des trois expériences et résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des données pour les modalités avec vase (V+) et sans vase (V-) à un niveau de confiance de 95 %.**

Azote fixé (mg)	Nombre de répliqués	Moyenne	Médiane	Ecart-type	Coefficient de variation (%)	Minimum	Maximum	Test de Mann-Whitney-Wilcoxon		
								P-value	Interprétation	
Expérience 1	R_V+U+	4	-8.27	-7.65	1.58	-19.1%	-10.59	-7.17	0.885229	V-=V+
	R_V-U+	4	-8.11	-7.84	3.18	-39.2%	-11.65	-5.11		
	N+_V+U+	4	15.80	17.50	8.14	51.5%	4.95	23.25	0.885229	V-=V+
	N+_V-U+	4	16.90	17.41	2.74	16.2%	13.28	19.50		
	P+_V+U+	4	-7.00	-6.70	1.68	-23.9%	-9.07	-5.55	0.112351	V-=V+
	P+_V-U+	4	-9.08	-8.96	1.42	-15.6%	-10.68	-7.71		
	NP+_V+U+	4	19.29	17.12	9.39	48.7%	10.71	32.19	0.885229	V-=V+
	NP+_V-U+	4	20.58	20.28	9.38	45.6%	10.24	31.51		
Expérience 2	R_V+U+	4	-0.73	-0.65	2.57	-354.8%	-3.34	1.74	0.885229	V-=V+
	R_V-U+	4	-1.28	-1.41	0.94	-73.9%	-2.16	-0.13		
	N+_V+U+	4	14.27	14.50	3.44	24.1%	10.76	17.32	0.0303826	V-≠V+
	N+_V-U+	4	28.69	28.19	1.87	6.5%	27.15	31.21		
	P+_V+U+	4	-4.36	-4.25	0.64	-14.6%	-5.20	-3.76	0.31232	V-=V+
	P+_V-U+	4	-2.79	-2.53	2.51	-90.0%	-5.98	-0.13		
	NP+_V+U+	4	19.90	19.26	6.27	31.5%	13.39	27.71	0.665002	V-=V+
	NP+_V-U+	4	22.56	22.58	4.35	19.3%	18.41	26.66		
Expérience 3	R_V+U+	4	-1.52	-1.83	2.60	-170.8%	-4.01	1.57	0.31232	V-=V+
	R_V-U+	4	-3.03	-2.81	2.86	-94.5%	-5.94	-0.55		
	N+_V+U+	4	14.50	16.91	5.94	41.0%	5.70	18.50	0.0303826	V-≠V+
	N+_V-U+	4	-4.77	-3.87	3.71	-77.8%	-10.03	-1.31		
	P+_V+U+	4	-10.54	-10.35	4.52	-42.9%	-15.07	-6.40	0.885229	V-=V+
	P+_V-U+	4	-11.77	-13.02	4.51	-38.3%	-15.57	-5.45		
	NP+_V+U+	4	10.74	7.89	7.70	71.7%	5.22	21.97	0.0303826	V-≠V+
	NP+_V-U+	3	-2.79	-3.50	6.45	-231.2%	-9.10	4.93		

**Tableau 16. Résumé statistique des données de quotas phosphorés des algues pour les huit modalités testées lors des trois expériences et résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des données pour les modalités avec vase (V+) et sans vase (V-) à un niveau de confiance de 95 %.**

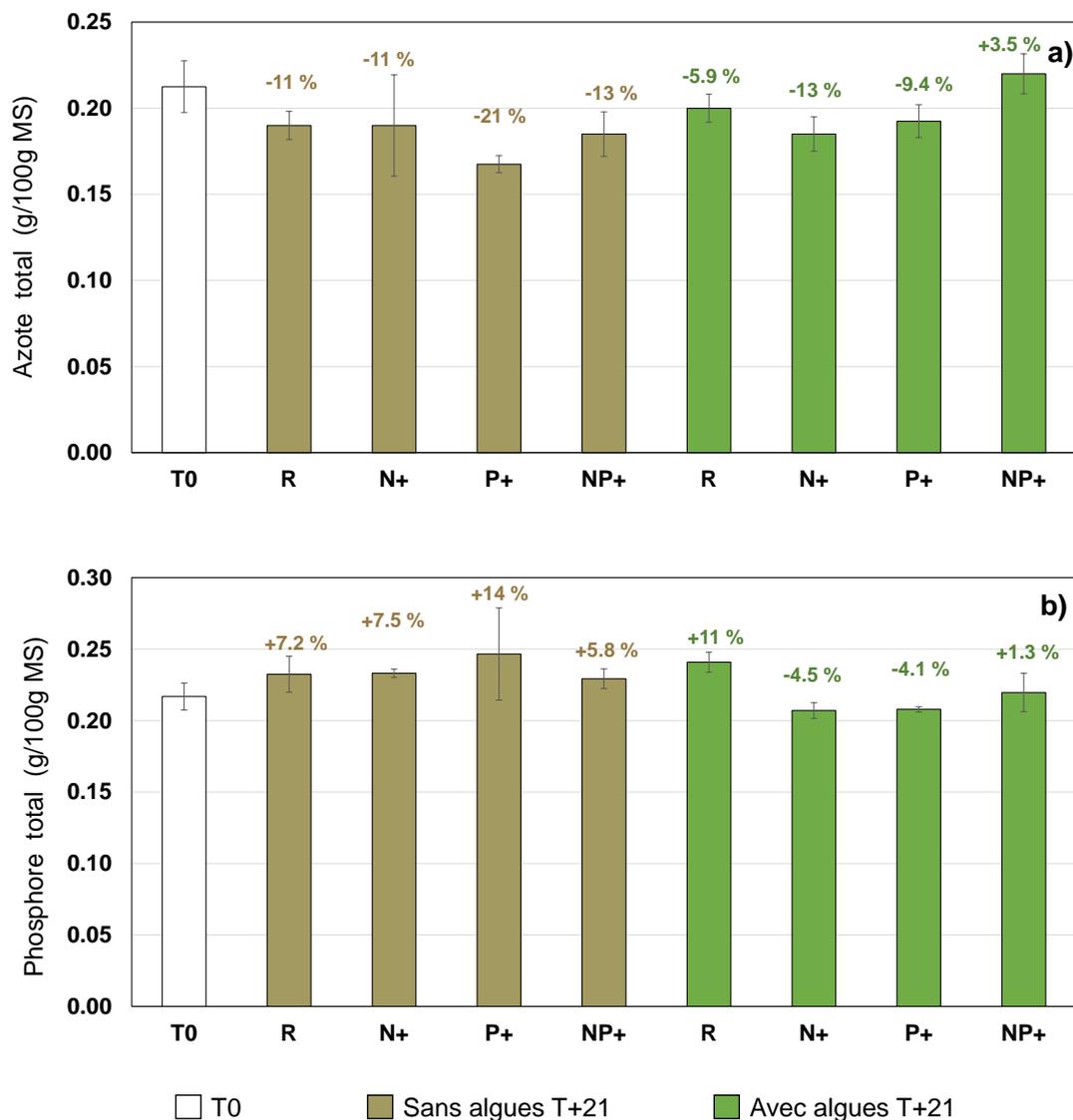
Quotas phosphorés (g/100g MS)	Nombre de réplicats	Moyenne	Médiane	Ecart-type	Coefficient de variation (%)	Minimum	Maximum	Test de Mann-Whitney- Wilcoxon		
								P-value	Interprétation	
Expérience 1	R_V+U+	3	0.0517	0.0530	0.0032	6.2%	0.048	0.054	0.236136	V-=V+
	R_V-U+	2	0.0460	0.0460	0.0028	6.1%	0.044	0.048		
	N+_V+U+	4	0.0508	0.0485	0.0057	11.2%	0.047	0.059	0.37782	V-=V+
	N+_V-U+	4	0.0525	0.0530	0.0017	3.3%	0.050	0.054		
	P+_V+U+	3	0.0827	0.0865	0.0080	9.7%	0.075	0.091	0.0808552	V-=V+
	P+_V-U+	3	0.1293	0.1420	0.0245	19.0%	0.104	0.153		
	NP+_V+U+	4	0.0823	0.0825	0.0136	16.6%	0.069	0.095	0.470484	V-=V+
	NP+_V-U+	4	0.0870	0.0865	0.0174	20.0%	0.071	0.104		
Expérience 2	R_V+U+	4	0.0408	0.0410	0.0021	5.1%	0.038	0.043	n.d.	n.d.
	R_V-U+	0								
	N+_V+U+	4	0.0403	0.0410	0.0031	7.7%	0.036	0.043	0.0303826	V-≠V+
	N+_V-U+	4	0.0678	0.0705	0.0081	12.0%	0.056	0.074		
	P+_V+U+	4	0.0490	0.0490	0.0042	8.5%	0.044	0.054	0.383629	V-=V+
	P+_V-U+	4	0.0460	0.0455	0.0022	4.7%	0.044	0.049		
	NP+_V+U+	4	0.0580	0.0580	0.0067	11.6%	0.050	0.066	0.0503826	V-=V+
	NP+_V-U+	4	0.0778	0.0755	0.0114	14.7%	0.068	0.092		
Expérience 3	R_V+U+	4	0.0535	0.0530	0.0010	1.9%	0.053	0.055	0.881679	V-=V+
	R_V-U+	4	0.0535	0.0520	0.0047	8.8%	0.050	0.060		
	N+_V+U+	4	0.0575	0.0540	0.0070	12.2%	0.054	0.068	0.881679	V-=V+
	N+_V-U+	4	0.0590	0.0610	0.0048	8.1%	0.052	0.062		
	P+_V+U+	4	0.0763	0.0770	0.0085	11.2%	0.067	0.084	0.470484	V-=V+
	P+_V-U+	4	0.0710	0.0715	0.0061	8.5%	0.064	0.077		
	NP+_V+U+	4	0.0485	0.0620	0.0284	58.5%	0.006	0.064	0.18315	V-=V+
	NP+_V-U+	4	0.0670	0.0655	0.0050	7.4%	0.063	0.074		

**Tableau 17. Résumé statistique des données de fixation de phosphore par les algues pour les huit modalités testées lors des trois expériences et résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les médianes des données pour les modalités avec vase (V+) et sans vase (V-) à un niveau de confiance de 95 %.**

Phosphore fixé (mg)	Nombre de répliqués	Moyenne	Médiane	Ecart-type	Coefficient de variation (%)	Minimum	Maximum	Test de Mann-Whitney-Wilcoxon		
								P-value	Interprétation	
Expérience 1	R_V+U+	3	-0.3690	-0.3100	0.1374	-37.2%	-0.526	-0.271	0.772826	V-=V+
	R_V-U+	2	-0.3435	-0.3435	0.0431	-12.6%	-0.374	-0.313		
	N+_V+U+	4	-0.4340	-0.4365	0.0199	-4.6%	-0.455	-0.408	0.31232	V-=V+
	N+_V-U+	4	-0.4913	-0.5080	0.0594	-12.1%	-0.542	-0.407		
	P+_V+U+	3	0.1593	0.2705	0.2293	143.9%	-0.063	0.395	0.0808552	V-=V+
	P+_V-U+	3	1.3427	1.6915	0.6241	46.5%	0.645	1.848		
	NP+_V+U+	4	0.2585	0.1865	0.3467	134.1%	-0.028	0.689	0.665002	V-=V+
	NP+_V-U+	4	0.1868	0.1950	0.4334	232.1%	-0.255	0.612		
Expérience 2	R_V+U+	4	-0.1238	-0.1140	0.0511	-41.3%	-0.190	-0.077	n.d.	n.d.
	R_V-U+	0								
	N+_V+U+	4	-0.3403	-0.3275	0.0815	-24.0%	-0.440	-0.266	0.0303826	V≠V+
	N+_V-U+	4	0.4003	0.4410	0.1089	27.2%	0.240	0.479		
	P+_V+U+	4	-0.1493	-0.1195	0.0808	-54.1%	-0.268	-0.090	0.31232	V-=V+
	P+_V-U+	4	-0.0380	-0.0400	0.0988	-259.9%	-0.136	0.064		
	NP+_V+U+	4	0.2485	0.1585	0.2295	92.4%	0.090	0.587	0.112351	V-=V+
	NP+_V-U+	4	0.5440	0.5430	0.2529	46.5%	0.274	0.816		
Expérience 3	R_V+U+	4	-0.1303	-0.1415	0.0580	-44.6%	-0.183	-0.055	0.19393	V-=V+
	R_V-U+	4	-0.2595	-0.2725	0.1248	-48.1%	-0.398	-0.095		
	N+_V+U+	4	-0.0563	-0.0510	0.0263	-46.7%	-0.092	-0.031	0.0303826	V≠V+
	N+_V-U+	4	-0.3645	-0.3650	0.0572	-15.7%	-0.416	-0.312		
	P+_V+U+	4	-0.0005	-0.0080	0.1655	-33098.8%	-0.184	0.198	0.885229	V-=V+
	P+_V-U+	4	-0.0423	-0.0370	0.2560	-605.8%	-0.337	0.242		
	NP+_V+U+	4	-0.3073	-0.1725	0.4390	-142.9%	-0.943	0.059	0.470484	V-=V+
	NP+_V-U+	4	-0.3323	-0.3775	0.1444	-43.5%	-0.443	-0.131		

### 3.3.4. Dosage de la vase

Des échantillons de vase ont été prélevés (n=4) pour caractériser le sédiment en début (T0) et fin d'expérimentation (T21) dans chacun des bacs associé à une modalité différente (en termes d'enrichissement et de présence/absence d'ulves). Cette caractérisation a pour but de détecter d'éventuels flux sédimentaires au cours de l'expérimentation. À partir des résultats de taux d'humidité et de teneurs brutes en azote et phosphore (ANNEXE 13), les contenus moyens en azote et phosphore dans la matière sèche ont été calculés et présentés en Figure 21.



**Figure 21. Teneurs moyennes en azote total (a) et phosphore total (b) contenus dans le sédiment au temps T0, avant incubation, et à l'issue des 21 jours d'expérimentations dans chacune des 8 conditions testées (± écart-types ; n=4). Les valeurs de pourcentages correspondent à l'évolution des teneurs moyennes entre T0 et T21.**

En début d'expérimentation, le sédiment s'est caractérisé par des teneurs moyennes en azote de  $0,21 \pm 0,02$  g N /100 g de MS et en phosphore de  $0,22 \pm 0,01$  g P /100 g de MS. Ces données sont cohérentes avec les valeurs reportées l'année précédente sur la vasière du Lédano, où les teneurs en azote après prélèvement atteignaient  $0,18$  g/100 g de MS et celles en phosphore,  $0,23$  g/100 g de MS.

Au terme des 21 jours d'incubation, les teneurs moyennes en azote et en phosphore étaient comprises entre  $0,17$  et  $0,22 \pm 0,01$  g N /100 g de MS et  $0,21$  et  $0,24 \pm 0,01$  g P /100 g de MS respectivement. Les contenus azotés de la vase semblent avoir majoritairement diminué au cours du temps, excepté pour le milieu enrichi NP+ présentant des ulves, et pour laquelle une augmentation de 3,5% d'azote totale a été notée dans le sédiment à T21. L'analyse statistique des données de contenus azotés (test de Mann-Whitney-Wilcoxon) a néanmoins révélé que ces variations n'étaient significatives que pour deux conditions spécifiques : (1) la condition d'enrichissement P+ et sans ulves ; et (2) la condition d'enrichissement N+ et avec ulves (Tableau 18). À l'inverse des contenus azotés, les teneurs en phosphore de la vase ont semblé essentiellement augmenter au cours du temps, à l'exception des milieux enrichis N+ et P+ et contenant des ulves, où les valeurs à T21 apparaissaient inférieures aux valeurs initiales à T0. L'application du test de Mann-Whitney-Wilcoxon sur ce jeu de données a toutefois démontré que seules les augmentations des contenus phosphorés observées dans le milieu enrichi N+ sans ulves et dans le milieu R présentant des ulves étaient significatives à un niveau de confiance de 95 % (Tableau 18).

Les résultats montrent ainsi que les échanges sédimentaires avec l'eau de mer contenue dans les bacs n'ont pas ou peu varié entre les différentes conditions de concentrations en nutriments du milieu et les différentes modalités (présence/absence d'algues). Il convient de noter que les quantités en jeu de N et P évaluées par les variations des teneurs sédimentaires entre le début et la fin des expérimentations sont écartées (supérieures) aux quantités en jeu dans les processus biologiques (fixation N et P), ce qui tend à aller vers l'hypothèse que ce qui est mesuré serait davantage lié à la variabilité chimique naturelle du sédiment au sein de la zone d'étude.

**Tableau 18. Résumé statistique des teneurs en azote et phosphore de la vase au temps T0 et à l'issue des 21 jours d'expérimentation (T21) pour les huit modalités testées; et résultats des tests de Mann-Whitney-Wilcoxon visant à comparer les teneurs obtenues au temps T21 à celles mesurées initialement à T0, à un niveau de confiance de 95 %.**

Expérience 1 à 3		Nombre de répliqués	Moyenne (g/100g MS)	Médiane (g/100g MS)	Ecart-type (g/100g MS)	Coefficient de variation (%)	Minimum (g/100g MS)	Maximum (g/100g MS)	Test de Mann-Whitney-Wilcoxon	
									P-value	Interprétation
Quotas azotés (g/100g MS)	T0	4	0.21	0.21	0.02	0.07	0.20	0.23		
	T21 [R] U-	4	0.19	0.19	0.01	0.04	0.18	0.20	0.05301	T21 = T0
	T21 [N+] U-	4	0.19	0.19	0.03	0.15	0.16	0.22	0.38074	T21 = T0
	T21 [P+] U-	4	0.17	0.17	0.01	0.03	0.16	0.17	0.02558	T21 ≠ T0
	T21 [NP+] U-	4	0.19	0.19	0.01	0.07	0.17	0.20	0.05451	T21 = T0
	T21 [R] U+	4	0.20	0.20	0.01	0.04	0.19	0.21	0.28172	T21 = T0
	T21 [N+] U+	4	0.19	0.19	0.01	0.05	0.17	0.19	0.02558	T21 ≠ T0
	T21 [P+] U+	4	0.19	0.20	0.01	0.05	0.18	0.20	0.09072	T21 = T0
T21 [NP+] U+	4	0.22	0.22	0.01	0.05	0.21	0.23	0.45390	T21 = T0	
Quotas phosphorés (g/100g MS)	T0	4	0.22	0.22	0.01	0.04	0.21	0.23		
	T21 [R] U-	4	0.23	0.23	0.01	0.05	0.22	0.25	0.11235	T21 = T0
	T21 [N+] U-	4	0.23	0.23	0.00	0.01	0.23	0.24	0.03038	T21 ≠ T0
	T21 [P+] U-	4	0.25	0.25	0.03	0.13	0.21	0.28	0.19393	T21 = T0
	T21 [NP+] U-	4	0.23	0.23	0.01	0.03	0.22	0.24	0.11235	T21 = T0
	T21 [R] U+	4	0.24	0.24	0.01	0.03	0.23	0.25	0.03038	T21 ≠ T0
	T21 [N+] U+	4	0.21	0.21	0.01	0.03	0.20	0.21	0.19393	T21 = T0
	T21 [P+] U+	4	0.21	0.21	0.00	0.01	0.21	0.21	0.19393	T21 = T0
T21 [NP+] U+	4	0.22	0.22	0.01	0.06	0.20	0.23	0.88523	T21 = T0	

### 3.4. Discussion

Les expériences sous conditions contrôlées en laboratoire menées en 2018 visent, en complément des expérimentations *in situ*, à évaluer la contribution du sédiment dans l'apport de nutriments nécessaires à la croissance des ulves, ainsi qu'à étudier l'impact des concentrations en azote et phosphore du milieu sur la capacité du relargage sédimentaire.

#### *Evolution de l'état physiologique des ulves au cours des expériences*

Les quotas phosphorés des algues estimés au premier jour de l'expérimentation indiquent que les tissus algaux étaient déjà appauvris en phosphore au moment de leur prélèvement sur la vasière et après la phase d'acclimatation. La diminution des quotas phosphorés au cours des 21 jours d'expérimentation et les faibles croissances relevées suggèrent que l'élément phosphore a été un facteur de limitation pour le développement des ulves dans le cadre de cette étude. Lors de la troisième expérience, les algues étaient donc dans un mauvais état physiologique, expliquant leur dégradation à partir du 3<sup>ème</sup> jour d'incubation. Le suivi *in situ* des quotas phosphorés des ulves sur la vasière du Lédano montre que les tissus algaux, initialement pauvres en phosphore mi-juillet, se sont enrichis en phosphore au cours de la saison (Figure 10). Il est très probable qu'au moment du prélèvement, les ulves avaient déjà puisé dans leur stock interne en phosphore pour soutenir une forte croissance de début de saison (début juillet), et que les enrichissements réguliers en phosphore du milieu ont été suffisants pour maintenir leur développement voire augmenter leurs quotas. Malgré le conditionnement des ulves dans les bacs d'acclimatation ponctuellement enrichis en nutriments (nitrates et phosphates), leurs quotas phosphorés se sont maintenus à de faibles niveaux. L'état physiologique du matériel algal au moment du prélèvement est difficile à évaluer, et une estimation préalable des quotas azotés et phosphorés des algues n'a pas été envisagée compte tenu du délai d'obtention des résultats (plusieurs semaines). L'acquisition d'un appareil permettant des mesures instantanées de l'état physiologique des algues (PAM) est en cours et permettra à l'avenir d'exclure des algues en mauvais état dans ce type d'approche.

Par ailleurs, une absorption (non anticipée) de la quasi-totalité des nutriments apportés par enrichissement a été observée dès les premiers jours d'incubation par les algues en bon état physiologique (expériences 1 et 2), conduisant à un ralentissement voire un arrêt de leur croissance à partir du troisième jour d'incubation. Un enrichissement régulier en nutriments, aurait ainsi été nécessaire pour éviter toute limitation en nutriment. Suite à cette observation, le CEVA développe actuellement une méthode d'analyse spectrophotométrique des

concentrations en nitrates et phosphates dans l'eau de mer, qui permettra de mesurer les concentrations en nutriments en quelques heures, et ainsi anticiper ces phénomènes de limitation.

La présente discussion est basée sur les résultats des deux premières expériences et sur les trois premiers jours d'incubation, relatifs aux ulves en bon état physiologique afin de garantir la fiabilité des interprétations.

#### *Impact du sédiment sur le développement algal*

À partir des deux premières expériences, aucune différence significative de croissance n'a été perceptible entre les ulves incubées en présence ou en absence de sédiment. Cette observation suggère donc que la présence de vase n'a pas eu d'impact positif sur la croissance des algues au cours de l'expérimentation.

En revanche, les différences de développement ont été relevées entre les quatre conditions d'enrichissement en sels nutritifs. Les croissances les plus importantes ont été reportées pour le milieu enrichi en nitrates et en phosphates (NP+), ainsi que celui enrichi en nitrates uniquement (N+). Pour ces deux conditions, les contenus azotés des tissus algaux étaient supérieurs au seuil critique  $Q_1N$ , et les quantités d'azote fixées étaient similaires. La plus faible croissance observée au cours de la deuxième expérience pour la modalité N+ en présence de vase, résulte plutôt de la fragmentation des algues probablement due à une limitation par l'élément phosphore (faibles contenus cellulaires internes, et faibles concentrations en phosphates dans le milieu). En comparaison aux conditions N+ et NP+, le milieu enrichi en phosphates uniquement (P+) s'est caractérisé par de faibles taux de croissance, comparables à ceux déterminés pour le milieu de référence (R). Pour ces deux conditions, les stocks de nitrates et de phosphates ont été très rapidement épuisés, atteignant des valeurs inférieures à la limite de détection à T3 (voire plus tôt, mais la fréquence de mesure ne permet pas d'affiner cette estimation). De plus, la diminution des quotas azotés à T7 associée aux valeurs négatives de fixation d'azote et de phosphore révèlent que les algues ont puisé dans leurs réserves internes pour soutenir leur croissance. Les algues ont alors rapidement atteint des conditions nutritives limitantes pour leur développement au sein des deux milieux R et P+.

L'expérimentation démontre ainsi que les différences de croissance observées résultent principalement des teneurs en nutriments caractérisant le milieu initial d'incubation, plutôt que de la présence de sédiment. Le fait que la quantité d'azote fixée par les algues soit identique qu'il y ait présence ou non de vase suggère qu'elles n'ont pas bénéficié d'un effet positif de la

proximité du sédiment dans l'apport d'azote, et que la principale source nutritive provient de la colonne d'eau. De la même manière, les données de fixation de phosphore, principalement négatives ou proches de 0, que le milieu soit pourvu ou dépourvu de vase, ne révèlent pas un rôle du sédiment dans l'apport de phosphore aux algues. Néanmoins, il ne faut pas exclure, le biais expérimental introduit par le système de pondoir fixé à  $\approx 20$  cm de la vase qui pourrait en partie expliquer une moindre influence du sédiment par rapport au milieu naturel où les ulves sont au contact direct avec la vase.

*Relargage sédimentaire et impact des conditions de concentrations en nutriments du milieu sur son efficacité*

Bien que la présence de sédiment n'ait pas eu d'impact sur la croissance des ulves dans cette expérimentation, un relargage sédimentaire a pu être mis en évidence à partir du suivi des concentrations en ammonium de l'eau de mer. Au cours des expérimentations 1 et 2, les teneurs en ammonium étaient significativement plus élevées dans les milieux contenant de la vase, que dans ceux qui en étaient dépourvus, même si elles présentaient une certaine variabilité au cours du temps. En parallèle, une diminution significative des concentrations en azote sédimentaire a été observée à T21. Cette observation soutiendrait l'hypothèse d'un transfert d'ammonium de la vase vers le milieu. Ce processus est caractéristique des estuaires marins et des vasières (Magalhães *et al.*, 2002 ; Kamer *et al.*, 2004). Il est également intéressant de noter que le sédiment peut, à l'inverse, représenter un puit d'azote pour la colonne d'eau. Plusieurs études ont déjà reporté des processus de diffusion des nitrates du milieu vers la vase, dans le cas où les concentrations en azote de la colonne d'eau étaient supérieures à celles des eaux interstitielles du sédiment (e.g. Cowan et Boynton 1996; Trimmer *et al.* 1998, 2000; Magalhães *et al.* 2002 ; Kamer *et al.*, 2004). Il est donc envisageable, qu'en plus du relargage d'ammonium, une séquestration d'ammonium ait eu lieu dans le sédiment. Les valeurs mesurées à T21 sont la résultante de l'ensemble des processus qui ont eu lieu à l'interface eau-sédiment. Il est, par conséquent, nécessaire de nuancer que la diminution significative des teneurs en azote observée au cours du temps reflète une prédominance (même faibles) des processus de relargage en azote vers la colonne d'eau, sur les flux orientés vers le compartiment sédimentaire. Par ailleurs, même si les prélèvements *in situ* ont été réalisés proche les uns des autres, les différentes parcelles de vase peuvent se caractériser par des propriétés chimiques et biologiques plus ou moins variables, susceptibles d'expliquer la variabilité temporelle des concentrations en ammonium mesurées dans la colonne d'eau.

À l'inverse de l'azote, le relargage de phosphore n'a pas pu être réellement observé à partir du suivi des concentrations en phosphates du milieu, ni des teneurs en phosphore des tissus algaux et de la vase, même lors de l'arrêt du bullage favorable à l'anoxie au cours de l'expérience 2. Les teneurs en phosphore de la vase mesurées à la fin de l'expérimentation étaient généralement supérieures ou non-significativement différentes des teneurs initiales au temps T0. Comme précisé précédemment, ces résultats intègrent l'ensemble des processus qui ont eu lieu à l'interface eau-sédiment sur l'ensemble des 21 jours d'expérimentation (tels que la désorption, la minéralisation microbienne de la matière organique, ou la diffusion passive des phosphates présents dans les eaux interstitielles du sédiment ; Petterson, 1998 ; Hou *et al.* 2013). De ce fait, la légère augmentation des teneurs en phosphore du sédiment au cours du temps indiquerait que le sédiment a plus agi comme un « puit » de phosphore, que comme une source de phosphore pour la colonne d'eau. Néanmoins, la diversité des processus impliqués dans le relargage sédimentaire du phosphore ne permet pas d'écarter un éventuel relargage sédimentaire en phosphore de faible intensité dans la colonne d'eau. Ici encore le design expérimental choisi a pu introduire un biais (algues à 20 cm au-dessus de la vase et pas en contact direct).

Cette expérimentation en laboratoire permet également de répondre à l'interrogation concernant l'impact des concentrations en nutriments du milieu sur la capacité du relargage sédimentaire. Les données discutées précédemment indiquent que les flux d'azote et de phosphore ont été peu variables ou non significatifs au cours du temps, quelles que soient les concentrations en nutriments du milieu. Les variations observées seraient plutôt relatives à la diversité des propriétés biologiques et chimiques des échantillons de vase prélevés, et aux processus biogéochimiques distincts ayant eu lieu au sein des douze milieux testés lors des 21 jours d'expérimentation. À titre d'exemple, lors de l'expérience 2, le milieu enrichi N<sup>+</sup> en présence de vase a été probablement soumis à des processus de reminéralisation de la matière organique (dégradation des tissus algaux), comme le suggère la fragmentation des algues à partir de T3, et les concentrations particulièrement élevées en ammonium du milieu. Ainsi, la concentration en sels nutritifs du milieu n'est probablement pas le seul facteur conditionnant le relargage sédimentaire mis en évidence dans cette étude, et ceci est probablement extrapolable *in situ*.

#### *Comparaison aux conclusions de l'étude CIMAV P3 2017*

Les expérimentations en laboratoire de 2017 avaient mis en évidence que la croissance des ulves était favorisée par la présence de sédiment, via sa contribution à l'apport d'azote et

de phosphore dans le milieu (milieu initial non-enrichi). Cette contribution était par ailleurs accentuée en absence d'oxygénation du milieu en nocturne (arrêt bullage). L'absence d'impact positif de la vase sur la croissance des ulves relevées en 2018 est très probablement liée aux différences de design expérimental (distance entre les algues et le sédiment, enrichissement du milieu). En effet, dans le but de limiter le broutage des thalles par les hydrobie, les lots d'algues ont été isolés dans des pondoirs constitués de fines mailles perméables, séparant les algues du sédiment de 20 cm et limitant ainsi le brassage de l'eau. Cette distance entre la vase et les algues a probablement limité les échanges directs entre ces deux compartiments, les flux de phosphore et d'azote étant principalement localisés à l'interface eau-sédiment (Thybo-Christesen *et al.* 1993). Tandis que la capacité des algues à intercepter le flux de nutriments provenant du sédiment a été démontrée à plusieurs reprises (McGlathery *et al.* 1997 ; Tyler *et al.* 2001), les mécanismes impliqués dans les transferts et les processus d'absorption des algues restent encore mal connus à ce jour. Il est probable que la proximité des algues au sédiment conditionne leur capacité et leur efficacité à absorber les nutriments d'origine sédimentaire, les concentrations issues du sédiment étant assez rapidement diluées quand on s'éloigne de celui-ci. Par ailleurs, sur la vasière du Lédano, les algues sont soumises aux cycles des marées, qui génèrent un mouvement perpétuel de la masse d'eau, et des périodes d'émersion, pendant lesquelles les thalles reposent sur le sédiment dans une fine pellicule d'eau de mer résiduelle. Or ces paramètres sont susceptibles d'impacter les processus d'absorption des nutriments (notamment des nitrates et de l'ammonium) par les algues. À partir d'expérience en laboratoire, Barr *et al.* (2008) ont montré que le mouvement de l'eau à petite échelle, notamment lié au cycle des marées, impactait la croissance de l'algue verte *Ulva pertusa*, et que les vitesses d'absorption en ammonium augmentaient d'un facteur de 4,9 en simulant le mouvement de vagues. Les travaux de Thomas et Turpin (1980 ; 1987) ont, en outre, démontré que le phénomène de dessiccation, auquel sont soumises les algues à marée basse, engendrait une augmentation des vitesses d'absorption en nitrates et en ammonium une fois que leur thalles était à nouveau immergés dans la colonne d'eau (chez plusieurs espèces : *Gracilaria pacifica*, *Gigartina papillata*, *Enteromorpha intestinalis*, *Pelvetiopsis limitata* et *Fucus distichu*). Ces études mettent en évidence que les processus d'absorption des algues vertes présentes sur les vasières sont complexes, en réponse aux conditions environnementales (i.e. émersion, dessiccation, remise en suspension des particules liées à la marée montante) marquées par une certaine variabilité temporelle dans les systèmes de type vasière. Pour des raisons techniques évidentes, la présente expérimentation n'a pas intégré l'ensemble de ces conditions environnementales et

a choisi de cibler l'étude sur des conditions d'immersion continue des ulves. Cette observation souligne que, dans ces conditions expérimentales, les processus liés au relargage sédimentaire n'ont pas été perceptibles et que d'autres paramètres d'importance mériteraient d'être étudiés avec attention. En particulier, la capacité des ulves à capter les nutriments de la vase en condition d'émergence, lorsque leur thalle est étalé sur le sédiment dans une fine pellicule d'eau, reste encore à élucider.

## 4. Estimation du flux sédimentaire et du fonctionnement écophysiologique 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 menées dans des expérimentations en conditions contrôlées (teneurs en sels nutritifs dans la colonne d'eau, croissance et biomasse algale, quotas N et P des algues). La mise en place d'un modèle 0D constitue une étape importante pour valider, à très petite échelle et dans des conditions environnementales contrôlées, 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'opérations.

Dans cette section et comme pour le précédent rapport CIMAV P3 2017, 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 « U+V- » (i.e. sans vase avec ulves). 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 au mieux 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 EcoMars-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 et de la lumière ont été utilisées pour forcer le modèle 0D à chaque pas de temps. Les conditions initiales en sels nutritifs, quotas

en N&P et biomasse en ulve sont issues des valeurs mesurées à chaque début d'expérience. A chaque pas de temps, un bilan de masse sur l'azote et le phosphore a été effectué de façon à s'assurer du caractère conservatif du modèle 0D. La comparaison des mesures avec le modèle 0D en vue de dégager des valeurs de flux sédimentaires a porté sur les deux modalités suivantes : « **U+V-** » (i.e. sans vase et avec ulves) et « **U+V+** » (i.e. avec vase et avec ulves). A chacune de ces modalités, quatre conditions nutritives ont été associées comme décrit au § 3.2.1 :

- « **R** » : milieu de référence,
- « **N+** » : milieu enrichi en nitrates,
- « **P+** » : milieu enrichi en phosphates,
- « **NP+** » : milieu enrichi en nitrates et phosphates.

La durée des simulations est identique au dispositif expérimental qui repose sur trois expériences de sept jours chacune menées dans les conditions de bullage suivantes (phénomène de bullage non considéré dans le modèle) :

- **Expérience 1** : bullage en continu permettant une oxygénation du milieu
- **Expérience 2 et 3** : arrêt du bullage favorisant des conditions d'anoxie.

Le Tableau 19 récapitule les valeurs de l'ensemble des paramètres biochimiques du modèle 0D appliqués aux ulves. L'état physiologique des ulves utilisées pour la 3<sup>ème</sup> expérience ayant montré des signes de dégradation par rapport au matériel algal utilisé pour les expériences 1 et 2 (cf. § 3.4), il a été nécessaire de modifier certains paramètres biochimiques du modèle 0D pour reproduire au mieux les résultats de l'expérience 3.

**Tableau 19 : Paramètres biochimiques du modèle 0D pour les ulves**

<b>Symbole</b>	<b>Définition</b>	<b>Unité</b>	<b>Valeur</b>
$\mu_{\text{maxulva}}$	Taux de croissance maximum	$\text{j}^{-1}$	0.5
$K_{\text{Nulva}}$	Constante de demi-saturation de N	$\mu\text{mol l}^{-1}$	10
$K_{\text{Pulva}}$	Constante de demi-saturation de P	$\mu\text{mol l}^{-1}$	2.8
$V_{\text{maxNulva}}$	Vitesse maximale d'absorption de N	$\mu\text{mol g}^{-1}$	100
$V_{\text{maxPulva}}$	Vitesse maximale d'absorption de P	$\mu\text{mol g}^{-1}$	17.2
$q_{\text{maxNulva}}$	Quota maximal en azote	$\text{g.kg}^{-1}$ (M.S.)	40
$Q_{\text{critNulva}}$	Quota critique en azote	$\text{g.kg}^{-1}$ (M.S.)	20
$q_{\text{minNulva}}$	Quota de subsistance en azote	$\text{g.kg}^{-1}$ (M.S.)	10

$q_{\max\text{Pulva}}$	Quota maximal en phosphore	$\text{g.kg}^{-1}$ (M.S.)	2.0
$Q_{\text{critPulva}}$	Quota critique en phosphore	$\text{g.kg}^{-1}$ (M.S.)	1.25
$q_{\min\text{Pulva}}$	Quota de subsistance en phosphore	$\text{g.kg}^{-1}$ (M.S.)	0.35
$M_{\text{ulvadep}}$	Taux de mortalité	$\text{j}^{-1}$	0.085
$b_{\text{surfulva}}$	Surface spécifique en biomasse (poids sec)	$\text{g m}^{-2}$	0.005
$k_{\min\text{N}}$	Taux de reminéralisation de N	$\text{j}^{-1}$	0.02
$k_{\min\text{P}}$	Taux de reminéralisation de P	$\text{j}^{-1}$	0.07
$k_{\text{nitrif } 0}$	Taux de nitrification à 0°C	$\text{j}^{-1}$	0.02

## 4.2. Résultats

Pour chacune des trois expériences, la modalité « **U+V-** » (i.e. sans vase et avec ulves) associée aux quatre conditions décrites ci-avant a été utilisée pour caler et valider le modèle 0D. Sur la base de ce calage, les valeurs de relargage sédimentaire ont été déterminées en prenant la modalité « **U+V+** » (i.e. avec vase et avec ulves) et en ajustant des valeurs théoriques de flux sédimentaires de façon à ce que les résultats du modèle 0D reproduisent au mieux les valeurs mesurées.

Comme pour le modèle 0D déployé dans le CIMAV P3 2017, 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 ou inférieures au seuil de détection présentes dans certains triplicats ont été filtrées.

Pour chacune des trois expériences conduites sur sept 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. Modalité « U+V- » : sans vase et avec ulves

Il est rappelé que la modalité « sans vase » est utilisée 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.

##### 1) Condition « R » (milieu de référence)

La comparaison des valeurs en sels nutritifs simulées par le modèle 0D avec les mesures (cf. Figure 22) montre que :

- Les teneurs en **nitrate** simulées sont cohérentes par rapport aux teneurs mesurées. Toutefois, dans la mesure où les concentrations mesurées sont régulièrement 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,
- L'évolution des concentrations simulées en **phosphate** est plus délicate à valider et le modèle semble sous-estimer les teneurs réelles. Comme pour l'ammonium, les écarts types des mesures sont globalement élevés ce qui ne facilite pas la validation du modèle 0D.

Concernant la biologie des algues, les valeurs simulées par le modèle 0D illustrées en Figure 23 et Figure 24 montrent que :

- Le modèle reproduit correctement l'évolution des quotas internes en azote et phosphore des ulves. On relève toutefois une légère surestimation par le modèle du quota en azote pour l'expérience 1 et du quota en phosphore pour les expériences 1 et 3. La présence de plateaux régulièrement espacés est liée, dans le modèle, à l'arrêt de l'absorption en nutriments durant la phase nocturne (de récentes observations montrent que certaines espèces algales poursuivent l'absorption des nutriments la nuit ; une évolution de ce paramètre dans du modèle utilisé ici est donc à prévoir dans le futur en fonction des espèces d'algues étudiées),

- La densité (biomasse en grammes de poids sec) simulée en ulves en fin des expériences de 7 jours est proche de la valeur mesurée sauf pour l'expérience 2 en raison d'un taux de croissance moyen journalier inférieur à celui mesuré. On retrouve logiquement la progression en escalier liée à l'arrêt de la croissance des ulves durant la nuit (de la même façon que pour les processus d'absorption, il a été montré récemment que certaines espèces algales étaient capables de se développer en période nocturne ; une évolution du modèle utilisé est donc à prévoir dans le futur). **D'une manière générale, il n'a pas été évident de bien accorder les valeurs de biomasse simulées avec celles mesurées en raison du protocole qui utilisait des pondoirs et qui fausse *in fine* le calcul du paramètre d'auto-ombrage du modèle (la surface du bac étant supérieure à la surface cumulée des 4 pondoirs immergés dans les bacs). Cet artéfact conduit en règle générale à une surestimation de la biomasse simulée par rapport aux mesures dans les pondoirs,**
- Les taux de croissance journaliers mesurés sont globalement faibles car inférieurs en moyenne à 3.5 % (1.71 % pour l'expérience 3). Les valeurs mesurées classiquement dans ce type d'expérimentation en conditions contrôlées et que l'on rencontre dans la littérature se situent autour de 8 à 10 %. **Les faibles taux de croissance mesurés sont à mettre en relation avec la qualité du matériel algal dont l'état physiologique était globalement en état de carence après la période d'acclimatation en bassin ; les quotas internes mesurés en phosphore se situant tous à un niveau inférieur au quota critique. Le maintien des algues dans les pondoirs pourrait aussi expliquer une partie des écarts mesurés. Dans ces conditions, il s'est avéré difficile de bien accorder le modèle 0D avec les mesures.** Cependant, on constate que le modèle 0D parvient à reproduire l'ordre de grandeur mesuré avec toutefois une surestimation du taux de croissance simulé pour l'expérience 2,
- Pour les trois expériences, une limitation de la croissance par le phosphate est observée. Ce résultat s'explique par des quotas internes en phosphore systématiquement bas en tout début d'expérience et des ulves en état carencé.

### Expérience 1

### Expérience 2

### Expérience 3

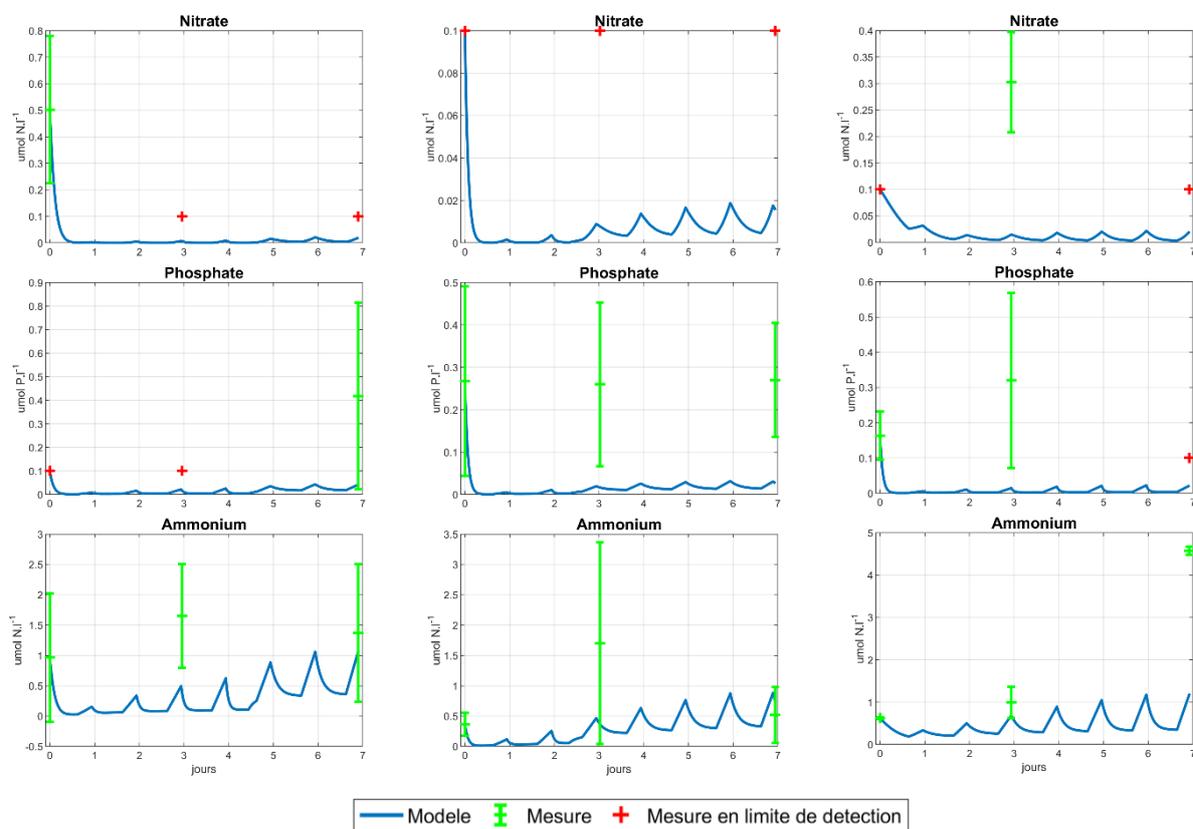
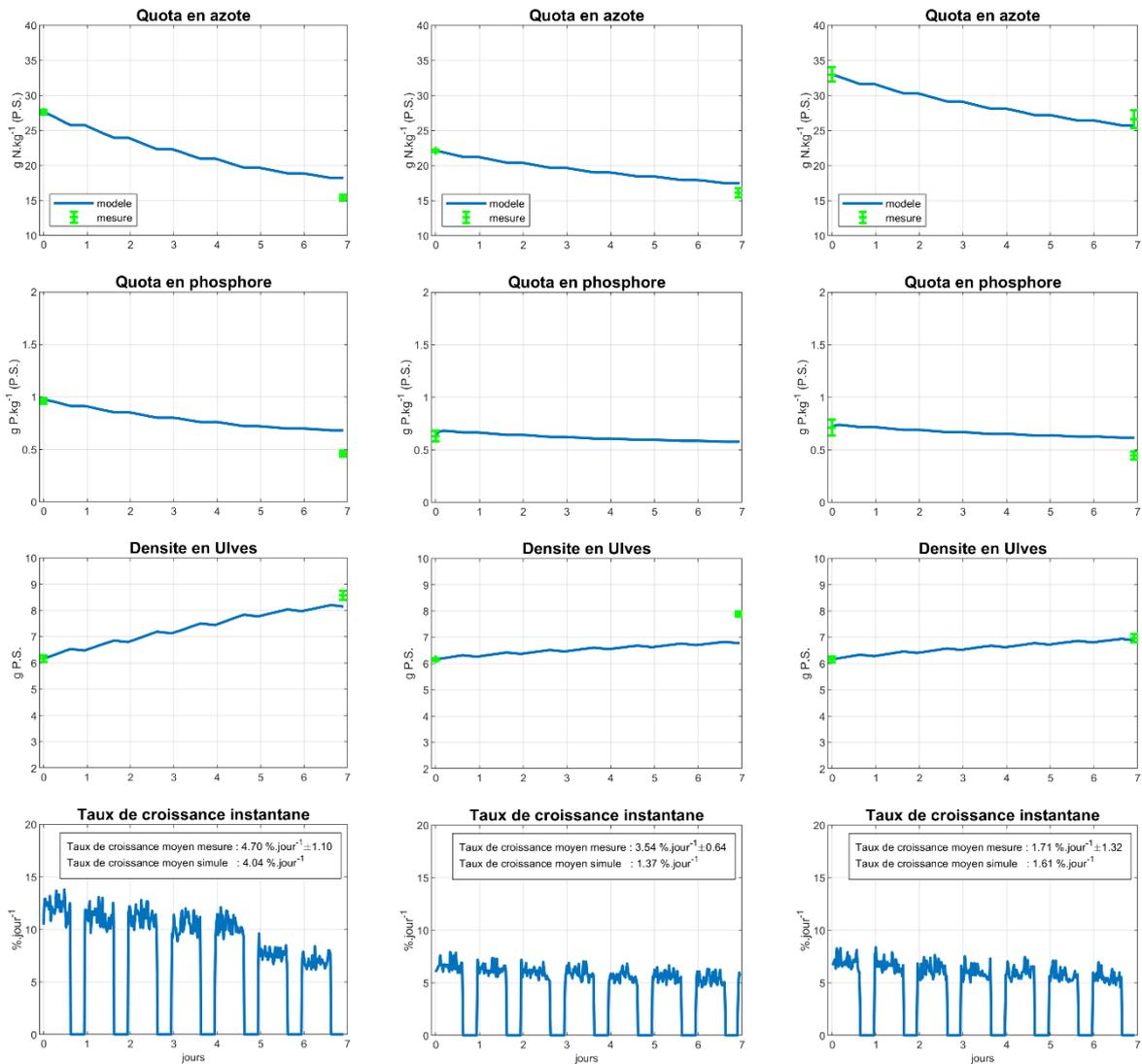


Figure 22 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour les sels nutritifs (modalité « U+V- en condition R »)

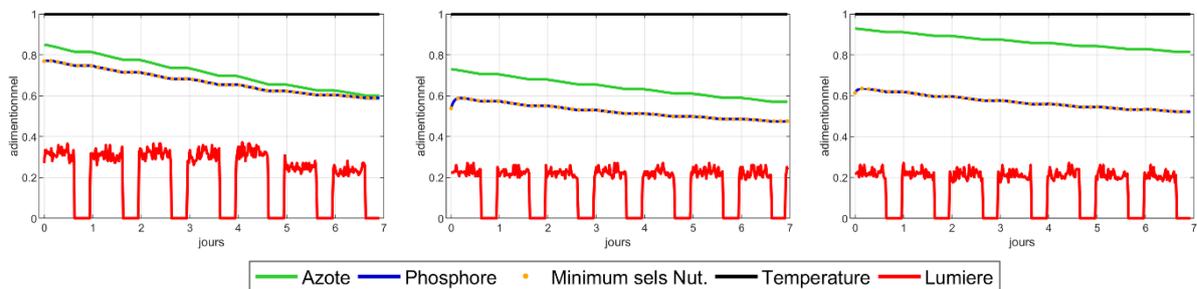
### Expérience 1

### Expérience 2

### Expérience 3



**Figure 23 : 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 (modalité « U+V- en condition R »)**



**Figure 24 : Evolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans la croissance de l'ulve (modalité « U+V- en condition R »)**

## 2) Condition « N+ » (milieu enrichi en nitrates)

La comparaison des valeurs en sels nutritifs simulées par le modèle 0D avec les mesures (cf. Figure 25) montre que :

- Les teneurs en **nitrate** simulées en fin d'expérience sont cohérentes par rapport aux teneurs mesurées. La diminution progressive des teneurs simulées en nitrate est un peu rapide par rapport à celle mesurée si l'on se réfère à la valeur mesurée au 3<sup>ème</sup> jour d'expérimentation. L'expérimentation 3 est celle qui montre les valeurs mesurées et simulées les moins satisfaisantes pour les raisons évoquées ci-avant (utilisation d'un matériel algal dégradé pour l'expérience 3),
- L'évolution des concentrations simulées en **ammonium** est cohérente par rapport aux mesures. Le modèle tend à reproduire la progression quasi linéaire de la teneur mesurée avec cependant une surestimation de la valeur simulée en fin d'expérience,
- L'évolution des concentrations simulées en **phosphate** est délicate à valider étant donné les faibles valeurs mesurées dans le milieu. Comme pour l'ammonium, les écarts types des mesures sont parfois élevés ce qui ne facilite pas la validation du modèle,

S'agissant de la biologie des ulves (cf. Figure 26 **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**), il est plus délicat de conclure étant donné les faibles taux de croissance mesurés dus à des ulves en état carencé (quotas initiaux bas en phosphore) et au protocole expérimental utilisant des poids. Si qualitativement, le modèle reproduit les tendances observées, la validation quantitative est plus difficile pour les raisons précédemment évoqués. Le modèle montre à nouveau une limitation systématique de la croissance par le phosphore dissous (cf. Figure 27).

### Expérience 1

### Expérience 2

### Expérience 3

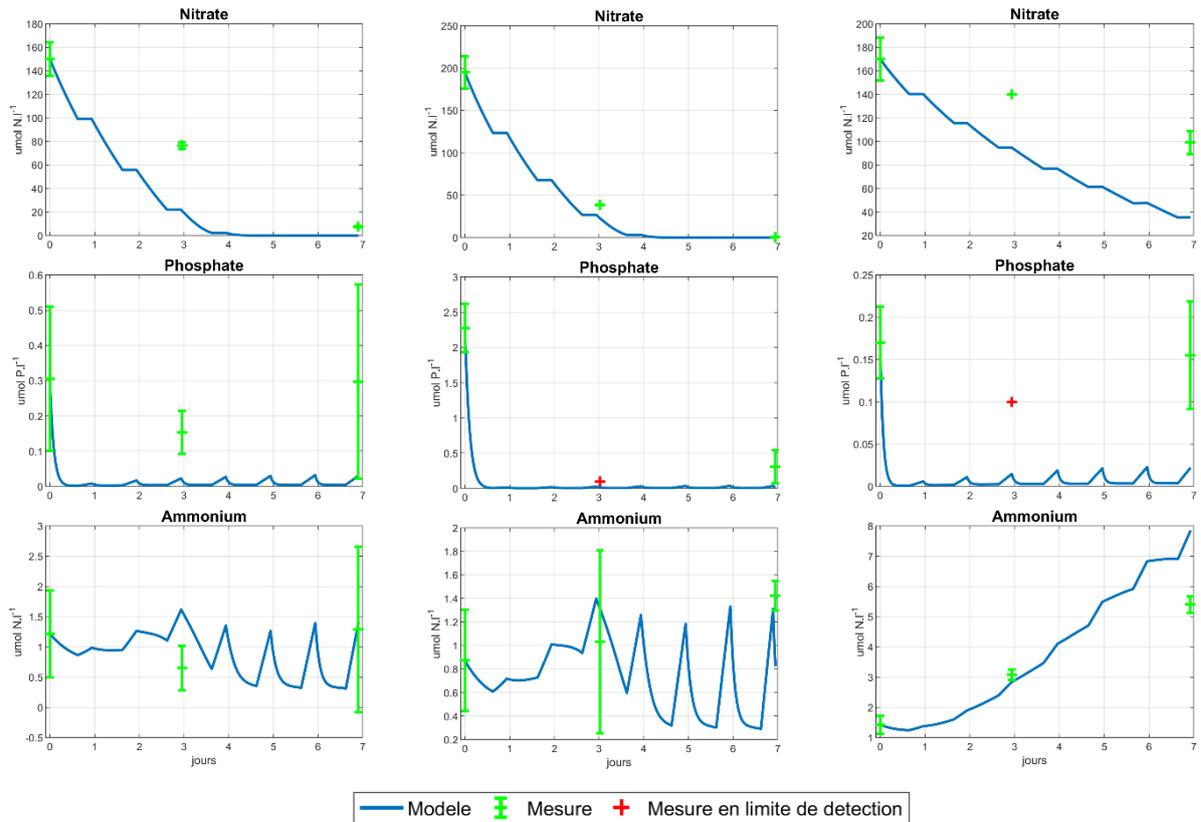
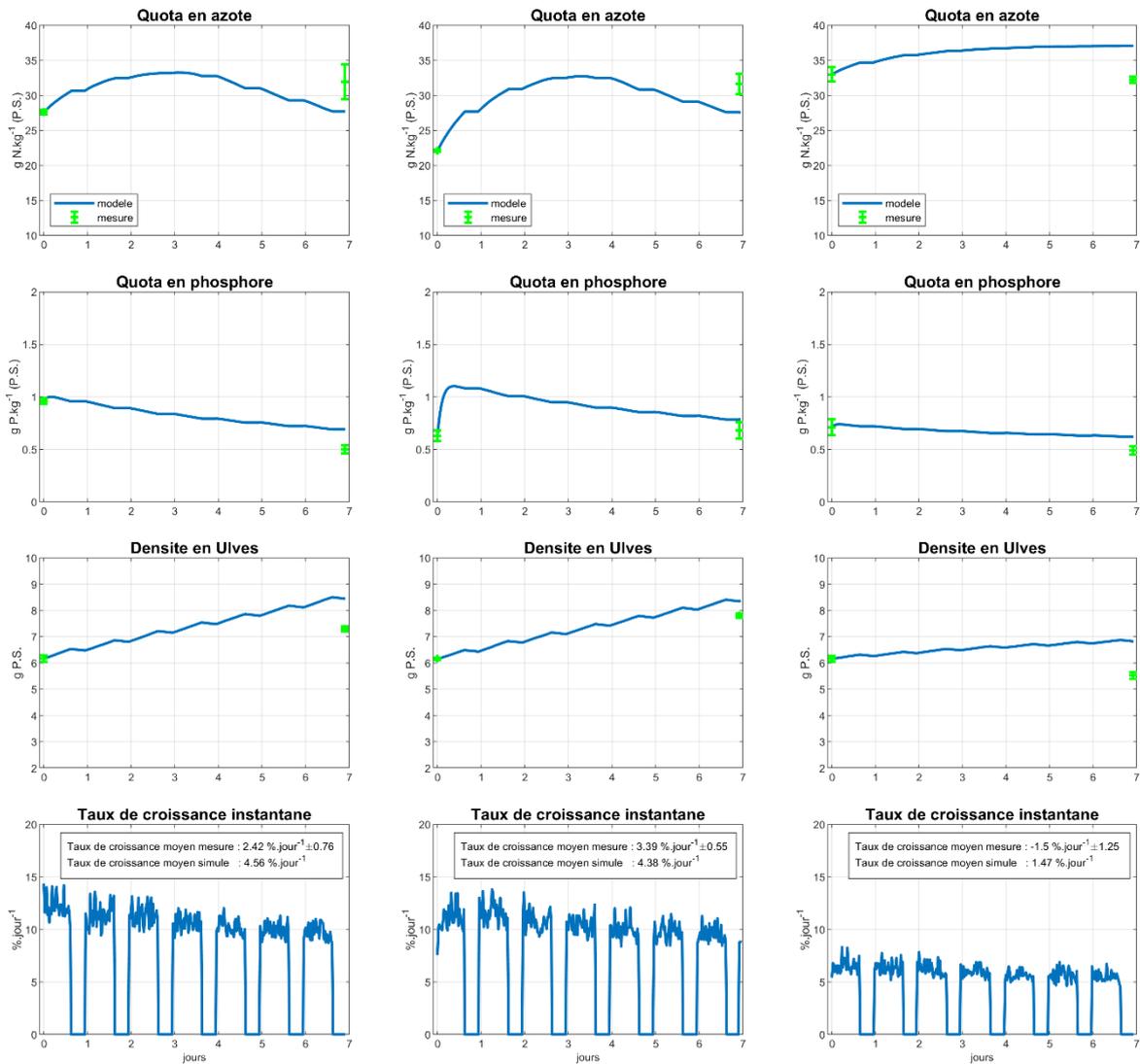


Figure 25 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour les sels nutritifs (modalité « U+V- en condition N+ »)

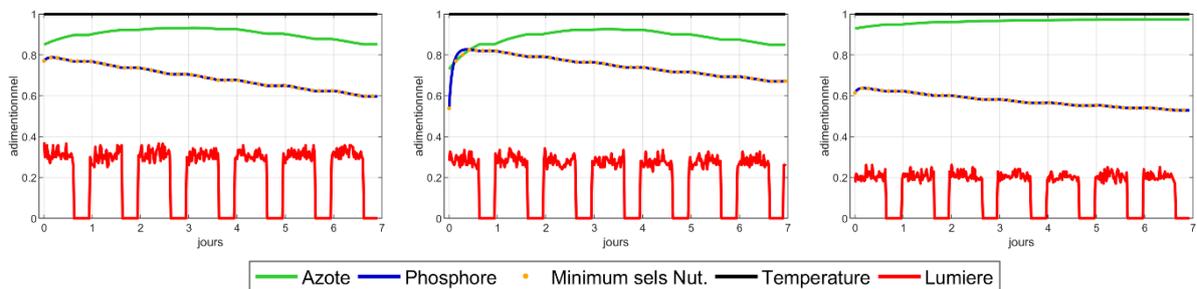
### Expérience 1

### Expérience 2

### Expérience 3



**Figure 26 : 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 (modalité « U+V- en condition N+ »)**



**Figure 27 : Evolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans la croissance de l'ulve (modalité « U+V- en condition N+ »)**

### 3) Condition « P+ » (milieu enrichi en phosphates)

La comparaison des valeurs en sels nutritifs simulées par le modèle 0D avec les mesures (cf. Figure 28) montre que :

- Les concentrations en **nitrate** en milieu et fin d'expérimentation (jours 3 et 7) sont cohérentes avec les valeurs mesurées qui sont toutes inférieures au seuil de détection,
- L'évolution des concentrations simulées en **ammonium** respecte les valeurs mesurées mais leur validation reste délicate car les mesures montrent soit des écarts type importants, soit des valeurs inférieures au seuil de détection. Les mêmes remarques pourraient être formulées concernant la variable **phosphate**.

S'agissant de la biologie des ulves (cf. Figure 29), la comparaison entre le modèle et les mesures fait apparaître des disparités selon l'expérience et la variable que l'on considère. De la même façon que pour l'expérience précédente en condition « N+ », le modèle parvient globalement à reproduire les tendances observées avec des écarts de niveau plus ou moins importants en fonction de l'expérience. Les taux de croissance mesurés et simulés (cf. Figure 30) restent à des niveaux bas et le modèle montre, malgré la condition testée (enrichissement en phosphate) que l'élément le plus limitant intervenant dans la croissance des ulves est le phosphate à l'exception de l'expérience 1 où l'azote est le facteur limitant.

### Expérience 1

### Expérience 2

### Expérience 3

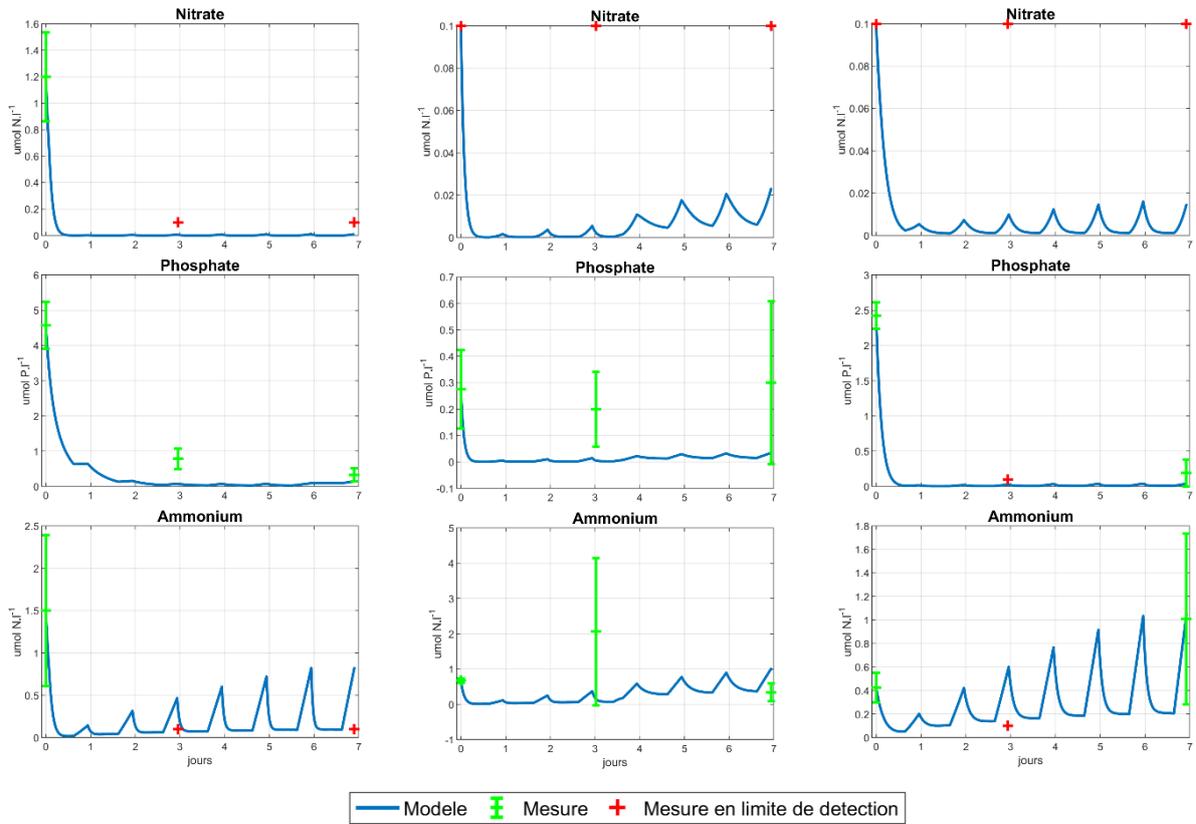
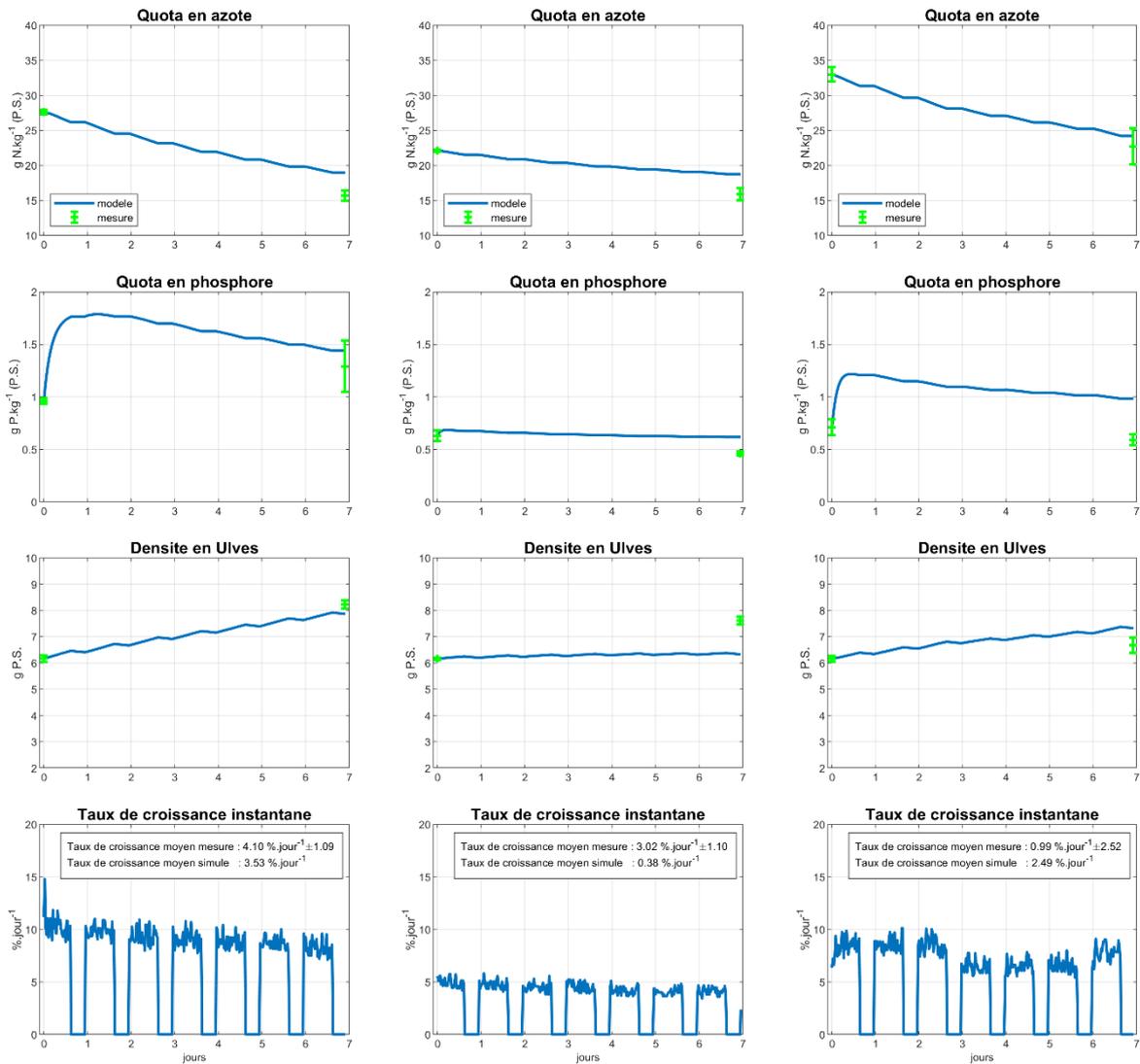


Figure 28 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour les sels nutritifs (modalité « U+V- en condition P+ »)

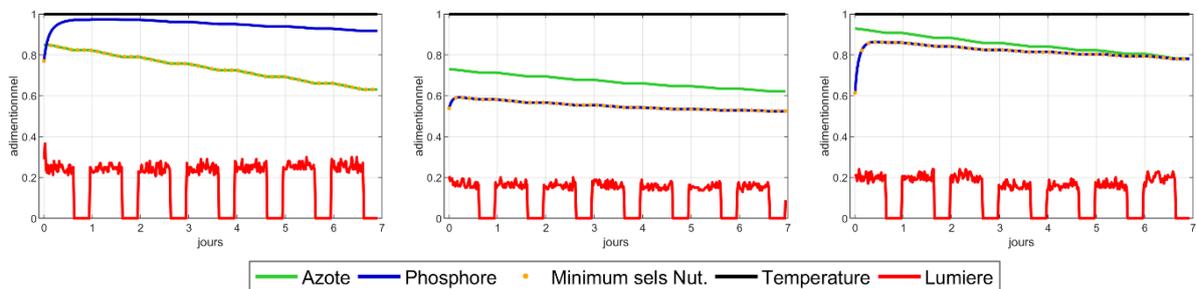
### Expérience 1

### Expérience 2

### Expérience 3



**Figure 29 : 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 (modalité « U+V- en condition P+ »)**



**Figure 30 : Evolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans la croissance de l'ulve (modalité « U+V- en condition P+ »)**

#### 4) Condition « NP+ » (milieu enrichi en nitrates et phosphates)

La comparaison des teneurs simulées en sels nutritifs par le modèle 0D avec les mesures (cf. Figure 31) montre que :

- La décroissance progressive des concentrations en **nitrate** est correctement reproduite par le modèle à l'exception de l'expérience 3 en raison *a priori* de l'état avancé de dégradation du matériel algal utilisé. Pour les expériences 1 et 2 et partant d'une condition élevée des teneurs en nitrates (autour de 200  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ), le modèle parvient à reproduire la diminution progressive et continue du nitrate dans le milieu jusqu'à son quasi-épuiement en fin d'expérience au jour 7 (teneurs inférieures à 0,2  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ). Cette expérience permet de mettre en évidence la qualité du modèle biologique pour ce qui est des processus liés au pompage de l'azote dissous par les ulves,
- L'évolution des concentrations simulées en **ammonium** respecte les gammes de valeurs mesurées et montre comme pour les précédentes conditions une évolution temporelle différente par rapport au nitrate. Cela est dû au fait que l'ammonium se comporte à la fois comme un puit d'azote dissous dû à l'activité de pompage par les ulves (processus largement dominant pour le nitrate) mais aussi comme une source d'azote par reminéralisation de la matière organique. Pour la 3<sup>ème</sup> expérience, les teneurs simulées et mesurées en ammonium se situent à des niveaux 3 à 5 fois supérieurs aux deux autres expériences. Le modèle montre que ce phénomène est dû à une moindre demande de pompage de l'azote pour les ulves de l'expérience 3 en raison d'un niveau de quota en azote plus élevé en début de manipulation,
- Les faibles concentrations observées en **phosphate** sont correctement représentées par le modèle qui tend toutefois à légèrement sous-estimer les teneurs mesurées. La validation reste globalement difficile à établir car certaines teneurs mesurées présentent des valeurs en deçà du seuil de détection.

Concernant la biologie des ulves (cf. Figure 32), le modèle reproduit de manière satisfaisante les valeurs mesurées en fin d'expérimentation pour les quotas en azote et phosphore. Pour des raisons liées principalement au protocole d'expérimentation (utilisation de pondoires au sein de chaque bac qui biaisent le facteur d'auto-ombrage simulé). Les taux de croissance mesurés restent bas (inférieurs à 3 %) pour les expérimentations 1 et 2 avec une croissance mesurée négative pour l'expérimentation 3 témoignant à nouveau d'un état physiologique fortement dégradé (cf. Figure 33). Le modèle affiche également des taux de croissance faibles mais légèrement supérieurs à ceux mesurés aux expérimentations 1 et 2. Malgré la condition d'enrichissement considérée, l'élément le plus limitant intervenant dans la croissance des ulves reste le phosphate.

### Expérience 1

### Expérience 2

### Expérience 3

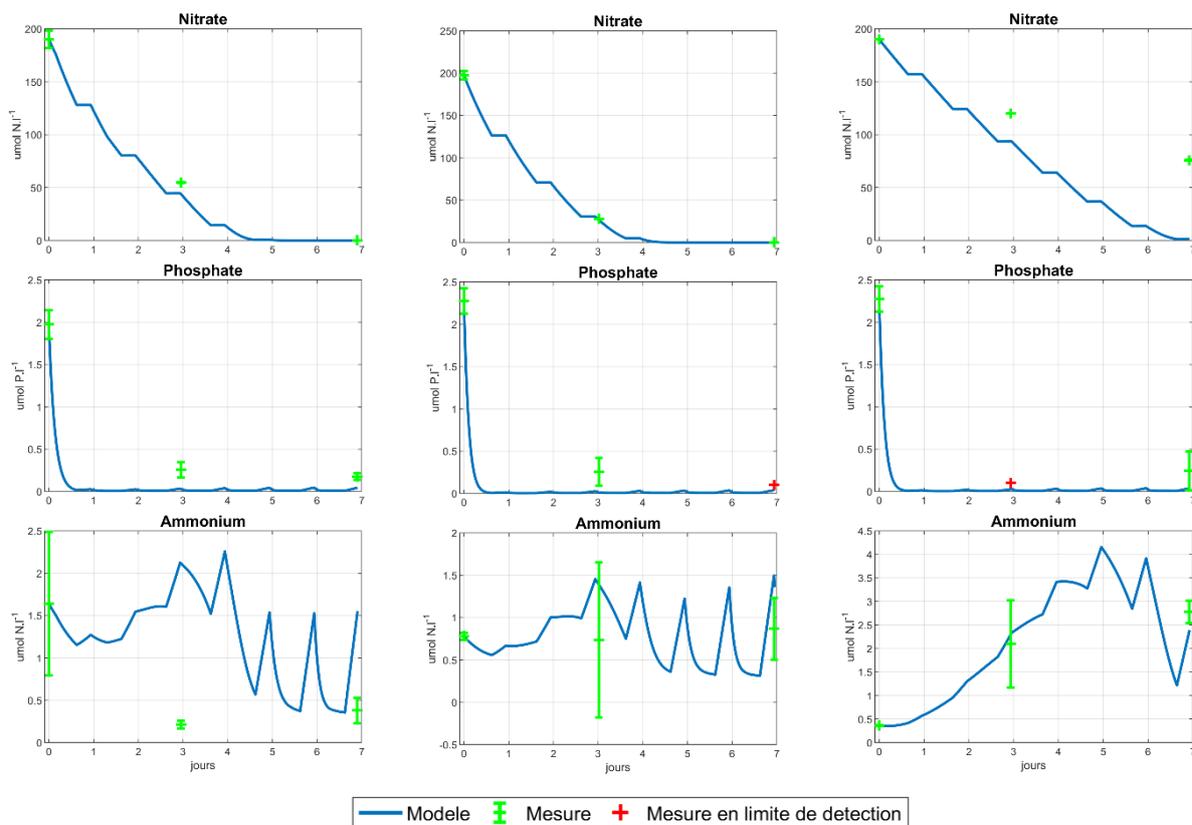
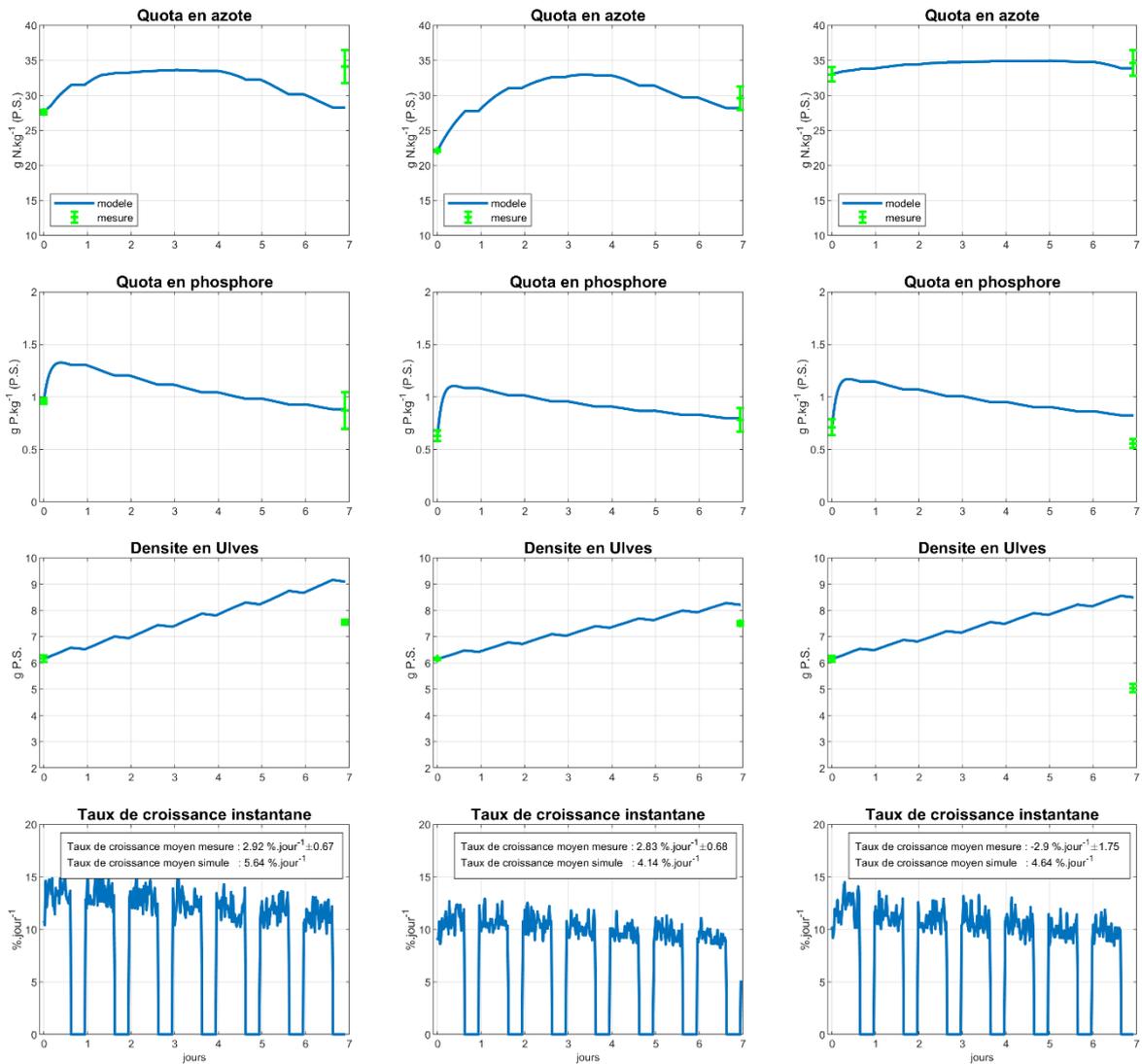


Figure 31 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour les sels nutritifs (modalité « U+V- en condition NP+ »)

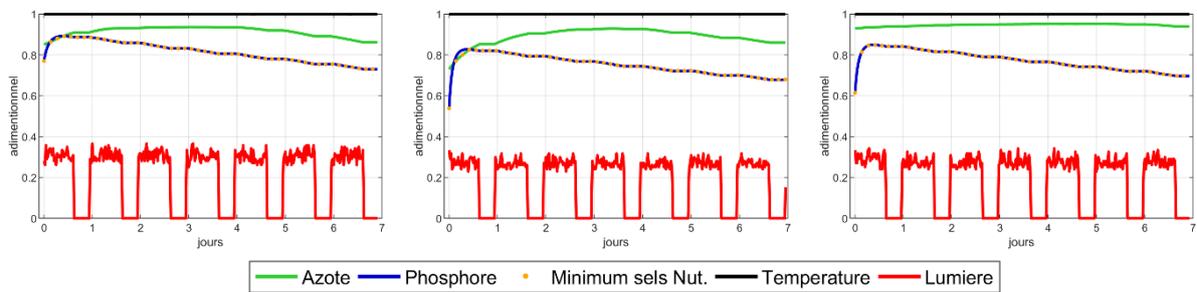
### Expérience 1

### Expérience 2

### Expérience 3



**Figure 32 : 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 (modalité « U+V- en condition NP+ »)**



**Figure 33 : Evolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans la croissance de l'ulve (modalité « U+V- en condition NP+ »)**

#### 4.2.2. Modalité « U+V+ » : avec vase et avec ulves

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 20.

**Tableau 20 : Valeurs de flux sédimentaire ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$ ) prescrits au modèle 0D**

	<b>Expérience 1</b>	<b>Expérience 2</b>	<b>Expérience 3</b>
<b>Flux en phosphate</b>	60	40	40
<b>Flux en ammonium</b>	800	500	400
<b>Flux en nitrate</b>	0	0	0

L'application de ces valeurs de flux sédimentaire à chaque pas de temps de calcul du modèle 0D a eu pour conséquence logique de rehausser les teneurs en ammonium et en phosphate par rapport aux précédents résultats obtenus en utilisant le protocole sans vase. L'introduction d'un relargage s'est avérée efficace pour expliquer la hausse des teneurs mesurées dans les bacs pourvus en sédiment et pour la condition « R » dite condition de référence. D'une manière générale, l'ajout d'un relargage sédimentaire dans le modèle 0D pour les trois autres conditions (« N+ » ; « P+ » ; « NP+ ») a dégradé les résultats par rapport aux simulations effectuées sans flux sédimentaire. Ce résultat tend à indiquer que pour ces trois types de conditions particulières, le flux sédimentaire n'a pas joué de rôle particulier dans la croissance algale et que c'est l'enrichissement en nutriments dans le milieu qui conditionne la croissance algale. Selon la méthodologie choisie, les nutriments ont été consommés rapidement dès les premiers jours, impliquant une croissance rapide des ulves puis une carence en N et P dans le milieu dès le 3<sup>ème</sup> jour. Un nouvel enrichissement à mi-période d'incubation aurait permis de rendre un des deux éléments non limitant pour analyser l'impact du sédiment sur la fourniture de l'autre. Il est toutefois constaté une légère augmentation des teneurs en ammonium mais le modèle ne montre pas une relation nette de cause à effet entre l'ajout d'un flux sédimentaire et la croissance algale. Dans ce contexte, seule la condition « R » est décrite dans le présent rapport.

*Condition « R » (milieu de référence)*

La Figure 34 montre l'évolution simulée et mesurée des sels nutritifs en présence de sédiment dans les bacs. 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 (8 mesures sur 9 se situent en deçà du seuil de détection de  $0,1 \mu\text{mol.l}^{-1}$ ),
- La gamme de valeurs des concentrations simulées en **ammonium** est en accord avec les mesures. Le niveau moyen des teneurs simulées et mesurées étant supérieur pour les trois expériences à la modalité « sans sédiment », il paraît très probable que cette augmentation des teneurs en ammonium est à mettre en relation avec le flux sédimentaire. Dans les conditions expérimentales choisies (reproduisant les faibles teneurs en nutriments *in situ*), 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. Il est probable que le fait que dans notre expérimentation les ulves soient éloignées du sédiment et « isolées » par une toile qui pourrait limiter les échanges advectifs, expliquerait des teneurs mesurées inférieures à ce que le modèle prévoit,
- Comme l'ammonium, l'évolution du **phosphate** simulé montrent 1/ des ordres de grandeur cohérents par rapport aux mesures et 2/ des oscillations diurnes liées au pompage par les ulves du phosphate d'origine sédimentaire qui s'est accumulé durant la nuit dans le bac. Comme pour l'ammonium, il est probable que le fait que les ulves sont éloignées et « isolées » du sédiment explique probablement que les valeurs simulées soient plus basses que les valeurs mesurées.

S'agissant de la biologie des algues, les valeurs simulées par le modèle 0D et illustrées en Figure 35 et montrent que :

- Le modèle reproduit correctement l'évolution des quotas internes en azote mais surestime le quota en phosphore des ulves. Dans un contexte de quota en phosphore bas à T0 associé à de faibles taux de croissance, il n'a pas été possible de reproduire la légère déplétion mesurée du quota en phosphore en prescrivant un flux sédimentaire en phosphore,
- La densité (biomasse en grammes de poids sec) simulée en ulves à la fin des trois expériences de 7 jours est proche des valeurs mesurées,
- De la même façon que la modalité « sans sédiment », les taux de croissance journaliers mesurés et simulés restent faibles car inférieurs en moyenne à 3,3 % mais en accord avec les attentes pour un milieu de référence sans enrichissement en nutriment,
- Pour les expériences 1 et 2, le modèle montre une limitation plus importante par le phosphore durant la 1<sup>ère</sup> moitié de l'expérience suivi d'une limitation plus importante par l'azote. L'expérience 3 montre en revanche sur l'ensemble de la manipulation une limitation de la croissance par le phosphore. L'état physiologique des ulves utilisées pour la 3<sup>ème</sup> expérience (ulves fortement carencées en phosphore) permettrait *a priori* d'expliquer ce résultat.

### Expérience 1

### Expérience 2

### Expérience 3

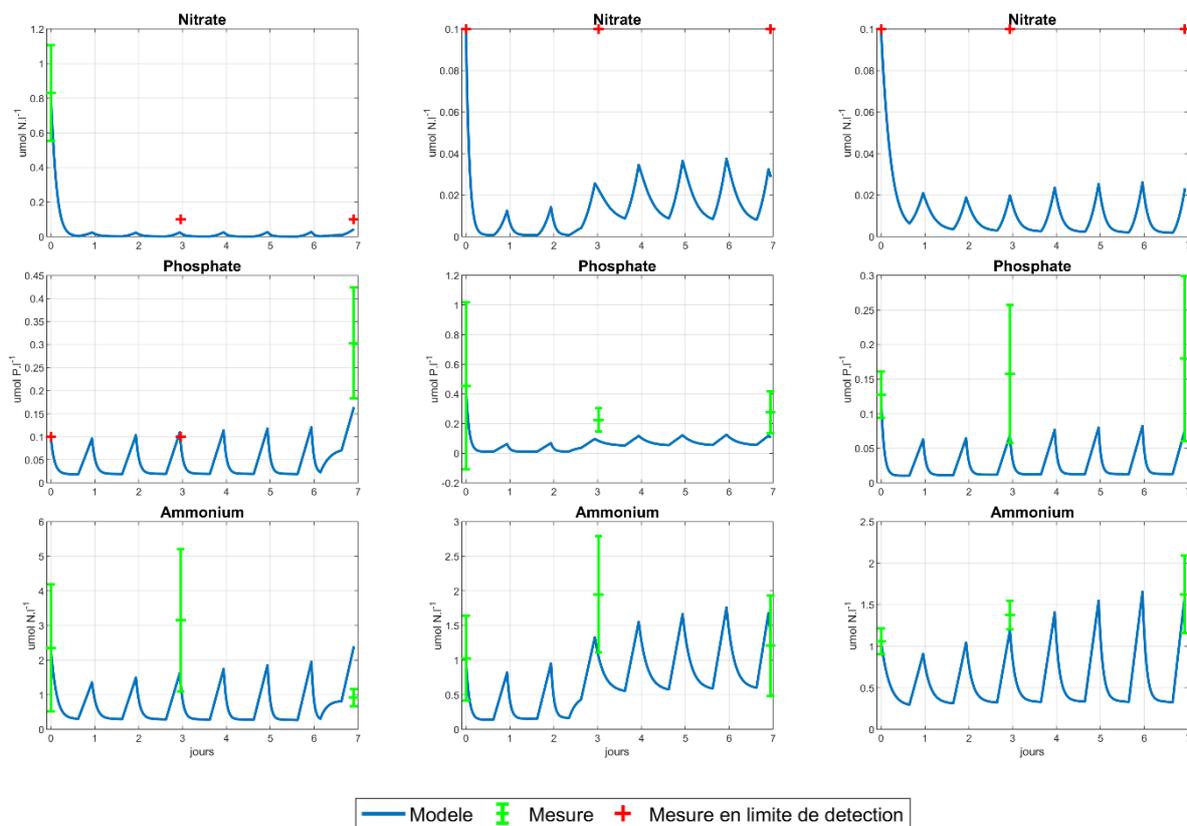
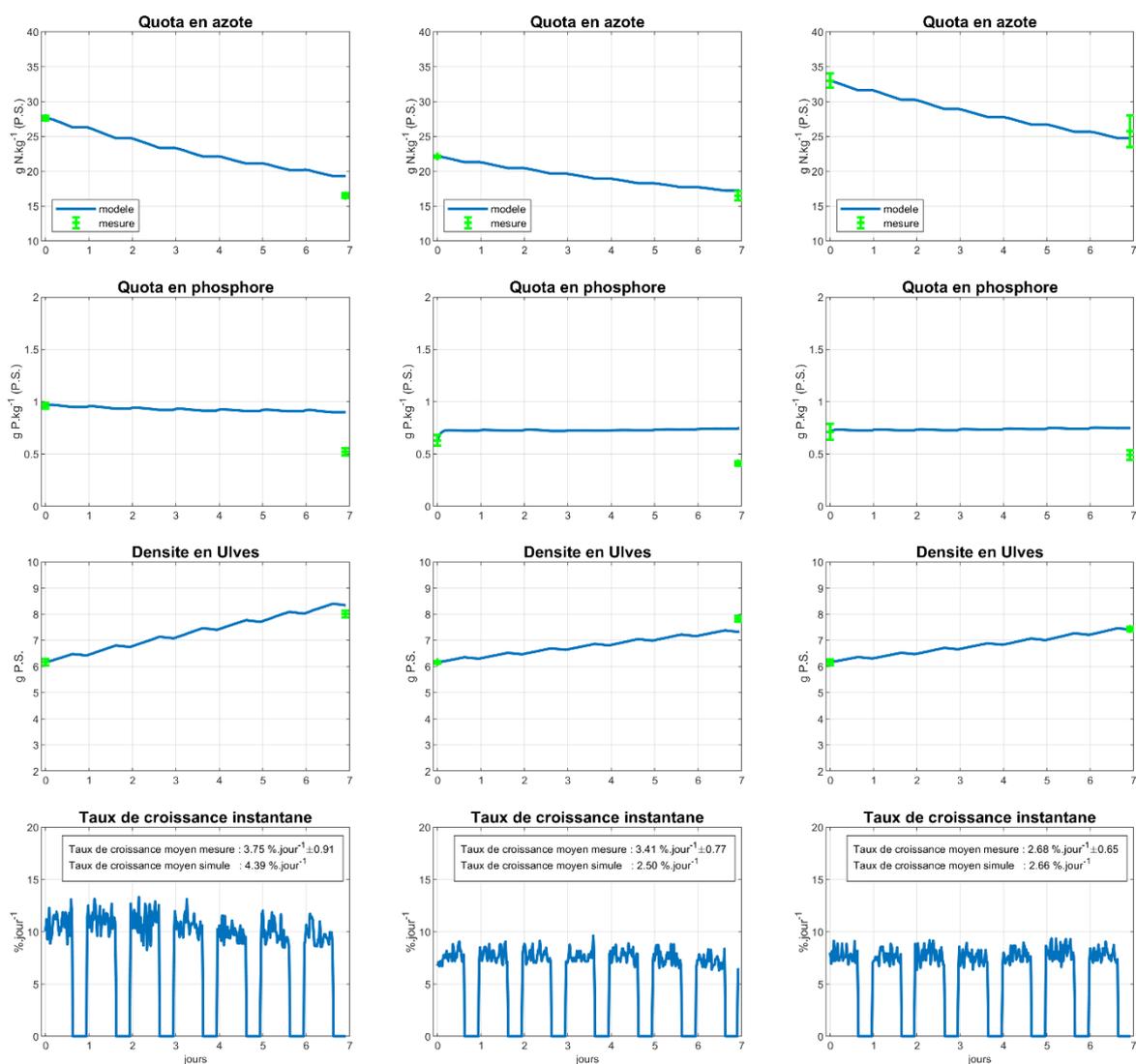


Figure 34 : Comparaison des données mesurées et simulées par le modèle 0D pour les sels nutritifs (modalité « U+V+ en condition R »)

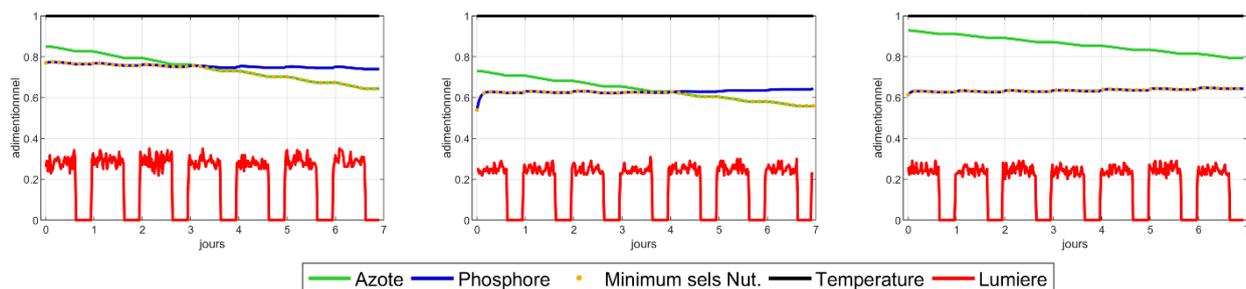
### Expérience 1

### Expérience 2

### Expérience 3



**Figure 35 : 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 (modalité « U+V+ en condition R »)**



**Figure 36 : Evolution simulée par le modèle 0D des effets limitants intervenant dans la croissance de l'ulve (modalité « U+V+ en condition R »)**

## 5. Conclusion

La reconduction en 2018 des expérimentations *in situ* et sous conditions contrôlées en laboratoire dans le cadre du programme CIMAV P3 a permis de renforcer le jeu de données acquis sur la vasière du Lédano depuis 2016, et d'apporter de nouveaux éléments de réponse sur la contribution sédimentaire à l'apport de nutriments pour la croissance des ulves.

Les expérimentations *in situ* ont couvert la période de prolifération des ulves de juillet à septembre 2018 sur la vasière. Cette prolifération a suivi une évolution saisonnière typique, mais tardive, caractérisée par de forts taux de croissance en juillet-août, et un ralentissement du développement algal à la fin du mois d'août, en lien avec la diminution progressive de l'ensoleillement et de la durée du jour caractéristiques de la fin d'été.

Pour la majorité des campagnes réalisées de juillet à septembre, un effet positif de la proximité des algues au sédiment a été mis en évidence sur les processus de fixation de phosphore dans les tissus algaux. La comparaison des données de quotas phosphorés et de fixation de phosphore obtenus pour les algues en contact avec le sédiment (cages B) et celles disposées en hauteur (cage H), montre en effet que la fixation de phosphore a été plus importante pour les ulves reposant sur le sédiment. En revanche, la contribution sédimentaire à l'apport d'azote n'a pas été perceptible avec notre dispositif au cours de la saison 2018. Les quotas azotés des tissus algaux se sont maintenus au-dessus du seuil critique  $Q_1N$  de juillet à septembre, indiquant une absence de limitation de la croissance des ulves par l'azote tout au long de la saison. Les concentrations en nitrates non-limitantes relevées au début de chaque campagne de terrain soutiennent cette observation, et suggèrent, en outre, qu'en 2018 la colonne d'eau était la principale source d'azote contribuant à la croissance des algues sur la vasière.

Bien que l'effet positif de la proximité du sédiment sur l'apport de phosphore aux algues ait été mis en évidence pour la majorité des campagnes de juillet à septembre, l'impact de cet apport sur la croissance des algues n'a été significatif qu'au cours de la première et de la dernière mission de terrain (conduites respectivement début juillet et mi-septembre). Pour ces deux périodes, les algues en contact avec le sédiment avaient montré de meilleurs taux de croissance (et quantités de phosphore fixées plus élevées) que les algues disposées en hauteur. Ces résultats suggèrent que l'apport sédimentaire en phosphore aux algues n'est pas le seul paramètre favorisant la croissance algale sur la vasière, et supposent que d'autres facteurs liés à la proximité des algues au sédiment sont impliqués. Lors des périodes d'émersion notamment, les algues présentes dans les cages en contact avec la vase reposent dans une fine pellicule d'eau de mer résiduelle. Cette propriété leur fournit probablement des conditions environnementales

(i.e. température plus fraîche, moindre déshydratation, accès aux nutriments) plus favorables à leur développement, que dans le cas où elles restent émergées pendant plusieurs heures en hauteur.

À partir du jeu de données acquis depuis 2016 dans le cadre du programme CIMAV P3, la variabilité interannuelle de la contribution sédimentaire dans l'apport d'azote et phosphore à la croissance des ulves a été analysée pour chacune des trois proliférations saisonnières suivies. Cette analyse indique, tout d'abord, que l'apport sédimentaire en nitrates aux algues n'a été perceptible que lorsque les concentrations en nitrates de la colonne d'eau atteignaient de faibles niveaux (comme observé ponctuellement en fin de saison 2017, dans un contexte de flux apporté par les cours d'eau très bas). Ce constat suggère que, sur la vasière du Lédano, le sédiment ne constitue pas la source d'azote majeure responsable des proliférations d'ulves chaque année. En revanche, il peut agir en soutien à la biomasse présente au cours de la saison, au moment où les teneurs de nitrates deviennent limitantes, notamment pendant les années de faibles flux azotés.

Contrairement à l'azote, la contribution sédimentaire à l'apport de phosphore aux algues a été mise en évidence sur toute la période de prolifération en 2017 et 2018, par la comparaison des indices de fixation des algues des deux modalités. D'autre part, les trois années de suivi se sont caractérisées par une augmentation progressive des quotas phosphorés des tissus algaux au cours de la saison pour les deux types de modalité, reflétant très probablement une intensification du relargage sédimentaire en phosphore dans la colonne d'eau de juin à septembre, due à l'évolution saisonnière des paramètres physico-chimiques du milieu (e.g. pH, température, teneur en oxygène) et biologiques (reminéralisation de la biomasse algale). Le fait que les fixations de phosphore aient été plus importantes pour les algues proches du sédiment soutient l'idée que l'apport en phosphore est d'origine sédimentaire. Ces observations indiquent ainsi que le sédiment de la vasière du Lédano représente une source de phosphore pour la colonne d'eau, qui aurait tendance à s'intensifier au cours de la saison. Toutefois, cet apport en phosphore supplémentaire dans la modalité « proximité des algues au sédiment » n'a pas montré d'impact considérable sur les croissances algales au cours des trois années de suivi. Les différences de développement relevées entre les algues en contact avec le sédiment et celles en hauteur étaient faibles, voire nulles. Ces résultats semblent indiquer que la contribution sédimentaire à l'apport de phosphore aux algues, bien qu'avérée, ne constitue pas l'élément clé contrôlant l'intensité des proliférations saisonnières sur la vasière du Lédano. Les expérimentations en conditions contrôlées ont montré qu'un milieu enrichi uniquement en

phosphates n'avait pas engendré une augmentation de la croissance des algues, et que le facteur de contrôle était plutôt l'azote.

À partir des expérimentations sous conditions contrôlées en laboratoire, l'effet positif de la proximité de la vase sur le développement des algues n'a pas été constaté : les différences de croissance algale relevées résultaient des niveaux de concentrations en nutriments du milieu plutôt que de la seule présence de vase. Quelle que soit ces niveaux de concentrations, les flux d'azote et de phosphore en provenance du sédiment ont semblé peu variables et faibles au cours du temps, indiquant que les teneurs en sels nutritifs de la colonne d'eau n'ont pas eu d'incidence sur la capacité du relargage sédimentaire dans la présente étude. En comparaison aux expérimentations des deux années précédentes, ces résultats indiquent que la contribution du sédiment à l'apport de nutriments pour la croissance algale intègre plusieurs paramètres liés à la proximité des algues au sédiment, encore mal identifiés aujourd'hui. La présente étude questionne notamment la capacité des échanges directs entre les algues et le compartiment sédimentaire. Pour des raisons techniques, les algues n'étaient pas en contact direct avec le sédiment, mais environ 20 cm au-dessus. On peut ainsi suggérer que cette configuration a limité les échanges algues-sédiment, si l'on considère des flux sédimentaires de faible intensité, dilués dans le bac d'incubation. Cette hypothèse serait soutenue par les résultats des expérimentations *in situ*, qui montrent des valeurs de fixation en phosphore plus fortes pour les thalles en contact direct avec le sédiment que pour les algues en hauteur. Par ailleurs, l'absence d'impact du sédiment sur la croissance algale via les expérimentations en laboratoire réalisées en conditions d'immersion en continu questionne l'impact des conditions d'émersion (i.e. contact direct des thalles avec le sédiment et reposant dans une fine pellicule d'eau de mer) et du brassage de la colonne d'eau induits par le cycle des marées sur les processus d'absorption en nutriments par les ulves.

Ainsi, les expérimentations *in situ* et en laboratoire de 2018 mettent en évidence que le sédiment joue un rôle dans la croissance des algues sur la vasière du Lédano, en leur fournissant des nutriments nécessaires à leur développement. Néanmoins, dans les conditions testées, l'apport en nutriments par le sédiment ne semble pas significatif pour déclencher, à lui-seul, les proliférations algales observées annuellement sur le site. Cet apport d'origine sédimentaire interviendrait plutôt en soutien à une biomasse existante, en cas de limitation par les faibles flux terrigènes certaines années, en arrière-saison. Ce constat souligne l'importance d'enrichir le jeu de données déjà acquis sur la vasière du Lédano, pour couvrir la variabilité des paramètres biologiques (biomasse et contenu algal en azote et phosphore) et environnementaux

(concentrations en nutriments) de la zone, et *in fine* d'arriver, avec l'aide de l'outil de modélisation, à une caractérisation des sources de nutriments engendrant la prolifération algale. On notera que les conclusions apportées sont spécifiquement associées à la vasière du Lédano, et qu'elles ne peuvent être généralisées à l'ensemble des sites à marées vertes (vaseux ou sableux). La variabilité des caractéristiques physico-chimiques du sédiment étant un facteur clés conditionnant l'intensité des flux sédimentaires. Ces éléments de variabilité sédimentaire doivent être analysés à partir de 2019 dans le cadre du projet IMPRO. Cette étude, et plus particulièrement l'expérimentation en laboratoire, appelle également à une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans les processus d'absorption des nutriments par les ulves, et de l'impact de la variabilité périodique des paramètres environnementaux (i.e. température, émergence, luminosité) lié au cycle des marées. Cet aspect a été proposé par le CEVA pour 2019 dans le programme IMPRO (étude de l'absorption en nutriments des algues en conditions jour / nuit et immersion / émergence).

L'application du modèle 0D sur le jeu de mesures acquis en conditions contrôlées a permis de mettre en évidence le rôle du sédiment dans la fourniture d'un rejet en ammonium et phosphate. Toutefois, les faibles quotas phosphorés (expériences 1, 2 et 3) et/ou l'état physiologique dégradé (expériences 3) des ulves utilisées pour ces expériences a rendu délicat la validation du modèle pour l'ensemble des cas de figure simulés. Dans ce contexte, il a été décidé pour la recherche du flux sédimentaire au moyen du modèle 0D de se focaliser sur la condition dite de référence (i.e. sans enrichissement du milieu en nitrate et/ou phosphate). Les intensités de relargage sédimentaire obtenues pour cette condition s'avèrent relativement proches de celles dégagées dans le cadre du projet CIMAV P3 2017 pour le phosphate. En revanche, l'absorption en ammonium a été revue à la baisse et diminuée d'un facteur 2 à 3 par rapport à l'exercice mené en 2017. L'hypothèse la plus vraisemblable pour expliquer cet écart sur l'ammonium est le besoin par les ulves d'une moindre fourniture en azote étant donné la carence de départ observée systématiquement sur l'élément phosphate (les ulves absorbent peu d'azote et essentiellement du phosphate qui apparaît comme élément limitant pour leur croissance).

Au vu des objectifs du programme IMPRO, étroitement liés à ceux du CIMAV P3, le CEVA n'a pas proposé de reconduire en 2019 le type d'expérimentations mis en place depuis 2016 sur la vasière du Lédano. Le programme IMPRO, mené sur deux années successives (2019-2020), apportera des éléments de réponse concernant l'évolution saisonnière des flux sédimentaires sur la vasière, et l'impact des phases nocturnes et des périodes d'immersion/émergence imposées

par le cycle des marées sur les processus d'absorption en nutriments par les ulves. L'approche expérimentale proposée par le CEVA depuis 2016, et basée sur les ulves comme indicateur des concentrations en nutriments du milieu, reste un outil pertinent pour évaluer la contribution sédimentaire à la biomasse créée. À l'issue du programme IMPRO et en fonction des questions émergentes soulevées par l'étude, cette approche pourra être à nouveau choisie et adaptée pour toute investigation de l'impact direct des flux sédimentaires sur la biologie qui s'avèrerait nécessaire à ce stade.

## 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.
- Auby, I.; Manaud, Fr.; Maurer, D.; Trut, G. (1994) Etude de la prolifération des algues vertes dans le bassin d'Arcachon. In : Etude IFREMER-CEMAGREF-SSASARBAC.Plouzané, France: IFREMER, 146 p.
- Barr, N. G. (2007) Aspects of nitrogen metabolism in the green alga *Ulva*; Developing an indicator of seawater nitrogen loading. University of Auckland.
- Barr, N. G; Kloeppe, A.; Rees, T.A.V; Scherer, C.; Taylor, R.B.; Wenzel, A. (2008) Wave surge increases rates of growth and nutrient uptake in the green seaweed *Ulva pertusa* maintained at low bulk flow velocities. In : *Aquatic Biology*, vol. 3, n° 2, p. 179–186. DOI: 10.3354/ab00079.
- CEVA (2016). Complément d'étude sur les processus biologiques hydrologiques et sédimentologiques impliqués dans les blooms macro-algaux. Rapport du projet 3 du programme CIMAV.
- CEVA (2017). Complément d'étude sur les processus biologiques hydrologiques et sédimentologiques impliqués dans les blooms macro-algaux. Rapport du projet 3 du programme CIMAV.
- Clavero, V.; Izquierdo, J. J.; Fernandez, J. A.; Niell, F. X. (2000) Seasonal fluxes of phosphate and ammonium across the sediment-water interface in a shallow small estuary (Palmones River, southern Spain). In : *Marine Ecology Progress Series*, vol. 198.
- Cowan, J.L.W; Boynton, W. R. (1996) Sediment-water oxygen and nutrient exchanges along the longitudinal axis of Chesapeake Bay: Seasonal patterns, controlling factors and ecological significance. In : *Estuaries*, vol. 19, p. 562–580. DOI: 10.2307/1352518.
- Flores-Molina, M. R.; Thomas, D.; Lovazzano, C.; Núñez, A.; Zapata, J.; Kumar, M. (2014) Desiccation stress in intertidal seaweeds. Effects on morphology, antioxidant responses and photosynthetic performance. In : *Aquatic Botany*, vol. 113, p. 90–99. DOI: 10.1016/j.aquabot.2013.11.004.
- Heber, U.; Bilger, W.; Türk, R.; Lange, O. L. (2010) Photoprotection of Reaction Centres in Photosynthetic Organisms. Mechanisms of Thermal Energy Dissipation in Desiccated Thalli of the Lichen *Lobaria pulmonaria*. In : *The New Phytologist*, vol. 185, n° 2, p. 459–470.
- Hou, D.; He, J.; Lü, C.; Sun, Y; Zhang, F.; Otgonbayar, K. (2013) Effects of Environmental Factors on Nutrients Release at Sediment-Water Interface and Assessment of Trophic Status for a Typical Shallow Lake, Northwest China. In : *The Scientific World Journal*, vol. 2013, p. 16. DOI: 10.1155/2013/716342.
- Hoffmann W.A., Poorter H. (2002) Avoiding Bias in Calculations of Relative Growth Rate. *Annals of Botany* 90:37–42
- Ji, Y.; Tanaka, J. (2002) Effect of desiccation on the photosynthesis of seaweeds from the intertidal zone in Honshu, Japan. In : *Phycological Research*, vol. 50, n° 2, p. 145–153. DOI: 10.1046/j.1440-1835.2002.00268.x.

- 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*, vol. 38, n° 1, p. 45–56.
- Magalhães, C. M.; Bordalo, A. A.; Wiebe, W. J. (2002) Temporal and spatial patterns of intertidal sediment-water nutrient and oxygen fluxes in the Douro River estuary, Portugal. In : *Marine Ecology Progress Series*, vol. 233, p. 55–71.
- McGlathery, K. J.; Krause-Jensen, D.; Rysgaard, S.; Christensen, P. B. (1997) Patterns of ammonium uptake within dense mats of the filamentous macroalga *Chaetomorpha linum*. In : *Aquatic Botany*, vol. 59, n° 1, p. 99–115. DOI: 10.1016/S0304-3770(97)00026-0.
- Pan, G.; Gao, S.; Lin, A.; Niu, J.; Wang, G.; Shen, S. (2011) PSI-Driven Cyclic Electron Flow Allows Intertidal Macro-Algae *Ulva* sp. (Chlorophyta) to Survive in Desiccated Conditions. In : *Plant and Cell Physiology*, vol. 52, n° 5, p. 885–893. DOI: 10.1093/pcp/pcr038.
- Petterson, K. (1998) Mechanisms for internal loading of phosphorus in lakes. In : *Hydrobiologia*, 373–374, p. 21–25.
- Perrot T., Rossi N., Menesguen A., Dumas F. (2014). Modelling green macroalgal blooms on the coasts of Brittany, France to enhance water quality management. *Journal of Marine Systems*, 132, 38-53. Publisher's official version : <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2013.12.010>
- Thybo-Christesen, M.; Rasmussen, M. B.; Blackburn, T. H. (1993) Nutrient fluxes and growth of *Cladophora sericea* in a shallow Danish bay. In : *Marine Ecology Progress Series*, vol. 100, p. 273.
- Trimmer, M.; Nedwell, D. B.; Sivyer, D. B.; Malcolm, S. J. (1998) Nitrogen fluxes through the lower estuary of the river Great Ouse, England: the role of the bottom sediments. In : *Marine Ecology Progress Series*, vol. 163, p. 109–124. DOI: 10.3354/meps163109.
- Thomas, T. E.; Turpin, D. H. (1980) Desiccation enhanced nutrient uptake rates in the intertidal alga *Fucus distichus*. In : *Bot. Mar.*, vol. 23, p. 479–481.
- Thomas, T. E.; Turpin, D. H.; Harrison, P. J. (1987) Desiccation enhanced nitrogen uptake rates in intertidal seaweeds. In : *Marine Biology*, vol. 94, n° 2, p. 293–298. DOI: 10.1007/BF00392943.
- Tyler, A.C; McGlathery, K.J; Anderson, I.C (2001) Macroalgae Mediation of Dissolved Organic Nitrogen Fluxes in a Temperate Coastal Lagoon. In : *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, vol. 53, n° 2, p. 155–168. DOI: 10.1006/ecss.2001.0801.
- Zilius (2011) Oxygen and nutrient exchange at the sediment-water interface in the eutrophic boreal lagoon at the Baltic Sea, Klaipėda University.

## Annexe

ANNEXE 1 - Mise en place du positionnement des sondes HOBO dans les cages pour l'expérimentation <i>in situ</i> .....	103
ANNEXE 2 – Protocole des manipulations terrain .....	106
ANNEXE 3 – Protocoles pour le conditionnement des échantillons au laboratoire du CEVA .....	108
ANNEXE 4 - Développement d'une procédure d'essorage des algues. ....	110
ANNEXE 5 – Expérimentation <i>in situ</i> - Données de biomasses et taux de croissance des ulves au temps T7. ....	111
ANNEXE 6 – Expérimentation <i>in situ</i> – Concentrations en sels nutritifs de l'eau de mer estimées au début de chaque campagne de terrain. ....	112
ANNEXE 7 – Evolution temporelle de la température et de l'intensité lumineuse mesurées toutes les heures par les sondes présentes dans les cages H (en orange) et B (en vert) au cours des 6 campagnes. Les périodes d'immersion des cages sont illustrées par un fond bleu. ....	113
ANNEXE 8 – Expérimentation <i>in situ</i> – Données de quotas azotés et phosphorés des tissus algaux au temps T0 et T+7jours pour chacune des modalités testées et pour les 6 campagnes.....	120
ANNEXE 9 – Expérimentation en laboratoire - Suivi des conditions d'incubation (température, lumière, pH, salinité, teneur en dioxygène) au cours des trois expériences de 7 jours.....	122
ANNEXE 10 – Expérimentation en laboratoire - Données de biomasses et taux de croissance des ulves pour chacune des trois expériences.....	124
ANNEXE 11 – Expérimentation en laboratoire – Concentrations en sels nutritifs de l'eau de mer pour chacune des modalités testées.....	127
ANNEXE 12– Expérimentation en laboratoire – Données de quotas azotés et phosphorés des tissus algaux au temps T0 et T+7jours pour chacune des modalités testées au cours des 3 expériences. ....	134
ANNEXE 13 – Expérimentation en laboratoire – Résultats des analyses de vase (teneurs en azote total et en phosphore, humidité, matières minérales) aux temps T0 et T+21jours. ....	137

## **ANNEXE 1 - Mise en place du positionnement des sondes HOBO dans les cages pour l'expérimentation *in situ***

En 2017, le suivi de la température et de la luminosité sur la vasière du Lédano avait été réalisé par des sondes HOBO placées à l'intérieur et à l'extérieur des cages. Ce suivi avait mis en évidence des périodes inattendues de faibles intensités lumineuses dans les cages, pouvant être expliquées par :

- Un effet d'ombrage engendré par les cages en hauteur en fonction de la position du soleil.
- Une mauvaise orientation du capteur, induite par le mouvement libre de la sonde HOBO dans les cages.

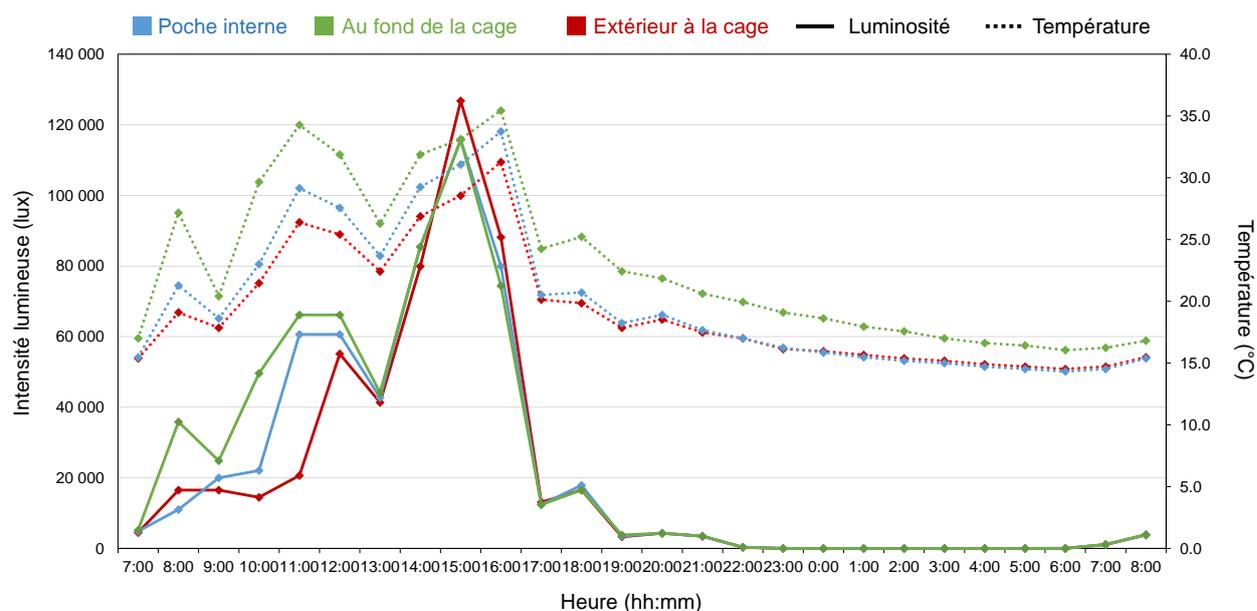
En plus du changement de disposition des cages pour pallier aux éventuels effets d'ombrage (Figure 2), il a été choisi en 2018 de fixer les sondes HOBO à l'horizontal dans les cages. Une poche (petite surface de maille doublée) a été cousue à l'intérieur et sur le dessus des cages dans le but d'y insérer les sondes HOBO. Afin de valider le dispositif, un test a été réalisé au préalable au CEVA.

Une des cages du dispositif expérimental a été installée à l'extérieur pendant 24 h. Au cours de cette période, la température et la luminosité ont été mesurées par trois sondes HOBO posées horizontalement (1) dans la poche interne conçue sur le dessus de la cage, (2) sur le fond de la cage (correspondant à l'endroit où sont déposées ulves pendant l'expérimentation), (3) à l'extérieur et sur le dessus de la cage. Les données d'intensité lumineuse et de température ont été collectées toutes les heures du 31/05/18 à 7h au 01/06/18 à 8h, et sont présentées sur le graphique ci-dessous (Figure A1).

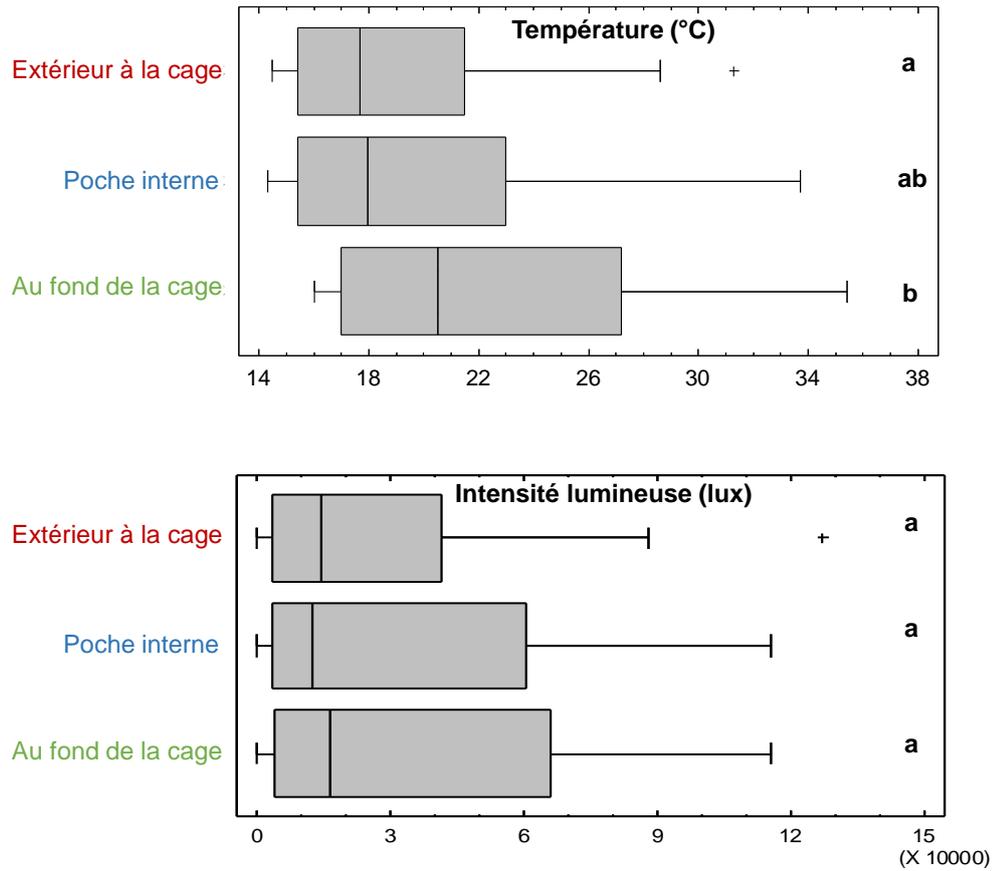
Ce graphique montre tout d'abord que, quelle que soit la position de la sonde, les résultats de températures et de luminosités suivent la même tendance au cours du temps. Les trois séries de mesures ont fait l'objet d'une procédure de comparaison multiple basée sur le test de Différence Significative Minimale (*LSD*) de *Fisher* pour déterminer les différences significatives entre les moyennes de groupes de données (Figure A2). Les moyennes statistiquement identiques à un niveau de confiance de 95 % ont été regroupées et signalées par une même lettre alphabétique sur les graphiques.

L'analyse statistique des trois jeux de données montre que les données de de luminosité mesurées par les trois sondes sont significativement identiques à un niveau de confiance de

95%. Concernant les données de températures, les valeurs acquises par la sonde placée à l'intérieure de la poche ne sont pas significativement différentes de celles des deux autres sondes, tandis que les jeux de données acquis à l'extérieur de la cage et au fond de la cage sont statistiquement différents entre eux (niveau de confiance de 95 %). Le graphique A1 montre en effet que les valeurs de températures (et d'intensité lumineuse) mesurées dans la poche interne sont encadrées par les valeurs acquises par les deux autres sondes. Par ailleurs, les valeurs de températures sont, de manière générale, plus faibles à l'extérieur de la cage qu'à l'intérieur, probablement dû à l'effet « protection » que fournit la cage en atténuant des facteurs environnementaux tels que le vent. Ces observations suggèrent que fixer une sonde dans une poche interne au-dessus de la cage permettra d'acquérir des données de température et de luminosité représentatives des conditions auxquelles seront soumises les ulves dans la cage. Le dispositif est donc validé.



**Figure A1. Suivi des intensités lumineuses et des températures mesurées par la sonde placée dans la poche interne au-dessus de la cage (bleu), par la sonde posée sur le fond de la cage (vert) et par celle disposée à l'extérieur de la cage (rouge).**



**Figure A2. Box-plots des données de température (en haut) et d'intensité lumineuse (en bas) mesurées par les trois sondes testées. Chaque boîte intègre 26 mesures (n=26). Les lettres en gras indiquent les groupes dont les moyennes sont statistiquement identiques à un niveau de confiance de 95 % (Test LSD).**

## **ANNEXE 2 – Protocole des manipulations terrain**

Les protocoles sont tirés des documents préalablement rédigé dans le rapport CIMAV P3 de 2017. Seul le protocole de prélèvement d'eau de mer à partir de bouteilles fixées aux cages a été mis en place en 2018.

- **Équipement de terrain et de sécurité indispensable**

- Waders ou bottes avec pantalon ciré
- Équipement de sécurité : Téléphone, et détecteur de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S), 2 planches bodyboard
- Petit matériel : fil de pêche, ciseau, briquet, brosse, bassine, bidon d'eau de mer

- **Prélèvement des ulves dans le milieu**

- Matériel : Sac de plongée, appareil photo, glacière, 2 planches bodyboard
- Prendre des photos de la zone de prélèvement proche du dispositif.
- Remplir d'ulves un sac de plongée jusqu'à la moitié et déposer celui-ci dans la glacière.

- **Prélèvement de l'eau contenue dans les bouteilles fixées sur les tiges**

- Matériel : 4 flacons 250 mL préalablement identifiés et lavés avec une solution de 10% d'acide chlorhydrique puis trois fois avec de l'eau distillée, gants (non poudrés), 2 planches bodyboard, une glacière
- Prélever quelques millilitres d'eau de mer dans un flacon de 250 mL à partir d'une des bouteilles de prélèvement. Rincer le flacon et jeter l'eau.
- Prélever le reste du volume contenu dans la bouteille de prélèvement. Faire de même pour les trois autres bouteilles.
- Stocker les quatre échantillons dans la glacière
- Récupérer les bouteilles et les laver soigneusement en laboratoire avant la prochaine campagne.

- **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.

- **Dépôt / prélèvement des ulves dans les cages**

- Matériel : 2 planches bodyboard, une glacière, 8 sacs de congélation préalablement identifiés, 4 sondes HOBOT initialisées (2 par modalité)
- Pour le dépôt des algues (T<sub>0</sub>), insérer chaque nouveau lot d'ulves (lavés et humidifiés en amont au laboratoire) et les 4 sondes HOBOT dans leur cage respective. Avant de partir, vérifier si les portes des cages sont bien refermées et enlever toute algue présente sur le dispositif.
- Pour le prélèvement des algues (T+7jours), prélever chaque lot d'ulves dans un sac de congélation correspondant. Les mettre dans les sacs de congélation correspondants. Prélever les 4 sondes HOBOT et ôter les cages pour les laver soigneusement au CEVA.

- Dans les deux cas, les sacs de congélation sont déposés dans une glacière pour réaliser le trajet du terrain jusqu'au CEVA.

- **Prélèvement de vase pour les expériences en conditions contrôlées**

- Matériel : 8 bacs de 46 L préalablement désinfectés et rincés à l'eau douce, une caisse robuste de 60 L, 1 boîte de prélèvement en inox, une plaquette blanche, un couteau, une règle, des gants, 2 planches bodyboard.

- Mettre des gants pour éviter toute coupure induite par la boîte, le couteau et les coquillages présents dans la vase.

- En appui sur les planches bodyboard, enlever la vase à côté de la zone à prélever sur une profondeur de 5 cm minimum à l'aide du couteau et de la règle.

- Insérer la boîte en inox à 5 cm de profondeur et la faire glisser parallèlement pour prélever une couche de sédiment.

- Insérer délicatement cette couche sur le fond d'un des bacs de 46 L en poussant le sédiment avec la plaquette de manière à ne pas détériorer la couche et la garder intacte.

- Réaliser plusieurs fois l'opération de manière à remplir le fond des 8 bacs.

- Chaque bac rempli de vase est ensuite inséré dans une caisse robuste, qui est trainée jusqu'au véhicule (le poids des bacs étant conséquent).

## **ANNEXE 3 – Protocoles pour le conditionnement des échantillons au laboratoire du CEVA**

Les protocoles sont tirés des documents préalablement rédigé dans le rapport CIMAV P3 de 2017.

### **• Filtration des échantillons d'eau de mer**

- Matériel: des gants (sans poudre pour éviter toute contamination), des filtres polycarbonate 0,22 µm, une unité de filtration préalablement nettoyée à l'acide 10 % et rincée à l'eau distillée et une pompe
- Rincer l'unité de filtration à l'eau distillée.
- Installer 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. Jeter le filtrat.
- Filtrer le reste de l'échantillon.
- Rincer le flacon dans lequel sera stocké l'échantillon avec une partie du filtrat obtenu.
- Verser le reste du filtrat dans ce flacon.
- Étiqueter le flacon d'un numéro échantillon délivré par la base de données du CEVA où sont enregistrés au préalable tous les échantillons à analyser.
- Vérifier que le volume d'échantillon final atteint au minimum 100 mL pour l'analyse.
- Stocker et congeler les échantillons dans le bâtiment pilote en attendant l'envoi au laboratoire agréé.

### **• Essorage des algues**

- Répartir les algues lavées et triées dans des charlottes (soit 50 g par charlotte environ).
- Fermer la charlotte avec un élastique.
- Mouiller les charlottes avec de l'eau de mer avant de les répartir dans le fond de la centrifugeuse.
- Essorer 1 minute à 330 tours/minute puis secouer chaque charlotte pour les décompacter.
- Répartir les charlottes dans le fond de la centrifugeuse et essorer 1 minute.
- Procéder de la même manière une troisième fois pour atteindre un temps de 3 minutes d'essorage au total.

### **• Conditionnement des échantillons d'algues pour analyse des quotas azotés et phosphorés**

- Matériel : des sacs de congélation identifiés (quantités en fonction du nombre d'échantillon), 3 bassines remplies d'eau de mer, une passoire, une balance, une centrifugeuse, des charlottes et élastiques.
- Trier et nettoyer (vase/hydrobies) les ulves en utilisant successivement les 3 bassines remplies d'eau de mer jusqu'à atteindre la quantité d'échantillon nécessaire.
- Essorer les algues, en suivant le protocole ci-dessus.

- Prélever 100 g d'algues dans les charlottes, rincer rapidement avec de l'eau distillée (pas plus de 15 secondes) et les presser à la main avant de les mettre dans les sacs de congélation correspondants. Réaliser la manipulation pour l'ensemble des échantillons.
  - Congeler les échantillons en attendant leur lyophilisation.
  - Peser chaque échantillon après lyophilisation avant envoi au laboratoire agréé et noter les poids mesurés.
- **Conditionnement des échantillons de vase**
    - Matériel : flacons préalablement nettoyés à l'acide chlorhydrique 10 % et rincés trois fois à l'eau distillée, des gants, une spatule, une étuve, du papier aluminium.
    - 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 aluminium et mettre à l'étuve plus de 24 h à 50°C.
    - Après séchage, conserver chaque échantillon dans le flacon correspondant et préalablement identifié.

#### **ANNEXE 4 - Développement d'une procédure d'essorage des algues.**

Une procédure d'essorage du matériel algal, basée sur les études antérieures du CEVA, a été mise en place afin d'obtenir des poids essorés normalisés et une optimisation du temps de manipulation. Afin d'éviter des pertes de matière dans la centrifugeuse, il a été choisi de contenir les lots d'algues dans des charlottes, perméables à l'eau. Il a été fixé qu'une masse maximale de 50 g (poids frais essoré) pouvait être insérée dans ces charlottes pour permettre l'évacuation de l'eau de manière uniforme au sein du lot. Un temps d'essorage de 3 minutes à 330 tours/min a été sélectionné, avec une phase de « des-agglomération des algues » entre chaque minute d'essorage (soit deux manipulations pour 3 minutes d'essorage). Les algues se retrouvent en effet compactées par la force centrifuge au passage dans la centrifugeuse, ce qui piège une partie de l'eau au centre du lot dans la charlotte, et empêche un essorage efficace.

Ce protocole a été testé sur les ulves préliminairement aux expérimentations. Le matériel biologique (~50 g) a été prélevé sur le terrain début juin puis nettoyé en laboratoire, avant d'être introduit dans une charlotte fermée par un élastique. La charlotte a ensuite été plongée dans une bassine d'eau de mer afin d'humidifier uniformément les algues. Le lot d'algues a été essoré en suivant le protocole d'essorage décrit précédemment (i.e. 3 minutes d'essorage à 330 tours/min, avec des-agglomération des algues entre chaque minute), puis le poids des algues essorées a été mesuré. Cette manipulation a été répétée 10 fois. Le suivi des biomasses algales essorées au cours des 10 répétitions montre que le protocole d'essorage utilisé permet d'obtenir un poids d'algue essoré stable et reproductible (poids atteignant en moyenne  $49,7 \pm 0,3$  g, pour 10 répétitions). Le protocole d'essorage est donc validé pour la suite des expérimentations.

**ANNEXE 5 – Expérimentation *in situ* - Données de biomasses et taux de croissance des ulves au temps T7.**

	Code lot	Poids frais (g)	Taux de croissance (%/jour)
<b>Campagne 1 Cages B</b>	1B	193.7	9.44
	2B	185.9	8.86
	3B	180.5	8.44
	4B	178.9	8.31
<b>Campagne 1 Cages H</b>	1H	166.7	7.30
	2H	164.8	7.14
	3H	161.5	6.85
	4H	171.5	7.71
<b>Campagne 2 Cages B</b>	1B	141	4.91
	2B	137.4	4.54
	3B	144.4	5.25
	4B	152.5	6.03
<b>Campagne 2 Cages H</b>	1H	Dégradation	Dégradation
	2H	Dégradation	Dégradation
	3H	149.3	5.73
	4H	125.7	3.27
<b>Campagne 3 Cages B</b>	1B	182.7	8.61
	2B	180.3	8.42
	3B	189.3	9.12
	4B	187.8	9.00
<b>Campagne 3 Cages H</b>	1H	179.8	8.38
	2H	172.4	7.78
	3H	185.6	8.83
	4H	193.3	9.42

	Code lot	Poids frais (g)	Taux de croissance (%/jour)
<b>Campagne 4 Cages B</b>	1B	141.78	4.99
	2B	143.11	5.12
	3B	146.09	5.42
	4B	144.13	5.22
<b>Campagne 4 Cages H</b>	1H	145.34	5.34
	2H	137.56	4.56
	3H	155.17	6.28
	4H	149.34	5.73
<b>Campagne 5 Cages B</b>	1B	124.2	3.10
	2B	116.2	2.14
	3B	124.2	3.10
	4B	126.2	3.32
<b>Campagne 5 Cages H</b>	1H	137.3	4.53
	2H	145.5	5.36
	3H	124	3.07
	4H	136.2	4.41
<b>Campagne 6 Cages B</b>	1B	142.96	5.11
	2B	141.84	4.99
	3B	139.67	4.77
	4B	157.81	6.52
<b>Campagne 6 Cages H</b>	1H	107.19	0.99
	2H	128.59	3.59
	3H	123.12	2.97
	4H	138.71	4.67

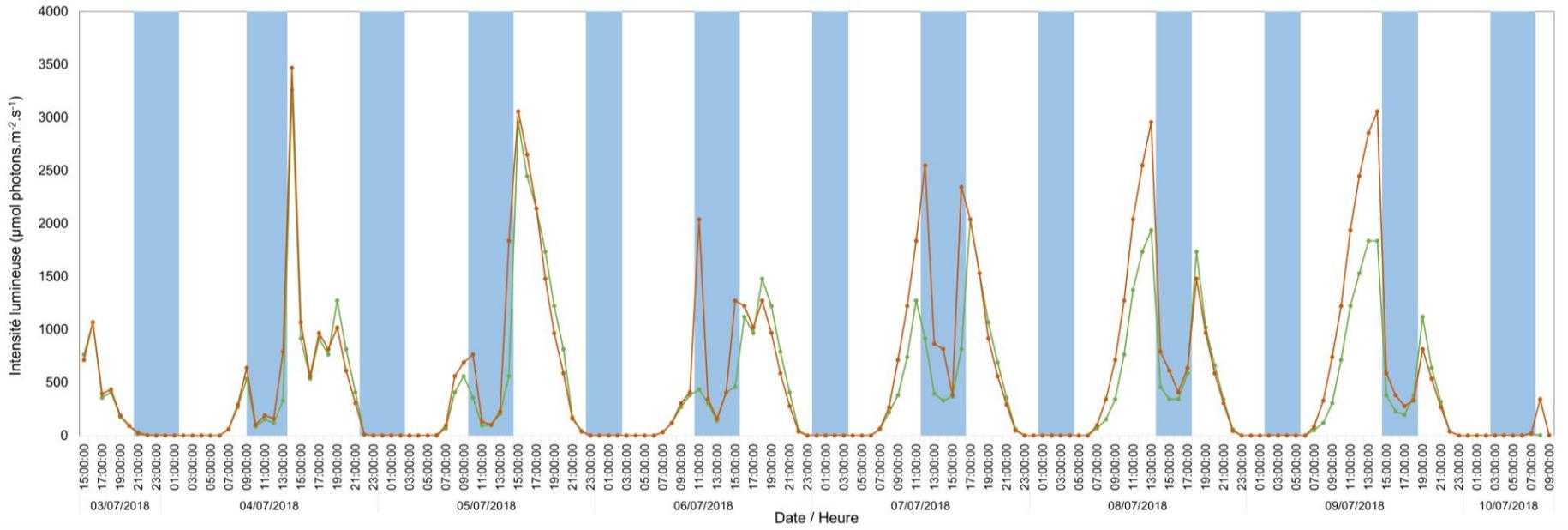
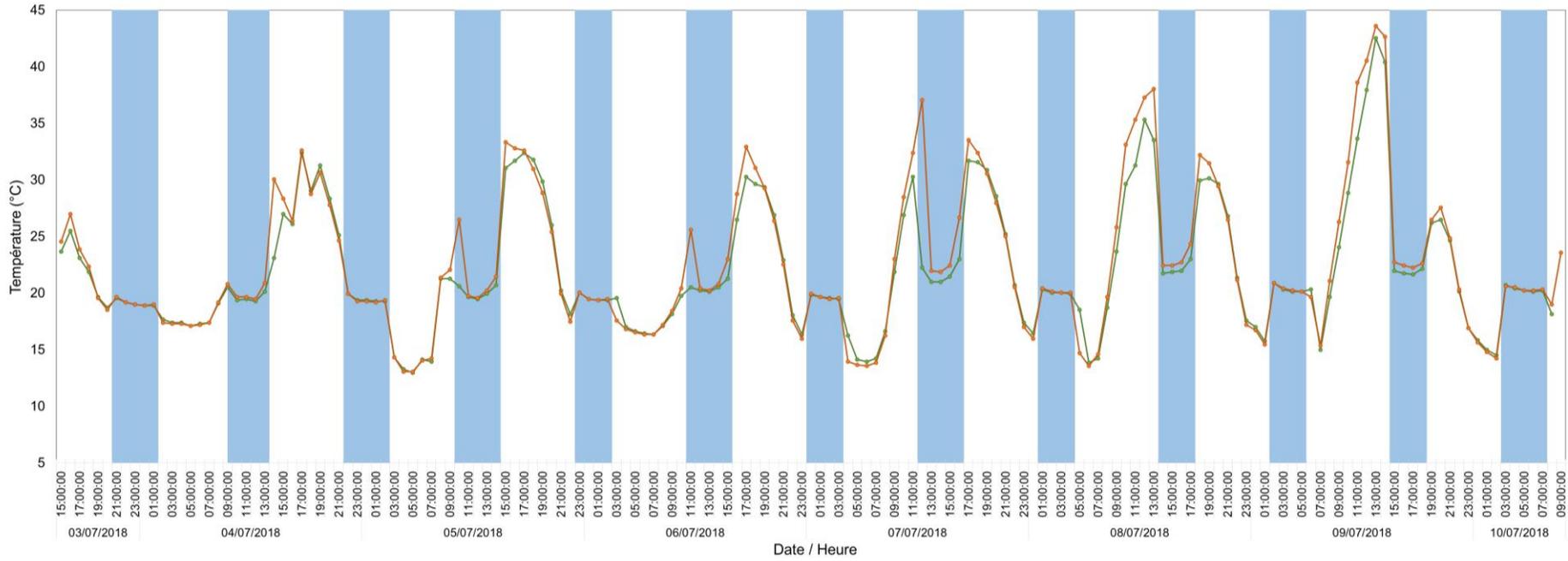
**ANNEXE 6 – Expérimentation *in situ* – Concentrations en sels nutritifs de l'eau de mer estimées au début de chaque campagne de terrain.**

Campagne	Date prélèvement	Heure prélèvement	Réplicat	Ammonium ( $\mu\text{mol/l}$ )	Nitrates ( $\mu\text{mol/l}$ )	Orthophosphates ( $\mu\text{mol/l}$ )
1	03/07/2018	8h00	1	1.10	28.0	0.48
			2	1.20	24.0	0.32
			3	0.46	32.0	0.50
			4	0.87	21.0	0.29
2	11/07/2018	8h45	1	0.69	9.5	0.37
			2	0.71	10.0	0.19
			3	0.77	8.9	0.13
			4	1.20	11.0	0.14
3	02/08/2018	7h30	1	2.60	12.0	1.30
			2	1.70	12.0	0.54
			3	2.40	12.0	1.00
			4	1.70	13.0	2.10
4	30/08/2018	7h30	1	1.80	10.0	0.96
			2	1.70	11.0	0.77
			3	1.70	12.0	0.80
			4	1.50	11.0	0.65
5	07/09/2018	8h00	1	0.66	11.0	0.56
			2	<0.1	10.0	0.57
			3	0.14	10.0	0.58
			4	<0.1	9.6	0.51
6	14/09/2018	8h00	1	1.70	7.2	0.71
			2	3.80	12.0	0.64
			3	1.90	5.8	0.58
			4	1.60	4.9	0.46

**ANNEXE 7 – Evolution temporelle de la température et de l'intensité lumineuse mesurées toutes les heures par les sondes présentes dans les cages H (en orange) et B (en vert) au cours des 6 campagnes. Les périodes d'immersion des cages sont illustrées par un fond bleu.**

# CAMPAGNE 1

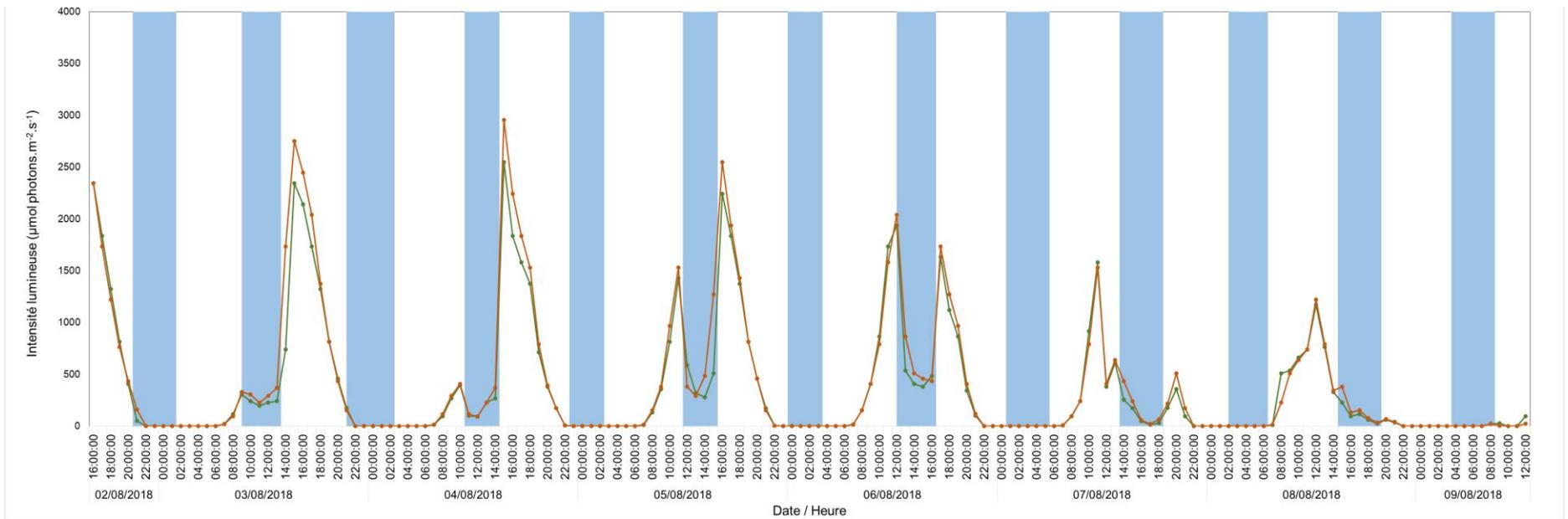
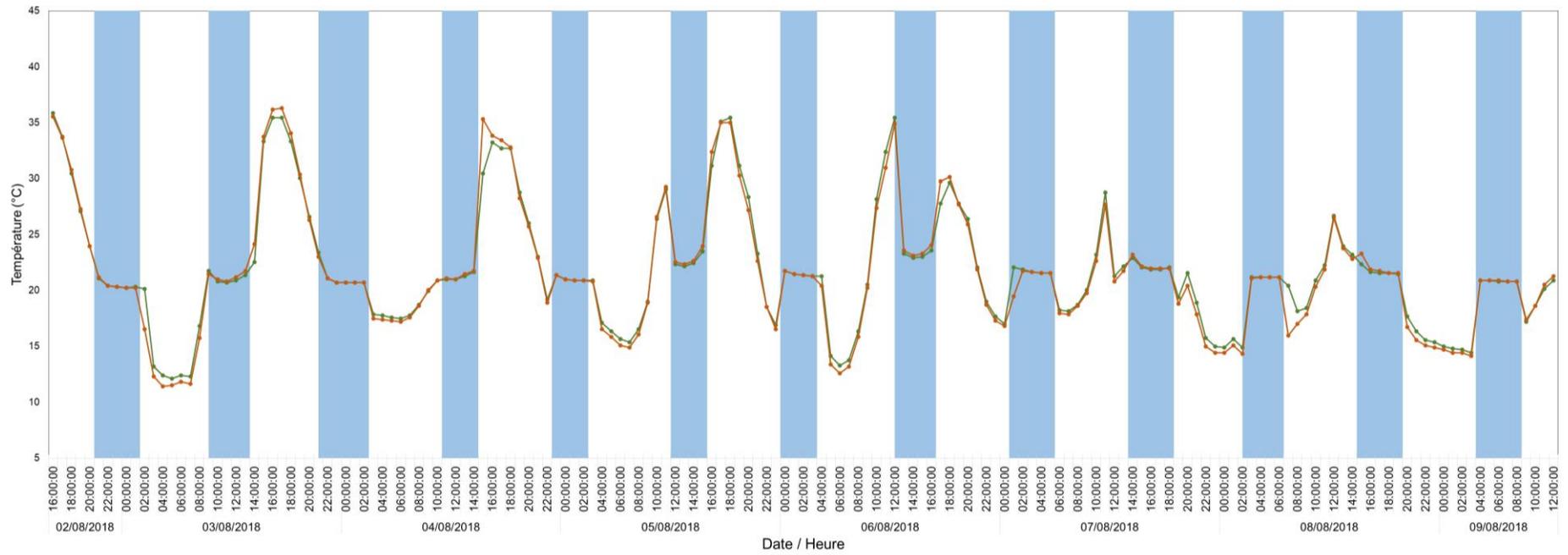
■ Immersion des cages   ■ Cages H   ■ Cages B





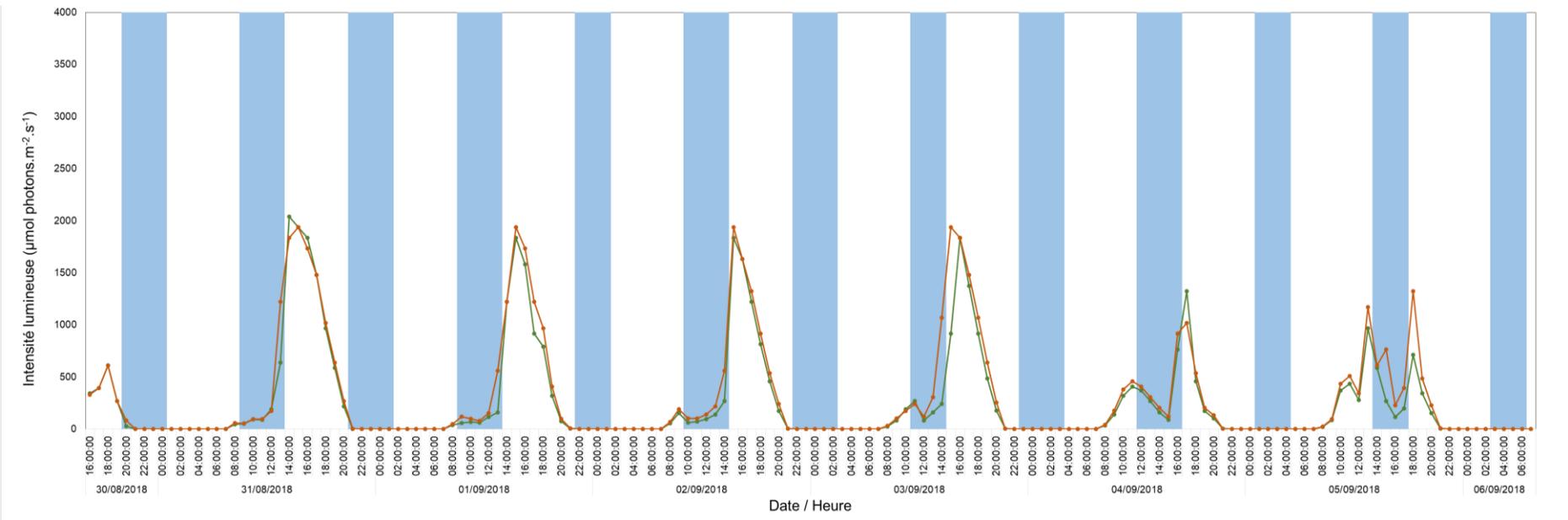
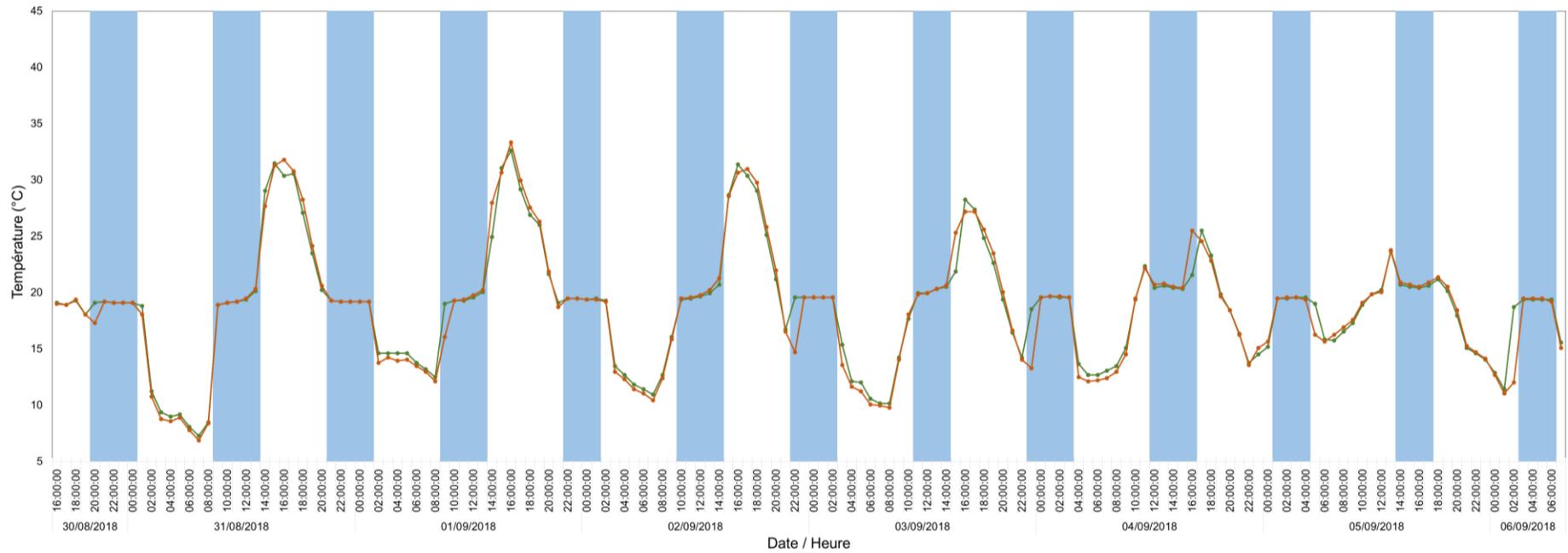
### CAMPAGNE 3

■ Immersion des cages   ■ Cages H   ■ Cages B



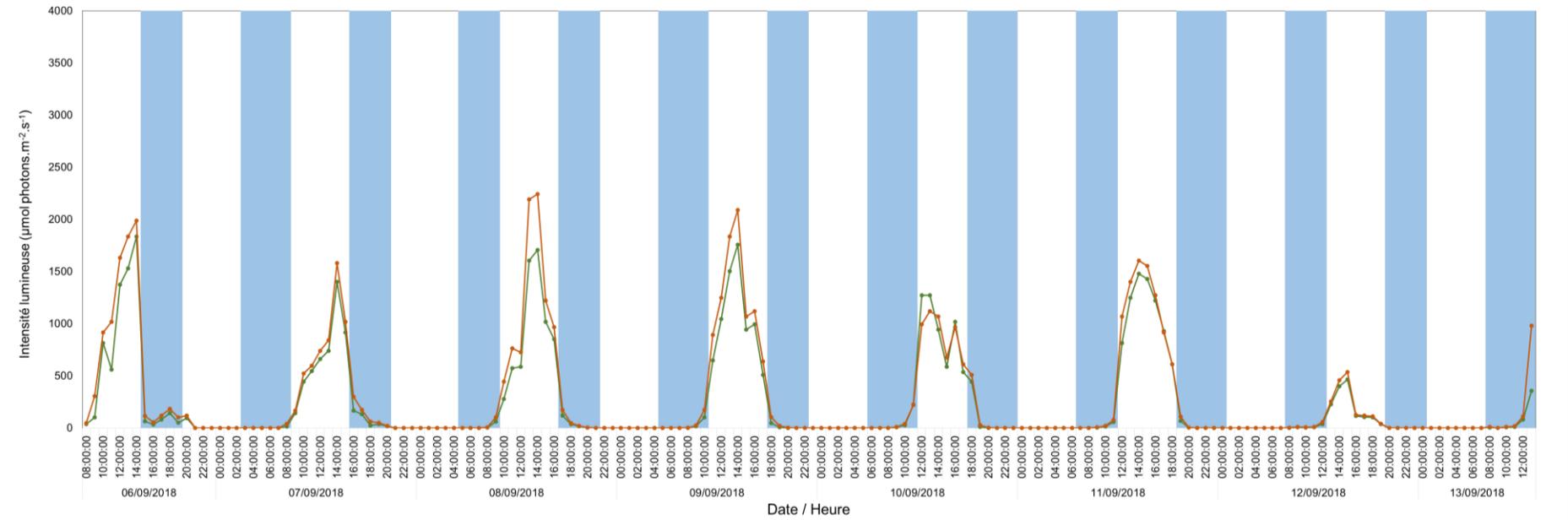
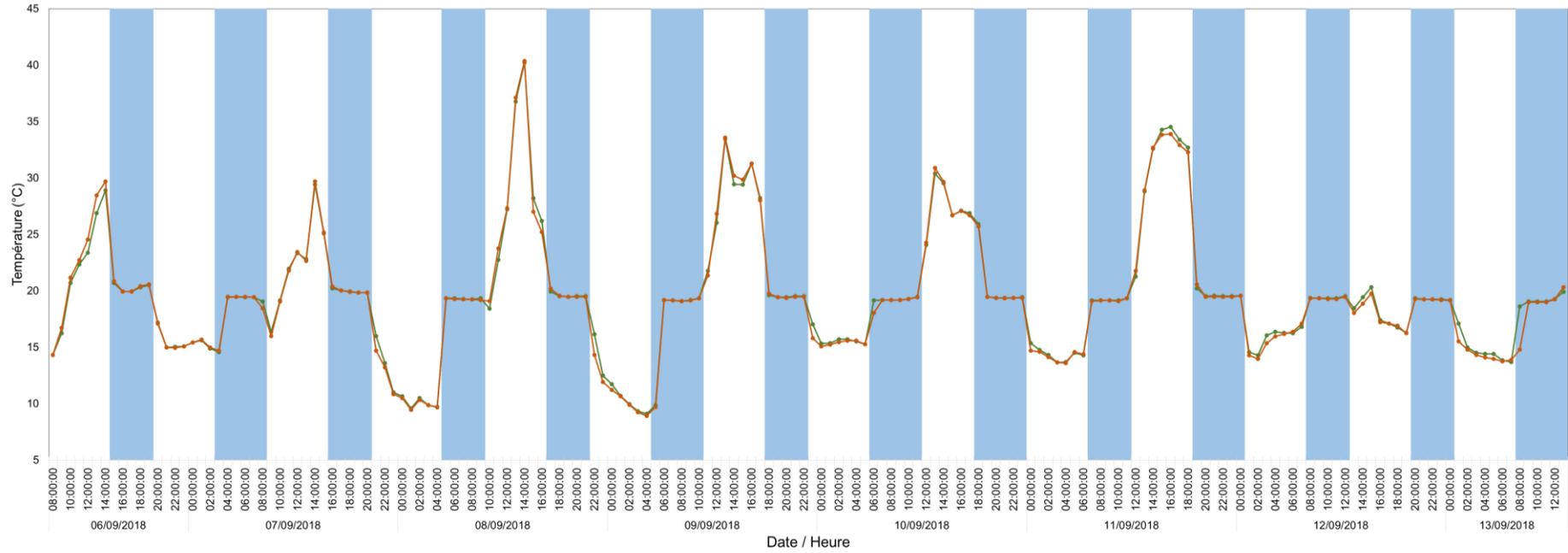
# CAMPAGNE 4

■ Immersion des cages   ■ Cages H   ■ Cages B



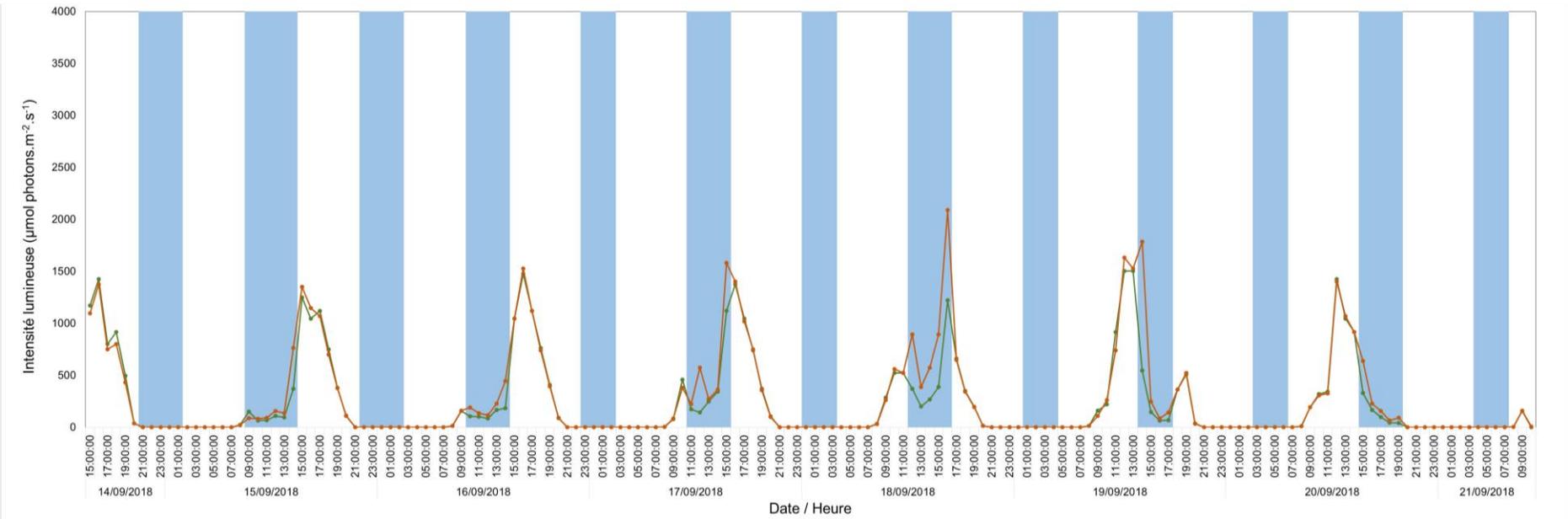
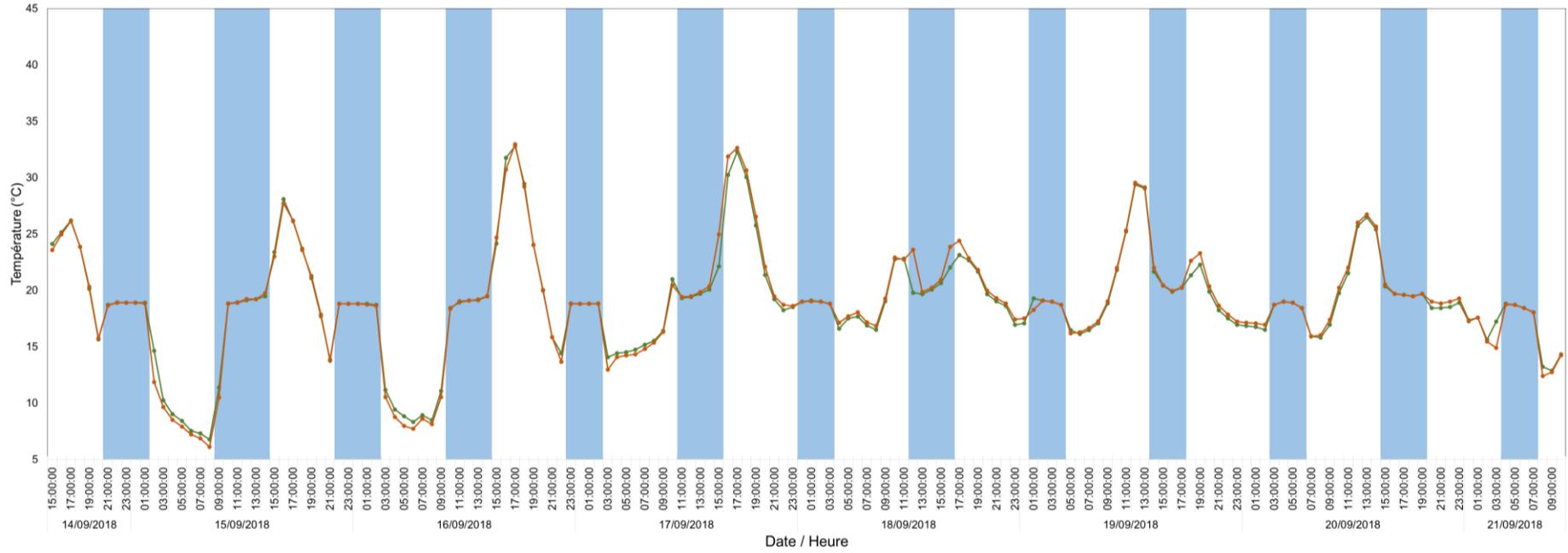
# CAMPAGNE 5

■ Immersion des cages   ■ Cages H   ■ Cages B



# CAMPAGNE 6

■ Immersion des cages   ■ Cages H   ■ Cages B



**ANNEXE 8 – Expérimentation *in situ* – Données de quotas azotés et phosphorés des tissus algaux au temps T0 et T+7jours pour chacune des modalités testées et pour les 6 campagnes.**

Campagne	Temps (jours)	Date prélèvement	Modalité	Réplicat	Humidité (en %)	Azote total brut (g/100g)	Azote fixé en 7 jours (en g N dans 100g)	Phosphore brut (g/100g)	Phosphore fixé en 7 jours (en g N dans 100g)
1	0	03/07/2018	Milieu	1	27.6	2.3		0.085	
			Milieu	2	13.7	2.8		0.109	
			Milieu	3	15.3	2.7		0.100	
			Milieu	4	14.3	2.8		0.108	
	7	10/07/2018	B	1	62.4	1.0	0.5160	0.040	0.0220
			B	2	62.4	0.9	0.3585	0.035	0.0130
			B	3	59.1	1.1	0.3981	0.043	0.0180
			B	4	13.2	2.5	0.3947	0.090	0.0130
			H	1	79.1	0.5	0.2113	0.021	0.0100
			H	2	54.0	1.3	0.3578	0.037	0.0070
			H	3	61.0	1.1	0.3251	0.034	0.0080
			H	4	45.6	1.5	0.4206	0.046	0.0090
2	0	10/07/2018	Milieu	1	13.9	2.3		0.110	
			Milieu	2	68.1	0.7		0.038	
			Milieu	3	77.4	0.5		0.026	
			Milieu	4	80.7	0.4		0.021	
	7	17/07/2018	B	1	18.4	2.2	0.3609	0.115	0.0186
			B	2	68.7	0.8	0.1112	0.036	0.0040
			B	3	14.8	2.3	0.2565	0.117	0.0133
			B	4	14.0	2.2	0.2813	0.103	0.0124
			H	3	58.3	1.0	0.3023	0.038	0.0084
			H	4	13.6	2.0	0.1581	0.073	0.0015
3	0	02/08/2018	Milieu	1	14.7	2.4		0.176	
			Milieu	2	14.7	2.2		0.162	
			Milieu	3	13.4	2.2		0.162	
			Milieu	4	15.4	2.1		0.150	
	7	09/08/2018	B	1	9.5	2.7	0.3558	0.201	0.0273
			B	2	11.5	2.5	0.3783	0.188	0.0297
			B	3	9.8	2.3	0.3711	0.147	0.0214
			B	4	9.8	2.4	0.4119	0.167	0.0273
			H	1	13.6	2.4	0.4420	0.129	0.0181
			H	2	12.7	2.3	0.4045	0.129	0.0170
			H	3	13.4	2.3	0.4574	0.132	0.0208
			H	4	14.1	2.4	0.4339	0.135	0.0188

Campagne	Temps (jours)	Date prélèvement	Modalité	Réplicat	Humidité (en %)	Azote total brut (g/100g)	Azote fixé en 7 jours (en g N dans 100g)	Phosphore brut (g/100g)	Phosphore fixé en 7 jours (en g N dans 100g)
4	0	30/08/2018	Milieu	1	14.3	2.7		0.188	
			Milieu	2	14.6	2.7		0.187	
			Milieu	3	14.4	2.7		0.190	
			Milieu	4	14.7	2.6		0.175	
	7	06/09/2018	B	1	13.8	2.6	0.1985	0.184	0.0147
			B	2	13.9	2.5	0.1832	0.174	0.0136
			B	3	13.0	2.4	0.1577	0.174	0.0119
			B	4	13.3	2.4	0.1564	0.181	0.0139
			H	1	12.6	2.7	0.2551	0.148	0.0074
			H	2	12.2	2.7	0.2287	0.160	0.0094
			H	3	12.9	2.6	0.2448	0.153	0.0104
			H	4	15.0	2.7	0.2585	0.159	0.0105
5	0	06/09/2018	Milieu	1	13.6	2.5		0.184	
			Milieu	2	13.1	2.3		0.168	
			Milieu	3	12.1	2.5		0.184	
			Milieu	4	12.5	2.4		0.171	
	7	13/09/2018	B	1	13.1	2.6	0.1191	0.198	0.0109
			B	2	12.9	2.7	0.1264	0.195	0.0093
			B	3	13.1	2.6	0.1442	0.200	0.0127
			B	4	13.7	2.9	0.1931	0.205	0.0128
			H	1	13.6	2.8	0.2228	0.189	0.0133
			H	2	13.3	2.7	0.2261	0.174	0.0121
			H	3	13.0	2.9	0.1952	0.189	0.0105
			H	4	12.7	2.7	0.2043	0.179	0.0110
6	0	13/09/2018	Milieu	1	13.8	2.8		0.211	
			Milieu	2	13.5	2.5		0.196	
			Milieu	3	13.3	2.6		0.201	
			Milieu	4	13.6	2.6		0.197	
	7	20/09/2018	B	1	13.0	2.9	0.3122	0.208	0.0201
			B	2	12.8	2.8	0.2872	0.186	0.0147
			B	3	11.8	2.8	0.2874	0.208	0.0198
			B	4	12.3	2.9	0.3444	0.198	0.0201
			H	1	12.6	3.4	0.2175	0.187	0.0047
			H	2	13.8	3.1	0.2789	0.173	0.0082
			H	3	13.3	3.3	0.2805	0.187	0.0092
			H	4	12.4	3.1	0.3490	0.192	0.0157

**ANNEXE 9 – Expérimentation en laboratoire - Suivi des conditions d'incubation (température, lumière, pH, salinité, teneur en dioxygène) au cours des trois expériences de 7 jours**

Expérience	Date	Heure	Enrichissement	Modalité	O2 (mg/l)	pH	Luminosité ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	Température (°C)	Salinité
1	24/07/2018	16:30	R	V+U+	8.6	8.8	159	19.0	35.5
			R	V+U-	7.9	8.4	147	19.0	35.6
			R	V-U+	8.5	9.0	159	19.0	35.4
			N+	V+U+	8.3	8.8	164	19.0	35.5
			N+	V+U-	7.8	8.2	167	19.0	35.6
			N+	V-U+	8.2	9.0	157	19.0	35.4
			P+	V+U+	7.5	8.8	155	19.0	35.5
			P+	V+U-	7.6	8.4	154	19.0	35.6
			P+	V-U+	8.3	9.0	149	19.0	35.3
			NP+	V+U+	8.2	8.7	167	19.0	35.6
			NP+	V+U-	7.1	8.4	161	19.0	35.7
			NP+	V-U+	8.0	9.0	159	19.0	35.4
1	26/07/2018	11:00	R	V+U+	7.5	8.8	n.d.	19.1	35.5
			R	V+U-	7.5	8.3	n.d.	19.1	35.6
			R	V-U+	7.7	9.2	n.d.	19.2	35.4
			N+	V+U+	7.7	8.9	n.d.	19.2	35.5
			N+	V+U-	7.7	8.3	n.d.	19.2	35.6
			N+	V-U+	7.6	8.9	n.d.	19.2	35.4
			P+	V+U+	7.3	8.8	n.d.	19.1	35.5
			P+	V+U-	7.8	8.3	n.d.	19.2	35.6
			P+	V-U+	8.0	9.1	n.d.	19.2	35.3
			NP+	V+U+	7.9	8.8	n.d.	19.2	35.6
			NP+	V+U-	7.5	8.4	n.d.	19.1	35.7
			NP+	V-U+	7.3	9.0	n.d.	19.2	35.4
2	30/07/2018	11:00	R	V+U+	7.2	8.1	166	19.7	35.4
			R	V+U-	7.2	8.1	147	19.7	35.4
			R	V-U+	7.5	8.2	161	19.7	35.4
			N+	V+U+	7.3	8.3	160	19.6	35.8
			N+	V+U-	7.0	8.2	167	19.6	35.7
			N+	V-U+	7.4	8.2	157	19.6	35.5
			P+	V+U+	7.1	8.3	146	19.6	35.7
			P+	V+U-	7.0	8.1	157	19.6	35.7
			P+	V-U+	7.4	8.2	148	19.6	35.6
			NP+	V+U+	7.3	8.1	156	19.6	35.7
			NP+	V+U-	7.2	8.1	160	19.6	35.7
			NP+	V-U+	7.4	8.2	161	19.7	35.4
2	01/08/2018	09:00	R	V+U+	7.2	8.6	n.d.	19.4	36.0
			R	V+U-	6.6	8.2	n.d.	19.2	36.1
			R	V-U+	7.3	8.8	n.d.	19.2	36.0
			N+	V+U+	7.1	8.8	n.d.	19.2	36.3
			N+	V+U-	6.8	8.1	n.d.	19.1	36.3
			N+	V-U+	8.2	8.7	n.d.	19.1	36.1
			P+	V+U+	7.2	8.7	n.d.	19.1	36.3
			P+	V+U-	7.0	8.2	n.d.	19.1	36.3
			P+	V-U+	7.3	8.7	n.d.	19.2	36.0
			NP+	V+U+	6.3	8.8	n.d.	19.2	36.3
			NP+	V+U-	6.5	8.2	n.d.	19.1	36.3
			NP+	V-U+	7.8	8.8	n.d.	19.2	36.1

Expérience	Date	Heure	Enrichissement	Modalité	O2 (mg/l)	pH	Luminosité ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	Température (°C)	Salinité
2	03/08/2018	11:00	R	V+U+	6.7	8.8	n.d.	19.6	35.8
			R	V+U-	7.1	8.1	n.d.	19.5	36.1
			R	V-U+	7.2	9.0	n.d.	19.4	36.0
			N+	V+U+	6.1	8.8	n.d.	19.5	36.3
			N+	V+U-	7.0	8.1	n.d.	19.5	36.2
			N+	V-U+	7.2	8.9	n.d.	19.5	35.9
			P+	V+U+	6.8	8.8	n.d.	19.6	35.7
			P+	V+U-	7.0	8.1	n.d.	19.6	35.9
			P+	V-U+	7.5	8.8	n.d.	19.6	35.7
			NP+	V+U+	7.0	8.9	n.d.	19.6	36.2
			NP+	V+U-	6.9	8.2	n.d.	19.6	36.0
			NP+	V-U+	7.4	9.0	n.d.	19.5	35.9
3	07/08/2018	11:00	R	V+U+	6.8	8.0	n.d.	19.8	35.3
			R	V+U-	6.9	8.1	n.d.	19.7	35.3
			R	V-U+	7.2	8.1	n.d.	19.7	35.3
			N+	V+U+	6.9	8.1	n.d.	19.7	35.4
			N+	V+U-	6.9	8.1	n.d.	19.8	35.3
			N+	V-U+	7.1	8.2	n.d.	19.7	35.3
			P+	V+U+	6.7	8.1	n.d.	19.7	35.4
			P+	V+U-	6.3	8.1	n.d.	19.8	35.2
			P+	V-U+	7.3	8.2	n.d.	19.6	35.5
			NP+	V+U+	6.6	8.0	n.d.	19.8	35.4
			NP+	V+U-	6.3	8.0	n.d.	19.8	35.3
			NP+	V-U+	7.0	8.1	n.d.	19.7	35.3
3	09/08/2018	14:12	R	V+U+	7.0	8.5	154	19.6	35.7
			R	V+U-	6.9	8.2	142	19.5	35.8
			R	V-U+	6.7	8.5	134	19.5	35.7
			N+	V+U+	6.8	8.6	134	19.5	35.8
			N+	V+U-	6.8	8.2	107	19.5	35.9
			N+	V-U+	6.9	8.2	128	19.4	35.7
			P+	V+U+	7.2	8.5	136	19.4	35.9
			P+	V+U-	6.6	8.1	138	19.4	35.8
			P+	V-U+	7.2	8.7	133	19.4	35.8
			NP+	V+U+	6.7	8.6	142	19.3	36.1
			NP+	V+U-	6.9	8.2	129	19.4	35.9
			NP+	V-U+	6.4	8.3	150	19.4	35.7
3	13/08/2018	10:30	R	V+U+	5.8	8.2	n.d.	19.5	35.8
			R	V+U-	6.4	8.0	n.d.	19.4	36.1
			R	V-U+	5.8	8.1	n.d.	19.3	36.2
			N+	V+U+	5.7	8.6	n.d.	19.3	36.4
			N+	V+U-	6.3	8.3	n.d.	19.3	36.5
			N+	V-U+	5.7	8.2	n.d.	19.3	36.2
			P+	V+U+	5.8	8.0	n.d.	19.4	36.2
			P+	V+U-	6.2	8.1	n.d.	19.4	36.2
			P+	V-U+	5.5	8.2	n.d.	19.4	36.2
			NP+	V+U+	5.0	8.1	n.d.	19.4	36.6
			NP+	V+U-	6.3	8.2	n.d.	19.4	36.3
			NP+	V-U+	6.3	8.4	n.d.	19.4	36.1

## ANNEXE 10 – Expérimentation en laboratoire - Données de biomasses et taux de croissance des ulves pour chacune des trois expériences

Expérience	Temps d'incubation (jours)	Date prélèvement	Type d'enrichissement (R, N+, P+, NP+)	Présence de vase V+ (vase) / V- (sans vase)	Réplicat	Poids essoré (g)	Taux de croissance (%/jour)
1	3	23/07/2018	R	V+	1	8.96	1.62
					2	8.86	1.46
					3	9.91	3.06
					4	9.38	2.27
				V-	1	9.52	2.49
					2	10.18	3.44
					3	9.40	2.30
					4	8.83	1.41
1	3	23/07/2018	N+	V+	1	9.20	2.00
					2	9.94	3.10
					3	10.54	3.94
					4	9.01	1.70
				V-	1	9.72	2.78
					2	8.89	1.51
					3	9.62	2.63
					4	10.20	3.47
1	3	23/07/2018	P+	V+	1	9.22	2.03
					2	8.53	0.92
					3	10.18	3.44
					4	9.23	2.04
				V-	1	9.81	2.91
					2	9.40	2.30
					3	9.87	3.00
					4	9.42	2.33
1	3	23/07/2018	NP+	V+	1	10.07	3.29
					2	9.86	2.99
					3	11.14	4.73
					4	9.76	2.84
				V-	1	11.02	4.58
					2	9.46	2.39
					3	9.97	3.14
					4	10.65	4.09
1	7	27/07/2018	R	V+	1	10.52	3.91
					2	9.90	3.04
					3	10.75	4.22
					4	9.70	2.75
				V-	1	10.80	4.29
					2	11.71	5.44
					3	9.65	2.68
					4	9.73	2.80
1	7	27/07/2018	N+	V+	1	11.36	5.01
					2	12.21	6.04
					3	11.94	5.72
					4	9.51	2.47
				V-	1	10.89	4.41
					2	10.37	3.71
					3	10.91	4.43
					4	12.47	6.34
1	7	27/07/2018	P+	V+	1	10.61	4.03
					2	9.54	2.52
					3	10.94	4.47
					4	9.47	2.41
				V-	1	10.21	3.48
					2	10.49	3.87
					3	10.96	4.50
					4	10.44	3.80
1	7	27/07/2018	NP+	V+	1	11.04	4.60
					2	11.56	5.26
					3	13.16	7.11
					4	11.65	5.37
				V-	1	12.16	5.98
					2	11.25	4.87
					3	11.64	5.36
					4	10.73	4.19

Expérience	Temps d'incubation (jours)	Date prélèvement	Type d'enrichissement (R, N+, P+, NP+)	Présence de vase V+ (vase) / V- (sans vase)	Réplicat	Poids essoré (g)	Taux de croissance (%/jour)
2	3	02/08/2018	R	V+	1	8.59	1.02
					2	9.78	2.87
					3	9.27	2.10
					4	8.45	0.78
				V-	1	9.40	2.30
					2	9.30	2.15
					3	9.08	1.81
					4	9.16	1.93
2	3	02/08/2018	N+	V+	1	10.05	3.26
					2	9.24	2.06
					3	9.90	3.04
					4	9.12	1.87
				V-	1	9.52	2.49
					2	10.58	3.99
					3	9.90	3.04
					4	10.47	3.84
2	3	02/08/2018	P+	V+	1	8.72	1.23
					2	9.31	2.17
					3	9.15	1.92
					4	9.35	2.23
				V-	1	8.65	1.12
					2	9.17	1.95
					3	10.04	3.24
					4	9.46	2.39
2	3	02/08/2018	NP+	V+	1	10.80	4.29
					2	9.77	2.86
					3	10.75	4.22
					4	9.85	2.97
				V-	1	10.26	3.55
					2	9.52	2.49
					3	9.50	2.46
					4	9.95	3.12
2	7	06/08/2018	R	V+	1	8.82	1.39
					2	9.98	3.16
					3	9.30	2.15
					4	9.07	1.79
				V-	1	9.45	2.38
					2	9.52	2.49
					3	9.29	2.14
					4	8.76	1.30
2	7	06/08/2018	N+	V+	1	9.50	2.46
					2	8.73	1.25
					3	9.84	2.96
					4	8.36	0.63
				V-	1	9.76	2.84
					2	10.88	4.39
					3	10.30	3.61
					4	11.06	4.63
2	7	06/08/2018	P+	V+	1	8.37	0.65
					2	8.55	0.95
					3	9.15	1.92
					4	9.10	1.84
				V-	1	8.36	0.63
					2	9.08	1.81
					3	8.02	0.04
					4	9.03	1.73
2	7	06/08/2018	NP+	V+	1	12.45	6.32
					2	10.00	3.19
					3	12.41	6.27
					4	10.70	4.15
				V-	1	10.90	4.42
					2	10.63	4.06
					3	11.78	5.53
					4	10.71	4.17

Expérience	Temps d'incubation (jours)	Date prélèvement	Type d'enrichissement (R, N+, P+, NP+)	Présence de vase V+ (vase) / V- (sans vase)	Réplicat	Poids essoré (g)	Taux de croissance (%/jour)
3	3	10/08/2018	R	V+	1	8.33	0.58
					2	8.65	1.12
					3	8.10	0.18
					4	9.01	1.70
				V-	1	8.86	1.46
					2	8.26	0.46
					3	8.09	0.16
					4	8.32	0.56
3	3	10/08/2018	N+	V+	1	8.88	1.49
					2	8.90	1.52
					3	8.21	0.37
					4	8.08	0.14
				V-	1	8.22	0.39
					2	8.25	0.44
					3	8.27	0.47
					4	8.50	0.87
3	3	10/08/2018	P+	V+	1	8.23	0.40
					2	8.65	1.12
					3	8.20	0.35
					4	8.69	1.18
				V-	1	8.67	1.15
					2	8.78	1.33
					3	8.89	1.51
					4	8.23	0.40
3	3	10/08/2018	NP+	V+	1	9.40	2.30
					2	9.19	1.98
					3	8.80	1.36
					4	8.35	0.61
				V-	1	8.15	0.27
					2	8.28	0.49
					3	8.11	0.20
					4	8.16	0.28
3	7	14/08/2018	R	V+	1	8.60	1.03
					2	8.29	0.51
					3	7.30	-1.31
					4	8.84	1.43
				V-	1	8.92	1.56
					2	8.73	1.25
					3	7.48	-0.96
					4	8.50	0.87
3	7	14/08/2018	N+	V+	1	9.04	1.75
					2	8.84	1.43
					3	8.94	1.59
					4	7.89	-0.20
				V-	1	6.76	-2.41
					2	6.94	-2.03
					3	8.11	0.20
					4	7.54	-0.85
3	7	14/08/2018	P+	V+	1	7.86	-0.25
					2	8.19	0.34
					3	6.85	-2.22
					4	7.82	-0.33
				V-	1	7.80	-0.36
					2	7.63	-0.68
					3	9.09	1.82
					4	7.81	-0.34
3	7	14/08/2018	NP+	V+	1	9.48	2.42
					2	9.56	2.54
					3	9.32	2.18
					4	8.92	1.56
				V-	1	7.40	-1.11
					2	7.40	-1.11
					3	7.00	-1.91
					4	6.66	-2.62

## ANNEXE 11 – Expérimentation en laboratoire – Concentrations en sels nutritifs de l'eau de mer pour chacune des modalités testées

Expérience	Date prélèvement (jours)	Temps d'incubation (jours)	Modalité	Type d'enrichissement (R, N+, P+, NP+)	Ammonium ( $\mu\text{mol/l}$ )	Nitrates ( $\mu\text{mol/l}$ )	Orthophosphates ( $\mu\text{mol/l}$ )
1	20/07/2018	0	V+U+	R	5.10	0.610	<0.1
					1.40	1.20	<0.1
					1.40	0.880	<0.1
					1.50	0.630	<0.1
1	20/07/2018	0	V+U-	R	5.80	1.50	0.130
					7.30	0.640	0.320
					2.90	0.620	0.420
					5.40	1.20	<0.1
1	20/07/2018	0	V-U+	R	2.50	0.780	<0.1
					0.30	0.690	0.120
					0.83	0.340	<0.1
					0.23	0.200	<0.1
1	20/07/2018	0	V+U+	N+	2.30	170.0	0.250
					5.30	220.0	0.130
					4.00	220.0	0.100
					8.10	220.0	0.130
1	20/07/2018	0	V+U-	N+	2.30	150.0	0.450
					1.50	190.0	0.120
					5.10	210.0	<0.1
					0.95	120.0	2.20
1	20/07/2018	0	V-U+	N+	0.26	130.0	<0.1
					1.30	160.0	0.160
					2.00	160.0	0.450
					1.30	150.0	<0.1
1	20/07/2018	0	V+U+	P+	8.40	2.10	2.60
					3.50	1.40	2.60
					3.40	1.50	1.70
					3.70	1.60	1.90
1	20/07/2018	0	V+U-	P+	1.70	0.880	2.40
					2.50	2.50	2.10
					2.50	0.590	1.50
					3.50	0.680	1.90
1	20/07/2018	0	V-U+	P+	1.10	1.00	4.10
					1.30	1.00	4.60
					0.80	1.70	5.50
					2.80	1.10	4.10
1	20/07/2018	0	V+U+	NP+	3.10	220.0	2.70
					2.20	200.0	2.20
					2.10	210.0	2.70
					2.30	180.0	2.00
1	20/07/2018	0	V+U-	NP+	3.40	150.0	1.60
					3.80	150.0	1.50
					1.70	180.0	1.90
					2.80	210.0	2.50
1	20/07/2018	0	V-U+	NP+	2.60	190.0	1.90
					0.86	200.0	2.20
					2.10	180.0	1.80
					1.00	190.0	2.00
1	23/07/2018	3	V+U+	R	2.40	<0.1	<0.1
					2.30	<0.1	<0.1
					1.70	<0.1	<0.1
					6.20	2.90	0.120
1	23/07/2018	3	V+U-	R	1.80	<0.1	0.200
					3.80	<0.1	<0.1
					2.90	<0.1	<0.1
					5.60	3.60	0.120
1	23/07/2018	3	V-U+	R	1.50	0.920	0.420
					1.20	<0.1	<0.1
					2.90	<0.1	<0.1
					1.00	<0.1	<0.1
1	23/07/2018	3	V+U+	N+	5.10	20.0	0.220
					0.21	16.0	0.140
					<0.1	13.0	0.140
					0.50	14.0	0.220
1	23/07/2018	3	V+U-	N+	0.64	170.0	1.20
					0.97	160.0	0.840
					0.93	150.0	0.200
					0.85	170.0	0.140

Expérience	Date prélèvement (jours)	Temps d'incubation (jours)	Modalité	Type d'enrichissement (R, N+, P+, NP+)	Ammonium ( $\mu\text{mol/l}$ )	Nitrates ( $\mu\text{mol/l}$ )	Orthophosphates ( $\mu\text{mol/l}$ )
1	23/07/2018	3	V-U+	N+	0.39	72.0	0.480
					<0.1	78.0	0.220
					0.91	78.0	<0.1
					<0.1	78.0	0.140
1	23/07/2018	3	V+U+	P+	8.90	<0.1	0.580
					<0.1	<0.1	0.330
					<0.1	<0.1	0.560
					0.43	<0.1	0.140
1	23/07/2018	3	V+U-	P+	2.60	<0.1	1.50
					2.80	<0.1	1.30
					1.70	<0.1	1.70
					1.90	<0.1	1.70
1	23/07/2018	3	V-U+	P+	1.40	<0.1	1.20
					<0.1	<0.1	0.660
					<0.1	<0.1	0.740
					0.15	<0.1	0.520
1	23/07/2018	3	V+U+	NP+	0.16	8.30	0.200
					1.10	7.70	0.240
					1.90	7.60	0.240
					2.60	7.20	0.270
1	23/07/2018	3	V+U-	NP+	0.13	170.0	0.670
					<0.1	170.0	1.10
					0.22	170.0	0.550
					<0.1	170.0	0.610
1	23/07/2018	3	V-U+	NP+	0.23	54.0	3.40
					0.16	55.0	0.360
					0.25	55.0	0.200
					<0.1	55.0	0.210
1	27/07/2018	7	V+U+	R	1.20	<0.1	<0.1
					<0.1	<0.1	0.430
					0.73	<0.1	0.190
					0.83	<0.1	0.290
1	27/07/2018	7	V+U-	R	1.50	<0.1	<0.1
					1.90	<0.1	<0.1
					1.50	<0.1	0.160
					6.20	<0.1	0.160
1	27/07/2018	7	V-U+	R	2.30	<0.1	0.160
					1.70	0.170	0.980
					<0.1	<0.1	0.120
					0.11	<0.1	0.410
1	27/07/2018	7	V+U+	N+	1.90	<0.1	0.470
					1.30	<0.1	0.280
					1.10	<0.1	0.150
					1.70	<0.1	0.120
1	27/07/2018	7	V+U-	N+	3.60	78.0	0.150
					4.30	120.0	0.350
					4.00	120.0	0.410
					3.40	110.0	0.560
1	27/07/2018	7	V-U+	N+	0.47	7.40	0.130
					1.00	8.20	0.710
					0.39	6.90	0.160
					3.30	7.80	0.190
1	27/07/2018	7	V+U+	P+	1.80	<0.1	0.140
					2.00	<0.1	0.160
					1.60	<0.1	0.180
					0.97	<0.1	0.140
1	27/07/2018	7	V+U-	P+	0.32	<0.1	0.120
					1.10	0.340	0.280
					0.22	<0.1	0.760
					1.30	<0.1	0.310
1	27/07/2018	7	V-U+	P+	<0.1	<0.1	0.390
					<0.1	0.210	0.130
					<0.1	<0.1	0.240
					<0.1	<0.1	0.560
1	27/07/2018	7	V+U+	NP+	0.70	<0.1	0.160
					1.30	<0.1	0.180
					0.95	<0.1	0.230
					0.85	<0.1	0.150

Expérience	Date prélèvement (jours)	Temps d'incubation (jours)	Modalité	Type d'enrichissement (R, N+, P+, NP+)	Ammonium ( $\mu\text{mol/l}$ )	Nitrates ( $\mu\text{mol/l}$ )	Orthophosphates ( $\mu\text{mol/l}$ )
1	27/07/2018	7	V+U-	NP+	1.20	92.0	0.370
					1.40	99.0	0.370
					1.50	100.0	1.10
					0.74	97.0	0.140
1	27/07/2018	7	V-U+	NP+	0.19	0.210	0.210
					0.39	0.140	0.160
					0.56	<0.1	0.130
2	30/07/2018	0	V+U+	R	0.38	<0.1	0.200
					1.10	<0.1	0.150
					<0.1	<0.1	0.170
					1.60	<0.1	1.30
2	30/07/2018	0	V+U-	R	0.55	<0.1	0.150
					0.32	<0.1	0.170
					0.20	0.350	0.150
					5.70	0.940	0.130
2	30/07/2018	0	V-U+	R	0.42	<0.1	0.600
					0.58	<0.1	0.130
					0.33	<0.1	0.190
					0.13	<0.1	0.150
2	30/07/2018	0	V+U+	N+	0.57	230.0	0.160
					1.30	280.0	<0.1
					1.60	200.0	0.380
					1.00	250.0	0.110
2	30/07/2018	0	V+U-	N+	1.30	220.0	<0.1
					1.30	220.0	<0.1
					1.30	220.0	0.400
					1.80	210.0	<0.1
2	30/07/2018	0	V-U+	N+	0.82	210.0	2.30
					1.40	190.0	2.60
					0.92	170.0	1.80
					0.35	210.0	2.40
2	30/07/2018	0	V+U+	P+	<0.1	<0.1	0.430
					<0.1	<0.1	0.720
					1.30	<0.1	1.30
					<0.1	<0.1	0.980
2	30/07/2018	0	V+U-	P+	0.17	<0.1	2.30
					0.57	<0.1	2.50
					<0.1	<0.1	2.30
					<0.1	<0.1	2.30
2	30/07/2018	0	V-U+	P+	0.66	0.150	0.380
					0.59	<0.1	<0.1
					0.70	<0.1	0.170
					0.74	<0.1	<0.1
2	30/07/2018	0	V+U+	NP+	0.60	230.0	2.20
					0.88	230.0	2.20
					0.88	230.0	2.30
					0.20	240.0	2.20
2	30/07/2018	0	V+U-	NP+	3.40	200.0	1.50
					2.80	210.0	1.70
					1.60	210.0	1.90
					2.50	220.0	1.70
2	30/07/2018	0	V-U+	NP+	<0.1	200.0	2.20
					<0.1	200.0	2.40
					0.75	200.0	2.40
					0.81	190.0	2.10
2	02/08/2018	3	V+U+	R	1.70	<0.1	0.280
					3.20	<0.1	<0.1
					1.50	<0.1	0.170
					1.40	<0.1	<0.1
2	02/08/2018	3	V+U-	R	5.10	<0.1	0.120
					0.79	<0.1	<0.1
					0.74	<0.1	<0.1
					1.10	<0.1	0.290
2	02/08/2018	3	V-U+	R	1.70	<0.1	<0.1
					3.60	<0.1	0.120
					<0.1	<0.1	0.180
					<0.1	<0.1	0.480

Expérience	Date prélevement (jours)	Temps d'incubation (jours)	Modalité	Type d'enrichissement (R, N+, P+, NP+)	Ammonium ( $\mu\text{mol/l}$ )	Nitrates ( $\mu\text{mol/l}$ )	Orthophosphates ( $\mu\text{mol/l}$ )
2	02/08/2018	3	V+U+	N+	2.00	38.0	0.680
					2.60	38.0	0.220
					2.10	38.0	0.120
					1.70	36.0	0.190
2	02/08/2018	3	V+U-	N+	3.70	170.0	0.100
					7.70	170.0	0.120
					3.50	170.0	<0.1
					3.30	170.0	<0.1
2	02/08/2018	3	V-U+	N+	0.63	38.0	<0.1
					2.20	39.0	<0.1
					0.67	38.0	<0.1
					0.63	39.0	<0.1
2	02/08/2018	3	V+U+	P+	0.65	<0.1	<0.1
					0.32	<0.1	4.40
					0.53	<0.1	0.130
					0.43	<0.1	<0.1
2	02/08/2018	3	V+U-	P+	0.31	<0.1	0.800
					<0.1	<0.1	0.940
					0.13	<0.1	1.30
					0.28	<0.1	0.960
2	02/08/2018	3	V-U+	P+	4.40	<0.1	0.300
					0.39	<0.1	<0.1
					<0.1	<0.1	0.100
					1.40	<0.1	<0.1
2	02/08/2018	3	V+U+	NP+	0.87	1.20	0.150
					1.10	1.30	0.190
					0.81	1.10	<0.1
					0.76	0.980	0.320
2	02/08/2018	3	V+U-	NP+	1.30	140.0	0.630
					0.56	140.0	0.110
					1.20	150.0	0.260
					1.80	140.0	0.370
2	02/08/2018	3	V-U+	NP+	2.10	28.0	<0.1
					0.26	28.0	0.440
					0.41	28.0	<0.1
					0.17	28.0	0.380
2	06/08/2018	7	V+U+	R	2.30	<0.1	0.350
					0.84	<0.1	0.180
					0.86	0.360	0.140
					0.84	<0.1	0.440
2	06/08/2018	7	V+U-	R	2.10	<0.1	0.150
					0.91	<0.1	0.320
					0.90	<0.1	0.170
					0.99	<0.1	0.130
2	06/08/2018	7	V-U+	R	0.19	<0.1	0.210
					0.30	<0.1	0.180
					0.38	<0.1	0.220
					1.20	0.210	0.470
2	06/08/2018	7	V+U+	N+	3.10	1.20	0.250
					3.20	0.640	0.490
					3.40	2.30	0.470
					3.70	4.70	0.150
2	06/08/2018	7	V+U-	N+	5.40	130.0	0.130
					3.20	100.0	0.140
					2.80	130.0	0.150
					2.90	130.0	0.150
2	06/08/2018	7	V-U+	N+	1.60	0.330	0.200
					1.30	0.360	0.660
					1.40	0.350	0.160
					1.40	0.460	0.210
2	06/08/2018	7	V+U+	P+	0.92	3.20	0.240
					1.10	0.720	0.120
					0.80	<0.1	0.140
					1.70	<0.1	0.140
2	06/08/2018	7	V+U-	P+	0.71	<0.1	0.440
					0.68	<0.1	0.560
					0.41	<0.1	0.900
					0.45	<0.1	0.930

Expérience	Date prélevement (jours)	Temps d'incubation (jours)	Modalité	Type d'enrichissement (R, N+, P+, NP+)	Ammonium ( $\mu\text{mol/l}$ )	Nitrates ( $\mu\text{mol/l}$ )	Orthophosphates ( $\mu\text{mol/l}$ )
2	06/08/2018	7	V-U+	P+	<0.1	<0.1	0.760
					0.34	<0.1	0.180
					0.63	<0.1	0.160
					<0.1	<0.1	0.100
2	06/08/2018	7	V+U+	NP+	0.62	<0.1	<0.1
					0.92	<0.1	0.250
					0.57	<0.1	<0.1
					0.82	<0.1	<0.1
2	06/08/2018	7	V+U-	NP+	2.40	99.0	0.170
					2.70	99.0	<0.1
					2.70	99.0	0.410
					2.70	99.0	0.290
2	06/08/2018	7	V-U+	NP+	1.40	0.260	<0.1
					0.71	<0.1	0.410
					0.78	<0.1	<0.1
					0.58	0.160	<0.1
3	07/08/2018	0	V+U+	R	1.10	<0.1	0.130
					1.20	0.110	<0.1
					0.84	<0.1	0.180
					1.10	<0.1	0.150
3	07/08/2018	0	V+U-	R	0.20	<0.1	0.610
					0.25	<0.1	0.360
					<0.1	<0.1	<0.1
					0.12	<0.1	<0.1
3	07/08/2018	0	V-U+	R	<0.1	<0.1	0.240
					0.61	<0.1	0.140
					<0.1	<0.1	<0.1
					0.64	<0.1	0.110
3	07/08/2018	0	V+U+	N+	2.10	190.0	<0.1
					2.00	140.0	<0.1
					2.80	200.0	0.120
					2.00	140.0	0.160
3	07/08/2018	0	V+U-	N+	0.71	200.0	<0.1
					0.97	110.0	0.100
					1.30	160.0	<0.1
					1.00	150.0	<0.1
3	07/08/2018	0	V-U+	N+	1.50	190.0	0.140
					1.30	150.0	0.200
					1.80	180.0	<0.1
					1.10	160.0	<0.1
3	07/08/2018	0	V+U+	P+	6.10	<0.1	2.20
					3.00	<0.1	2.50
					1.70	<0.1	1.40
					2.00	<0.1	2.70
3	07/08/2018	0	V+U-	P+	0.57	<0.1	2.90
					0.44	<0.1	2.80
					0.42	<0.1	2.90
					0.75	<0.1	3.00
3	07/08/2018	0	V-U+	P+	0.56	<0.1	2.40
					0.41	<0.1	2.30
					0.31	0.330	2.30
					<0.1	<0.1	2.70
3	07/08/2018	0	V+U+	NP+	2.00	210.0	2.50
					1.70	220.0	2.40
					1.60	220.0	2.40
					2.50	220.0	2.40
3	07/08/2018	0	V+U-	NP+	1.40	200.0	2.50
					2.20	210.0	2.10
					1.50	210.0	2.10
					1.50	200.0	2.00
3	07/08/2018	0	V-U+	NP+	<0.1	190.0	2.50
					<0.1	190.0	2.20
					0.37	190.0	2.20
					0.36	190.0	2.20
3	10/08/2018	3	V+U+	R	1.60	0.300	<0.1
					1.30	<0.1	0.280
					1.40	<0.1	0.110
					1.20	<0.1	0.190

Expérience	Date prélevement (jours)	Temps d'incubation (jours)	Modalité	Type d'enrichissement (R, N+, P+, NP+)	Ammonium ( $\mu\text{mol/l}$ )	Nitrates ( $\mu\text{mol/l}$ )	Orthophosphates ( $\mu\text{mol/l}$ )
3	10/08/2018	3	V+U-	R	0.51	<0.1	<0.1
					0.45	<0.1	0.270
					0.41	0.110	<0.1
					0.67	<0.1	<0.1
3	10/08/2018	3	V-U+	R	1.40	0.330	0.590
					0.61	0.200	0.180
					1.20	0.260	<0.1
					0.76	0.420	0.460
3	10/08/2018	3	V+U+	N+	1.10	94.0	<0.1
					1.40	94.0	<0.1
					1.50	91.0	0.370
					1.10	89.0	0.140
3	10/08/2018	3	V+U-	N+	0.96	150.0	0.140
					1.30	160.0	0.840
					1.20	150.0	0.350
					1.00	160.0	<0.1
3	10/08/2018	3	V-U+	N+	3.30	140.0	<0.1
					2.90	140.0	<0.1
					3.10	140.0	<0.1
					3.00	140.0	<0.1
3	10/08/2018	3	V+U+	P+	1.80	0.170	<0.1
					1.10	0.200	<0.1
					1.30	0.370	<0.1
					1.60	0.120	<0.1
3	10/08/2018	3	V+U-	P+	<0.1	<0.1	1.30
					0.55	<0.1	0.840
					0.14	<0.1	1.60
					0.38	<0.1	0.800
3	10/08/2018	3	V-U+	P+	<0.1	<0.1	<0.1
					<0.1	<0.1	<0.1
					<0.1	<0.1	<0.1
					<0.1	<0.1	<0.1
3	10/08/2018	3	V+U+	NP+	1.20	67.0	<0.1
					1.00	68.0	0.310
					1.60	68.0	0.110
					1.60	68.0	0.180
3	10/08/2018	3	V+U-	NP+	<0.1	140.0	0.120
					0.16	140.0	0.290
					0.16	150.0	<0.1
					0.86	150.0	0.170
3	10/08/2018	3	V-U+	NP+	1.30	120.0	<0.1
					2.10	120.0	0.110
					1.60	120.0	<0.1
					3.40	120.0	<0.1
3	14/08/2018	7	V+U+	R	2.20	<0.1	0.120
					1.20	<0.1	<0.1
					1.80	<0.1	0.230
					1.30	<0.1	0.320
3	14/08/2018	7	V+U-	R	1.10	<0.1	<0.1
					0.23	<0.1	<0.1
					0.24	<0.1	<0.1
					0.70	<0.1	0.510
3	14/08/2018	7	V-U+	R	4.70	<0.1	<0.1
					4.50	<0.1	<0.1
					4.50	<0.1	<0.1
					4.60	<0.1	0.280
3	14/08/2018	7	V+U+	N+	4.60	7.40	0.430
					3.90	4.70	<0.1
					5.70	7.60	0.120
					4.00	6.00	<0.1
3	14/08/2018	7	V+U-	N+	1.30	74.0	<0.1
					2.00	79.0	0.120
					1.80	63.0	<0.1
					1.50	68.0	<0.1
3	14/08/2018	7	V-U+	N+	5.60	100.0	<0.1
					5.50	110.0	0.200
					5.00	86.0	0.110
					5.50	100.0	0.700

Expérience	Date prélèvement (jours)	Temps d'incubation (jours)	Modalité	Type d'enrichissement (R, N+, P+, NP+)	Ammonium ( $\mu\text{mol/l}$ )	Nitrates ( $\mu\text{mol/l}$ )	Orthophosphates ( $\mu\text{mol/l}$ )
3	14/08/2018	7	V+U+	P+	5.00	1.40	0.310
					2.30	<0.1	0.110
					2.30	<0.1	<0.1
					2.10	<0.1	0.360
3	14/08/2018	7	V+U-	P+	<0.1	<0.1	0.400
					0.21	<0.1	0.550
					<0.1	<0.1	0.520
					<0.1	<0.1	1.00
3	14/08/2018	7	V-U+	P+	1.10	<0.1	<0.1
					2.00	<0.1	0.560
					0.55	<0.1	0.190
					0.39	<0.1	<0.1
3	14/08/2018	7	V+U+	NP+	3.50	3.80	<0.1
					4.10	3.90	<0.1
					3.60	3.80	3.90
					3.90	3.80	0.390
3	14/08/2018	7	V+U-	NP+	0.58	87.0	0.200
					0.69	94.0	0.250
					1.60	96.0	0.240
					0.67	95.0	<0.1
3	14/08/2018	7	V-U+	NP+	2.60	76.0	0.510
					2.80	76.0	0.110
					2.60	76.0	<0.1
					3.10	75.0	0.110

**ANNEXE 12– Expérimentation en laboratoire – Données de quotas azotés et phosphorés des tissus algaux au temps T0 et T+7jours pour chacune des modalités testées au cours des 3 expériences.**

	Date prélèvement	Modalité	Réplicat	Poids lyophilisé	Humidité	Azote total brut	Azote fixé en 7 jours	Phosphore brut	Phosphore fixé en 7 jours
				(g MS)	(en %)	(g/100g MS)	(mg/100g MS)	(g/100g MS)	(mg/100g MS)
<b>EXPERIENCE 1</b>	20/07/2018	T0	1	2.16	19.2	2.25		75.6	
			2	2.43	20.1	2.19		79.8	
			3	2.29	19.9	2.24		75.9	
			4	2.19	19.4	2.2		76.7	
	27/07/2018	R V+ U+	1	2.08	17.6	1.32	-7.9	44.7	-0.271
			2	1.82	17.0	1.4	-10.6	40	-0.526
			3	2.05	16.3	1.38	-7.4	44.6	-0.310
			4	2.06	16.6	1.38	-7.2	n.d.	n.d.
		R V- U+	1	2.25	17.4	1.3	-5.8	39.9	-0.313
			2	2.32	16.7	1.3	-5.1	37	-0.374
			3	2.01	17.3	1.29	-9.9	n.d.	n.d.
			4	1.99	11.8	1.31	-11.6	n.d.	n.d.
		N+ V+ U+	1	1.98	17.0	2.59	20.6	41.6	-0.408
			2	2.00	18.5	2.26	14.3	38.5	-0.455
			3	2.08	17.0	2.57	23.3	38.7	-0.431
			4	1.64	18.2	2.31	4.9	48	-0.442
		N+ V- U+	1	1.77	17.4	2.79	18.5	41.2	-0.521
			2	1.59	17.0	2.84	13.3	44.8	-0.542
			3	1.72	17.4	2.77	16.4	43.6	-0.495
			4	1.89	18.0	2.63	19.5	43.1	-0.407
		P+ V+ U+	1	1.89	16.9	1.48	-7.7	68.2	0.146
			2	1.74	16.9	1.54	-9.1	n.d.	n.d.
			3	1.97	17.2	1.5	-5.6	75.5	0.395
			4	1.78	16.8	1.66	-5.7	62.6	-0.063
		P+ V- U+	1	2.24	17.7	1.22	-8.1	108	1.535
			2	1.89	16.5	1.39	-9.8	n.d.	n.d.
			3	2.13	18.2	1.29	-7.7	125	1.848
			4	1.97	17.0	1.29	-10.7	86.4	0.645
		NP+ V+ U+	1	1.89	17.2	2.68	19.9	78.6	0.390
			2	1.90	18.4	2.23	10.7	59	-0.028
			3	2.24	17.7	2.7	32.2	76.9	0.689
			4	2.00	17.7	2.29	14.4	57	-0.017
		NP+ V- U+	1	1.83	17.3	2.98	24.6	86.1	0.501
			2	1.82	17.5	2.6	15.9	58.7	-0.111
			3	2.01	17.9	2.97	31.5	82.2	0.612
			4	1.58	17.0	2.71	10.2	60.4	-0.255

	Date prélèvement	Modalité	Réplicat	Poids lyophilisé	Humidité	Azote total brut	Azote fixé en 7 jours	Phosphore brut	Phosphore fixé en 7 jours
				(g MS)	(en %)	(g/100g MS)	(mg/100g MS)	(g/100g MS)	(mg/100g MS)
<b>EXPERIENCE 2</b>	30/07/2018	T0	1	2.27	18.9	1.81		47	
			2	2.35	18.3	1.81		48.1	
			3	2.27	17.9	1.8		54.5	
			4	2.33	18.3	1.8		55.2	
	06/08/2018	R V+ U+	1	1.83	17.2	1.38	-2.5	35.3	-0.137
			2	2.01	16.4	1.42	1.2	34.3	-0.091
			3	1.91	16.9	1.29	-3.3	31.6	-0.190
			4	2.07	17.3	1.39	1.7	33.6	-0.077
		R V- U+	1	1.98	18.0	1.28	-2.2	n.d.	n.d.
			2	1.98	17.3	1.37	-0.1	n.d.	n.d.
			3	2.07	16.8	1.29	-0.9	n.d.	n.d.
			4	1.86	16.4	1.4	-1.9	n.d.	n.d.
		N+ V+ U+	1	1.50	17.0	2.77	17.1	36	-0.266
			2	1.31	17.0	2.77	10.8	30.2	-0.440
			3	1.52	17.0	2.75	17.3	34.7	-0.282
			4	1.37	17.0	2.72	11.9	33	-0.373
		N+ V- U+	1	1.88	17.0	2.65	27.1	61.5	0.479
			2	2.06	17.9	2.47	29.0	46.1	0.240
			3	1.92	17.0	2.78	31.2	59.4	0.455
			4	1.95	17.2	2.57	27.4	57.2	0.427
		P+ V+ U+	1	1.64	17.0	1.44	-4.5	39.8	-0.129
			2	1.54	17.0	1.56	-4.0	44.5	-0.09
			3	1.62	17.0	1.5	-3.8	41.4	-0.110
			4	1.46	17.0	1.58	-5.2	36.9	-0.268
		P+ V- U+	1	1.80	17.6	1.24	-6.0	37.1	-0.108
			2	2.06	16.0	1.28	-1.6	38.6	0.028
			3	1.76	17.3	1.39	-3.4	36.7	-0.136
			4	2.00	16.5	1.37	-0.1	40.9	0.064
		NP+ V+ U+	1	2.01	18.1	2.24	21.9	41.1	0.090
			2	1.75	16.4	2.22	13.4	49.9	0.126
			3	2.29	17.1	2.2	27.7	54.5	0.587
			4	1.97	18.2	2.06	16.6	46	0.191
		NP+ V- U+	1	1.96	16.1	2.52	26.0	68.8	0.693
			2	1.90	17.2	2.28	19.2	57.2	0.393
			3	1.89	16.2	2.64	26.7	76.7	0.816
			4	1.75	16.1	2.46	18.4	57	0.274

	Date prélèvement	Modalité	Réplicat	Poids lyophilisé	Humidité	Azote total brut	Azote fixé en 7 jours	Phosphore brut	Phosphore fixé en 7 jours
				(g MS)	(en %)	(g/100g MS)	(mg/100g MS)	(g/100g MS)	(mg/100g MS)
<b>EXPERIENCE 3</b>	07/08/2018	T0	1	2.51	16.1	2.7		57.3	
			2	2.55	16.1	2.74		59.6	
			3	2.43	15.6	2.91		68.6	
			4	2.69	15.9	2.74		53.1	
	14/08/2018	R V+ U+	1	1.74	13.9	2.42	-0.4	45.7	-0.115
			2	1.60	17.0	2.38	-3.3	44.3	-0.183
			3	1.58	17.0	2.38	-4.0	45.8	-0.168
			4	1.86	15.0	2.32	1.6	44.9	-0.055
		R V- U+	1	1.58	17.0	2.56	-0.6	49.6	-0.095
			2	1.43	17.0	2.57	-5.0	45	-0.264
			3	1.27	17.0	2.83	-5.9	41.8	-0.398
			4	1.50	17.0	2.69	-0.5	41.8	-0.281
		N+ V+ U+	1	1.86	14.4	3.08	17.6	46.4	-0.031
			2	1.82	14.7	3.18	18.5	46	-0.058
			3	1.85	14.3	3.03	16.2	46	-0.044
			4	1.39	17.0	3.27	5.7	56.3	-0.092
		N+ V- U+	1	1.16	17.0	3.23	-4.0	51.4	-0.318
			2	1.00	17.0	3.24	-10.0	51.7	-0.412
			3	1.19	17.0	3.16	-3.7	43.2	-0.416
			4	1.22	17.0	3.26	-1.3	49.4	-0.312
		P+ V+ U+	1	1.47	17.0	2.42	-6.4	69.8	0.198
			2	1.43	17.0	2.46	-6.9	56	-0.075
			3	1.32	17.0	2.23	-13.8	69	0.059
			4	1.21	17.0	2.34	-15.1	58.5	-0.184
		P+ V- U+	1	1.49	17.0	1.95	-14.3	62.6	0.083
			2	1.30	17.0	2.39	-11.7	56.1	-0.157
			3	1.65	17.0	2.2	-5.5	64.3	0.242
			4	1.10	17.0	2.55	-15.6	53.1	-0.337
		NP+ V+ U+	1	1.72	17.0	3.44	22.0	53	0.059
			2	1.37	17.0	3.3	5.2	49.9	-0.215
			3	1.43	17.0	3.23	6.3	52.8	-0.130
			4	1.49	17.0	3.26	9.4	5.28	-0.943
NP+ V- U+	1	1.23	17.0	3.66	4.9	61.3	-0.131		
	2	0.97	17.0	3.43	-9.1	51.9	-0.431		
	3	1.06	17.0	3.3	-7.0	55.8	-0.324		
	4	1.12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	53.1	-0.443	

**ANNEXE 13 – Expérimentation en laboratoire – Résultats des analyses de vase (teneurs en azote total et en phosphore, humidité, matières minérales) aux temps T0 et T+21jours.**

Modalité	Temps (jours)	Réplicat	Date prélèvement	Poids frais (g)	Poids sec (g)	Humidité(s) (g/100g)	Cendres brutes - Dosage des matières minérales (g/100g)	Azote total Dumas (g/100g)	Azote total Dumas dans matière sèche (g/100g de MS)	Phosphore (mg/kg)	Phosphore dans matière sèche (g/100g de MS)
	T0	1	18/07/2018	246.00	145.50	0.6	92.9	0.230	0.230	206	0.207
		2	18/07/2018	246.00	144.50	1.0	92.5	0.200	0.200	209	0.211
		3	18/07/2018	246.00	139.40	0.8	92.2	0.220	0.220	219	0.221
		4	18/07/2018	246.00	151.40	0.90	93.0	0.200	0.200	226	0.228
R_V+U-	T21	1	14/08/2018	265.10	125.19	0.8	91.4	0.200	0.200	231	0.233
		2	14/08/2018	265.63	127.62	0.9	91.5	0.190	0.190	243	0.245
		3	14/08/2018	265.19	130.08	1.0	91.9	0.180	0.180	213	0.215
		4	14/08/2018	266.20	126.41	1.4	90.9	0.190	0.190	233	0.236
N+_V+U-	T21	1	14/08/2018	268.01	135.05	0.8	92.9	0.160	0.160	235	0.237
		2	14/08/2018	265.04	133.67	0.7	92.4	0.170	0.170	229	0.231
		3	14/08/2018	269.91	132.05	0.8	92.1	0.220	0.220	229	0.231
		4	14/08/2018	269.77	134.44	0.8	92.1	0.210	0.210	232	0.234
P+_V+U-	T21	1	14/08/2018	269.14	135.80	0.9	92.5	0.160	0.160	230	0.232
		2	14/08/2018	264.69	130.98	0.7	92.5	0.170	0.170	207	0.208
		3	14/08/2018	266.23	130.73	1.2	91.6	0.170	0.170	264	0.267
		4	14/08/2018	265.09	131.46	1.3	92.0	0.170	0.170	275	0.279
NP+_V+U-	T21	1	14/08/2018	265.80	124.39	0.8	91.4	0.190	0.190	229	0.231
		2	14/08/2018	266.79	130.49	1.5	91.0	0.170	0.170	228	0.231
		3	14/08/2018	265.94	133.45	0.6	91.5	0.200	0.200	234	0.235
		4	14/08/2018	267.31	138.68	0.6	91.9	0.180	0.180	218	0.219
R_V+U+	T21	1	14/08/2018	268.23	136.76	0.5	92.4	0.200	0.200	234	0.235
		2	14/08/2018	266.35	135.17	0.4	92.7	0.200	0.200	243	0.244
		3	14/08/2018	265.32	138.95	0.5	92.8	0.190	0.190	248	0.249
		4	14/08/2018	266.69	134.53	0.4	92.3	0.210	0.210	234	0.235
N+_V+U+	T21	1	14/08/2018	272.65	146.76	0.5	93.5	0.170	0.170	204	0.205
		2	14/08/2018	265.19	135.41	0.5	93.2	0.190	0.190	207	0.208
		3	14/08/2018	266.04	142.89	1.0	93.0	0.190	0.190	199	0.201
		4	14/08/2018	269.50	140.55	0.5	93.4	0.190	0.190	213	0.214
P+_V+U+	T21	1	14/08/2018	265.04	135.94	0.5	93.4	0.200	0.200	209	0.210
		2	14/08/2018	267.04	137.58	0.6	93.4	0.190	0.190	207	0.208
		3	14/08/2018	267.63	141.17	0.7	93.3	0.180	0.180	206	0.207
		4	14/08/2018	266.99	137.26	0.3	93.4	0.200	0.200	205	0.206
NP+_V+U+	T21	1	14/08/2018	268.21	133.13	0.8	92.4	0.210	0.210	199	0.201
		2	14/08/2018	266.37	128.61	1.2	91.7	0.210	0.210	218	0.221
		3	14/08/2018	266.06	128.49	0.9	92.0	0.230	0.230	224	0.226
		4	14/08/2018	267.00	124.52	1.4	91.7	0.230	0.230	228	0.231

