



CENTRE D'ÉTUDE  
& DE VALORISATION  
DES ALGUES

ALGAE TECHNOLOGY  
& INNOVATION  
CENTRE

Compléments d'études sur les processus  
biologiques et sédimentologiques impliqués  
dans la marée verte

CIMAV P3

Rapport final  
Mars 2020



CEVA





## SOMMAIRE

---

FIGURES .....	1
TABLEAUX .....	3
CONTEXTE ET OBJECTIFS .....	4
<b>OBJECTIF 1 – DESCRIPTION DE LA PROLIFERATION SUR LA VASIERE DU LEDANO : DONNEES POUR LA VALIDATION DU MODELE MARS 3D-ULVES .....</b>	<b>6</b>
<b>1. Principe et stratégie d'échantillonnage .....</b>	<b>6</b>
<b>2. Matériel et méthode.....</b>	<b>8</b>
2.1. Acquisition des données biologique.....	8
2.1.1. Mesure de biomasse et détermination des espèces en présence.....	8
2.1.2. Analyse des contenus internes en azote et en phosphore .....	8
2.2. Acquisitions des données physico-chimiques .....	8
<b>3. Résultats.....</b>	<b>9</b>
3.1. Suivi des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer .....	9
3.1.1. Suivi de la température et de la salinité .....	9
3.1.2. Suivi des concentrations en nitrates.....	10
3.1.3. Suivi des concentrations en ammonium.....	10
3.1.4. Suivi des concentrations en phosphates.....	10
3.2. Suivi des deux types d'ulves sur l'estran .....	12
3.2.1. Suivi des biomasses algales.....	12
3.2.2. Suivi des quotas azotés et phosphorés des tissus algaux .....	12
<b>4. Discussion.....</b>	<b>16</b>
<b>OBJECTIF 2 – CARACTERISATION DES TRAITS ECOPHYSIOLOGIQUES DES MACROALGUES DOMINANTES SUR LES VASIERES.....</b>	<b>17</b>
<b>1. Principe.....</b>	<b>17</b>
<b>2. Matériel et méthode.....</b>	<b>17</b>
2.1. Prélèvement <i>in situ</i> et acclimatation des algues .....	17
2.2. Identification morphologique et moléculaire des espèces .....	17
2.3. Expérimentation d'écophysiologie .....	18
2.3.1. Expérimentation 1 – Mesure des taux de croissance .....	18
2.3.2. Expérimentation 2 – Mesure des paramètres d'absorption en nutriments .....	19
<b>3. Résultats.....</b>	<b>23</b>
3.1. Identification morphologique et moléculaire.....	23
3.1.1. Ulves en lame.....	23
3.1.1. Ulves filamenteuses .....	23
3.2. Expérimentation d'écophysiologie 1 .....	25
3.2.1. Ulve en lame .....	25
3.2.2. Ulves filamenteuses .....	29
3.2.3. Comparaison des deux types d'ulves.....	32
3.3. Expérimentation d'écophysiologie 2 .....	35
3.3.1. Suivi des concentrations .....	35
3.3.2. Détermination des paramètres cinétiques .....	36
3.3.3. Comparaison des cinétiques d'absorption entre les deux types d'ulves.....	38



<b>4. Discussion</b> .....	<b>42</b>
<b>5. Conclusion</b> .....	<b>46</b>
<b>OBJECTIF 3 – OPERATIONNALISATION DU MODELE ECOLOGIQUE MARS3D-ULVES</b> .....	<b>47</b>
<b>1. Principe</b> .....	<b>47</b>
<b>2. Matériels et méthodes</b> .....	<b>47</b>
2.1. Expérimentation d'écophysiologie 1 .....	48
2.2. Expérimentation d'écophysiologie 2 .....	48
<b>3. Résultats</b> .....	<b>48</b>
3.1. Expérimentation d'écophysiologie 1 .....	48
3.2. Expérimentation d'écophysiologie 2 .....	51
<b>4. Discussion</b> .....	<b>53</b>
4.1. Expérimentation d'écophysiologie 1 .....	53
4.2. Expérimentation d'écophysiologie 2 .....	53
<b>5. Conclusion</b> .....	<b>53</b>
<b>ANNEXES</b> .....	<b>58</b>



## FIGURES

Figure 1 : Illustration de la vasière du Lédano (estuaire du Trieux, Côtes d'Armor) et localisation des transects d'échantillonnage. Les transects pour les analyses biologiques et physico-chimiques sont représentés par les lignes bleues et noires respectivement. ....	7
Figure 2. Illustration du positionnement du quadrat.....	8
Figure 3. Données de températures (a) et de salinités (b) mesurées en surface aux 8 sites d'échantillonnages et pour les trois missions réalisées sur la vasière du Lédano.....	9
Figure 4. Distribution spatiale des concentrations en nitrates (a), ammonium (b) et phosphates (c) sur les 10 points d'échantillonnage au cours des trois missions (1 : en juin, 2 : en juillet, 3 : en septembre). Tous les échantillons ont été prélevés en surface, sauf à H2 et H7 où ils ont été échantillonnés en profondeur à la même localisation que les points H1 et H6 respectivement.....	11
Figure 5. Distribution spatiale des biomasses des deux types d'ulves (en lame et filamenteuses) sur les 9 sites d'échantillonnage et pour les trois missions réalisées au cours de la saison (1 : en juin, 2 : en juillet, 3 : en septembre).....	13
Figure 6. Distribution spatiale des quotas azotés des deux types d'ulves (en lame et filamenteuses) sur les 9 sites d'échantillonnage et pour les trois missions réalisées au cours de la saison (1 : en juin, 2 : en juillet, 3 : en septembre).....	14
Figure 7. Distribution spatiale des quotas phosphorés des deux types d'ulves (en lame et filamenteuses) sur les 9 sites d'échantillonnage et pour les trois missions réalisées au cours de la saison (1 : en juin, 2 : en juillet, 3 : en septembre).....	15
Figure 8. Schéma du dispositif expérimental pour l'étude à moyen terme.....	18
Figure 9. Schéma du dispositif expérimental pour l'étude à court terme.....	20
Figure 10. Représentation graphique type des vitesses d'absorption d'un nutriment (V) en fonction de la concentration initiale de ce nutriment (C), suivant l'équation de Michaelis-Menten.....	22
Figure 11. Photographie de l'ulve en lame (à droite) et vue microscopique du thalle (à gauche).....	23
Figure 12. Photographie des ulves filamenteuse (A, B, C, D) associée à une vue microscopique des thalles. ....	24
Figure 13. Biomasses et taux de croissance exprimés en matière sèche (MS) des ulves en lame, quotas azotés et phosphorés internes des tissus et quantités d'azote et de phosphore fixées à l'issue des 12 jours d'incubation et selon les 5 modalités de concentrations testées ( $\pm$ écart type ; n=4). Les lettres en italiques correspondent aux résultats de l'analyse statistique des étendues multiples; chaque lettre correspondant à un groupe de données statistiquement identiques à un niveau de confiance de 95%. ....	27
Figure 14. Photographies des ulves en lame dans les différents milieux d'incubation aux temps T0 et T12 (en haut), associées à un aperçu des thalles à l'échelle cellulaire (en bas ; objectif x 20, microscope optique droit ZEISS Axio Lab.A1). ....	28
Figure 15. Biomasses et taux de croissance exprimés en matière sèche (MS) des ulves filamenteuses, quotas azotés et phosphorés internes des tissus et quantités d'azote et de phosphore fixées à l'issue des 12 jours d'incubation et selon les 5 modalités de concentrations testées ( $\pm$ écart type ; n=4). Les données de quotas phosphorés et de fixation de phosphore pour les ulves filamenteuses sous les modalités N+P+ et NH <sub>4</sub> +P+ ne sont pas disponibles (n.d.). Les lettres en italiques correspondent aux résultats de l'analyse statistique des étendues multiples; chaque lettre correspondant à un groupe de données statistiquement identiques à un niveau de confiance de 95%. ....	30
Figure 16. Photographies des ulves filamenteuses dans les différents milieux d'incubation aux temps T0 et T12. ....	31
Figure 17. Comparaison interspécifique des taux de croissance (a), des quotas azotés (b) et phosphorés (c), ainsi que des quantités d'azote (d) et de phosphores fixées (e) entre les deux types d'ulves étudiées et pour chaque modalité de concentrations testée ( $\pm$ écart type ; n=4). Les données de quotas phosphorés et de fixation de phosphore pour les ulves filamenteuses dans les conditions N+P+ et NH <sub>4</sub> +P+ ne sont pas disponibles (n.d.) ...	33
Figure 18. Evolution temporelle des concentrations en nitrates, ammonium et phosphates dans chaque milieu d'incubation (R, C1-7) pour les ulves en lame (a-c) et filamenteuses (d-f). ....	36
Figure 19. Vitesses d'absorption en nitrates, ammonium et phosphates en fonction de la concentration en nutriments dans le milieu d'incubation pour les ulves en lames (a-c) et filamenteuses (d-f) et pour chaque pas de temps étudié. ....	37



Figure 20. Comparaison interspécifique des cinétiques d'absorption en nitrates des deux types d'ulves étudiés pour chaque intervalle de temps. La ligne en pointillée indique la valeur en abscisse du Km. .... 39

Figure 21. Comparaison interspécifique des cinétiques d'absorption en ammonium des deux types d'ulves étudiés pour chaque intervalle de temps. La ligne en pointillée indique la valeur en abscisse du Km. .... 40

Figure 22. Comparaison interspécifique des cinétiques d'absorption en phosphates des deux types d'ulves étudiés pour chaque intervalle de temps. La ligne en pointillée indique la valeur en abscisse du Km. .... 41

Figure 23. Quotas et biomasses mesurés (cercle) et modélisés (ligne) en fonction des différentes modalités de l'expérimentation écophysiological 1 à long terme. QN : Quota en azote ; QP : Quota en phosphore. Les tirets horizontaux représentent les quotas critiques et les lignes en pointillés représentent les quotas de subsistance utilisés dans le modèle. MS : Masse sèche. .... 50

Figure 24: Evolutions temporelles des concentrations en nitrate pour les modalités (N+) C1=0  $\mu$ M, C4=20  $\mu$ M et C7=200  $\mu$ M mesurées (points vert) et modélisées (ligne). En bleu est représenté l'évolution temporelle des concentrations en nitrate modélisées avec les paramètres cinétiques d'absorption de l'azote issus du modèle Mars-Ulve (Perrot et al ; 2014). En rouge est représentée l'évolution temporelle des concentrations en nitrate modélisées avec les paramètres cinétiques d'absorption de l'azote issus des expérimentations. .... 52



## TABLEAUX

---

Tableau 1. Coordonnées géographiques associées aux sites de prélèvement en eau de mer (H1-10) et en algues (QB1-9) sur la vasière du Lédano. ....	7
Tableau 2. Temps de prélèvement des échantillons d'eau de mer pour chaque type d'enrichissement en nutriments au cours des 240 min d'incubation. ....	21
Tableau 3. Résumé statistique des données de taux de croissance, de quotas azotés et phosphorés, et de quantités d'azote et de phosphore fixées ; associées aux résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon (à niveau de confiance de 95 %). ....	34
Tableau 4. Paramètres cinétiques d'absorption en ammonium, nitrates et phosphates pour les ulves en lame. Les valeurs en gris indiquent les fortes valeurs de Vmax et Km associées aux profils cinétiques linéaires.....	38
Tableau 5. Paramètres cinétiques d'absorption en ammonium, nitrates et phosphates pour les ulves filamenteuses. Les valeurs en gris indiquent les fortes valeurs de Vmax et Km associées aux profils cinétiques linéaires. ....	38
Tableau 6. Synthèse des données de paramètres cinétiques d'absorption en nitrates, ammonium et phosphates issues de la littérature et des précédentes études CEVA. (2010; 2012; 2002; 2003; 2012) .....	44
Tableau 7: Paramètres biochimiques du modèle 0D pour les ulves. ....	47



## CONTEXTE ET OBJECTIFS

---

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

- FRGT02 : Bassin maritime de la Rance
- FRGT03 : Le Trieux
- FRGT06 : Rivière de Morlaix
- FRGT07 : La Penzé
- FRGT08 : L'Aber Wrac'h
- FRGT14 : Rivière de Pont l'Abbé
- FRGT20 : Le Blavet
- FRGT21 : Rivière d'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 les 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 mis en place une méthodologie qui vise à utiliser les ulves pour déterminer la contribution de la fourniture sédimentaire à la biomasse créée. Une combinaison d'expérimentations *in situ* (vasière du Lédano, estuaire du Trieux, Côtes d'Armor) et en conditions contrôlées, ont été réalisées entre 2016 et 2018 par le CEVA en trois projets distincts avec une approche commune ; à savoir la mesure de la croissance et des contenus internes en azote et en phosphore des ulves en contact ou non avec la vase.

Les résultats obtenus sur trois années (CEVA 2016, 2017, 2018) ont mis en évidence le rôle du sédiment dans la croissance des algues sur la zone test appréhendée (vasière du Lédano). Néanmoins dans les conditions testées, cet apport ne semble pas significatif pour déclencher des proliférations d'algues vertes sur les vasières. Les apports en nutriments d'origine sédimentaire interviendraient en soutien de la marée verte déjà installée, en particulier pour l'élément phosphore en fin de saison de prolifération.

Dans la continuité des actions décrites ci-dessus et afin de caractériser les flux sédimentaires (N et P) contribuant à la biomasse algale créée, le projet « Impact du sédiment sur les proliférations de macroalgues sur vasières (Impro) » a été lancé mi-janvier 2019. Financé par la Région Bretagne et l'Agence de l'Eau Loire-Bretagne et regroupant des experts sur le sujet (Universités de Bordeaux et Rennes, Ifremer et CEVA), ce projet vise à acquérir des données précises de flux sédimentaires sur différents sites stratégiques bretons dont la vasière du Lédano (axe 2 dédié à ce site).

Dans l'objectif de soutenir cet effort de connaissance des processus à l'œuvre sur cette vasière, le CEVA a proposé en 2019 de mener des campagnes d'échantillonnage (3 campagnes) sur l'anse du Lédano afin d'acquérir des données biologiques (identification d'espèces en présence, biomasse et contenu algal en azote et phosphore) et physico-chimiques (température, salinité,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{PO}_4^{3-}$ ) destinées à caler/valider le modèle EcoMars-Ulves appliqué à la vasière du Lédano (**Objectif 1**). Ce modèle sera



ensuite exploité tel que défini dans l'axe 4 du projet Impro pour permettre *in fine*, le traçage par modélisation de l'azote contenu dans les ulves (y compris la part sédimentaire) et de tester l'impact de la réduction des flux d'azote sur les proliférations.

De plus, afin d'approfondir les connaissances des proliférations sur les masses d'eau de transition (vasières en majorité), le CEVA a proposé de déterminer les caractéristiques écophysiologiques des espèces dominant les blooms de macroalgues en zones estuariennes. Depuis plusieurs dizaines d'années, les suivis effectués par le CEVA indiquent la présence de biomasses importantes d'algues vertes dont les formes filamenteuse et en lame varient en proportion entre les sites et, dont la succession saisonnière reste peu décrite.

En effet, la coexistence de différentes espèces pourrait stimuler la durée et l'extension des proliférations algales par le biais de successions spatiales et temporelles d'espèces ayant des exigences écologiques différentes. Par manque de données disponibles sur les espèces en présence, l'ensemble des espèces d'ulves, incluant celles possédant un thalle tubulaire monostromatique (anciennement du genre *Enteromorpha* ; Hayden et al, 2003) ou un thalle laminaire distromatique, est à ce jour pris en compte dans le calcul de l'indicateur biologique « bloom d'algues vertes opportunistes » pour l'évaluation de la qualité des masses d'eau dans le cadre de la DCE. De la même manière, les composantes biologiques incluses dans le modèle Mars Ulves utilisé, sont basées sur les données écophysiologiques des algues vertes de type *Ulva* de morphologie en lame sans distinction sur l'espèce.

Il s'agit donc ici, d'identifier les paramètres environnementaux contrôlant le développement et la composition des marées vertes sur la zone estuarienne du Trieux et de caractériser les traits écophysiologiques propres aux espèces dominant les efflorescences (**Objectif 2**).

La connaissance de ces paramètres vise par ailleurs à enrichir le modèle Mars Ulves (**Objectif 3**) et, le cas échéant, à faire évoluer les indicateurs biologiques, qui intègrent actuellement pour les vasières l'ensemble des espèces d'algues vertes sans distinction spécifique.



## OBJECTIF 1 – DESCRIPTION DE LA PROLIFÉRATION SUR LA VASIÈRE DU LEDANO : DONNEES POUR LA VALIDATION DU MODELE MARS 3D-ULVES

---

### 1. Principe et stratégie d'échantillonnage

La stratégie d'échantillonnage a été établie de manière à suivre la variabilité spatiale et saisonnière des communautés macro-algales (espèces en présence, biomasse et contenu algal en azote et phosphore) et des propriétés physico-chimiques de l'eau de mer (température, salinité,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{PO}_4^{3-}$ ) sur la vasière du Lédano (estuaire du Trieux, Côtes d'Armor) au cours de la saison 2019.

Au total, trois campagnes de prélèvements ont été menées afin de disposer de points de mesure pendant les différentes phases de développement des algues (Tableau 1) : la première les 04/06 juin (printemps), la seconde les 01/08 juillet (début été), et la dernière les 03/04 septembre (fin d'été).

La vasière du Lédano a été sélectionnée car il s'agit :

- d'une vasière située dans une masse d'eau de transition (FRGT03) identifiée comme prioritaire dans le SDAGE 2016-2021 sur la problématique de la prolifération des algues vertes sur vasière. En effet, le site est classé en état moyen selon l'indicateur biologique « bloom opportuniste ».
- du site d'étude du CIMAV P3 (2016-2018) pour la détermination de la contribution de la fourniture sédimentaire à la biomasse algale créée en zone de vasière.
- du site d'étude du projet IMPRO (2019-2021) pour la mesure des flux sédimentaires sur substrat vaseux. Cette étude inclut la modélisation 3D des proliférations algales.
- d'un choix stratégique au niveau budgétaire de par sa proximité au CEVA.

Deux types de missions de terrain ont été menés : des campagnes de prospection réalisées par deux opérateurs à pieds sur l'estran pour le prélèvement du matériel algal et des campagnes de prélèvements effectuées en zodiac à marée haute sur le Trieux pour l'échantillonnage de l'eau de mer et l'acquisition de ses propriétés physico-chimiques. Pour les campagnes de prospection sur vasière, trois transects d'échantillonnage composés de trois points d'observation ont été effectués afin de couvrir la zone d'estran du haut au bas de la vasière (Figure 1 et Tableau 1). Le calendrier des campagnes a été établi en fonction des marées de manière à bénéficier des plus forts coefficients (>75) et des conditions de vives eaux qui correspondent une fois sur 2 aux périodes de survol aérien de la vasière (survol mensuel sur la période d'avril à octobre). Les campagnes de prélèvements en mer ont consisté à échantillonner 8 points de mesure, correspondant à deux transects de 4 points sur la zone d'étude (Figure 1 et Tableau 1).

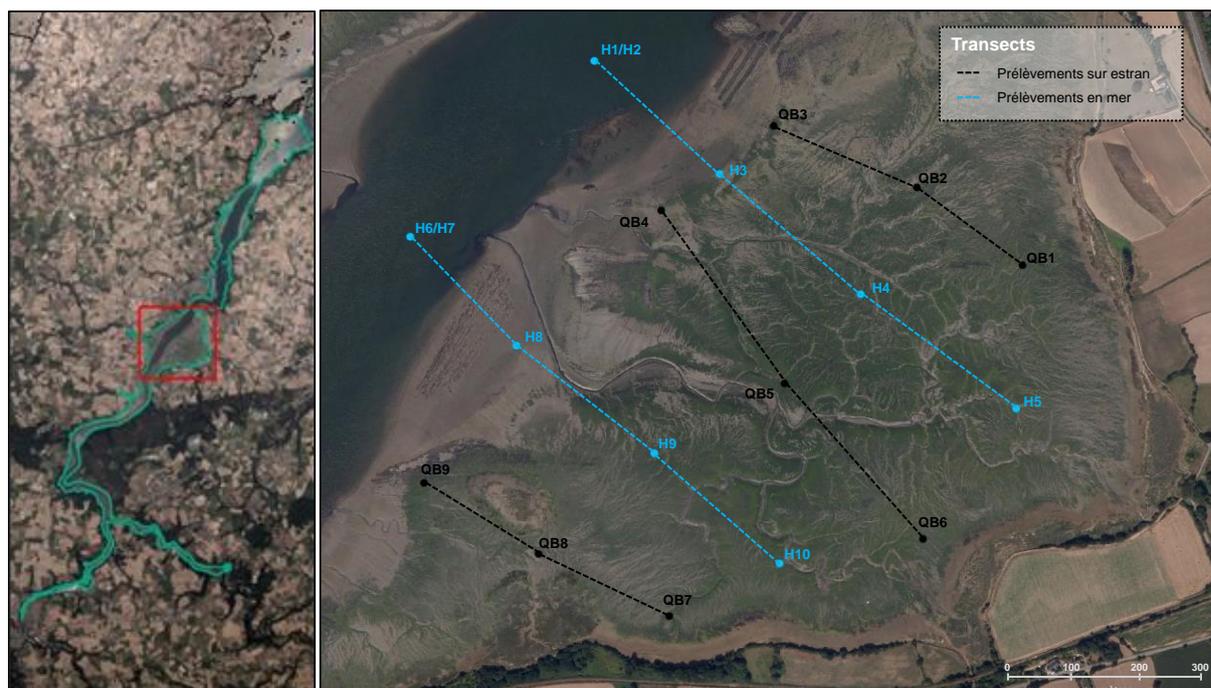


Figure 1 : Illustration de la vasière du Lédano (estuaire du Trieux, Côtes d'Armor) et localisation des transects d'échantillonnage. Les transects pour les analyses biologiques et physico-chimiques sont représentés par les lignes bleues et noires respectivement.

Type de suivi	Sites	Latitude	Longitude
Campagnes en mer	H1 et H2	48.7741530	-3.1117750
	H3	48.7726960	-3.1089500
	H4	48.7711640	-3.1057770
	H5	48.7697300	-3.1023170
	H6 et H7	48.7714800	-3.1153660
	H8	48.7700700	-3.1129460
	H9	48.7687130	-3.1098730
	H10	48.7672950	-3.1070410
Campagnes sur estran	QB1	48.7717420	-3.1024290
	QB2	48.7727200	-3.1047860
	QB3	48.7734340	-3.1078910
	QB4	48.7721190	-3.1101200
	QB5	48.7698240	-3.1072440
	QB6	48.7677970	-3.1040680
	QB7	48.7664370	-3.1092860
	QB8	48.7671670	-3.1121470
	QB9	48.7680391	-3.1146790

Tableau 1. Coordonnées géographiques associées aux sites de prélèvement en eau de mer (H1-10) et en algues (QB1-9) sur la vasière du Lédano.



## 2. Matériel et méthode

### 2.1. Acquisition des données biologique

#### 2.1.1. Mesure de biomasse et détermination des espèces en présence

Un binôme s'est rendu sur le terrain pour l'évaluation des biomasses et l'identification des espèces présentes. Sur chaque point du transect, un quadrat d' $\frac{1}{4}$  m<sup>2</sup> a été disposé sur un dépôt algal représentatif de la zone (épaisseur et composition) de façon à ce qu'il couvre une surface comportant 100 % d'algues vertes. Dans le cas où la surface du quadrat excède la surface de dépôt à 100 % de taux de recouvrement, des notes ont été prises afin d'en tenir compte dans le traitement de données. Les algues contenues dans le quadrat ont été collectées dans un filet (Figure 2). Celui-ci a ensuite été trempé dans l'eau de façon à réhumidifier les algues et les débarrasser de la présence de sable ou de vase. Cette étape est importante puisqu'elle permet de supprimer le biais de mesure induit par le degré de déshydratation des algues et la présence de sédiment, plus important en haut d'estran. Le sac a ensuite été maintenu en suspension durant 1 minute, à l'issue de laquelle la mesure de la biomasse algale a été effectuée à l'aide d'un peson. En cas de dépôt mixte, après la phase de pesée, les échantillons ont fait l'objet d'un tri en laboratoire pour estimer la proportion de chacune des espèces majoritaires dans la biomasse prélevée (forme filamenteuse et en lame).

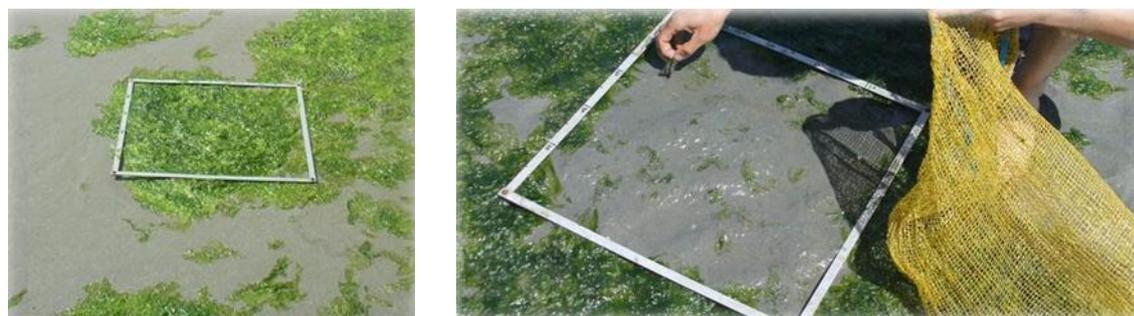


Figure 2. Illustration du positionnement du quadrat

#### 2.1.2. Analyse des contenus internes en azote et en phosphore

Le matériel algal a été acheminé au laboratoire, où les ulves préalablement triés ont été rincés (plusieurs fois si nécessaire) à l'eau de mer pour supprimer tout résidu de sable, de débris végétaux ou animaux. L'emploi de l'eau de mer est indispensable pour éviter un choc osmotique qui induirait la lyse des cellules algales. L'échantillon a ensuite été rincé rapidement (quelques secondes) à l'eau déminéralisée de façon à s'affranchir du biais induit par le sel sur les analyses ultérieures. Les échantillons ont été congelés à -20 °C avant d'être lyophilisés. Cette étape de déshydratation remplace le passage à l'étuve et présente l'avantage d'éviter plusieurs étapes de manipulation des algues qui peuvent être à l'origine de contamination et induire des résultats erronés.

Les échantillons lyophilisés ont été envoyés à un laboratoire d'analyse (Upscience), certifié COFRAC et travaillant depuis plusieurs années sur les échantillons algaux du CEVA, qui, après une étape de broyage, réalise les analyses de contenus internes en azote (Kjeldahl 1883) et en phosphore total (minéralisation par voie sèche et analyses ICP-AES).

### 2.2. Acquisitions des données physico-chimiques

Les prélèvements en mer ont été effectués à partir du zodiac du CEVA, à marée haute. Les échantillons ont été prélevés au moyen d'une bouteille Niskin en deçà de la surface (-1 mètre) à chacun des huit points d'échantillonnage établis (Figure 1), et également en profondeur (H2 et H7) pour les deux points localisés sur le lit de la rivière (H1 et H6 respectivement). À chaque point, l'eau de mer a été recueillie



dans un flacon en propyléthylène de 250 mL préalablement rincés trois fois à l'eau de mer. Afin de fixer la composition chimique des échantillons, chaque flacon a été empoisonné avec 1 mL de chlorure mercurique ( $\text{HgCl}_2$ ) à 6g/L et maintenu à l'obscurité. À chaque point d'échantillonnage, des mesures de température et de salinité (Profiline Multi 197i) des eaux de surface ont été également effectuées.

Les échantillons d'eau de mer ont été analysés par à un prestataire agréé (Eurofins) pour l'estimation des concentrations en nutriments (nitrates, phosphates et ammonium).

### 3. Résultats

#### 3.1. Suivi des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer

##### 3.1.1. Suivi de la température et de la salinité

Les températures en surface étaient relativement homogènes sur l'ensemble de la zone d'étude (Figure 3). Elles avoisinaient  $15,5 \pm 0,1$  °C en juin, puis  $19,2 \pm 0,3$  °C en juillet et  $19,0 \pm 0,1$  °C en septembre

En termes de salinité, on observe un léger gradient positif du haut de l'estran vers le lit de la rivière en juin, juillet et septembre (33,6-34,8). Une valeur maximale de 37,7 a été relevée au niveau du site H1 situé dans le lit de la rivière en septembre.

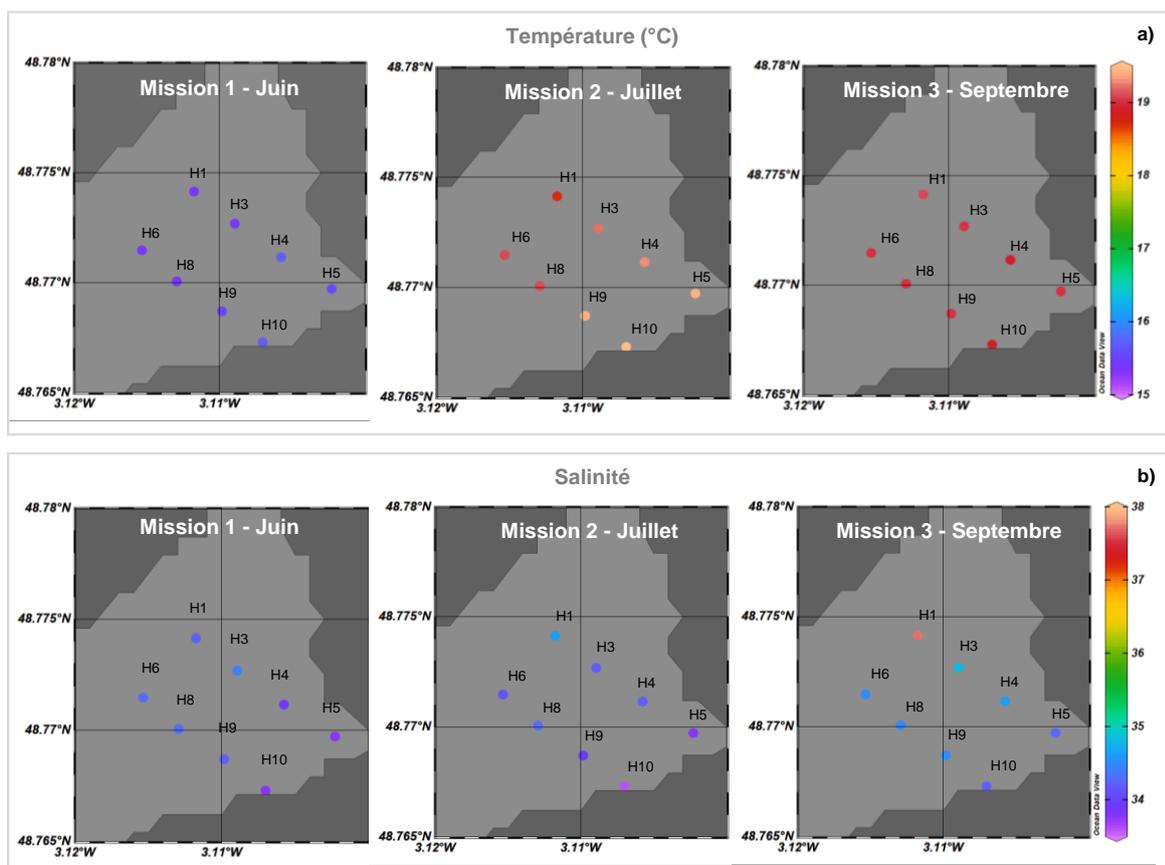


Figure 3. Données de températures (a) et de salinités (b) mesurées en surface aux 8 sites d'échantillonnages et pour les trois missions réalisées sur la vasière du Lédano.



### 3.1.2. *Suivi des concentrations en nitrates*

Au sein d'un site, les concentrations en nitrates étaient plus élevées en juin-juillet (valeurs comprises entre 5-13  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ) qu'en septembre (valeurs < 5  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ) (Figure 4). Les plus fortes concentrations ont été relevées en haut de vasière, aux sites H5 et H10 (10-13  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ).

À H1/H2, au niveau du lit de la rivière, les concentrations en nitrates atteignaient 9,3-9,8  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  en juin et ont fortement diminué dès le mois de juillet (valeurs < 3  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ). Aucune différence notable de concentration n'a été observée entre la surface et le fond de la rivière. En revanche, au niveau du point H6/H7, situé plus en amont dans le lit de la rivière, les concentrations en nitrates étaient plus élevées en surface (5,1-8,1  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ) qu'au fond de la rivière (1,4-3,4  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ).

### 3.1.3. *Suivi des concentrations en ammonium*

La majorité des sites étudiés (H5, H6/H7, H8 et H9) ont montré une augmentation de leurs concentrations en ammonium au cours du temps, allant de valeurs < à 0,5  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  en juin à des valeurs comprises entre 0,66 et 1,1  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  en septembre (Figure 4).

Les deux sites H4 et H10 ont montré des concentrations en ammonium proches de 1,0  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  quelle que soit la période de prélèvement.

Seuls les sites H1 et H3 ont présentés de faibles concentrations en ammonium tout au long de la saison (< 0,57  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ).

Les valeurs rapportées en surface aux points H1 et H6 étaient relativement similaires à celles relevées au fond de la colonne d'eau (H2 et H7).

### 3.1.4. *Suivi des concentrations en phosphates*

Les concentrations en phosphates ont, pour la majorité des sites (H5 à H10), augmenté au cours de la saison, doublant en septembre la valeur rapportée en juin : les concentrations étaient généralement < à 0,4  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  en début de saison et ont atteint des valeurs maximales à 0,7-0,8  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  en septembre (Figure 4).

Aux sites H1 et H3, les concentrations ont, à l'inverse, diminué au cours de la saison et ont avoisiné des valeurs proches de 0,4  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  en septembre.

La plus forte concentration en phosphate (0,99  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ) a été relevée en juin au fond de la rivière à H2. Cette valeur était supérieure à celle mesurée en surface (0,45  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ). Au fond de la rivière plus en amont, à H7, les concentrations sont restées stables au cours du temps (environ 0,4  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ).

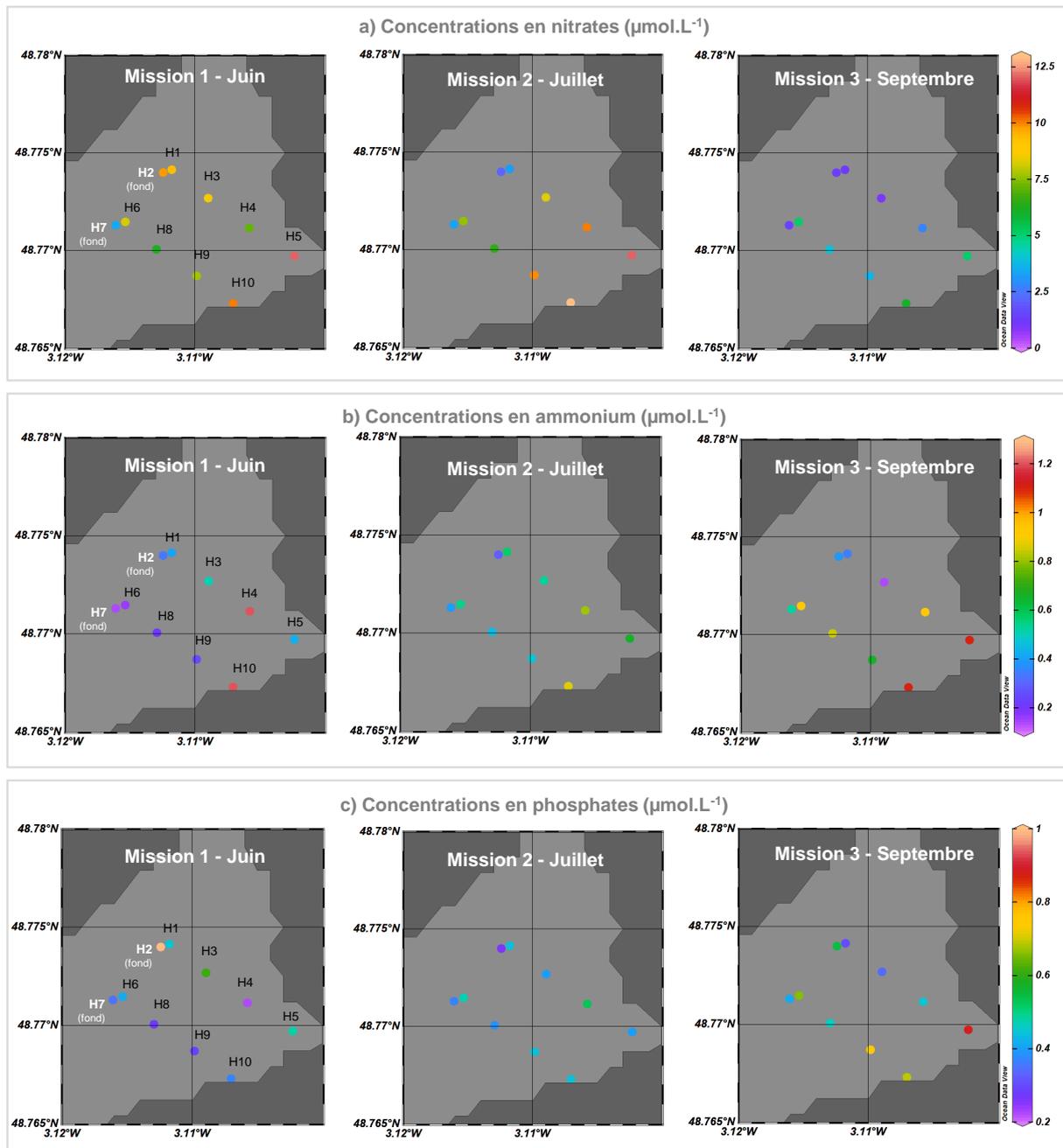


Figure 4. Distribution spatiale des concentrations en nitrates (a), ammonium (b) et phosphates (c) sur les 10 points d'échantillonnage au cours des trois missions (1 : en juin, 2 : en juillet, 3 : en septembre). Tous les échantillons ont été prélevés en surface, sauf à H2 et H7 où ils ont été échantillonnés en profondeur à la même localisation que les points H1 et H6 respectivement.



## 3.2. Suivi des deux types d'ulves sur l'estran

### 3.2.1. Suivi des biomasses algales

La Figure 5 représente la distribution spatiale des biomasses des deux types d'ulves aux 9 sites échantillonnés et leur évolution temporelle au cours des trois missions d'échantillonnage (juin, juillet et septembre).

Début juin, les biomasses algales (deux types d'ulves confondus), prélevées dans les quadrats de 0,25 m<sup>2</sup>, étaient généralement comprises entre 500 et 1000 g (poids égoutté), puis elles ont évolué différemment d'un site à l'autre au cours de la saison. Les plus fortes biomasses algales (1600-2200 g) ont été relevées en juillet aux sites QB2 et QB6, puis en septembre au site QB1. Les plus faibles biomasses (< 500 g) de l'étude ont été observées en septembre aux sites QB2, QB3, QB4 et QB8.

Les ulves filamenteuses ont globalement dominé les biomasses d'algues vertes (à 85,8 ± 11,5 %) sur la majorité des sites et aux trois périodes visitées. Les plus fortes biomasses d'ulves en lame ont été relevées en haut de vasière (QB6-7-8), où elles contribuaient en moyenne à 54,6 ± 6,8 % de la biomasse totale d'algues vertes.

### 3.2.2. Suivi des quotas azotés et phosphorés des tissus algaux

Les Figure 6 et Figure 7 représentent les distributions spatiales des quotas azotés et phosphorés des deux types d'ulves aux 9 sites échantillonnés et leurs évolutions temporelles à partir des trois missions d'échantillonnage (juin, juillet et septembre).

Les deux types d'ulves étaient caractérisés par des quotas azotés relativement similaires sur la majorité des sites du Lédano en juin (en moyenne 3,54 ± 0,45 g/100g MS), excepté aux trois stations QB1-3, où de plus fortes valeurs ont été relevées pour les ulves filamenteuses (4,10-4,55 g/100g MS contre 3,14-3,37 g/100g MS). Au cours de la saison, les quotas azotés des deux types d'ulves ont ensuite évolué de la même manière : une diminution générale a été notée sur la majorité des sites. Les plus faibles valeurs de quotas azotés ont été observées en septembre au niveau des sites QB1 (2,52 g/100g MS pour les ulves filamenteuses), QB8 (1,97 g/100g MS et 2,62 g/100g MS pour les ulves filamenteuses et en lame respectivement) et QB9 (2,38 g/100g MS pour les ulves filamenteuses).

Les quotas phosphorés des deux types d'ulves étaient relativement similaires en juin, avoisinant en moyenne 0,130 ± 0,029 g/100g MS. Puis une augmentation des quotas a été observée en septembre pour la majorité des sites, pour atteindre une valeur moyenne de 0,184 ± 0,019 g/100g MS. Seules les ulves filamenteuses ont montré une stabilisation ou une diminution de leur quotas phosphorés entre juin et septembre, et ce, au niveau des 4 sites QB1, QB2, QB8 et QB9. Les plus fortes valeurs de quotas phosphorés ont été atteintes par les ulves en lame (> 0,189 g/100g MS).

L'ensemble des données brutes est fourni en Annexe 1 et Annexe 2.

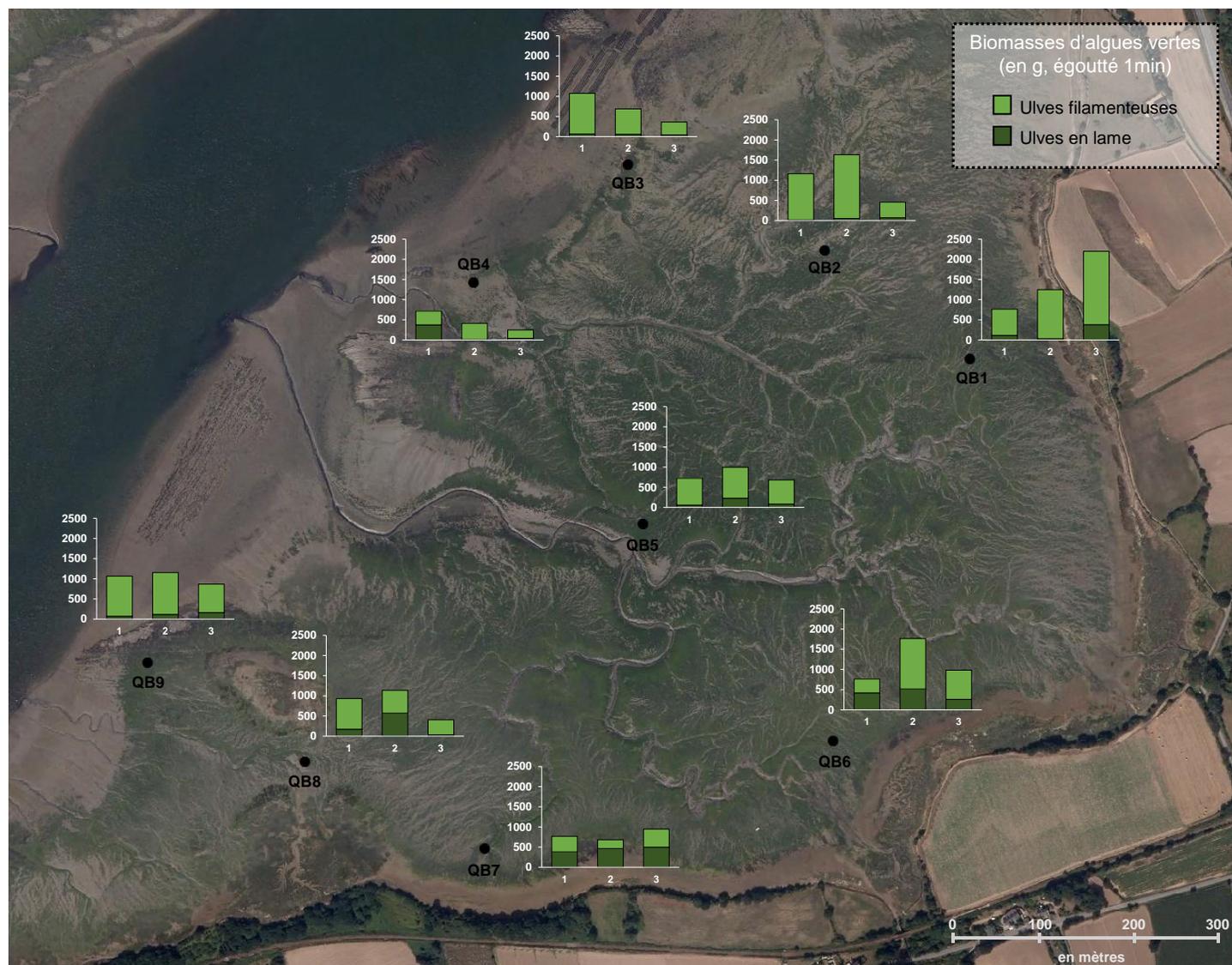


Figure 5. Distribution spatiale des biomasses des deux types d'ulves (en lame et filamenteuses) sur les 9 sites d'échantillonnage et pour les trois missions réalisées au cours de la saison (1 : en juin, 2 : en juillet, 3 : en septembre)



Figure 6. Distribution spatiale des quotas azotés des deux types d'ulves (en lame et filamenteuses) sur les 9 sites d'échantillonnage et pour les trois missions réalisées au cours de la saison (1 : en juin, 2 : en juillet, 3 : en septembre)

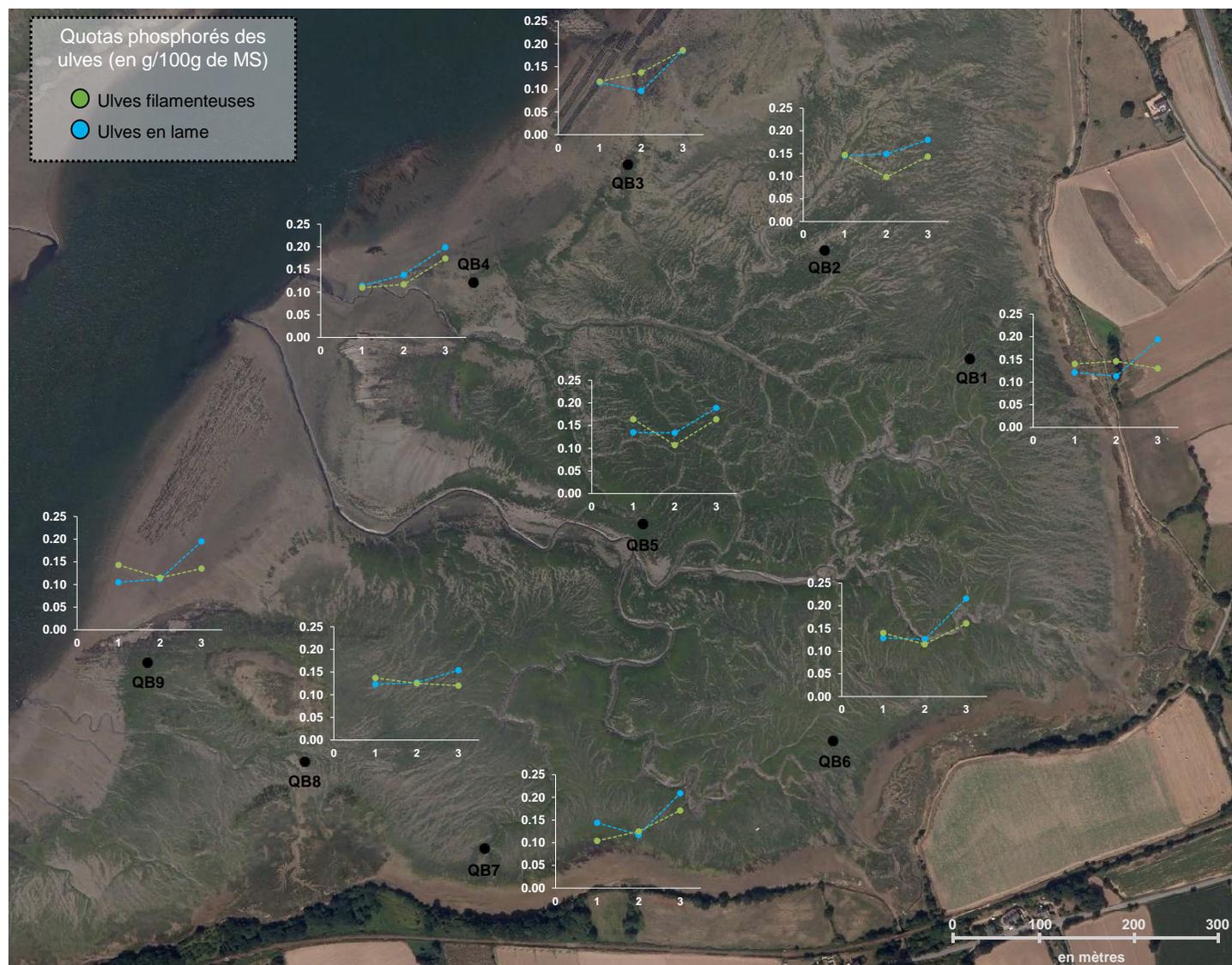


Figure 7. Distribution spatiale des quotas phosphorés des deux types d'ulves (en lame et filamenteuses) sur les 9 sites d'échantillonnage et pour les trois missions réalisées au cours de la saison (1 : en juin, 2 : en juillet, 3 : en septembre)



## 4. Discussion

Les données biologiques et physico-chimiques récoltées en juin, juillet et septembre 2019 sur la vasière du Lédano sont destinées à caler/valider le modèle EcoMars-Ulves. De fait, la discussion portera exclusivement sur une comparaison aux données *in situ* disponibles, à savoir : (1) celles acquises par le CEVA dans le cadre des trois précédentes études CIMAV P3 (saisons 2016, 2017 et 2018) et (2) celles issues des suivis du programme REPHY mis en œuvre par l'Ifremer, au niveau du Lédano (points 027-P-014 et 027-P-030). Dans le cadre des trois études CIMAV P3, un dispositif expérimental avait été installé sur un point de la vasière (lat. 48,768710 ; long. -3,103873° ; correspondant dans la présente étude à un point situé entre H5 et H10) et des expérimentations incluant un suivi saisonnier des quotas azotés et phosphorés des ulves (en lame) avait été réalisées. Un suivi régulier de la température et de l'intensité lumineuse avaient été mis en place uniquement pour les saisons 2017 (du 23/05 au 18/09) et 2018 (du 03/07 au 13/09) ; et un suivi des concentrations en nutriments de l'eau de mer seulement en 2018.

En 2019, la *température de l'eau* au niveau de la vasière du Lédano a rapidement augmenté au cours de la saison, passant de 15°C environ en juin, à des valeurs supérieures à 19°C en juillet. Cette rapide augmentation a aussi été notée en 2017, où la température de l'eau a atteint 19°C fin juin. En 2018, l'eau de mer était à 19°C début juillet et a augmenté à un maximum de 21°C début août avant de redescendre à 19°C en septembre.

Les *concentrations en nutriments* mesurées dans l'eau de mer au cours de la saison 2019 étaient du même ordre de grandeur que les valeurs rapportées dans l'étude CIMAV P3 2018, et cohérentes avec les données des deux stations de suivi REPHY au niveau du Lédano. Les concentrations en nitrates sont généralement de l'ordre de 10-30  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  début juin et atteignent de faibles niveaux jusqu'en septembre ( $< 10 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ). L'évolution des concentrations en ammonium est plus variable et les valeurs sont généralement  $< 2,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$  de juin à septembre au niveau de la vasière du Lédano. Pour les phosphates, les concentrations atteignent des valeurs  $< 1,2 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . L'augmentation saisonnière des concentrations en phosphates rapportée sur la majorité des sites en 2019 avait aussi été remarquée dans l'étude CIMAV P3 2018. Il avait été suggéré que l'apport de phosphates était principalement d'origine sédimentaire dû à 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, tendant à favoriser le relargage sédimentaire en phosphore vers la colonne d'eau (Asmus, Sprung et Asmus 2000; Clavero et al. 2000; Kamer et al. 2004; Zilius et al. 2012). Par ailleurs, l'observation, au cours de la saison 2019, de plus fortes concentrations en nitrates et ammonium en haut de vasière, confirme la significativité des apports terrigènes via les cours d'eau dans la vasière du Lédano.

Les *quotas azotés et phosphorés* des ulves en lame estimés en 2019 étaient comparables aux valeurs classiquement mesurées sur la vasière du Lédano. Début juin et début juillet 2019, les quotas azotés des ulves étaient compris entre 3,12-3,71 g/100g MS, en cohérence avec les valeurs rapportées début juillet en 2016 (3,15 g/100g MS), en juin 2017 (3,18 g/100g MS) et début juillet en 2018 (3,22 g/100g MS). Les contenus en azote des ulves sont restés supérieurs au seuil critique  $Q_1\text{N}$  (2,00 g/100g MS) en septembre, indiquant que l'azote n'a pas été un élément limitant pour la croissance des algues sur la vasière du Lédano en début et fin de saison 2019. L'absence de point de mesure en août, ne permet pas d'avancer ce constat pour l'ensemble de la saison.

L'évolution saisonnière des *quotas phosphorés* des ulves en lame a été similaire pour les quatre années successives de suivi (2016-2019) et s'est caractérisée par une augmentation progressive des valeurs au cours de la saison (allant de 0,120-0,150 g/100g MS en début de saison à des valeurs  $> 0,200$  g/100g MS en fin de saison). Cette évolution pourrait être liée à l'augmentation des teneurs en phosphates disponibles dans la colonne d'eau au cours de la saison, en parallèle de la diminution saisonnière classique des taux de croissance des ulves. Les flux sédimentaires sur la vasière du Lédano ainsi que leur variation saisonnière sont actuellement étudiés dans le cadre du projet IMPRO, et permettront notamment de quantifier l'évolution des flux de phosphore au cours de la saison.



## OBJECTIF 2 – CARACTERISATION DES TRAITS ECOPHYSIOLOGIQUES DES MACROALGUES DOMINANTES SUR LES VASIERES

---

### 1. Principe

Le deuxième objectif de cette étude est d'étudier les traits écophysiologiques des espèces d'algues vertes dominant les blooms de macroalgues en zones estuariennes, et d'établir une identification complète (morphologique et moléculaire) de ces espèces afin d'approfondir nos connaissances relatives aux deux formes d'algues vertes (filamenteuses et en lame).

Pour ce faire, des expérimentations d'écophysiologie en conditions contrôlées ont été menées en laboratoire sur les deux formes d'ulves dominantes de la vasière du Lédano. Les expérimentations d'écophysiologie ont suivi la méthodologie décrite par Lotze et Schramm (2000), permettant d'étudier la dynamique nutritionnelle et de croissance des algues à court (de la minute ou de l'heure) et plus long terme (12 jours), en réponse à un apport de nutriments. La première approche, menée sur 12 jours, permet d'évaluer les taux de croissance et la capacité d'assimilation en nutriments spécifique à chaque espèce algale étudiée (Expérimentation 1). La seconde approche, dite à « court-terme », permet d'accéder à leurs paramètres cinétiques spécifiques (vitesses maximum d'absorption,  $V_{max}$  et constante de demi-saturation,  $K_m$ ; Expérimentation 2). En amont de ces expérimentations écophysiologiques, une identification morphologique permettant une identification des algues au rang du genre au minimum a été réalisée, puis complétée par une analyse moléculaire pour atteindre le rang de l'espèce.

### 2. Matériel et méthode

#### 2.1. Prélèvement *in situ* et acclimatation des algues

Les échantillons d'algues ont été prélevés sur la vasière du Lédano le 11 juin 2019 au matin. Les espèces dominantes de chaque forme d'ulves ont été échantillonnées en trois points du site, afin de s'assurer de la représentativité des observations.

Après acheminement au laboratoire, le matériel algal a été nettoyé, trié puis incubé dans des bacs d'acclimatation de 46 L contenant de l'eau de mer, sous conditions de température (16°C) et de lumière contrôlées (100  $\mu\text{mol}$  de photons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ; cycle J/N 16/8). Un système de bullage en continu a été installé pour oxygéner le milieu en attendant le début des expérimentations.

#### 2.2. Identification morphologique et moléculaire des espèces

L'identification morphologique s'est basée sur les caractéristiques macroscopiques (e.g. morphologie tubulaire ou laminaire, présence ou absence de denticulations sur les marges, densité de ramification) et cellulaires (e.g. la taille, la forme des cellules, le nombre de pyrénoides, la forme et la position des chloroplastes). Les observations microscopiques ont été réalisées à l'aide du microscope ZEISS Axio Lab.A1 et du logiciel ZEN 2.

La plasticité phénotypique de ces algues ne permettant pas toujours une identification morphologique fiable, l'analyse morphologique a été complétée par une analyse moléculaire pour atteindre une identification au rang de l'espèce. Pour chaque espèce d'algue, la préparation des échantillons a consisté à rincer 200 g de biomasse algale, issu du bac d'acclimatation, à l'eau douce pendant 10 minutes. Six lots de 30 g ont été préparés. Trois d'entre eux ont été congelés puis lyophilisés avant d'être conditionnés dans des sacs de congélation avec quelques grammes de silica gel pour éviter toute humidité. Les trois lots restants ont été séchés à l'étuve (à 40-50°C) pendant 24h, puis



conditionnés dans des sacs de congélation avec quelques grammes de silica gel. L'analyse moléculaire des échantillons a été réalisée par le prestataire ADNid (un laboratoire spécialisé dans les tests ADN). La méthode consiste à extraire l'ADN total et à réaliser une amplification de fragments d'ADN cibles spécifiques de la macro-algue d'intérêt par un séquençage Sanger au moyen d'un analyseur génétique (*Applied Biosystems 3130*). Les séquences obtenues ont été comparées et alignées aux séquences de référence existantes (données publiques et privées d'ADNiD) pour une attribution taxonomique.

## 2.3. Expérimentation d'écophysiologie

### 2.3.1. Expérimentation 1 – Mesure des taux de croissance

La première expérimentation vise à évaluer l'effet des nutriments (nitrates, ammonium et phosphates) sur le taux de croissance et l'assimilation en nutriments de chacune des formes d'ulves étudiées, sur une incubation à long terme (12 jours).

#### Dispositif expérimental

L'expérimentation a consisté à incuber les deux formes d'ulves sous conditions de lumière et de températures optimales pour leur croissance ( $100-150 \mu\text{mol}$  de photons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  et  $19^\circ\text{C}$ ) dans des béciers polypropylène de 5 L remplis d'eau de mer filtrée à  $0,22 \mu\text{m}$  (pour enlever les biais liés à la présence de micro-organismes). Seules les conditions nutritives ont été modulées en cinq milieux distincts :

- Milieu contrôle (C) : eau de mer filtrée sans enrichissement
- Milieu enrichi en nitrates (N+) : eau de mer filtrée + nitrates ( $500 \mu\text{mol.L}^{-1}$  de  $\text{NaNO}_3$ )
- Milieu enrichi en phosphates (P+) : eau de mer filtrée + phosphates ( $30 \mu\text{mol.L}^{-1}$  de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )
- Milieu enrichi en nitrates et phosphates (N+P+) : eau de mer filtrée + nitrates ( $500 \mu\text{mol.L}^{-1}$  de  $\text{NaNO}_3$ ) + phosphates ( $30 \mu\text{mol.L}^{-1}$  de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )
- Milieu enrichi en ammonium ( $\text{NH}_4+\text{P}+$ ) : eau de mer filtrée + ammonium ( $50 \mu\text{mol.L}^{-1}$  ( $\text{NH}_4$ ) $_2\text{SO}_4$ ) + phosphates ( $30 \mu\text{mol.L}^{-1}$  de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ).

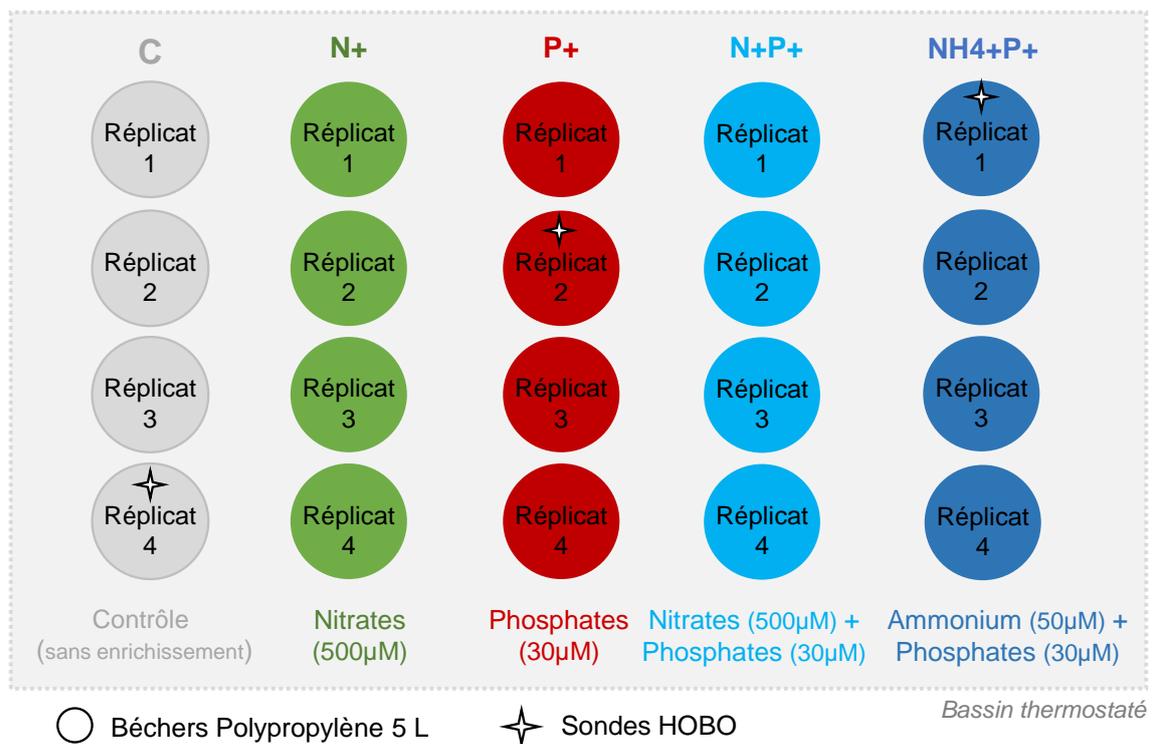


Figure 8. Schéma du dispositif expérimental pour l'étude à moyen terme



Pour les conditions d'enrichissement en nitrates et ammonium, un apport minimum en phosphates ( $30 \mu\text{mol P.L}^{-1}$ ) a été ajouté afin d'éviter une carence. Chacune des conditions testées a été répliquée quatre fois ( $n=4$ ) afin d'augmenter la significativité des résultats et d'analyser le jeu de données avec des outils statistiques (Statgraphics Centurion®). Le dispositif expérimental est schématisé Figure 8.

La température a été régulée par un bain thermostaté et l'intensité lumineuse a été fixée à  $100\text{-}150 \mu\text{mol de photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  grâce à des néons. Un cycle J/N 16/8 a été mis en place et un système de bullage a été appliqué en continu. Les conditions de lumière et de température ont été suivies tout au long de l'incubation à partir de sondes HOBO, placées dans les bacs d'incubation et enregistrant les données toutes les heures.

#### *Protocole expérimental*

Quatre échantillons d'eau de mer filtrée de 150 mL ont été prélevés pour l'estimation des concentrations en sels nutritifs (nitrates, ammonium, phosphore) en début d'expérimentation. Chaque échantillon a été empoisonné avec 750  $\mu\text{L}$  de solution de chlorure mercurique à 6 g/L, avant d'être envoyé pour analyse au laboratoire extérieur agréé, Eurofins.

Afin de respecter la densité optimale d'incubation de 1 g/L pour les algues, une masse de 5 g de matériel biologique a été fixée pour cette expérience. Au total, 150 g d'algues ont été prélevés du bac d'acclimatation et essorés trois minutes dans une centrifugeuse. Le protocole d'essorage a été préalablement défini au CEVA afin d'affiner la répétabilité du procédé. Les algues essorées ont ensuite été réparties en 24 lots de 5 g (poids frais). Quatre d'entre eux ont été conditionnés pour l'estimation des contenus en phosphore et azote des ulves 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). Les 20 lots restants ont été répartis dans les 20 béchers de 5 L, initialisant dès lors le début de l'expérimentation.

Tous les deux jours, le milieu d'incubation a été renouvelé par de l'eau de mer fraîchement filtrée et a été à nouveau enrichi en nutriments dans les mêmes conditions qu'à T0. Les paramètres physico-chimiques des milieux d'incubation ont été régulièrement contrôlés (tous les deux jours) afin de s'assurer du maintien des conditions de lumière et de température fixées et de vérifier l'évolution des paramètres clés suivant : le pH, la salinité et la teneur en dioxygène dans l'eau de mer.

Au terme des 12 jours d'incubation, chaque lot d'algue a été essoré avant d'être pesé, pour l'estimation de la biomasse finale (T12). Les 20 lots ont été ensuite conditionnés (comme décrit précédemment) pour l'estimation des quotas en phosphore et azote des ulves en fin d'expérience. À partir de ces données, les taux de croissance relatif ont été calculés 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 T0 (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).

#### *2.3.2. Expérimentation 2 – Mesure des paramètres d'absorption en nutriments*

##### *Dispositif expérimental*

La deuxième expérimentation vise à mesurer l'absorption en nutriments de chacune des formes d'ulves étudiées sur des incubations à court terme (de 0 à 240 min). Ces incubations ont été réalisées dans des béchers polypropylène de 5 L, qui ont été placés dans un grand bassin thermostaté,



permettant de maintenir la température optimale au développement de chaque espèce d'algue. Les béciers ont été préalablement remplis de 5 L d'eau de mer de mer filtrée ( $0,22\mu\text{m}$ ) en début d'expérimentation afin de laisser la température du milieu se stabiliser. Les milieux d'incubation ont été soumis à une intensité lumineuse de  $150\text{-}200\ \mu\text{mol de photons m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  et un système de bullage en continu a été appliqué.

Les macroalgues, issues des bacs d'acclimatation, ont été incubées dans de l'eau de mer filtrée à différentes gammes de concentrations en nitrates (de 0 à  $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), ammonium (de 0 à  $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) et phosphates (de 0 à  $12\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). La gamme de concentrations est détaillée pour chaque nutriment sur la Figure 9. Pour les conditions d'enrichissement en nitrates et ammonium, un apport minimum en phosphates ( $3\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) a été ajouté afin d'éviter une carence. De la même manière, un apport en nitrate ( $50\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) et en ammonium ( $50\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) a été effectué dans les milieux enrichis en phosphates. En parallèle des incubations, trois béciers « contrôle » remplis d'eau de mer filtrée ont été placés dans les mêmes conditions et enrichis à de faibles concentrations en nitrates ( $0,41\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), phosphates ( $0,56\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) et ammonium ( $0,54\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) définies par Lotze et Schramm (2000).

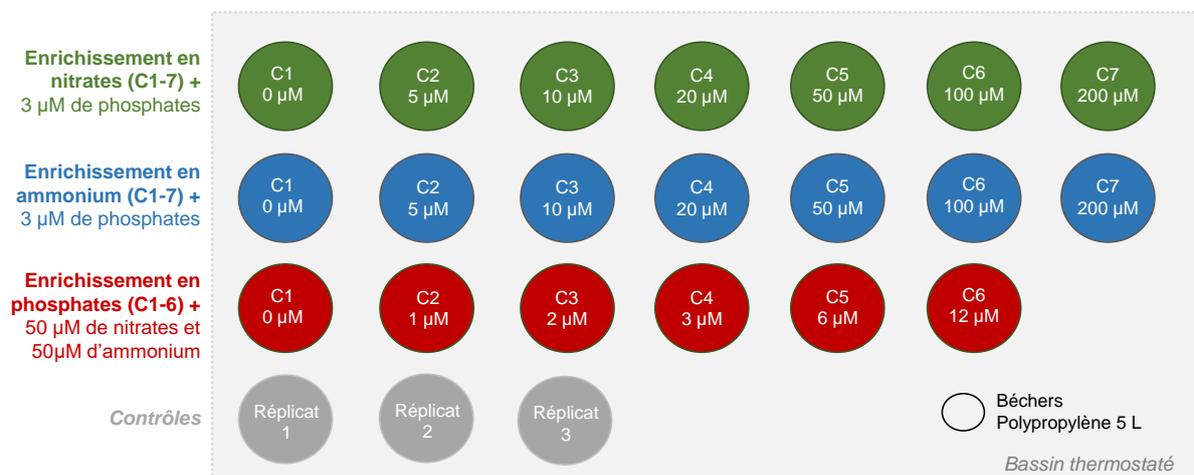


Figure 9. Schéma du dispositif expérimental pour l'étude à court terme

### Protocole expérimental

La biomasse algale déposée dans les béciers de 5 L a été fixée à 12 g. Une masse d'algues de 240 g a alors été prélevée du bac d'acclimatation et essorée trois minutes dans une centrifugeuse. Vingt lots de 12 g (poids frais) ont été incubés dans chacun des béciers.

Après une période d'acclimatation de deux heures, les 20 lots ont été prélevés avec précaution au moyen d'une épauvette. L'eau de mer filtrée contenue dans les béciers a ensuite été enrichie en nutriments comme décrit en Figure 9.

Un échantillon d'eau de mer (150 mL) a été prélevé dans chacun des 20 béciers pour l'estimation des concentrations en nutriments (nitrates, phosphates et ammonium) en début d'expérimentation ( $T_0$ ). Les échantillons ont été empoisonnés avec une solution de chlorure mercurique à 6 g /L (volume d'ajout de 750  $\mu\text{L}$ ), conformément au protocole utilisé dans le programme national SOMLIT élaboré pour l'analyse des sels nutritifs (Garcia et Oriol 2015). Les échantillons traités ont ensuite été congelés dans l'attente de leur analyse par le laboratoire agréé Eurofins. Chaque lot d'algues a ensuite été redéposé dans son bécier d'origine, initiant alors l'expérimentation ( $T_0$ ).



Sur la période d'incubation de 240 minutes, des échantillons d'eau de mer (150 mL) ont été prélevés dans chaque bécher à des temps différents selon les modalités d'enrichissement étudiées (Tableau 2). Chaque échantillon a été conditionné comme décrit précédemment (empoisonnement au chlorure mercurique puis congélation) pour l'analyse des concentrations en nutriments (nitrates, phosphates et ammonium) dans l'eau de mer.

**Tableau 2. Temps de prélèvement des échantillons d'eau de mer pour chaque type d'enrichissement en nutriments au cours des 240 min d'incubation.**

<b>Temps d'incubation (min)</b>	<b>0</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>45</b>	<b>60</b>	<b>120</b>	<b>180</b>	<b>240</b>
Enrichissement en nitrates	X		X		X	X	X	
Enrichissement en phosphates	X				X	X		X
Enrichissement en ammonium	X	X	X	X	X	X		

Au terme des 240 minutes d'incubation, chaque lot d'algue a été retiré de son milieu puis conditionné pour l'analyse ultérieure des quotas azotés et phosphorés par le laboratoire agréé Upscience. Les échantillons ont été brièvement rincés (pas plus de 15 secondes) avec de l'eau distillée puis essorés par pressage manuel avant d'être congelés et lyophilisés. Avant leur envoi, chaque échantillon lyophilisé a été pesé pour l'estimation des poids secs finaux.

#### *Calculs et résultats obtenus*

À partir des données de concentrations en sels nutritifs aux différents temps de prélèvement (Tableau 2), les cinétiques d'absorption des nitrates, des phosphates et de l'ammonium ont été estimées pour chaque intervalle de temps.

- Pour les nitrates : les trente première minutes (T0-T30), les trente minutes suivantes (T30-T60), les deuxième et troisième heures (T60-T120 et T120-T180).
- Pour les phosphates : les trente première minutes (T0-T30), les trente minutes suivantes (T30-T60), la deuxième heure (T60-T120) et les deux heures suivantes (T120-T240).
- Pour l'ammonium : tous les quinze minutes la première heure (T0-T15, T15-T30, T30-T45, T45-T60) puis la deuxième heure (T60-T120).

Les vitesses d'absorption ( $V$  en  $\mu\text{mol.g MS}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) des nutriments par les macroalgues ont été calculées pour chaque intervalle de temps à partir des concentrations initiales et finales mesurées au début et à la fin de l'intervalle de temps, selon l'équation (Eq. 2) de Lotze et Schramm (2000) suivante :

$$V = \frac{(C_i - C_f) \times \text{Vol}}{t \times \text{MS}} \quad \text{Eq. 2}$$

Avec  $C_i$ , la concentration initiale en nutriments contenus dans l'eau en début d'intervalle de temps (en  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ) ;  $C_f$ , la concentration en nutriments contenus dans l'eau à la fin de l'intervalle de temps (en  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ) ; Vol, le volume d'eau durant l'intervalle de temps (en L) ; t la durée de l'intervalle de temps (en h) ; MS, la matière sèche des algues incubées (en g).

Une sélection des données de vitesses d'absorption ( $V$ ) a été effectuée lors des calculs afin d'éliminer les valeurs aberrantes (i.e. vitesses négatives liées à l'absence d'absorption). Les vitesses d'absorption en nitrates, phosphates et ammonium ont ensuite été représentées graphiquement en fonction des concentrations initiales mesurées (Figure 10).

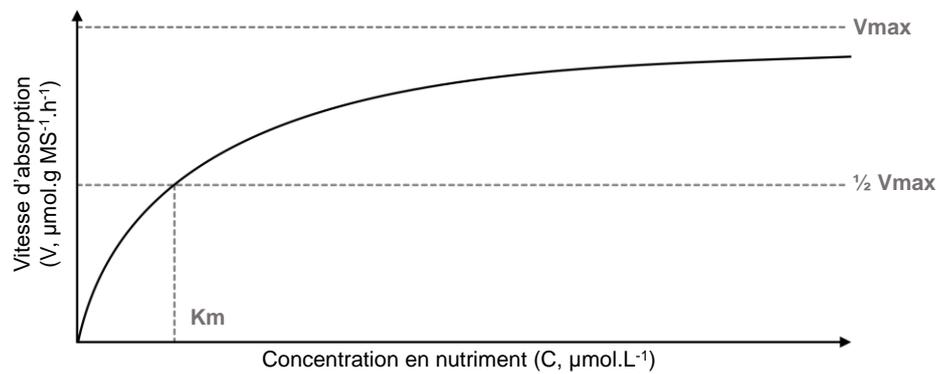


Figure 10. Représentation graphique type des vitesses d'absorption d'un nutriment (V) en fonction de la concentration initiale de ce nutriment (C), suivant l'équation de Michaelis-Menten.

La vitesse maximale d'absorption (Vmax) et la constante de demi-saturation (Km), paramètres écophysologiques caractéristiques de l'absorption en nutriments d'un organisme tel que les macroalgues, ont ensuite été calculées en faisant passer, par les points correspondant aux vitesses d'absorption calculées, une courbe suivant l'équation (Eq. 3) de Michaelis-Menten :

$$V = \frac{(V_{max} \times C_i)}{(K_m + C_i)} \quad \text{Eq. 3}$$

Avec V (en  $\mu\text{mol.g MS}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ), la vitesse d'absorption pour une concentration donnée, Vmax (en  $\mu\text{mol.g MS}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ), la vitesse maximale d'absorption en conditions saturantes pour le nutriment testé, Ci ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ), la concentration en nutriments dans l'eau au début de l'intervalle, et Km ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ), la constante de demi-saturation qui est la concentration en nutriments pour laquelle la vitesse d'absorption est égale à Vmax/2.

La relation entre la diminution en nutriments dans le milieu et sa vitesse d'absorption par l'algue peut être décrite par l'équation de Michaelis et Menten, par analogie avec la cinétique enzymatique (Dugdale 1967). Le profil de cette courbe de vitesse d'absorption en fonction de la concentration suit celui d'une croissance logarithmique jusqu'à un maximum (illustré par un plateau).

L'équation de Michaelis-Menten a été déterminée par une régression non-linéaire de type :  $f = ax / (b+x)$  avec itérations, à partir de l'outil *Solver* du logiciel *Excel*. Cet outil d'analyse permet de calculer les valeurs optimales cibles (Vmax et Km) en utilisant la méthode des moindres carrés (Eq. 4) :

$$\sum_{i=1}^n (V_{prédite} - V)^2 \quad \text{Eq. 4}$$

La pente initiale ( $\alpha$ ) a été calculée à partir des valeurs de Vmax et Km selon la formule suivante (Eq. 5) :

$$\alpha = \frac{V_{max}}{K_m} \quad \text{Eq. 5}$$



### 3. Résultats

#### 3.1. Identification morphologique et moléculaire

##### 3.1.1. *Ulves en lame*

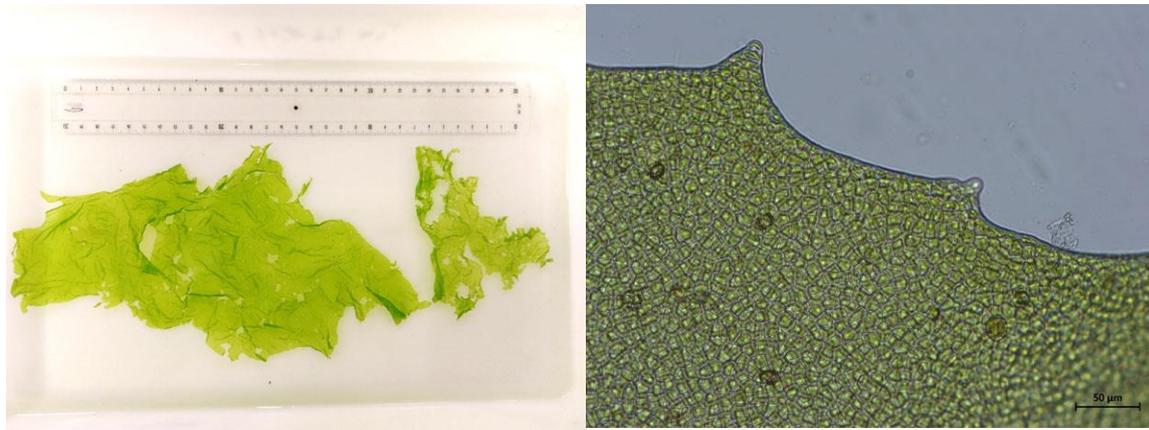


Figure 11. Photographie de l'ulve en lame (à droite) et vue microscopique du thalle (à gauche)

L'analyse morphologique indique que l'ulve en lame prélevée correspondrait à *Ulva armoricana* (Brodie et al. 2007) qui se caractérise par une grande lame perforée, fripée, rêche au touché et d'aspect fine, de nombreuses denticulations marginales par endroit sur les marges de la lame et des cellules polygonales anguleuses à 1-2 pyrenoïdes (Figure 11).

L'analyse moléculaire a été réalisée pour chaque type d'ulve par le prestataire ADNid. La comparaison des séquences d'ADN aux bases de données existantes indique que l'ulve en lame correspond à *Ulva rigida* à 98,1 % (pourcentage d'identité ; analyse BLAST<sup>®</sup>, NCBI) ou *Ulva laetevirens* à 97,9 % (pourcentage d'identité ; analyse BLAST<sup>®</sup>, NCBI).

Il est important de noter que l'analyse génétique effectuée n'a pu mettre en évidence une homologie de séquence avec l'espèce *Ulva armoricana* identifiée morphologiquement. Une hypothèse proposée serait le manque de données concernant cette dernière espèce dans les banques de données moléculaires (ex National Center for Biotechnology Information ; NCBI). Néanmoins, une étude de Tan et al. 1999 avait démontré la proximité génétique de *U. rigida* et d'*U. laetevirens* à *Ulva armoricana*.

##### 3.1.1. *Ulves filamenteuses*

L'analyse morphologique indique que plusieurs ulvales tubulaires étaient présentes dans l'échantillon, avec quelques algues filamenteuses minoritaires non-présentées dans ce document (Figure 12):

- A) Espèce non-identifiée caractérisée par : des tubes filamenteux très fins avec des épines ou des ramifications courtes non-ramifiées et 3-5 petits pyrenoïdes par cellule.
- B) Espèce non-identifiée caractérisée par : des tubes filamenteux très fins, non ramifiés et non denticulés et, plusieurs petits pyrenoïdes par cellule. Les cellules font plus de 10µm et les tubes sont supérieurs à 80µm de diamètre (ce sont certainement des ramifications d'algues plus grandes).
- C) Espèce comparable à *Ulva linza* (Brodie et al. 2007) caractérisée par : un tube comprimé large avec quelques ramifications, un pyrenoïde central par cellule, des cellules de 7 à 14µm et un plaste pariétal ou semblant occuper la totalité de la cellule.
- D) Espèce comparable à *Ulva prolifera* (Brodie et al. 2007) caractérisée par : de longs tubes fins de couleur sombre abondamment ramifiés, des ramifications longues et fines de diamètre



supérieur à 75 $\mu$ m, la présence d'alignements cellulaires, des cellules souvent groupées par 2, 3 ou 4 et des cellules à 1-2 pyrénoïdes faisant entre 7 et 13 $\mu$ m.

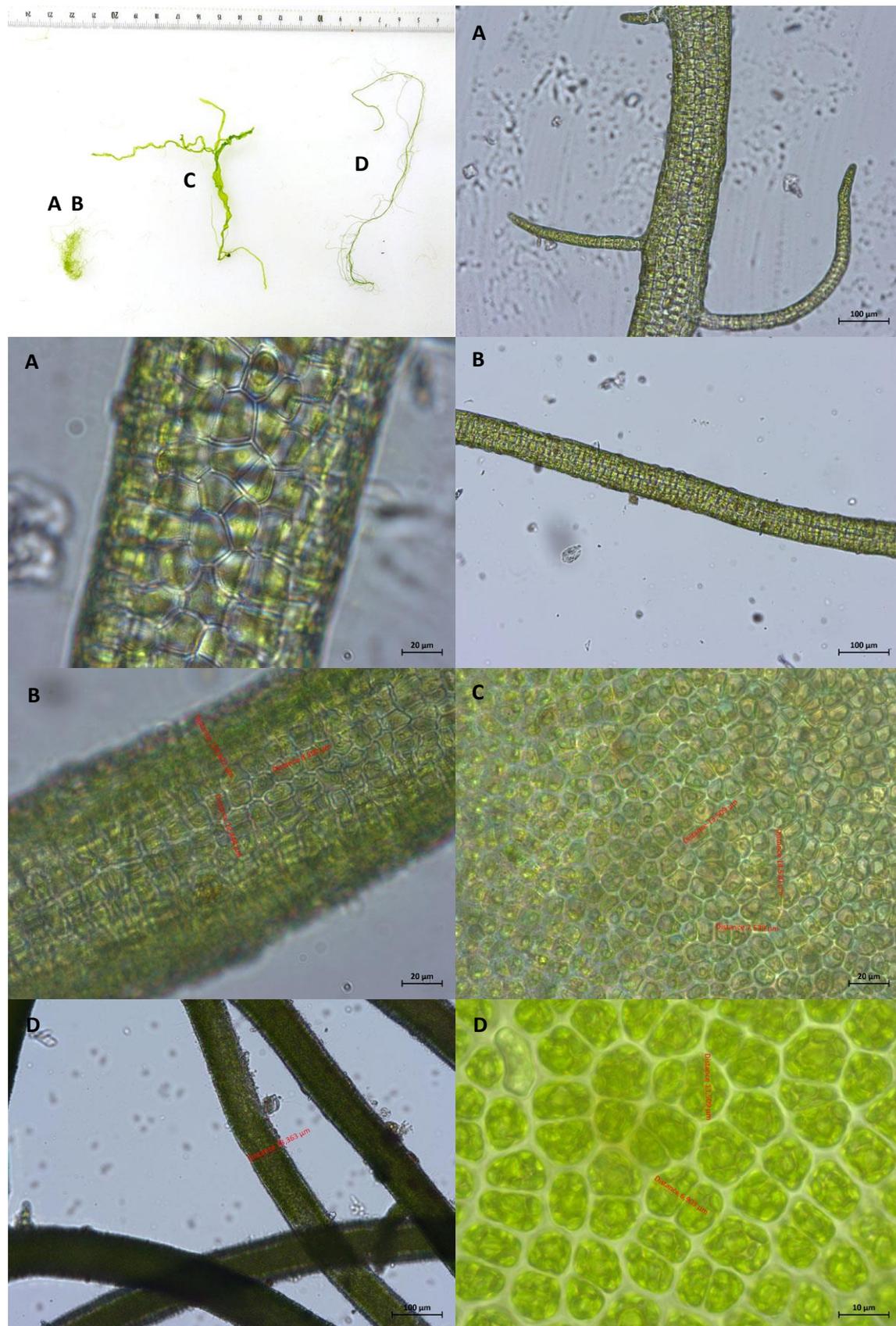


Figure 12. Photographie des ulves filamenteuse (A, B, C, D) associée à une vue microscopique des thalles.



L'analyse moléculaire a été réalisée sur un échantillon de ces algues filamenteuses et la comparaison des séquences d'ADN aux bases de données existantes indique qu'elles correspondent à *Ulva laetevirens* à 98.9% (pourcentage d'identité ; analyse BLAST®, NCBI) et à *Ulva prolifera* à 93.4% (BLASTx®, NCBI). Ici encore, l'une des hypothèses avancée pour les résultats contrastés obtenus en analyse morphologique et moléculaire, serait le manque de données disponibles sur les ulves en général dans les bases de données moléculaires (e.g. NCBI).

Même si quatre types d'ulves filamenteuses ont été identifiés morphologiquement, il a été choisi de réaliser les expérimentations d'écophysiologie sur l'ensemble de l'échantillon sans trier chaque type d'ulves filamenteuses : il aurait été impossible d'obtenir un échantillon parfaitement trié basé sur une identification à l'œil nu, et cette étape aurait été trop chronophage pour mener à bien les expérimentations de manière synchronisée avec les ulves en lame. Par ailleurs, les résultats de l'analyse moléculaire pourraient suggérer la présence de plusieurs morphotypes d'une seule espèce.

### 3.2. Expérimentation d'écophysiologie 1

Le premier type d'expérimentation d'écophysiologie a été mené sur une période de 12 jours pour les deux formes d'ulves prélevées sur la vasière du Lédano, et a permis d'estimer les taux de croissance, et les indices de fixation d'azote et de phosphore spécifiques à chacune d'entre elles. Afin de comparer l'effet des nutriments sur ces paramètres, les données ont été analysées par le test statistique des étendues multiples, permettant d'identifier, avec un risque d'erreur de 5 %, les différences significatives entre les moyennes des populations sur la base de la comparaison des intervalles de confiance associés à chaque moyenne (Intervalles LSD de Fisher ; Figure 13 et Figure 15). Le détail des résultats est fourni en annexes (3, 4, 7 et 8).

#### 3.2.1. Ulve en lame

La Figure 13 illustre l'ensemble des résultats obtenus pour les ulves en lame (possédant un thalle en lame), en termes de taux de croissance, de quotas azotés et phosphorés des tissus algaux, et de quantités d'azote et de phosphore fixées à l'issue des 12 jours d'incubation.

Les algues incubées dans les milieux enrichis P+, N+P+ et NH<sub>4</sub>+P+ ont montré des taux de croissance (en moyenne  $7,9 \pm 1,1$  %/j,  $6,8 \pm 0,7$  %/j et  $8,9 \pm 2,4$  %/j respectivement) statistiquement similaires au milieu contrôle (C) sans enrichissement (en moyenne  $8,2 \pm 0,4$  %/j). En comparaison, les taux de croissance des ulves ont été très faibles dans le milieu enrichi en nitrates uniquement (N+,  $2,3 \pm 0,9$  %/j). Ce milieu a induit une fragmentation des thalles à partir du 7<sup>ème</sup> jour d'incubation, aboutissant à une fragmentation totale d'un des réplicats au terme des 12 jours d'expérimentation. On notera également qu'une fragmentation de faible intensité a été observée pour les deux autres milieux enrichis en azote (N+P+ et NH<sub>4</sub>+P+) à partir du 7<sup>ème</sup> jour d'incubation. Un dépôt vert sur les parois du béccher a par ailleurs été spécifiquement relevé dans le milieu N+P+ en fin d'expérimentation.

Pour la majorité des milieux d'incubation (C, N+, P+ et NH<sub>4</sub>P+), les quotas azotés des ulves en lame étaient significativement plus faibles au terme des 12 jours d'incubation (en moyenne respectivement  $0,75 \pm 0,03$  g/100g MS,  $2,52 \pm 0,23$  g/100g MS,  $0,76 \pm 0,16$  g/100g MS et  $1,20 \pm 0,10$  g/100g MS) qu'en début d'expérience à T0 (en moyenne  $3,30 \pm 0,03$  g/100g MS) ; suggérant que les ulves ont puisé dans leurs réserves internes d'azote pour soutenir leur développement au cours de l'expérimentation. Seules les ulves incubées dans le milieu N+P+ ont montré un maintien de leur quotas azoté internes au cours des 12 jours d'incubation (en moyenne  $3,51 \pm 0,17$  g/100g MS), témoignant que la source azoté du milieu était suffisante pour soutenir leur croissance. Ces ulves ont fixé au total  $30,0 \pm 3,6$  mg d'azote pendant 12 jours, ce qui est bien supérieur aux quantités fixées par les ulves incubées dans les quatre autres milieux d'incubation ( $< 1,7 \pm 5,8$  mg).

Les tissus des algues incubées dans les trois milieux enrichis en phosphates (P+, N+P+ et NH<sub>4</sub>+P+) se sont enrichis en phosphore à l'issue des 12 jours d'expérimentation : les quotas phosphorés



atteignant des valeurs moyennes comprises entre 0,287 et 0,364 g/100g MS pour une valeur initiale estimée à  $0,140 \pm 0,004$  g/100g MS. Dans ces trois milieux, les ulves ont en moyenne fixé 4,4-5,6 mg de phosphore dans leurs tissus en 12 jours. À l'inverse, les ulves incubées dans les deux milieux non-enrichis en phosphates (C et N-) ont montré une diminution de leurs quotas phosphorés à l'issue des 12 jours d'expérimentation, atteignant en moyenne respectivement  $0,036 \pm 0,003$  g/100g MS et  $0,039 \pm 0,003$  g/100g MS. Ces algues n'ont par ailleurs pas fixé de phosphore, suggérant qu'elles ont utilisé leur ressource interne en phosphore pour croître.

Des différences de réponses physiologiques ont été relevées en termes de morphologie. À l'issue de l'expérimentation, les algues incubées dans les milieux non-enrichis en azote (C et P-) ont montré un éclaircissement de leur thalle, contrastant avec la couleur vert-foncé relevée dans les milieux enrichis en nitrates/ammonium (Figure 14). Par ailleurs, seuls ces milieux enrichis en azote (N+, N+P+ et NH<sub>4</sub>+P+) ont présenté des signes de fragmentation des algues. Des différences morphologiques ont aussi été visibles à l'échelle cellulaire (Figure 14). Les observations au microscope au douzième jour d'incubation montrent que les cellules des ulves incubées dans les milieux C et P-, ont formé des structures assimilables à des grains d'amidons tandis que dans le milieu enrichi en nitrates (N+ et N+P+) les structures formées correspondaient plutôt à des zoospores/gamètes. Dans ces deux derniers milieux, des cellules vides étaient présentes parmi les cellules « pleines », ce qui pourrait traduire une libération des spores dans le milieu d'incubation pendant l'expérimentation.

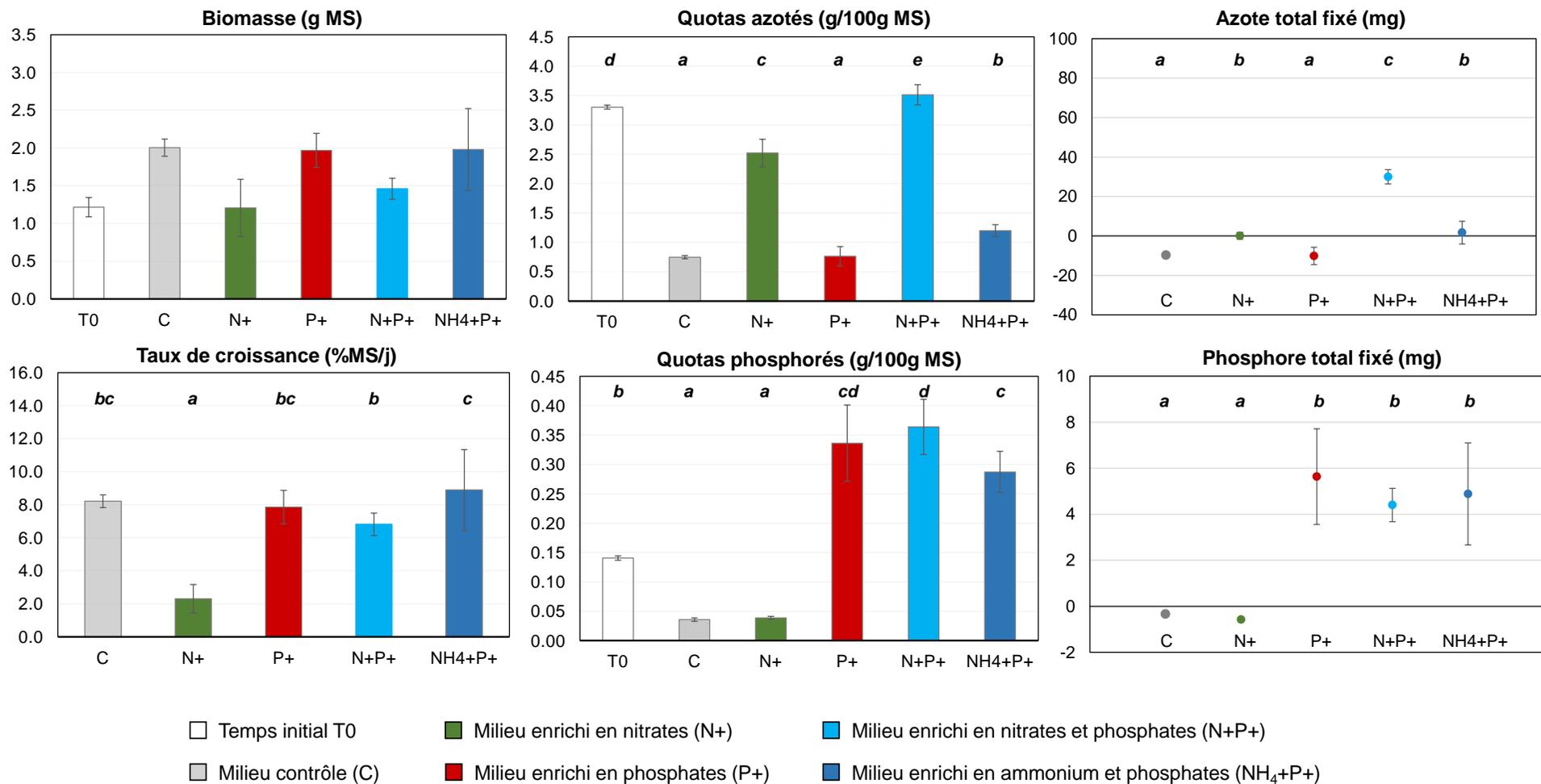


Figure 13. Biomasses et taux de croissance exprimés en matière sèche (MS) des ulves en lame, quotas azotés et phosphorés internes des tissus et quantités d'azote et de phosphore fixées à l'issue des 12 jours d'incubation et selon les 5 modalités de concentrations testées ( $\pm$  écart type ; n=4). Les lettres en italiques correspondent aux résultats de l'analyse statistique des étendues multiples; chaque lettre correspondant à un groupe de données statistiquement identiques à un niveau de confiance de 95%.

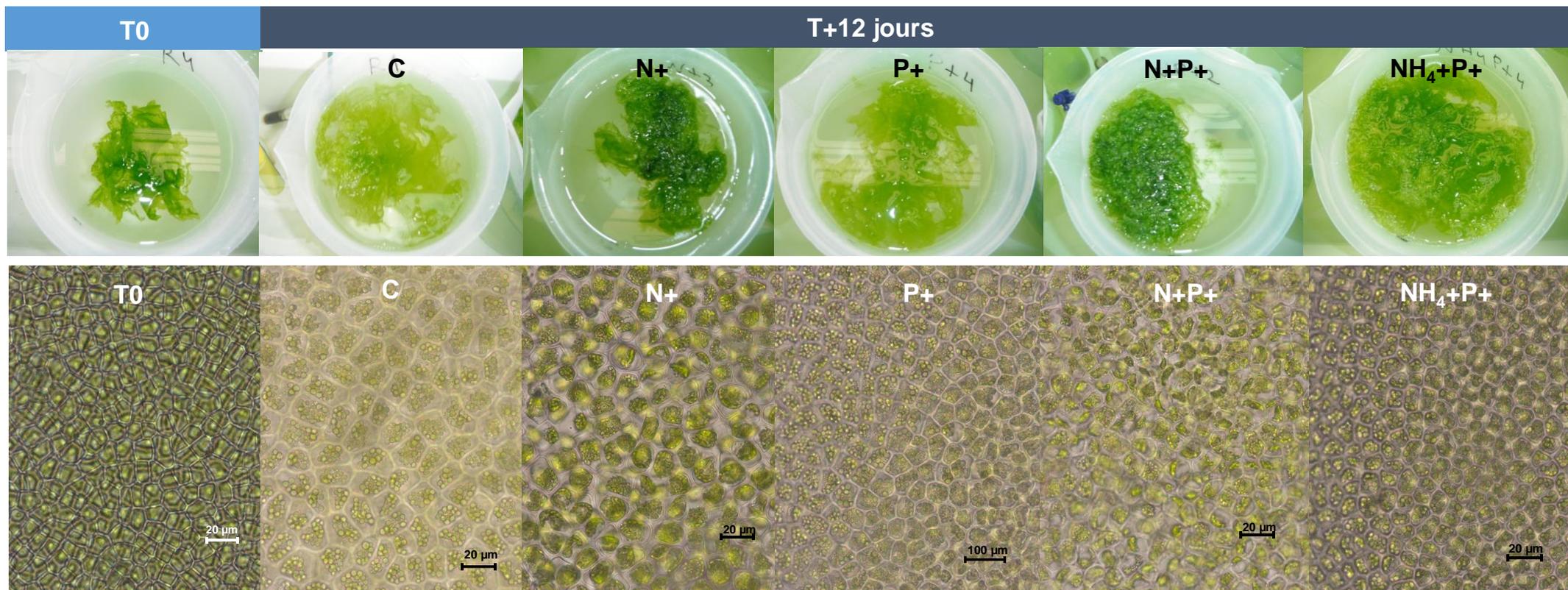


Figure 14. Photographies des ulves en lame dans les différents milieux d'incubation aux temps T0 et T12 (en haut), associées à un aperçu des thalles à l'échelle cellulaire (en bas ; objectif x 20, microscope optique droit ZEISS Axio Lab.A1).



### 3.2.2. *Ulves filamenteuses*

La Figure 15 illustre l'ensemble des résultats obtenus pour les ulves filamenteuses en termes de taux de croissance, de quotas azotés et phosphorés des tissus algaux, et de quantités d'azote et de phosphore fixées à l'issue des 12 jours d'incubation.

Les algues filamenteuses incubées dans les milieux N+ et P+ ont montré des taux de croissance (en moyenne  $7,7 \pm 1,4$  %/j et  $9,0 \pm 0,2$  %/j respectivement) comparables à celles incubées dans le milieu contrôle sans enrichissement (en moyenne entre  $8,0 \pm 1,0$  %/j). Les croissances des ulves ont été significativement supérieures dans les milieux enrichis à la fois en nitrates/ammonium et en phosphates, atteignant des taux de croissance moyens de  $11,8 \pm 1,4$  %/j dans le milieu N+P+ et de  $11,9 \pm 1,4$  %/j dans le milieu NH<sub>4</sub>+P+.

Les ulves incubées dans les milieux enrichis en nitrates (N+ et N+P+) ont maintenu leur quotas azotés à des valeurs similaires au temps T<sub>0</sub> ( $3,69 \pm 0,05$  g/100g MS). Dans ces milieux, les algues ont fixé les plus grandes quantités d'azote total en 12 jours d'incubation: en moyenne  $33,2 \pm 10,1$  mg dans les conditions N+ et  $76,8 \pm 14,7$  mg dans les conditions N+P+. Dans les milieux non-enrichis en nitrates, les quotas azotés ont diminué de 66-73 % par rapport au temps T<sub>0</sub>, atteignant des valeurs moyennes comprises entre 0,98-1,26 g/100g MS. Par ailleurs, les quantités d'azote fixé étaient faibles (en moyenne  $10,3 \pm 4,81$  pour le milieu NH<sub>4</sub>+P+) voire nulles (pour les milieux C et P+).

Les données de quotas phosphorés des algues incubées dans les milieux N+P+ et NH<sub>4</sub>+P+ ne sont pas fournies dans ce rapport ; le laboratoire prestataire ayant rencontré un souci technique pour les échantillons concernés par cette modalité. Les données à disposition permettent de mettre en évidence un enrichissement en phosphore des tissus algaux dans le milieu enrichi en phosphates : les quotas phosphorés atteignent en moyenne  $0,201 \pm 0,005$  g/100g MS à l'issue des 12 jours d'incubation contre  $0,140 \pm 0,004$  g/100g MS à T<sub>0</sub>. La quantité de phosphore total fixé a été estimée à  $3,460 \pm 0,072$  mg en 12 jours. À l'inverse, les milieux non-enrichis en phosphates (C et N+) ont induit une diminution des quotas phosphorés des ulves à des valeurs inférieures à  $0,050$  g/100g MS ; et une absence de fixation de phosphore dans les tissus algaux. Ces résultats suggèrent que les algues ont puisé le phosphore nécessaire à leur croissance dans leurs stocks intracellulaires en conditions non-enrichies en phosphates.

L'ensemble de ces observations démontre que l'azote et le phosphore sont deux éléments co-limitants pour la croissance des ulves filamenteuses, qui sont néanmoins capables de soutenir une croissance significative à partir de leurs stocks internes en phosphore lorsque les concentrations en phosphates du milieu sont faibles. Au cours de l'expérience, des changements morphologiques similaires à ceux relevés pour les ulves en lame ont été observés : un éclaircissement des thalles a été noté dans les milieux non-enrichis en azote (C et P+), *a contrario* des thalles présents dans les milieux enrichis en nitrates/ammonium (N+, N+P+, NH<sub>4</sub>+P+) qui ont montré une couleur vert-foncé en fin d'expérience (Figure 16). Contrairement aux ulves en lame, aucun signe de fragmentation n'a été observé pour les ulves filamenteuses et ce, quel que soit le milieu d'incubation.

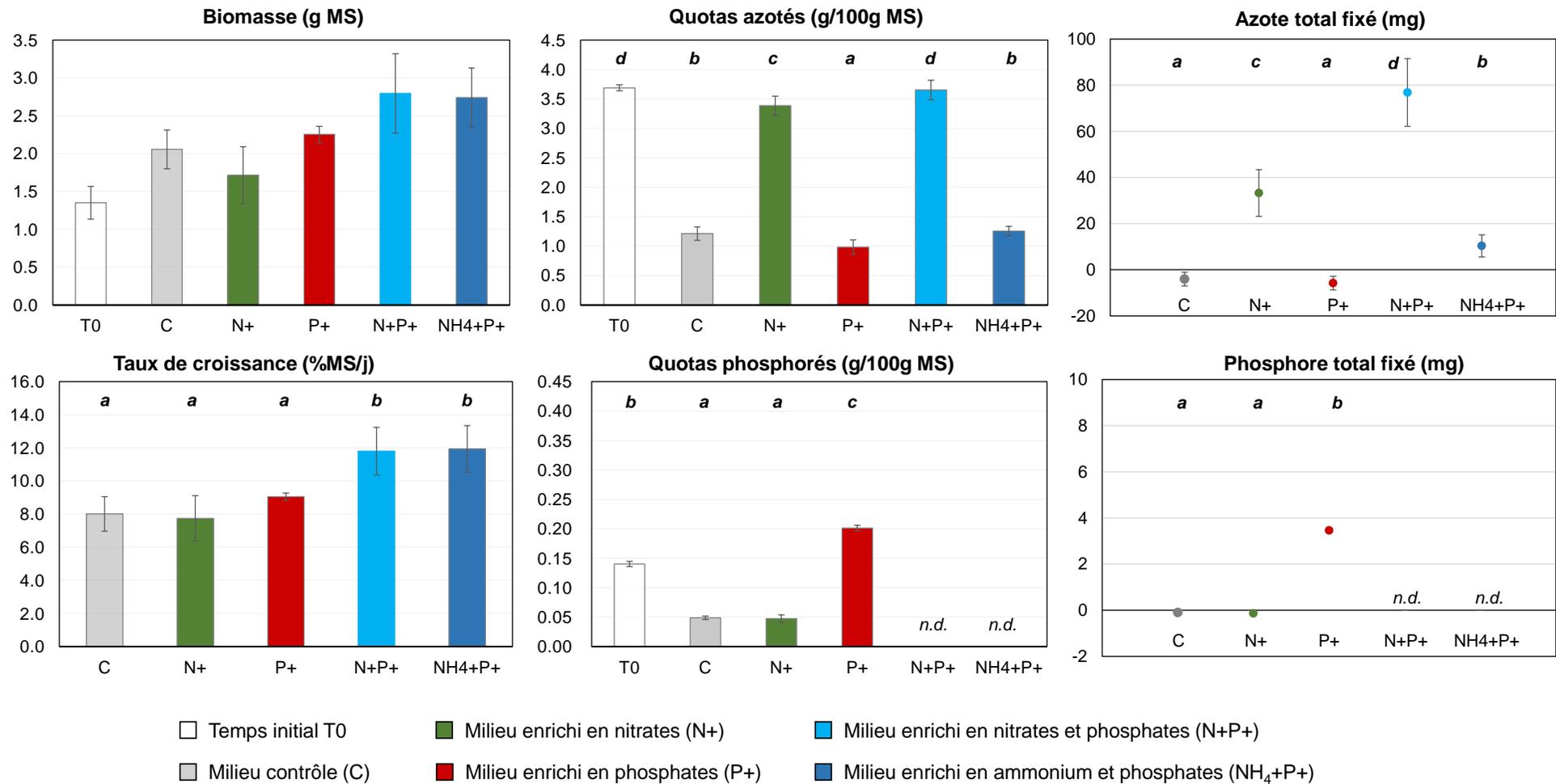


Figure 15. Biomasses et taux de croissance exprimés en matière sèche (MS) des ulves filamenteuses, quotas azotés et phosphorés internes des tissus et quantités d'azote et de phosphore fixées à l'issue des 12 jours d'incubation et selon les 5 modalités de concentrations testées ( $\pm$  écart type ; n=4). Les données de quotas phosphorés et de fixation de phosphore pour les ulves filamenteuses sous les modalités N+P+ et NH<sub>4</sub>+P+ ne sont pas disponibles (n.d.). Les lettres en italiques correspondent aux résultats de l'analyse statistique des étendues multiples; chaque lettre correspondant à un groupe de données statistiquement identiques à un niveau de confiance de 95%.

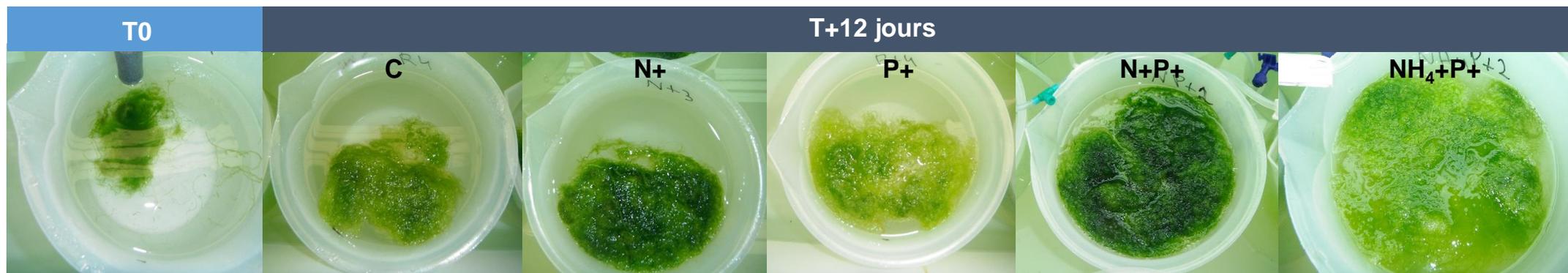


Figure 16. Photographies des ulves filamenteuses dans les différents milieux d'incubation aux temps T0 et T12.



### 3.2.3. Comparaison des deux types d'ulves

Dans le but de réaliser une comparaison des résultats obtenus entre les ulves filamenteuses et en lame, les données de taux de croissance, de quotas azotés et phosphorés et de fixation d'azote et de phosphore ont été représentées sur la Figure 17, et ont fait l'objet d'une analyse statistique. Dans cette optique, le test de Mann-Whitney-Wilcoxon a été sélectionné : il teste l'hypothèse nulle  $H_0$  que les médianes des ulves en lame et des ulves filamenteuses sont identiques pour un risque d'erreur de 5 %. Les résultats des analyses statistiques sont exposés dans le Tableau 3.

Les taux de croissance des deux types d'ulves étaient significativement similaires pour une condition d'enrichissement donnée, à l'exception de la condition N+P+, pour laquelle les taux de croissance des ulves filamenteuses étaient significativement supérieurs à ceux des ulves en lame à un niveau de confiance de 95 %.

Au temps T0, les quotas azotés initiaux des ulves filamenteuses étaient significativement supérieurs à ceux des ulves en lame, et le sont restés après 12 jours d'incubation dans le milieu contrôle (C) uniquement. Les quantités d'azote total fixé étaient significativement supérieures pour les ulves filamenteuses dans les milieux enrichis en nitrates (N+ et N+P+) en comparaison des ulves en lame.

En termes de quotas phosphorés, aucune différence statistique n'a été mise en évidence entre les deux types d'ulves au temps T0. En revanche après 12 jours d'incubation, les quotas phosphorés des ulves filamenteuses étaient significativement inférieurs à ceux des ulves en lame dans le milieu enrichi en phosphates (P+). Les quantités de phosphore fixées par les ulves en lame dans ce milieu sont par ailleurs statistiquement plus élevées que celles fixées par les ulves filamenteuses.

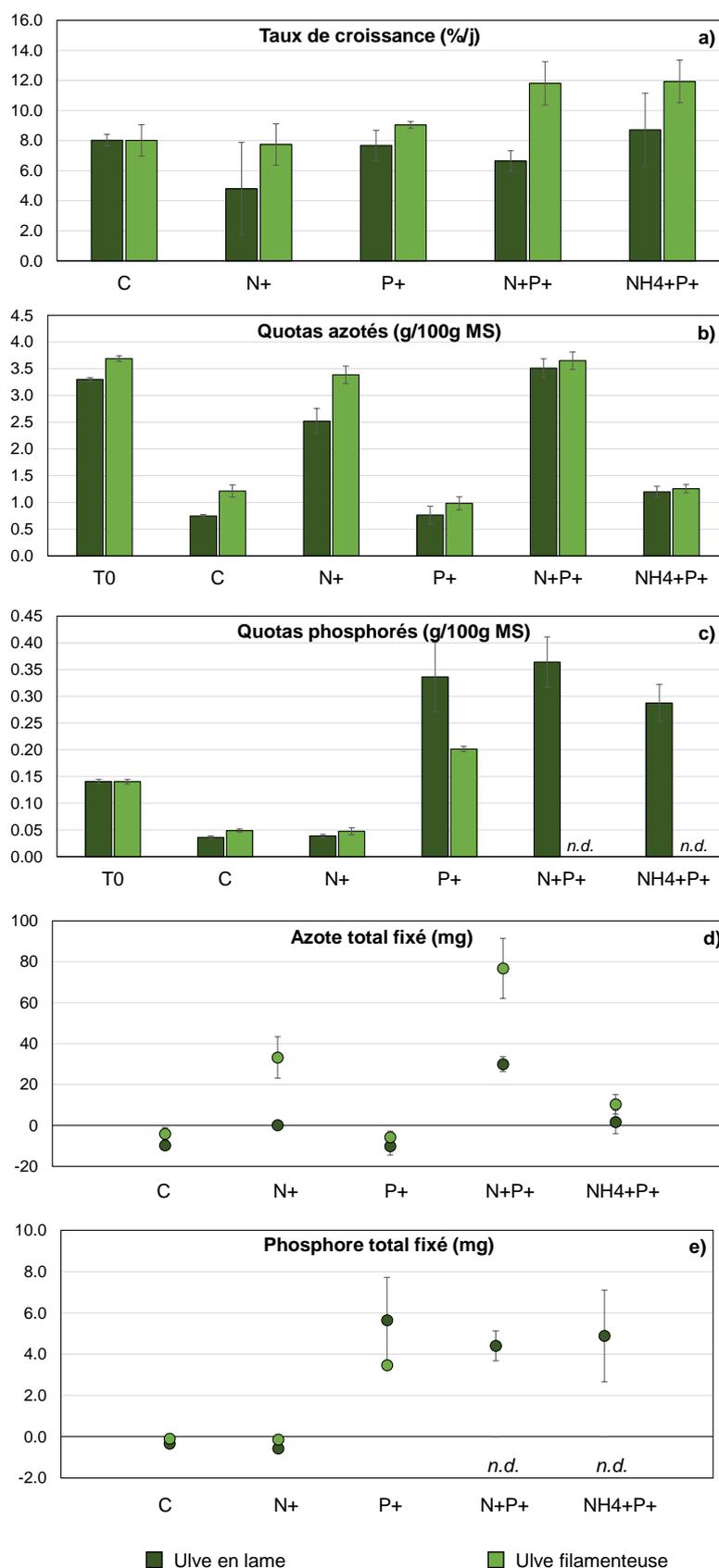


Figure 17. Comparaison interspécifique des taux de croissance (a), des quotas azotés (b) et phosphorés (c), ainsi que des quantités d'azote (d) et de phosphores fixées (e) entre les deux types d'ulves étudiées et pour chaque modalité de concentrations testée ( $\pm$  écart type ;  $n=4$ ). Les données de quotas phosphorés et de fixation de phosphore pour les ulves filamenteuses dans les conditions N+P+ et NH4+P+ ne sont pas disponibles (n.d.)



Tableau 3. Résumé statistique des données de taux de croissance, de quotas azotés et phosphorés, et de quantités d'azote et de phosphore fixées ; associées aux résultats issus du Test de Mann-Whitney-Wilcoxon (à niveau de confiance de 95 %).

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
C	Uve lame	4	8.2	8.2	0.4	4.7	7.7	0.885229	=
	Uves fil.	4	8.0	8.4	1.0	13.0	6.5		
N+	Uve lame	3	2.3	2.4	0.9	37.3	1.4	0.0518296	=
	Uves fil.	4	7.7	7.3	1.4	17.8	6.7		
P+	Uve lame	4	7.9	7.6	1.0	12.9	7.0	0.31232	=
	Uves fil.	4	9.0	9.1	0.2	2.5	8.8		
N+P+	Uve lame	4	6.8	6.7	0.7	10.0	6.2	0.0303826	≠
	Uves fil.	4	11.8	11.7	1.4	12.2	10.2		
NH4+P+	Uve lame	4	8.9	9.1	2.4	27.4	6.0	0.112351	=
	Uves fil.	4	11.9	12.3	1.4	11.8	10.0		

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
T0	Uve lame	4	3.30	3.29	0.03	1.0	3.28	0.0284294	≠
	Uves fil.	4	3.69	3.69	0.05	1.4	3.63		
C	Uve lame	4	0.75	0.75	0.02	3.0	0.72	0.0303826	≠
	Uves fil.	4	1.22	1.26	0.11	9.2	1.05		
N+	Uve lame	3	2.52	2.48	0.23	9.2	2.31	0.0518296	=
	Uves fil.	4	3.39	3.34	0.16	4.8	3.25		
P+	Uve lame	4	0.76	0.82	0.17	21.9	0.52	0.0606016	=
	Uves fil.	4	0.99	0.99	0.12	12.6	0.84		
N+P+	Uve lame	4	3.51	3.45	0.17	4.9	3.39	0.31232	=
	Uves fil.	4	3.65	3.63	0.16	4.5	3.48		
NH4+P+	Uve lame	4	1.20	1.23	0.10	8.5	1.05	0.56136	=
	Uves fil.	4	1.26	1.26	0.08	6.4	1.16		

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
T0	Uve lame	4	0.141	0.141	0.004	2.6	0.136	0.885229	=
	Uves fil.	4	0.140	0.141	0.004	3.1	0.135		
C	Uve lame	4	0.036	0.036	0.003	8.1	0.032	0.105192	=
	Uves fil.	4	0.049	0.049	0.003	5.9	0.046		
N+	Uve lame	3	0.039	0.040	0.003	7.0	0.036	0.215924	=
	Uves fil.	4	0.047	0.047	0.006	13.7	0.040		
P+	Uve lame	4	0.336	0.324	0.065	19.3	0.279	0.0303826	≠
	Uves fil.	2	0.201	0.201	0.005	2.4	0.198		
N+P+	Uve lame	4	0.364	0.349	0.047	12.9	0.327	n.d.	n.d.
	Uves fil.	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		
NH4+P+	Uve lame	4	0.287	0.281	0.035	12.2	0.252	n.d.	n.d.
	Uves fil.	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		

Quantité N total fixé (mg)	Nombre de réplicats	Moyenne (mg)	Médiane (mg)	Ecart-type (mg)	Coefficient de variation (%)	Minimum (mg)	Maximum (mg)	Test de Mann-Whitney-Wilcoxon	
								P-value	Interprétation
C	Uve lame	4	-9.7	-9.6	0.7	-7.6	-10.6	0.0518296	=
	Uves fil.	4	-4.0	-3.8	3.0	-74.2	-7.5		
N+	Uve lame	3	0.1	-0.1	1.8	1764.4	-1.6	0.0303826	≠
	Uves fil.	4	33.2	30.6	10.1	30.5	24.1		
P+	Uve lame	4	-10.1	-9.3	4.4	-43.7	-15.9	0.19393	=
	Uves fil.	4	-5.8	-6.0	3.0	-51.5	-8.9		
N+P+	Uve lame	4	30.0	29.9	3.6	12.1	25.6	0.0303826	≠
	Uves fil.	4	76.8	70.7	14.7	19.1	67.1		
NH4+P+	Uve lame	4	1.7	2.2	5.8	342.7	-5.2	0.0606016	=
	Uves fil.	4	10.3	9.5	4.8	46.6	5.4		

Quantité P total fixé (mg)	Nombre de réplicats	Moyenne (mg)	Médiane (mg)	Ecart-type (mg)	Coefficient de variation (%)	Minimum (mg)	Maximum (mg)	Test de Mann-Whitney-Wilcoxon	
								P-value	Interprétation
C	Uve lame	4	-0.335	-0.345	0.040	-12.1	-0.370	0.105192	=
	Uves fil.	4	-0.098	-0.080	0.072	-74.1	-0.200		
N+	Uve lame	3	-0.573	-0.600	0.055	-9.6	-0.610	0.0518296	=
	Uves fil.	4	-0.138	-0.135	0.073	-52.9	-0.210		
P+	Uve lame	4	5.638	4.895	2.077	36.8	4.170	0.0303826	≠
	Uves fil.	2	3.460	3.460	0.071	2.0	3.410		
N+P+	Uve lame	4	4.405	4.465	0.723	16.4	3.590	n.d.	n.d.
	Uves fil.	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		
NH4+P+	Uve lame	4	4.883	4.700	2.219	45.5	2.510	n.d.	n.d.
	Uves fil.	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		



### 3.3. Expérimentation d'écophysiologie 2

#### 3.3.1. *Suivi des concentrations*

Le deuxième type d'expérimentation d'écophysiologie a été mené sur une période de 4h, pendant laquelle les concentrations en nitrates, ammonium et phosphates ont été suivies à des intervalles de temps spécifiques dans chaque milieu d'incubation (Figure 18). Le détail des résultats est fourni en Annexe 5 et Annexe 6.

Les concentrations en nitrates, ammonium et phosphates dans le milieu ont diminué au cours du temps pour les ulves en lame et filamenteuses, aboutissant en fin d'expérimentation à :

- De faibles niveaux en nitrates ( $< 5 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) pour les milieux initialement enrichis au maximum à  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  (C1-C5).
- De faibles niveaux en ammonium ( $< 13 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) pour les milieux initialement enrichis au maximum à  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  (C1-C6).
- De faibles niveaux en phosphates ( $< 0,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) pour les milieux initialement enrichis au maximum à  $6 \mu\text{mol L}^{-1}$  (C1-C5).

Le milieu non-enrichi avec algues (C1) et le milieu de référence sans algue (R) se sont tous deux caractérisés par une légère augmentation des concentrations en nitrates; allant en moyenne de  $6,15 \pm 4,32$  à  $27,75 \pm 12,18 \mu\text{mol L}^{-1}$  au terme des 3h d'expérimentation pour les deux types d'ulves. Cette augmentation est difficilement explicable dans le cadre cette étude.

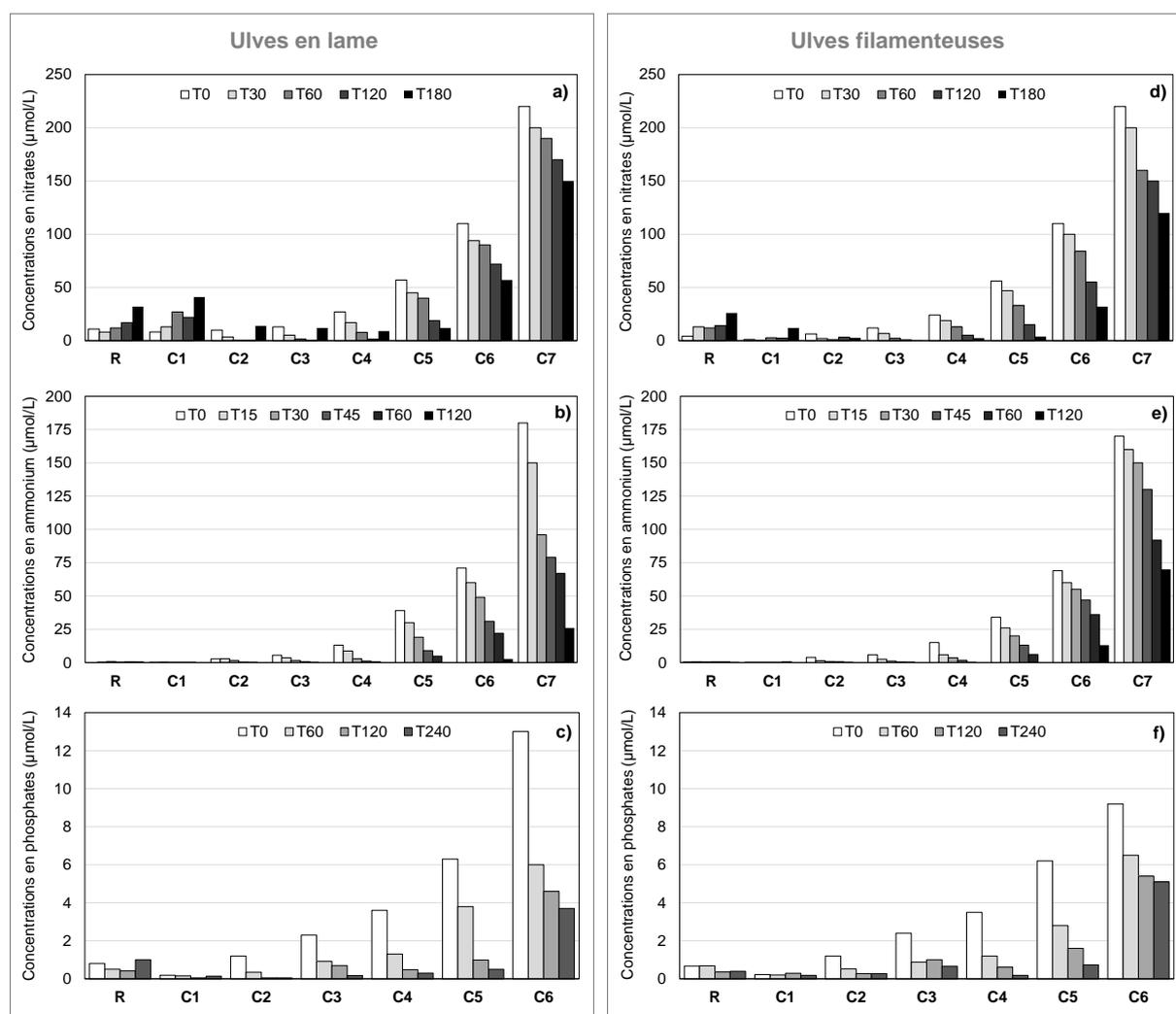


Figure 18. Evolution temporelle des concentrations en nitrates, ammonium et phosphates dans chaque milieu d'incubation (R, C1-7) pour les ulves en lame (a-c) et filamenteuses (d-f).

### 3.3.2. Détermination des paramètres cinétiques

À partir des concentrations en sels nutritifs, les vitesses d'absorption en nitrates, phosphates et ammonium (Figure 19) ainsi que les paramètres cinétiques associés (Tableau 4 et Tableau 5) ont été estimés à chaque intervalle de temps pour les deux types d'ulves.

#### *Ulves en lame*

Pour chacun des pas de temps étudiés (T0-T30, T30-T60, T60-T120 et T120-T180), les graphiques représentant les vitesses d'absorption en nitrates en fonction des concentrations en nitrates du milieu ont suivi une hyperbole caractéristique de l'équation de Michaelis-Menten, avec une saturation des vitesses d'absorption à un niveau de concentration donné.

Pour les graphiques représentant les vitesses d'absorption en ammonium et phosphates en fonction des concentrations du milieu, deux types de profils ont été observés:

- (1) un profil montrant une augmentation des vitesses d'absorption linéairement avec les concentrations en nutriments du milieu. Ces profils ont été relevés en début d'expérimentation (de T0-T30 pour l'ammonium et de T0-60 pour les phosphates).
- (2) un profil suivant une hyperbole caractéristique de Michaelis-Menten avec saturation des vitesses d'absorption à un niveau de concentration donné pour le reste des intervalles de temps étudiés.



Les vitesses d'absorption en nitrates, ammonium et phosphates des ulves en lame ont diminué entre chaque intervalle de temps, comme généralement observé lors de telles expérimentations (Lotze et Schramm, 2000 ; CIMAV 2014).

### *Ulves filamenteuses*

Les graphiques représentant les vitesses d'absorption en nitrates et ammonium des ulves filamenteuses suivent les deux types de profils décrits plus haut: une hyperbole de Michaelis-Menten ou une augmentation linéaire. De manière générale, une saturation des vitesses d'absorption en nitrates et ammonium a été observée avec l'augmentation des concentrations en nutriments, excepté au pas de temps T30-T60 pour les nitrates et aux intervalles de temps T30-45 et T45-60 pour l'ammonium où une augmentation linéaire a été relevée.

Une saturation des vitesses d'absorption en phosphates à de fortes concentrations a été atteinte pour les trois pas de temps étudiés (T0-60, T60-120 ; T120-240). Par ailleurs, les vitesses ont progressivement diminué au cours du temps.

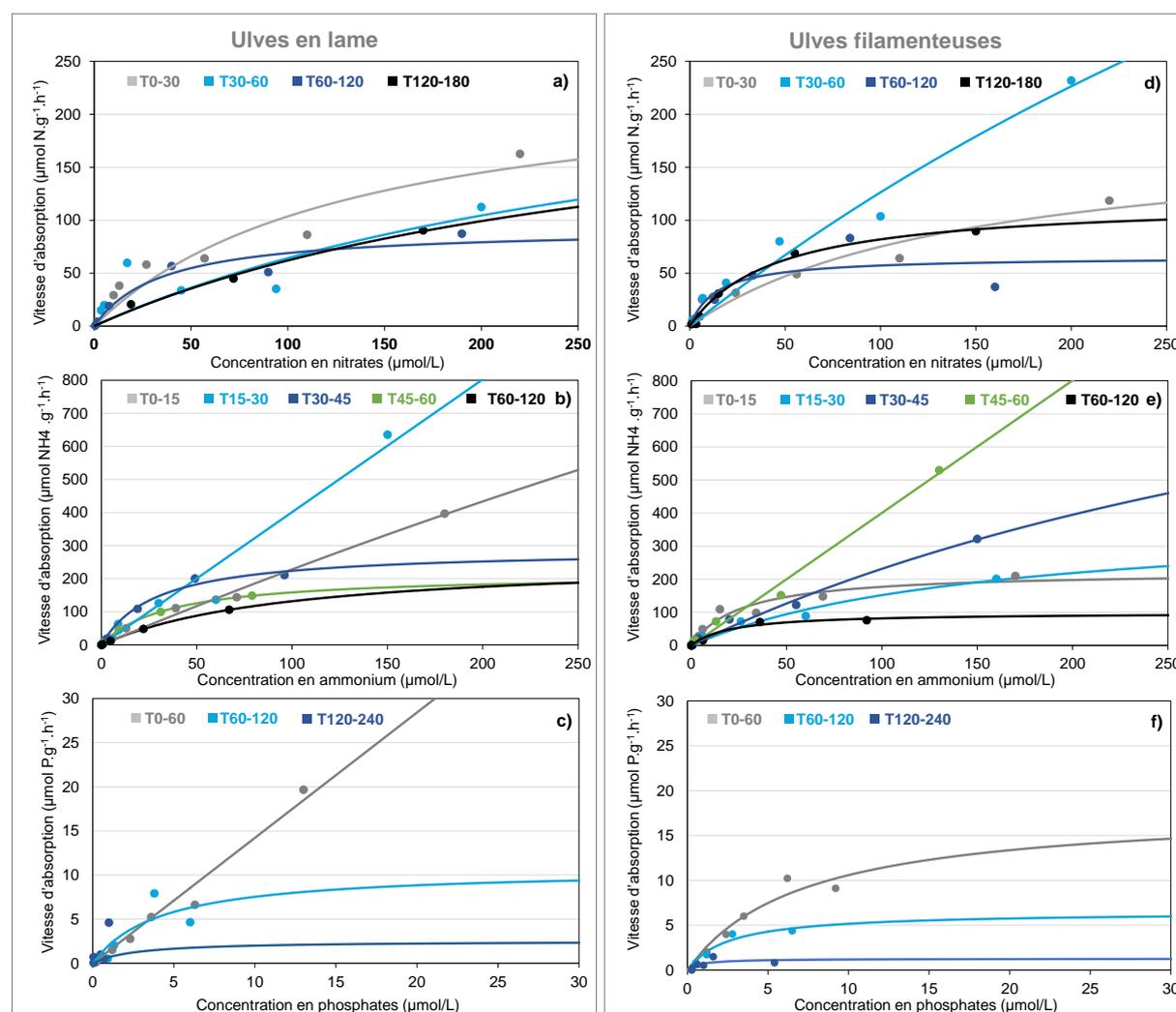


Figure 19. Vitesses d'absorption en nitrates, ammonium et phosphates en fonction de la concentration en nutriments dans le milieu d'incubation pour les ulves en lames (a-c) et filamenteuses (d-f) et pour chaque pas de temps étudié.



Tableau 4. Paramètres cinétiques d'absorption en ammonium, nitrates et phosphates pour les ulves en lame. Les valeurs en gris indiquent les fortes valeurs de Vmax et Km associées aux profils cinétiques linéaires.

Ulves en lame	Temps (min)	Vmax ( $\mu\text{mol.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ )	Km ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ )	$\alpha$
Ammonium	T0-T15	4325.9	1795.7	2.41
	T15-T30	7.60E+12	1.90E+12	4.01
	T30-T45	288.3	28.77	10.02
	T45-T60	214.7	35.34	6.07
	T60-T120	262.1	98.72	2.65
Nitrates	T0-T30	240.9	132.6	1.82
	T30-T60	281.0	338.0	0.83
	T60-T120	93.05	35.02	2.66
	T120-T180	247.4	299.3	0.83
Phosphates	T0-T60	2.91E+07	2.05E+07	1.42
	T60-T120	10.68	4.19	2.55
	T120-T240	2.52	2.66	0.95

Tableau 5. Paramètres cinétiques d'absorption en ammonium, nitrates et phosphates pour les ulves filamenteuses. Les valeurs en gris indiquent les fortes valeurs de Vmax et Km associées aux profils cinétiques linéaires.

Ulves filamenteuses	Temps (min)	Vmax ( $\mu\text{mol.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ )	Km ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ )	$\alpha$
Ammonium	T0-T15	224.0	26.40	8.48
	T15-T30	390.0	156.6	2.49
	T30-T45	1343.4	480.2	2.80
	T45-T60	1.80E+13	4.49E+12	4.00
	T60-T120	99.04	21.16	4.68
Nitrates	T0-T30	184.3	145.7	1.27
	T30-T60	1092.2	764.8	1.43
	T60-T120	65.37	14.30	4.57
	T120-T180	118.0	44.70	2.65
Phosphates	T0-T60	18.13	7.12	2.55
	T60-T120	6.50	2.57	2.52
	T120-T240	1.28	0.79	1.61

### 3.3.3. Comparaison des cinétiques d'absorption entre les deux types d'ulves

#### Cinétiques d'absorption en nitrates

Au cours des 30 premières minutes d'incubation, les vitesses d'absorption maximales en nitrates des ulves en lame étaient sensiblement plus élevées ( $V_{\text{max}} = 241 \mu\text{mol N.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) que celles des ulves filamenteuses ( $V_{\text{max}} = 184 \mu\text{mol N.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) (Figure 20). Sur la demi-heure suivante, les ulves en lame ont maintenu leur vitesse d'absorption maximale au même niveau ( $V_{\text{max}} = 281 \mu\text{mol N.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) tandis que celle des ulves filamenteuses a significativement augmenté ( $V_{\text{max}} = 1092 \mu\text{mol N.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ). Pour ces deux premiers pas de temps (T0-T60 et T30-T60), les deux types d'ulves ont présenté des vitesses d'absorption en nitrates similaires à des concentrations en nitrates comprises entre 0 et  $100 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . Leur affinité aux nitrates étaient par ailleurs du même ordre de grandeur ( $\alpha = 1,8$  et  $1,3$  pour les ulves en lame et filamenteuses respectivement).

Au cours des deux heures suivantes (T60-120 et T120-180), les deux types d'ulves ont présenté des vitesses d'absorption similaires sur l'intervalle de concentrations en nitrates étudiés ( $0-250 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ), ainsi que des paramètres cinétiques ( $V_{\text{max}}$ ,  $\alpha$ ) comparables.

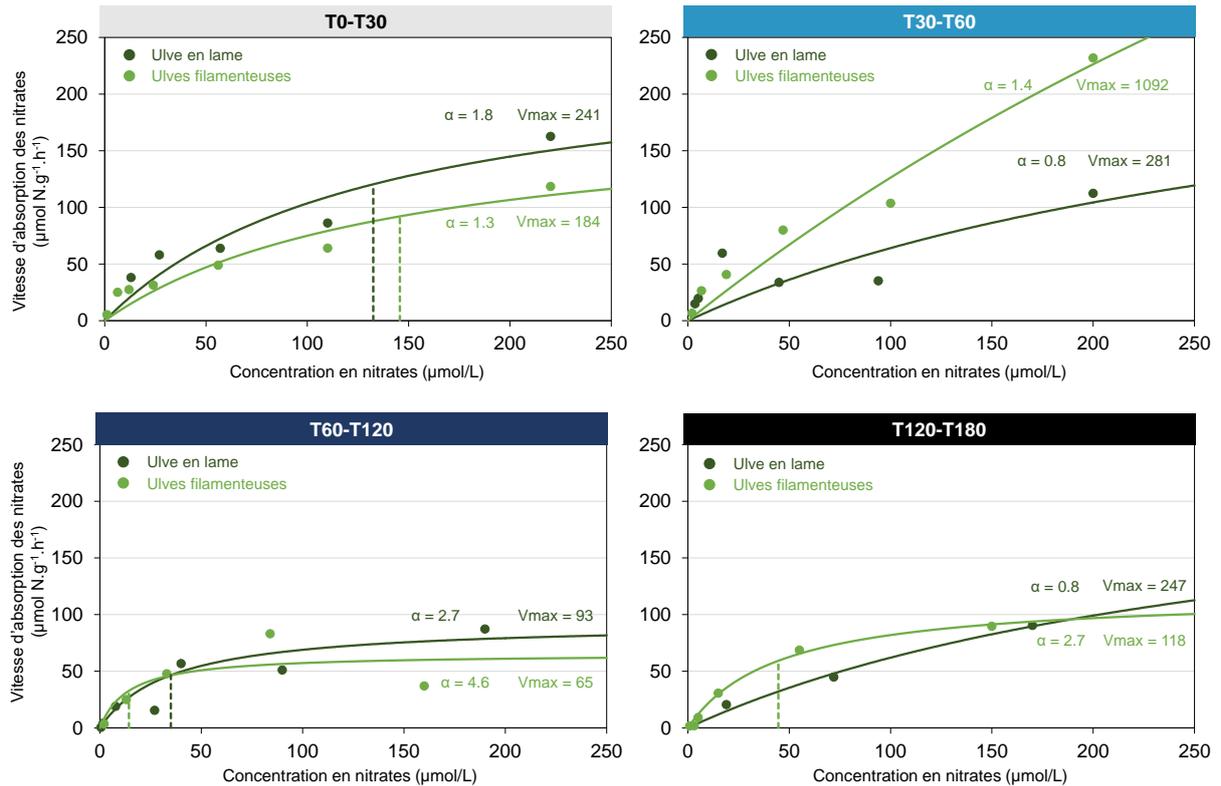


Figure 20. Comparaison interspécifique des cinétiques d'absorption en nitrates des deux types d'ulves étudiés pour chaque intervalle de temps. La ligne en pointillée indique la valeur en abscisse du  $K_m$ .

### Cinétiques d'absorption en ammonium

Pour chaque pas de temps étudié, les deux types d'ulves ont montré des vitesses d'absorption en ammonium relativement similaires pour de faibles concentrations en ammonium dans le milieu ( $< 75 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) (Figure 21).

À des niveaux de concentration plus élevés, des différences de cinétique d'absorption en ammonium ont été relevées :

- au cours des 30 premières minutes (T0-15 et T15-30), les vitesses d'absorption en ammonium des ulves en lame ont évolué linéairement avec la concentration en ammonium du milieu, tandis que des vitesses maximales d'absorption ont été atteintes par les ulves filamenteuses (224 et  $390 \mu\text{mol N.g}^{-1}\text{.h}^{-1}$  pour les pas de temps T0-T15 et T15-T30 respectivement).
- pendant les deux quarts d'heure suivants (T30-45 et T45-60), la situation inverse a été observée : des vitesses maximales d'absorption en ammonium ont été atteintes pour les ulves en lame (288 et  $214 \mu\text{mol N.g}^{-1}\text{.h}^{-1}$  pour les pas de temps T30-T45 et T45-T60 respectivement) tandis que les cinétiques d'absorption en ammonium des ulves filamenteuses ont suivi une relation linéaire.
- après une heure d'expérimentation (T60 à T120), les profils cinétiques des deux types d'algues se sont caractérisés par l'atteinte d'une vitesse maximale d'absorption en ammonium. Les ulves en lame ont présenté une vitesse maximale relativement plus élevée ( $262 \mu\text{mol N.g}^{-1}\text{.h}^{-1}$ ) que celle des ulves filamenteuses ( $99 \mu\text{mol N.g}^{-1}\text{.h}^{-1}$ ).

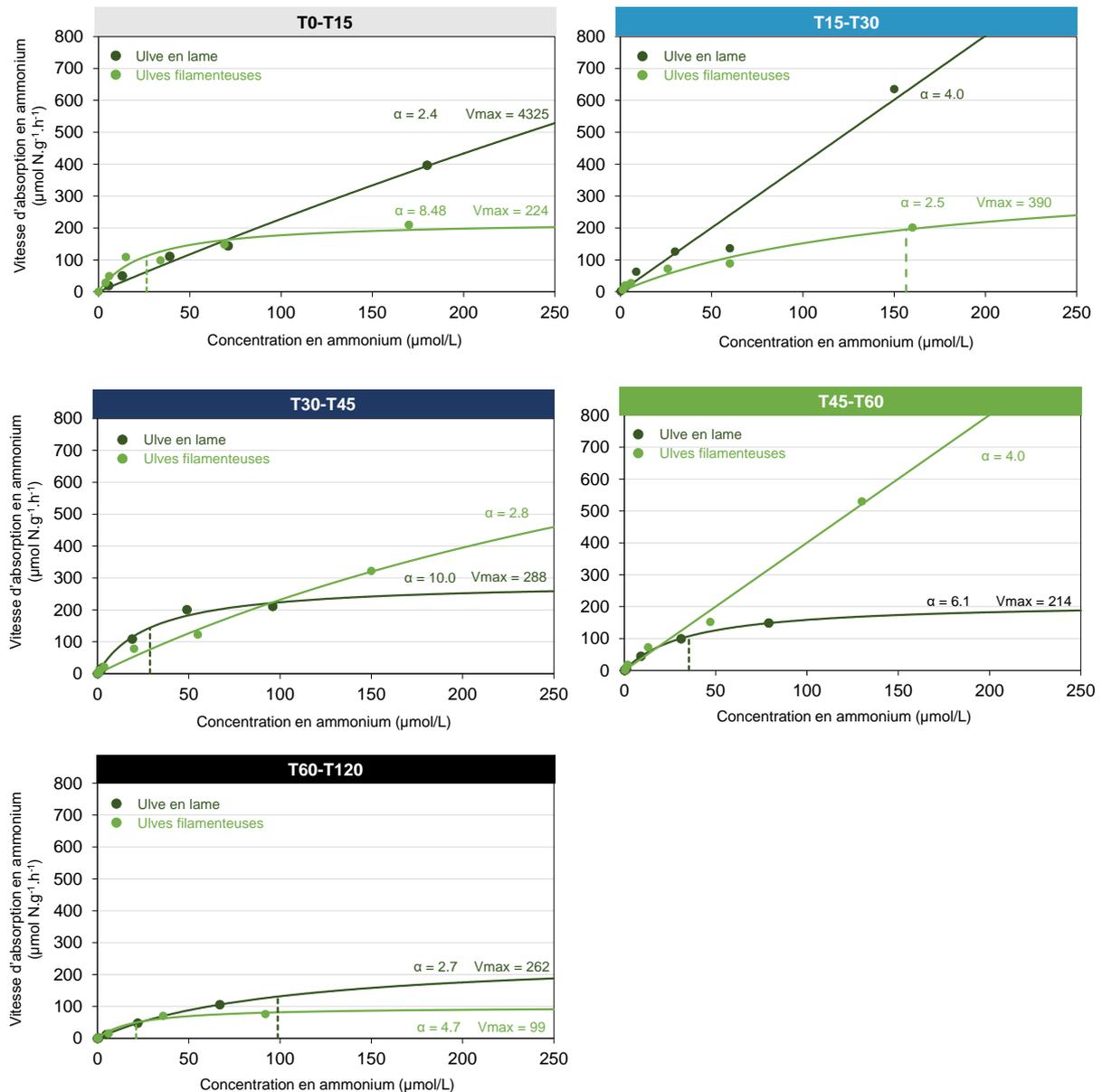


Figure 21. Comparaison interspécifique des cinétiques d'absorption en ammonium des deux types d'ulves étudiés pour chaque intervalle de temps. La ligne en pointillée indique la valeur en abscisse du Km.

### Cinétiques d'absorption en phosphates

Au cours des 60 premières minutes d'expérimentation (T0-T60), les deux types d'ulves ont montré des vitesses d'absorption en phosphates similaires pour de faibles concentrations en phosphates dans le milieu (< 8 µmol/L) (Figure 22). Au-delà, les vitesses ont augmenté linéairement aux concentrations en phosphates pour les ulves en lame tandis qu'elles ont approché une valeur maximale à 18 µmol P.g<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> pour les ulves filamenteuses.

Après 60 minutes d'expérimentation (T60-120 et T120-240), les cinétiques d'absorption en phosphates ont montré des profils similaires pour les deux types d'ulves. Les vitesses d'absorption maximales des ulves en lame ( $V_{max} = 11 \mu\text{mol P.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$  de T60-120 et  $2.5 \mu\text{mol P.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$  de T120-240) ainsi que les affinités  $\alpha$  (2,5-2,6 de T60 à T120 et 1,0-1,6 de T120 à T180) étaient comparables à celles des ulves filamenteuses.

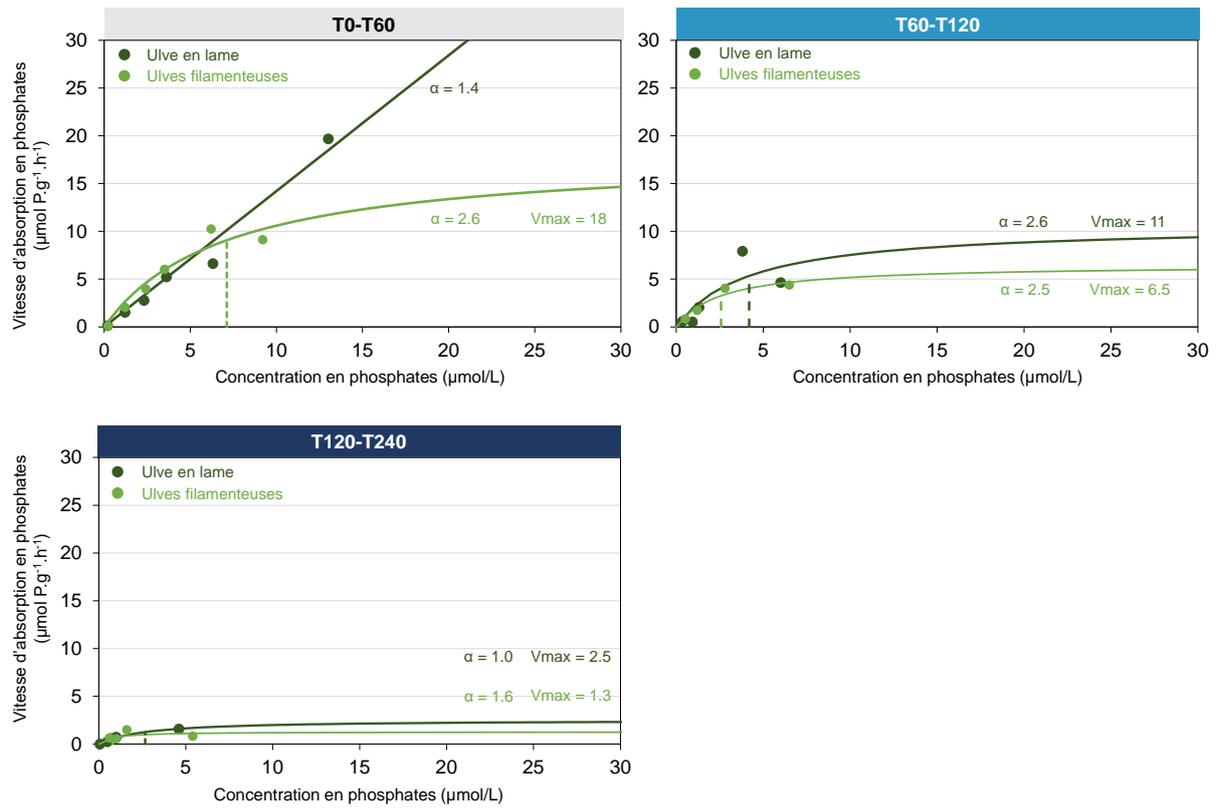


Figure 22. Comparaison interspécifique des cinétiques d'absorption en phosphates des deux types d'ulves étudiés pour chaque intervalle de temps. La ligne en pointillée indique la valeur en abscisse du  $K_m$ .



## 4. Discussion

Dans la présente étude, l'objectif des expérimentations en conditions contrôlées était d'évaluer les caractéristiques écophysologiques des espèces d'algues vertes dominant les blooms de macroalgues en zones estuariennes, et, potentiellement, de mettre en évidence des différences entre les deux formes d'algues vertes (filamenteuses et en lame).

### *Réponses physiologiques à une incubation de 12 jours dans un milieu enrichi en nutriments*

Dans le cadre de la première expérimentation, les ulves ont été incubées dans des milieux enrichis en nitrates, ammonium et phosphates pendant 12 jours. Dans ces conditions, les deux types d'ulves ont montré des taux de croissance similaires, sauf pour le milieu enrichi en nitrates (N+) et celui enrichi en nitrates et phosphates (N+P+). Dans ces deux milieux, les thalles des ulves en lame se sont fragmentés. Dans le milieu naturel, la fragmentation des thalles peut traduire une dégradation des algues en réponse à des conditions abiotiques et biotiques particulières (e.g. broutage par des prédateurs, conditions nutritives défavorables, fort hydrodynamisme), mais aussi être liée à des phases de libération de zoospores produites dans les cellules algales (Gao et al. 2010; Wichard et al. 2015; Han et al. 2019).

Les zoospores des ulves sont des micro-propagules qui jouent un rôle important dans la formation des marées vertes (Hoffmann et Santelices 1991; Gao et al. 2010; Han et al. 2019), de par leur capacité à ensemercer efficacement le milieu et à résister à des conditions environnementales hostiles (Zhang et al. 2010; Zhang et al. 2011; Fang et al. 2012; Liu et al. 2012). Les micro-propagules d'algues peuvent survivre aux conditions hivernales, et constituer une source de cellules algales capables de se développer dès que les conditions saisonnières de température et de lumière deviennent favorables au printemps. Le rôle des micro-propagules d'ulves dans la formation de marées vertes a particulièrement été mis en évidence dans les eaux côtières de Chine (e.g. Mer Jaune, Mer de Bohai), où des proliférations massives d'*Ulva prolifera* ont été régulièrement observées ces dernières années (Gao et al. 2010; Han et al. 2019; Fan et al. 2015; He et al. 2019).

Il a été démontré que la formation et la libération de zoospores chez *Ulva* spp. pouvaient notamment être contrôlées par le cycle lunaire (Christie et Evans 1962; Pandey et Ohno 1985; Dan et al. 2002; Lüning, Kadel et Pang 2008) et être déclenchées par une modification des conditions de température et de salinité, par la mise à l'obscurité des thalles pendant plusieurs jours ou encore par le renouvellement du milieu de culture (Thiadens et Zeuthen 1966; Niesenbaum 1988; Dan et al. 2002; Corradi, Gorbi et Zanni 2006; Kuwano et al. 2012). Dans la présente étude, il est possible que les milieux d'incubation N+ et N+P+, particulièrement enrichis en éléments nutritifs par rapport aux conditions *in situ*, aient induit la production de zoospores dans les cellules algales des ulves en lame puis leur libération dans le milieu. Cette hypothèse pourrait être soutenue par l'observation, à l'œil nu, d'un dépôt vert en fin d'incubation sur les parois des béciers de la modalité N+P+ associés aux ulves en lame, et par l'observation au microscope de structures pouvant être associées à ces zoospores (Figure 14).

Sur la base de ces observations, les différences de croissance observées entre les deux types d'algues dans les deux milieux enrichis en nitrates (N+ et N+P+) peuvent donc s'expliquer par des stades biologiques différents : les ulves filamenteuses étant en phase de croissance et les ulves en lame dans un stade de reproduction.

En parallèle des taux de croissance spécifiques aux deux types d'ulves, cette expérimentation s'intéressait à leurs capacités d'assimilation et de fixation d'azote et de phosphore. Les résultats montrent que les ulves en lame ont fixé de plus grandes quantités de phosphore que les ulves filamenteuses à l'issue des 12 jours d'incubation dans un milieu enrichi en phosphates. Cette meilleure fixation en phosphore par les ulves en lame semble conforter les résultats obtenus lors des échantillonnages *in situ* sur la vasière du Lédano au cours de la saison : les plus forts quotas phosphorés étaient associés aux ulves en lame en septembre, période à laquelle les concentrations en phosphates étaient plus importantes dans la colonne d'eau par rapport au début de saison (probablement en lien



avec l'intensification du relargage sédimentaire en phosphore dans la colonne d'eau de juin à septembre ; CIMAVP3 2016-2018). Dans le cadre de l'étude CARMA, menée en mai 2019 dans les mêmes conditions expérimentales, l'ulve en lame avait également montré les plus fortes valeurs de fixation en phosphore à l'issue des 12 jours d'incubation, en comparaison, cette fois, à quatre autres algues proliférantes : *Ulvaria* sp., prélevée à la même période (mai 2019), et *Cladophora* sp., *Ectocarpus* sp. et *Polysiphonia* sp., prélevées en fin de saison (août 2018).

En termes de fixation d'azote, il a été noté, par ailleurs, que de plus faibles quantités d'azote avaient été fixées par les algues en lame dans les milieux enrichis en nitrates. Néanmoins, dans ces milieux, les deux types d'ulves n'étaient pas dans le même état physiologique (i.e. fragmentation des ulves en lame) ; ne permettant pas de conclure sur les performances d'assimilation en azote associées à chaque type d'ulves.

#### Réponses physiologiques à « court-terme »

En réponse à un apport ponctuel de nutriments (Expérimentation 2), les deux types d'ulves ont montré des cinétiques d'absorption en nitrates, ammonium et phosphates très similaires. La morphologie des thalles (filamenteux, foliacés) ne semble donc pas avoir eu un impact sur les vitesses d'absorption en nutriments pour les ulves présentes sur la vasière du Lédano en début de saison. De précédentes études avaient en effet montré que le rapport surface/volume (S/V) et les processus de transport vers l'intérieur du thalle pouvaient influencer les cinétiques d'absorption ainsi que la productivité des algues (Wallentinus 1984; Carpenter 1990; Hein, Pedersen et Sand-Jensen 1995).

Les données de paramètres cinétiques obtenues dans la présente étude sont du même ordre de grandeur que les valeurs documentées dans la littérature, même si une certaine variabilité peut être observée (Tableau 6). En effet, les paramètres cinétiques sont dépendants de l'état physiologique des algues mais aussi des conditions environnementales (T°C, irradiance, photopériode, concentration en nutriments) au moment du prélèvement (Wallentinus 1984; Auby et al. 1994; Valiela et al. 1997) qui peuvent ainsi varier d'une étude à l'autre. Néanmoins, dans le cadre du projet CARMA (2018-2020, porté par le CEVA), les paramètres cinétiques des ulves en lame ont été déterminés selon le même protocole (Lotze et Schramm 2000); avec un prélèvement du matériel biologique en baie de Saint-Brieuc, quelques semaines plus tôt, en mai 2019. Les vitesses maximales d'absorption en nitrates étaient comprises entre 165 et 232  $\mu\text{mol N.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$  pour les ulves de la baie de Saint-Brieuc, en cohérence avec les valeurs rapportées pour les ulves en lame et filamenteuses de la vasière du Lédano. Les vitesses d'absorption en ammonium étaient également supérieures à celles des nitrates ( $> 200 \mu\text{mol N.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$  dans les 60 premières minutes d'incubation) et ont aussi ponctuellement suivi un profil linéaire sur un des intervalles de temps étudié (0 à 15 minutes). Enfin, les ulves de la baie de Saint-Brieuc ont montré de faibles vitesses d'absorption en phosphates ( $< 10 \mu\text{mol N.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) sur les 4h d'incubation, et qui étaient du même ordre de grandeur que celles relevées pour les ulves de la vasière du Lédano.



Tableau 6. Synthèse des données de paramètres cinétiques d'absorption en nitrates, ammonium et phosphates issues de la littérature et des précédentes études CEVA.

Espèce / Genre	Lieu de prélèvement	Date de prélèvement	Conditions expérimentales	Absorption en nitrates			Absorption en ammonium			Absorption en phosphates			Référence
				Vmax (µmol/g/h)	Km (µmol/L)	α	Vmax (µmol/g/h)	Km (µmol/L)	α	Vmax (µmol/g/h)	Km (µmol/L)	α	
<i>Ulva armoricana</i>	Saint-Brieuc	juil-90	Flux, température et luminosité extérieures	207	30.0	6.9	-	-	-	-	-	-	CEVA, 1990
<i>Ulva armoricana</i>	Saint-Brieuc	juil-90	Flux, température et luminosité extérieures	48.5	3.0	16.2	-	-	-	-	-	-	CEVA, 1990
<i>Ulva armoricana</i>	Saint-Brieuc	août-90	Flux, température et luminosité extérieures	207	40.0	5.2	-	-	-	-	-	-	CEVA, 1990
<i>Ulva</i> sp.		avr-91	Flux, température et luminosité extérieures	177	9.6	18.4	-	-	-	-	-	-	CEVA, 1991
<i>Ulva</i> sp.		mai-91	Flux, température et luminosité extérieures	63.6	1.7	37.4	-	-	-	-	-	-	CEVA, 1991
<i>Ulva</i> sp.		juin-91	Flux, température et luminosité extérieures	228	17.9	12.7	-	-	-	-	-	-	CEVA, 1991
<i>Ulva</i> sp.		juil-91	Flux, température et luminosité extérieures	185	52.1	3.6	-	-	-	-	-	-	CEVA, 1991
<i>Ulva</i> sp.		août-91	Flux, température et luminosité extérieures	79.1	3.2	24.7	-	-	-	-	-	-	CEVA, 1991
<i>Ulva armoricana</i>	Saint-Brieuc (Lermot)	juil-09	Flux, température et luminosité extérieures	132	27.1	4.9	-	-	-	-	-	-	CEVA, CIMAV P3, 2009
<i>Ulva rotundata</i>	Douarnenez	août-09	Flux, température et luminosité extérieures	64.9	13.2	4.9	-	-	-	-	-	-	CEVA, CIMAV P3, 2009
<i>Ulva armoricana</i>	Saint-Michel-en Grève	avr-10	Flux, température et luminosité extérieures	146	6.6	22.1	-	-	-	-	-	-	CEVA, CIMAV P3, 2010
<i>Ulva armoricana</i>	Rance	mai-10	Flux, température et luminosité extérieures	223	46.0	4.9	-	-	-	-	-	-	CEVA, CIMAV P3, 2010
<i>Ulva armoricana</i>	Saint-Michel-en Grève	juil-10	Flux, température et luminosité extérieures	91.7	22.1	4.2	-	-	-	-	-	-	CEVA, CIMAV P3, 2010
<i>Ulva armoricana</i>	Saint-Michel-en Grève	juin-11	Flux, température et luminosité extérieures	50.4	3.1	16.3	-	-	-	-	-	-	CEVA, CIMAV P3, 2011
<i>Ulva armoricana</i>	Saint-Michel-en Grève	juil-11	Flux, température et luminosité extérieures	87.5	14.6	6.0	-	-	-	-	-	-	CEVA, CIMAV P3, 2011
<i>Ulva rotundata</i>	Rance	août-11	Flux, température et luminosité extérieures	122	30.9	3.9	-	-	-	-	-	-	CEVA, CIMAV P3, 2011
<i>Ulva armoricana</i>	Saint-Michel-en Grève	août-11	Flux, température et luminosité extérieures	81.6	3.1	26.3	-	-	-	-	-	-	CEVA, CIMAV P3, 2011
<i>Ulva</i> sp.	Trestel	juil-14	Flux, température et luminosité extérieures	62.4-126	7.9-103	1.2-7.9	-	-	-	-	-	-	CEVA, CIMAV P3, 2014
<i>Ulva</i> sp.	Saint-Michel-en Grève	oct-14	Batch, température et luminosité extérieures	106-181	34.8-97.2	1.9-3.0	-	-	-	-	-	-	CEVA, CIMAV P3, 2014
<i>Ulva lactuca</i>	Oslofjord, Norvège	juin-15	Batch, température et luminosité <i>in situ</i>	-	-	-	-	-	-	4.2	5.6	0.7	Pedersen et al., 2010
<i>Ulva rigida</i>	Italie	mai-01	Batch	68.2	87.0	0.8	-	-	-	-	-	-	Naldi et Viaroli 2002
<i>Ulva lactuca</i>	Sydney, Australie	févr-02	Batch 200°C, 450 µmol/m <sup>2</sup> /s	116.0	34.0	3.5	427-469	85-147	3.2-5.1	-	-	-	Runcie et al., 2003
<i>Ulva prolifera</i>	Mer Jaune, Chine	juil-11	Batch	124.3	15.2	8.2	284	25.1	11.3	-	-	-	Luo et al., 2012
<i>Ulva linza</i>	Mer Jaune, Chine	mai-11	Batch	109.1	23.0	4.8	250	37	6.8	-	-	-	Luo et al., 2012
<i>Ulva intestinalis</i>	Asturies, Espagne	juin-05	Batch 15°C, 125 µmol/m <sup>2</sup> /s	75.3	33.1	2.3	-	-	2.2	-	-	0.2	Martinez et al., 2012
<i>Ulva intestinalis</i>	Mer Baltique, Allemagne	juin-95	Batch 15°C, 100 µmol/m <sup>2</sup> /s, cycle 14J:10N	90.1-237	20.4-43.7	4.4-6.4	60.7-439	12.8-66.4	4.7-8.8	13.9-46.9	8.1-17.3	1.7-2.7	Lotze et Schramm, 2000
<i>Ulva armoricana</i>	Baie de Saint-Brieuc (Lermot)	mai-19	Batch 19°C, 150-200µmol/m <sup>2</sup> /s, cycle 16J:8N	165-232	41.3-84.1	2.0-5.6	280-7188	39.23-1479	4.9-7.3	-	-	-	CEVA, CARMA 2018-2019
<i>Ulva armoricana</i>	Vasière du Lédano	juin-19	Batch 19°C, 150-200µmol/m <sup>2</sup> /s, cycle 16J:8N	93.1-247	35.0-338	0.8-2.7	215-4326	28.8-1798	2.4-10.0	2.5-10.7	2.7-4.2	1.0-2.6	CEVA, CIMAV P3, 2019
<i>Ulva</i> sp. filamenteuses ( <i>laetivirens</i> )	Vasière du Lédano	juin-19	Batch 19°C, 150-200µmol/m <sup>2</sup> /s, cycle 16J:8N	65.4-1092	14.3-764	1.3-4.6	99.0-1343	21.2-480	2.5-8.5	1.3-18.1	0.8-7.1	1.6-2.6	CEVA, CIMAV P3, 2019



### Lien avec la distribution des deux types d'ulves sur la vasière du Lédano

À partir des deux expérimentations en conditions contrôlées, il a ainsi été montré que les ulves en lame et filamenteuses étaient caractérisées par des dynamiques nutritionnelles similaires. Ces résultats ont été confortés par les résultats obtenus à partir d'ulves (en lame et filamenteuses) prélevées *in situ* sur la vasière du Lédano et présentant des quotas azotés et phosphorés comparables. Pour autant, les observations de terrain montrent que la forme filamenteuse était globalement prépondérante sur la forme foliaire en termes de biomasse en juin, juillet et septembre.

Plusieurs études dans la littérature ont mis en évidence la plasticité morphologique des algues du genre *Ulva* (Zhang et al. 2013; Wichard 2015; Gao et al. 2016). Elles démontrent qu'une espèce d'ulve donnée peut adopter différentes morphologies au cours d'une saison, en fonction notamment des populations bactériennes en présence (Matsuo et al. 2005; Wichard 2015), de la température et de la salinité du milieu (Messyasz et Rybak 2011; Gao et al. 2016). Ces études ont plus particulièrement ciblé l'espèce *Ulva prolifera* qui se développe massivement en Mer Jaune, et qui est capable d'adopter quatre formes différentes: tubulaire, filamenteuse, kystique et en lame (Zhang et al. 2013; Gao et al. 2016). L'idée que les deux types d'ulves (en lame et filamenteuses) rencontrés sur la vasière du Lédano correspondent à deux morphologies distinctes d'une même espèce n'est pas à exclure, au vu des résultats de l'identification moléculaire et de leurs caractéristiques nutritionnelles très comparables. Dans la présente étude, les séquences d'ADN des deux types d'ulves ont en effet présenté une forte similarité avec les séquences d'une espèce commune, *Ulva laetevirens*. En suivant cette hypothèse, il est possible que les proliférations d'algues vertes observées sur la vasière du Lédano soient associées à une seule espèce d'ulve, qui se développerait majoritairement sous sa forme filamenteuse. On notera, qu'en Mer Jaune, la forme filamenteuse d'*U. prolifera* est celle qui se développe le plus rapidement en comparaison des trois autres morphologies (i.e. tubulaire, en lame et kystique), et qui domine les proliférations saisonnières d'algues vertes.

Dans l'autre hypothèse où les deux types d'ulves (filamenteuses et en lame) rencontrées sur la vasière du Lédano correspondent à deux espèces distinctes, la similarité de leur dynamique nutritionnelle implique que la dominance de la forme filamenteuse sur la forme en lame doit être conditionnée par d'autres facteurs déterminants. Ce constat a été précédemment réalisé par Lotze et Schramm (2000), qui observent une succession saisonnière des algues proliférantes *Pylaiella littoralis* et *Ulva intestinalis* en Mer Baltique, bien que les deux espèces possèdent des dynamiques nutritionnelles comparables. Selon Lotze et al. (2000), l'intensité des proliférations et la sélection de la / des espèce(s) dominante(s) sont contrôlées par une combinaison de facteurs en interaction, liés aux conditions abiotiques du milieu (i.e. lumière, température, et disponibilité en nutriments), aux interactions biotiques (i.e. broutage sélectif par les herbivores, allélopathie), mais aussi aux cycles de développement saisonniers spécifiques aux algues (e.g. stratégie de reconduction des stocks des algues de la saison précédente, rapide dissémination de micro-propagules en début de printemps). Sur la période hivernale, les algues se trouvent majoritairement sous forme de fragments de thalle végétatif adulte (Vermaat et Sand-Jensen 1987; Schories 1995; Kamermans et al. 1998) ou de micro-propagules (Schories 1995; Lotze et al. 1999), capables de persister dans des conditions hostiles hivernales, et d'attendre le retour de conditions plus favorables pour reconduire une prolifération au printemps suivant (Han et al. 2019; Lotze, Worm et Sommer 2000; Gao et al. 2010; Wichard 2015). En parallèle, l'augmentation saisonnière des températures et de l'intensité lumineuse déclenche la reproduction des algues en présence et de nouvelles disséminations dans le milieu (Lotze et al. 1999). La croissance d'une espèce en début de saison pourra donc être favorisée par l'existence d'un stock issu de la reconduction des algues de la saison précédente, ou par la capacité de cette espèce à rapidement se développer / disséminer de nouvelles propagules dans le milieu (Lotze, Worm et Sommer 2000).

Même si la morphologie n'a pas semblé avoir d'incidence sur les processus d'absorption en nutriments des ulves de la vasière du Lédano, elle peut avoir eu une influence sur les processus de



photosynthèse en impactant notamment l'accès à la lumière. Comparativement aux formes foliaires, les formes tubulaires et filamenteuses se caractérisent par de nombreuses ramifications induisant un rapport S/V plus important, ainsi que par une meilleure capacité à flotter à la verticale en condition d'immersion (Nielsen et Sand-Jensen 1990; Lotze et Schramm 2000). Ces deux caractéristiques pourraient leur conférer une meilleure capacité à capter la lumière par rapport aux ulves en lame, et de fait, favoriser leur croissance via les processus de photosynthèse. Cette idée irait dans le sens des observations *in situ* réalisées sur la vasière du Lédano, montrant globalement une dominance des ulves filamenteuses sur les biomasses algales sur l'ensemble de la saison.

À ce stade et en se basant sur les données environnementales à disposition, il est difficile d'identifier les facteurs biotiques et abiotiques qui ont conditionnés la composition et la distribution des deux types d'ulves sur le site d'étude.

## 5. Conclusion

En approfondissant nos connaissances sur les caractéristiques écophysologiques des principales formes d'ulves dominants les blooms de macroalgues en zones estuariennes, cette étude questionnait la pertinence de considérer l'ensemble des espèces d'ulves, sans distinction spécifique, dans le calcul de l'indicateur biologique « bloom d'algues vertes opportunistes » pour l'évaluation de la qualité des masses d'eau dans le cadre de la DCE. D'un point de vue nutritionnel, les deux types d'ulves (en lame et filamenteuses) de la vasière du Lédano ont présenté des profils très similaires, et caractéristiques des algues opportunistes (e.g. rapide absorption des nutriments et croissance). De fait, dans le cas de la vasière du Lédano, la non-distinction des deux types d'ulves dans le calcul de cet indicateur biologique apparaît pertinente.

En démontrant une similarité de dynamique nutritionnelle entre les deux formes d'ulves, cette étude suggère que d'autres facteurs abiotiques / biotiques sont impliqués dans le contrôle de la composition des biomasses d'algues vertes sur la vasière du Lédano. La poursuite des investigations sur l'identification de ces paramètres apparaît donc nécessaire pour comprendre la distribution des deux types d'algues vertes sur la zone estuarienne du Trieux. Dans cette optique, la mise en place d'une expérimentation *in situ* testant l'impact des interactions biotiques telles que la compétition d'espèces sur la ressource limitante que représentent les nutriments (azotés et phosphorés) pourrait être envisagée.



## OBJECTIF 3 – OPERATIONNALISATION DU MODELE ECOLOGIQUE MARS3D-ULVES

### 1. Principe

L'objectif de cette action est de mettre au point un nouveau module biologique pour la forme filamenteuse des ulves (ex. *Enteromorpha*). Les données relatives aux traits écophysologiques obtenues en milieu contrôlé ont permis de calibrer et de valider ce nouveau module. Pour ce faire, le CEVA a recouru au développement de modèles OD qui présentent l'avantage d'être à la fois peu coûteux, de pouvoir tester rapidement différents jeux de paramètres intervenant dans la croissance de l'algue étudiée et de confronter directement les prédictions du modèle OD aux résultats des mesures.

### 2. Matériels et méthodes

Le module de production OD pour *Ulva spp.* a été implémenté sous le logiciel de calcul scientifique Matlab. Le schéma de fonctionnement du modèle OD est directement calqué sur le module de production en ulves issus du modèle EcoMars-Ulves (Perrot et al. 2014). La mise en œuvre du modèle OD 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 OD (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 OD à chaque pas de temps. Les conditions initiales en sels nutritifs, quotas en N et P et biomasse en ulve sont issues des valeurs mesurées à chaque début d'expérience (T0). 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 OD. Le bilan de masse permet de vérifier à chaque pas de temps de calcul que le système modélisé ne crée ou ne perde de l'azote ou phosphore.

La comparaison des mesures expérimentales avec les valeurs prédites par le modèle OD en vue de déterminer des paramètres physiologiques de croissance entre les ulves en lames et filamenteuses a porté sur les modalités d'expériences décrites au paragraphe 2.3 de l'objectif 2. Ainsi, les deux conditions d'expérimentations à long (Exp. 1) et court terme (Exp. 2) ont été modélisées.

Le Tableau 7 récapitule les valeurs de l'ensemble des paramètres biochimiques du modèle OD appliqués aux modules biologiques.

Tableau 7: Paramètres biochimiques du modèle OD pour les ulves.

Symbole	Définition	Unité	Valeur
$\mu_{\max ulva}$	Taux de croissance maximum	$j^{-1}$	0.8
$K_{Nulva}$	Constante de demi-saturation de N	$\mu\text{mol l}^{-1}$	14
$K_{Pulva}$	Constante de demi-saturation de P	$\mu\text{mol l}^{-1}$	2.8
$V_{\max Nulva}$	Vitesse maximale d'absorption de N	$\mu\text{mol g}^{-1}$	119
$V_{\max Pulva}$	Vitesse maximale d'absorption de P	$\mu\text{mol g}^{-1}$	17.2
$Q_{\max Nulva}$	Quota maximal en azote	$\text{g.kg}^{-1}$ (M.S.)	40
$Q_{\text{crit}Nulva}$	Quota critique en azote	$\text{g.kg}^{-1}$ (M.S.)	20
$Q_{\min Nulva}$	Quota de subsistance en azote	$\text{g.kg}^{-1}$ (M.S.)	10
$Q_{\max Pulva}$	Quota maximal en phosphore	$\text{g.kg}^{-1}$ (M.S.)	4.0
$Q_{\text{crit}Pulva}$	Quota critique en phosphore	$\text{g.kg}^{-1}$ (M.S.)	1.25
$Q_{\min Pulva}$	Quota de subsistance en phosphore	$\text{g.kg}^{-1}$ (M.S.)	0.5



$M_{ulvadep}$	Taux de mortalité	$j^{-1}$	0.02
$b_{surf\text{ulva}}$	Surface spécifique en biomasse (poids sec)	$g\ m^{-2}$	0.005
$k_{minN}$	Taux de reminéralisation de N	$j^{-1}$	0.02
$k_{minP}$	Taux de reminéralisation de P	$j^{-1}$	0.07
$k_{nitrif_0}$	Taux de nitrification à 0°C	$j^{-1}$	0.02

## 2.1. Expérimentation d'écophysiologie 1

L'expérimentation 1 visant à évaluer l'effet des nutriments (nitrates, ammonium et phosphates) sur le taux de croissance et l'assimilation en nutriments de chacune des formes d'ulves étudiées.

L'incubation conduite sur 12 jours comprend les modalités suivantes :

- « C » : Milieu de contrôle,
- « N+ » : Milieu enrichi en nitrates,
- « P+ » : Milieu enrichi en phosphates,
- « N+P+ » : Milieu enrichi en nitrates et phosphates,
- « NH<sub>4</sub>+P+ » : Milieu enrichi en ammonium et phosphates.

Tous les deux jours l'eau étant renouvelé dans les bacs d'expérimentations, une remise à zéro des variables de concentrations en azote et phosphore détritiques a été appliquée ainsi qu'une réinitialisation des concentrations en sels nutritifs (nitrates, ammonium et phosphates) selon la modalité de l'expérience. Les mesures des quotas phosphorés des enrichissements N+P+ et NH<sub>4</sub>+P+ n'ont pas été incluses dans l'analyse suite à une perte des échantillons par le prestataire (Upscience).

## 2.2. Expérimentation d'écophysiologie 2

L'expérience 2, ayant pour but la détermination des vitesses d'absorption en nutriments de chacune des formes d'ulves étudiées sur des incubations à court terme (de 0 à 240 min), comprend les modalités de concentrations en nutriments suivantes :

- « N+ » : Milieu enrichi en nitrates à plusieurs concentrations C1= 0  $\mu$ M, C2=5  $\mu$ M, C3=10  $\mu$ M, C4=20  $\mu$ M, C5=50  $\mu$ M, C6= 100  $\mu$ M et C7=200  $\mu$ M »
- « NH<sub>4</sub>+ » : Milieu enrichi en ammonium à plusieurs concentrations C1= 0  $\mu$ M, C2=5  $\mu$ M, C3=10  $\mu$ M, C4=20  $\mu$ M, C5=50  $\mu$ M, C6= 100  $\mu$ M et C7=200  $\mu$ M »
- « P+ » : Milieu enrichi en phosphates à plusieurs concentrations C1= 0  $\mu$ M, C2=3  $\mu$ M, C3=6  $\mu$ M, C4=12  $\mu$ M, C5=18  $\mu$ M, C6= 30  $\mu$ M.

En fonction des modalités de l'expérience plusieurs prélèvements de 150 ml ont été effectués au cours du temps. Ce phénomène a dû être pris en compte car chaque prélèvement induit une perte d'environ 3% du volume et de la hauteur de l'eau total des bacs d'expérimentations. Le temps de l'expérience étant relativement court (4h), les conditions de lumière et de température sont considérées comme constantes et égales à la moyenne de l'ensemble des mesures sur la période soit respectivement  $\sim 150\ \mu\text{mol photons m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  et  $\sim 15.5^\circ\text{C}$ .

## 3. Résultats

### 3.1. Expérimentation d'écophysiologie 1

Pour chaque enrichissement, l'évolution des quotas (N et P) et des biomasses modélisés est présentée en **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**



Dans l'ensemble, le modèle parvient à reproduire les valeurs finales de ces trois paramètres et par conséquent leur évolution temporelle.

Les différences notables concernent les quotas phosphorés de l'expérimentation sous la modalité P+ pour les ulves filamenteuses. Il a été mesuré 2 gP.kg<sup>-1</sup> de masse sèche en fin d'expérimentation pour près du double (~4 gP.kg<sup>-1</sup>) simulé par le modèle. La même modalité d'expérimentation sur les ulves en lame donne un quota en phosphore mesuré d'environ 3.5 gP.kg<sup>-1</sup> ce qui est beaucoup plus proche que le quota phosphoré modélisé environ égale à 4 gP.kg<sup>-1</sup>. Les différences observées entre les valeurs de biomasses expérimentales des ulves en lame et les prédictions du modèle pour l'enrichissement en N+P+ étant probablement dues à des différences dans le cycle de vie des ulves (cf. 3.3.2.).

Il est intéressant de noter, pour le milieu contrôle (C) et le milieu enrichi en azote (N+), la similitude des quotas phosphorés et des biomasses. En effet, la limitation en phosphore du milieu N+ et la co-limitation N/P du milieu C a eu le même impact sur la croissance de l'ulve.

Les paramètres biochimiques intégrés au modèle étant identiques pour les algues en lame et filamenteuses, les différences observées en sortie de modèle ne dépendent que des différences de quotas et de biomasses initiales.



## QUOTAS & BIOMASSE

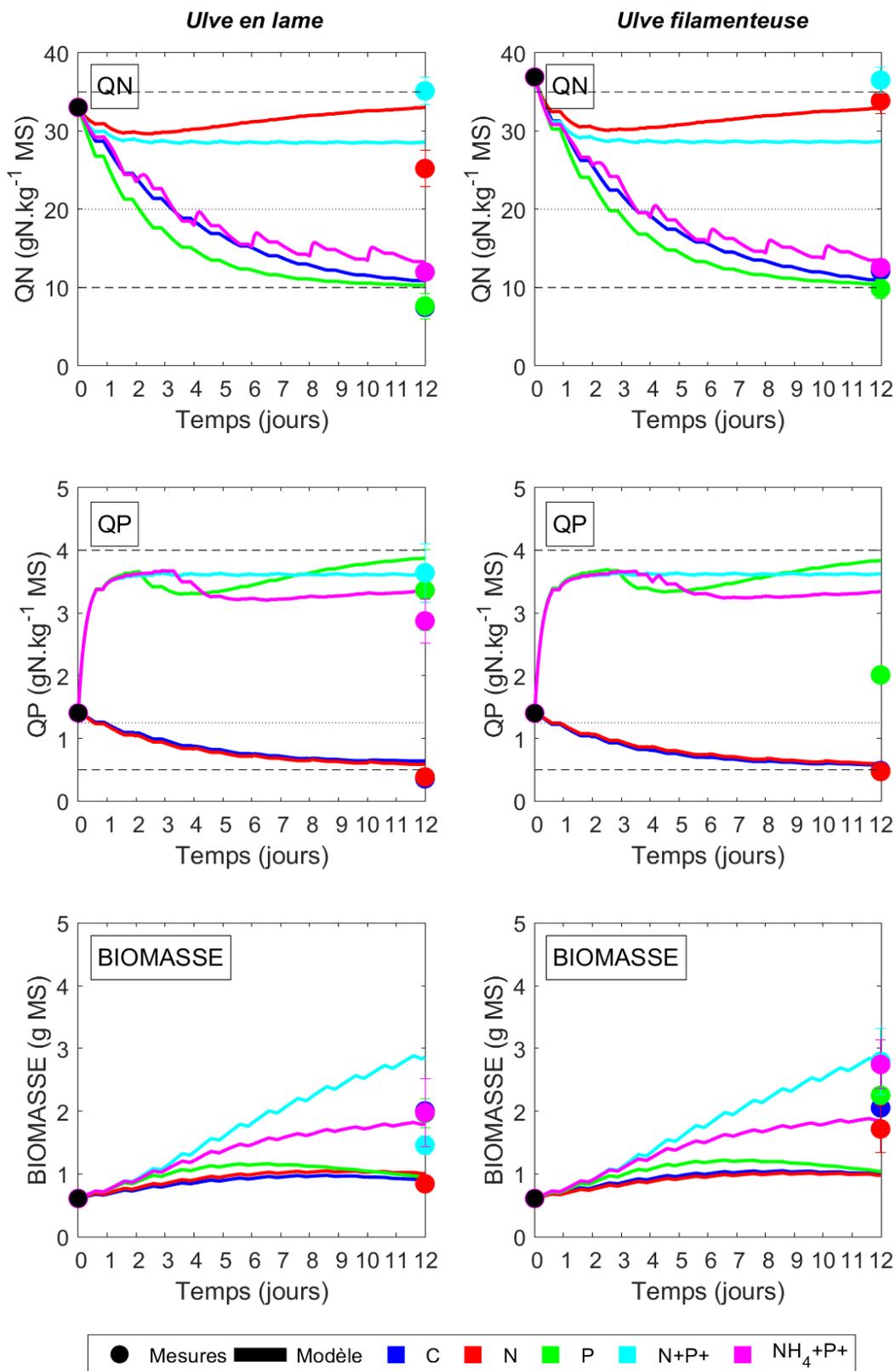


Figure 23. Quotas et biomasses mesurés (cercle) et modélisés (ligne) en fonction des différentes modalités de l'expérimentation écophysio-écologique 1 à long terme. QN : Quota en azote ; QP : Quota en phosphore. Les tirets horizontaux représentent les quotas critiques et les lignes en pointillés représentent les quotas de substance utilisés dans le modèle. MS : Masse sèche.



### 3.2. Expérimentation d'écophysiologie 2

Les cinétiques d'absorptions à court terme de l'azote sont globalement mal représentées par le modèle. La Figure 24 présente pour la modalité d'enrichissement N+, l'évolution des concentrations en nitrates mesurées et modélisées selon 3 niveaux d'enrichissements (0  $\mu\text{M}$ , 20  $\mu\text{M}$ , 200  $\mu\text{M}$ ). Deux jeux de paramètres ont été utilisés, le premier représenté en bleu (Figure 24) utilise les paramètres cinétiques d'absorption du modèle MARS3D-Ulves (Tableau 7), le deuxième jeu de paramètres utilise les cinétiques d'absorptions d'azote et de phosphore déterminées au cours des expérimentations (Tableau 4 et Tableau 5).

Aucun des deux jeux de paramètres ne parvient à reproduire les variations de concentrations en nitrate observées et cela quel que soit la modalité. Ces différences observées peuvent être dues à une mauvaise représentativité du modèle aux échelles de temps de l'ordre de l'heure.



## ENRICHISSEMENT : N+

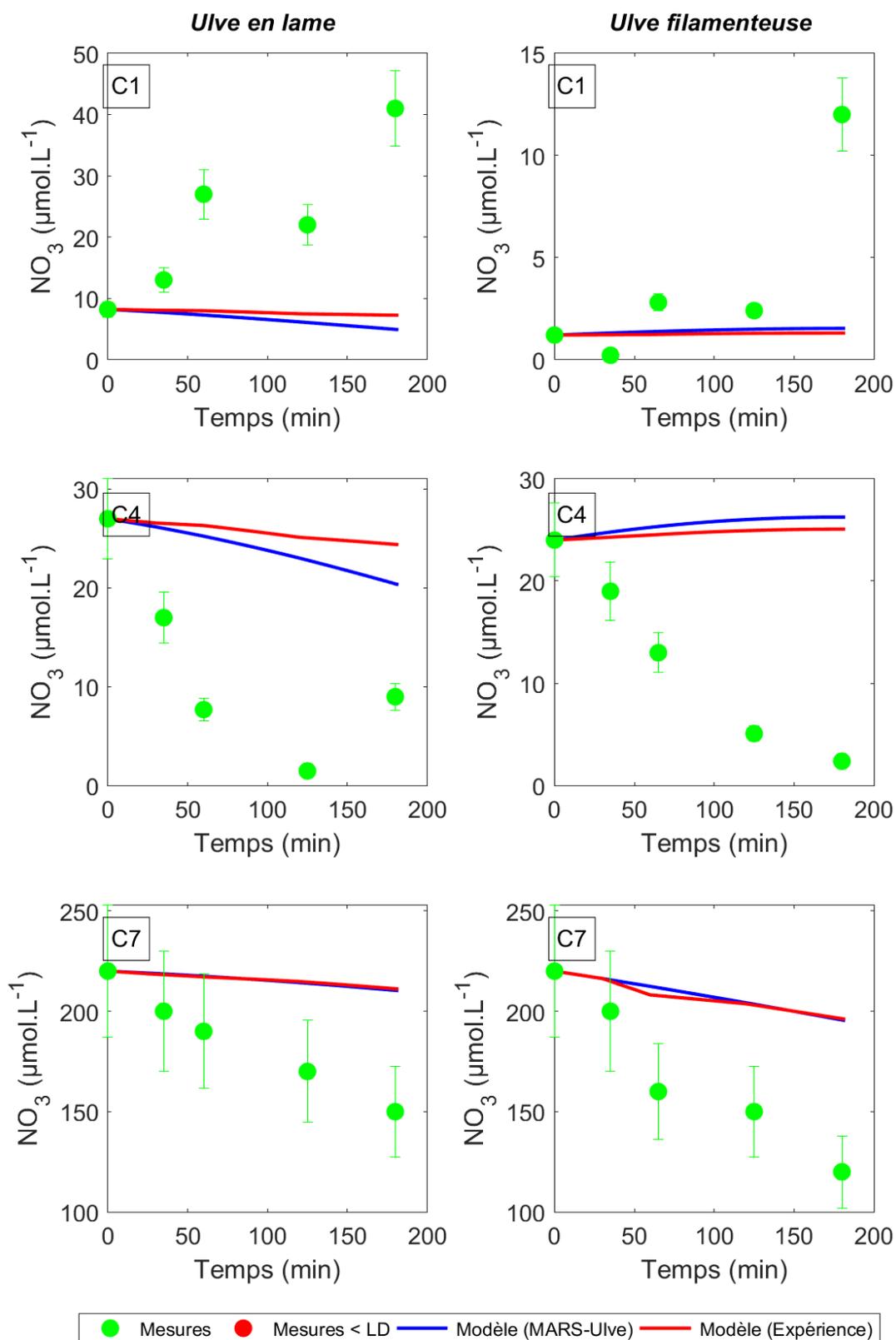


Figure 24: Evolutions temporelles des concentrations en nitrate pour les modalités (N+) C1=0 µM, C4=20 µM et C7=200 µM mesurées (points vert) et modélisées (ligne). En bleu est représenté l'évolution temporelle des concentrations en nitrate modélisées avec les paramètres cinétiques d'absorption de l'azote issus du modèle Mars-Ulve (Perrot et al ; 2014). En rouge est représentée l'évolution temporelle des concentrations en nitrate modélisées avec les paramètres cinétiques d'absorption de l'azote issus des expérimentations.



## 4. Discussion

### 4.1. Expérimentation d'écophysiologie 1

L'expérience d'écophysiologie 1 dite à « long terme » met en évidence la similitude des réponses physiologiques des ulves en lame et filamenteuses à des concentrations en sels nutritifs (azote et phosphore) contrastées.

Les indicateurs du statut nutritionnel des ulves que sont les quotas azotés et phosphorés ainsi que les taux de croissance journaliers moyens, mesurés lors de cette expérimentation ont été comparé à ceux modélisés à l'aide du modèle biologique de croissance des ulves (Perrot et al. 2014).

Les comparaisons entre les résultats de simulation et expérimentaux, mettent en avant la robustesse du modèle quant à la simulation des différents processus biologiques connus des ulves.

Aucune différence physiologique ayant été identifiée lors des expérimentations écophysiologiques en conditions contrôlées, les mêmes paramètres biochimiques ont été appliqués au modèle OD indépendamment du type d'ulves à l'étude (en lame ou filamenteuse).

### 4.2. Expérimentation d'écophysiologie 2

L'expérience d'écophysiologie 2 dite à « court terme » met en évidence la mauvaise représentativité du modèle aux échelles de temps courtes. Les différents jeux de paramètres cinétiques d'absorption utilisés, le premier issu du modèle MARS-Ulve et le deuxième issu des expérimentations, ne permettent pas d'améliorer la performance du modèle pour les deux types d'ulves.

## 5. Conclusion

Les expériences d'écophysiologies ont montré des réponses similaires en termes de cinétiques physiologiques entre les ulves en lames et filamenteuses. Différentes hypothèses sont proposées afin d'expliquer les différences d'aires de répartitions spatiales et temporelles de ces deux types d'ulves (cf Objectif 2 § 4) et la différence de morphologie serait une des explications (i.e. rapport surface/volume, flottabilité) agissant sur des paramètres de croissances non clairement identifiés tel que l'accès à la lumière. Le modèle biologique « Ulve » ne prend pas en compte la morphologie des ulves dans ces équations. La lumière disponible pour la croissance des ulves est dans le modèle conditionné par un effet « d'auto-ombrage » dépendant de la densité surfacique des ulves. Le modèle montre les limites de sa validité pour les échelles de temps courtes. A l'avenir, il serait intéressant de prévoir des mesures expérimentales des différents paramètres (concentrations en nutriments, quotas internes en nutriments et biomasse algale) à intervalle régulier afin de les comparer aux paramètres modélisés via le modèle OD.



## BIBLIOGRAPHIE

---

- Asmus, R. M.; Sprung, M.; Asmus, H. (2000) Nutrient fluxes in intertidal communities of a South European lagoon (Ria Formosa) &#x2013; similarities and differences with a northern Wadden Sea bay (Sylt-R&#x00F8;m&#x00F8; Bay). In : *Hydrobiologia*, vol. 436, n° 1/3, p. 217–235. DOI: 10.1023/A:1026542621512.
- Auby, I.; Manaud, F.; Maurer, D.; Trut, G. (1994) Etude de la prolifération des algues vertes dans le bassin d'Arcachon. Etude IFREMER-CEMAGREF-SSASARBAC. IFREMER, éd. Plouzané, France (146 p).
- Brodie, Juliet.; Maggs, Christine A.; John, D. M.; Blomster, Jaanika.; Society, British Phycological (2007) *The green seaweeds of Britain and Ireland*. [Great Britain] : British Phycological Society.
- Carpenter, Robert C. (1990) COMPETITION AMONG MARINE MACROALGAE. A PHYSIOLOGICAL PERSPECTIVE. In : *Journal of Phycology*, vol. 26, n° 1, p. 6–12. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1990.00006.x.
- Christie; Evans (1962) Periodicity in the Liberation of Gametes and Zoospores of *Enteromorpha intestinalis* Link. In : *Nature*, vol. 193, n° 193-194. En ligne : doi.org/10.1038/193193a0.
- 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, p. 51–60.
- Corradi, Maria; Gorbi, Gessica; Zanni, Corrado (2006) Hypoxia and sulphide influence gamete production in *Ulva* sp. In : *Aquatic Botany*, vol. 84, p. 144–150. DOI: 10.1016/j.aquabot.2005.08.007.
- Dan, Akinori; Hiraoka, Masanori; Ohno, Masao; Critchley, Alan (2002) Observations on the effect of salinity and photon fluence rate on the induction of sporulation and rhizoid formation in the green alga *Enteromorpha prolifera* (Müller) J. Agardh (Chlorophyta, Ulvales). In : *Fisheries Science*, vol. 68. DOI: 10.1046/j.1444-2906.2002.00553.x.
- Fan, Shiliang; Fu, Mingzhu; Wang, Zongling; Zhang, Xuele; Song, Wei; Li, Yan et al. (2015) Temporal variation of green macroalgal assemblage on *Porphyra* aquaculture rafts in the Subei Shoal, China. In : *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, vol. 163, p. 23–28. DOI: 10.1016/j.ecss.2015.03.016.
- Fang, S.; Wang, Z. L.; Li, Yan; Fu, Mingzhu; Fan, S. J.; Wang, X.; Zhang, X. H. (2012) The dynamics of micro-propagules before the Green tide (*Ulva prolifera*) outbreak in southern Huanghai Sea and Changjiang (Yangtze) River Estuary area. In : *Acta Oceanol. Sinica*, vol. 34, p. 147–154.
- Gao, Guang; Zhong, Zihai; Zhou, Xianghong; Xu, Juntian (2016) Changes in morphological plasticity of *Ulva prolifera* under different environmental conditions. A laboratory experiment. In : *Harmful Algae*, vol. 59. DOI: 10.1016/j.hal.2016.09.004.
- Gao, Shan; Chen, Xiaoyuan; Yi, Qianqian; Wang, Guangce; Pan, Guanghua; Lin, Apeng; Peng, Guang (2010) A Strategy for the Proliferation of *Ulva prolifera*, Main Causative Species of Green Tides, with Formation of Sporangia by Fragmentation. In : *PloS one*, vol. 5, n° 1, e8571. DOI: 10.1371/journal.pone.0008571.
- Garcia, Nicole; Oriol, Louise (2015) Analyse automatique des nutriments NO<sub>2</sub> - NO<sub>3</sub> - PO<sub>4</sub> - Si(OH)<sub>4</sub> dans l'eau de mer. Protocole national SOMLIT Sels nutritifs. SOMLIT, éd.
- Han, Hongbin; Song, Wei; Wang, Zongling; Ding, Dewen; Yuan, Chao; Zhang, Xuele; Li, Yan (2019) Distribution of green algae micro-propagules and their function in the formation of the green tides in the coast of Qinhuangdao, the Bohai Sea, China. In : *ACTA OCEANOLOGICA SINICA*, vol. 38, p. 72–77.



- He, Yanli; Wang, Yanhui; Hu, Chaoyang; Sun, Xue; Li, Yahe; Xu, Nianjun (2019) Dynamic metabolic profiles of the marine macroalga *Ulva prolifera* during fragmentation-induced proliferation. In : PLoS one, vol. 14, n° 5, e0214491-e0214491. DOI: 10.1371/journal.pone.0214491.
- Hein, Mette; Pedersen, Morten Foldager; Sand-Jensen, Kaj (1995) Size-dependent nitrogen uptake in micro- and macroalgae. In : Marine Ecology - Progress Series, vol. 118, n° 1/3, p. 247–253.
- Hoffmann, Alicia; Santelices, Bernabe (1991) Banks of algal microscopic forms: hypotheses on their functioning and comparisons with seed banks. In : Marine Ecology Progress Series, vol. 79, p. 185–194.
- Hoffmann, William A.; Poorter, Hendrik (2002) Avoiding bias in calculations of relative growth rate. In : Annals of botany, vol. 90, n° 1, p. 37–42. DOI: 10.1093/aob/mcf140.
- 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.
- Kamermans, P.; Malta, E.; Verschuure, J. M.; Lentz, L. F.; Schrijvers, L. (1998) Role of cold resistance and burial for winter survival and spring initiation of an *Ulva* spp. (Chlorophyta) bloom in a eutrophic lagoon (Veerse Meer lagoon, The Netherlands). In : Marine Biology, vol. 131, n° 1, p. 45–51. DOI: 10.1007/s002270050295.
- Kjeldahl, J. (1883) Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. In : Zeitschrift für analytische Chemie, vol. 22, n° 1, p. 366–382. DOI: 10.1007/BF01338151.
- Kuwano, Kazuyoshi; Hashioka, Takashi; Nishihara, Gregory N.; Ima, Masafumi (2012) DURATIONS OF GAMETE MOTILITY AND CONJUGATION ABILITY OF *ULVA COMPRESSA* (ULVOPHYCEAE)1. In : Journal of Phycology, vol. 48, n° 2, p. 394–400. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2011.01110.x.
- Liu, Feng; Pang, Shao Jun; Zhao, Xiao Bo; Hu, Chuan Ming (2012) Quantitative, molecular and growth analyses of *Ulva* microscopic propagules in the coastal sediment of Jiangsu province where green tides initially occurred. In : Marine Environmental Research, vol. 74, p. 56–63. DOI: 10.1016/j.marenvres.2011.12.004.
- Lotze, Heike K.; Schramm, Winfrid (2000) Ecophysiological traits explain species dominance patterns in macroalgal blooms. In : Journal of Phycology, vol. 36, n° 2, p. 287–295. DOI: 10.1046/j.1529-8817.2000.99109.x.
- Lotze, Heike K.; Schramm, Winfrid; Schories, Dirk; Worm, Boris (1999) Control of macroalgal blooms at early developmental stages. *Pilayella littoralis* versus *Enteromorpha* spp. In : Oecologia, vol. 119, n° 1, p. 46–54. DOI: 10.1007/s004420050759.
- Lotze, Heike K.; Worm, Boris; Sommer, Ulrich (2000) Propagule banks, herbivory and nutrient supply control population development and dominance patterns in macroalgal blooms. In : Oikos, vol. 89, n° 1, p. 46–58. DOI: 10.1034/j.1600-0706.2000.890106.x.
- Lüning, Klaus; Kadel, Prasuna; Pang, Shaojun (2008) Control of reproduction rhythmicity by environmental and endogenous signals in *Ulva pseudocurvata* (Chlorophyta). In : Journal of Phycology, vol. 44, p. 866–873. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2008.00535.x.
- Luo, Min Bo; Liu, Feng; Xu, Zhao Li (2012) Growth and nutrient uptake capacity of two co-occurring species, *Ulva prolifera* and *Ulva linza*. In : Aquatic Botany, vol. 100, p. 18–24. DOI: 10.1016/j.aquabot.2012.03.006.
- Martínez, Brezo; Pato, Lorena Sordo; Rico, Jose Manuel (2012) Nutrient uptake and growth responses of three intertidal macroalgae with perennial, opportunistic and summer-annual strategies. In : Aquatic Botany, vol. 96, n° 1, p. 14–22. DOI: 10.1016/j.aquabot.2011.09.004.



- Matsuo, Yoshihide; Imagawa, Hiroshi; Nishizawa, Mugio; Shizuri, Yoshikazu (2005) Isolation of an Algal Morphogenesis Inducer from a Marine Bacterium. In : Science, vol. 307, n° 5715, p. 1598. DOI: 10.1126/science.1105486.
- Messyasz, Beata; Rybak, Andrzej (2011) Abiotic factors affecting the development of *Ulva* sp. (Ulvophyceae; Chlorophyta) in freshwater ecosystems. In : Aquatic Ecology, vol. 45, n° 1, p. 75–87. DOI: 10.1007/s10452-010-9333-9.
- Naldi, Mariachiara; Viaroli, Pierluigi (2002) Nitrate uptake and storage in the seaweed *Ulva rigida* C. Agardh in relation to nitrate availability and thallus nitrate content in a eutrophic coastal lagoon (Sacca di Goro, Po River Delta, Italy). In : Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, vol. 269, n° 1, p. 65–83. DOI: 10.1016/S0022-0981(01)00387-2.
- Nielsen, Søren Laurentius; Sand-Jensen, Kaj (1990) Allometric scaling of maximal photosynthetic growth rate to surface/volume ratio. In : Limnology and Oceanography, vol. 35, p. 177–181.
- Niesenbaum, Richard A. (1988) The ecology of sporulation by the macroalga *Ulva lactuca* L. (chlorophyceae). In : Aquatic Botany, vol. 32, n° 1, p. 155–166. DOI: 10.1016/0304-3770(88)90095-2.
- Pandey, R. S.; Ohno, M.. Usa Marine Biological Inst.) (1985) An ecological study of cultivated Enteromorpha. Avec la collaboration de F. of the A.O. UN (Reports of the Usa Marine Biological Institute - Kochi University (Japan)).
- Pedersen, Morten Foldager; Borum, Jens; Fotel, Frank Leck (2010) Phosphorus dynamics and limitation of fast- and slow-growing temperate seaweeds in Oslofjord, Norway. In : Marine Ecology - Progress Series, vol. 399, p. 103–115. DOI: 10.3354/meps08350.
- Perrot, Thierry; Rossi, Nadège; Ménesguen, Alain; Dumas, Franck (2014) Modelling green macroalgal blooms on the coasts of Brittany, France to enhance water quality management. In : Journal of Marine Systems, vol. 132, p. 38–53. DOI: 10.1016/j.jmarsys.2013.12.010.
- Runcie, John; Ritchie, Raymond J.; Larkum, Anthony (2003) Uptake kinetics and assimilation of inorganic nitrogen by *Catenella nipae* and *Ulva lactuca*. In : Aquatic Botany - AQUAT BOT, vol. 76, p. 155–174. DOI: 10.1016/S0304-3770(03)00037-8.
- Schories, Dirk (1995) Sporulation of *Enteromorpha* spp. (Chlorophyta) and overwintering of spores in sediments of the Wadden Sea, Island Sylt, North Sea. In : Netherlands Journal of Aquatic Ecology, vol. 29, p. 341–347. DOI: 10.1007/BF02084233.
- Tan, I. H.; Blomster, J.; Hansen, G.; Leskinen, E.; Maggs, C. A.; Mann, D. G. et al. (1999) Molecular phylogenetic evidence for a reversible morphogenetic switch controlling the gross morphology of two common genera of green seaweeds, *Ulva* and *Enteromorpha*. In : Molecular Biology and Evolution, vol. 16, n° 8, p. 1011–1018. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026190.
- Thiadens, Albert J. H.; Zeuthen, Erik (1966) Meiosis and sporulation induced in sporophytes of *Ulva mutabilis* ("slender") with synchronous mitosis. In : Planta, vol. 72, n° 1, p. 60–65. DOI: 10.1007/BF00388145.
- Valiela, Ivan; McClelland, James; Hauxwell, Jennifer; Behr, Peter J.; Hersh, Douglas; Foreman, Kenneth (1997) Macroalgal blooms in shallow estuaries. Controls and ecophysiological and ecosystem consequences. In : Limnology and Oceanography, vol. 42, n° 5part2, p. 1105–1118. DOI: 10.4319/lo.1997.42.5\_part\_2.1105.
- Vermaat, J. E.; Sand-Jensen, Kaj (1987) Survival, metabolism and growth of *Ulva lactuca* under winter conditions: a laboratory study of bottlenecks in the life cycle. In : Marine Biology, vol. 95, p. 55–61.
- Wallentinus, I. (1984) Comparisons of nutrient uptake rates for Baltic macroalgae with different thallus morphologies. In : Marine Biology, vol. 80, n° 2, p. 215–225. DOI: 10.1007/BF02180189.



- Wichard, Thomas (2015) Exploring bacteria-induced growth and morphogenesis in the green macroalga order Ulvales (Chlorophyta). In : *Frontiers in Plant Science*, vol. 6, p. 86. DOI: 10.3389/fpls.2015.00086.
- Wichard, Thomas; Charrier, Bénédicte; Mineur, Frédéric; Bothwell, John H.; Clerck, Olivier De; Coates, Juliet C. (2015) The green seaweed *Ulva*. A model system to study morphogenesis. In : *Frontiers in Plant Science*, vol. 6, p. 72. DOI: 10.3389/fpls.2015.00072.
- Zhang, Jian Heng; Huo, Yuan Zi; Zhang, Zheng Long; Yu, Ke Feng; He, Qing; Zhang, Lin Hui et al. (2013) Variations of morphology and photosynthetic performances of *Ulva prolifera* during the whole green tide blooming process in the Yellow Sea. In : *Marine Environmental Research*, vol. 92, p. 35–42. DOI: 10.1016/j.marenvres.2013.08.009.
- Zhang, Xiaowen; Wang, Hongxia; Mao, Yuze; Liang, Chengwei; Zhuang, Zhimeng; Wang, Qingyin; Ye, Naihao (2010) Somatic cells serve as a potential propagule bank of *Enteromorpha prolifera* forming a green tide in the Yellow Sea, China. Avec la collaboration de F. of the A.O. UN : Dordrecht : Springer Netherlands (*Journal of applied phycology*, 22).
- Zhang, Xiaowen; Xu, Dong; Mao, Yuze; Li, Youxun; Xue, Suyan; Zou, Jian et al. (2011) Settlement of vegetative fragments of *Ulva prolifera* confirmed as an important seed source for succession of a large-scale green tide bloom. In : *Limnology and Oceanography*, vol. 56, n° 1, p. 233–242. DOI: 10.4319/lo.2011.56.1.0233.
- Zilius, Mindaugas; Daunys, Darius; Petkuvienė, Jolita; Bartoli, Marco (2012) Sediment-water oxygen, ammonium and soluble reactive phosphorus fluxes in a turbid freshwater estuary (Curonian lagoon, Lithuania): evidences of benthic microalgal activity. In : *Journal of Limnology*, vol. 71, p. 309–319. DOI: 10.4081/jlimnol.2012.e33.



## ANNEXES

---

Annexe 1. Paramètres physico-chimiques de l'eau de mer aux 10 points de suivi sur la vasière du Lédano et pour chacune des trois missions réalisées au cours de la saison.

Annexe 2. Résultats de biomasses (poids égoutté) et de quotas azotés et phosphorés des ulves en lame et filamenteuses aux 9 points de suivi sur la vasière du Lédano et pour chacune des trois missions réalisées au cours de la saison.

Annexe 3. Expérimentation 1 – Suivi des conditions d'incubation (température, intensité lumineuse, pH, salinité, teneur en dioxygène) au cours des 12 jours d'expérience pour les ulves en lame

Annexe 4. Expérimentation 1 – Suivi des conditions d'incubation (température, intensité lumineuse, pH, salinité, teneur en dioxygène) au cours des 12 jours d'expérience pour les ulves filamenteuses

Annexe 5. Expérimentation 2 - Données de concentrations en ammonium, nitrates et orthophosphates de l'eau de mer pour chaque milieu d'incubation testé et aux différents temps de suivi pour les ulves en lame.

Annexe 6. Expérimentation 2 - Données de concentrations en ammonium, nitrates et orthophosphates de l'eau de mer pour chaque milieu d'incubation testé et aux différents temps de suivi pour les ulves filamenteuses

Annexe 7. Expérimentation 1 – Données de biomasses (poids essoré et sec), de quotas azotés et phosphorés des tissus algaux aux temps T0 et T+12jours obtenues pour les ulves en lame et pour chacune des modalités testées.

Annexe 8. Expérimentation 1 – Données de biomasses (poids essoré et sec), de quotas azotés et phosphorés des tissus algaux aux temps T0 et T+12jours obtenues pour les ulves filamenteuses et pour chacune des modalités testées.

Annexe 9. Expérimentation 2 - Données de biomasses (poids essoré et poids sec), de quotas azotés et phosphorés des tissus algaux aux temps T0 et T+4h obtenues pour les ulves en lame et pour chacune des modalités testées

Annexe 10. Expérimentation 2 - Données de biomasses (poids essoré et poids sec), de quotas azotés et phosphorés des tissus algaux aux temps T0 et T+4h obtenues pour les ulves filamenteuses et pour chacune des modalités testées



Annexe 1. Paramètres physico-chimiques de l'eau de mer aux 10 points de suivi sur la vasière du Lédano et pour chacune des trois missions réalisées au cours de la saison.

Site	Mission	Date	Profondeur	Température (°C)	Salinité	Concentration en ammonium ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ )	Concentration en nitrates ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ )	Concentration en orthophosphates ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ )
H1	1	06/06/2019	Surface	15.4	34.2	0.41	9.3	0.45
	2	08/07/2019	Surface	18.7	34.6	0.57	3.2	0.44
	3	04/09/2019	Surface	19.1	37.7	0.34	1.2	0.30
H2	1	06/06/2019	Fond	n.d.	n.d.	0.33	9.8	0.99
	2	08/07/2019	Fond	n.d.	n.d.	0.29	2.1	0.26
	3	04/09/2019	Fond	n.d.	n.d.	0.38	1.3	0.54
H3	1	06/06/2019	Surface	15.4	34.4	0.50	8.5	0.61
	2	08/07/2019	Surface	19.2	34.2	0.53	8.3	0.40
	3	04/09/2019	Surface	19	34.8	0.13	0.9	0.34
H4	1	06/06/2019	Surface	15.7	33.9	1.20	7.1	0.22
	2	08/07/2019	Surface	19.3	34.2	0.81	10.0	0.53
	3	04/09/2019	Surface	18.9	34.6	0.92	2.7	0.45
H5	1	06/06/2019	Surface	15.6	33.8	0.43	12.0	0.48
	2	08/07/2019	Surface	19.4	33.8	0.66	12.0	0.40
	3	04/09/2019	Surface	19	34.3	1.10	5.1	0.88
H6	1	06/06/2019	Surface	15.4	34.3	0.15	8.1	0.41
	2	08/07/2019	Surface	19.1	34.1	0.54	7.6	0.47
	3	04/09/2019	Surface	19	34.5	0.92	5.1	0.66
H7	1	06/06/2019	Fond	n.d.	n.d.	0.13	3.4	0.35
	2	08/07/2019	Fond	n.d.	n.d.	0.40	3.3	0.37
	3	04/09/2019	Fond	n.d.	n.d.	0.53	1.4	0.41
H8	1	06/06/2019	Surface	15.4	34.3	0.21	6.1	0.27
	2	08/07/2019	Surface	19.1	34.3	0.45	6.5	0.38
	3	04/09/2019	Surface	19	34.5	0.84	3.9	0.46
H9	1	06/06/2019	Surface	15.5	34.2	0.25	7.7	0.29
	2	08/07/2019	Surface	19.4	33.9	0.47	9.9	0.44
	3	04/09/2019	Surface	19	34.5	0.66	3.7	0.73
H10	1	06/06/2019	Surface	15.7	33.8	1.20	10.0	0.37
	2	08/07/2019	Surface	19.5	33.6	0.86	13.0	0.44
	3	04/09/2019	Surface	18.9	34.2	1.10	6.0	0.69



Annexe 2. Résultats de biomasses (poids égoutté) et de quotas azotés et phosphorés des ulves en lame et filamenteuses aux 9 points de suivi sur la vasière du Lédano et pour chacune des trois missions réalisées au cours de la saison.

Site	Mission	Date du prelevement	Types d'ulve	Biomasse (g poids égoutté)	Quotas N (g/100g MS)	Quotas P (g/100g MS)
QB1	1	04/06/2019	Lame	112.5	3.14	0.121
			Filamenteuses	649.3	4.1	0.14
	2	01/07/2019	Lame	30.2	3.12	0.113
			Filamenteuses	1216.5	3.29	0.146
	3	03/09/2019	Lame	378	3.19	0.194
			Filamenteuses	1821.2	2.52	0.13
QB2	1	04/06/2019	Lame	14.9	3.37	0.145
			Filamenteuses	1146	4.55	0.147
	2	01/07/2019	Lame	50.8	3.71	0.149
			Filamenteuses	1583	3.16	0.098
	3	03/09/2019	Lame	69.3	2.83	0.18
			Filamenteuses	387	3.2	0.143
QB3	1	04/06/2019	Lame	67.1	3.25	0.115
			Filamenteuses	1007.6	4.24	0.117
	2	01/07/2019	Lame	58.3	3.22	0.096
			Filamenteuses	629.7	3.98	0.137
	3	03/09/2019	Lame	43.9	3.03	0.185
			Filamenteuses	317.6	3.83	0.186
QB4	1	04/06/2019	Lame	373.3	3.41	0.114
			Filamenteuses	343.1	2.79	0.11
	2	01/07/2019	Lame	7.6	3.5	0.138
			Filamenteuses	403.6	4.04	0.117
	3	03/09/2019	Lame	40.9	3.16	0.199
			Filamenteuses	205.2	3.42	0.174
QB5	1	04/06/2019	Lame	56.9	3.54	0.135
			Filamenteuses	665.4	3.93	0.164
	2	01/07/2019	Lame	226	3.58	0.134
			Filamenteuses	768.8	2.76	0.107
	3	03/09/2019	Lame	82.4	3.31	0.189
			Filamenteuses	597.8	3.35	0.164
QB6	1	04/06/2019	Lame	418.8	3.37	0.129
			Filamenteuses	343.7	3.62	0.14
	2	01/07/2019	Lame	516.8	3.44	0.126
			Filamenteuses	1248.6	3.47	0.115
	3	03/09/2019	Lame	258.1	3.25	0.216
			Filamenteuses	723.5	2.83	0.161
QB7	1	04/06/2019	Lame	381.6	3.42	0.144
			Filamenteuses	386.2	3.21	0.104
	2	01/07/2019	Lame	463.5	3.27	0.117
			Filamenteuses	218.8	3.03	0.125
	3	03/09/2019	Lame	498	3.17	0.209
			Filamenteuses	448.1	2.88	0.171
QB8	1	04/06/2019	Lame	171.8	3.64	0.123
			Filamenteuses	760.9	3.29	0.137
	2	01/07/2019	Lame	569.6	3.22	0.127
			Filamenteuses	567.1	3.1	0.125
	3	03/09/2019	Lame	32.9	2.62	0.154
			Filamenteuses	372.8	1.97	0.12
QB9	1	04/06/2019	Lame	70.6	3.17	0.105
			Filamenteuses	995	3.69	0.143
	2	01/07/2019	Lame	114.8	3.26	0.112
			Filamenteuses	1039.8	2.62	0.115
	3	03/09/2019	Lame	161.1	3.02	0.195
			Filamenteuses	706.3	2.38	0.135



Annexe 3. Expérimentation 1 – Suivi des conditions d'incubation (température, intensité lumineuse, pH, salinité, teneur en dioxygène) au cours des 12 jours d'expérience pour les ulves en lame

Modalité	Réplicat	Date	Jour d'incubation	pH	Concentration en O <sub>2</sub> (mg/L)	Température (°C)	Intensité lumineuse (μmol.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	Salinité
Contrôle (sans enrichissement)	1	12/06/2019	0	8.10	9.2	16.3	99	35.2
		14/06/2019	2	8.22	9.8	16.3	102	35.5
		17/06/2019	5	8.16	9.9	16.5	90	35.5
		19/06/2019	7	8.27	9.3	16.4	95	35.4
		21/06/2019	9	8.17	9.9	16.5	86	35.3
	2	12/06/2019	0	8.10	9.7	16.2	98	35.2
		14/06/2019	2	8.22	9.9	16.3	104	35.6
		17/06/2019	5	8.17	9.1	16.4	88	35.5
		19/06/2019	7	8.28	9.3	16.4	92	35.3
		21/06/2019	9	8.18	9.9	16.3	96	35.3
	3	12/06/2019	0	8.10	9.4	16.1	86	35.2
		14/06/2019	2	8.20	9.8	16.3	86	35.7
		17/06/2019	5	8.13	9.3	16.3	73	35.6
		19/06/2019	7	8.26	9.2	16.4	73	35.4
		21/06/2019	9	8.19	9.8	16.3	88	35.4
	4	12/06/2019	0	8.10	10.0	16.0	85	35.2
		14/06/2019	2	8.19	9.9	16.3	83	35.7
		17/06/2019	5	8.16	9.6	16.3	70	35.6
		19/06/2019	7	8.27	9.0	16.6	76	35.4
		21/06/2019	9	8.20	9.9	16.3	88	35.4
Enrichissement nitrates (N+)	1	12/06/2019	0	8.10	9.1	16.1	133	35.2
		14/06/2019	2	8.27	9.9	16.4	127	35.5
		17/06/2019	5	8.16	9.5	16.3	120	35.5
		19/06/2019	7	8.26	8.9	16.6	126	35.3
		21/06/2019	9	8.17	9.8	16.3	124	35.3
	2	12/06/2019	0	8.10	9.5	16.1	130	35.2
		14/06/2019	2	8.21	9.8	16.4	112	35.7
		17/06/2019	5	8.16	9.5	16.3	110	35.6
		19/06/2019	7	8.26	8.6	16.6	110	35.3
		21/06/2019	9	8.19	9.9	16.3	121	35.3
	3	12/06/2019	0	8.10	9.3	16.1	101	35.2
		14/06/2019	2	8.22	9.9	16.4	95	35.9
		17/06/2019	5	8.16	9.5	16.3	93	35.6
		19/06/2019	7	8.30	8.8	16.4	90	35.4
		21/06/2019	9	8.25	10.0	16.3	101	35.2
	4	12/06/2019	0	8.10	9.1	16.1	105	35.2
		14/06/2019	2	8.28	10.1	16.4	104	35.3
		17/06/2019	5	8.16	9.2	16.3	91	35.3
		19/06/2019	7	8.26	8.5	16.4	100	35.3
		21/06/2019	9	8.15	9.8	16.3	109	35.3
Enrichissement Phosphates (P+)	1	12/06/2019	0	8.10	9.1	16.2	146	35.2
		14/06/2019	2	8.79	10.3	16.4	142	35.2
		17/06/2019	5	8.62	9.2	16.4	138	35.2
		19/06/2019	7	8.74	8.8	16.4	137	35.2
		21/06/2019	9	8.42	10.1	16.4	134	35.2
	2	12/06/2019	0	8.10	9.2	16.2	138	35.2
		14/06/2019	2	8.45	10.3	16.4	143	35.3
		17/06/2019	5	8.34	9.1	16.4	126	35.3
		19/06/2019	7	8.80	8.4	16.4	127	35.2
		21/06/2019	9	8.34	10.0	16.4	120	35.2
	3	12/06/2019	0	8.10	9.3	16.2	116	35.2
		14/06/2019	2	8.31	10.1	16.4	95	35.4
		17/06/2019	5	8.21	9.7	16.3	94	35.4
		19/06/2019	7	8.35	8.6	16.4	104	35.2
		21/06/2019	9	8.24	9.8	16.4	112	35.2
	4	12/06/2019	0	8.10	9.3	16.1	113	35.2
		14/06/2019	2	8.26	9.9	16.4	117	35.6
		17/06/2019	5	8.19	9.4	16.3	100	36.1
		19/06/2019	7	8.41	8.3	16.4	106	35.2
		21/06/2019	9	8.23	9.7	16.3	120	35.2



Modalité	Réplicat	Date	Jour d'incubation	pH	Concentration en O <sub>2</sub> (mg/L)	Température (°C)	Intensité lumineuse (μmol.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	Salinité
Enrichissement nitrates et phosphates (N+P+)	1	12/06/2019	0	8.10	9.4	16.2	155	35.2
		14/06/2019	2	8.99	10.6	16.5	142	35.3
		17/06/2019	5	8.57	9.0	16.4	140	35.2
		19/06/2019	7	8.34	7.9	16.6	140	35.2
		21/06/2019	9	8.27	9.5	16.5	111	35.2
	2	12/06/2019	0	8.10	9.4	16.0	140	35.2
		14/06/2019	2	8.57	10.4	16.5	143	35.3
		17/06/2019	5	8.41	9.7	16.3	120	35.2
		19/06/2019	7	8.47	7.7	16.6	133	34.6
		21/06/2019	9	8.34	10.1	16.5	132	35.2
	3	12/06/2019	0	8.10	9.9	16.1	110	35.2
		14/06/2019	2	8.33	9.9	16.5	94	35.5
		17/06/2019	5	8.26	9.7	16.3	102	35.3
		19/06/2019	7	8.35	7.5	16.6	115	35.2
		21/06/2019	9	8.27	9.9	16.4	113	35.3
	4	12/06/2019	0	8.10	9.2	16.1	110	35.2
		14/06/2019	2	8.81	10.6	16.4	111	35.2
		17/06/2019	5	8.52	8.9	16.3	101	35.2
		19/06/2019	7	8.47	7.8	16.6	113	35.2
		21/06/2019	9	8.30	10.0	16.4	119	35.1
Enrichissement ammonium (NH <sub>4</sub> +P+)	1	12/06/2019	0	8.10	9.1	16.2	157	35.2
		14/06/2019	2	9.51	10.5	16.4	139	35.0
		17/06/2019	5	9.03	9.0	16.5	143	35.0
		19/06/2019	7	8.86	8.1	16.6	140	35.1
		21/06/2019	9	8.86	10.4	16.5	145	35.1
	2	12/06/2019	0	8.10	9.2	16.2	140	35.2
		14/06/2019	2	9.56	11.5	16.4	135	35.1
		17/06/2019	5	9.57	12.0	16.5	119	35.1
		19/06/2019	7	8.27	7.5	16.7	134	35.2
		21/06/2019	9	8.22	9.8	16.4	124	35.3
	3	12/06/2019	0	8.10	9.1	16.2	109	35.2
		14/06/2019	2	9.53	11.0	16.4	96	35.2
		17/06/2019	5	8.37	9.6	16.3	101	35.6
		19/06/2019	7	9.42	8.7	16.6	119	35.2
		21/06/2019	9	9.15	10.5	16.4	110	35.1
	4	12/06/2019	0	8.10	9.2	16.2	110	35.2
		14/06/2019	2	8.31	10.1	16.3	107	35.5
		17/06/2019	5	8.48	9.2	16.3	105	35.2
		19/06/2019	7	9.00	8.2	16.4	111	35.1
		21/06/2019	9	9.06	10.5	16.4	112	35.2



Annexe 4. Expérimentation 1 – Suivi des conditions d'incubation (température, intensité lumineuse, pH, salinité, teneur en dioxygène) au cours des 12 jours d'expérience pour les ulves filamenteuses

Modalité	Réplicat	Date	Jour d'incubation	pH	Concentration en O2 (mg/L)	Température (°C)	Intensité lumineuse (μmol.m-2.s-1)	Salinité
Contrôle (sans enrichissement)	1	12/06/2019	0	8.10	9.2	16.1	145	35.2
		14/06/2019	2	8.4	9.8	16.3	141	35.5
		17/06/2019	5	8.2	9.0	16.3	131	35.4
		19/06/2019	7	8.4	7.6	16.6	130	35.3
		21/06/2019	9	8.3	9.9	16.6	130	35.2
	2	12/06/2019	0	8.10	9.2	16.1	135	35.2
		14/06/2019	2	8.3	9.9	16.3	133	35.3
		17/06/2019	5	8.2	9.5	16.3	101	35.5
		19/06/2019	7	8.3	7.2	16.4	125	35.3
		21/06/2019	9	8.3	9.8	16.5	129	35.2
	3	12/06/2019	0	8.10	9.3	16.1	100	35.2
		14/06/2019	2	8.3	9.8	16.3	90	35.5
		17/06/2019	5	8.2	9.0	16.3	85	35.6
		19/06/2019	7	8.3	7.3	16.4	116	35.3
		21/06/2019	9	8.3	9.9	16.4	107	35.3
	4	12/06/2019	0	8.10	9.3	16.1	115	35.2
		14/06/2019	2	8.3	10.0	16.3	117	35.5
		17/06/2019	5	8.2	8.8	16.3	96	35.5
		19/06/2019	7	8.3	7.3	16.4	105	35.3
		21/06/2019	9	8.3	9.9	16.4	120	35.3
Enrichissement nitrates (N+)	1	12/06/2019	0	8.10	9.2	16.2	124	35.2
		14/06/2019	2	8.4	10.1	16.4	116	35.3
		17/06/2019	5	8.4	9.2	16.3	108	35.4
		19/06/2019	7	8.7	7.4	16.4	109	35.2
		21/06/2019	9	8.4	10.0	16.4	107	35.2
	2	12/06/2019	0	8.10	9.5	16.2	102	35.2
		14/06/2019	2	8.3	10.1	16.4	106	35.5
		17/06/2019	5	8.3	9.2	16.3	84	35.5
		19/06/2019	7	8.4	7.3	16.4	106	35.2
		21/06/2019	9	8.3	9.9	16.4	97	35.2
	3	12/06/2019	0	8.10	9.1	16.1	78	35.2
		14/06/2019	2	8.3	10.1	16.4	84	35.5
		17/06/2019	5	8.3	9.3	16.3	71	35.6
		19/06/2019	7	8.4	7.3	16.4	95	35.3
		21/06/2019	9	8.3	9.8	16.4	92	35.3
	4	12/06/2019	0	8.10	9.2	16.0	95	35.2
		14/06/2019	2	8.3	9.8	16.4	98	35.7
		17/06/2019	5	8.2	9.4	16.3	71	35.6
		19/06/2019	7	8.3	7.2	16.4	93	35.4
		21/06/2019	9	8.2	9.8	16.3	97	35.4
Enrichissement Phosphates (P+)	1	12/06/2019	0	8.10	9.3	15.9	120	35.2
		14/06/2019	2	8.5	9.9	16.4	110	35.4
		17/06/2019	5	8.3	9.2	16.3	110	35.5
		19/06/2019	7	8.4	7.3	16.7	103	35.2
		21/06/2019	9	8.3	10.0	16.4	115	35.2
	2	12/06/2019	0	8.10	9.3	16.0	110	35.2
		14/06/2019	2	8.6	10.2	16.4	108	35.3
		17/06/2019	5	8.4	9.2	16.3	101	35.5
		19/06/2019	7	8.6	7.5	16.6	110	35.2
		21/06/2019	9	8.4	9.9	16.5	110	35.2
	3	12/06/2019	0	8.10	9.2	16.0	90	35.2
		14/06/2019	2	9.1	10.7	16.4	94	35.4
		17/06/2019	5	8.3	9.2	16.3	93	35.6
		19/06/2019	7	8.5	7.3	16.4	93	35.1
		21/06/2019	9	8.5	10.0	16.5	90	35.2
	4	12/06/2019	0	8.10	9.2	16.0	103	35.2
		14/06/2019	2	8.4	10.1	16.4	98	35.8
		17/06/2019	5	8.3	9.2	16.3	94	35.4
		19/06/2019	7	8.4	7.2	16.6	100	35.3
		21/06/2019	9	8.2	9.8	16.5	117	35.3



Modalité	Réplicat	Date	Jour d'incubation	pH	Concentration en O <sub>2</sub> (mg/L)	Température (°C)	Intensité lumineuse (μmol.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	Salinité
Enrichissement nitrates et phosphates (N+P+)	1	12/06/2019	0	8.10	9.2	15.9	140	35.2
		14/06/2019	2	8.5	10.2	16.4	122	35.4
		17/06/2019	5	8.7	9.4	16.3	133	35.3
		19/06/2019	7	8.8	7.6	16.7	133	35.2
		21/06/2019	9	8.7	9.6	16.5	106	35.2
	2	12/06/2019	0	8.10	9.4	15.8	124	35.2
		14/06/2019	2	8.4	10.2	16.4	130	35.5
		17/06/2019	5	8.5	9.8	16.3	110	35.5
		19/06/2019	7	8.7	7.4	16.7	126	34.1
		21/06/2019	9	8.6	10.0	16.5	118	35.2
	3	12/06/2019	0	8.10	9.3	15.8	98	35.2
		14/06/2019	2	8.4	10.3	16.3	111	35.5
		17/06/2019	5	8.5	9.8	16.3	112	35.4
		19/06/2019	7	8.8	7.2	16.7	110	35.2
		21/06/2019	9	8.6	9.1	16.4	112	35.2
	4	12/06/2019	0	8.10	9.3	15.9	115	35.2
		14/06/2019	2	8.3	10.0	16.3	109	35.7
		17/06/2019	5	8.3	9.3	16.2	109	35.5
		19/06/2019	7	8.5	7.2	16.7	118	35.3
		21/06/2019	9	8.4	8.7	16.5	126	35.3
Enrichissement ammonium (NH <sub>4</sub> +P+)	1	12/06/2019	0	8.10	9.1	15.8	147	35.2
		14/06/2019	2	8.6	10.3	16.4	143	27.6
		17/06/2019	5	8.8	9.4	16.3	137	35.2
		19/06/2019	7	9.0	7.7	16.9	133	35.2
		21/06/2019	9	8.9	8.9	16.5	136	35.2
	2	12/06/2019	0	8.10	9.4	15.8	132	35.2
		14/06/2019	2	8.5	10.3	16.4	125	35.3
		17/06/2019	5	8.7	9.9	16.3	122	35.3
		19/06/2019	7	8.7	7.3	16.8	126	35.2
		21/06/2019	9	9.2	8.5	16.7	122	35.1
	3	12/06/2019	0	8.10	9.3	15.8	98	35.2
		14/06/2019	2	8.4	10.1	16.3	103	35.5
		17/06/2019	5	8.4	9.5	16.2	110	35.4
		19/06/2019	7	8.8	7.6	16.8	111	35.2
		21/06/2019	9	8.9	8.0	16.7	115	35.2
	4	12/06/2019	0	8.10	9.2	15.8	118	35.2
		14/06/2019	2	8.8	10.7	16.4	101	35.3
		17/06/2019	5	8.2	9.8	16.1	102	35.7
		19/06/2019	7	8.3	7.0	16.9	116	35.5
		21/06/2019	9	8.35	8.0	16.7	123	35.5



Annexe 5. Expérimentation 2 - Données de concentrations en ammonium, nitrates et orthophosphates de l'eau de mer pour chaque milieu d'incubation testé et aux différents temps de suivi pour les ulves en lame.

Modalité d'enrichissement	Temps d'incubation (minutes)	Niveau de concentration (C) / Référence (R)	Ammonium ( $\mu\text{mol/L}$ )	Nitrates ( $\mu\text{mol/L}$ )	Orthophosphates ( $\mu\text{mol/L}$ )
N+	0	R	0.28	11	0.73
		C1	0.99	8.2	3.4
		C2	<0.1	10	3.5
		C3	<0.1	13	3.4
		C4	<0.1	27	<0.1
		C5	0.44	57	3.6
		C6	<0.1	110	3.6
		C7	<0.1	220	3.3
	30	R	1.3	8.1	0.67
		C1	0.27	13	1.8
		C2	<0.1	3.5	1.3
		C3	<0.1	5.2	1.4
		C4	<0.1	17	2
		C5	<0.1	45	1.6
		C6	<0.1	94	1.6
		C7	<0.1	200	1.5
	60	R	0.33	12	0.31
		C1	<0.1	27	0.93
		C2	<0.1	0.53	0.48
		C3	0.28	1.6	1.3
		C4	<0.1	7.7	0.76
		C5	<0.1	40	1.3
		C6	0.1	90	0.87
		C7	<0.1	190	1.1
	120	R	0.43	17	0.61
		C1	1	22	0.44
		C2	<0.1	0.37	0.14
		C3	<0.1	<0.1	0.85
		C4	<0.1	1.5	0.33
		C5	<0.1	19	0.41
		C6	<0.1	72	0.59
		C7	<0.1	170	0.54
180	R	0.11	32	0.61	
	C1	<0.1	41	0.48	
	C2	<0.1	14	0.14	
	C3	<0.1	12	0.14	
	C4	<0.1	9	0.18	
	C5	<0.1	12	0.16	
	C6	<0.1	57	0.3	
	C7	<0.1	150	0.21	



Modalité d'enrichissement	Temps d'incubation (minutes)	Niveau de concentration (C) / Référence (R)	Ammonium ( $\mu\text{mol/L}$ )	Nitrates ( $\mu\text{mol/L}$ )	Orthophosphates ( $\mu\text{mol/L}$ )
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0	R	<0.1	1.3	0.76
		C1	<0.1	29	3.4
		C2	2.7	13	3.4
		C3	5.5	3.8	3.4
		C4	13	0.53	3.4
		C5	39	0.18	3.4
		C6	71	2.8	3.6
	C7	180	0.28	3.4	
	15	R	0.22	37	0.6
		C1	0.17	77	0.34
		C2	2.9	18	2.5
		C3	3.6	4.1	2.5
		C4	8.7	2.2	1.8
		C5	30	4.5	1.9
		C6	60	4.9	2.7
	C7	150	2.5	3	
	30	R	0.75	35	0.51
		C1	<0.1	37	<0.1
		C2	1.6	12	1.6
		C3	1.6	4.1	1.9
		C4	2.9	1.8	1.7
		C5	19	0.71	1
		C6	49	1.4	1.2
	C7	96	1.5	1.7	
	45	R	0.18	25	0.6
		C1	<0.1	33	<0.1
		C2	0.19	17	1.3
		C3	0.74	2	0.61
C4		1.1	2.9	1.7	
C5		9	1.2	1.3	
C6		31	2.2	1.6	
C7	79	2.1	1.7		
60	R	0.54	75	0.7	
	C1	<0.1	35	<0.1	
	C2	<0.1	13	0.98	
	C3	<0.1	1.7	0.87	
	C4	0.63	2.9	1.1	
	C5	4.8	3.5	0.89	
	C6	22	4.1	1.2	
C7	67	1.8	1.2		
120	R	0.81	100	0.87	
	C1	<0.1	24	0.23	
	C2	<0.1	2.1	0.31	
	C3	0.16	13	0.4	
	C4	<0.1	1.5	0.14	
	C5	<0.1	1.4	0.16	
	C6	2.7	0.61	0.31	
C7	26	0.95	0.47		



Modalité d'enrichissement	Temps d'incubation (minutes)	Niveau de concentration (C) / Référence (R)	Ammonium ( $\mu\text{mol/L}$ )	Nitrates ( $\mu\text{mol/L}$ )	Orthophosphates ( $\mu\text{mol/L}$ )
P+	0	R	0.37	26	0.81
		C1	36	67	0.19
		C2	37	59	1.2
		C3	37	61	2.3
		C4	36	59	3.6
		C5	37	57	6.3
		C6	37	57	13
	60	R	0.15	24	0.51
		C1	15	54	0.15
		C2	8.4	53	0.35
		C3	12	51	0.92
		C4	8.7	48	1.3
		C5	9.7	51	3.8
		C6	17	53	6
	120	R	<0.1	26	0.42
		C1	3.8	34	<0.1
		C2	1.8	35	<0.1
		C3	1.5	38	0.7
		C4	1.3	30	0.48
		C5	2.8	36	0.99
		C6	2.5	47	4.6
	240	R	<0.1	56	1
		C1	<0.1	35	0.14
		C2	<0.1	27	<0.1
C3		<0.1	22	0.17	
C4		<0.1	10	0.3	
C5		0.14	20	0.5	
C6		<0.1	30	3.7	



Annexe 6. Expérimentation 2 - Données de concentrations en ammonium, nitrates et orthophosphates de l'eau de mer pour chaque milieu d'incubation testé et aux différents temps de suivi pour les ulves filamenteuses

Modalité d'enrichissement	Temps d'incubation (minutes)	Niveau de concentration (C) / Référence (R)	Ammonium ( $\mu\text{mol/L}$ )	Nitrates ( $\mu\text{mol/L}$ )	Orthophosphates ( $\mu\text{mol/L}$ )
N+	0	R	0.13	4.2	0.77
		C1	<0.1	1.2	3.4
		C2	<0.1	6.4	3.6
		C3	<0.1	12	3.3
		C4	<0.1	24	3.5
		C5	<0.1	56	3.5
		C6	0.12	110	3.8
	C7	<0.1	220	3.5	
	30	R	0.7	13	0.61
		C1	<0.1	0.21	2.4
		C2	<0.1	2	2
		C3	<0.1	6.7	2
		C4	0.42	19	1.7
		C5	0.15	47	1.9
		C6	1.4	100	2.3
	C7	<0.1	200	2	
	60	R	0.54	12	0.42
		C1	0.4	2.8	1.1
		C2	<0.1	1	1.2
		C3	0.17	2.1	1.2
		C4	<0.1	13	0.87
		C5	0.67	33	0.93
		C6	<0.1	84	1.5
	C7	<0.1	160	1.2	
	120	R	0.52	14	0.49
		C1	0.13	2.4	0.63
		C2	0.35	3.2	0.48
		C3	0.41	0.87	0.36
C4		<0.1	5.1	0.67	
C5		<0.1	15	0.38	
C6		<0.1	55	0.45	
C7	0.11	150	0.53		
180	R	0.35	26	0.62	
	C1	<0.1	12	0.47	
	C2	<0.1	2.7	0.39	
	C3	0.15	0.3	0.23	
	C4	<0.1	2.4	0.65	
	C5	<0.1	3.9	0.35	
	C6	<0.1	32	0.53	
C7	<0.1	120	0.41		



Modalité d'enrichissement	Temps d'incubation (minutes)	Niveau de concentration (C) / Référence (R)	Ammonium ( $\mu\text{mol/L}$ )	Nitrates ( $\mu\text{mol/L}$ )	Orthophosphates ( $\mu\text{mol/L}$ )
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0	R	0.28	3.8	0.65
		C1	<0.1	2	0.14
		C2	3.9	0.58	3.1
		C3	5.9	1.1	3.4
		C4	15	<0.1	2.3
		C5	34	<0.1	3.4
		C6	69	<0.1	3.3
		C7	170	<0.1	2.8
	15	R	0.47	17	0.66
		C1	<0.1	13	0.37
		C2	1.4	13	2.7
		C3	2.5	4.4	3.1
		C4	5.9	2.1	2.9
		C5	26	1	2.3
		C6	60	4.1	3.2
		C7	160	0.92	2
	30	R	0.31	24	0.82
		C1	<0.1	6.7	0.22
		C2	0.84	1.1	1.6
		C3	1.1	10	1.8
		C4	3.6	4.6	1.9
		C5	20	2.4	1.9
		C6	55	5.4	1.8
		C7	150	3.7	1.6
	45	R	0.45	23	0.51
		C1	<0.1	15	0.2
		C2	0.72	4.5	1.2
		C3	0.28	3.7	1.8
		C4	1.7	1.6	1.3
		C5	13	3	1.6
		C6	47	1.7	1.8
		C7	130	2.2	1.8
60	R	0.48	36	0.72	
	C1	0.51	9.2	0.42	
	C2	<0.1	2.6	1.1	
	C3	0.21	3.5	1.8	
	C4	<0.1	0.66	1.3	
	C5	6.1	1.6	1.4	
	C6	36	0.28	1.2	
	C7	92	0.57	1.3	
120	R	0.46	34	0.66	
	C1	0.14	3.2	0.26	
	C2	<0.1	0.41	0.33	
	C3	<0.1	0.27	0.64	
	C4	<0.1	<0.1	0.71	
	C5	<0.1	0.98	0.83	
	C6	13	0.2	0.74	
	C7	70	1.6	0.74	



Modalité d'enrichissement	Temps d'incubation (minutes)	Niveau de concentration (C) / Référence (R)	Ammonium ( $\mu\text{mol/L}$ )	Nitrates ( $\mu\text{mol/L}$ )	Orthophosphates ( $\mu\text{mol/L}$ )
P+	0	R	0.45	6.3	0.67
		C1	33	64	0.22
		C2	33	61	1.2
		C3	34	59	2.4
		C4	34	59	3.5
		C5	32	57	6.2
	60	C6	37	54	9.2
		R	0.18	9.8	0.68
		C1	13	48	0.2
		C2	8.7	44	0.52
		C3	19	35	0.88
		C4	5.8	39	1.2
	120	C5	5.5	42	2.8
		C6	22	46	6.5
		R	1.7	8.4	0.36
		C1	3.9	38	0.29
		C2	2.3	29	0.27
		C3	14	35	1
	240	C4	0.16	22	0.61
		C5	0.31	22	1.6
		C6	17	34	5.4
		R	0.4	29	0.4
		C1	0.32	31	0.18
		C2	0.11	12	0.27
	C3	5.6	31	0.66	
	C4	0.17	0.56	0.18	
	C5	<0.1	0.37	0.73	
	C6	18	36	5.1	



Annexe 7. Expérimentation 1 – Données de biomasses (poids essoré et sec), de quotas azotés et phosphorés des tissus algaux aux temps T0 et T+12jours obtenues pour les ulves en lame et pour chacune des modalités testées.

Temps d'incubation (jour)	Modalité d'enrichissement	Réplicat	Poids essoré (g)	Poids sec (g)	Taux de croissance (%/j)	Azote total (g/100g MS)	Azote fixé (mg)	Phosphore total (g/100g MS)	Phosphore fixé (mg)
0		1				3.30		0.143	
		2				3.28		0.139	
		3				3.35		0.144	
		4				3.28		0.136	
12	C	1	14.99	2.01	8.2	0.77	-9.14	0.038	-0.281
		2	16.08	2.11	8.7	0.74	-9.10	0.032	-0.373
		3	13.88	1.85	7.7	0.76	-10.07	0.038	-0.331
		4	15.90	2.06	8.2	0.72	-10.60	0.035	-0.357
	N+	1	7.00	0.77	1.4	2.77	-0.11	0.040	-0.606
		2	7.51	0.90	3.1	2.48	1.96	0.040	-0.508
		3	11.82	0.86	2.4	2.31	-1.55	0.036	-0.604
		4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	P+	1	11.65	2.30	9.3	0.82	-5.91	0.420	8.59
		2	13.27	1.80	7.0	0.81	-11.09	0.291	4.17
		3	12.94	1.88	7.3	0.52	-15.91	0.356	5.59
		4	13.09	1.88	7.8	0.90	-7.57	0.278	4.20
	N+P+	1	11.35	1.37	6.4	3.40	25.64	0.327	3.59
		2	12.46	1.35	6.2	3.76	29.60	0.430	4.92
		3	13.64	1.46	6.9	3.50	30.12	0.335	4.01
		4	14.24	1.65	7.7	3.39	34.53	0.364	5.10
NH4+P+	1	12.18	1.70	7.9	1.22	-0.92	0.279	3.81	
	2	10.03	1.37	5.9	1.24	-5.15	0.252	2.51	
	3	16.16	2.31	10.3	1.28	7.51	0.283	5.59	
	4	17.23	2.54	11.4	1.05	5.32	0.336	7.62	

Annexe 8. Expérimentation 1 – Données de biomasses (poids essoré et sec), de quotas azotés et phosphorés des tissus algaux aux temps T0 et T+12jours obtenues pour les ulves filamenteuses et pour chacune des modalités testées.

Temps d'incubation (jour)	Modalité d'enrichissement	Réplicat	Poids essoré (g)	Poids sec (g)	Taux de croissance (%/j)	Azote total (g/100g MS)	Azote fixé (mg)	Phosphore total (g/100g MS)	Phosphore fixé (mg)
0		1				3.69		0.138	
		2				3.63		0.143	
		3				3.76		0.135	
		4				3.69		0.145	
12	C	1	14.10	2.23	8.7	1.25	-1.15	0.048	-0.027
		2	16.00	2.28	8.7	1.05	-5.66	0.046	-0.081
		3	15.57	1.98	8.1	1.30	-1.93	0.049	-0.082
		4	13.40	1.73	6.5	1.26	-7.45	0.053	-0.201
	N+	1	13.10	1.63	7.4	3.33	29.54	0.045	-0.206
		2	13.27	1.54	7.1	3.62	31.56	0.055	-0.072
		3	17.73	2.27	9.7	3.25	47.67	0.040	-0.080
		4	12.10	1.43	6.7	3.35	24.11	0.050	-0.192
	P+	1	17.28	2.32	9.3	1.03	-4.40	0.198	3.51
		2	16.04	2.17	9.0	0.84	-8.91	0.205	3.41
		3	14.94	2.37	9.2	1.13	-2.33	n.d.	n.d.
		4	16.15	2.16	8.7	0.94	-7.54	n.d.	n.d.
	N+P+	1	21.86	2.59	11.5	3.60	69.29	n.d.	n.d.
		2	25.88	3.57	13.7	3.48	98.62	n.d.	n.d.
		3	23.46	2.61	11.8	3.65	72.12	n.d.	n.d.
		4	20.58	2.41	10.2	3.87	67.14	n.d.	n.d.
NH4+P+	1	22.75	2.85	12.6	1.16	9.95	n.d.	n.d.	
	2	20.45	2.61	11.9	1.23	9.10	n.d.	n.d.	
	3	19.02	3.22	13.2	1.28	16.90	n.d.	n.d.	
	4	18.42	2.30	10.0	1.35	5.37	n.d.	n.d.	



Annexe 9. Expérimentation 2 - Données de biomasses (poids essoré et poids sec), de quotas azotés et phosphorés des tissus algaux aux temps T0 et T+4h obtenues pour les ulves en lame et pour chacune des modalités testées

Temps d'incubation (heure)	Modalité d'enrichissement	Réplicat (R) Niveau de concentration (C)	Poids essoré (g)	Poids sec (g)	Azote total (g/100g MS)	Azote fixé (mg)	Phosphore total (g/100g MS)	Phosphore fixé (mg)
0		R1	12.79	1.13	3.30		0.143	
		R2	12.58	1.12	3.28		0.139	
		R3	12.57	1.39	3.35		0.144	
		R4	12.22	1.22	3.28		0.136	
4	N+	C1	12.52	1.45	2.79	-6.92	0.139	-0.002
		C2	12.36	1.65	2.51	-11.83	0.140	0.035
		C3	12.73	1.47	2.63	-10.38	0.148	0.093
		C4	12.61	1.25	2.95	-5.58	0.158	0.169
		C5	12.3	1.44	3.19	-3.22	0.132	-0.190
		C6	12.37	1.55	3.02	-4.49	0.134	-0.105
		C7	12.1	1.12	3.28	-0.96	0.146	0.032
	NH4+	C1	12.53	1.27	3.41	0.47	0.135	-0.111
		C2	12.81	1.54	3.28	-0.94	0.144	0.024
		C3	12.69	1.73	2.71	-9.73	0.136	-0.060
		C4	12.82	1.51	2.80	-7.64	0.140	-0.018
		C5	12.46	1.43	3.39	-0.36	0.114	-0.454
		C6	12.29	1.44	3.23	-2.14	0.142	-0.034
		C7	12.72	1.42	3.67	4.35	0.147	0.054
	P+	C1	12.23	1.30	3.35	0.16	0.140	-0.030
		C2	12.33	2.05	3.37	0.75	0.130	-0.247
		C3	12.17	1.88	2.38	-16.58	0.098	-0.780
		C4	12.51	1.60	2.98	-6.30	0.139	-0.077
C5		12.67	1.41	3.33	-0.70	0.167	0.325	
C6		12.75	1.33	3.11	-2.90	0.201	0.787	



Annexe 10. Expérimentation 2 - Données de biomasses (poids essoré et poids sec), de quotas azotés et phosphorés des tissus algaux aux temps T0 et T+4h obtenues pour les ulves filamenteuses et pour chacune des modalités testées

Temps d'incubation (heure)	Modalité d'enrichissement	Réplicat (R) Niveau de concentration (C)	Poids essoré (g)	Poids sec (g)	Azote total (g/100g MS)	Azote fixé (mg)	Phosphore total (g/100g MS)	Phosphore fixé (mg)
0		R1	11.54	1.24	3.69		0.138	
		R2	11.49	1.30	3.63		0.143	
		R3	10.43	1.20	3.76		0.135	
		R4	10.01	1.67	3.69		0.145	
4	N+	C1	12.11	1.37	3.05	-8.78	0.147	0.097
		C2	12.04	1.31	2.95	-9.61	0.144	0.051
		C3	12.29	1.47	3.60	-1.24	0.166	0.377
		C4	12.28	1.31	3.33	-4.75	0.156	0.205
		C5	12.27	1.55	3.55	-2.78	0.150	0.127
		C6	12.12	1.50	3.72	0.48	0.139	-0.025
		C7	12.01	1.59	3.53	-3.62	0.131	-0.185
	NH4+	C1	12.33	1.42	3.31	-5.32	0.130	-0.151
		C2	12.14	1.54	3.31	-5.77	0.161	0.324
		C3	12.08	1.21	3.44	-3.00	0.166	0.313
		C4	12.01	1.46	3.48	-3.10	0.173	0.482
		C5	12.1	1.53	4.12	6.54	0.165	0.372
		C6	12.09	1.26	3.93	3.03	0.180	0.495
		C7	12.15	1.21	4.09	4.90	0.165	0.296
	P+	C1	12.17	1.25	3.69	-0.04	0.138	-0.034
		C2	12.15	1.29	3.70	0.11	0.145	0.061
		C3	12.32	1.48	3.17	-7.40	0.135	-0.069
		C4	12.36	1.48	3.76	1.33	0.155	0.224
C5		12.15	1.29	3.70	0.11	0.171	0.393	
C6		12.2	1.20	3.48	-2.56	0.174	0.403	