

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 2023



CEVA



SOMMAIRE

FIGURES	1
TABLEAUX	1
1. CONTEXTE ET OBJECTIFS	2
2. METHODOLOGIE	3
2.1. <i>Campagnes de prélèvement</i>	3
2.1.1. Stratégie d'échantillonnage.....	3
2.1.2. Prélèvement et conditionnement des échantillons d'algues	3
2.2. <i>Expérimentation écophysiological</i>	3
3. RESULTATS	6
3.1. <i>Evaluation des quotas azotés et phosphorés des algues</i>	6
3.2. <i>Détermination des paramètres cinétiques</i>	7
4. DISCUSSION	9
4.1. <i>Evolution saisonnière des vitesses maximales d'absorption V_{max} en nitrates des ulves.</i>	9
4.2. <i>Evolution saisonnière des constantes de demi-saturation K_m en nitrates des ulves.</i>	11
4.3. <i>Comparaison avec la littérature et les valeurs appliquées dans le modèle MARS3D-Ulve.</i>	11
5. CONCLUSION.....	14
ANNEXES	17



FIGURES

<i>Figure 1. Schéma du dispositif expérimental.....</i>	<i>4</i>
<i>Figure 2. 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.....</i>	<i>5</i>
<i>Figure 3. Quotas azotés (a) et phosphorés (b) des ulves mesurés mensuellement de mai à septembre avant chaque expérimentation au temps T0 (n=4).</i>	<i>6</i>
<i>Figure 4. Vitesses d'absorption en nitrates des ulves en fonction des concentrations en nitrates dans le milieu d'incubation obtenues en mai à septembre (a-e) (n=3).</i>	<i>8</i>
<i>Figure 5. Evolution saisonnière des V_{max} (a) et K_m (b) des cinétiques d'absorption en nitrates pour les ulves (n=3).</i>	<i>9</i>
<i>Figure 6. Données V_{max} et K_m des cinétiques d'absorption en nitrates des ulves appliquées dans le modèle et obtenues expérimentalement à partir des études CIMAV P3 2021 et 2022.</i>	<i>11</i>

TABLEAUX

<i>Tableau 1. Température d'incubation et cycle de photopériode appliqué chaque mois pour les expérimentations d'écophysiologie.....</i>	<i>4</i>
<i>Tableau 2. Synthèse des données de paramètres cinétiques d'absorption en nitrates issues de la littérature et des précédentes études CEVA.</i>	<i>13</i>



1. Contexte et objectifs

Le modèle écologique MARS3D-Ulve représente actuellement l'outil le plus élaboré pour prédire l'évolution des échouages d'algues vertes sur le littoral et pour définir des mesures de gestion adaptées, notamment pour l'atteinte du bon état écologique des masses d'eau. Le CEVA assure l'évolution en continu de ce modèle depuis 2007, à partir d'actions visant à consolider, par méthodes expérimentales ainsi que par les observations *in situ*, les connaissances du fonctionnement écologique des blooms macro-algaux.

Plusieurs points d'améliorations restent néanmoins indispensables pour poursuivre la consolidation du modèle MARS3D-Ulve (Rapport SynthECO, 2021), car (1) certains paramètres du modèle ont été définis par calibration de manière à reproduire des données de quotas en azote et phosphore mesurés *in situ*, et doivent être validés expérimentalement ; (2) l'acquisition de nouvelles connaissances sur les processus physiologiques et biologiques des ulves en lien avec les facteurs environnementaux et l'évolution de la composition spécifique des proliférations appellent à modifier les formules mathématiques paramétrées (*e.g.* absorption des nutriments la nuit) et à intégrer de nouveaux modules (*e.g.* compétitions / co-habitations inter-espèces) ; (3) un renforcement des bases de données existantes est nécessaire pour établir des valeurs de référence.

À la demande des membres du COPIL des programmations CIMAV P1 et P3 2021 (Région Bretagne, Agence de l'eau Loire-Bretagne, CD22, CD56, CRESEB, Préfecture 22), le CEVA a réalisé un bilan des verrous techniques à lever et des besoins de développement prioritaires pour poursuivre la consolidation du modèle (*cf.* Proposition de programmation du CIMAV P3 sur six ans). Ce document détaille l'orientation des études CIMAV P3 envisagée sur les six prochaines années, dans l'optique de répondre aux objectifs de renforcement des jeux de données biologiques et écophysologiques destinées à l'opérationnalisation du modèle MARS3D-Ulve, et d'acquisition des connaissances des processus biologiques, hydrologiques et sédimentologiques impliqués dans les proliférations d'algues sur le littoral breton. La présente étude s'intègre à cette programmation sur le long-terme et inclut notamment l'acquisition pluriannuelle des paramètres cinétiques d'absorption en nitrates (V_{\max}^1 et K_m^2).

Dans le modèle, l'absorption en nutriments est décrite par une équation de type « Michaelis-Menten », qui est contrôlée par les paramètres V_{\max} et K_m . Ces paramètres ont été initialement définis par calibration de manière à reproduire des données de quotas en azote et phosphore mesurés *in situ*. Le programme CIMAV P3 2021 a permis de réaliser une première estimation des V_{\max} et K_m en nitrates, ammonium et phosphates pour *Ulva sp.* et *Ulvaria sp.* à l'échelle de la saison de productivité (soit au maximum un suivi bimensuel de mai à septembre), et de conforter l'ordre de grandeur des valeurs appliquées dans le modèle. Plus spécifiquement, cette étude a mis en évidence la variabilité interannuelle des paramètres V_{\max} et K_m en nitrates en lien avec la variation des conditions environnementales. Ces deux paramètres ayant un fort impact sur la sortie du modèle en termes d'échouage des algues vertes, la poursuite de leur caractérisation sur plusieurs années apparaissait nécessaire afin d'intégrer la variabilité interannuelle des conditions du milieu. Dans cette optique, le CEVA a proposé de poursuivre en 2022 la caractérisation de l'évolution saisonnière (mai à septembre) des paramètres cinétiques d'absorption en nitrates des algues vertes *Ulva sp.* En effet, afin de répondre à la demande du COPIL à savoir de prioriser les actions dans un contexte de réduction budgétaire, les études ont été menées cette année uniquement sur le modèle de référence *Ulva sp.*

¹ Vitesse maximale d'absorption en nutriments

² Constante de demi-saturation, correspondant à la concentration en nutriment pour laquelle la vitesse est égale à la moitié de la vitesse V_{\max} .



2. Méthodologie

2.1. Campagnes de prélèvement

2.1.1. Stratégie d'échantillonnage

Les campagnes de prélèvement ont été conduites mensuellement de mai à septembre 2022 (11/05, 08/06, 01/07, 03/08 et 07/09) dans la baie de Saint-Brieuc afin d'étudier les mêmes populations que les précédents programmes (CARMA, CIMAV P3 2020, 2021). L'espèce *U. armoricana*, correspondant à l'holotype *U. lacinulata* a été sélectionnée (Sauriau et al. 2021). Néanmoins, en septembre, cette espèce a disparu du site de prélèvement et le développement d'une autre espèce d'algue verte a pu être relevée : *U. rotundata* (Bliding 1963). Ce changement d'espèce dominante sera pris en compte dans l'interprétation des résultats.

2.1.2. Prélèvement et conditionnement des échantillons d'algues

Sur le terrain, toute biomasse épiphytée a été écartée dans la mesure du possible. Les biomasses prélevées ont été essorées avec précaution pour retirer l'excédent d'eau et transportées en glacière à l'obscurité. La température du milieu a été mesurée au moment du prélèvement afin de définir les conditions d'incubation en milieu contrôlé.

De retour au laboratoire, les capacités photosynthétiques des algues ont été estimées par des mesures en fluorimétrie (Diving-PAM II, Walz). Cette détermination permet notamment de vérifier le bon état physiologique des algues et de guider le prélèvement de la biomasse algale pour la réalisation des expérimentations écophysologiques. Les algues ont été triées et rincées minutieusement plusieurs fois si nécessaire à l'eau de mer pour supprimer tout résidu de sable, de débris végétaux ou d'animaux. L'emploi de l'eau de mer est indispensable pour éviter la lyse des cellules algales induite par l'usage d'eau douce. Les algues ont été stockées dans des bacs d'acclimatation sur une période de 48h dans une eau de mer filtrée enrichie en nutriments (N/P) et sous conditions contrôlées de lumière et de température.

2.2. Expérimentation écophysologique

Les paramètres cinétiques d'absorption en nitrates ont été déterminés mensuellement tout au long de la saison de prolifération, *via* une expérimentation écophysologique à court terme (Lotze et Schramm, 2000). Les macro-algues, issues des bacs d'acclimatation, ont été incubées dans 5 L d'eau de mer filtrée (à 1 μm) selon une gamme de concentrations en nitrates allant de 0 à 200 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ (Figure 1). Un apport minimum en phosphates (3 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) a été ajouté afin d'éviter une carence. Chaque milieu de concentration a été réalisé en triplicat. En parallèle des incubations, un béccher « contrôle » rempli d'eau de mer filtrée (sans algue) a été placé dans les mêmes conditions.

Un échantillon d'eau de mer (50 mL) a été prélevé dans chacun des milieux d'incubation pour l'estimation des concentrations en nitrates en début d'expérimentation (T_0) et au bout de 30 minutes d'incubation (T_{30}). Les échantillons ont été empoisonnés avec une solution de chlorure mercurique à 6 g/L, de manière à assurer la stabilité des échantillons (Garcia et al. 2015). L'estimation des concentrations en nitrates a été réalisée à partir d'un dosage spectrophotométrique suivant le protocole de Schnetger et al. (2014).

Les incubations ont été réalisées dans des bécchers en polypropylène de 5 L. Les algues ont été incubées à des valeurs de température et de photopériode dictées par les conditions *in situ* au moment du prélèvement (Tableau 1). La température des bécchers expérimentaux a été régulée par l'action



combinée de résistances thermiques et d'un groupe froid. Une intensité lumineuse de 150-200 μmol de photons $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ et un système de bullage en continu ont été appliqués. Des mesures de concentration en azote et phosphore dans les tissus algaux ont été effectuées en début d'expérimentation de manière à évaluer leur statut nutritionnel (Villares et Carballeira, 2004).

Conditions de lumière contrôlées : 150-200 μmol photon. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, cycle J:N *in situ*

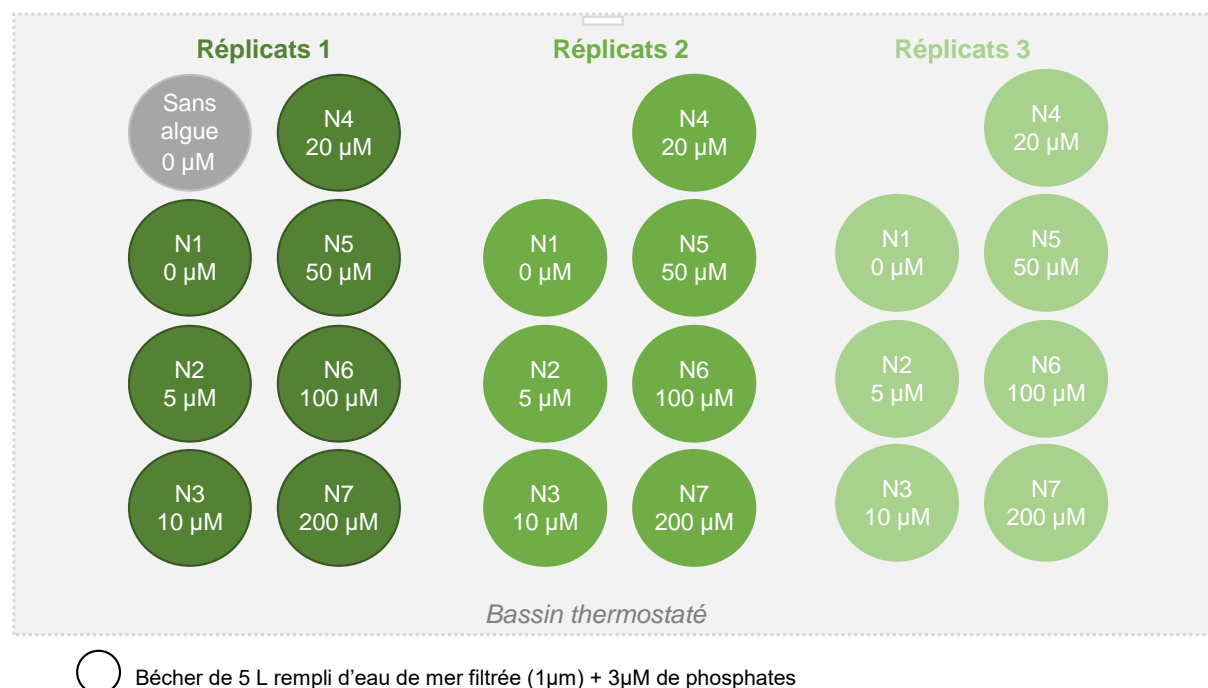


Figure 1. Schéma du dispositif expérimental.

Tableau 1. Température d'incubation et cycle de photopériode appliqué chaque mois pour les expérimentations d'écophysologie.

Mois	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre
Cycle J : N	15 : 9	16 : 8	16 : 8	15 : 9	13 : 11
Température de l'eau à Saint-Brieuc (°C)	16	18	19	19	20

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

$$V = \frac{(C_i - C_f) \times Vol}{t \times MS} \quad \text{Eq. 1}$$

Avec C_i , la concentration en nitrates contenus dans l'eau à T_0 (en $\mu\text{mol}.\text{L}^{-1}$) ; C_f , la concentration en nitrates contenus dans l'eau à T_{30} (en $\mu\text{mol}.\text{L}^{-1}$) ; 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).



Les vitesses d'absorption en nitrates ont ensuite été représentées graphiquement en fonction des concentrations initiales mesurées (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).

Figure 2. 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 (V_{max}) et la constante de demi-saturation (K_m), paramètres écophysiologiques 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 de Michaelis-Menten (Eq. 2).

$$V = \frac{(V_{max} \times C_i)}{(K_m + C_i)} \quad \text{Eq. 2}$$

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

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-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 (V_{max} et K_m) en utilisant la méthode des moindres carrés (Eq. 3) :

$$\sum_{i=1}^n (V_{prédite} - V)^2 \quad \text{Eq. 3}$$

La pente initiale (α) a été calculée à partir des valeurs de V_{max} et K_m selon la formule suivante (Eq. 4) :

$$\alpha = \frac{V_{max}}{K_m} \quad \text{Eq. 4}$$



3. Résultats

3.1. Evaluation des quotas azotés et phosphorés des algues

Les quotas azotés et phosphorés des algues ont été estimés au temps T0, avant la réalisation des expérimentations d'écophysiologie mensuelles (Figure 3). Les données brutes sont fournies en Annexe 1.

Les quotas azotés sont restés stables au cours de la saison (en moyenne $1,32 \pm 0,08$ g/100g MS) et en-dessous du quota critique Q_1N (2,00 g/100g MS). Ces résultats suggèrent que la croissance des ulves était limitée par l'azote de mai à septembre.

En revanche, le phosphore n'était pas un facteur limitant, comme le témoignent les valeurs de quotas phosphorés supérieures au quota critique Q_1P (0,125 g/100g MS). Les quotas phosphorés ont montré une augmentation progressive typique au cours de la saison de mai à août (passant de $0,150 \pm 0,008$ à $0,452 \pm 0,037$ g/100g MS), et ont drastiquement chuté en septembre ($0,177 \pm 0,005$ g/100g MS).

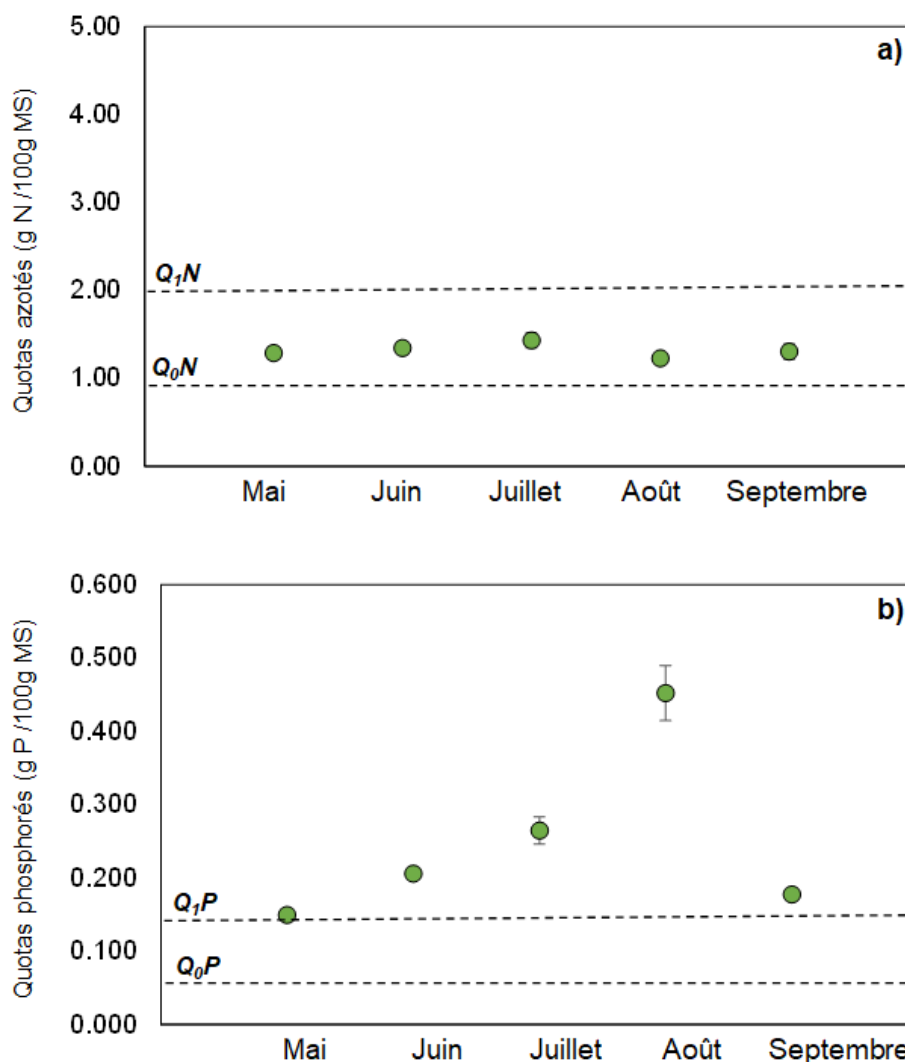


Figure 3. Quotas azotés (a) et phosphorés (b) des ulves mesurées mensuellement de mai à septembre avant chaque expérimentation au temps T0 (n=4).

Ces valeurs de quotas confortent les valeurs *in situ* mesurées chaque mois dans le cadre des suivis marées vertes.



3.2. Détermination des paramètres cinétiques

Les vitesses d'absorption en nitrates des ulves (Figure 4) ainsi que les paramètres cinétiques associés (Figure 5) ont été estimés à partir des concentrations en nitrates des milieux d'incubation mesurés à T0 et T30 (Annexe 2).

Pour l'ensemble des cinq expérimentations menées mensuellement de mai à septembre, les courbes 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.

Les V_{\max} des cinétiques d'absorption en nitrates ont progressivement diminué de mai à août, passant de $207,0 \pm 50,7$ à $156,8 \pm 10,2 \mu\text{mol N.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$. En septembre, une valeur de V_{\max} plus élevée a été relevée à $253,2 \pm 21,0 \mu\text{mol N.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

Concernant le paramètre K_m , les valeurs moyennes semblent plus élevées en mai et juin, atteignant $35,0 \pm 17,7 \mu\text{mol.L}^{-1}$ et $39,9 \pm 14,1 \mu\text{mol.L}^{-1}$ respectivement, même si les écart-types associés sont relativement importants. Puis de juillet à septembre, le paramètre K_m est resté stable au cours du temps, avoisinant une valeur moyenne de $25,8 \pm 4,8 \mu\text{mol.L}^{-1}$.

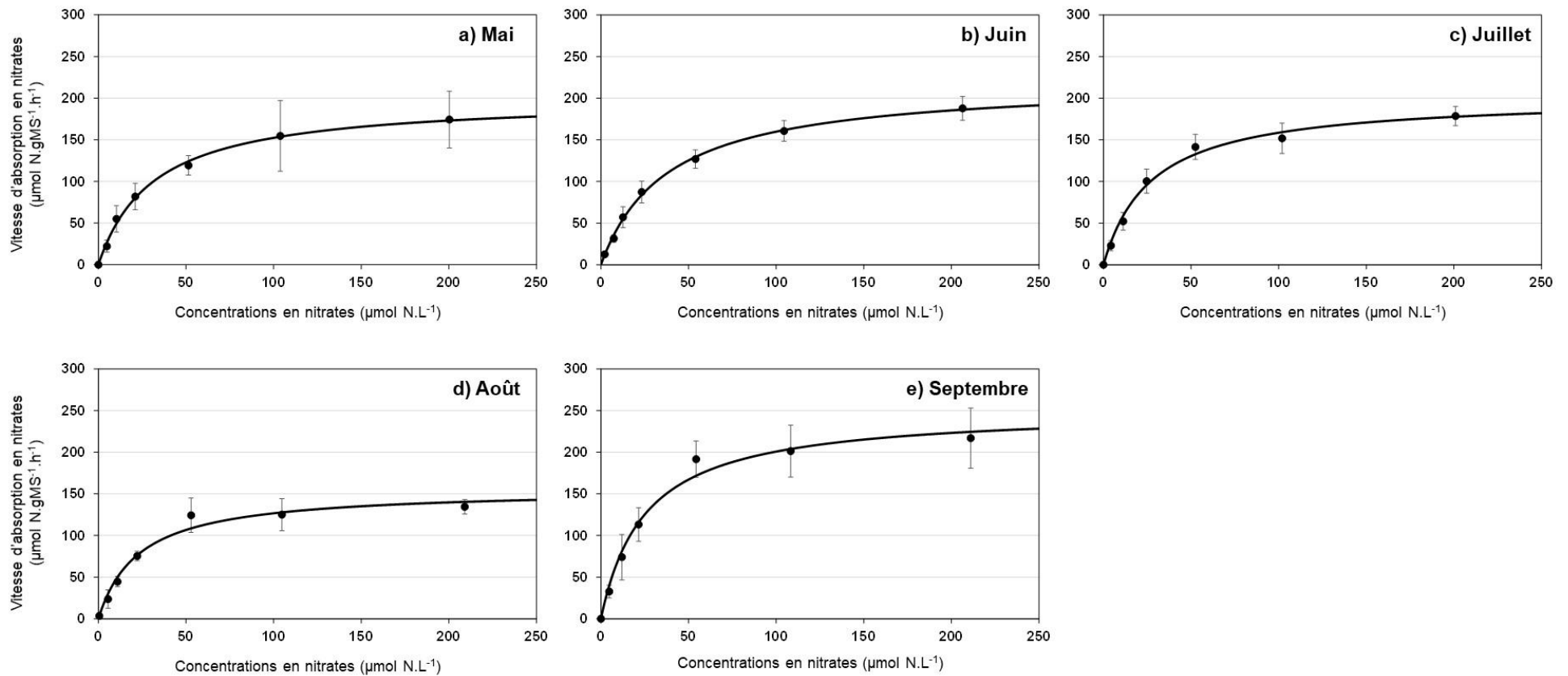


Figure 4. Vitesses d'absorption en nitrates des ulves en fonction des concentrations en nitrates dans le milieu d'incubation obtenues de mai à septembre (a-e) (n=3).

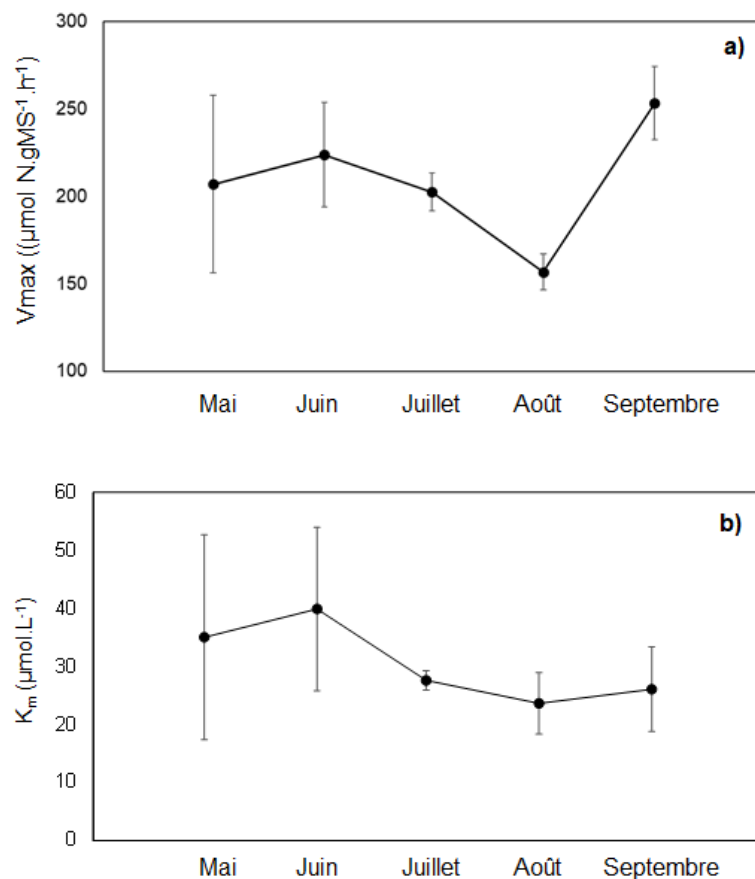


Figure 5. Evolution saisonnière des paramètres V_{max} (a) et K_m (b) relatifs aux cinétiques d'absorption en nitrates d'*Ulva* spp. (n=3).

4. Discussion

Les paramètres V_{max} et K_m sont contrôlés par différents facteurs chimiques (*e.g.* concentrations en nutriments), physiques (*e.g.* lumière, température, dessiccation, cycle émerSION/immersion) et biologiques (*e.g.* statut nutritionnel, état physiologique, cycle de vie) (Wallentinus 1984; Auby et al. 1994; Valiela et al. 1997 ; Harrison et Hurd, 2001). L'évolution de ces différents facteurs au cours de la saison engendre donc généralement une évolution des paramètres V_{max} et K_m des algues. L'estimation des V_{max} et K_m au moyen d'expérimentations en conditions contrôlées de laboratoire permet de maîtriser la majorité de ces facteurs de contrôle (lumière, température, nutriments), de limiter les facteurs de stress (dessiccation, émerSION des thalles), et d'approcher d'au plus près les valeurs V_{max} et K_m propres aux algues prélevées *in situ*, caractérisées par leur propre histoire biologique (*i.e.* cycle de vie, état physiologique). Evolution saisonnière des vitesses maximales d'absorption (V_{max}) en nitrates des ulves.

L'évolution saisonnière du paramètre V_{max} a été mise en relation avec l'évolution des conditions environnementales de la saison 2022 (flux terrigènes, intensité lumineuse, température), dans le but d'identifier le(s) facteur(s) de contrôle de ce paramètre. Cette mise en relation a souligné l'importance de l'impact des apports terrigènes sur le paramètre V_{max} , comme discuté ci-après.



La période de mai à août s'est caractérisée par des flux terrigènes très faibles (débits des cours d'eau inférieurs aux débits moyens en baie de Saint-Brieuc de -60 % en mai et juin, - 50 % en juillet, - 45 % en août et sur le début septembre - cf. bulletin marée verte d'octobre 2022), qui a engendré une baisse des apports nutritionnels en azote au cours de la saison et donc une carence en azote pour les algues, comme le confirment les valeurs de quotas azotés inférieures au Q_1N sur cette période (Figure 3). Cette limitation par l'azote explique le déclin des biomasses d'algues échouées observé dans le cadre des suivis marées vertes de mai à août. La diminution des quotas azotés des algues a engendré une détérioration progressive de l'état physiologique des ulves qui peut être confortée par l'apparition de signes de dégradation dès juillet (e.g. fragmentations, présence d'épiphytes, trous). Cette diminution des réserves azotées des tissus algaux a également pu impacter les capacités d'absorption des algues et engendrer la diminution des V_{max} relevée de mai à août.

À partir de septembre, un changement d'espèce a été observée sur le site d'étude localisé en baie de Saint-Brieuc (i.e. plage de Lermot). Il ne s'agissait plus de l'espèce *U. armoricana*, mais d'*U. rotundata*. La forte valeur de V_{max} mesurée en septembre pourrait s'expliquer par le développement de cette nouvelle espèce avec un meilleur état physiologique ou caractérisée par des capacités d'absorption en azote plus élevées. Cette espèce a pu également bénéficier d'une augmentation des apports terrigènes du 1^{er} au 3 septembre puis en fin de mois, ce qui a probablement favorisé sa croissance. Les suivis marées vertes montrent un rebond de la prolifération d'algues vertes à partir de fin septembre, qui a abouti en un bloom d'arrière-saison jusqu'en novembre. L'évolution saisonnière des V_{max} en nitrates semble ainsi suivre l'évolution de l'état physiologique des ulves qui est lui-même conditionné par l'évolution des apports nutritionnels en azote dans le milieu au cours de la saison.

Cette hypothèse est cohérente avec les résultats obtenus en 2021 dans le cadre du CIMAV P3 (Figure 6a) pour lesquels les variations saisonnières climatiques étaient très différentes de celles de 2022. De mai à juin 2021, les capacités maximales d'absorption en nitrates des deux espèces avaient diminué, probablement dû à l'appauvrissement du milieu en azote et de leurs réserves internes azotées (quotas $< Q_1N$), impactant de fait leur état physiologique. L'augmentation de leurs V_{max} de juin à juillet pouvait s'expliquer par les forts apports azotés relevés dès la fin du mois de juin dans les deux baies étudiées. Ces conditions avaient contribué à une amélioration de l'état physiologique des algues. D'août à septembre, les ulves avaient ensuite maintenu leurs V_{max} en nitrates à de fortes valeurs. À cette période, les apports terrigènes étaient restés relativement soutenus en baie de Saint-Brieuc par rapport à la moyenne saisonnière pour des réserves internes des algues en azote faibles (quotas $< Q_1N$).

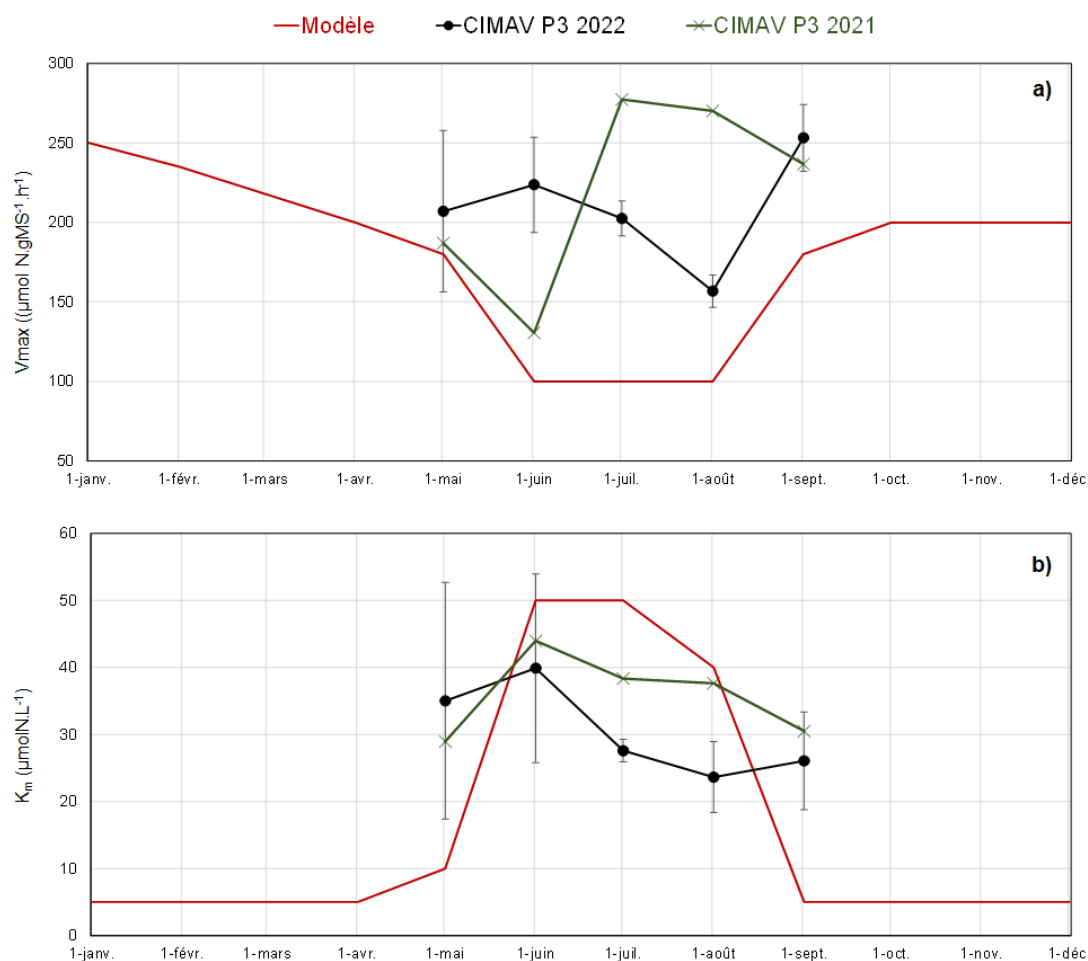


Figure 6. Données V_{max} et K_m des cinétiques d'absorption en nitrates des ulves appliquées dans le modèle et obtenues expérimentalement à partir des études CIMAV P3 2021 et 2022.

4.1. Evolution saisonnière des constantes de demi-saturation K_m en nitrates des ulves.

De manière générale, les ulves ont conservé un paramètre K_m en nitrates relativement stable de mai à septembre. Les valeurs obtenues sont proches de celles estimées au cours de la saison 2021 (Figure 6b). Des différences significatives sont uniquement observées en juillet et août, période à laquelle les K_m des ulves en 2022 étaient inférieures à celles relevées en 2021. Les causes de ces différences interannuelles sont difficiles à identifier avec certitude à ce stade. Aucune corrélation évidente ne se dessine entre l'évolution de ce paramètre et celle des conditions environnementales de la saison. En revanche, il est intéressant de noter que le paramètre K_m semble beaucoup moins impacté que le paramètre V_{max} aux évolutions saisonnières des conditions environnementales, ce qui suggérerait une variabilité saisonnière et interannuelle beaucoup moins marquée.

4.2. Comparaison avec la littérature et les valeurs appliquées dans le modèle MARS3D-Ulve.

Dans le modèle MARS3D-Ulve, les valeurs de V_{max} et K_m appliquées pour décrire l'absorption en nitrates par les ulves évoluent au cours de la saison (Figure 6). Les valeurs de ces paramètres ont été définies par calibration numérique, de manière à reproduire des données de quotas en azote et phosphore mesurés *in situ* sur la période 2002-2009 dans plusieurs baies du littoral breton (Perrot *et al.* 2014). Elles avaient alors été validées par comparaison aux données ponctuelles disponibles dans la littérature (Tableau 2), faute de données recueillies à l'échelle saisonnière.



L'acquisition des paramètres V_{\max} sur deux années consécutives aux caractéristiques climatiques distinctes permet de confirmer la variabilité interannuelle de ce paramètre en lien avec les conditions environnementales de la saison. La Figure 6a met néanmoins en évidence que le modèle ne prend actuellement pas en compte cette variabilité interannuelle, ce qui n'est pas sans conséquence sur la justesse des prédictions d'échouages fournies par le modèle. L'intégration de cette variabilité interannuelle au sein du modèle impliquerait de pouvoir identifier avec certitude les facteurs de contrôle du paramètre V_{\max} . Cette identification reste à être précisée même si les résultats acquis en 2021 et 2022 suggèrent que les apports azotés saisonniers jouent un rôle majeur, en impactant directement l'état physiologique des ulves.

La Figure 6b montre que le modèle impose une variation saisonnière du K_m beaucoup plus marquée que ce qui a été mesuré expérimentalement au cours des saisons 2021 et 2022. Les différences les plus importantes sont observées en mai et septembre, mois pour lesquels les valeurs du modèle sont inférieures à ce qui est réellement relevé *in situ*. Cette sous-estimation des K_m pourrait engendrer une sur-estimation de la capacité d'absorption des nitrates par les ulves à des faibles concentrations en nitrates dans le milieu, et probablement sur-estimer la biomasse d'algues produite à ces deux périodes. Ces résultats mettent donc en évidence une voie d'amélioration pour le modèle concernant les paramètres K_m .



Tableau 2. Synthèse des données de paramètres cinétiques d'absorption en nitrates issues de la littérature et des précédentes études CEVA.

Espèce / Genre	Lieu de prélèvement	Date de prélèvement	Conditions expérimentales	Absorption en nitrates			Référence
				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 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 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 ² /s	116.0	34.0	3.5	Runcie et al., 2003
<i>Ulva prolifera</i>	Mer Jaune, Chine	juil-11	Batch	124.3	15.2	8.2	Luo et al., 2012
<i>Ulva linza</i>	Mer Jaune, Chine	mai-11	Batch	109.1	23.0	4.8	Luo et al., 2012
<i>Ulva intestinalis</i>	Asturies, Espagne	juin-05	Batch 15°C, 125 μmol/m ² /s	75.3	33.1	2.3	Martinez et al., 2012
<i>Ulva intestinalis</i>	Mer Baltique, Allemagne	juin-95	Batch 15°C, 100 μmol/m ² /s, cycle 14J:10N	90.1-237	20.4-43.7	4.4-6.4	Lotze et Schramm, 2000
<i>Ulva armoricana</i>	Baie de Saint-Brieuc (Lermot)	mai-19	Batch 19°C, 150-200μmol/m ² /s, cycle 16J:8N	165-232	41.3-84.1	2.0-5.6	CEVA, CARMA 2018-2019
<i>Ulva armoricana</i>	Vasière du Lédano	juin-19	Batch 19°C, 150-200μmol/m ² /s, cycle 16J:8N	93.1-247	35.0-338	0.8-2.7	CEVA, CIMAV P3, 2019
<i>Ulva</i> sp. filamenteuses (<i>laetivirens</i>)	Vasière du Lédano	juin-19	Batch 19°C, 150-200μmol/m ² /s, cycle 16J:8N	65.4-1092	14.3-764	1.3-4.6	CEVA, CIMAV P3, 2019
<i>Ulva armoricana</i>	Baie de Saint-Brieuc (Lermot)	mai-21	Batch 19°C, 150-200μmol/m ² /s, cycle 15J:9N	187.0	29.0	6.5	CEVA, CIMAV P3, 2021
<i>Ulva armoricana</i>	Baie de Saint-Brieuc (Lermot)	juin-21	Batch 19°C, 150-200μmol/m ² /s, cycle 16J:8N	130.6	44.0	3.0	CEVA, CIMAV P3, 2021
<i>Ulva armoricana</i>	Baie de Saint-Brieuc (Lermot)	juil-21	Batch 19°C, 150-200μmol/m ² /s, cycle 16J:8N	277.3	38.3	7.2	CEVA, CIMAV P3, 2021
<i>Ulva armoricana</i>	Baie de Saint-Brieuc (Lermot)	août-21	Batch 19°C, 150-200μmol/m ² /s, cycle 15J:9N	270.1	37.7	7.2	CEVA, CIMAV P3, 2021
<i>Ulva armoricana</i>	Baie de Saint-Brieuc (Lermot)	sept-21	Batch 19°C, 150-200μmol/m ² /s, cycle 13J:11N	236.7	30.5	7.8	CEVA, CIMAV P3, 2021



5. Conclusion

Dans la suite du projet CIMAV P3 2021, cette étude a permis de poursuivre la caractérisation des paramètres relatifs à la cinétique d'absorption en nitrates des ulves de la baie de Saint-Brieuc sur une deuxième saison de prolifération. Cette acquisition sur deux années consécutives a contribué à établir les valeurs de référence minimales et maximales des paramètres écophysologiques V_{\max} et K_m pour le modèle MARS3D-Ulves, en intégrant par ailleurs les variations interannuelles liées à la composante climatique.

Les résultats obtenus sur ces deux années suggèrent que l'évolution saisonnière du paramètre V_{\max} en nitrates suit l'évolution de l'état physiologique des ulves, qui lui-même est fortement conditionné par l'évolution des flux terrigènes en azote au cours de la saison. En contraste, la variation saisonnière du paramètre K_m semble moins impactée par l'évolution des conditions environnementales au cours de la saison. Par ailleurs, les différences de valeurs relevées entre les années 2021 et 2022 restent encore difficiles à expliquer. Aucune corrélation évidente n'a pu être mise en évidence entre l'évolution de ce paramètre et celle des conditions climatiques.

Les jeux de données acquis sur ces deux années consécutives ont été comparés aux valeurs actuellement utilisées dans le modèle, ce qui a permis de montrer que :

(1) le modèle ne prenait pas en compte la variabilité interannuelle du paramètre V_{\max} qui est particulièrement marquée, et liée aux conditions climatiques annuelles. Des différences significatives ont été mises en évidence entre les valeurs réelles *in situ* et les valeurs imposées par le modèle, ce qui n'est pas sans conséquence sur les estimations des surfaces d'algues vertes échouées en sortie de modèle.

(2) le modèle impose une variation saisonnière du paramètre K_m plus marquée que ce qui est réellement observé dans le milieu, et en particulier pour les mois de mai et septembre où les valeurs appliquées sont significativement plus faibles que les valeurs mesurées expérimentalement. Ces faibles valeurs imposées pourraient engendrer une sur-estimation de la biomasse d'algues vertes produite dans le cas où les niveaux azotés seraient particulièrement bas à ces périodes.

Sur la base de ces observations, il serait nécessaire d'intégrer la variabilité interannuelle du paramètre V_{\max} au modèle. Or cette intégration nécessiterait de pouvoir identifier avec certitude les facteurs de contrôle de ce paramètre. Bien que les apports azotés semblent le facteur déterminant sur l'évolution des V_{\max} au cours de la saison, il est à ce stade encore difficile de pouvoir quantifier ce paramètre en fonction des conditions environnementales de la saison.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Auby, Isabelle; Manaud, Francois; Maurer, Daniele; Trut, Gilles (1994) Etude de la prolifération des algues vertes dans le bassin d'Arcachon. In : Etude IFREMER-CEMAGREF-SSASARBAC. Plouzané, France: IFREMER, 146 p. En ligne : <http://archimer.ifremer.fr/doc/00000/1653/>.
- Bliding, Carl Vilhelm (1963) A critical survey of European taxa in Ulvales.
- CEVA (2009-2011, 2014, 2019, 2020a, 2021a). CIMAV P3 : Complément d'étude sur les processus biologiques, hydrologiques et sédimentologiques impliqués dans les blooms macroalgaux. Rapport de synthèse de l'étude.
- CEVA (2020b). CARMA : Caractérisation des proliférations de macroalgues opportunistes autres que les ulves dans les baies à Algues Vertes bretonnes. Rapport de synthèse de l'étude.
- CEVA (2021b). SyntheCO : Synthèse des études CEVA financées dans le cadre du CPER 2015-2020. Rapport de synthèse.
- Dugdale, R. C.; Goering, J. J. (1967) Uptake of new and regenerated forms of nitrogen in primary productivity. In : *Limnology and Oceanography*, vol. 12, n° 2, p. 196–206. DOI: 10.4319/lo.1967.12.2.0196.
- Garcia, Nicole; Oriol, Louise (2015) Analyse automatique des nutriments NO₂ - NO₃ - PO₄ - Si(OH)₄ dans l'eau de mer. Protocole national SOMLIT Sels nutritifs. SOMLIT, éd.
- Harrison, P. J.; Hurd, C. L. (2001) Nutrient physiology of seaweeds: Application of concepts to aquaculture. In : *Cahiers de Biologie Marine*, vol. 42, n° 1-2, p. 71–82.
- 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.
- 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, n° 0, p. 18–24. En ligne : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304377012000411>.
- 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° 0, p. 14–22. DOI: 10.1016/j.aquabot.2011.09.004.
- Naldi, M.; Viaroli, P. (2002) Nitrate uptake and storage in the seaweed *Ulva rigida* C. Agardh in relation to nitrate availability and thallus nitrate content in a eutrophic coastal lagoon (Sacca di Goro, Po River Delta, Italy). In : *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, vol. 269, n° 1, p. 65–83. Programme CIMAV P3 2021 40
- 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, J. W.; Ritchie, R. J.; Larkum, A. W. (2003) Uptake kinetics and assimilation of inorganic nitrogen by *Catenella nipae* and *Ulva lactuca*. In : *Aquatic Botany*, vol. 76, n° 2, p. 155–174. DOI: 10.1016/S0304-3770(03)00037-8.
- Sauriau, Pierre-Guy; Dartois, Manon; Becquet, Vanessa; Aubert, Fabien; Huet, Valérie; Bréret, Martine et al. (2021) Multiple genetic marker analysis challenges the introduction history of *Ulva australis* (Ulvales, Chlorophyta) on French coasts. In : *European Journal of Phycology*, p. 1–13. DOI: 10.1080/09670262.2021.1876249.
- Schnetger, B; Lehnert, C. (2014) Determination of nitrate plus nitrite in small volume marine water samples using vanadium(III)chloride as a reduction agent. In : *Marine Chemistry*, vol. 160, p. 91–98. DOI: 10.1016/j.marchem.2014.01.010.



Valiela, I.; McClelland, J.; Hauxwell, J.; Behr, P. J.; Hersh, D.; Foreman, K. (1997) Macroalgal blooms in shallow estuaries: Controls and ecophysiological and ecosystem consequences. In : *Limnology and Oceanography*, vol. 42, n° 5, p. 1105–1118.

Villares, R.; Carballeira, A. (2004) Nutrient limitation in macroalgae (*Ulva* and *Enteromorpha*) from the Rias Baixas (NW Spain). In : *Marine Ecology-publicazioni Della Stazione Zoologica Di Napoli I*, vol. 25, n° 3, p. 225–243.

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.



ANNEXES

<i>Annexe 1. Données brutes de quotas azotés et phosphorés des ulves au temps T0 pour chaque expérimentation mensuelle de mai à septembre (n = 4).</i>	18
<i>Annexe 2. Concentrations en nitrate de l'eau de mer mesurées à T0 et T30 pour l'expérimentation menée sur Ulva sp. en triplicat chaque mois de mai à septembre. Les concentrations inférieures à la limite de quantifications sont indiquées < LQ.</i>	19



Annexe 1. Données brutes de quotas azotés et phosphorés des ulves au temps T0 pour chaque expérimentation mensuelle de mai à septembre (n = 4).

Mois de l'expérimentation	Réplicat	Masse sèche (g)	Quotas azotés (g/100g MS)	Quotas phosphorés (g/100g MS)
Mai	1	1.44	1.26	0.146
	2	1.31	1.24	0.160
	3	1.35	1.25	0.151
	4	1.52	1.39	0.142
Juin	1	1.65	1.39	0.208
	2	1.43	1.25	0.204
	3	1.62	1.36	0.205
	4	1.59	1.37	0.207
Juillet	1	1.76	1.37	0.262
	2	1.74	1.37	0.253
	3	1.59	1.56	0.292
	4	1.70	1.43	0.251
Août	1	1.92	1.22	0.424
	2	1.67	1.27	0.436
	3	1.90	1.20	0.507
	4	1.97	1.21	0.441
Septembre	1	1.67	1.43	0.185
	2	1.74	1.30	0.177
	3	1.65	1.23	0.175
	4	1.64	1.26	0.173



Annexe 2. Concentrations en nitrate de l'eau de mer mesurées à T0 et T30 pour l'expérimentation menée sur *Ulva* sp. en triplicat chaque mois de mai à septembre. Les concentrations inférieures à la limite de quantification sont indiquées < LQ.

Mois de prélèvement	Temps d'incubation (min)	Niveau d'enrichissement	Réplicat 1	Réplicat 2	Réplicat 3
Mai	0	R	<LQ		
		C1	<LQ	<LQ	<LQ
		C2	4.988	4.885	4.777
		C3	10.061	10.597	10.315
		C4	21.605	20.638	20.935
		C5	49.891	52.445	51.894
		C6	98.604	109.278	103.617
	C7	194.889	200.721	205.320	
	30	R	<LQ		
		C1	<LQ	<LQ	<LQ
		C2	3.472	2.215	2.573
		C3	6.089	3.692	5.348
		C4	13.037	14.045	12.340
		C5	40.016	39.328	40.396
C6		88.530	92.847	88.977	
C7	184.524	184.053	186.609		
Juin	0	R	2.154		
		C1	1.833	2.472	2.154
		C2	7.077	7.496	7.481
		C3	12.289	12.821	12.791
		C4	22.804	23.478	23.594
		C5	52.911	54.704	54.286
		C6	104.607	105.594	103.326
	C7	203.883	209.793	205.476	
	30	R	2.184		
		C1	0.584	1.154	0.674
		C2	4.029	3.758	3.751
		C3	5.906	8.379	5.807
		C4	13.704	15.362	12.977
		C5	41.576	41.801	41.226
C6		88.65	87.120	88.845	
C7	186.063	190.266	189.123		
Juillet	0	R	<LQ		
		C1	<LQ	<LQ	<LQ
		C2	4.090	4.551	4.198
		C3	9.852	10.149	13.790
		C4	22.866	25.869	25.202
		C5	52.679	50.571	54.185
		C6	102.465	102.717	100.662
	C7	198.291	200.646	203.844	
	30	R	<LQ		
		C1	<LQ	<LQ	<LQ
		C2	1.212	2.165	2.391
		C3	4.773	4.446	5.904
		C4	13.198	15.956	11.928
		C5	35.172	39.537	36.564
C6		85.755	86.163	80.253	
C7	182.829	183.990	185.154		



Réplicat	Temps d'incubation (min)	Niveau d'enrichissement	Réplicat 1	Réplicat 2	Réplicat 3
Août	0	R	0.441		
		C1	0.828	<LQ	0.650
		C2	6.185	4.246	6.071
		C3	10.883	11.832	10.012
		C4	21.723	23.456	21.234
		C5	51.432	52.941	54.323
		C6	100.287	110.34	103.659
	C7	202.368	215.724	209.073	
	30	R	0.385		
		C1	<LQ	<LQ	<LQ
		C2	2.124	2.823	2.322
		C3	6.177	6.818	3.862
		C4	13.090	13.408	11.830
		C5	34.282	39.940	36.101
C6		85.896	93.222	91.302	
C7	187.950	203.409	196.038		
Septembre	0	R	<LQ		
		C1	<LQ	<LQ	<LQ
		C2	4.562	5.002	4.659
		C3	10.466	10.993	14.506
		C4	21.326	22.019	21.309
		C5	52.438	56.995	53.648
		C6	111.408	107.577	106.008
	C7	207.030	213.111	212.988	
	30	R	<LQ		
		C1	<LQ	<LQ	<LQ
		C2	2.189	1.323	1.970
		C3	5.376	5.548	4.935
		C4	12.756	13.687	9.878
		C5	40.009	41.54	40.595
C6		92.247	93.813	89.619	
C7	192.885	192.549	195.747		

