E221 - LHE - W

03260 PROGRAMME NATIONAL d'OCEANOGRAPHIE CÔTIERE

Chantier « Baie de Seine » **Rapport** final

Nutrition azotée du phytoplancton dans le panache de la Seine en période estivale

STEPHANE L'HELGUEN

Laboratoire de Chimie Marine UPR CNRS 9042 Station Biologique de Roscoff



Convention IFREMER : N°00-2-431408



PROGRAMME NATIONAL d'OCEANOGRAPHIE CÔTIERE

Chantier « Baie de Seine » Rapport final

Nutrition azotée du phytoplancton dans le panache de la Seine en période estivale

STEPHANE L'HELGUEN

Laboratoire de Chimie Marine UPR CNRS 9042 Station Biologique de Roscoff

Convention IFREMER : N°00-2-431408

Sommaire

3

4

5

12

13

2

1 – Introduction

2 - Matériel et méthodes

- 2.1 Mesures hydrologiques, chimiques et biologiques
- 2.2 Mesures des flux d'azote

3 – Résultats et discussion

- 3.1 Caractéristiques hydrologiques, chimiques et biologiques
- 3.2 Absorption de l'azote

4 – Conclusions

5 – Bibliographie

1 - Introduction

Des quantités très importantes d'azote à la fois minéral (nitrate, nitrite, ammonium) et organique (dissous et particulaire) sont déversées par la Seine dans les eaux côtières. Ces apports peuvent modifier de manière importante le fonctionnement des écosystèmes pélagique et benthique en Baie de Seine. Ils peuvent, en particulier, en enrichissant le milieu en azote, intensifier les processus d'absorption du phytoplancton et déclencher des proliférations algales. La matière organique ainsi produite et la matière organique directement importée dans le système peuvent accroître fortement les processus de régénération dans la colonne d'eau. Les apports d'azote minéral peuvent, par ailleurs, lorsqu'ils s'effectuent sous la forme d'ammonium (rejets urbains ou industriels), intensifier les processus de nitrification qui sont aussi favorisés dans les eaux turbides du panache de la Seine par le faible niveau moyen d'éclairement. Ces différents processus de régénération peuvent conduire à un appauvrissement en oxygène dissous susceptible d'entraîner une mortalité importante de la faune marine. L'ensemble de ces transformations détermine la capacité du système Baie de Seine à piéger ou à exporter vers les eaux côtières les apports d'azote de la Seine ; elle détermine aussi la nature (minéral ou organique) de l'azote exporté vers les eaux marines. Jusqu'à présent, les flux d'azote ont été peu ou pas étudiés dans ce système. Nos travaux dans le chantier Baie de Seine ont comme objectifs :

- d'examiner l'influence des apports d'azote sur le développement du phytoplancton,

- d'examiner les conséquences de la matière organique produite et de la matière organique directement importée dans le système sur les processus de régénération
- d'apprécier la capacité du système Baie de Seine à piéger l'azote ou à l'exporter sur le plateau continental.

Les taux d'absorption de l'azote minéral (nitrate, ammonium) et de l'urée, les taux de régénération de l'ammonium et les taux de nitrification ont été mesurés par les techniques ¹⁵N dans différentes masses d'eaux types réparties le long du gradient de salinité et à différentes époques de l'année. Dans ce rapport sont présentés les résultats sur les processus d'absorption obtenus en période estivale au cours de la campagne Seinete.

2 - Matériel et méthodes

La campagne Seinete a été réalisée du 9 au 23 août 1999 à bord du navire océanographique « Thalia ». Au cours de la campagne, trois masses d'eaux types, définies par la salinité de surface, ont été examinées : une masse d'eau située près de l'estuaire (salinité de 27-29), une masse d'eau dans la partie médiane du panache (salinité de 31-32) et une masse d'eau à l'extérieure du panache (salinité de 34-35). Les prélèvements ont été effectués à 3 ou 4 profondeurs photométriques réparties dans la zone euphotique et à une profondeur située dans la couche non éclairée. Ils ont généralement été réalisés en tout début de matinée. L'absorption du nitrate et de l'ammonium a été déterminée à chaque profondeur. La température, la salinité, les concentrations en nitrates et en ammonium, la concentration en chlorophylle *a* ainsi que les teneurs en azote organique particulaire ont aussi été mesurées sur chacun des échantillons. Dans les eaux de surface (50% Io), les taux d'absorption de l'azote ainsi que les teneurs en chlorophylle *a* et en azote organique particulaire ont été quantifiés dans trois classes de taille (<200 μ m, <10 μ m et <1 μ m).

4

2.1 - Mesures hydrologiques, chimiques et biologiques

La température a été mesurée à l'aide d'une sonde manuelle ; les mesures de salinité ont été effectuées avec un salinomètre Guildline Autosal 8400. Le nitrate et le nitrite ont été déterminés avec un Auto Analyseur II Technicon suivant les procédures décrites par Tréguer et Le Corre (1975). Le dosage de l'ammonium a été réalisé manuellement par la méthode colorimétrique de Koroleff (1970). La méthode fluorimétrique de Yentsch et Menzel (1963) a été utilisée pour déterminer la chlorophylle a (fluorimètre Turner). Les teneurs en azote organique particulaire ont été mesurées à l'aide d'un analyseur CHN de type Perkin-Elmer (modèle 240). Le profil de pénétration de l'énergie radiative photosynthétique (350-700 nm) a été obtenu au moyen d'un photomètre submersible de type Licor.

2.2 - Mesures des flux d'azote

Les taux d'absorption de l'azote minéral ont été déterminés en suivant l'incorporation du traceur ¹⁵N dans la matière particulaire (Dugdale et Goering, 1967). Les échantillons ont été enrichis avec de l'azote marqué sous la forme de nitrate ou d'ammonium à des teneurs voisines de 10 % de ces mêmes composés non marqués dans l'eau de mer. Les échantillons ont été incubés dans des conditions simulées pendant 4 à 6 heures, réparties de part et d'autre de midi solaire. A la fin de l'incubation, les échantillons ont été filtrés sur des filtres en fibre de verre (Whatman, GF/F). Les filtres ont été séchés à l'étuve à 60°C pendant plusieurs heures puis conservés en présence d'un déshydratant jusqu'à l'analyse isotopique au laboratoire. L'enrichissement en ¹⁵N des échantillons a été mesuré par spectrométrie optique (modèle GS1

à réseau concave fixe) selon le protocole décrit par Guiraud et Fardeau (1980). Les taux d'absorption absolus (ρ) ont été calculés en appliquant l'équation de Dugdale et Goering (1967).

3 – Résultats et discussion

3.1 - Caractéristiques hydrologiques, chimiques et biologiques

Station 3

La station 3 est homogène en salinité et en température (Fig. 1). Les teneurs en éléments nutritifs sont également distribuées uniformément dans toute la colonne d'eau (Fig. 2). La salinité (# 34.7) ainsi que les concentrations en nitrate et en ammonium (# 1 µmol l⁻¹) sont proches des valeurs caractérisant les eaux marines de la Manche en été (L'Helguen et al., 1993) indiquant une influence réduite des apports de la Seine à cette station. La teneur en chlorophylle a (# 1 µg l⁻¹) et sa forte proportion dans la fraction 10-1 µm (65%) sont aussi typiques de la situation estivale en Manche.



Figure 1 : Variations verticales de la salinité (cercles) et de la température (carrés).

Station 2

La stratification de la colonne d'eau à la station 2 est peu marquée et est uniquement haline (Fig. 1). La teneur en nitrate, voisine de 25-30 μ mol l⁻¹ dans les eaux de surface, diminue rapidement avec la profondeur, parallèlement à la diminution de la salinité, et n'est plus que de 5 μ mol l⁻¹ dans la couche de fond (Fig. 2). Des teneurs très élevées en ammonium (environ 5 μ mol l⁻¹) sont mesurées dans toute la colonne d'eau. La chlorophylle *a* est comprise entre 1 et 2 μ g l⁻¹ (Fig. 3) ; la biomasse phytoplanctonique la plus importante est relevée dans la

couche superficielle. Les biomasses du micro- et du nanophytoplancton sont pratiquement identiques à ce niveau (Fig. 4) ; la biomasse dans la fraction $<1\mu$ m est très faible.



Figure 2 : Variations verticales des concentrations en nitrate (triangles) et en ammonium (losanges) (en μ mol N l⁻¹).



Figure 3 : Variations verticales des teneurs en chlorophylle a (en μ g l⁻¹)

Station 1

La colonne d'eau à la station 1 est également peu stratifiée (Fig. 1). Le gradient vertical de la salinité est peu marqué et aucune stratification thermique est observée. Cette faible stratification est due à la fois au faible débit de la Seine et à un mélange vertical important correspondant à une période de vents forts. L'azote minéral est en fortes concentrations dans l'ensemble de la colonne d'eau (Fig. 2). Les teneurs en nitrate très élevées (# 65 µmol l⁻¹) relevées en surface, dans les eaux les plus dessalées (Fig. 2), montrent que l'enrichissement des eaux du panache par la Seine est toujours important en période estivale. Une quantité très importante d'azote minéral est également présente sous la forme d'ammonium (environ 9 μ mol l⁻¹); la teneur en ammonium dans les eaux de la Seine étant réduite, ces fortes concentrations ne peuvent provenir que d'une production *in situ*, dans la colonne d'eau et/ou d'un transfert à partir du compartiment benthique. Les teneurs en chlorophylle *a* à la station 1 sont peu élevées (0.8 à 1.4 µg l⁻¹) (Fig. 3) et sont réparties également dans les fractions 200-10 µm (48%) et 10-1 µm (52%) (Fig. 4).

7



Figure 4 : Contributions du microplancton (200-10 μ m), du nanoplancton (10-1 μ m) et du picoplancton (< 1 μ m) à la chlorophylle *a* (exprimées en % de la chlorophylle *a* totale).

L'ensemble de ces résultats montent un changement net par rapport au printemps. En période estivale, le panache de la Seine s'avère moins stratifié qu'au printemps. L'enrichissement en azote inorganique dissous (NID) est aussi important en été qu'au printemps mais les proportions du nitrate et de l'ammonium ont changées : l'ammonium a en moyenne augmenté par un facteur 5 dans l'ensemble des eaux du panache et représente jusqu'à 40% du NID alors qu'il constitue au maximum 14% du stock du NID en période printanière (L'Helguen, 1999). Dans les eaux marines, à l'inverse, la teneur en nitrate a fortement diminuée entre le printemps et l'été et celle de l'ammonium s'est maintenue au même niveau. Le phytoplancton est 5 à 10 fois moins abondant en période estivale que lors du bloom printanier et ceci dans l'ensemble de la Baie ; il est composé d'une forte proportion de petites cellules (flagellés) alors qu'il est largement dominé par les grandes cellules (diatomées) au printemps.

3.2 – Absorption de l'azote

Variations verticales des taux d'absorption de l'azote

Les taux d'absorption du NID (nitrate + ammonium) à la station 3 sont compris entre 0.005 et 0.040 μ mol N l⁻¹ h⁻¹ (Fig.5). La valeur maximale, relevée en surface, est proche des taux maximum habituellement mesurés en Manche en été (L'Helguen et al., 1996 ; Maguer et al., 1996). Dans les eaux du panache l'absorption du NID est nettement plus importante ; elle atteint, dans les eaux superficielles, 0.144 μ mol N l⁻¹ h⁻¹ à la station 1 et 0.244 μ mol N l⁻¹ h⁻¹ à la station 2. Les activités d'assimilation sont aussi beaucoup plus élevées dans les eaux du panache (maximum de 0.130 et 0.148 μ mol N μ g chla⁻¹ h⁻¹ respectivement aux stations 1 et 2) que dans les eaux marines adjacentes (maximum de 0.036 μ mol N μ g chla⁻¹ h⁻¹) (Fig. 5). Les taux d'absorption mesurés dans les eaux du panache se situent dans la gamme de valeurs généralement reportées pour les systèmes enrichis en azote (e.g. McCarthy et al., 1977 ; Furnas, 1983 ; Carpenter et Dunham, 1985 ; Pennock, 1987 ; Horrigan et al., 1990 ; Boyer et al., 1994). Des taux du même ordre de grandeur ont été obtenus dans la Baie de Morlaix en période estivale dans des conditions d'enrichissement comparables (Colobert-Le Floch, 2001).



Figure 5 : Variations verticales des taux d'absorption de l'azote (en μ mol N l⁻¹ h⁻¹) (carrés) et des activités d'assimilation (en μ mol N μ g chla⁻¹ h⁻¹) (cercles). La profondeur de la zone euphotique est indiquée en pointillés.

L'absorption de l'azote, intégrée sur l'ensemble de la colonne d'eau, est maximale à la station 2 (1.22 mmol N m⁻² h⁻¹); elle est trois fois plus élevée dans cette partie du panache que dans le secteur situé plus en amont (0.38 mmol N m⁻² h⁻¹) et que dans les eaux marines (0.38 mmol N m⁻² h⁻¹). Une absorption comparable de l'azote a déjà été relevée dans le panache de la Seine en période estivale (L'Helguen et Le Corre, 1995). Par rapport au



printemps (voir L'Helguen, 1999), l'utilisation de l'azote est deux à trois fois plus faible dans les eaux du panache et près de quatre fois plus faible dans les eaux marines.

Figure 6 : Variations verticales des taux d'absorption (symboles pleins) et de la contribution du nitrate et de l'ammonium à l'absorption azotée totale (symboles vides). La profondeur de la zone euphotique est indiquée en pointillés.

Contribution des composés azotés à la nutrition du phytoplancton

A la station 3, l'ammonium constitue pratiquement la seule source d'azote utilisée quelle que soit la profondeur (Fig. 6). Lorsque la colonne d'eau est considérée dans son ensemble, 92% de l'azote utilisé est sous la forme d'ammonium. Dans les eaux du panache, l'absorption de l'ammonium représente également la majeure partie de l'absorption de l'azote dans les eaux superficielles (85% à la station 1 et 95% à la station 2), ceci alors que les teneurs en nitrates sont très élevées. L'absorption relative du nitrate augmente avec la profondeur (Fig. 6) mais sur l'ensemble de la colonne d'eau la majeure partie de l'azote utilisé (65% à la station 1 et 92% à la station 2) correspond à de l'ammonium. La forte utilisation de ce composé est liée à la présence de teneurs très élevées dans l'ensemble de la Baie. L'ammonium demeure généralement moins abondant que le nitrate en particulier dans les eaux du panache mais il est reconnu (revue par Dortch, 1990) que les formes réduites de l'azote sont utilisées préférentiellement par le phytoplancton même lorsqu'elles sont minoritaires. Les fortes teneurs en ammonium doivent par ailleurs exercer un effet inhibiteur marqué sur l'utilisation du nitrate. Une inhibition totale du processus d'absorption du nitrate par l'ammonium a déjà été observée à des concentrations voisines de 2 µmol N l⁻¹ (Paasche et Kristiansen, 1982); ces valeurs sont nettement inférieures à celles relevées dans les eaux du panache. L'absorption prépondérante de l'ammonium constitue une différence importante avec la période printanière pendant laquelle le développement du phytoplancton est basé pour une large part sur l'utilisation du nitrate (L'Helguen, 1999).



Figure 7 : Contributions du microplancton (200-10 μ m), du nanoplancton (10-1 μ m) et du picoplancton (< 1 μ m) à l'absorption de l'azote (exprimées en % de l'absorption azotée totale).

Contribution des différentes classes de taille à l'absorption de l'azote

Dans les eaux marines, la majeure partie de l'absorption de l'azote (47%) est attribuée à la fraction 10-1 μ m (Fig. 7) ; 25% de l'absorption sont mesurés dans la fraction 200-10 μ m et 28% dans la fraction <1 μ m. La contribution importante des organismes <1 μ m et la très faible quantité de chlorophylle *a* présente dans cette classe de taille (Fig. 4) suggère une utilisation relativement élevée de l'azote par les bactéries. Dans les eaux du panache, l'essentiel de l'absorption de l'azote est réalisé par les classes de taille 200-10 μ m et 10-1 μ m et peut être imputé au phytoplancton. La répartition de l'absorption entre ces deux classes de taille (Fig. 7) suit approximativement la répartition de la chlorophylle *a* (Fig. 4). L'utilisation de l'azote par les bactéries (<1 μ m) s'avère réduite comparée à l'utilisation par le phytoplancton ; elle est néanmoins environ deux fois plus élevée dans les eaux du panache que dans les eaux marines. L'importance du nanoplancton à la fois en termes de biomasse et de production constitue une différence importante avec la situation observée lors du bloom printanier où le microplancton, dans l'ensemble de la Baie, domine largement la communauté phytoplanctonique et l'absorption de l'azote.



Figure 8 : Contributions de l'ammonium (en gris foncé) et du nitrate (en gris clair) à la nutrition azotée du micro-, nano- et picoplancton.

Le microplancton utilise essentiellement de l'ammonium pour son développement à la fois dans les eaux marines (82% de l'azote utilisé) et dans les eaux du panache (93-94% de l'azote utilisé) (Fig. 8). C'est également le cas du nanoplancton (97% dans les eaux marines et 79-92% dans le panache). La majeure partie de l'azote utilisé par les bactéries (<1 μ m) est aussi sous la forme d'ammonium à la station 2 (79% de l'azote utilisé) et à la station 3 (88% de l'azote utilisé). Seules les bactéries à la station 1 utilisent l'ammonium et le nitrate dans les mêmes proportions (Fig. 8). La principale différence avec la situation observée au printemps concerne la nutrition du microplancton : elle est basée en période estivale essentiellement sur

l'ammonium alors qu'au printemps, elle s'appuie pour une large part sur le nitrate. Ce changement de nutrition est lié très probablement à l'augmentation des concentrations en ammonium. Contrairement au nano- et picoplancton, le microplancton modifie sa nutrition azotée en fonction des conditions environnementales et en particulier en fonction de la proportion d'ammonium présente dans le milieu.

4 - Conclusions

Le panache de la Seine en période estivale est fortement enrichi non seulement en nitrate mais aussi en ammonium. Le phytoplancton est peu abondant et est composé d'une forte proportion de petites cellules (flagellés). Une quantité importante de NID est néanmoins utilisée dans les eaux superficielles à la fois par le microplancton et par le nanoplancton en raison d'activités d'assimilation particulièrement élevées. L'ammonium constitue dans les différentes masses d'eaux du panache la source prioritaire d'azote absorbé, et ceci quelle que soit la classe de taille du phytoplancton. L'écosystème du panache de la Seine en période estivale semble être dominé par les processus hétérotrophes. La reminéralisation intense de la matière organique détritique alimente une production régénérée importante, basée sur l'ammonium, dans un environnement pourtant fortement enrichi en nitrate. Ceci est différent de la situation printanière où l'écosystème est caractérisé par une forte production autotrophe (diatomées) basée pour une large part sur l'utilisation du nitrate issu du fleuve.

5 - Bibliographie

Boyer J.N., Stanley D.W., Christian R.R. (1994). Dynamics of NH_4^+ and NO_3^- uptake in the water column of the Neuse River estuary, North Carolina. *Estuaries, 17, 2, 361-371.*

Carpenter E.J., Dunham S. (1985). Nitrogenous nutrient uptake , primary production and species composition of phytoplankton in the Carmans River estuary , Long Island, New York. *Limnol. Oceanogr.*, 30, 3, 513-526.

Colobert-Le Floch I. (2001). Absorption et régénération de l'azote dans les systèmes côtiers ; réponse à des apports massifs de nitrate. *Thèse de doctorat de spécialité (Chimie Marine), Université de Bretagne Occidentale, Brest, 219p.*

Dortch Q. (1990). The interaction between ammonium and nitrate uptake in phytoplankton. *Mar. Ecol.-Prog. Ser., 61, 183-201.*

Dugdale R.C., Goering J.J. (1967). Uptake of new and regenerated forms of nitrogen in primary productivity. *Limnol. Oceanogr.*, 12, 2, 196-206.

Furnas M.L. (1983). Nitrogen dynamics in the lower Narragansett Bay, Rhode Island. I-Uptake by size-fractionated phytoplankton populations. J. Plankt. Res., 5, 5, 657-676.

Guiraud G., Fardeau J.C. (1980). Détermination isotopique par spectrométrie optique de composés faiblement enrichis en azote-15. Analusis, 8, 4, 148-152.

Horrigan S.G., Montoya J.P., Nevins J.L., McCarthy J.J., Ducklow H., Goericke R., Malone T. (1990). Nitrogenous nutrient transformations in the spring and fall in the Chesapeake Bay. *Estuar. coast. Shelf Sci.*, 30, 369-391.

Koroleff F. (1970). Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. In : "Information on techniques and methods for seawater", Inter. Rep. Cons. Int. Explor. Mer, 3, 19-22.

L'Helguen S. (1999). Nutrition azotée du phytoplancton dans le panache de la Seine en période estivale. Rapport Convention IFREMER (Contrat N° 98 2 431415), Programme National d'Environnement Côtier, Chantier Baie de Seine, 15p.

L'Helguen S., Le Corre P. (1995). Etude des flux d'absorption des nitrates et de l'ammonium par le phytoplancton dans le panache de la Seine. Rapport Convention IFREMER (Contrat N° 94 2 43 2402), Programme National d'Océanographie Côtière, Thème Eutrophisation, 17p.

L'Helguen S., Madec C., Le Corre P. (1993). Nutrition azotée du phytoplancton dans les eaux brassées de la Manche Occidentale. *Oceanologica Acta, 16, 653-660*.

L'Helguen S., Madec C., Le Corre P. (1996). Nitrogen uptake in permanently well-mixed temperate coastal waters. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 42, 803-818.

Maguer J.-F., Le Corre P., Madec C. (1996). Variations saisonnières de l'absorption de l'azote dans un système brassé peu profond (Manche occidentale). Oceanologica Acta, 19, 529-537.

McCarthy J.J., Taylor W.R., Taft J.L. (1977). Nitrogenous nutrition of the plankton in the Chesapeake Bay. 1. Nutrient availability and phytoplankton preferences. *Limnol. Oceanogr.*, 22, 6, 996-1010.

Paasche E., Kristiansen S. (1982). Nitrogen nutrition of the phytoplankton in the Oslofjord. *Estuar. coast. Shelf Sci.*, 14, 237-249.

Pennock J.R. (1987). Temporal and spatial variability in phytoplankton ammonium and nitrate uptake in the Delaware Estuary. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 24, 841-857.

Tréguer P., Le Corre P. (1975). Manuel d'analyse des sels nitritifs dans l'eau de mer (utilisation de l'autoanalyseur II. Technicon), 2^{ème} édition. Université de Bretagne Occidentale, Brest, 110p.

Yentsch C.S., Menzel D.W. (1963). A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. *Deep-Sea Res.*, 10, 221-231.