

A. Chapelle  
F. Andrieux  
J. Fauchot  
J.F. Guillaud  
C. Labry  
M. Sourisseau  
R. Verney

Juin 2007

## Comprendre, Prédire et Agir sur les efflorescences toxiques

Jusqu'où peut-on aller aujourd'hui dans le cas d'*Alexandrium minutum* en Penzé ?



IFREMER Bibliothèque de BREST



OEL11909

# Comprendre, Prédire et Agir sur les efflorescences toxiques

## SOMMAIRE

Les méthodes d'étude employées :.....	1
1. Les blooms d' <i>Alexandrium</i> en Penzé : Ce que montrent les observations <i>in situ</i> .....	1
1.1 Historique des blooms dans les estuaires de Penzé et de Morlaix .....	2
1.2 Les facteurs favorisant les blooms.....	3
2. Le déterminisme de la croissance d' <i>Alexandrium</i> : Expérimentations <i>in vitro</i> .....	7
3. La modélisation d' <i>Alexandrium</i> en Penzé, ou comment intégrer l'ensemble des paramètres de contrôle de la croissance d' <i>Alexandrium</i> .....	8
4. L'approche statistique, une méthode prédictive des blooms d' <i>Alexandrium</i> .....	10
Conclusion – Perspectives .....	10
Littérature citée.....	11

## Comprendre, Prédire et Agir sur les efflorescences toxiques

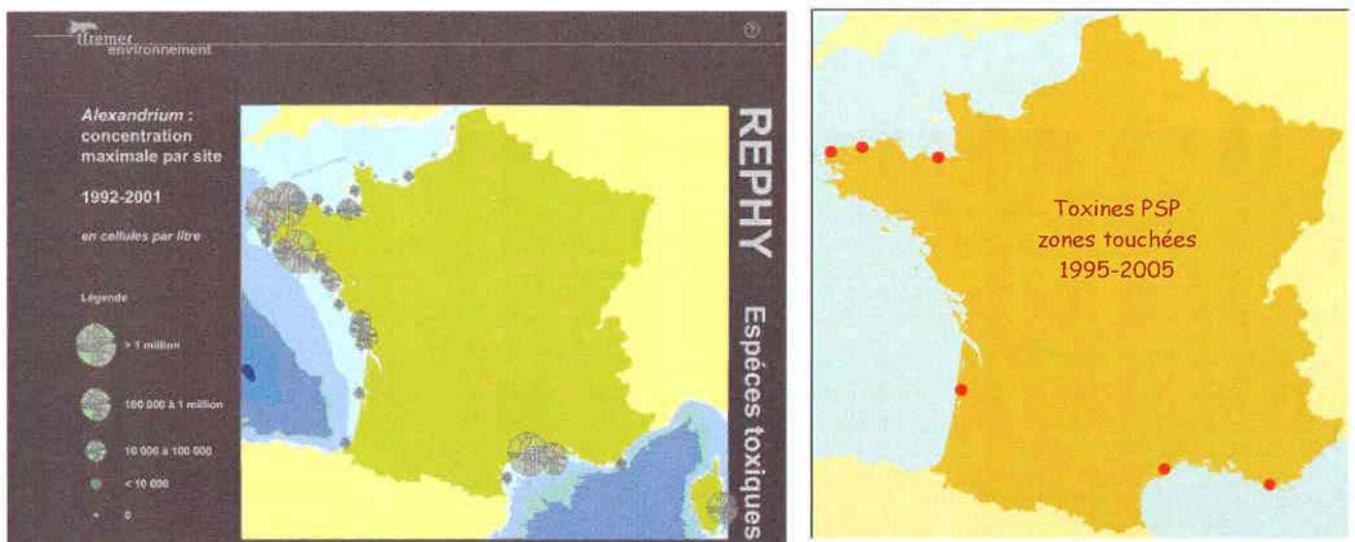
### Jusqu'où peut on aller aujourd'hui dans le cas d'*Alexandrium minutum* en Penzé ?

Quelles conclusions peut-on apporter sur la compréhension des efflorescences d'*Alexandrium* en Penzé aujourd'hui à la suite des différentes études menées ? Quelles sont les perspectives pour une gestion de ces efflorescences ?

#### Les méthodes d'étude employées :

- Les études *in situ* pour connaître l'environnement favorable aux blooms d'*Alexandrium* et les caractéristiques des blooms (échelle spatiale et temporelle, aspect quantitatif, espèces associées, toxicité).
- Les études *in vitro* après prélèvement, isolement et mise en culture d'*Alexandrium* pour appréhender ses caractéristiques physiologiques et cerner quelles sont les situations les plus favorables pour la croissance de l'algue.
- La modélisation numérique de l'algue, méthode basée sur la connaissance des processus qui régissent le fonctionnement de l'espèce au sein de l'écosystème. Elle permet de simuler les phases de croissance algale (qui cause le bloom) et de déclin (fin du bloom) en fonction de paramètres environnementaux (modèle 0D appliqué aux cultures et modèle 3D appliqué à l'environnement Penzé). Cette méthode, une fois validée doit permettre également de tester l'impact de modifications virtuelles appliquées à l'écosystème sur les efflorescences d'*Alexandrium*.
- L'approche empirique statistique qui permet de faire des liens entre facteurs du milieu et apparition ou maximum du bloom. Cette démarche s'appuie sur les données du milieu et permet de regrouper et de hiérarchiser les facteurs environnementaux liés aux blooms d'*Alexandrium*. Elle permet d'aboutir à la définition de périodes à risque et d'envisager à la suite la mise en place d'un système d'alerte pour la gestion des efflorescences toxiques.

#### 1. Les blooms d'*Alexandrium* en Penzé : Ce que montrent les observations *in situ*



Les blooms toxiques d'*Alexandrium* sont relativement récents en France puisqu'ils n'apparaissent que depuis les années 80. On peut remarquer que la présence d'*Alexandrium* n'est pas synonyme de toxicité dans les coquillages d'après les 2 cartes de la figure 1. Ceci est en partie dû au fait que toutes les espèces d'*Alexandrium* ne sont pas forcément toxiques (seules sont toxiques *A. minutum*, *A. tamarense / catenella* et *A. ostenfeldii*). Le degré de toxicité peut être différent d'une espèce à l'autre ou même au sein d'une même espèce pour des souches différentes.

Plusieurs zones en France sont actuellement régulièrement touchées par des développements d'espèces toxiques d'*Alexandrium*. Dans les zones de Bretagne nord et en rade de Toulon (Provence-Côte d'Azur) il s'agit de souches différentes d'*Alexandrium minutum*. Dans l'étang de Thau (Languedoc-Roussillon), il s'agit d'*Alexandrium catenella*.



Table 1 : répartition des événements toxiques PSP selon les sites pendant la période 2000 - 2005 (tableau Rephy)

Les développements de ces espèces sont observés en fin de printemps et en été en Bretagne, et principalement l'automne en Méditerranée. Cette reproductibilité des périodes à risque selon les régions pourrait elle être reliée aux variables environnementales ? C'est l'objet de nos recherches.

### 1.1 Historique des blooms dans les estuaires de Penzé et de Morlaix

La comparaison entre les concentrations en *Alexandrium* dans l'eau et les risques de toxicité montre qu'il semble exister un seuil pour lequel les coquillages deviennent toxiques ; il se situe à des concentrations en cellules qui dépassent un million de cellules par litre, que ce soit dans la Penzé ou dans l'estuaire de Morlaix. Ce seuil de biomasse nécessaire peut s'expliquer par la conjonction entre toxicité cellulaire et durée de contact entre le bloom d'*Alexandrium* et les zones conchylicoles, durée qui est fortement liée au mouvement des masses d'eau dû à la marée et donc fortement dépendante du site. Les événements toxiques, fréquents dans les années 90 sont de plus en plus rares et semblent même avoir disparu en estuaire de Morlaix (figure 2). Quels pourraient être les facteurs qui expliquent une telle tendance ?

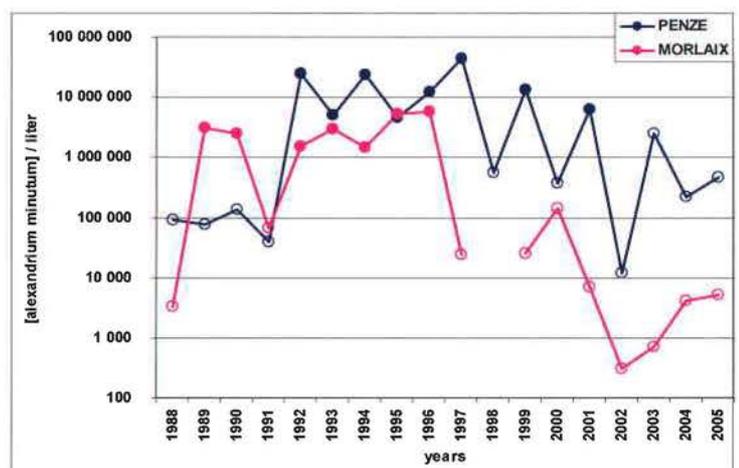


Figure 2 : Concentrations en *Alexandrium* et toxicité (points pleins) en estuaire de Penzé et en baie de Morlaix shellfish

## 1.2 Les facteurs favorisant les blooms

(1) Les efflorescences d'*Alexandrium minutum* sont des événements incertains, fugaces. La durée du maximum du bloom n'excède pas 10 jours (figure 3). Les blooms sont localisés dans l'estuaire de Penzé, de préférence dans des eaux de salinité entre 26 et 29 et sont transportés entre l'amont et l'aval avec la marée (figure 4).

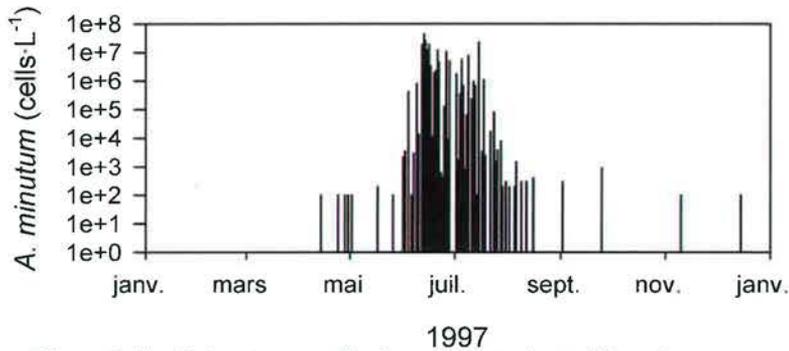


Figure 3: Evolution temporelle des concentrations d'*A. minutum* en Penzé durant l'année 1997.

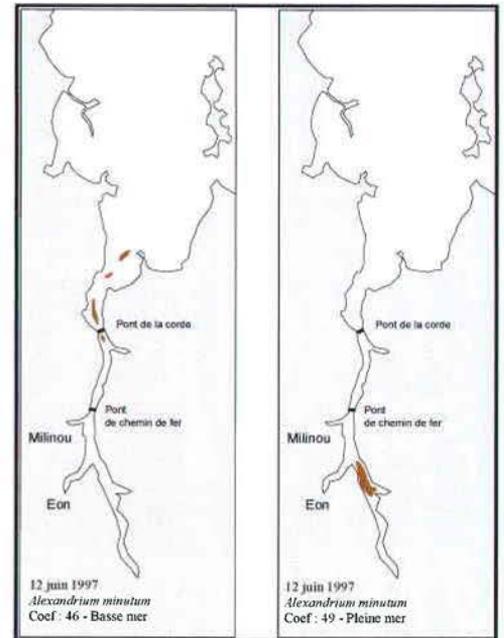


Figure 4 : Localisation des efflorescences d'*Alexandrium* dans l'estuaire de Penzé en fonction de la marée

*A. minutum* n'est quasiment jamais monospécifique et n'est pas forcément dominante en terme de biomasse phytoplanctonique (figure 5). Si elle a atteint 97 % de la biomasse de phytoplancton en 1997 son abondance reste en général entre 28 % et 72 % les autres années.

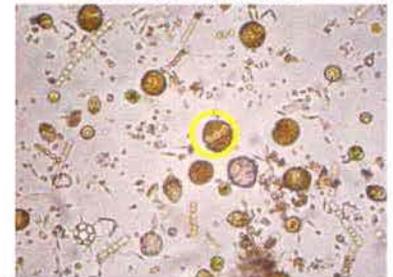


Figure 5 : Echantillon d'eau prélevé en Penzé. Dans le cercle, *Alexandrium*

(2) La fenêtre d'occurrence des efflorescences d'*A. minutum* en Penzé est limitée de mai à juillet.

Dans cette fenêtre temporelle, pour observer une efflorescence supérieure à 1 million de cellules il faut avoir :

- une température > 15°C
- des débits de la Penzé < 2 m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>
- des conditions de mortes eaux avec coefficient inférieur à 60 ou de petites vives eaux (coefficient inférieur à 80).

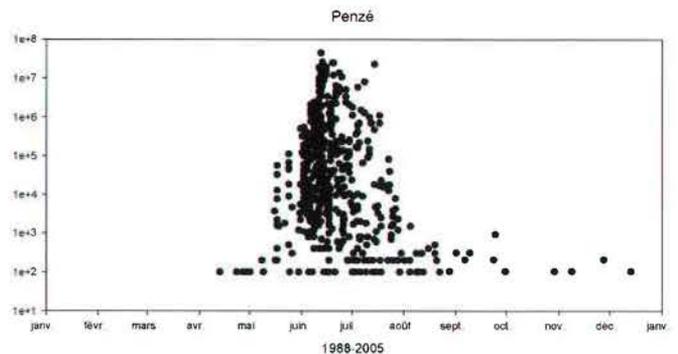


Figure 6 : Distribution des concentrations en *Alexandrium* toutes années confondues

Ces trois conditions réunies permettent d'expliquer la présence ou l'absence de blooms toxiques 12 années sur 14 (de 1994 à 2006) avec seulement 2 années (2004 et 2005) qui n'ont pas présenté de blooms alors que les conditions étaient réunies.

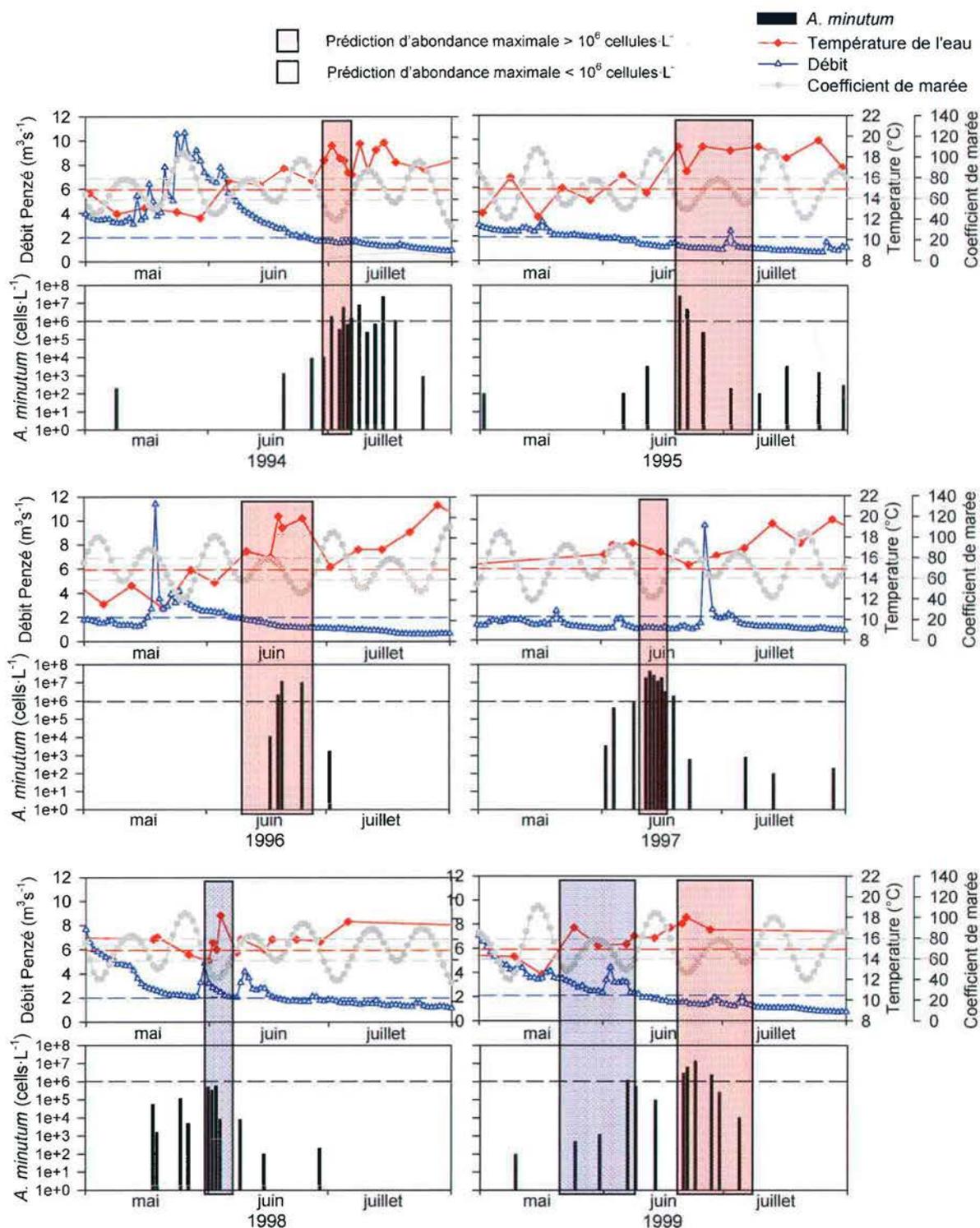
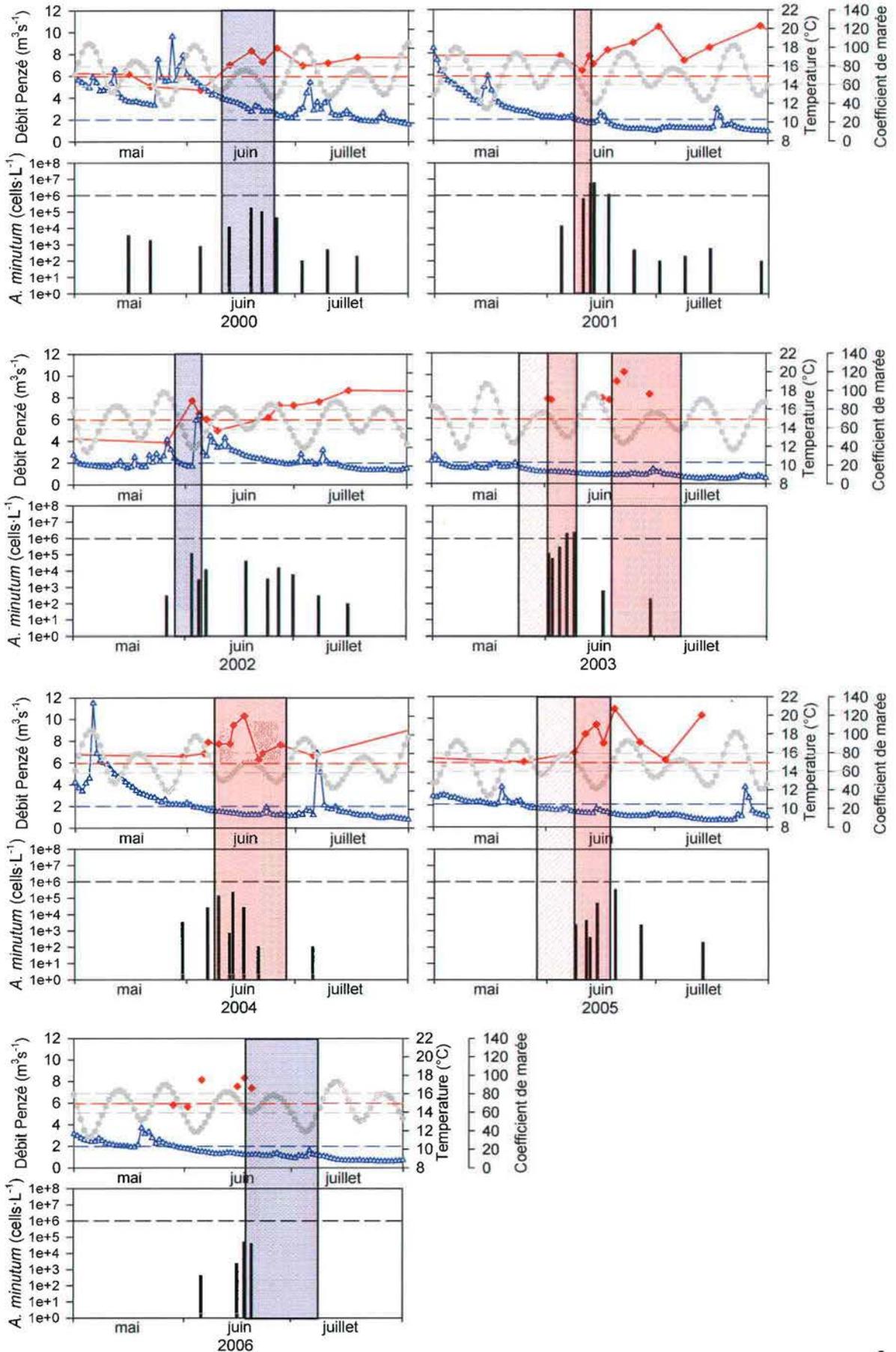


Figure 7 : Prédiction des périodes de risque d'apparition de toxicité (concentration supérieure à 1M cell/l) en fonction de la marée, du débit de la Penzé et de la température de l'eau. Si les conditions de température ( $>15^{\circ}C$ ), de débit ( $<2 m^3 \cdot s^{-1}$ ) et de marée (VE $<80$  ou ME $<60$ ) sont réunies, la période présente alors un risque de bloom avec toxicité (en rouge). Si une des conditions n'est pas présente, la période pourra présenter des blooms mais la concentration d'*Alexandrium* devrait rester sous le seuil de 1 million de cellules par litre.

Période de risque de toxicité en Penzé

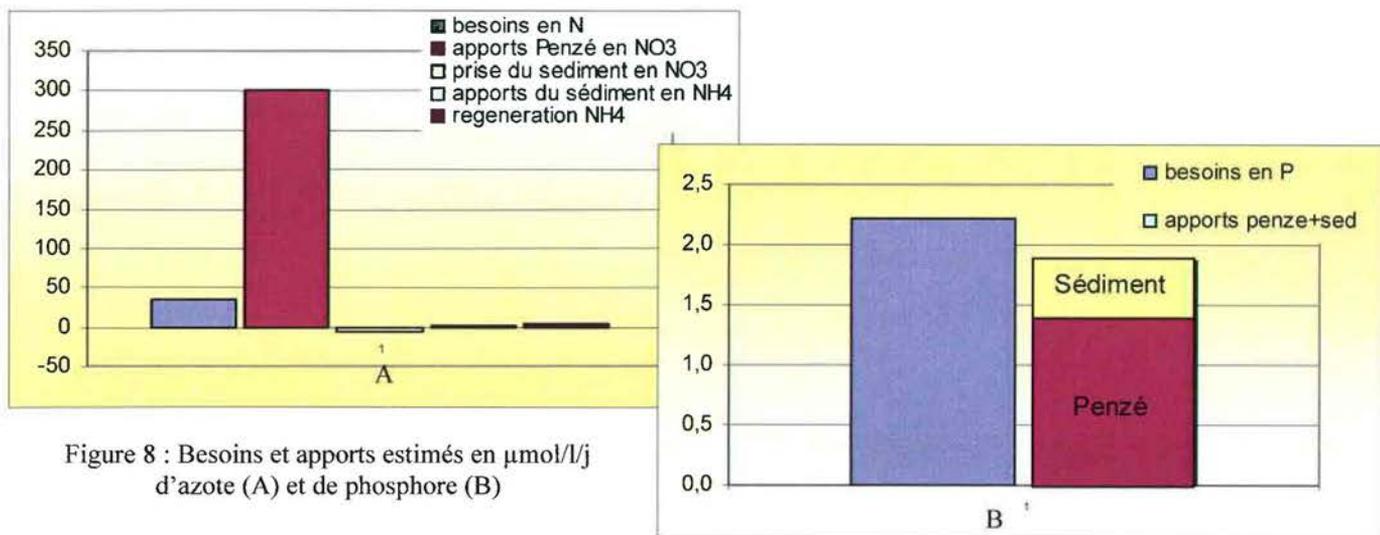
- *A. minutum*
- Température de l'eau
- ▲ Débit
- Coefficient de marée



Si, comme le montre la figure 7 la température, le débit et la marée sont des conditions nécessaires pour avoir une efflorescence toxique, il faut rechercher d'autres explications sur l'absence d'efflorescence en 2005 et 2006. Le rôle du vent n'a par exemple pas été pris en compte dans l'examen des facteurs physiques...

Nota : Ces mêmes conditions nécessaires sont retrouvées sur le site de la baie de Cork où prolifère *Alexandrium*, responsable d'évènements PSP en Irlande.

(3) Les éléments nutritifs (azote et phosphore) sont ils en quantité suffisante pour soutenir les efflorescences d'*Alexandrium*? En ce qui concerne l'azote, les apports de la rivière Penzé sont conséquents (la rivière Penzé atteint les 50 mg/l de nitrate) et largement excédentaires aux besoins d'*Alexandrium* (figure 8). En ce qui concerne le phosphate, la situation est plus complexe. En effet, les apports de la rivière sont fortement déséquilibrés (rapport molaire N/P supérieur à 100 au lieu de 16). En 1999, lorsque le bloom d'*Alexandrium* a atteint 33M cellules/l, les apports en phosphore de la rivière n'étaient pas suffisants pour soutenir un tel bloom (sans compter les besoins en phosphore des autres algues phytoplanctoniques). Or les mesures dans l'eau de Penzé n'ont pas montré de baisse des concentrations en phosphate (Maguer *et al*, 2004). D'autres sources de phosphore ont pris le relais, comme les sédiments. Une estimation des flux sédimentaires a montré qu'ils pouvaient être aussi importants que ceux de la Penzé (Andrieux *et al*. soumis) mais aussi très variables en fonction de la saison, de la localisation dans l'estuaire et à l'échelle tidale. Ces flux mesurés correspondent à des flux diffusifs et représentent généralement un seuil minimal du flux réel (notamment la bioturbation n'est pas prise en compte). D'autres sources peu quantifiées peuvent aussi contribuer aux besoins du phytoplancton, comme la minéralisation du phosphore organique ou la désorption du phosphore particulaire apporté par la Penzé ou remis en suspension à partir du fond. Ces sources ne sont pas estimées.



(4) les kystes représentent la phase de dormance du cycle d'*Alexandrium*. On les trouve dans les sédiments en amont et en aval de l'estuaire de Penzé. La germination des kystes est liée à la température (supérieure à  $16^{\circ}\text{C}$ ) et présente aussi un facteur de saisonnalité (avec un maximum de germination au printemps et une inhibition en été). Ils sont à l'origine des cellules végétatives que l'on trouve dans l'eau mais c'est la croissance végétative (multiplication cellulaire) qui est ensuite à l'origine de la formation des efflorescences. Ils contribuent certainement à l'initiation des blooms mais ne semblent pas impliqués dans l'ampleur des efflorescences.

## 2. Le déterminisme de la croissance d'*Alexandrium* : Expérimentations *in vitro*

Les études physiologiques d'*A. minutum* ont montré une faible compétitivité par rapport aux autres algues du fait de son taux de croissance peu élevé mais une adaptation meilleure au stockage de phosphore qui lui confère une compétitivité plus forte en situation carencée en phosphore.

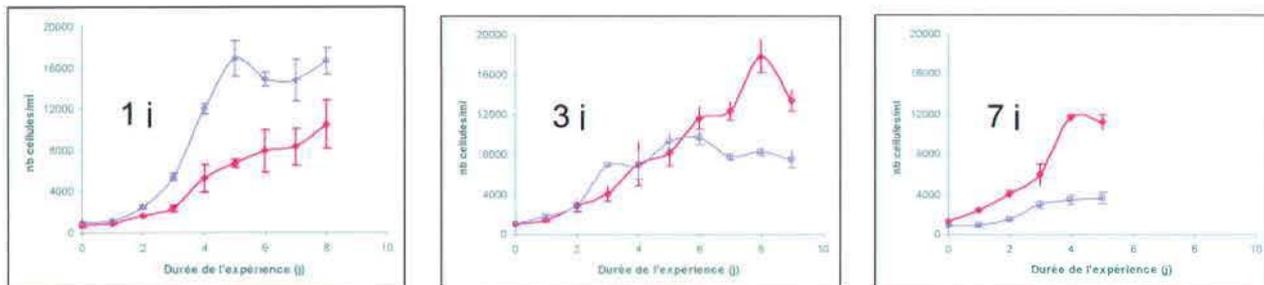


Figure 9: Compétition *Alexandrium* (rose) / *Heterocapsa* (bleu) en condition carencée en phosphore avec apport de phosphore au bout de 1j, 3j, 7j. *Alexandrium* devient dominante sur *Heterocapsa* à partir de 3 jours de carence (Labry et al. 2006)

*Alexandrium* présente également une forte affinité pour l'azote, et comme pour le phosphore, elle est plus compétitive que d'autres algues en situation carencée en azote, ce qui n'est de toute façon pas le cas en Penzé. *Alexandrium* préfère l'ammonium comme source d'azote, la présence d'ammonium ayant un effet inhibiteur pouvant réduire jusqu'à 90 % la prise de nitrate ; une fois l'ammonium consommé, *Alexandrium* continue de pousser sur les stocks de nitrate.

*Alexandrium* ne croit pas aux faibles intensités lumineuses ( $10\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ ) et présente une légère photoinhibition pour les forts éclaircements ( $>450\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ ).

La croissance d'*Alexandrium* est optimale pour une température comprise entre  $16^\circ\text{C}$  et  $20^\circ\text{C}$  et quasiment nulle pour des températures inférieures à  $10^\circ\text{C}$  et supérieures à  $22^\circ\text{C}$ .

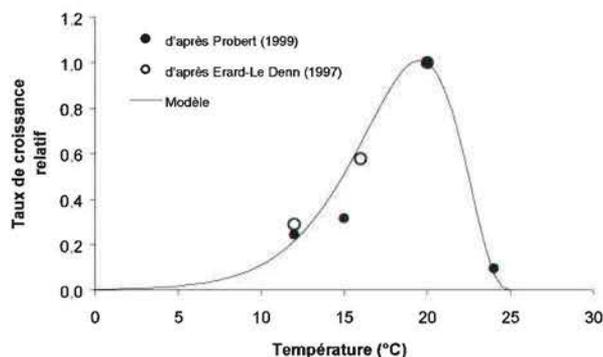


Figure 10 : Taux de croissance relatif d'*Alexandrium* en fonction de la température

Si *Alexandrium* se trouve dans le milieu en plus forte concentration dans des eaux de salinité 26-29, les expérimentations ont montré que l'algue ne montre aucune préférence au paramètre salinité. Celui-ci doit donc être considéré dans le milieu comme un simple marqueur et non comme un paramètre de contrôle.

Les différentes expérimentations *in vitro* ont permis de comprendre la physiologie de l'algue mais aussi de paramétrer l'assimilation des sels nutritifs et la croissance en fonction de la température et de la lumière. Ces paramètres servent ensuite à modéliser la croissance d'*Alexandrium*.

Paramètres	Valeurs	Unités
Taux de croissance max à 20°C	0,64	/j
Quota max en azote	27	pmol/cell
Quota min en azote	4,08	pmol/cell
Quota max en phosphore	48	pg/cell
Quota min en phosphore	6,5	pg/cell
Cte de demi-saturation pour le nitrate	0,22 – 0,27	mmol/m3
Cte de demi-saturation pour l'ammonium	0,25 – 0,37	mmol/m3
Cte de demi-saturation pour le phosphore	0,28 – 1,62	mmol/m3
Vitesse max d'assimilation du nitrate	0,156	/h
Vitesse max d'assimilation de l'ammonium	0,071	/h
Vitesse max d'assimilation du phosphore	0,24	/h
Inhibition max de la prise de nitrate par l'ammonium	0,94	sd
Cte de demi-saturation pour l'inhibition	0,26 – 4,16	mmol/m3

Table 2 : Paramètres de contrôle de la croissance d'*Alexandrium* déterminés *in vitro*

### 3. La modélisation d'*Alexandrium* en Penzé, ou comment intégrer l'ensemble des paramètres de contrôle de la croissance d'*Alexandrium*

Développée à partir d'expérimentations *in vitro*, la modélisation écophysologique d'*Alexandrium* permet d'expliquer la variabilité de la croissance de l'algue en fonction de différents paramètres environnementaux. Aujourd'hui on sait simuler la croissance d'*A. minutum* en fonction de la lumière, de la température, de l'azote et du phosphore en milieu contrôlé (culture).

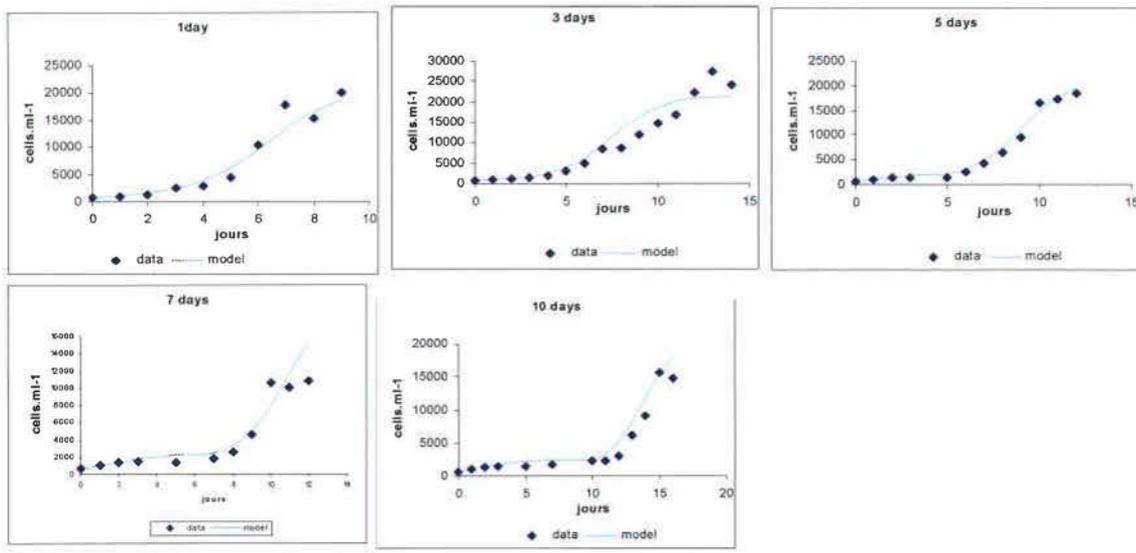


Figure 10 : Evolution de la croissance d'*Alexandrium* en fonction de différentes carences en phosphore (apport de P après 1j, 3j, 5j, 7j, 10j de carence). Modèle (-) et données (●)

En milieu naturel, la modélisation de l'algue *Alexandrium* est plus complexe. Elle nécessite d'abord la mise au point d'un modèle environnemental qui simule courants, MES et sels nutritifs en prenant en compte les apports de la rivière Penzé et les échanges avec la mer ouverte.

La simulation d'un système estuarien soumis à la marée comme la Penzé impose de représenter les 3 dimensions (variabilité dans le plan horizontal et sur la profondeur du fait de la stratification). Le chenal de l'estuaire étant petit, les mailles du modèle sont également réduites ce qui fait un modèle complexe avec un grand nombre de mailles dont beaucoup découvrent avec la marée ce qui entraîne un temps de calcul assez long (1jour pour 1 mois).

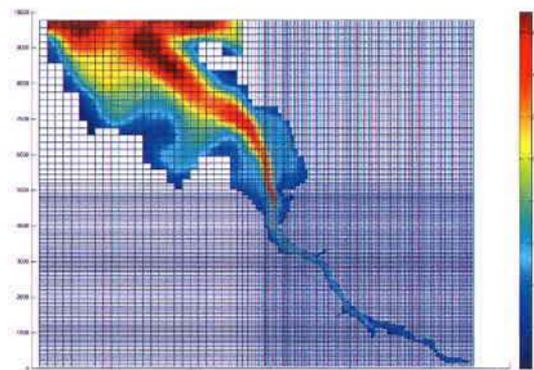


Figure 11 : Grille de modélisation et bathymétrie de l'estuaire de la Penzé

Outre la complexité de la méthode appliquée à un petit estuaire, la modélisation environnementale a souvent été utilisée pour simuler des signaux de biomasse, c'est-à-dire le lien entre biomasse algale (phytoplanctonique ou macro-algues) et apports de sels nutritifs. Cette méthode a apporté de bons résultats pour simuler la production primaire globale et ses dérèglements comme l'eutrophisation, liant les apports du bassin versant à la biomasse végétale côtière (Ménèsquen et Piriou, 1995 ; Cugier *et al.*, 2005) ainsi que l'apparition de certaines classes de phytoplancton (ditomées versus dinoflagellés).

En ce qui concerne les efflorescences d'*Alexandrium*, comme nous l'avons rappelé dans le chapitre 1.2, il s'agit d'une espèce particulière du milieu qui se développe dans une fenêtre temporelle de l'ordre de la semaine et qui est rarement dominante en termes de biomasse phytoplanctonique (elle n'a représenté 97 % de la biomasse cellulaire qu'en 1997). On ne peut donc établir de lien direct entre les sels nutritifs présents et la biomasse de cette seule espèce d'algue du fait d'une connaissance insuffisante de la physiologie de l'ensemble de la communauté phytoplanctonique. Les options de modélisation choisies, tirées des modèles d'eutrophisation, ne sont donc pas applicables facilement et directement pour étudier une espèce parmi d'autres ayant une physiologie voisine. Les études menées sur Penzé nous ont bien fait prendre conscience de cette difficulté.

Aujourd'hui, un modèle hydrosédimentaire 3D est validé sur l'estuaire de Penzé avec des mailles de 50 m et 10 niveaux. Il permet de simuler l'environnement physique et de sortir des indicateurs synthétiques tels que stratification ou dilution lors des blooms d'*Alexandrium*.

Un modèle des cycles de l'azote, du phosphore dans l'eau et le sédiment (mais simplifié) permet de simuler la croissance des diatomées et des dinoflagellés sur l'année. Il est en cours de validation. Il permettra de sortir des paramètres synthétiques comme les limitations en azote, phosphore, lumière et température. Le modèle spécifique d'*Alexandrium* est en cours de couplage.

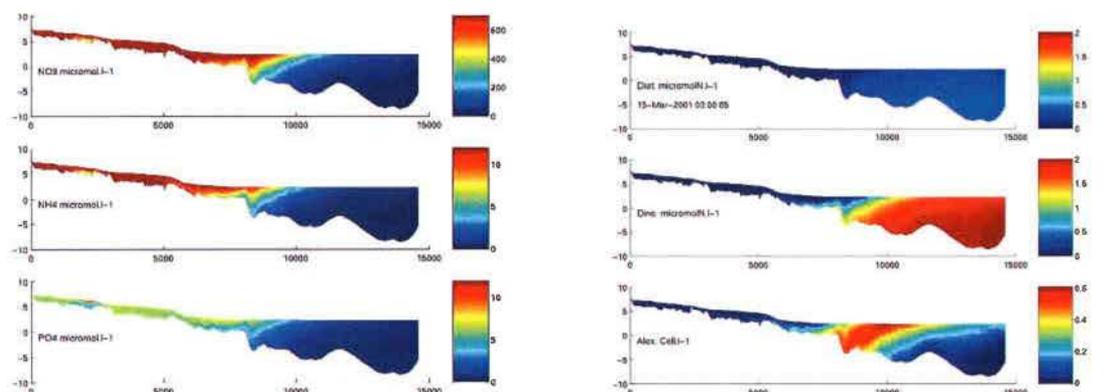


Figure 12 : Concentrations simulées en sels nutritifs (nitrate, ammonium et phosphate) ainsi qu'en phytoplancton (diatomées, dinoflagellés et *Alexandrium*) sur une coupe verticale de l'estuaire suivant le chenal.

#### 4. L'approche statistique, une méthode prédictive des blooms d'*Alexandrium*

Parallèlement à la démarche de modélisation prédictive, une autre méthode d'étude explicative et prédictive des efflorescences d'*Alexandrium* fait appel à l'analyse statistique. Il s'agit de déterminer quels facteurs environnementaux contrôlent le développement des efflorescences d'*Alexandrium minutum* dans l'estuaire de la Penzé en effectuant une analyse approfondie sur plusieurs années des données d'abondance d'*Alexandrium*, ainsi que des données disponibles sur les conditions environnementales de l'écosystème considéré (programme Icrew, RePHY, météorologie, modèles). Cette technique permet d'expliquer et de prédire un événement (ex : une efflorescence toxique) à l'aide de variables prédictives (ex : les paramètres environnementaux). La première étape de cette méthode consiste à créer une base de données qui comprend deux groupes : le groupe des semaines avec efflorescence toxique et le groupe des semaines sans efflorescence toxique. Toutes les données disponibles concernant les efflorescences d'*A. minutum* en Penzé depuis 1988 ont donc été compilées : abondance d'*A. minutum*, mais aussi différents paramètres environnementaux (température, salinité, marées, débit de rivière, vent, lumière, composition de la communauté phytoplanctonique). Ces données ont ensuite été triées selon des critères précis pour obtenir une base de données aussi homogène que possible. L'analyse discriminante linéaire permet ensuite d'étudier le potentiel prédictif des différents paramètres environnementaux considérés et de déterminer la fonction discriminante la plus efficace, c'est-à-dire qui prédit le mieux si une semaine appartient au groupe avec ou sans efflorescence toxique. Les résultats de cette analyse statistique nous conduiront à définir des indicateurs environnementaux permettant de prédire les périodes de risque d'efflorescence toxique d'*Alexandrium minutum* dans l'estuaire de la Penzé chaque année. Ces études statistiques sont menées dans le cadre du projet européen Interreg FINAL (en collaboration avec l'Irlande et l'Ecosse qui ont les mêmes événements à *Alexandrium*).

Une telle approche sera généralisée aux efflorescences d'*Alexandrium* sur la Bretagne nord (Rance, Morlaix et abers bretons) et peut être à l'Irlande.

### Conclusion – Perspectives

Au vu des résultats acquis on ne peut pas à l'heure actuelle établir un lien direct entre réduction des apports en phosphore du bassin versant et diminution du risque *Alexandrium* :

- dans l'estuaire de Penzé, les stocks sédimentaires de phosphore disponible sont élevés et contrebalanceraient à moyen terme la diminution des apports de la rivière ;
- il a été montré en culture la meilleure adaptation d'*Alexandrium* à une carence en phosphore, et d'autre part il a été montré un plus fort niveau de toxicité cellulaire d'*A. minutum* en condition de limitation en P (Bechemin et al, 1999) ;
- on ne sait pas dans quelle mesure des conditions plus sévères de limitation en P pourraient être favorables au développement d'autres espèces toxiques. L'exemple de la lagune de Thau qui souffre fortement de blooms toxiques d'*Alexandrium catenella* est notable : l'effort de réduction des rejets de phosphore dans la lagune de Thau pour des raisons d'eutrophisation (crises anoxiques) n'a pas eu d'effet bénéfiques sur les blooms toxiques d'*Alexandrium* (l'effet inverse n'est pas établi non plus).

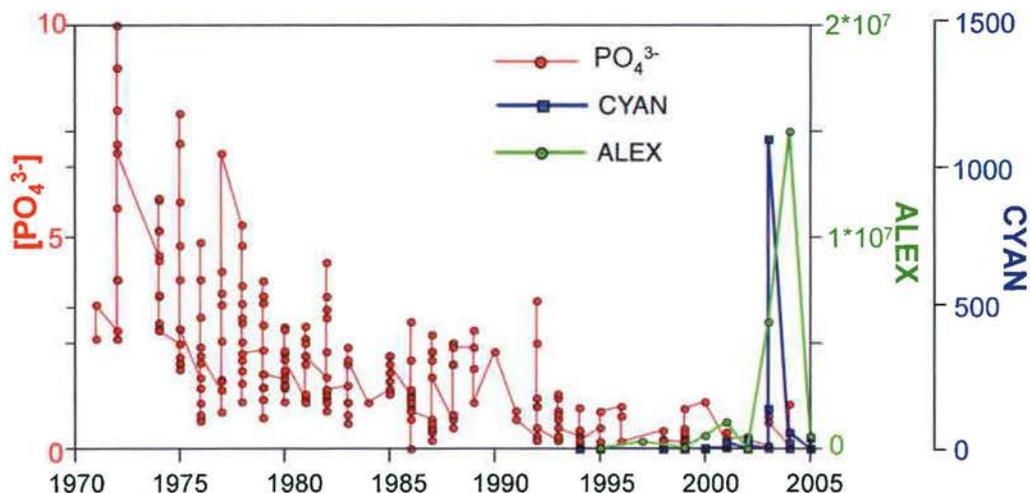


Figure 13 : Concentrations en phosphates, Alexandrium et cyanobactéries dans la lagune de Thau

On cherche donc plutôt actuellement à prévoir les périodes de crises et développer des méthodes plus fines de détection (mise au point de sondes moléculaires) et d'évaluation de l'ampleur des blooms (étendue, durée, quantité), tout en continuant à étudier les mécanismes de toxicité.

En terme d'échéances, trois rapports sont prévus dans le cadre du projet Interreg Final :

- fin décembre 2007 un modèle d'indicateurs environnementaux pour la Penzé liés aux risques d'apparition d'Alexandrium
- fin décembre 2007, un modèle 3D couplé aux cycles de l'azote et du phosphore et au phytoplancton + Alexandrium
- fin juin 2008 un modèle statistique global pour la Bretagne Nord

## Littérature citée

Andrieux-Loyer, F., Philippon, X., Bally, G., Kérouel, R., Youenou, A., Le Grand, J. Phosphorus dynamics and bioavailability in sediments of the Penzé estuary (NW France) in relation to annual P-fluxes and occurrences of *Alexandrium minutum*. Soumis à Biogeochemistry.

Labry C, Erard-Le Denn E, Chapelle A, Youenou A, Crassous MP, Martin-Jézequel V, Le Grand J, 2004. Etude écophysiological et paramétrisation du rôle du phosphore sur la croissance d'*Alexandrium minutum*, espèce responsable d'eaux colorées toxiques en estuaire de Penzé, et de son principal compétiteur *Heterocapsa triquetra*. Rapport PNEC ART3 2003-2004.

Maguer J.F., Wafar M., Madec C., Morin P., Denn, EE, 2004. Nitrogen and phosphorus requirements of an *Alexandrium minutum* bloom in the Penze Estuary, France. *Limnology and Oceanography*, 49, 1108-1114.

Ménesguen A., Piriou J.Y., 1995. Nitrogen loadings and macroalgal (*Ulva* sp.) mass accumulation in Brittany (France). *Ophelia*, 42, 227-237.

Cugier P., Billen G., Guillaud J.F., Garnier J., Menesguen A. 2005. Modelling the eutrophication of the Seine Bight (France) under historical, present and future riverine nutrient loading. *Journal of Hydrology (Amsterdam)*, 304, 381-396.

Bechemin C., Grzebyk D., Hachame F., Hummert C., Maestrini S.Y., 1999. Effect of different nitrogen/phosphorus nutrient ratios on the toxin content in *Alexandrium minutum*. *Aquatic Microbial Ecology*, 20, 157-165.