

45962

Ifremer  
Centre de Brest

# PHOTOSYNTHESE ET NUTRITION CARBONNEE CHEZ ULVA SP.

par

PÍRIOU Jean-Yves (1) et DUVAL Valérie (2)

IFREMER-DERO/EL



0EL03820

(1) IFREMER-Centre de Brest

(2) Etudiante en MST "Pollutions et Nuisances"

Faculté des Sciences de Pau

Stagiaire au CEVA-Pleubian.

F24

Expérience réalisées au laboratoire d'écrophysiologie végétale marine du CEVA-Pleubian en juin et juillet 1989.

IFREMER - Centre de Brest  
Service Documentation Publication  
B.P. 70  
29280 PLOUZANE  
Tél : 98.22.40.40  
Télex 940 627

DIRECTION DES RECHERCHES OCEANIQUES  
DEPARTEMENT ENVIRONNEMENT LITTORAL

<b>AUTEUR (S) :</b> PIRIOU Jean-Yves DUVAL Valérie	<b>CODE :</b>  N° DRO.EL-90.31
<b>TITRE :</b>  PHOTOSYNTHESE ET NUTRITION CARBONNEE CHEZ ULVA SP.	<b>Date :</b> 1990 <b>Nb tirages :</b> 15 <hr/> <b>Nb pages :</b> <b>Nb figures :</b> <b>Nb photos :</b> 0
<b>CONTRAT (intitulé) :</b>  N° _____	<b>DIFFUSION :</b>  libre <input type="checkbox"/> Restreinte <input type="checkbox"/> Confidentielle <input type="checkbox"/>

### RESUME :

Des expériences de cultures d'Ulva sp. en laboratoire montrent que la croissance des algues s'arrête brusquement à un certain stade. Des mesures simultanées de différents éléments dans l'eau laissent supposer que plusieurs facteurs pourraient intervenir dans la limitation de la croissance.

D'autres expériences montrent que ni la saturation en oxygène ni le pH élevé n'interviennent. Le déficit en carbone pourrait avoir ponctuellement un effet, ajouté au déficit en azote et à la dégradation des pigments chlorophylliens.

### ABSTRACT :

Laboratory experiments have been conducted in order to examine the growth of Ulva sp. Results show that growth suddenly stops at a precise moment. Collectively, the results of simultaneously analysis of culture media constituents demonstrate that several components may alter the growth process of Ulva sp. Based on the culture experiments, we argue that the growth responses of Ulva sp. are unaffected by pH or oxygen concentrations, but field plants of Ulva sp. are likely to be punctually limited in growth by carbon (DIC) depletion, together with nitrogen limitation and pigments degradation.

**Mots-clés :** Ulva, carbone, azote, limitation.

**Key-words :** Ulva, carbon, nitrogen, limitation.

# SOMMAIRE

## INDRODUCTION

### 1. GENERALITES

- 1.1. Composition de l'eau de mer à l'équilibre
- 1.2. Effets de la nutrition carbonnée des macrophytes

### 2. METHODOLOGIES D'ANALYSE ET DE CALCUL

- 2.1. Alcalinité totale
  - 2.1.1. Echantillonnage
  - 2.1.2. Appareillage
  - 2.1.3. Mode opératoire
    - 2.1.3.1. Mesure du pH
    - 2.1.3.2. Mesure de l'alcalinité totale
  - 2.1.4. Calculs
    - 2.1.4.1. PH
    - 2.1.4.2. Alcalinité totale
    - 2.1.4.3. Alcalinité due aux carbonates
    - 2.1.4.4. Calculs de  $\text{HCO}_3^-$  et  $\text{CO}_3^{2-}$
- 2.2.  $\text{CO}_2$  total et  $\text{CO}_2$  dissous initial

### 3. ESSAIS TECHNIQUE DE MISE AU POINT

### 4. EXPERIMENTATIONS EN MILIEU FERME

- 4.1. Protocole
- 4.2. Résultats de la première manipulation
- 4.3. Résultats de la deuxième manipulation

### 5. EXPERIMENTATION PAR BULLAGE DE GAZ

- 5.1. Bullage de gaz carbonique
  - 5.1.1. Principe
  - 5.1.2. Essai
- 5.2. Bullage d'azote gazeux

### 6. MESURES IN SITU (BAIE DE SAINT-BRIEUC).

- 6.1. Principe
- 6.2. Interprétations.

## CONCLUSION

## BIBLIOGRAPHIE

# PHOTOSYNTHESE ET NUTRITION CARBONEE CHEZ ULVA SP.

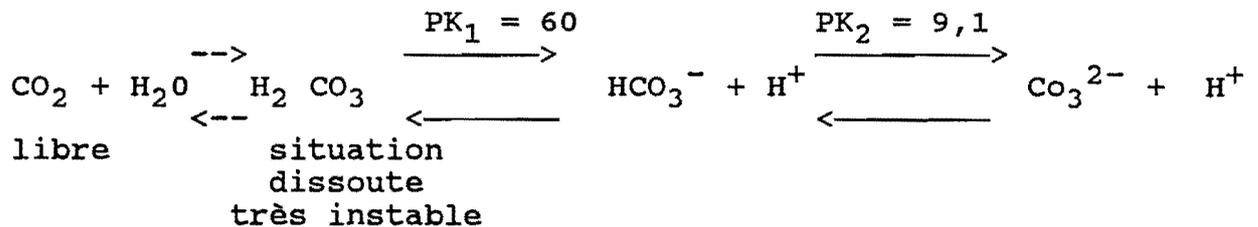
Les recherches réalisées par L'IFREMER et le CEVA de Pleubian dans le but d'identifier les causes de la marée verte à Ulva en baie de Saint-Brieuc, on montré, entre autres, que la croissance des ulves s'arrête chaque année en fin juin ou début juillet.

Le but de la présente étude est de déterminer si le carbone peut être ou non un facteur limitant dans la croissance estivale des ulves, ainsi que d'évaluer l'influence de la saturation en oxygène sur la photosynthèse.

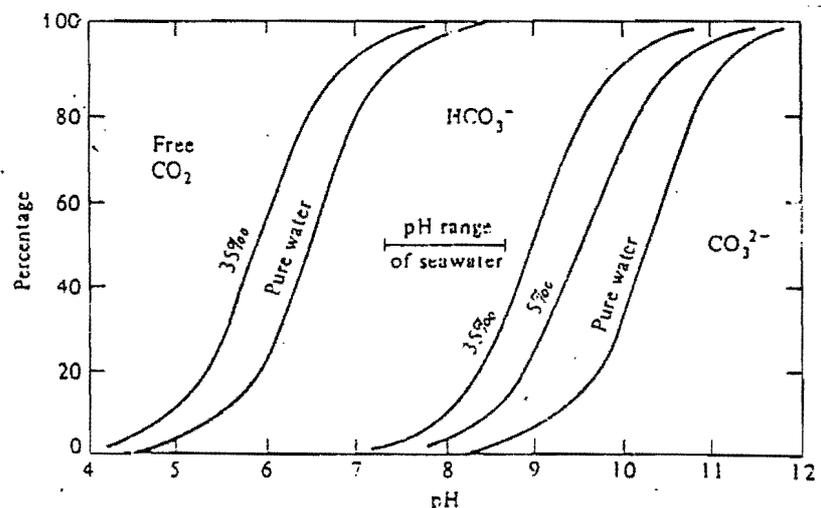
## 1. GENERALITES

### 1.1. COMPOSITION DE L'EAU DE MER A L'EQUILIBRE :

L'eau marine, en l'absence d'algues, établit elle-même son équilibre entre les éléments carbonés (LOBBAN, 1985).



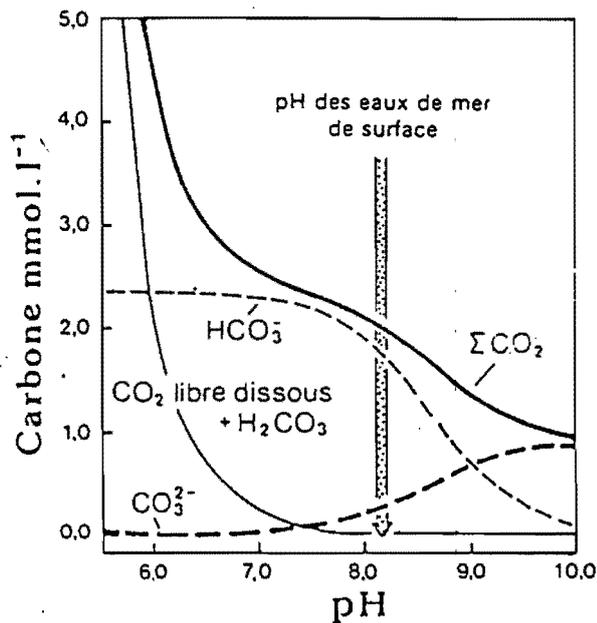
La salinité intervient légèrement sur le déplacement de l'équilibre des éléments carbonés inorganiques.



(LOBBAN, 1985)

La température influence aussi faiblement cet équilibre (KALLE, 1972).

Tout changement dans les concentrations en éléments carbonés influence le pH, comme toute variation forcée du pH (rajout d'acide par exemple) modifie la composition du milieu en éléments carbonés.



Dans une eau de mer normale à pH8 et salinité 35 ‰, le carbone inorganique est formé à 90 % d'HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Il existe alors peu de CO<sub>2</sub> libre et très peu de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Les valeurs absolues sont d'environ 2 mmol/litre de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 10 μmol/litre de CO<sub>2</sub>, 0,15 mmol/litre de CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> et 0,02 μmol/litre de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

La somme des composés inorganiques (Σ CO<sub>2</sub> ou Σ Ci) est variable suivant le pH.

## 1.2. EFFETS DE LA NUTRITION CARBONÉE DES MACROPHYTES :

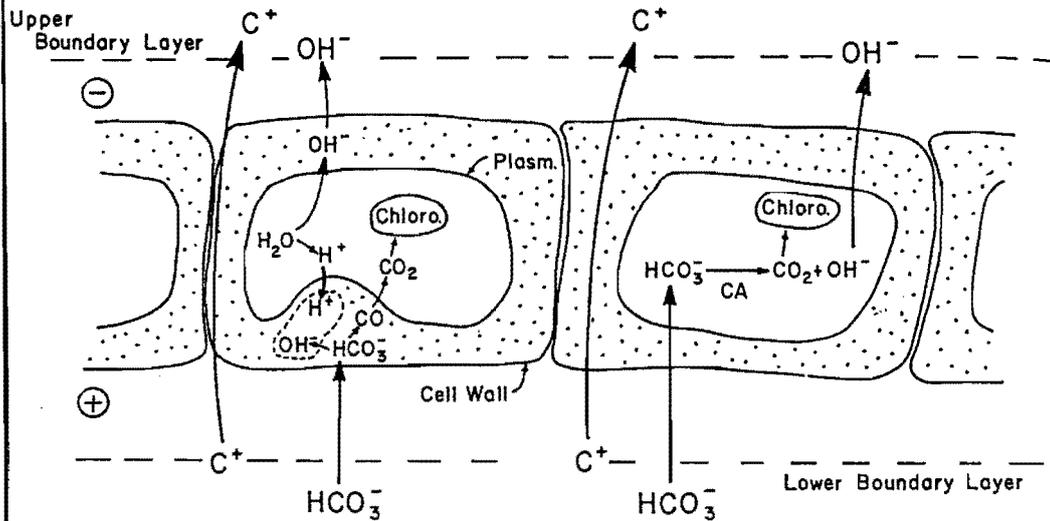
Pendant la journée, lors de la photosynthèse, l'algue consomme du carbone essentiellement sous forme inorganique dissoute (CO<sub>2</sub> dissous, H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub><sup>+</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> en CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) pour synthétiser des hydrates de carbone.

Essentiellement en absence de lumière, elle consomme un peu d'oxygène par la respiration (LEVAVASSEUR, 1986).

Généralement la faible concentration de CO<sub>2</sub> dans l'air et sa lente diffusion dans l'eau font que le CO<sub>2</sub> dissous consommé par l'algue ne va pas être remplacé immédiatement dans l'eau.

Comme l'ulve consomme préférentiellement le CO<sub>2</sub>, sa photosynthèse va provoquer d'abord une augmentation du pH dans un milieu fermé (sans apport extérieur).

## BICARBONATE UPTAKE BY SUBMERSED MACROPHYTES



I. VIA PROTON PUMPING  
AT PLASMALEMMA  
INVAGINATION

II. DIRECT UPTAKE  
(ANIONIC PUMPING)

Fig. 2. Two mechanisms of bicarbonate uptake by cells in the polarized leaves of submersed macrophytes. I. Bicarbonate conversion in association with an acidic invagination of the plasmalemma (Plasm.) resulting from proton pumping (Prins et al. 1982) and subsequent migration of  $\text{CO}_2$  into the chloroplast (Chloro.). II. Direct uptake of  $\text{HCO}_3^-$  into cytoplasm where it is converted to  $\text{CO}_2$  and  $\text{OH}^-$  via the enzyme carbonic anhydrase (CA). In both pathways, hydroxyl ions are extruded at the upper (adaxial) surface, as well as cations ( $\text{C}^+$ ) such as potassium, which can migrate through the apoplast (stippled). Further details are given by Lucas and Berry (1985).

Si les algues en général peuvent utiliser le  $\text{CO}_2$  (RAVEN, 1974), par contre toutes ne peuvent pas consommer  $\text{HCO}_3^-$ . La faculté qu'ont certaines espèces, dont l'Ulve, d'absorber facilement  $\text{HCO}_3^-$  est due à la présence massive de l'enzyme carboanhydrase dans la cellule (LUCAS et BERRY, 1985). Les constantes de demi-saturation sont en général pour l'Ulve :  $K_{\text{CO}_2} = 0,26 \mu\text{mol/l}$  et  $K_{\text{HCO}_3^-} = 0,60 \text{ mmol/l}$  (SAND JENSEN et GORDON, 1984). En conditions favorables, les Ulves vont rapidement commencer à consommer les ions  $\text{HCO}_3^-$  (après le  $\text{CO}_2$ ). Les ions  $\text{OH}^-$  libérés alors des cellules (LUCAS et BERRY, 1985,) ainsi que le déplacement de l'équilibre des carbonates vers la forme basique vont provoquer une augmentation de pH.

Les ions  $\text{HCO}_3^-$  restant dans le milieu vont progressivement se transformer en ions  $\text{CO}_3^{2-}$  parallèlement à l'augmentation du pH. La concentration de  $\text{CO}_3^{2-}$  dans l'eau augmente jusqu'au moment où ces ions vont aussi être consommés par les Ulves (BLASBELEC, 1985). En dernier lieu, l'Ulve a même la faculté d'absorber du carbone organique sous forme d'acétate quand la concentration en carbone inorganique est très faible (GEMMIL and GALLOWAY, 1974).

## 2. METHODOLOGIES D'ANALYSE ET DE CALCUL

### 2.1. ALCALINITE TOTALE :

L'alcalinité totale est due aux ions négatifs carbonatés ( $\text{HCO}_3^-$  et  $\text{CO}_3^{2-}$ ) ainsi qu'aux ions boriques  $\text{H}_2\text{BO}_3^-$ .

#### 2.1.1. ECHANTILLONNAGE

L'eau à analyser est prélevée dans des piluliers de 125 ml, à ras bord. Les échantillons sont mis au réfrigérateur si la mesure ne peut se faire immédiatement.

#### 2.1.2. APPAREILLAGE

L'appareil utilisé est un pH-mètre portatif étalonné régulièrement par une solution à  $\text{pH} = 7$  et un autre à  $\text{pH} = 4$  à  $25^\circ \text{C}$ . Les autres matériels nécessaires sont : un thermomètre, des pipettes de 50, 20 et 5 ml, un flacon de 200 ml.

### 2.1.3. MODE OPERATOIRE

#### 2.1.3.1. MESURE DU PH

On prélève précisément avec une pipette 100 ml de l'échantillon qui sont introduits dans un flacon. Le pH est mesuré après 3 à 5 mn d'immersion. La solution est agitée en cours de mesure pour faciliter l'équilibrage de l'électrode. On note le pH (pH<sub>m</sub>) et la température de mesure de l'échantillon d'eau (t<sub>m</sub>).

#### 2.1.3.2. MESURE DE L'ALCALINITE TOTALE

On introduit 25 ml d'une solution d'HC1 0.01N (préparée à partir d'une solution HC1 1N). Le flacon est bouché, agité vigoureusement, puis laissé à la température ambiante à s'équilibrer. On mesure le pH selon la méthode précédente (pH HC1 25) ; il doit être compris entre 2.8 et 4. S'il est supérieur à 4, l'électrode est retirée et on ajoute à la pipette 5 ml supplémentaire d'HC1 0.01 N. La mesure du pH est alors refaite (pH HC1 30).

### 2.1.4. CALCULS

#### 2.1.4.1. PH

De la connaissance du pH mesuré (pH<sub>m</sub>) à la température t on déduit le Ph<sub>s</sub> de l'échantillon *in situ* en effectuant d'abord la correction de température. t<sub>s</sub> étant la température de l'eau de mer *in situ* de l'échantillon, on a  $pH_s = pH_m - \alpha(t_s - t_m)$ . La valeur de  $\alpha$  est fournie par la table I.

#### 2.1.4.2. ALCALINITE TOTALE

L'alcalinité est calculée d'après l'expression :

$$B = 2.500 - 1250 (H^+)/F$$

exprimée en m-équivalent/litre.

(H<sup>+</sup>) = activité des ions H<sup>+</sup> correspondant au pH Hcl25. Sa valeur est donnée par la table II.

F = coefficient d'activité ; la table III en fournit la valeur en fonction de la salinité et du pH.

Si le volume de HC1 est de 30 ml (pH HC130) l'expression sera :

$$B = 3.000 - 1300 (H^+)/F$$

### 2.1.4.3. ALCALINITE DUE AUX CARBONATES

L'alcalinité C due aux carbonates (et bicarbonates) se calcule en soustrayant de l'alcalinité totale B, l'alcalinité A due aux ions boriques  $H_2BO_3^-$ . La valeur A, fonction du  $pH_m$  initial, de la salinité et de la température de prélèvement est fournie par la table IV :

$$C = B - A \text{ (m-eq/l).}$$

### 2.1.4.4. CALCUL DE $HCO_3^-$ ET $CO_3^{2-}$

$$[HCO_3^-] = C \times \frac{(H^+)}{(H^+) + 2K_2} \text{ (mmol/l)}$$

$$[CO_3^{2-}] = C \times \frac{K_2}{2K_2 + (H^+)} \text{ (mmol/l)}$$

$K_2$  donné par la table VII est la constante de l'équilibre :  $HCO_3^- \longrightarrow CO_3^{2-} + H^+$

## 2.2. CO<sub>2</sub> TOTAL ET CO<sub>2</sub> DISSOUS INITIAL

L'ajout d'acide a déplacé l'ensemble des carbonates inorganiques sous forme de CO<sub>2</sub>. Dans ces conditions, le CO<sub>2</sub> total est composé du CO<sub>2</sub> existant auparavant ajouté du CO<sub>2</sub> venant des carbonates du milieu. Il correspond donc au carbone inorganique total ( $\Sigma Ci$ ) qui est un terme plus approprié que  $\Sigma CO_2$  ou CO<sub>2</sub> total. La quantité de CO<sub>2</sub> total est donnée par la formule :

$CO_2 \text{ total} = \Sigma Ci = C \times F_t$  (exprimée en mmol/l).  $F_t$ , qui est fonction de la température du pHs et de la salinité, est donné par la table V.

On calcule le CO<sub>2</sub> de l'échantillon de départ par la formule :

$$CO_2 = pCO_2 \times \tau \text{ (mol/l)}$$

où  $pCO_2 = C \times F_p$  (atm)

$F_p$ , donné par la table VI, est fonction du pHs, de la salinité et de la température du prélèvement.  $\tau$ , donné par la table VII, est la solubilité du gaz carbonique dans l'eau de mer.

## 3. ESSAIS TECHNIQUES DE MISE AU POINT

Deux manipulations sont réalisées en utilisant des ballons en verre non fermés comme supports de culture d'ulves. La première consiste à mettre en culture 50 grammes d'ulves (poids frais égoutté) dans un ballon de 6 litres rempli d'eau de mer filtrée. Le

ballon est placé dans un bain-marie d'eau douce entouré de rampes lumineuses ( $> 2000 \mu\text{E}$ ). Cette première expérience permet surtout de tester le matériel, la méthode et la durée approximative de la réaction.

Si le matériel d'analyse s'avère être performant (cf. chapitre 2) et si le temps de réaction, de l'ordre de quelques heures, est compatible avec l'utilisation du laboratoire, par contre les résultats (annexe, tableau 1) ne sont pas totalement satisfaisants. En effet, les dosages de sels nutritifs donnent une augmentation progressive au fur et à mesure de la photosynthèse, ce qui est contraire à la logique.

Une deuxième expérience est réalisée sur le même principe pour vérifier les résultats dus à cette méthode. 60 grammes d'ulves sont placés en culture dans chacun des deux ballons identiques à celui de la première expérience. Les conditions sont par ailleurs les mêmes.

Les données chiffrées (annexe, tableau 2) montrent encore des augmentations anormales de concentration en nitrates à certains moments de la culture. D'autre part, la culture produit une baisse d'oxygène dissous au temps  $T = 1$  ce qui dénote une réaction incontrôlable et difficile à expliquer en l'absence de données plus diverses sur le milieu. La perte d'oxygène étant sans doute en relation avec l'ouverture du milieu de culture sur l'extérieur, il est décidé de procéder à l'utilisation de bocaux fermés et entièrement remplis du milieu de culture.

#### **4. EXPERIMENTATIONS EN MILIEU FERME**

##### **4.1. PROTOCOLE**

Il s'agit de mettre dans un certain nombre de bocaux de 1.5 litres, fermés et remplis d'eau de mer, 20 grammes d'ulves (poids frais égoutté) pesés précisément. Pour qu'il n'y ait pas de carence en sels nutritifs, quelques gouttes de solutions riches en azote ( $\text{NaNO}_3$ ) et en phosphore ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) sont ajoutés au milieu. Toutes les heures un bocal est ouvert. Les paramètres suivants sont alors mesurés : pH,  $\text{CO}_2$  total et oxygène. Les sels nutritifs sont dosés toutes les deux heures. Par ailleurs, pour chaque bocal, on mesure précisément la biomasse au temps 0 et au temps  $t_x$  (moment où le bocal x est ouvert), c'est-à-dire le poids frais de départ et le poids frais d'arrivée. Pour connaître le poids sec, les ulves sont placées durant 24 heures dans une étuve à  $100^\circ \text{C}$ , puis pesées.

##### **4.2. RESULTATS DE LA PREMIERE MANIPULATION (ANNEXE, TABL. 3)**

L'évolution comparée du pH et du carbone inorganique total (fig. 1) démontre une relation directe inversée entre les deux phénomènes. La baisse du carbone inorganique total s'achève à  $0.50 \text{ mmol CO}_2$  par litre d'eau qui correspond à un pH maximum de 10.

Fig. 1: EVOLUTION DU PH ET DU CO<sub>2</sub>

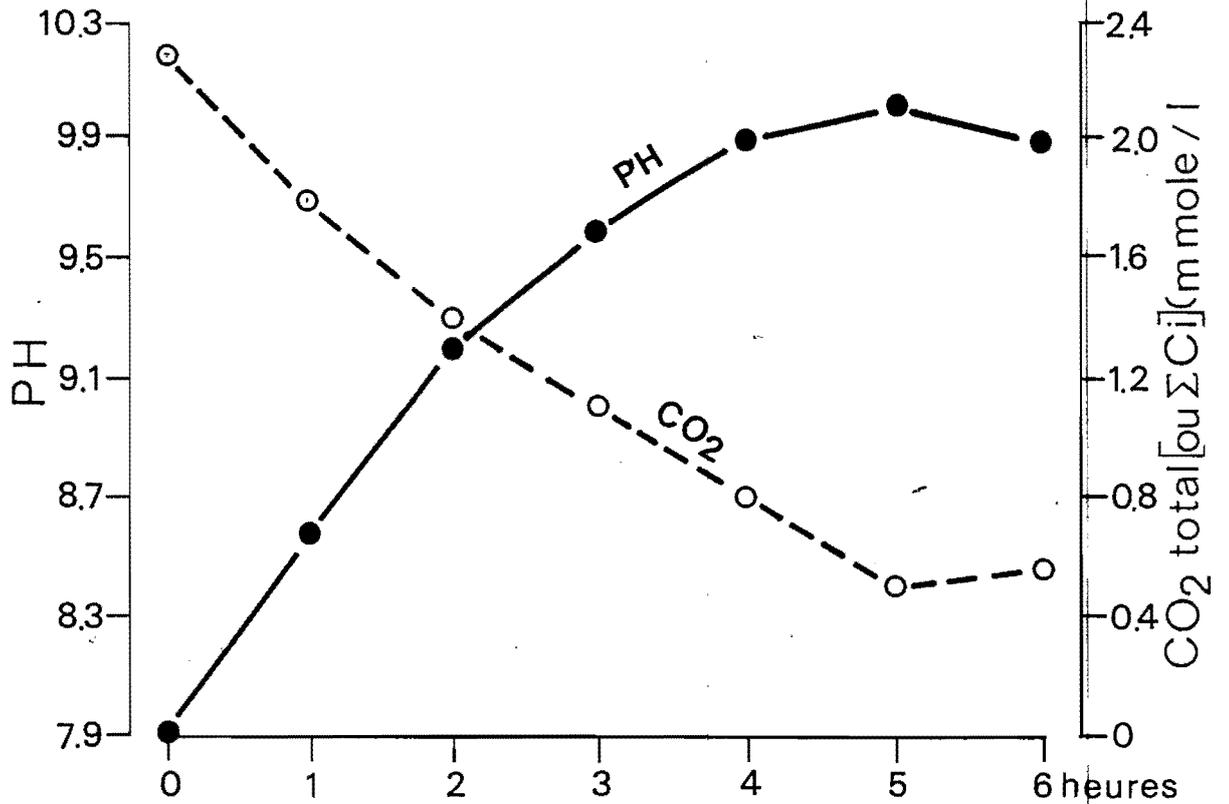
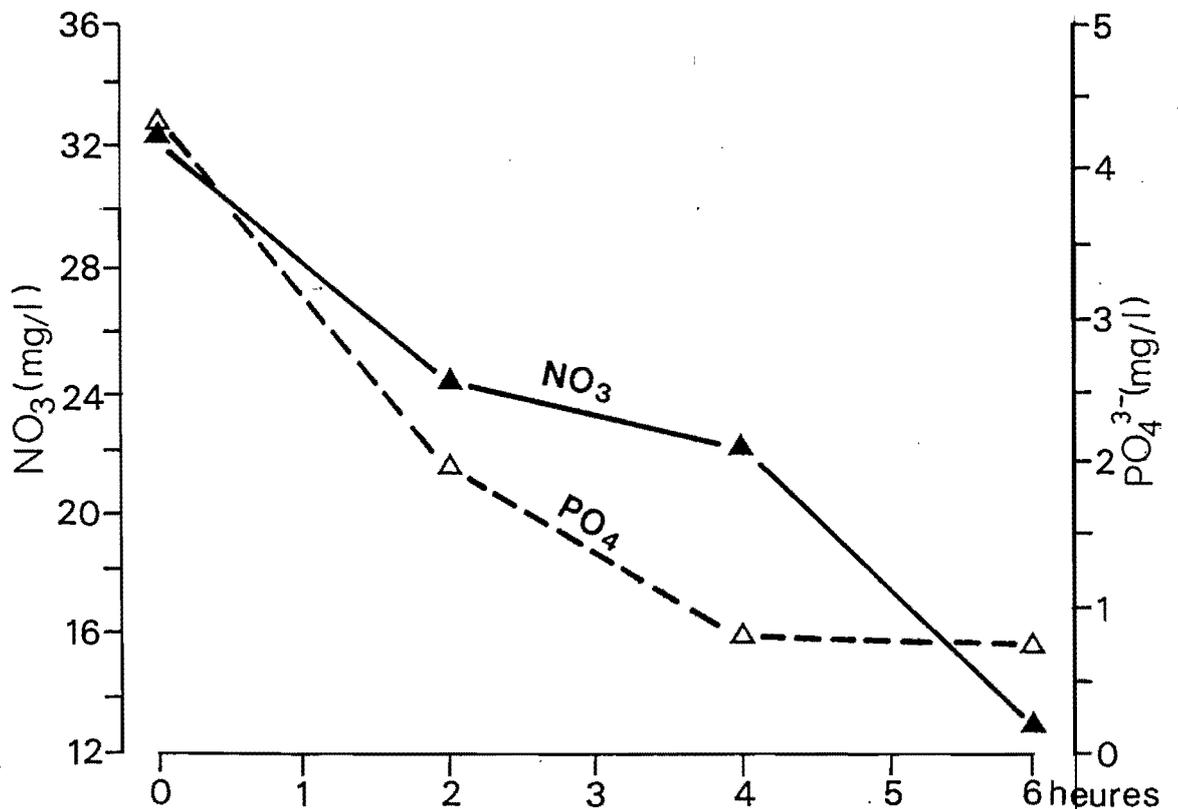


Fig. 2: EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN NITRATES ET PHOSPHATES



Ce serait donc à cette valeur de 0.50 mmol/l  $\text{CO}_2$  que pourrait se produire une limitation de la croissance des ulves par le carbone. Les fortes concentrations en sels nutritifs observées encore dans le milieu au temps  $T=5$  (fig.2) démontrent une non-intervention de l'azote et du phosphore dans cette limitation pendant l'expérience en laboratoire. Par contre, les vitesses extrêmes d'absorption des nitrates et des phosphates par les ulves prélevées de la baie de Lannion semblent prouver que celles-ci ont été limitées en azote et en phosphore dans leur milieu d'origine fin-juin 1989. L'absorption du phosphore pour recharger les cellules végétales est très rapide et s'achève à la quatrième heure. Ceci suit l'hypothèse souvent émise selon laquelle l'ulve se chargeant rapidement en présence de fortes doses de phosphore, peut ensuite vivre sur ces réserves durant plusieurs jours, voire plusieurs semaines.

Les dosages des différentes formes de carbone dans l'eau de culture (fig. 3) montrent que la forme  $\text{CO}_2$  libre est très faible et est très vite consommée. La forme  $\text{HCO}_3^-$  est forte au départ mais décroît vite, d'une part par absorption dans les cellules algales, et d'autre part par transformation en  $\text{CO}_3^{2-}$ . Cette dernière évolution s'arrêtant au temps  $T = 3$  heures, seule la consommation par les ulves va continuer à faire descendre la teneur en  $\text{HCO}_3^{2-}$  jusqu'au temps  $T=5$  heures où les limites basses de limitation sont atteintes.

La production horaire d'oxygène par gramme de matière sèche (fig. 4), c'est-à-dire la photosynthèse de l'ulve, est maximale pendant les deux premières heures de manipulation. Par rapport à des données provenant d'expériences sur des ulves plus pigmentées (DION, 1988), ces valeurs sont cependant faibles. La photosynthèse se poursuit ensuite tout en faiblissant régulièrement pour s'arrêter complètement à la quatrième heure. La croissance de l'ulve (en poids) ne commence vraiment qu'à partir de la deuxième heure pour s'achever rapidement à la quatrième heure. Il semble donc que la croissance ne commence véritablement qu'au maximum de photosynthèse. Par contre, l'arrêt de croissance correspond exactement à la fin de la photosynthèse. Malgré ceci, l'absorption d'éléments carbonés ( $\text{HCO}_3^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ), se poursuit jusqu'au temps  $T=5$  (moment où il pourrait y avoir une limitation par le carbone). L'absorption de l'azote se poursuit plus longtemps. Les arrêts de croissance et de photosynthèse ne sont donc pas le signe de la mort de l'ulve puisque celle-ci continue à absorber des éléments nutritifs pour, sans doute, reconstituer ses réserves entamées au niveau des cellules (sauf le phosphore dans le cas de l'expérience).

L'arrêt de croissance de l'ulve serait donc dû à un autre facteur pouvant être lié à l'activité photosynthétique au niveau des pigments ou à une saturation en oxygène. La limitation par le carbone pourrait intervenir en second lieu et en appui pour renforcer cet état de léthargie de l'ulve constatée en début d'été dans le milieu.

Fig. 3: EVOLUTION DES DIFFERENTES FORMES DU CARBONE

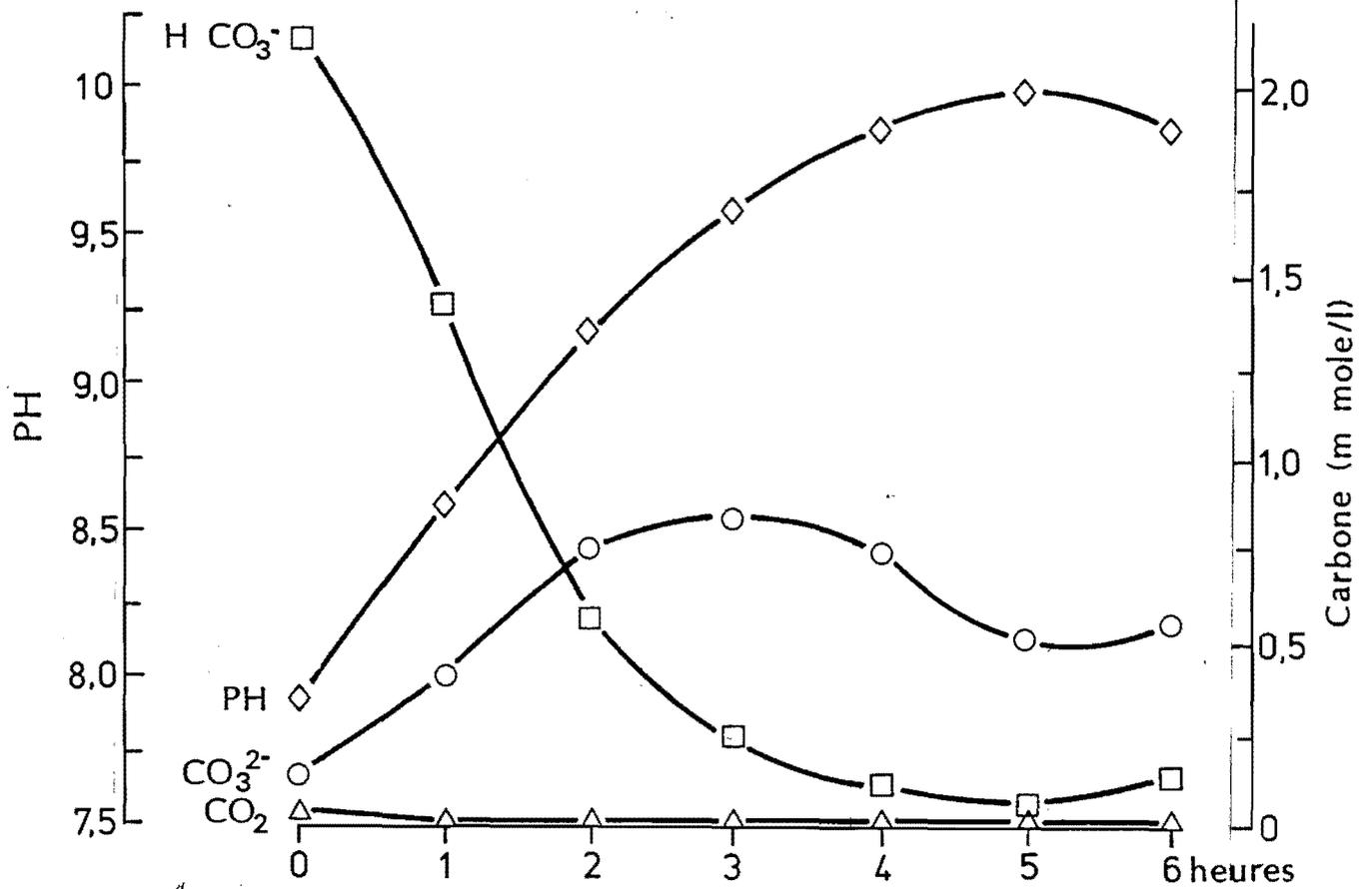
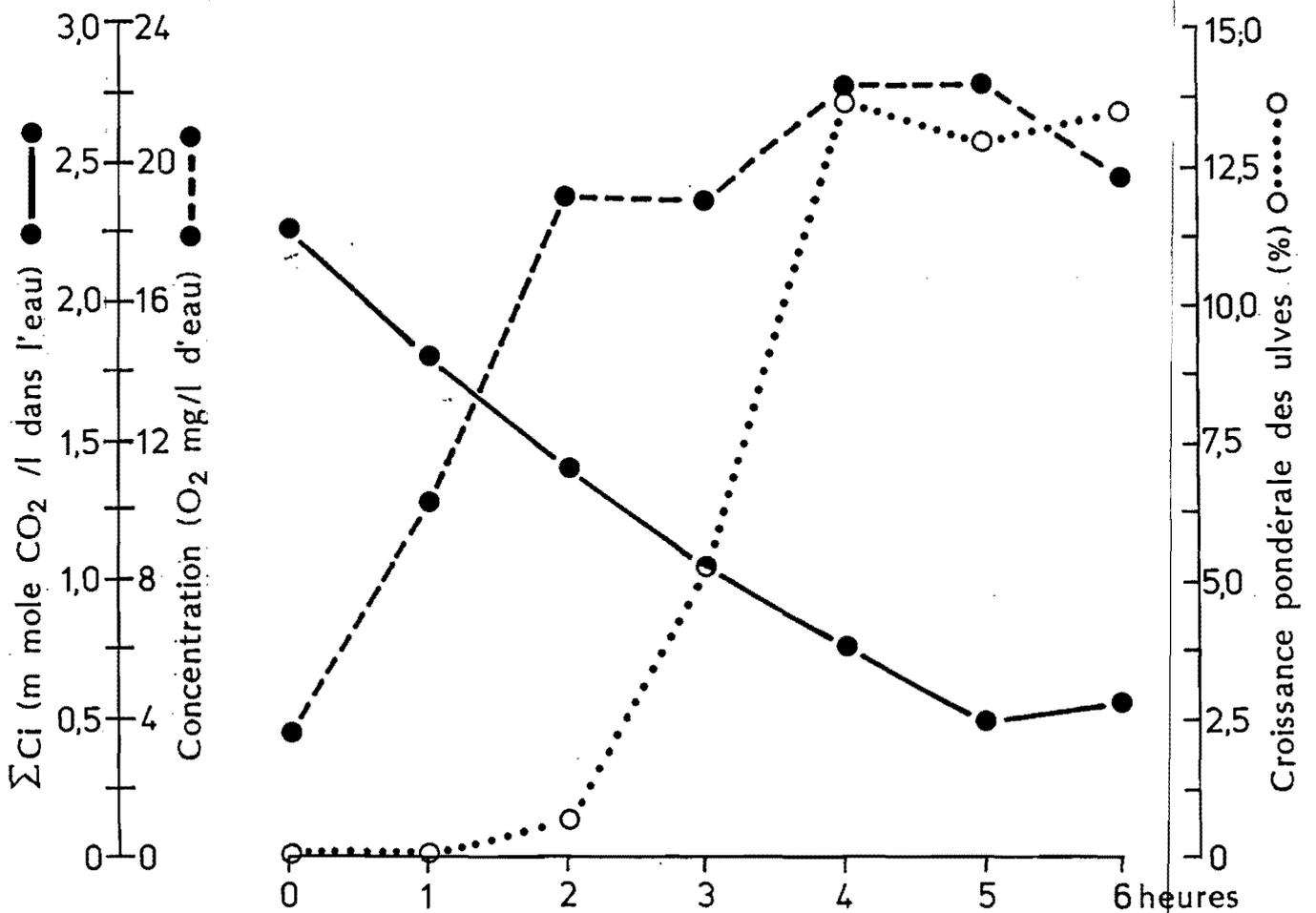


Fig. 4: PHOTOSYNTHESE ET BIOMASSE D'ULVES



### 4.3. RESULTATS DE LA DEUXIEME MANIPULATION (ANNEXE, TABL. 4)

Cette expérience du même type a été prolongée jusqu'au temps  $T=10$  heures pour vérifier les premiers résultats et pour étudier la suite des réactions après 6 heures de culture.

Les évolutions inverses du pH et du  $\text{CO}_2$  total dans le milieu (fig. 5) sont tout à fait semblables et confirment ceux de la première expérience (fig. 1). L'oxygène dans l'eau augmente rapidement pour atteindre un palier de 25 mg par litre aux environs de la cinquième heure (fig. 6). La photosynthèse étant alors arrêtée, les teneurs en oxygène vont commencer à diminuer, dû probablement à une photorespiration des ulves (LEVAVASSEUR, 1986). Les absorptions de sels nutritifs (fig. 7) ne se font pas de la même façon que dans l'expérience précédente (fig. 2). Ceci provient peut être de niveaux différents de quotas cellulaires de départ (qui n'ont pas été dosés). En effet, une hypothèse (LUNDBERG, 1988) laisse à penser que l'ulve posséderait un maximum de dépense d'énergie pour la transformation des nitrates et des polyphosphates dans les chloroplastes. Quand les deux absorptions (puis transformations) se font simultanément (fig. 2), elles se limitent mutuellement. Par contre, quand l'une d'entre-elles n'a pas lieu (sans doute par saturation intracellulaire préalable, en nitrate dans le cas de la figure 7), l'autre absorption peut se faire très rapidement si un manque existe auparavant. La vitesse maximale d'absorption du phosphore a été signalée jusqu'à présent à  $30 \mu\text{mol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot(\text{g poids sec})^{-1}$  (DION, 1988b). Dans le cas de notre expérience, elle se situe à  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot(\text{g poids sec})^{-1}$ , ce qui semble extrême.

Il est à signaler que s'il existe une concurrence dans l'absorption et la réduction du nitrate et du phosphate, par contre, celle-ci n'a pas lieu entre le phosphate et l'ammoniac (LUNDBERG, 1988). En effet, ce dernier élément nutritif ne subirait pas de transformation lors de l'absorption et du stockage intra-cellulaire. Il ne limiterait donc en rien l'énergie employée pour la consommation des phosphates. En définitive, ceci voudrait donc insinuer plusieurs hypothèses essentielles à la compréhension des marées vertes :

- un milieu constamment bien pourvu en nitrate permettrait aux ulves d'absorber extrêmement rapidement des apports très momentanés de phosphate (pic de rejet, crue...). On sait que ces algues vivent ensuite plusieurs semaines sur leurs réserves phosphatées (BRAULT *et al.*, 1985),
- un milieu moins pourvu en nitrate (limitation) procurerait simultanément aux ulves une moindre possibilité d'absorption des pics fugitifs de phosphate inorganique (donc limitation multipliée),

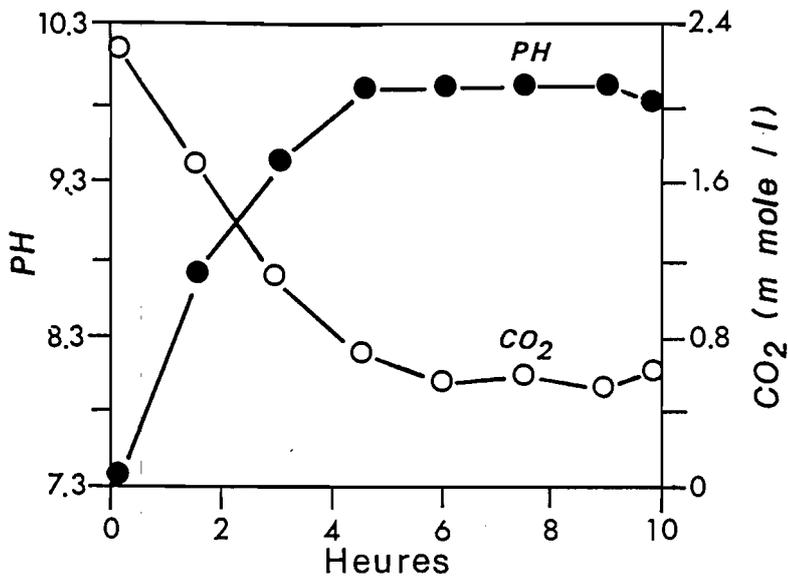


Fig. 5:  
EVOLUTION  
DU PH ET DU CO<sub>2</sub>

Fig. 6 :  
EVOLUTION  
DE LA CONCENTRATION  
EN OXYGENE

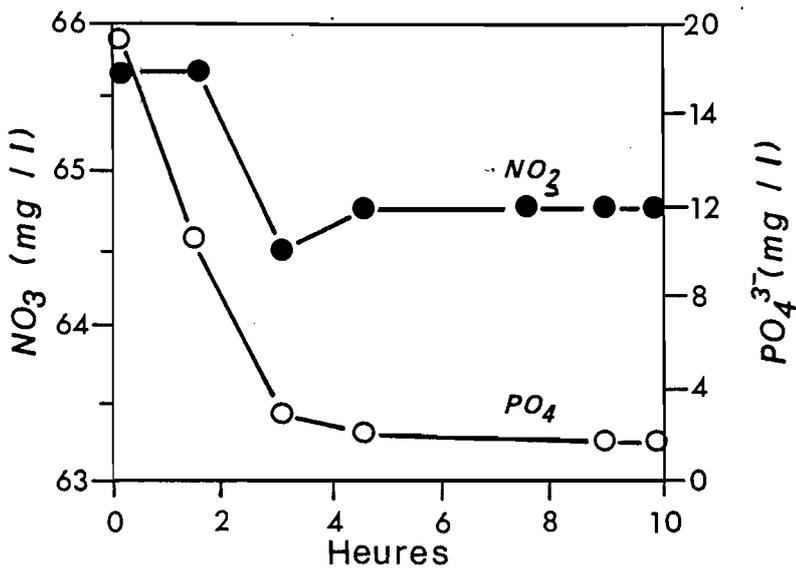
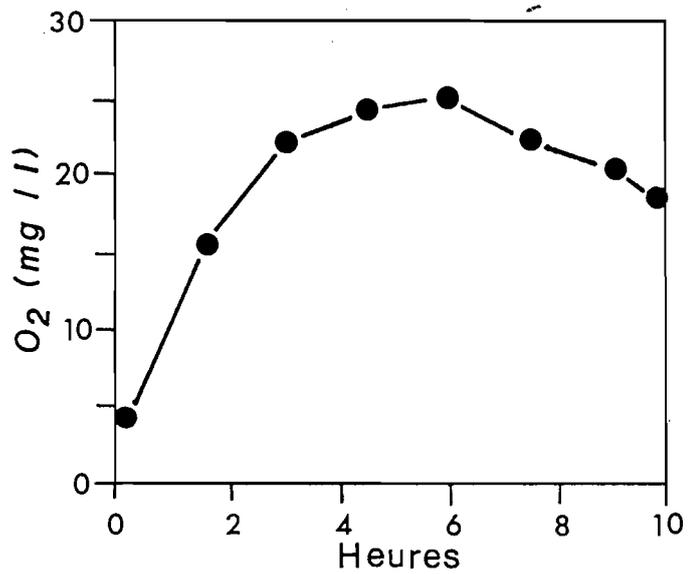


Fig. 7:  
EVOLUTION EN NITRATE  
ET PHOSPHATES

- le mélange ammoniac-phosphate semble être le meilleur milieu pour la croissance des ulves puisque dans ce cas il n'y a pas concurrence dans l'absorption des éléments nutritifs.

Il ressort aussi que le dosage préalable des quotas cellulaires semble nécessaire dans le cas d'expériences concernant l'absorption d'éléments nutritifs pour les algues.

## **5. EXPERIMENTATION PAR BULLAGE DE GAZ**

### **5.1. BULLAGE DE GAZ CARBONIQUE**

#### **5.1.1. PRINCIPE**

Du gaz carbonique est injecté dans des bocal de culture d'ulves ayant subi plusieurs heures d'éclairage et atteint le palier de biomasse par arrêt de la photosynthèse. Des dosages sont immédiatement effectués dans l'eau d'un des bocal, les autres étant refermés et replacés à l'intérieur des rampes lumineuses pour tester une reprise éventuelle de la photosynthèse.

#### **5.1.2. ESSAI (TABL. 5 ET FIG. 8)**

Les bocal de culture utilisés sont situés dans les mêmes conditions que celles de l'expérience précédente (§ 4.3). Au temps  $t = 9.5$  heures (ou  $t' = 0$ ), 5 bocal subissent un bullage de  $\text{CO}_2$ . Le premier effet constaté est une baisse spontanée du pH dans le milieu (de 9.80 à 5.25), un rehaussement des teneurs en  $\text{CO}_2$  total (qui n'est pas obligatoirement homogène entre tous les bocal) et une chute des concentrations en oxygène. Les mesures aux temps  $t' = 1, 1.5, 2.5$  et  $3.5$  montrent qu'il n'y a pas reprise de l'activité photosynthétique en ajoutant du carbone et en diminuant l'oxygène. Ceci est peut-être le fait d'une limitation par un pH trop acide. Une injection de  $\text{HCO}_3^-$  aurait donc été préférable à ce niveau.

### **5.2. BULLAGE D'AZOTE GAZEUX (TABL. 6, FIG. 9 ET 10)**

Dans ce cas, le pH reste à un niveau élevé et donc n'a plus d'effet limitant éventuel. Cependant, la concentration en  $\text{CO}_2$  total étant très faible, il est probable que cette limitation par le carbone influence encore le manque de reprise de la photosynthèse. La concentration en oxygène ayant fortement baissé sans qu'il y ait reprise de l'activité photosynthétique, il est possible de dire qu'il n'existait pas de limitation par saturation d'oxygène.

Fig. 8: ANALYSES DANS L'EAU APRES BULLAGE DE CO<sub>2</sub>

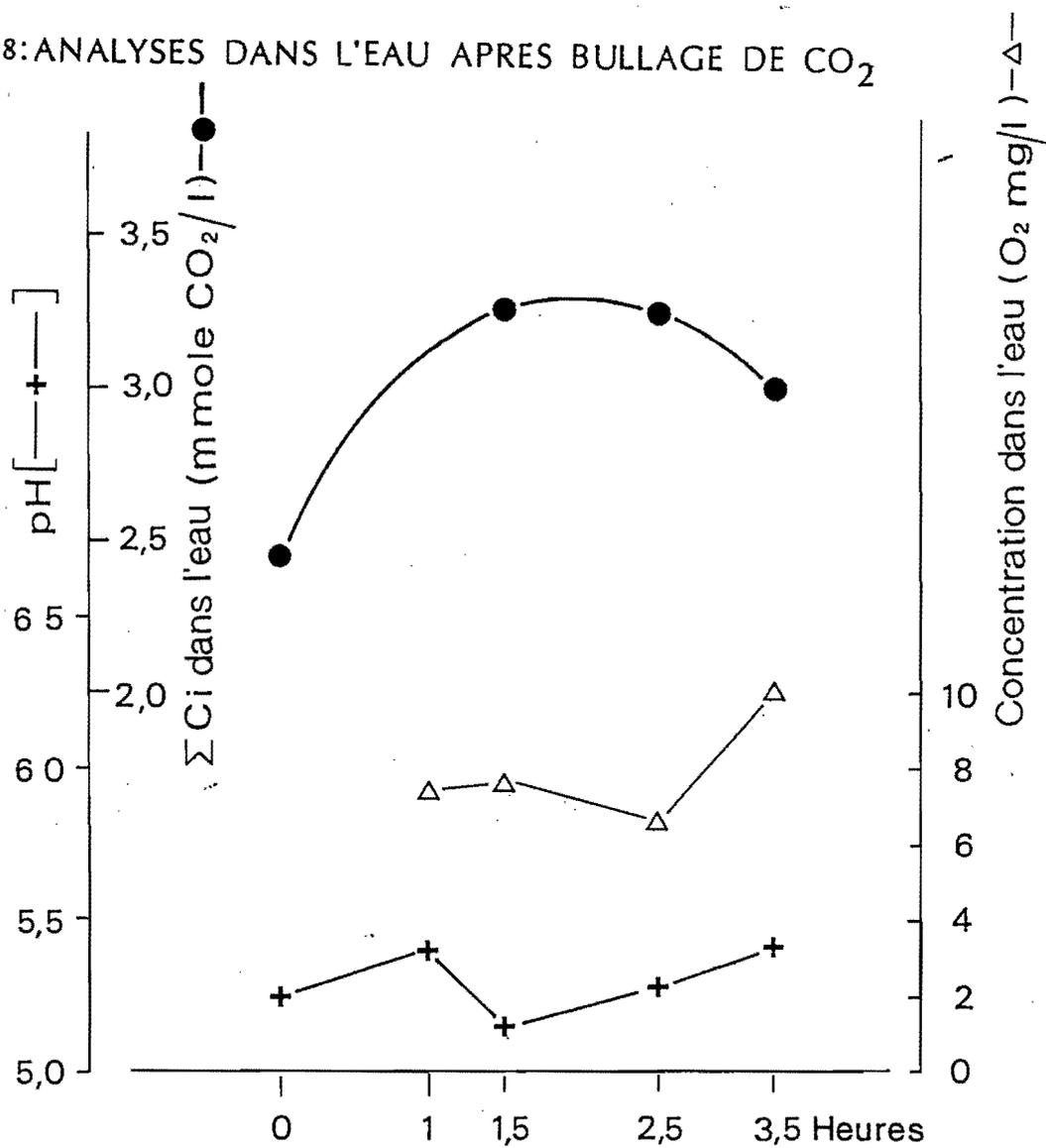


Fig. 9:  
EFFET DE BULLAGE DE N2

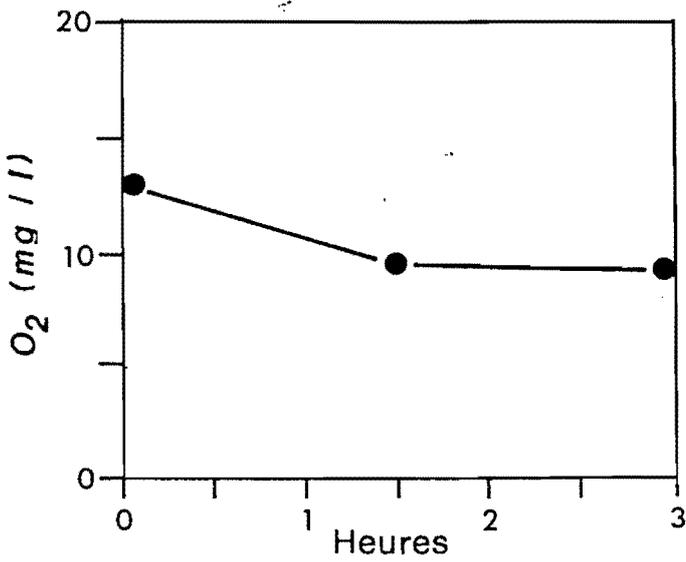
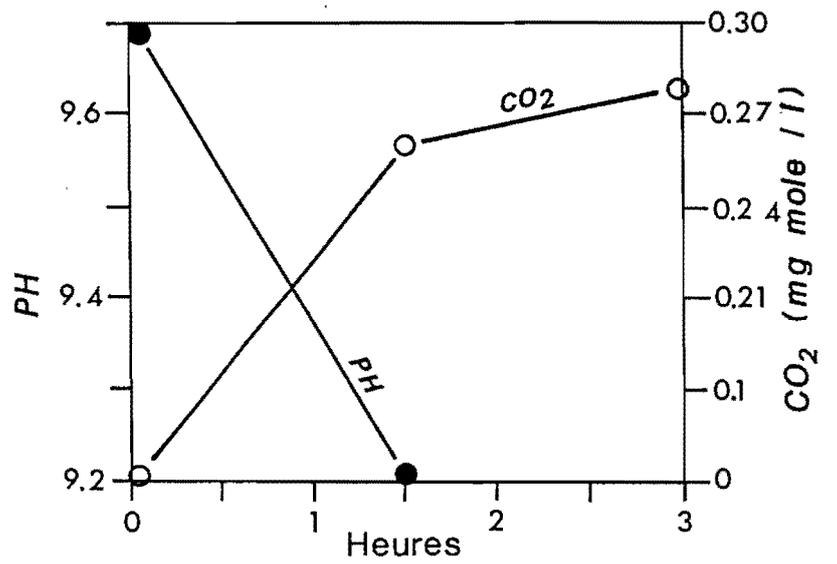


Fig. 10:  
EVOLUTION DE LA CONCENTRATION  
EN OXYGENE

## 6. MESURES IN SITU (BAIE DE ST-BRIEUC)

### 6.1. PRINCIPE

Parallèlement à ces expériences, des prélèvements d'eau sur le terrain et des mesures en laboratoire sont effectués par le CEVA pour essayer de comprendre les influences du milieu et ses évolutions pendant les proliférations d'ulves (DION, 1990). Une comparaison entre ces données *in situ* (tabl. 8, 9, 10 et 11) et les mesures évolutives pendant les expériences en laboratoire permettront certains essais d'interprétations de réactions des ulves dans leur milieu.

### 6.2. INTERPRETATIONS

Des recherches effectuées par IFREMER (PIRIOU, 1989) ont prouvé que la croissance des ulves s'est achevée vers le 22 juin 1989 en baie de St-Brieuc. Les analyses d'eau dans laquelle baignent les ulves le 10 juillet 1989 (tabl. 10) en baie de St-Brieuc (point A) montrent des concentrations en CO<sub>2</sub> correspondant environ à celles relevées dans le milieu d'expérience à la 5<sup>e</sup> heure (fig. 4 et tabl. 3). Les données de terrain du 29 juin (tabl. 9), au vu du pH, correspondent à la 4<sup>e</sup> heure de l'expérience, moment auquel la photosynthèse et la croissance s'arrêtent. Ceci veut dire que les mesures de terrain effectuées les 6, 15, 29 juin et 10, 17 juillet correspondraient respectivement dans l'expérience de laboratoire aux heures 2, 3, 4, 5 et 6 avec toutes les implications que ceci comporte.

## CONCLUSION

L'expérience de bullage gaz carbonique dans le milieu appauvri par culture intensive d'ulves n'est pas complètement satisfaisante puisqu'il demeure un doute concernant une éventuelle influence limitante d'un pH très acide. Le bullage de l'azote gazeux a, quant à lui, prouvé que la saturation en oxygène du milieu n'est pas un facteur limitant dans la pousse des ulves.

La superposition entre les données de l'expérience en laboratoire et celles recueillies *in situ* en baie de St-Brieuc permettent de dire que les arrêts de croissance et de photosynthèse des ulves ne correspondent pas aux concentrations les plus basses en carbone inorganique total dans le milieu (qui ont lieu plus tard). Le carbone peut donc être limitant, mais seulement dans un second temps, pour renforcer une situation d'arrêt de croissance des ulves intervenu auparavant. Le début de cette phase de latence semble plutôt lié à un épuisement naturel de l'activité photosynthétique au bout d'un certain temps (ou taux) d'éclairement. En effet, il est constaté, fin juin, une décoloration intense des ulves qui est le signe d'une forte diminution de la chlorophylle. L'appareil pigmentaire, qui s'est adapté à l'éclairement un moment pendant la croissance, se

dégrade à la suite du stress lumineux prolongés (LEVAVASSEUR, 1986). La plasticité de l'appareil pigmentaire est variable suivant les espèces. Il semble que l'Ulve de type intertidal qui provoque les marées vertes les plus fréquentes en Bretagne, ait une faible plasticité pigmentaire à l'égard d'un éclaircissement intense et prolongé. L'expérience prouve que l'arrêt de croissance des ulves en début d'été n'est pas dû totalement ni à une limitation en éléments nutritifs (carbone, azote, phosphore), ni à une saturation du milieu en oxygène. Il est donc aussi provoqué par un ou plusieurs autres éléments dont l'un serait vraisemblablement la destruction des pigments liée à des stress lumineux.

On sait aussi que le déclenchement de la croissance des ulves en avril ou mai est lié aux augmentations de lumière et de la température de l'eau. Pendant ce laps de temps de croissance contrôlé par le soleil, le niveau de la production algale est lié à l'importance des flux de sels nutritifs apportés par les rivières (PIRIOU, 1989), en particulier l'azote en baie de St-Brieuc (MENESGUEN, 1989). Le flux d'azote est lié à la fois à la concentration dans l'eau au printemps (qui peut varier légèrement d'une année sur l'autre, mais dont la moyenne augmente progressivement en Bretagne), et surtout aux débits des rivières qui eux sont très fluctuant (même en moyenne). Le fait que la pluviométrie du printemps contrôle en grande partie les flux d'azote et que le soleil contrôle la période de croissance des ulves, nous fait dire que la météorologie est le principal acteur jouant sur l'importance de la marée verte à court terme. Par contre, sur le long terme, ce sont les concentrations en sels nutritifs qui vont situer les niveaux des pics les plus élevés.

L'expérience en laboratoire prouve aussi que les ulves sont capables, en peu de temps, d'absorber de fortes quantités de phosphore quand elles sont auparavant bien pourvues en azote. Elles peuvent vivre ensuite très longtemps sur leurs réserves (BRAULT, 1985). Ceci permet d'émettre l'hypothèse que, sur certains sites bien alimentés en nitrate, et a priori plutôt dépourvus en phosphore, de gros apports soudains et peu fréquents en phosphate, pourraient être suffisants dans le cadre de l'alimentation d'une prolifération consécutive d'ulves en zone littorale.

## BIBLIOGRAPHIE

- BLAKESLEE M., 1985. Determination of carbon concentration effects on photosynthesis : A pH independent approach. *Harbour Branch Institution* : pp. 79-94.
- BRAULT D., X. BRIAND, B. et QUEGUINER, 1985. Influence quantitative des sels nutritifs azotés sur la croissance d'*Ulva sp.* Rapport CERAA Pleubian.
- DION P., 1987. Etude préliminaire à la déphosphatation en baie de St-Brieuc. Contrat Conseil Général 22/CEVA : 14 p.
- DION P., 1988a. Etudes de certains aspects écophysologiques des marées vertes. CEVA Pleubian. Contrat IFREMER : 35 p.+ annexes.
- DION P., 1988b. Evaluation du rôle potentiel du phosphore dans la prolifération des ulves en baie de St-Brieuc. Rapport de synthèse IFREMER-CEVA pour le Conseil Général des Côtes-du-Nord : 6 p. 8 fig.
- DION P., 1990. Analyse physicochimique de l'eau des filières de l'Urne et du Gouessant, en bas de plage de la baie de St-Brieuc. Contrat IFREMER-CEVA : 21 p.
- GEMMIL E.R. and R.A. GALLOWAY, 1974. Photo-assimilation of  $^{14}$  C-acetate by *Ulva lactuca*. *J. Phycol.* 10 :pp. 359-366.
- GENTIEN P., F. PERROT et G. YOUENOU, 1988. Evaluation des stocks de phosphore dans les sédiments de la baie de St-Brieuc. Contrat Conseil Général 22-IFREMER.
- KALLE K., 1972. Dissolved gases : general introduction. In O. Kinne (ed.), *Marine Ecology*, vol. I. pt. 3 : pp. 1451-1457. Wiley, New York.
- LEVAVASSEUR G., 1986. Plasticité de l'appareil pigmentaire des algues marines macrophytes. Régulations en fonction de l'environnement. *Thèse de doctorat d'Etat*, Univ. de Paris VI.
- LOBBAN C.S. et al., 1985. The physiological ecology of seaweeds. *Cambridge University Press* : 242 p.
- LUNDBERG R., WEICH R.G., JENSEN P., VOGEL H.J., 1989. Phosphorus and nitrogen  $^{14}$  NMR studies of the uptake of phosphorus and nitrogen compounds in the marine macroalgae *Ulva Lactuca*. *Plant Physiol.* (1989) 89 : pp. 1380-1387.

- LUCAS W.S. and A. BERRY, 1985. Inorganic carbon uptake by aquatic photosynthetic organisms. *Am. Soc. Plant Physiol.*
- MENESGUEN A., 1989. La modélisation des marées vertes littorales et ses applications. Rapport IFREMER : 11 p.
- PIRIOU J., Y., 1989. Biomasse d'ulves en baie de St-Brieuc. Contrat Conseil Général des Côtes-du-Nord-IFREMER : 21 p.
- RAVEN J+.A., 1974. Carbon dioxide fixation. In W.D.P. Stewart (ed.), *Algal Physiology and Biochemistry* : pp. 434-455.
- SAND-JENSEN K. and D.M. GORDON, 1984. Differential ability of marine and freshwater macrophytes to utilize  $\text{HCO}_3^-$  and  $\text{CO}_2$ . *Mar. Biol.* 80 : pp. 247-253.
- STEVENSON J.C., 1988. Comparative ecology of submersed grass beds in freshwater, estuarine and marine environments. *Limnol. Oceanogr.*, 33 (4, part 2) : pp. 867-893.

## **ANNEXES**

**TABLEAU 1**

Paramètres Heures T	pH <sub>m</sub>	T <sub>s</sub> ° C	pH <sub>s</sub>	T°m	pH Hcl25	Alc tot.	Alc.carb.	CO <sub>2</sub> total en mM/l	NO <sub>3</sub> en g/l
0	8.24	18							
2									0.22
3.5	9.65	27	9.60	22°	3.14	1.3	0.77	0.43	2.73
5.5									3.72
6	9.55	29	9.50	24°	3.04	1.0	0.48	0.28	10.23
8									

**TABLEAU 2**

Heures T Paramètres		0	1	2	3	4
pH	1	7.86	8.04	8.33	8.55	9.01
	2	8.01	8.16	8.40	9.12	9.67
O <sub>2</sub> mg/l	1		2.41	8.70	11.00	11.10
	2	4.00	2.30	10.10	11.60	12.90
NO <sub>3</sub> mg/l	1	0.30	0.33	0.17	0.09	0.19
	2	0.30	0.66	0.07	0.08	0.49
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> mg/l	1	0.25	0.03			
	2	0.25	0.05	0.02	0.05	0.07
T° C	1	25.00	25.50	26.00	28.00	29.00
	2		25.50	26.00	28.00	29.00

TABLEAU 3

Heures T Paramètres	0	1	2	3	4	5	6
T° C	19	24	27	27	25,5	26	27,5
pH <sub>s</sub>	7,93	8,58	9,21	9,59	9,89	10,0	9,87
(H <sup>+</sup> )	0,115.10 <sup>-7</sup>	0,263.10 <sup>-8</sup>	0,617.10 <sup>-9</sup>	0,257.10 <sup>-9</sup>	0,129.10 <sup>-9</sup>	1,0.10 <sup>-10</sup>	0,135.10 <sup>-9</sup>
Alc Totale meq/l	2,46	2,42	2,49	2,47	2,31	1,84	1,89
Alc carb. meq/l	2,40	2,24	2,10	1,92	1,61	1,10	1,18
CO <sub>2</sub> tot mM/l	2,30	1,81	1,39	1,06	0,76	0,50	0,55
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	32,74		24,18		22,32		12,90
PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> mg/l	4,46		1,99		0,76		0,66
O <sub>2</sub> mg/l	3,8	10,3	19,3	19,0	22,1	22,3	19,7
PF dep (g)	19,450	20,060	20,060	20,060	20,060	20,060	20,060
PF arr (g)	19,450	20,050	20,200	21,110	22,816	22,710	22,760
Croissance (Δg)	0	- 0,010	0,140	1,050	2,756	2,650	2,700
Δ(g)/heure		- 0,010	0,150	0,910	1,706	- 0,106	+ 0,050
ΔO <sub>2</sub> mg/gms/h		2,58	3,57	0	1,23	0,08	0
Fp	0,28	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
pCo <sub>2</sub>	0,670	0,090	0,105	0,095	0,080	0,055	0,060
γ	35,0	30,4	28,2	28,2	29,3	28,9	27,8
CO <sub>2</sub> (μM/l)	23,45	2,74	2,96	2,68	2,34	1,59	1,67
K <sub>2</sub>	0,67.10 <sup>-9</sup>	0,76.10 <sup>-9</sup>	0,83.10 <sup>-9</sup>	0,80.10 <sup>-9</sup>	0,81.10 <sup>-9</sup>	0,81.10 <sup>-9</sup>	0,85.10 <sup>-9</sup>
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mM/l)	2,15	1,42	0,57	0,26	0,12	0,06	0,14
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> (mM/l)	0,125	0,405	0,765	0,831	0,745	0,517	0,547

S‰ = 34 ‰

**TABLEAU 4**

Temps T	0	1.5	3	4.5	6	7.5	9	10
pH <sub>m</sub> = pH <sub>s</sub>	7.38	8.68	9.45	9.94	9.93	9.93	9.92	9.80
T = T <sub>m</sub> (°C)	19.00	23.50	24.00	26.00	27.00	29.00	29.00	32.00
V <sub>Hcl</sub> ml	30	30	30	30	30	25	25	25
PH Hcl	3.38	3.47	3.40	3.33	3.18	3.52	3.45	3.50
Alc tot meq./l	2.28	2.42	2.32	2.20	1.87	2.00	1.91	1.99
Alc tot meq./l	2.26	2.22	1.85	1.49	1.16	1.28	1.19	1.32
CO <sub>2</sub> total mM/l	2.31	1.75	1.11	0.70	0.55	0.58	0.54	0.62
NO <sub>3</sub> mg/l	65.76	65.76	64.52	64.83		64.83	64.83	62.98
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> mg/l	19.87	10.38	2.93	2.05			1.64	1.64
O <sub>2</sub> mg/l	4.16	15.65	22.16	24.62	25.20	22.52	20.66	18.42

**TABLEAU 5**

T <sup>r</sup> (heures) après injection de CO <sub>2</sub>	0	1	1.5	2.5	3.5
pH <sub>m</sub> = pH <sub>s</sub>	5.25	5.41	5.17	5.34	5.45
T = T <sub>m</sub>	30.00	30.00	32.50	30.50	31.00
Alc Tot meq/l	2.00		2.66	2.70	2.49
Alc Carb meq/l	2.00		2.66	2.70	2.49
CO <sub>2</sub> total en mM/l	2.44		3.27	3.27	3.02
NO <sub>3</sub> mg/l					5,39
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> mg/l					8,37
O <sub>2</sub> mg/l		7.49	7.77	6.70	10.04

**TABLEAU 6 : BULLAGE N2.**

Heures	1.5	3	4.5
T °C	28.00	31.50	29.00
PH <sub>m</sub>	9.71	9.25	9.24
PH <sub>s</sub>	9.68	9.17	9.20
VHcl	20.00	20.00	20.00
pH	2.91	2.88	2.90
Alc tot	0.89	0.80	0.86
Alc Carb	0.29	0.40	0.45
CO <sub>2</sub> mM	0.15	0.26	0.28
O <sub>2</sub> mg/l	12.90	9.50	9.30
NO <sub>3</sub> -			0.01
PO <sub>4</sub> 3-			0.14
PF dep boc	19.3353	19.6754	19.7417
PF dép étuv		19.9836	19.4974
PS dep et.	2.706	2.8611	2.4921
PS arr.	2,5062	2,9131	2.8079
PS dep <sub>boc</sub>	2.5448	2.8170	2.5233
ΔO <sub>2</sub> /gm.s/h		-1.2	-0.7

**TABLEAU 7**

**CAMPAGNE (I) - LE 6 JUIN 1989**

	A1	42	A3	A4	B1	B2	B3	B4
pH	8,4	8,2	8,1	7,7	8,2	8,4	7,8	7,9
Température (°C)	15,6	16,7	16,7	16,5	16,1	16,5	17	17,3
Oxygène dissous (ml/l)	7,9	7,9	6,4	6,9	6,4	6,7	4,4	4,1
NH <sub>4</sub> (μmole/l)	-	-	-	-	-	-	-	-
NO <sub>3</sub> (μmole/l)	indécelable	(0)	(0)	indécelable	0,1	0,4	0	0
PO <sub>4</sub> (μmole/l)	0,5	0,7	0,8	1	0,4	1,3	3,2	3,0

**TABLEAU 8****CAMPAGNE (II) - LE 15 JUIN 1989**

	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4
pH	8,2	8,1	7,7	9,0	7,7	7,9	7,8	7,6
Température T °C	18,2	18	-	-	-	-	-	-
Oxygène dissous (ml/l)	7,8	6,9	5,8	7,2	4	5	4,1	3,5
NH <sub>4</sub> (μmole/l)	0,1	0,3	0,4	0,6	19,7	20	33,4	33,4
NO <sub>3</sub> (μmole/l)	6	2,2	3,9	5,5	-	-	-	-
PO <sub>4</sub> (μmole/l)	2,4	2,80	4,4	4,6	1,7	1,6	1,8	1,4

**TABLEAU 9****CAMPAGNE (III) - LE 29 JUIN 1989**

	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4
pH	7,5	7,6	7,6	7,6	7,1	7,5	7,6	7,8
Température (°C)	17	17	17	17,5	17	17	17	17
Oxygène dissous (ml/l)	5,6	5,7	5,7	5,9	2,10	5,2	3,3	3,8
NH <sub>4</sub> (μmole/l)	2,4	3	3,4	12,2	4,3	4,0	5,5	7,5
NO <sub>3</sub> (μmole/l)	0,5	0,7	1,2	0,7	0,4	1,2	2,2	2,9
PO <sub>4</sub> (μmole/l)	2,3	1,9	2,5	1,70	4,6	2,7	4,8	3,4

**TABLEAU 10**

**CAMPAGNE (IV) - LE 10 JUILLET 1989**

	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4
pH	8,61	9,70	8,60	8,50	7,92	8,13	7,44	7,35
Température (°C)	24	24	25	23,5	23	23	23	23
Oxygène dissous (ml/l)	6,5	6,6	6,6	6,8	2,4	6,0	3,9	4,4
NH <sub>4</sub> (μmole/l)	0,2	2,2	3,7	2,7	2,5	3,5	19,9	30,2
NO <sub>3</sub> (μmole/l)	1,1	2,7	0,7	1,5	7,7	3,9	25	24,5
PO <sub>4</sub> (μmole/l)	1,9	1,3	0,8	1,4	1,5	1,4	7,3	8,4
CO <sub>2</sub> total (m moles/l)	0,64	0,53	0,42	0,47	0,88	0,82	1,50	1,57

**TABLEAU 11**

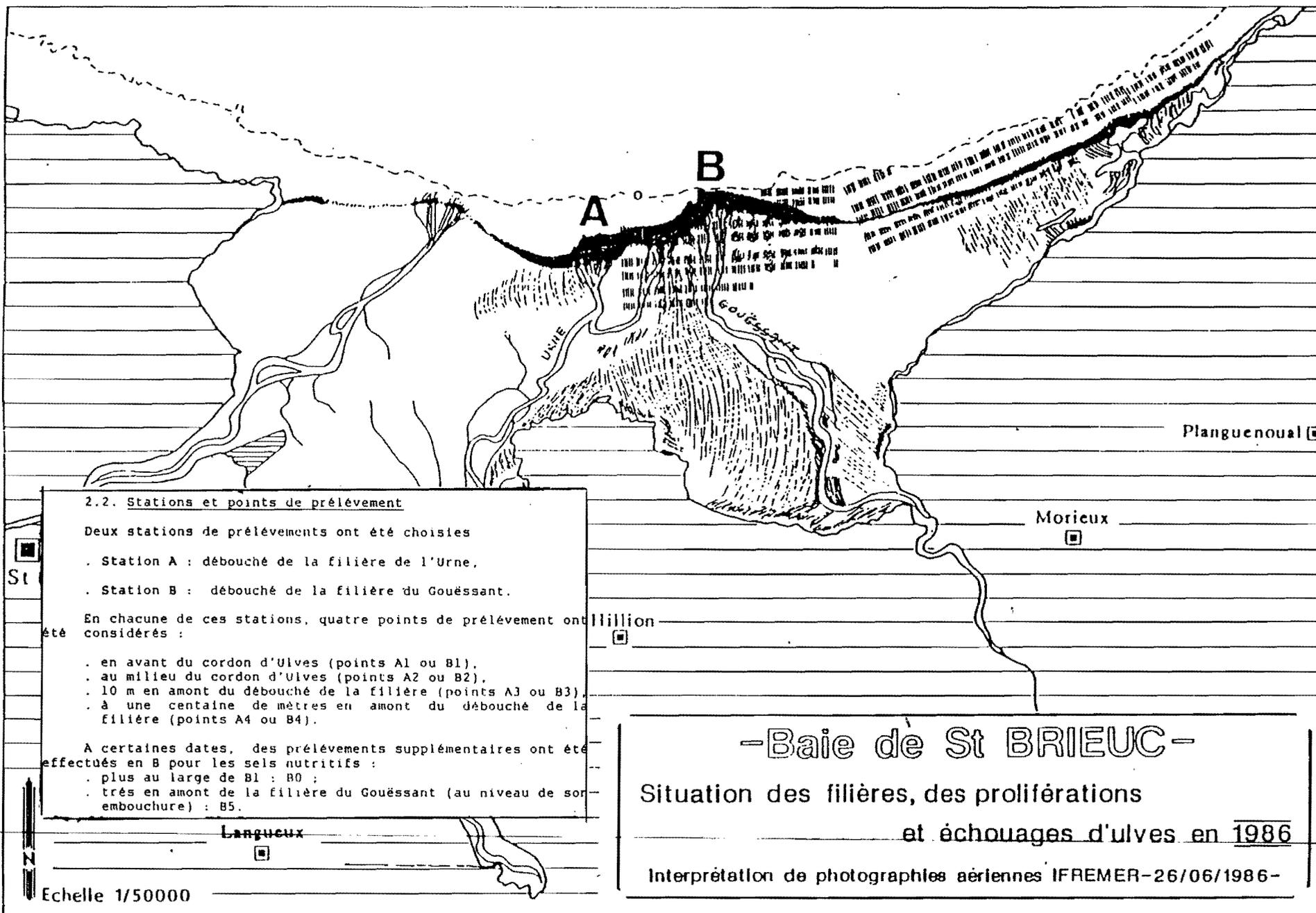
**CAMPAGNE (V) - LE 17 JUILLET 1989**

	A1	A2	A3	A4	B0	B1	B2	B3	B4
pH	8,29	8,49	8,18	8,21		8,35	8,70	7,66	7,66
Température (°C)	23,5	25,5	28	28		25	26	29	29,5
Oxygène dissous (ml/l)	3,9	11,2	5,7	5,5		7,4	10,1	1,5	0,9
NH <sub>4</sub> (μmole/l)	2,7	0,9	0,9	1,7	0,9	0,1	0	12,1	-
NO <sub>3</sub> (μmole/l)	0,6	0,5	1,2	0,5	0,6	0,6	0,6	1,5	2,1
PO <sub>4</sub> (μmole/l)	1,75	1,3	2,2	2,3	2,4	2,4	2,4	17	16,5
CO <sub>2</sub> total (m mole/l)	1,15	0,99	1,03	1,05		1,03	1,99	2,05	2,16

**TABLEAU 12**

**CAMPAGNE (VI) - LE 20 JUILLET 1989**

	A1	A2	A3	A4	B0	B1	B2	B3	B4	B5
PH	8,35	8,45	8,20	8,15	8,26	8,2	8,31	7,87	7,87	-
Température (°C)	25	26	31	27	24	24	24	27	28	-
Oxygène dissous (ml/l)	6,5	7,1	5,2	4,3	5,5	5,8	5,8	3,8	4	0
NH <sub>4</sub> (μmole/l)	0	0,5	0,2	1,5	2,5	2,9	5,5	27,9	27,5	42,7
NO <sub>3</sub> (μmole/l)	0,1	3,4	4,2	8	1,25	6,5	7,8	7,8	8,1	9
PO <sub>4</sub> (μmole/l)	0,7	3,8	1	0,9	1,1	1,3	0,5	4,8	6,3	18
CO <sub>2</sub> total (m moles/l)	1,08	1,04	1,13	0,98	-	1,11	1,10	1,54	1,57	-



**2.2. Stations et points de prélèvement**

Deux stations de prélèvements ont été choisies

- . Station A : débouché de la filière de l'Urne.
- . Station B : débouché de la filière du Gouessant.

En chacune de ces stations, quatre points de prélèvement ont été considérés :

- . en avant du cordon d'Ulves (points A1 ou B1).
- . au milieu du cordon d'Ulves (points A2 ou B2).
- . 10 m en amont du débouché de la filière (points A3 ou B3).
- . à une centaine de mètres en amont du débouché de la filière (points A4 ou B4).

A certaines dates, des prélèvements supplémentaires ont été effectués en B pour les sels nutritifs :

- . plus au large de B1 : B0 ;
- . très en amont de la filière du Gouessant (au niveau de son embouchure) : B5.

**-Baie de St BRIEUC-**

Situation des filières, des proliférations  
et échouages d'ulves en 1986

Interprétation de photographies aériennes IFREMER-26/06/1986-