

N 330-LAS-I

DIRECTION DE L'ENVIRONNEMENT
ET DES RECHERCHES OCEANIQUES

0049298

EXCLU DU PRE

IMPACT POTENTIEL DU FER

PRESENT DANS LES REJETS URBAINS

SUR LES BLOOMS PHYTOPLANCTONIQUES

P. LASSUS & L. LE DEAN

F24

 **IFREMER**

DERO-87-09-MR

INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE POUR L'EXPLOITATION DE LA MER

IFREMER
CENTRE DE NANTES
B. P. n° 1049
44037 NANTES CEDEX 01
40 37 40 00

DIRECTION DE L'ENVIRONNEMENT
ET DES RECHERCHES OCEANIQUES
DEPARTEMENT MILIEU ET RESSOURCES - NANTES

AUTEUR (S) : P. LASSUS et L. LE DEAN		CODE : N° DERO-87-09-MR
TITRE IMPACT POTENTIEL DU FER PRESENT DANS LES REJETS URBAINS SUR LES BLOOMS PHYTOPLANCTONIQUES.		date: juin 1987 tirage nb : 60 Nb pages : 19 Nb figures : 6 Nb photos : /
CONTRAT (intitulé) N° _____		DIFFUSION libre <input checked="" type="checkbox"/> restreinte <input type="checkbox"/> confidentielle <input type="checkbox"/>

<p>RÉSUMÉ Le traitement des effluents urbains au chlorure ferrique à la station de Toulon produit au rejet des teneurs en fer excédant largement les valeurs moyennes en eau de mer. Une incidence potentielle sur le phytoplancton d'eau rouge a été envisagée, et en particulier sur <i>Prorocentrum minimum</i>, espèce dont les blooms sont de plus en plus fréquents sur le littoral méditerranéen. Des sels ferreux et ferriques à degré de solubilité variable en eau de mer ont été testés sur la croissance de cet organisme. Toutes les formes expérimentées améliorent considérablement la croissance par rapport à une eau de mer carencée en fer, en particulier le citrate ferrique. L'espèce étudiée semble pouvoir être considérée comme "opportuniste" compte tenu de sa capacité à utiliser aussi bien le fer particulaire ou soluble.</p> <p>ABSTRACT Ferric chloride treatment of domestic sewer discharge at Toulon Station induces iron concentrations in the plume exceeding mean values of natural sea water. A possible effect on red tide phytoplankton was considered especially on <i>P. minimum</i>, species increasingly blooming in Mediterranean nearshore waters. Ferric and ferrous salts, at different solubility levels in sea water, were tested for the growth of this algae. All experimented chemical forms increase considerably the growth when compared with iron deficient sea water medium, especially ferric citrate. This algal species seems to be an "opportunistic" one, using particulate as well as soluble iron.</p>
<p>mots-clés : Fer, <i>Prorocentrum minimum</i>, croissance, rejets urbains</p>
<p>key words : Iron, <i>Prorocentrum minimum</i>, growth, dom.sewer discharge</p>

© IFREMER - Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer,



SOMMAIRE

I - INTRODUCTION

II - ETAT DE L'ART

1. Fer et production primaire
2. Le cas des dinoflagellés et des organismes d'eau rouge
3. Les processus cellulaires connus

III - METHODES

1. Composés testés et constantes de stabilité
2. Algue test : Prorocentrum minimum

IV - RESULTATS

1. Croissances algales
2. Recherche de la concentration optimale
3. Discussion

V - CONCLUSION

IMPACT POTENTIEL DU FER PRESENT DANS LES REJETS URBAINS SUR LES BLOOMS PHYTOPLANCTONIQUES

P. LASSUS et L. LE DEAN

I - INTRODUCTION

Parmi les éléments dominants analysés en juin 1985 dans le rejet de l'émissaire Sainte Marguerite (Toulon) le fer occupe une place à part. En effet, le traitement de l'effluent au chlorure ferrique (floculation) d'une part et les charges non négligeables avant traitement d'autre part (3.97 mg/l) font que les teneurs dans le champ proche peuvent excéder largement les normes admises couramment en eau de mer océanique (5.5 à 140 ng/l - BRULAND, 1983). Bien que le fer, sous forme réduite ou oxydée, ne soit pas à proprement parler un "toxique" pour l'environnement marin, les effets de "gène biologique" dus aux floculats d'hydroxyde ferrique peuvent être évoqués, de même que le rôle de cet élément comme facteur limitant pour la production primaire. C'est ce deuxième aspect qui sera traité ici, compte tenu de l'innocuité certaine de ce métal vis-à-vis de la faune sessile ou vagile jusqu'à des teneurs aussi élevées que 20 mg/l. En revanche, de nombreux auteurs ont montré non seulement l'importance du fer pour la croissance d'organismes phytoplanctoniques, en particulier en milieu néritique estuarien, mais également son rôle probable dans l'initiation de blooms parfois constitués d'espèces à caractère toxique.

Dans ce cas on peut considérer qu'il s'agit d'une nuisance indirecte et poser le problème général de l'impact potentiel du fer sur les écosystèmes phytoplanctoniques. Nous essayerons d'approcher cette question à partir de la littérature existante sur le sujet et d'essais expérimentaux visant à montrer l'importance de la biodisponibilité du fer en fonction de son état dans le milieu (particulaire, dissous, ionique ou chélaté, etc...).

II - ETAT DE L'ART

1. Fer et production primaire

Comme le rappellent AUBERT et AUBERT (1986), de nombreux auteurs ont démontré l'importance du fer dans la productivité marine : ALLEN et NELSON (1910), COOPER (1935), THOMPSON et BREMMER (1935), LEWIS et GOLDBERG (1954), ARMSTRONG (1957), SCHAEFER et BISHOP (1958). Cependant, il semble que les tentatives réalisées "in situ" pour déceler une correspondance entre teneurs analysées et chlorophylle a

(production primaire) n'aient pas abouti (MENZEL et RYTHER, 1961 ; AUBERT et AUBERT, 1986) en raison du suivi trop ponctuel de phénomènes obéissant à une certaine dynamique spatiotemporelle.

C'est pourquoi la plupart des travaux concernant la biodisponibilité et les taux d'absorption du fer par les algues unicellulaires ont été réalisés à partir de cultures monospécifiques "in vitro".

En ce qui concerne les diatomées, HARVEY, en 1938, propose un rôle direct de l'hydrate $\text{Fe}(\text{OH})_3$ adsorbé sur la croissance. Plus tard, AUBERT et al. en 1968, testent deux formes chimiques du fer : l'oxyde Fe_2O_3 et l'hydroxyde (après introduction dans le milieu de sulfate ferreux ammoniacal) sur la croissance d'Asterionella japonica. Il en conclut que la première est inutilisable alors que la seconde améliore la croissance par rapport à un milieu carencé en fer. Avec la même espèce, GOLDBERG en 1952, avait montré que la croissance était nulle pour des teneurs inférieures à 0,8 micromoles/l et que le fer sous forme d'humate favorisait moins la croissance que le fer colloïdal. En 1968, HAYWARD étudie le rôle du fer sur la croissance de Phaeodactylum tricorutum et montre que cette diatomée peut l'utiliser sous forme particulière pour autant qu'il atteigne au moins la teneur de 45 $\mu\text{g}/\text{l}$ dans le milieu. Par ailleurs, il montre qu'une absence de fer dans la culture provoque, outre une chute de la croissance, une dépigmentation cellulaire, cette dernière étant "récupérable" si l'on rajoute du fer. Enfin en 1969, le même auteur montre à quel point cette espèce est tolérante pour des concentrations plus élevées (4,2 mg/l). Toujours avec P. tricorutum, des essais d'enrichissement avec différentes formes chimiques du fer (FeSO_4 , FeCl_3 , FeEDTA, citrate de fer et d'ammonium) ont été tentés contre un témoin carencé en fer (LASSUS, 1974) et ont montré également une amélioration de croissance sensible, en particulier avec le citrate et le fer EDTA. En ce qui concerne les chlorophycées, notons que DAVIES (1970) a également démontré la nécessité du fer pour la croissance de Dunaliella tertiolecta, tandis qu'en 1930, HOPKINS avait déjà montré l'importance du fer ionique sur le développement des chlorelles.

Le rôle des composés humiques en tant que chélateurs a été souvent évoqué, voire controversé : GRAN, en 1933, admet que le fer lié à ces composés est actif sur la production primaire, mais LANGFORD et KHAN en 1975 montrent que le complexe Fe^{+++} /acide fulvique se dissocie lentement mais néanmoins plus vite que le complexe Fe EDTA, ce qui remet en cause le rôle général des "substances jaunes".

2. Le cas des dinoflagellés et des organismes d'eau rouge

Parmi les différents groupes phytoplanctoniques, il est important d'étudier les différences spécifiques de réponse à des enrichissements ou des carences en fer. Ainsi TAKASHI et FUKAZAWA (1982) séparent les espèces réagissant aux macro (sels nutritifs) ou micronutriments (cas du fer). Dans le premier cas, ils placent Skeletonema costatum, Thalassiosira sp. et Eutreptiella sp. Dans le second groupe on rencontre Heterosigma et Gymnodinium sp. (type intermédiaire)

qui sont stimulés par le fer et le manganèse relargués à partir des sédiments anoxiques vers la colonne d'eau (première espèce) ou par le fer et la vitamine B 12 en milieu oligotrophe (deuxième espèce).

Déjà, en 1973, IWASAKI sépare en trois classes les organismes phytoplanctoniques provoquant des eaux rouges sur les côtes japonaises selon leurs besoins nutritifs :

- groupe I : dépendants de l'apport en Azote et Phosphore par lessivage des sols (Heterosigma akashiwo, Rhodomonas ovalis)
- groupe II : stimulés par de fortes teneurs en fer et/ou manganèse (Eutreptiella sp., Exuviaella sp.)
- groupe III : stimulés par des substances organiques telles que bases puriques et pyrimidiques (Heterosigma inlandica, Peridinium hangoei, Gymnodinium nelsoni, Polykrikos schwartzi, Exuviaella sp.)

On trouve dans les groupes II et III, le genre Exuviaella (ou Prorocentrum) qui se trouve être favorisé à la fois par le fer d'origine industrielle et par les rejets urbains (fig. 1).

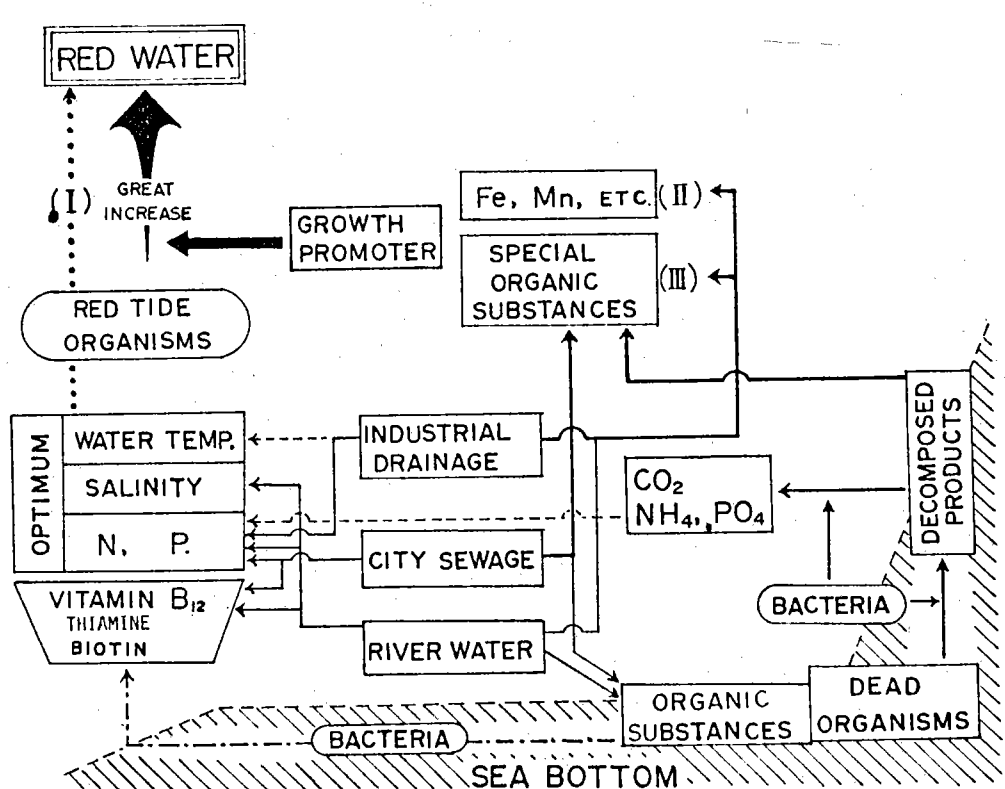


Fig. 1 - Schematic presentation of Growth mechanisms of flagellates leading to red tides. In : IWASAKI, 1973.

En 1974, KIM et MARTIN montrent la valeur prédictive d'un "index fer" pour les eaux rouges à Gymnodinium breve, tandis que GLOVER (1978) montre une relation "in situ" entre blooms de dinoflagellés et teneurs en fer.

Selon OKAICHI (1983), les causes des eaux rouges démesurées et toxiques rencontrées dans les eaux japonaises seraient en grande partie imputables aux apports de polluants. La chélation des déchets industriels avec le fer aurait des effets stimulants reconnus sur Eutrep-tiella sp., Heterosigma akashiwo, Prorocentrum triestinum. Par ailleurs (MONTANI et OKAICHI, 1982) une corrélation étroite entre le fer réactif et le carbone organique a été trouvée dans les sédiments "réducteurs" d'une baie japonaise : le fer organique séparé sur Sephadex aurait une activité très stimulante sur la croissance de Chattonella antiqua.

3. Les processus cellulaires connus

Selon les espèces considérées, l'utilisation du fer peut varier considérablement, et l'optimum de concentration suit cette tendance.

Ainsi, RYTHER et KRAMER (1961) qui ont étudié en culture les besoins en fer de Pyramimonas, Coccolithus, Cyclotella, Isochrysis, Chaetoceros, Amphidinium et Skeletonema, ont constaté que les espèces côtières répondaient nettement mieux que les océaniques à une augmentation importante des teneurs en fer dans le milieu. Les auteurs supposent que les basses concentrations naturelles enregistrées en plein océan conditionnent les espèces du large à se maintenir à des teneurs très faibles en fer.

Les résultats trouvés par ces auteurs et par HAYWARD (1968), DAVIES (1970) sont figurés dans le tableau 1 et illustrent parfaitement les écarts interspécifiques. En fait, en dehors de la différence observable entre espèces océaniques et espèces côtières, il faut tenir compte des processus cellulaires développés par chaque espèce et lui permettant - par exemple - de mieux utiliser le fer disponible dans un milieu carencé.

Espèces	Fer en µg/l	Auteurs
Cyclotella nana	2.6	RYTHER et KRAMER, 1961
Chaetoceros lorenzianus	6.5	"
Chaetoceros sp.	13 - 26	"
Pyramimonas sp.	1 300	"
Amphidinium carteri	65	"
Isochrysis galbana	130	"
Skeletonema costatum	130	"
Phaeodactylum tricorutum	50	HAYWARD, 1968
Dunaliella tertiolecta	65	DAVIES, 1970

Tabl. 1 - Croissance optimale pour différentes espèces phytoplanctoniques et teneur en fer correspondante.

En effet, sachant que la synthèse de chlorophylle a dépend du fer disponible dans le milieu dans la mesure où celui-ci conditionne l'activité acide aminolevulinique synthétase, il convient de prendre en considération les espèces qui peuvent intégrer de façon active le fer présent par l'intermédiaire de protéines spécialisées de type sidérophore.

A ce titre, les travaux les plus intéressants ont probablement été réalisés avec la diatomée Thalassiosira weissflogii. En 1980, ANDERSON et MOREL démontrent chez cette espèce, la nécessité d'une réduction $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ pour l'assimilation du fer par la cellule, et ceci au moyen d'un complexant "fort", le BPDS, spécifique de Fe^{2+} . En présence de BPDS qui stabilise le Fe^{2+} présent dans le milieu, l'utilisation par la cellule de celui-ci est complètement inhibée. Par la suite, les auteurs (1982) détaillent le mécanisme de transfert membranaire en mettant en évidence le rôle d'un complexe métallique, la phytotransferrine, dont l'activité sur Fe^{2+} est contrôlée par le pseudo-équilibre du fer libre dans le milieu. En 1983, ces mêmes auteurs montrent, chez la même espèce, que le cadmium aurait un rôle inhibiteur dans l'assimilation cellulaire du fer. Un article récent (à paraître) confirme la diminution de développement de cette diatomée en milieu carencé en fer conjointement à une diminution des quotas de fer cellulaire et à une augmentation des taux maximaux de consommation à court terme.

En ce qui concerne les dinoflagellés, TRICK et al. (1983) montrent que Prorocentrum minimum et P. mariae Lebouriae produisent un sidérophore du type hydroxamate en condition de "fer déficient", à la différence de P. maximum et P. micans qui dépérissent sans produire ce sidérophore spécifique de Fe^{+++} . Dénommé par TRICK "Prorocentrine", ce sidérophore a un spectre d'absorption UV typique des hydroxamates.

Selon CORBETT in ANDERSON (1979), l'acide hydroxamique serait le chélateur "fort" nécessaire à l'assimilation du fer par les algues marines avec une constante de dissociation, $\log K = 28$, supérieure à celle de Fe EDTA (23) pour le pH marin (8.0). De plus les hydroxamates auraient une bien meilleure sélectivité pour Fe^{+++} que l'EDTA en présence de Ca^{+++} et Mg^{+++} (Tabl. 2).

	Mg^{++}	Ca^{++}	Fe^{++}	Fe^{+++}
Ferrioxamine B	4.3	2.6	7.2	30.5
EDTA	8.7	10.6	14.4	25.1

Tabl. 2 - Log K (absolu) pour la ferrioxamine B et l'EDTA complexant divers éléments. ANDERSON (1979).

III - METHODES

1. Composés testés et constantes de stabilité

Nous avons utilisé des complexants "forts", tels que l'EDTA, plus ou moins "faibles" comme les acides carboxyliques (citrate, lactate) et du chlorure ferrique pour comparer les effets des chélateurs sur la croissance à la forme hydratée colloïdale du fer après oxydation.

Des solutions ont donc été préparées, respectivement de : chlorure ferrique $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, de Fer EDTA, de Citrate de fer $\text{Fe}(\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ à même concentration en Fe^{+++} ou Fe^{++} (lactate) soit : 500 mg/l.

Pour chacun de ces composés, nous avons essayé de retrouver les constantes de stabilité en eau de mer (pH 8.0) selon la formule que donne JOHNSTON (1964) soit :

$$\text{Cst stabilité} = \log_{10}K \text{ avec } K = \frac{[\text{MY}_x]}{[\text{M}][\text{Y}]^x} \text{ pour } \text{M} + x\text{Y} \rightleftharpoons \text{MY}_x$$

Les résultats donnés par différents auteurs sont exprimés dans le tableau 3.

	Fe ⁺⁺	Fe ⁺⁺⁺	
Acide nitrilotriacétique NTA	8.9	16.0	Chélateurs
Acide ethylenediamine EDTA tétra acétique	14.4	24.8 23.0 25.1	
Acide diethylenetriamine DTPA penta acétique	16.7	27.9 26.2	
Acide cyclohexylene CDTA diamine tetra acétique	18.2	28.2 29.3	
Acide citrique $\text{Fe}(\text{OH})_2\text{Cit}^{--}$		18.3	Acides carboxyliques
Acide lactique \approx Ac. acétique ?	(2.1 ?)		
Hydrate $\text{Fe}(\text{OH})_3$		—> 0	

Tabl. 3 - $\log_{10}K$ pour différents complexants du fer oxydé ou réduit en eau de mer (JOHNSTON, 1964).

Sachant que dans le cas du Fe EDTA on estime qu'à pH : 8.3 environ, 30 % du fer présent précipitent et que donc 70 % restent sous forme soluble complexé, il paraît logique de considérer que la forme soluble "disponible" pour les cellules est fonction de la constante de stabilité du complexe.

Par rapport aux solutions expérimentales testées ici, nous devons avoir dans nos milieux de culture, à même teneur en Fe^{+++} (Fe^{++} pour le lactate) des quantités de fer soluble disponible telles que :

Fe EDTA > Citrate de fer >> Lactate de fer >>> Hydroxyde ferrique

2. Algue test : Prorocentrum minimum

Ce dinoflagellé était intéressant à tester (fig. 1) et ce pour plusieurs raisons :

- il passe pour produire un sidérophore de type hydroxamate en milieu carencé en fer (TRICK et al. 1983, a et b)
- c'est une espèce d'eau rouge décrite par plusieurs auteurs, parfois avec des effets toxiques sur le consommateur (VSP : Venerupine Shellfish Poison) selon la sous-espèce considérée (NAKAZIMA, 1968 ; OKAICHI et IMATOMI, 1979 ; TANGEN, 1980)
- il a provoqué des eaux rouges à plusieurs reprises sur les côtes françaises, soit dans des zones soumises à des rejets industriels importants (usines de dioxyde de Titane) et riches en fer (baie de Seine), soit à proximité de débouchés estuariens (delta du Rhône) mais dans tous les cas avec une affinité estivale pour :
 - 1) les fortes dessalures superficielles,
 - 2) le lessivage des sols consécutif à des pluies abondantes
 - 3) des températures superficielles élevées.

Pour ce qui concerne la Méditerranée, il a été signalé à plusieurs reprises (fig. 2) devant l'embouchure du Rhône : 1970, 1983, 1986 avec des concentrations variant de 0,5 à 20.10^6 cellules/litre.

En prenant comme hypothèse une influence possible de la charge en fer de l'émissaire Sainte Marguerite - liée à la présence de chélateurs organiques dans le rejet - sur les populations phytoplanctoniques côtières, nous avons donc choisi P. minimum comme étant la meilleure espèce "test".

La souche utilisée est typiquement méditerranéenne et provient de l'Algothèque de l'Unité 303 INSERM de Villefranche-sur-mer.

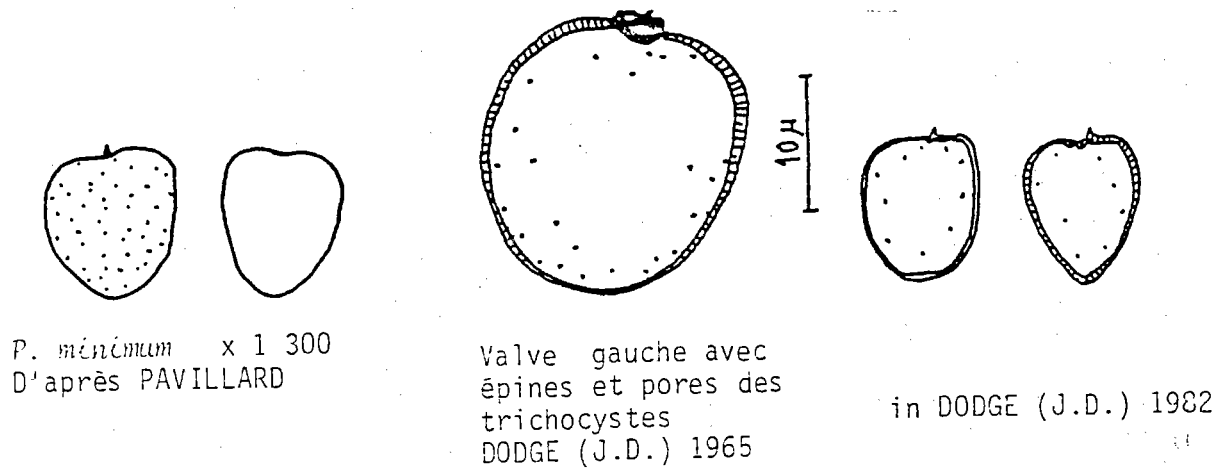


Figure 2 : Prorocentrum minimum, d'après différents auteurs.

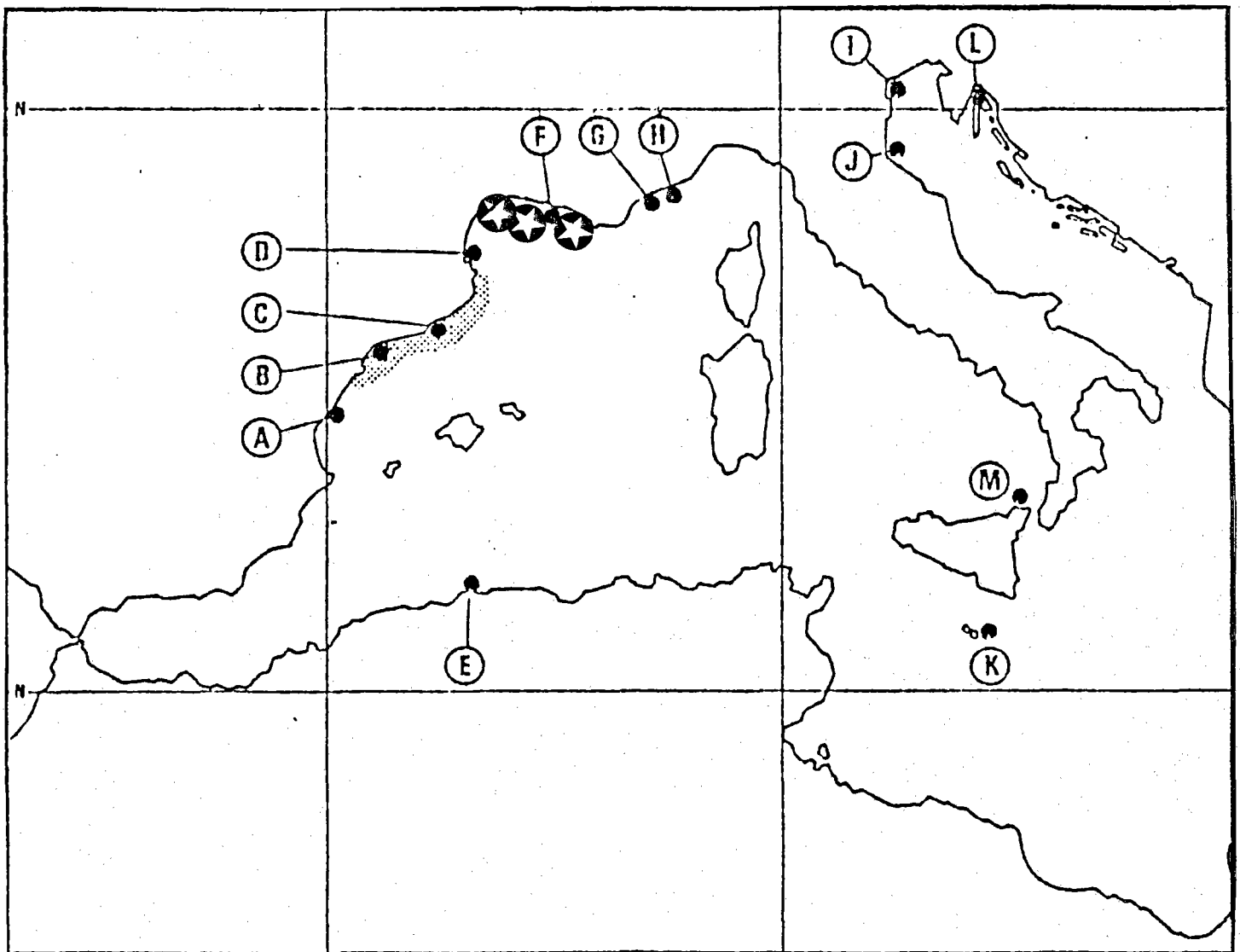


Figure 3 : Distribution des eaux rouges en Méditerranée (A à M) entre 1960 et 1970. D'après JACQUES et SOURNIA (1979). Localisation des eaux colorées à Prorocentrum minimum, Prorocentrum sp. et Prorocentrum cordatum survenues en 1970, 1983, 1984 et 1986 : étoiles.

IV - RESULTATS

1. Croissances algales

Nos essais ont été réalisés à partir d'une eau de mer naturelle prélevée au large du Croisic et filtrée sur membrane Sartorius (0.22 microns de porosité). Un stock de 25 litres d'eau de mer "exempte de fer" (teneurs inférieures au seuil de détection de $5 \mu\text{g/L}^{-1}$ avec la méthode à l'orthophénathroline confirmée par la ferrozine (STOOKEY, 1970) a été ainsi constitué. Toute la verrerie pyrex utilisée était soigneusement lavée avec une solution acide afin d'éviter des contaminations parasites. Pour chaque concentration (0 - 50 - 100 et 150 $\mu\text{g/l}$ de fer) trois ballons de 250 ml ont été inoculés avec la même concentration de P. minimum (10^2 cellules/litre) et la moyenne des effectifs cellulaires calculée tous les deux jours à partir de comptages sur cellules Nageotte. Les ballons étaient soumis à un éclairage 12/12 et agités tous les jours tandis que la température d'expérience était fixée à $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. A titre d'indication, nous avons représenté dans la figure 4 les variations observées pour chaque comptage avec le fer EDTA. La solution nutritive rajoutée à l'eau de mer filtrée correspond à un milieu EPA (WALSH et ALEXANDER, 1980) sans fer (annexe 1). Afin de comparer plus facilement les croissances algales selon les différents sels de fer ajouté, nous avons par la suite transformé les courbes de croissance en droites de régression.

2. Recherche de la concentration optimale

Au début de la phase de plateau (28°) nous avons comparé le rendement des différentes cultures (fig. 5) selon la teneur en fer et la forme chimique testée.

Si la croissance est quasi nulle à moins de $5 \mu\text{g/l}^{-1}$ de fer - ce qui confirme l'importance capitale de ce métal en tant qu'oligoélément pour la croissance de P. minimum - on observe une croissance optimale à 100 $\mu\text{g/l}$, très nettement pour la citrate, de façon moins marquée avec le fer EDTA et le chlorure ferrique, tandis que le lactate ferreux ne montre une amélioration de croissance qu'à 150 $\mu\text{g/l}$.

En observant de plus près les droites de régression exprimant la croissance sur la figure 6, il apparaît par ailleurs que :

- 1) le taux de division journalier ($K_2(t_n - t_0)$) est comparable pour fer EDTA et FeCl_3 ,
- 2) la croissance avec le citrate ferrique est plus importante et varie considérablement entre 50 et 100 $\mu\text{g/l}$ alors qu'à 150 $\mu\text{g/l}$ un phénomène de "saturation" semble intervenir
- 3) la croissance est moins bonne en présence de lactate ferreux mais que la concentration de 150 $\mu\text{g/l}$ ne permet pas d'atteindre le seuil optimal.

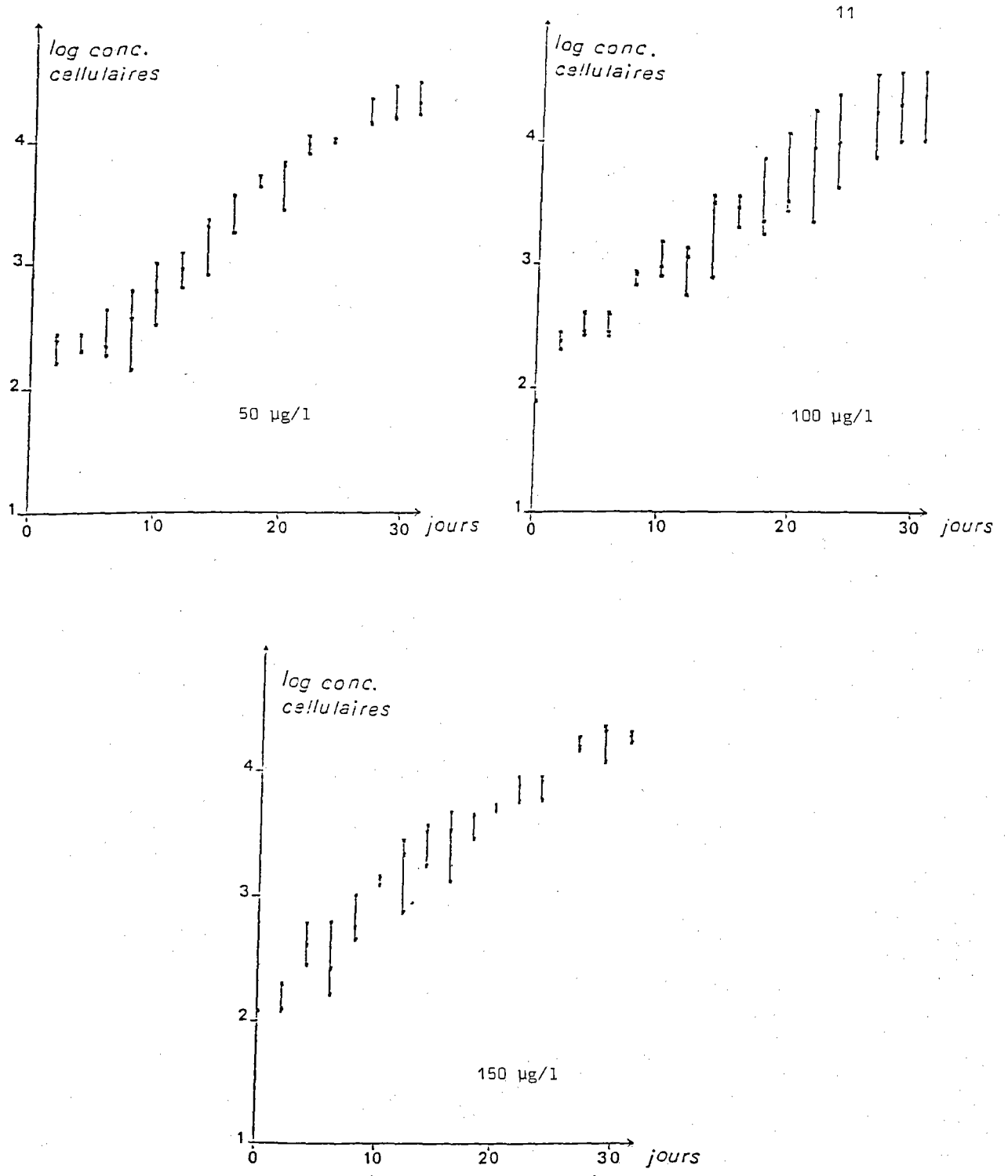


Figure 4 : Croissance de *P. minimum* (Log₁₀ conc. cellulaire) en présence de
 → Fer EDTA à 50, 100 et 150 µg/l et variations observées à
 chaque comptage.

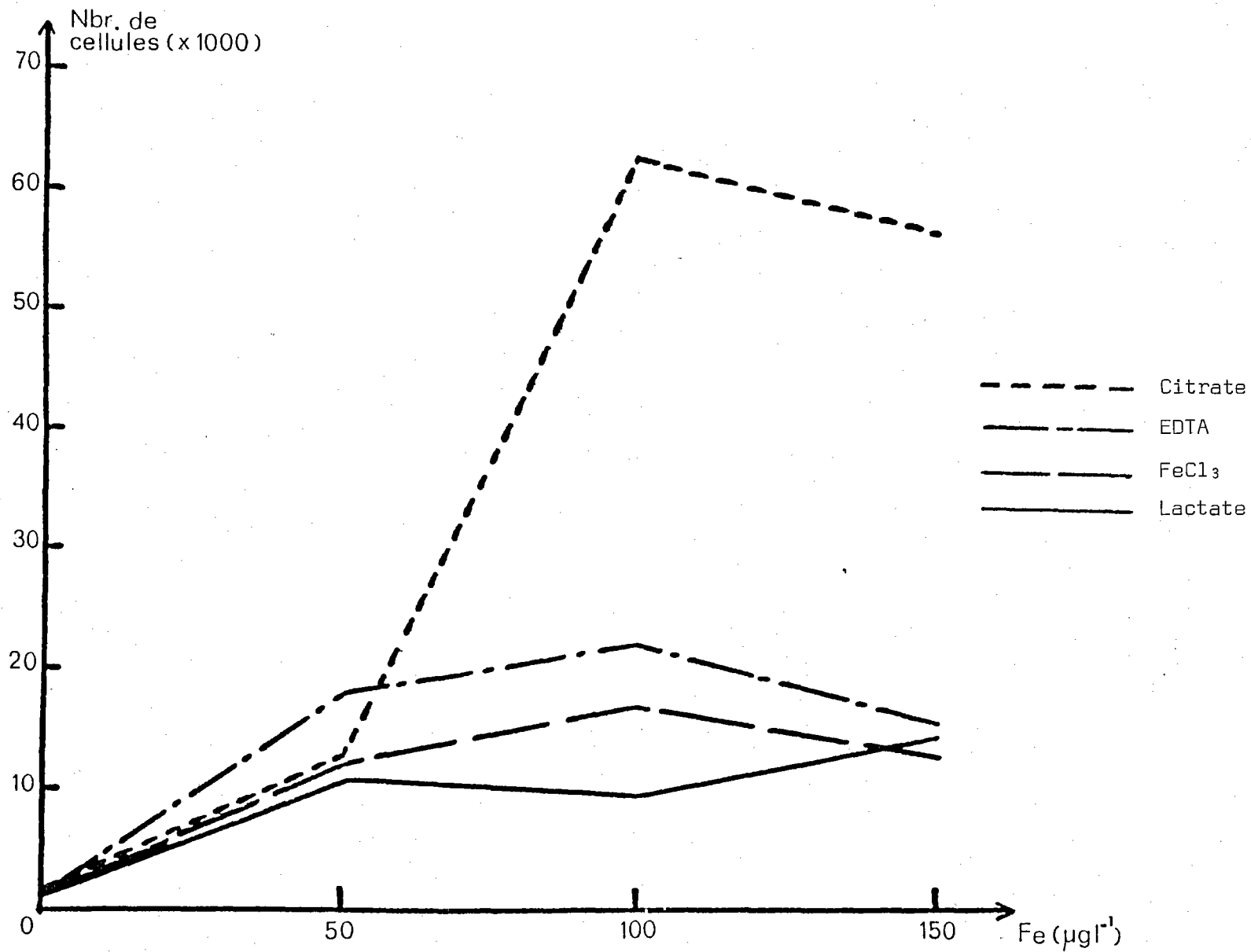


Figure 5 : Croissances algales en fonction de la concentration en fer et des sels ferreux/ferriques utilisés.

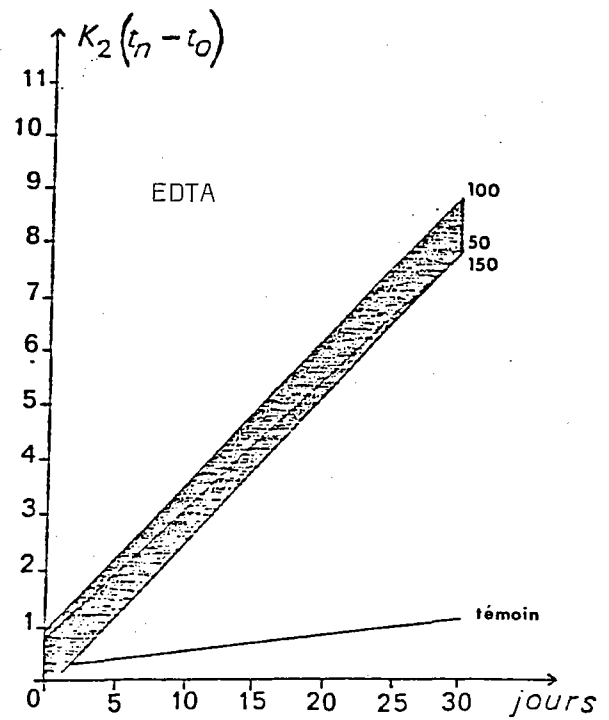
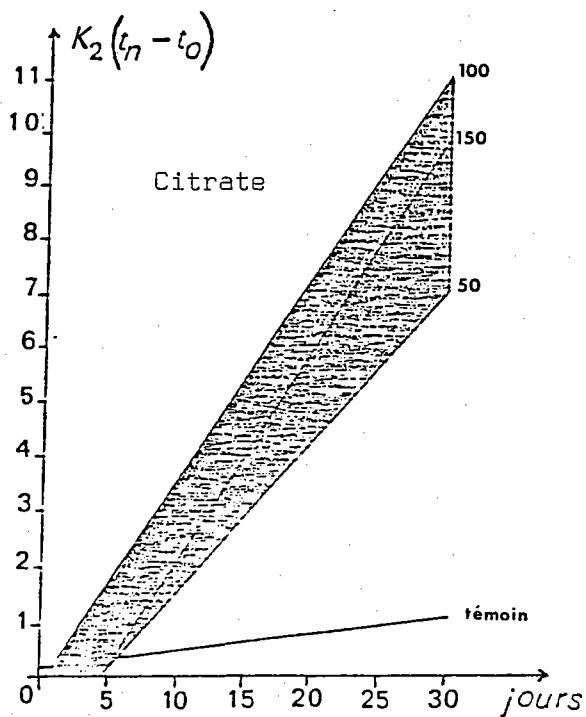
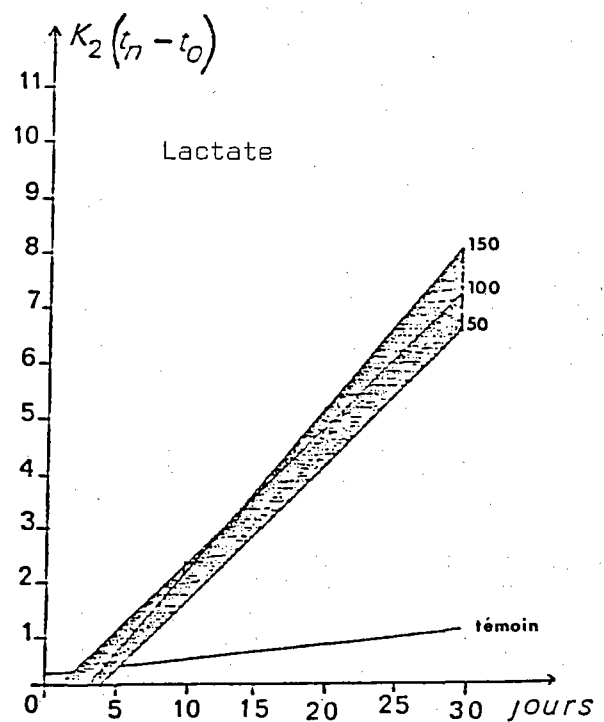
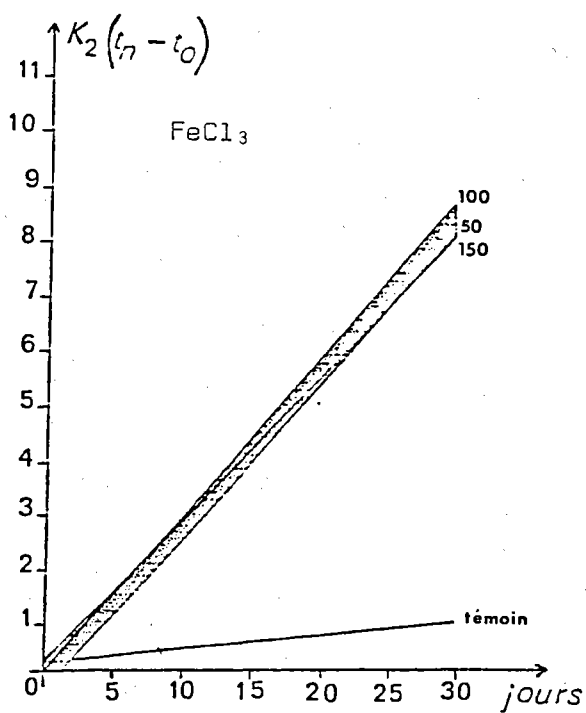


Figure 6 : Influence de la forme chimique du Fer sur le développement de P. minimum : droites de régression.



3. Discussion

Afin de mieux comprendre ces résultats, il était nécessaire de les interpréter en fonction des différents paramètres abiotiques pouvant intervenir. C'est ce que nous avons résumé sur le tableau 4.

Composé	Fe Valence	K _D	C.O (µg/l)	% Fe Sol.	Conc. cell. 29° jour. N. Cell./l ⁻¹	
					100	150
Fer EDTA	3	23 ± 1	100	70	25 400	18 150
Fe-citrate	3	18.3	100	?	62 200	56 750
Fe (OH) ₃	3	→ 0	100	≈ 0	16 720	14 874
Lactate	2	≈ 2	150	?	9 933	14 080

Tabl. 4 - Paramètres liés à la croissance (K_D : constante de stabilité, CO : concentration optimale, % Fe Sol : pourcentage théorique de fer soluble par rapport au Fe total ajouté).

Au vu de ces résultats, il apparaît donc que :

- malgré une dissociation qui doit être très rapide au pH de l'eau de mer (K_D environ 2) le fer II lié au lactate favorise peu la croissance, même si l'on peut supposer qu'il a été en grande partie oxydé en Fe III
- l'utilisation du fer particulaire (FeOH₃) ou soluble (70 % sous forme EDTA) paraît identique chez P. minutum.

Par ailleurs, si l'on se réfère au tableau 1, la concentration optimale de fer pour la croissance de P. minutum (100 µg/l) le classe parmi des espèces néritiques "demandeuses de Fer" (Isochrysis, Skeletonema) plutôt que comme une espèce de type "océanique" moins dépendante (Cyclotella, Chaetoceros).

Sachant par ailleurs (TRICK et al., 1983 a et b) que cette espèce, en milieu carencé en fer, est à même de produire un siderophore, la prorocentrine, on peut supposer que différents mécanismes physiologiques lui permettent d'utiliser aussi bien Fe II que Fe III sous forme soluble ou particulaire. Néanmoins, les vitesses d'assimilation doivent jouer évidemment fortement sur les taux de croissance.

V - CONCLUSION

De l'ensemble de ces résultats, nous pouvons retenir les points suivants :

- Prorocentrum minutum, dinoflagellé d'eau rouge fréquent sur le littoral méditerranéen (et atlantique) en période estivale ne peut se développer correctement en l'absence de fer dans le milieu de culture
- cette espèce est cependant connue pour produire un siderophore en milieu carencé en fer afin d'exploiter au maximum cet élément. La survie relative des cellules témoins (milieu contenant moins de 5 $\mu\text{g/l}^{-1}$ de fer) sans croissance traduit peut être cette réaction physiologique
- en milieu non carencé en fer, la croissance optimale est observée à 100 $\mu\text{g/l}^{-1}$, ce qui classe cette espèce parmi les algues unicellulaires néritiques à besoins en fer élevés
- la forme chimique du fer présent dans le milieu influe peu sur son utilisation au niveau particulaire/soluble, en revanche le Fe III semble mieux utilisé que Fe II tandis que le citrate ferrique montre un effet plus favorable sur la croissance de P. minutum.

En résumé, il semble que cette espèce puisse être favorisée par rapport à d'autres lors d'un apport en fer particulaire ou soluble dans le milieu compte tenu de sa facilité d'adaptation aux différents sels ferriques testés.

ANNEXECOMPOSITION DU MILIEU EPAEau de mer synthétique

Chlorure de sodium (NaCl)	22 g
Chlorure de magnésium (MgCl ₂ .6H ₂ O)	9,7 g
Chlorure de sodium anhydre (Na ₂ SO ₄)	3,7 g
Chlorure de calcium anhydre (CaCl ₂)	1,0 g
Chlorure de potassium (KCl)	0,65 g
Hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO ₃)	0,20 g
Acide borique (H ₃ BO ₃)	0,023 g
Eau distillée, compléter à	1 l

Solutions mères du milieu EPASolution 1

MnCl ₂ .4H ₂ O	0,144 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,045 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,157 mg
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,404 mg
Eau distillée, compléter à	1 l

Solution 2

Thiamine HCl	50 mg
Biotine	0,01 mg
B ₁₂	0,12 mg
Eau distillée, compléter à	100 ml

Solution 3

K ₃ PO ₄	3 g
NaNO ₃	50 g
Na ₂ SiO ₃ .5H ₂ O	15 g
Eau distillée, compléter à	1 l

On ajoute 15 ml de solution 1, 0,5 ml de solution 2 et 1 ml de solution 3 à 1 l d'eau de mer synthétique.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN (E.J.), NELSON (E.W.), 1910.- On the artificial culture of marine diatoms. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 8 : 421-474.
- ANDERSON (D.M.), 1979.- The role of chelators and trace metals in toxic blooms. *Toxic dinoflagellate Blooms*. Taylor/Seliger Eds. Elsevier North Holland : 463-467.
- ANDERSON (M.A.), MOREL (F.M.), 1980.- Up take of Fe (II) by a diatom in toxic culture medium. *Marine Biology Letters* (1) 263-268.
- ANDERSON (M.A.), MOREL (F.M.), 1982.- The influence of aqueous iron chemistry on the uptake of iron by the coastal diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Limnol. Oceanogr.* 27 : 789-813.
- ARMSTRONG (F.A.J.), 1957.- The iron content of sea water. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 36 : 509-517.
- AUBERT (M.), GAMBAROTTA (J.P.), LAUMOND (F.), 1968.- Rôle des apports terrigènes dans la multiplication du phytoplancton marin. Cas particulier du fer *RIOM* 12 : 75-119.
- AUBERT (M.), AUBERT (J.), 1986.- Eutrophie et dystrophie en milieu marin. Phénomènes planctoniques et bactériens. *Rev. Int. Oceanogr. Méd.* 83-84. Ministère de l'Environnement, 302 p.
- COOPER (L.H.N.), 1935.- Iron in the sea and in marine plankton. *Proc. Roy Soc. London*, 118 B. : 419-438.
- DAVIES (A.G.), 1970.- Iron, chelation and the growth of marine phytoplankton I. Growth kinetics and Chlorophyll production in cultures of the euryhaline flagellate *Dunaliella tertiolecta* under iron-limiting conditions. *JMBA. UK* 50 : 65-86.
- GLOVER (H.E.), 1978.- Iron in Maine coastal waters : seasonal variation and its apparent correlation with the dinoflagellate bloom. *Limnol Océanogr.*, 23 : 534-537.
- GOLDBERG (E.D.), 1952.- Iron assimilation by marine diatoms. *Biol. Bull. mar. biol. Lab. Woods Hole*, 102 : 243-248.
- GRAN (H.H.), 1933.- Studies on the biology and chemistry of the Gulf of Maine II. Distribution of the phytoplankton in August, 1932. *Biol. Bull.*, 64 : 159-181.

- HARVEY (H.W.), 1938.- The supply of iron to diatoms. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 22 : 205-225.
- HAYWARD (J.), 1968.- Studies on the growth of Phaeodactylum tricornutum. II. The effect of iron on growth. *JMBA. UK* 48 : 215-302.
- HOPKINS (E.F.), 1930.- *Bot. Gaz.*, 89-209.
- IWASAKI (H.), 1973.- The physiological Characteristics of Neritic Red Tide Flagellates. *Bull. Plankton Soc. Japan.* 19(2) : 104-114.
- JOHNSTON (R.), 1964.- Sea water, the natural medium of phytoplankton II. Tracemetals and chelation, and general discussion. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 44 : 87-109.
- LASSUS (P.), 1974.- Etude de la toxicité de solutions acides de sels de fer sur le plancton marin. Thèse 3ème cycle. *Biol. Appliquée. Univ. Aix-Marseille I.*
- KIM (Y.S.), MARTIN (D.F.), 1974.- Interrelationship of Peace River parameters as a basis of the iron index : a predictive guide to the Florida red tide : *Water Research* 8 : 607-616.
- LEWIN (J.), CHEN (C.H.), 1971.- Available iron : a limiting factor for marine phytoplankton. *Limnol. oceanogr.* 16 : 671-675.
- LEWIS (G.J.), GOLDBERG (E.D.) 1954.- Iron in marine waters. *J. Mar. Res.* 13, 1-3 : 183-197.
- MENZEL (D.W.), RYHER (J.H.), 1961.- Nutrient limiting the production of phytoplankton in the Sargasso Sea, with special reference to iron. *Deep Sea. Res.* 7 : 276-281.
- MONTANI (S.), OKAICHI (T.), 1982.- Iron in sediments and pore water of the Harima-Nada.- *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.* 48 (10) : 1473-1479.
- NAKAZIMA (M.), 1968.- Studies on the Source of Shellfish Poison in Lake Hamana. IV. Identification and Collection of the Noxious Dinoflagellate. *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.* 34 (2) : 130-132.
- OKAICHI (T.), IMATOMI (Y.), 1979.- Toxicity of Prorocentrum minimum var. Mariae Lebouriae assumed to be a causative agent of short-necked clam poisoning. *ToxicDinoflagellate blooms. Taylor/SeligerEds.* : 385-388.
- OKAICHI (T.), 1983.- Marine environmental Studies on out breaks of Red tides in Neritic waters.- *Jour. Ocean. Soc. Japan.* 39 : 267-278.

- RYTHER (J.H.), KRAMER (D.D.), 1961.- Relative iron requirement of some coastal and offshore Plankton algae. Ecology 42 (2) : 444-446.
- SCHAEFER (M.B.), BISHOP (Y.M.M.), 1978.- Particulate iron in offshore waters of the Panama bight and in the Gulf of Panama. Limn. and Oceanogr. 3 (2) : 137-149.
- STOOKEY (L.L.), 1970.- Ferrozine a new Spectrophotometric reagent for Iron. Analytical Chemistry 42 : 779-781.
- TAKAHASHI (M.), FUKAZANA (N.), 1982.- A Mechanism of "Red Tide" formation. II. Effect of Selective Nutrient stimulation on the growth of Different Phytoplankton species in natural water. Mar. Biol., 70 : 267-273.
- TANGEN (K.), 1980.- Brown water in the Oslofjord, Norway, in September 1979, caused by the toxic Prorocentrum minimum and other dinoflagellates.
- THOMPSON (T.G.), BREMNER (R.W.), 1934.- The occurrence of iron in the waters of the North east Pacific Ocean. J. Cons. Int. Explor. Mer. 9 (1) : 39-47.
- TRICK (C.G.), HARRISON (P.J.), ANDERSEN (R.J.), 1981.- Extracellular Secondary metabolite production by the marine dinoflagellate Prorocentrum minimum in culture. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 38 : 864-867.
- TRICK (C.G.), ANDERSEN (R.J.), GILLAM (A.), HARRISON (P.J.), 1983 a.- Prorocentrum : an extracellular Siderophore produced by the marine Dinoflagellate Prorocentrum minimum. Science 219 : 306-308.
- TRICK (C.G.), ANDERSEN (R.J.), PRICE (N.M.), GILLAM (A.), HARRISON (P.J.), 1983 b.- Examination of hydroxamate Siderophore production by neritic eukaryotic marine phytoplankton. Marine Biology. 75 : 9-17.
- WALSH (G.E.), ALEXANDER (S.V.), 1980.- A marine algal bioassay method : results with pesticides and industrial wastes. Water, Air and Soil Pollution, 13 : 45-55.