

# ETUDE BIOLOGIQUE PROSPECTIVE

Campagne 1975

par Jean-Pierre Pelletier

avec la collaboration technique

de Jean-Paul Moille  
et de Marie-Thérèse Cherubino

Station d'Hydrobiologie lacustre

INRA

Thonon

L'étude biologique prospective réalisée au cours de la campagne 1975 comporte deux types d'expérimentation.

- Nous avons d'une part testé à nouveau l'influence des eaux du Rhône valaisan et de la Drance du Chablais sur le développement des algues incubées dans l'eau du Léman, en tentant de préciser les rôles respectifs des phosphates et des nitrates.
- D'autre part, nous avons complété ces expériences en faisant intervenir les oligo-éléments, et notamment le fer accompagné d'un chélatant. Ces substances, difficilement décelables par l'analyse chimique du fait de leur très faible concentration dans les eaux lémaniques, sont cependant susceptibles d'influer sur le développement du phytoplancton; leur rôle éventuel peut être mis en évidence par l'expérimentation.

## 1. METHODES

Comme les années précédentes, nous avons complété les tests de laboratoire par des tests "in situ" chaque fois que les conditions extérieures le permettaient.

Les tests de laboratoire, effectués en incubateur, permettent de déterminer la fertilité potentielle d'un milieu, enrichi ou non. Ils consistent à évaluer la croissance de l'algue-test, *Selenastrum capricornutum*, mise en culture dans l'eau à tester préalablement filtrée, dans des conditions standardisées :

- température : 24 °C ± 1 °C
- éclaircissement continu de 4'000 lux

Les courbes de croissance sont tracées à partir de mesures d'assimilation du carbone (méthode au  $^{14}\text{C}$ ) échelonnées au cours de la période d'incubation qui peut s'étendre sur trois semaines. Deux critères de croissance ont été retenus :

- la biomasse produite exprimée en carbone assimilé.
- le taux de croissance  $k$  mesuré pendant la phase de croissance exponentielle. Au cours de cette phase, ce coefficient correspond en effet à la pente de la droite qui représente le logarithme des biomasses en fonction du temps :

$$k = \frac{\text{Log}_e (B_1/B_0)}{t_1 - t_0}$$

Plus  $k$  est élevé, plus la croissance est rapide. Les mesures étant réalisées systématiquement sur 3 sous-échantillons, chaque résultat est donné sous forme d'une moyenne accompagnée de l'écart standard de cette moyenne, désigné par  $\pm s_m$ .

Les tests "in situ" reposent sur le même principe, mais l'algue-test est remplacée par une population de phytoplancton. L'incubation a lieu dans le lac même, c'est-à-dire dans des conditions proches des conditions naturelles. Du fait des fluctuations de l'éclaircissement, le calcul du taux de croissance ne se justifie plus et nous avons retenu comme critère de croissance uniquement la biomasse produite, mesurée également en utilisant le  $^{14}\text{C}$  comme traceur.

Les techniques mises en oeuvre dans les tests en incubateur ou "in situ" n'ont pas subi de modifications et sont décrites en détail dans le rapport relatif à la campagne 1974. En revanche, les plans expérimentaux ont été modifiés et sont résumés ci-dessous.

#### a) Expérimentation de type 1

- tests en incubateur : Avant constitution des milieux expérimentaux, les eaux du lac et des affluents sont filtrées sur membrane de porosité 0,45  $\mu$ .

<u>Eau du Léman</u> (point SHL 1 - 5 m)	<u>Enrichissements</u>
500 ml d'eau du Léman,	
250 ml " " " "	+ 250 ml d'eau du Rhône, point VS 1
250 ml " " " "	+ 250 ml d'eau de la Drance, Pont de la Douceur
250 ml " " " "	+ 250 ml d'eau de la Drance, rive droite
500 ml " " " "	+ 0,1 mg P/1 ( $\text{PO}_4$ )
500 ml " " " "	+ 0,5 mg N/1 ( $\text{NO}_3$ )
500 ml " " " "	+ 0,1 mg P/1 + 0,5 mg N/1

Ces concentrations en phosphates et nitrates ont été retenues au vu des résultats des essais des campagnes précédentes. Chaque échantillon estensemencé par 0,5 ml d'une suspension "lavée" de *Selenastrum capricornutum* de sorte que la densité initiale des cultures soit de 1'000 cellules/ml.

- tests "in situ"

<u>Eau brute du Léman</u> (point SHL 1, 5 m)	<u>Eau filtrée sur membrane</u>	<u>Origine</u>	<u>Enrichissement</u>
2,5 l	2,5 l	Léman (point SHL 1)	
2,5 l	2,5 l	Rhône (point VS 1)	
2,5 l	2,5 l	Drance (pont de la Douceur)	
2,5 l	2,5 l	Drance (rive droite)	
2,5 l	2,5 l	Léman (point SHL 1)	+ P
2,5 l	2,5 l	Léman (point SHL 1)	+ N
2,5 l	2,5 l	Léman (point SHL 1)	+ P + N

Les enrichissements sont identiques à ceux pratiqués dans le cas des tests en incubateur. L'ensemencement est assuré par le phytoplancton contenu dans l'eau brute du lac.

b) Expérimentation de type 2

- Tests en incubateur

Les combinaisons expérimentales suivantes sont réalisées :

Eau filtrée du Léman (point SHL 1 - 5 m)	Enrichissement		
	P + N	Fe + EDTA	Oligo-éléments
500 ml	-	-	-
500 ml	+	-	-
500 ml	-	+	-
500 ml	-	-	+
500 ml	+	+	-
500 ml	+	-	+
500 ml	-	+	+
500 ml	+	+	+

(les signes + indiquent un enrichissement du milieu)

( les signes - indiquent l'absence d'enrichissement)

Les concentrations en phosphates et nitrates sont identiques à celles adoptées dans les expériences de type 1. Quant aux oligo-éléments, nous avons conservé les proportions préconisées par le PAAP (Provisional Algal Assay Procedure) pour la réalisation des milieux de culture destinés à conserver *Selenastrum capricornutum*, réduisant cependant les concentrations à 10 % de la valeur proposée. On obtient de cette façon un mélange d'oligo-éléments

équilibré dont la concentration dans le milieu enrichi reste compatible avec les doses très faibles susceptibles d'être présentes dans le lac.

Les quantités d'oligo-éléments ajoutés figurent ci-dessous :

B :	11,0 µg/l
Co :	0,12 µg/l
Mo :	0,96 µg/l
Zn :	5,0 µg/l
Cu :	0,001 µg/l
Mn :	38,0 µg/l
Fe :	11,00 µg/l
Na <sub>2</sub> .EDTA, 2H <sub>2</sub> O :	750,0 µg/l

### - Tests "in situ"

Les milieux sont constitués par 2,5 l d'eau filtrée du Léman, prélevée au point SHL 1 à 5 m, complétés par une quantité équivalente d'eau brute de même provenance assurant l'ensemencement du phytoplancton. Les enrichissements sont effectués selon les mêmes modalités que dans le cas des tests en incubateur.

## 2. RESULTATS

Les résultats des tests réalisés chaque mois sont récapitulés dans des tableaux indiquant, outre les caractéristiques de la croissance algale, les teneurs respectives en phosphates et nitrates de chaque milieu. Ces données brutes sont accompagnées d'un bref commentaire destiné à attirer l'attention sur certaines conditions particulières.

Les tableaux figurent dans la seconde partie du volume, page 297.

## 3. DISCUSSION

Après l'analyse succincte de chaque essai, il convient d'exprimer les résultats de façon synthétique, en considérant pour chaque type d'essai la moyenne des biomasses algales obtenues au cours de l'année, critère qui paraît le plus significatif.

### 3.1. Expériences de type 1

Le tableau se trouve au haut de la page suivante.

D'une façon générale, les quantités d'algues produites en incubateur dépassent très largement celles obtenues "in situ". En outre, les effets des enrichissements apparaissent souvent plus nettement dans les tests réalisés en incubateur. De telles différences s'expliquent par le fait que les conditions d'incubation au laboratoire (température de 24°C ± 1°C, éclairage continu de 4'000 lux) correspondent à un optimum pour la souche d'algue utilisée, alors que le phytoplancton mis en expérimentation "in situ" se trouve exposé à des conditions naturelles fluctuantes (alternances jour-nuit, variations saisonnières de température et d'éclairage de surcroît dépendantes des

Enrichissements	Tests en incubateur avec <i>Selenastrum C.</i>		Tests "in situ" avec phytoplancton	
	Biomasse produite (mg C/m <sup>3</sup> ) moyenne s/6 essais	% par rapport au témoin	Biomasse produite (mg C/m <sup>3</sup> ) moyenne s/4 essais	% par rapport au témoin (R)
Témoin (eau du lac)	2'260	100 %	1'120	100 %
+ Rhône (point VS 1)	7'290	322 %	2'130	191 %
+ Drance (Pont de la Douceur)	5'740	254 %	2'610	234 %
+ Drance (rive droite)	7'320	325 %	1'620	145 %
+ P	3'640	161 %	1'580	142 %
+ N	2'670	118 %	1'370	123 %
+ (P + N)	5'210	231 %	2'770	248 %

conditions météorologiques) parfois très éloignées de l'optimum.

L'enrichissement de l'eau du lac par de l'eau provenant des deux principaux affluents provoque une forte stimulation du développement de l'algue test et du phytoplancton. D'après les tests en incubateur, cet effet est important dans le cas du Rhône valaisan (pourcentage de la biomasse produite par rapport au témoin : 322 %) et de la Drance rive droite (325 %) alors que l'influence de l'eau de la Drance prélevée en amont de Thonon (Pont de la Douceur) est moins marquée (254 %). Les tests "in situ" attribuent aux échantillons prélevés dans le Rhône valaisan, la Drance au Pont de la Douceur et la Drance rive droit, une fertilité potentielle correspondant respectivement à 191 %, 234 % et 145 % de la fertilité potentielle des échantillons témoins (eau du lac).

En ce qui concerne les enrichissements en phosphates et nitrates, les tests en incubateur et les tests "in situ" fournissent des résultats parfaitement concordants.

L'addition de phosphates dans l'eau du Léman provoque un accroissement de la croissance algale de + 61 % (test en incubateur) et de + 42 % (test "in situ") alors que l'enrichissement en nitrates ne produit qu'un accroissement de + 18 % (incubateur) et de + 23 % (in situ). Mais l'addition simultanée de ces deux substances stimule beaucoup plus le développement de l'algue test (+ 131 %) et du phytoplancton (+ 248 %).

Ces résultats confirment les données obtenues les années précédentes : phosphore et azote ont un rôle complémentaire, mais le phosphore constitue le facteur limitant primaire. Enfin, les fortes stimulations de la croissance algale consécutives à l'addition d'eau provenant du Rhône valaisan et de la Drance du Chablais ne s'expliquent pas totalement si l'on tient compte unique-

ment des teneurs en phosphates et nitrates, le plus souvent bien inférieures aux concentrations obtenues dans les milieux enrichis artificiellement par ces éléments. Les expériences suivantes permettent de tester le rôle joué par d'autres substances, en particulier les oligo-éléments.

### 3.2. Expériences de type 2

Dans ce type d'expérience, les tests "in situ" se limitent à deux séries d'essais : l'une réalisée en juin, l'autre en octobre. C'est pourquoi, nous ne prendrons en considération que les moyennes des résultats des tests en incubateur qui portent sur six séries régulièrement réparties au cours de l'année.

Enrichissement	Tests en incubateur avec <i>Selenastrum capricornutum</i>	
	Biomasse produite (valeurs moyennes) mg C/m <sup>3</sup>	Pourcentage par rapport au témoin (R)
Témoin (eau du lac)	3'600	100 %
+ (P + N)	7'000	195 %
+ (Fe + EDTA)	5'210	145 %
+ Oligo-éléments	4'750	132 %
+ (P + N) + (Fe + EDTA)	10'040	279 %
+ (P + N) + Oligo-éléments	8'990	250 %
+ (Fe + EDTA) + Oligo-éléments	5'830	162 %
+ (P + N) + Oligo-éléments + (Fe + EDTA)	10'400	289 %

Comme on pouvait s'y attendre, l'enrichissement simultané par les 3 mélanges d'éléments provoque la production algale la plus importante (R = 289 %) car le milieu ainsi obtenu est complet et équilibré. On observe un effet encore très important lorsqu'on ajoute le mélange P + N et Fe + chélatant (R = 279 %) ou le mélange P + N et oligo-éléments (R = 250 %). L'addition de (P + N) seul produit encore une stimulation marquée du développement algal (R = 195 %). En revanche, l'enrichissement par le fer ou les autres oligo-éléments ne permettent qu'un accroissement plus restreint de la biomasse en l'absence de phosphore et d'azote.

## 4. CONCLUSIONS

Parmi les éléments minéraux susceptibles de contrôler le développement du phytoplancton dans le Léman, le mélange phosphates + nitrates joue un rôle primordial. Ces fertilisants deviennent particulièrement indispensables à la croissance des algues de juin à octobre, époque à laquelle ils se comportent

franchement en facteurs limitants.

Toutefois, les oligo-éléments agissent en synergie et peuvent provoquer une stimulation importante de la croissance algale en présence de quantités suffisantes d'azote et de phosphore. Cette constatation explique en partie la fertilité potentielle élevée qui caractérise très souvent les eaux du Rhône valaisan et de la Drance du Chablais et qui ne peut se justifier entièrement à partir des seules teneurs en phosphates et nitrates.

Les expériences permettant de dissocier le rôle des nitrates et des phosphates montrent que ces derniers constituent le facteur limitant le plus déterminant. La diminution des apports en phosphore doit donc permettre une meilleure régulation du développement du phytoplancton, en évitant les proliférations algales excessives qui constituent l'une des manifestations les plus spectaculaires et les plus gênantes de l'eutrophisation.

Sur un plan pratique, l'élimination effective du phosphore au niveau des stations d'épuration de l'ensemble du bassin versant constitue une mesure absolument indispensable à la protection du Léman. Les résultats expérimentaux de l'étude biologique prospective nous renforcent dans cette conviction.

---