



CONVENTION ONEMA - IFREMER – STARESO :

MI SE AU POINT DE L'INDICE COMPOSITION DANS LE CADRE DE L'INDICATEUR PHYTOPLANCTON

TRAITEMENT DES DONNEES PIGMENTAIRES DES EAUX COTIERES CORSES POUR LE DEVELOPPEMENT D'UN INDICE DE COMPOSITION PHYTOPLANCTONIQUE

ANNE GOFFART

Université de Liège Belgique et STARESO Calvi Corse A.Goffart@ulg.ac.be

SOMMAIRE

Resumé.....	2
1. Objectifs.....	3
2. Données et techniques.....	3
2.1. Données.....	3
2.2. Techniques d'analyses HPLC.....	4
2.3. Chémotaxonomie.....	4
3. Développement de l'indice de composition $I_{C4\ Medit}$	7
4. Définition et seuils de l'indice de composition $I_{C4\ Medit}$	10
5. Variantes du mode de calcul des courbes de référence de l'indice de composition $I_{C4\ Medit}$	10
6. Application de CHEMTAX aux données pigmentaires corses.....	12
7. Application de CHEMTAX à l'indice $I_{C4\ Medit}$: l'indice $I_{Chemtax\ Medit}$	13
8. Conclusions et perspectives.....	17
9. Remerciements.....	17
10. Références.....	17

RESUME

Sur base de la sensibilité du phytoplancton aux apports anthropiques de sels nutritifs, la DCE a retenu un indicateur « Phytoplancton » pour contribuer à caractériser l'état écologique des masses d'eau. Il est composé de trois indices : la biomasse, l'abondance et la composition. La biomasse et l'abondance sont caractérisées par des métriques (P_{90} de la chlorophylle pour la biomasse, pourcentage de blooms toutes espèces pour l'abondance) qui sont déjà validées ou en cours de l'être au niveau européen. Cette étude cible la composition du phytoplancton et utilise la signature pigmentaire des communautés comme traceurs de différents groupes. Le but du travail est de développer un nouvel indice de composition taxonomique applicable aux eaux côtières méditerranéennes.

Les données pigmentaires des suivis haute fréquence de la Baie de Calvi, masse d'eau de référence corse pour la DCE, sont utilisées pour construire un nouvel indice de composition floristique ($I_{C\ Medit}$). L'indice $I_{C\ Medit}$ est adapté aux spécificités des eaux côtières méditerranéennes et aux besoins de la DCE. Il 1) caractérise l'évolution naturelle de la distribution saisonnière de 2 grands ensembles phytoplanctonique - clés (les diatomées, les dinoflagellés et les cryptophycées d'une part et les cyanobactéries d'autre part) en réponse aux modifications des contraintes environnementales; 2) incorpore la variabilité interannuelle des communautés; 3) reflète l'évolution de la qualité des masses d'eau; 4) permet d'émettre des hypothèses sur le type de pressions qui modifient la composition phytoplanctonique (e.g. apports de nitrates et de silicates par une rivière, enrichissement en ammonium lié à la dégradation de matière organique, ...).

Deux variantes de l'indice $I_{C\ Medit}$ sont proposées. L'indice le plus simple ($I_{C4\ Medit}$) se base sur la mesure de 4 pigments dont les concentrations sont exprimées en $ng\ l^{-1}$. L'indice le plus complexe ($I_{Chemtax\ Medit}$) est construit selon la même logique que l'indice $I_{C4\ Medit}$, mais les concentrations en pigments traceurs sont transformées en biomasses chlorophylliennes associées aux différents groupes. Cette transformation implique l'analyse HPLC de 17 pigments et leur traitement par CHEMTAX, un logiciel statistique basé sur une analyse numérique multi-matricielle.

Les premiers tests réalisés dans des masses d'eau corses caractérisées par des situations écologiques contrastées montrent que l'indice $I_{C\ Medit}$ répond bien aux pressions. Celles-ci restent cependant faibles ou limitées dans le temps et l'indice $I_{C\ Medit}$ doit maintenant être validé dans des masses d'eau méditerranéennes présentant un gradient croissant d'eutrophisation. La facilité des prélèvements (filtration de 1 litre d'eau par échantillon) et la rapidité des mesures (45 minutes pour une analyse pigmentaire complète) permettent d'envisager de traiter de façon rapide de grandes séries d'échantillons et de réaliser des suivis à grande échelle ou, à l'opposé, des études fines des variations spatiales et temporelles de la composition du phytoplancton.

L'application de l'indice à toutes les façades françaises pourrait être envisagé, à condition de l'adapter aux spécificités régionales.

1. OBJECTIFS

Le but de cette étude, qui s'inscrit dans le cadre de la DCE, est d'utiliser la signature pigmentaire du phytoplancton pour développer un nouvel indice de composition taxonomique applicable aux eaux côtières méditerranéennes.

Les objectifs spécifiques sont de :

1. traiter les données pigmentaires des suivis haute fréquence d'une masse d'eau de référence corse pour construire un indice qui intègre les spécificités du phytoplancton de la façade méditerranéenne;
2. réaliser une première validation de l'indice proposé dans des masses d'eau caractérisées par des situations écologiques contrastées.

2. DONNEES ET TECHNIQUES

2.1. DONNEES

Cette étude se base sur une connaissance approfondie de la dynamique du phytoplancton méditerranéen et sur l'analyse de la signature pigmentaire de 383 échantillons prélevés dans les eaux côtières corses (tableau 1). La grande majorité des données concerne le phytoplancton de la Baie de Calvi (côte occidentale corse), qui fait l'objet d'études à long terme depuis 1979. Les séries de données acquises au départ de STARESO mettent en évidence la très bonne qualité du phytoplancton de la Baie, reconnue comme zone de référence pour la mise en œuvre de la DCE. A Calvi, des suivis haute fréquence de l'évolution annuelle des caractéristiques du phytoplancton (biomasse et composition pigmentaire) sont réalisés depuis 2006. Les autres données utilisées dans ce travail, moins nombreuses, ont été acquises dans des masses d'eau présentant un gradient croissant d'eutrophisation.

Tableau 1 Caractéristiques des échantillons utilisés dans cette étude (données disponibles au 1^{er} novembre 2010). Prélèvements de subsurface (1 m).

Site	Fréquence des prélèvements	Nombre d'échantillons traités dans cette étude	Source des données
Calvi	Janvier – juin : 2 x / semaine Juillet - décembre : 1 x / semaine	2006 : 72; 2007 : 71; 2008 : 70; 2009 : 74; 2010 : 38 (01/01 – 30/05)	DCE* ¹ et autres projets** ² Anne Goffart
Cargèse	1 x / mois	2006 : 12; 2007 : 1; 2009 : 11; 2010 : 2	Anne Goffart
Ajaccio	1 x / mois	2009 : 10; 2010 : 2	Anne Goffart
Sant' Amanza	1 campagne (août)	2010 : 10	Ce projet
Figari	1 campagne (août)	2010 : 10	Ce projet



¹ Financement Ifremer

² Financement Agence de l'Eau RMC et Université de Liège (Belgique)

2.2. TECHNIQUES D'ANALYSES HPLC

Lors des prélèvements sur le terrain, les échantillons destinés à l'analyse des pigments sont conservés au frais dans des bidons noirs puis traités dès le retour à terre. L'eau est préfiltrée sur une soie de 200 μm puis filtrée sur filtre GF/F (diamètre de 25 mm) sous une pression inférieure à 100 mm de mercure. Le volume filtré varie 0,3 à 1,0 litre en fonction de la charge en matière organique. Les filtres, séchés à l'aide de papier de laboratoire absorbant, sont immédiatement congelés et conservés à - 20° C jusqu'à l'analyse. L'extraction des pigments est réalisée par sonication dans du méthanol selon la technique décrite par Vidussi et al. (2000).

Les pigments des échantillons prélevés en 2006 et début 2007 ont été séparés sur une colonne C18 Hypersyl selon la technique de Williams & Claustre (1991). A partir de la mi-2007, les analyses ont été réalisées selon la procédure de Zapata et al. (2000), plus performante. Les pigments sont séparés sur une colonne Waters Symmetry C8 puis quantifiés à l'aide du logiciel Empower de Waters. L'application de la technique de Zapata et al. (2000) nous permet de séparer et quantifier 5 chlorophylles et 12 caroténoïdes en un seul passage de 40 minutes. Les courbes de calibration sont réalisées à partir des standards vendus par la société DHI (Danemark).

Le changement de technique a fait l'objet d'une intercalibration pour les pigments quantifiés par les deux méthodes. A partir de la mi-2007, plusieurs pigments (néoxanthine, prasinoxanthine, violaxanthine, diatoxanthine, diadinoxanthine et divinyl-chlorophylle) ont été ajoutés à la liste des pigments quantifiés.

2.3. CHEMOTAXONOMIE

La technique de dosage des pigments par HPLC est un outil puissant pour la caractérisation du phytoplancton marin et l'étude de la dynamique des communautés. La mesure de la chlorophylle a, présente dans tous les groupes phytoplanctoniques (à l'exception des prochlorophytes où elle est remplacée par la divinyl-chlorophylle a), et de la divinyl-chlorophylle a permet de déterminer la biomasse phytoplanctonique totale. La mesure des caroténoïdes, dont la nature varie d'un groupe phytoplanctonique à l'autre, permet de déterminer la composition taxonomique du phytoplancton. Certains pigments sont spécifiques d'un groupe taxonomique, alors que d'autres peuvent être observés dans deux ou trois groupes (tableau 2). Par exemple, l'alloxanthine est un traceur spécifique des cryptophycées, alors que la fucoxanthine, dominante chez les diatomées, se trouve aussi en faibles proportions chez les prymnesiophycées et les pélagophycées méditerranéennes. L'ouvrage de Jeffrey et al. (2005) réunit les références principales dans ce domaine.

La reconstitution de la composition taxonomique à partir de la signature pigmentaire du phytoplancton offre de nombreux avantages. Elle permet :

- de déterminer rapidement les biomasses respectives associées aux différentes classes de taille (microphytoplancton > 20 μM , nanophytoplancton 2 - 20 μM et picophytoplancton < 2 μM (e.g. Vidussi et al. 2000, Uitz et al. 2006) et aux grands groupes fonctionnels (e.g. Goffart et al. 2000, Paerl et al. 2003);
- de quantifier le rôle des différents groupes fonctionnels dans l'émission des gaz à effet de serre (e.g. DMSP : Belviso et al. 2001, Belviso 2004);
- d'établir le statut trophique d'une région en calculant le rapport entre la production nouvelle et la production totale (Fp-ratio : e.g. Claustre 1994, Vidussi et al. 2000, Marty et al. 2002);
- de contribuer à caractériser l'évolution de l'état écologique des masses d'eau (e.g. Paerl et al. 2003).

Tableau 2 Pigments diagnostiques utilisés dans cette étude et signification taxonomique appliquée à la Méditerranée

Pigment	Abréviation	Groupes	Taille μM	Références (non exhaustives)
Péridinine	Peri	Dinoflagellés	> 20	1
Butanoyloxyfucoxanthine	Buta	Pelagophycées	< 3	2, 3
Hexanoyloxyfucoxanthine	Hexa	Prymnesiophycées	< 20	2, 3, 4, 5
Néoxanthine	Neo	Prasinophycées Euglénophycées	Toutes classes de taille > 20	2, 3, 4
Prasinoxanthine	Prasino	Prasinophycées	Toutes classes de taille	2, 3, 4
Violaxanthine	Viola	Prasinophycées	Toutes classes de taille	1, 2
Fucoxanthine	Fuco	Diatomées Prymnesiophycées (traces) Pélagophycées (traces)	> 20 2 – 20 < 3	2, 3, 4, 6, 7, 8
Alloxanthine	Allo	Cryptophycées	2 - 20	1, 9
Diadinoxanthine	Diadino	Dinoflagellés Prymnesiophycées Pelagophycées Euglénophycées	> 20 < 20 < 3 > 20	2, 10, 11
Zéaxanthine	Zea	Synechococcus Prochlorophytes	< 2 < 2	2, 6, 12
Lutéine	Lut	Prasinophycées	Toutes classes de taille	1, 10
Chlorophylle b	Chl b	Prasinophycées Euglénophycées	Toutes classes de taille > 20	1
Diviny-Chlorophylle a	Dv-Chl a:	Prochlorophytes	< 2	2, 6, 13

1 : Jeffrey et al. 2005, 2 : Marty et al. 2008, 3 : Latasa et al. 2010, 4 : Bel Hassen et al. 2009, 5 : Wright & Jeffrey 1987, 6 : Vidussi et al. 2000, 7 : Bustillos-Guzman et al. 1995, 8 : Andersen et al. 1993, 9 : Vidussi et al. 2001, 10 : Mackey et al. 1996, 11 : Latasa et al. 2005, 12 : Guillard et al. 1985, 13 : Marty et al. 2002.

En chénotaxonomie, il faut garder en mémoire que la concentration en pigment diagnostique au sein d'une cellule varie en fonction des conditions de lumière et de la disponibilité en sels nutritifs. Les rapports pigments diagnostiques / groupes taxonomiques sont donc susceptibles d'évoluer au cours d'un cycle saisonnier et en fonction de la profondeur (cette remarque s'applique aussi à la chlorophylle). Ceci implique que l'on ne peut comparer que des jeux de données que l'on considère homogène (ou le plus homogène possible) : il faut par exemple comparer des données estivales entre elles et séparer les échantillons profonds des échantillons de surface.

Deux méthodes sont utilisées dans cette étude pour reconstituer la composition phytoplanctonique et quantifier la biomasse des grands groupes présents (diatomées, dinoflagellés, prymnésiofycées, cryptophycées, cyanobactéries, prochlorophytes, ...).

La méthode la plus simple, appliquée par de nombreux auteurs (e.g. Claustre et al. 1994, Bustillos-Guzman et al. 1995, Barlow et al. 1997, Goffart et al. 2000, Marty et al. 2002) utilise les concentrations en pigments diagnostiques comme traceurs directs : l'abondance d'un groupe (e.g. les dinoflagellés) est considérée comme étant directement proportionnelle à la concentration en pigment diagnostique (e.g. la péridinine). Cette méthode a l'avantage d'être rapide et de ne nécessiter aucune transformation des mesures après analyse. Elle a cependant l'inconvénient de ne pas intégrer le fait que certains pigments traceurs se trouvent dans plusieurs groupes taxonomiques (Tableau 1).

A l'heure actuelle, l'application de CHEMTAX (CHEMICAL TAXONOMY, Mackey et al. 1996), une méthode plus complexe, se généralise. CHEMTAX est un logiciel statistique basé sur une analyse numérique multi-matricielle. Mis au point par des océanographes australiens et développé au départ de données issues de cultures, CHEMTAX offre la possibilité d'évaluer la biomasse des différents groupes sur base de plusieurs pigments par classe d'algues (Tableau 1). Il permet de distinguer des groupes qui ont des compositions pigmentaires proches, et fournit des informations plus complètes et plus précises que la technique précédente. Les résultats sont exprimés en équivalents chlorophylle a (Chl a associée aux diatomées par exemple).

Des applications de CHEMTAX sur diverses séries de données (Antarctique, côtes nord-américaines, Mer du Nord, estuaires, lacs) ont été réalisées (e.g. Wright et al. 1996, Hashihama et al. 2008, Sarmiento & Descy 2008). En Méditerranée, les données publiées concernent le milieu pélagique (Latasa et al. 1992, Latasa et al. 2005, Marty et al. 2008, Bel Hassen et al. 2008, Bel Hassen et al. 2009).

L'application de CHEMTAX au phytoplancton d'une région nécessite 1) une bonne connaissance de la floristique du phytoplancton total et de l'abondance des groupes dominants, 2) une analyse pigmentaire complète des échantillons, 3) le choix des pigments à inclure dans le traitement statistique et 4) le choix des rapports pigment / chlorophylle a pour tous les groupes identifiés. En pratique, une matrice initiale (input matrix) des rapports pigment / Chl a est construite à partir des données publiées pour une région proche. La matrice de sortie de chaque run (output matrix) est utilisée comme matrice d'entrée pour le run suivant jusqu'à ce que les rapports se stabilisent. La matrice stabilisée est utilisée pour calculer les contributions de chaque groupe d'algues à la chlorophylle totale.

Dans cette étude, une version récente de CHEMTAX a été utilisée (CHEMTAX 1.95, communication personnelle de Simon Wright) selon les procédures décrites par Mackey et al. 1996, Mackey et al. 1997 et Latasa 2007. Deux matrices ont été construites pour intégrer la variation saisonnière des rapports pigment / Chl a (« Calvi bloom matrix » : échantillons prélevés entre le 1^{er} janvier et le 15 avril, « Calvi non bloom matrix » : échantillons prélevés entre le 16 avril et le 31 décembre). Les matrices stabilisées pour Calvi ont été appliquées à tous les échantillons corses.

3. DEVELOPPEMENT DE L'INDICE DE COMPOSITION I_{C4 MEDIT}

La synthèse bibliographique réalisée dans le cadre de ce projet (Goffart 2010) a montré qu'à l'heure actuelle très peu d'outils permettent de décrire de façon opérationnelle la composition des communautés phytoplanctoniques des eaux côtières. L'objectif de ce chapitre est de traiter les données pigmentaires corses pour proposer un nouvel indice de composition applicable aux masses d'eau de la façade méditerranéenne. Une partie de la réflexion développée ici est reprise sur les travaux de Devlin et al. (2007) et de Devlin (2008).

Deux grands ensembles phytoplanctoniques ont été retenus en fonction de leurs rôles clés dans le fonctionnement de l'écosystème côtier méditerranéen et de leurs préférences trophiques (Latasa et al. 2010).

Le premier ensemble (DiDiCRY) comprend les diatomées, les dinoflagellés et les cryptophycées. Dans les couches de surface des zones de référence des eaux côtières corses, ces trois groupes sont essentiellement observés à la fin de l'hiver, quand le mélange vertical hivernal dû au vent a enrichi la colonne d'eau en sels nutritifs d'origine profonde (nitrates, silicates et phosphates; e.g Goffart 1992, Goffart et al. 2002, Goffart 2009). Ces trois groupes, connus pour préférer les milieux méditerranéens eutrophes (riches en sels nutritifs; Latasa et al. 2010), sont généralement associés à la production nouvelle (parce que due à des éléments nutritifs récemment apportés au milieu).

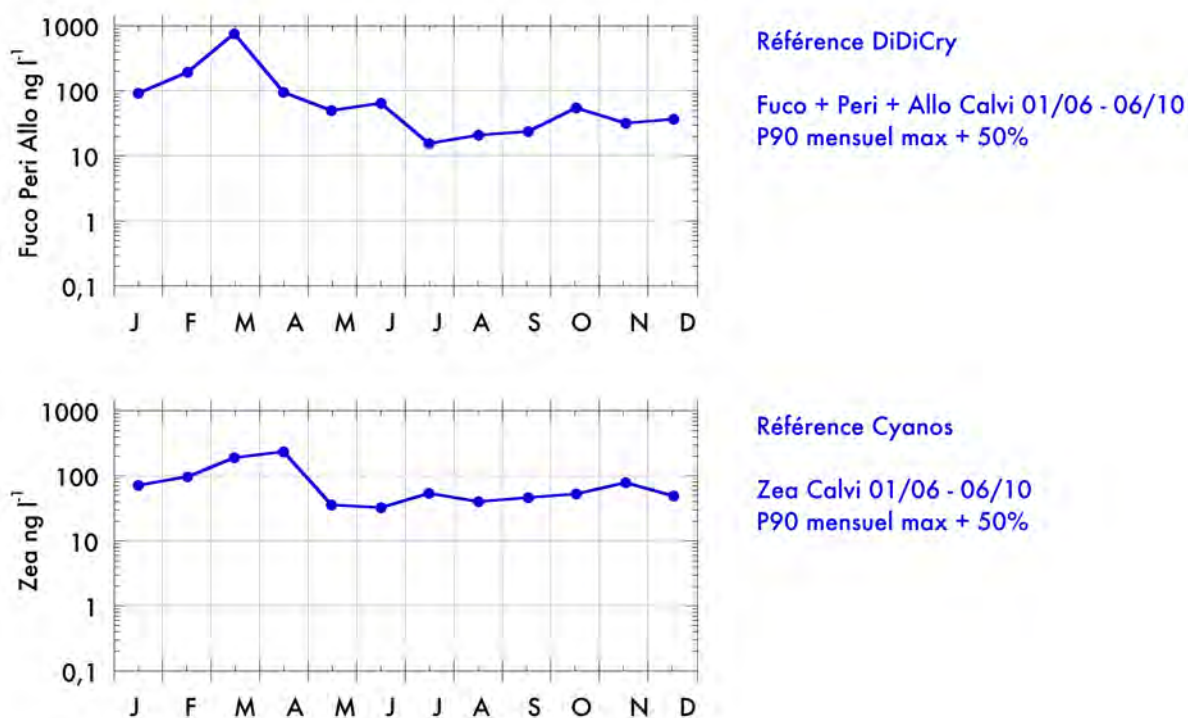
Les cyanobactéries (*Synechococcus* et *Prochlorococcus*) constituent le second ensemble (CYANOS). Dans les zones de référence méditerranéennes, les cyanobactéries se développent préférentiellement dès que les couches de surface s'épuisent en sels nutritifs sous l'effet du réchauffement printanier. Au début du printemps, la stratification thermique qui s'installe limite le mélange vertical et les couches de surface, isolées des couches profondes, s'épuisent rapidement en sels nutritifs sous l'effet de la consommation par les diatomées, les dinoflagellés et les cryptophycées. En milieu méditerranéen non perturbé, les cyanobactéries préfèrent les milieux pauvres en sels nutritifs (milieux mésotrophes devenant oligotrophes, milieux oligotrophes et ultraoligotrophes). Les cyanobactéries sont généralement associées à la production régénérée, qui utilise des éléments nutritifs recyclés au sein de la masse d'eau (en particulier l'ammonium).

Les données de concentrations en pigments diagnostiques du site de référence de Calvi (tableau 1) ont été utilisées 1) pour décrire l'évolution saisonnière naturelle des biomasses associées aux ensembles DiDiCRY et CYANOS, 2) intégrer la variabilité interannuelle des communautés et 3) tracer des courbes de référence.

La somme des concentrations en fucoxanthine, péridinine et alloxanthine est utilisée comme traceur de l'ensemble DiDiCRY. La concentration en zéaxanthine est le traceur des cyanobactéries (ensemble CYANOS). Les courbes de référence ont été établies comme suit : pour chaque ensemble, et pour chaque année, les percentiles 90 mensuels ont été calculés (e.g. janvier 2006 : 52,77 ng l⁻¹, janvier 2007 : 17,30 ng l⁻¹; janvier 2008 : 61,89 ng l⁻¹; janvier 2009 : 42,22 ng l⁻¹, janvier 2010 : 53,62 ng l⁻¹ pour l'ensemble DiDiCRY) et la valeur maximale a été conservée (61,89 ng l⁻¹). Une marge de sécurité de 50 % a été ajoutée (61,89 ng l⁻¹ devient 92,83 ng l⁻¹). Les courbes de référence obtenues pour Calvi sont présentées à la figure 1.

Figure 1

Courbes de référence de CALVI (données du 01/01/2006 au 01/06/2010) pour les ensembles DiDiCry (diatomées, dinoflagellés et cryptophycées) et CYANOS (Cyanobactéries). Concentrations en pigments traceurs exprimées en ng l^{-1} . Abréviations détaillées au tableau 2.



Les données disponibles pour des masses d'eau corses présentant un gradient croissant d'eutrophisation (Cargèse, Ajaccio, Figari, Sant' Amanza) sont ensuite reportées sur les courbes de référence de Calvi. Un point correspond à une mesure.

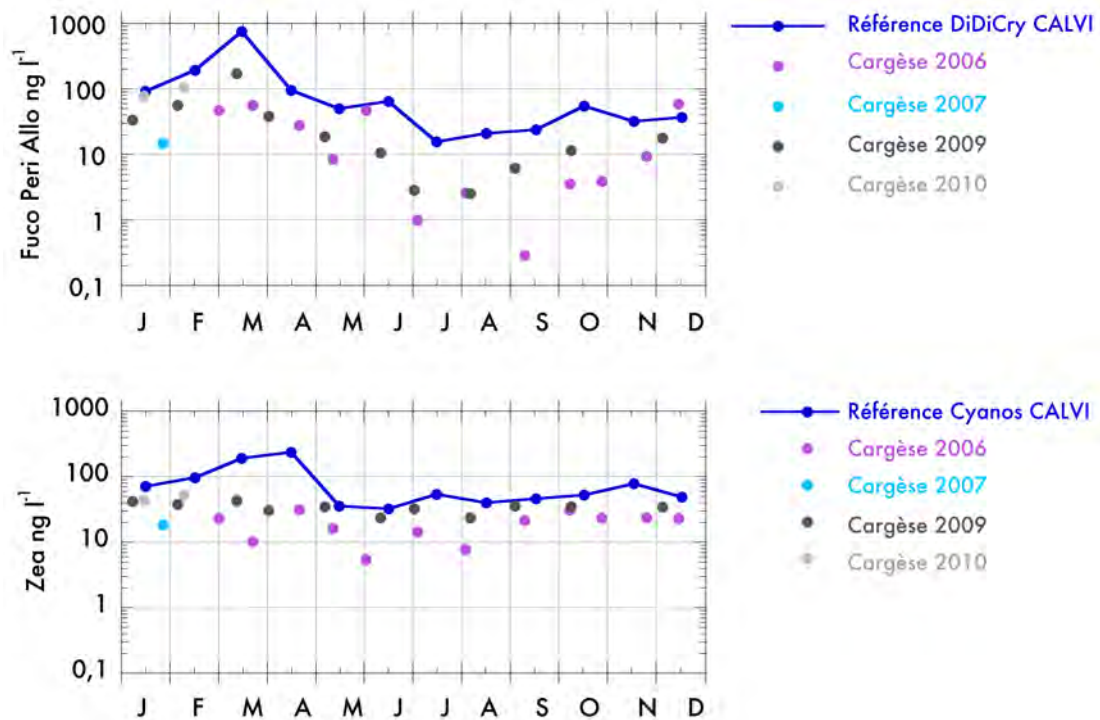
Si toutes les mesures (ou pratiquement toutes) sont situées entre la courbe de référence et l'axe des x, la composition floristique de la masse d'eau à évaluer ne se distingue pas de celle de la masse d'eau de référence associée (figure 2, exemple de Cargèse).

Par contre, un nombre élevé de points situés à l'extérieur de la courbe de référence traduit une composition floristique anormale. Plus le pourcentage de points situés à l'extérieur de la courbe de référence est élevé, plus la composition peut être considérée comme dégradée. Les mesures réalisées à Ajaccio (figures 3 et 4) montrent un dépassement de la courbe de référence de Calvi pour quelques points, ce qui correspond à une composition floristique en « bon état » et est cohérent avec la connaissance de terrain de la masse d'eau. Par contre, les mesures effectuées fin août 2010 dans deux sites corses choisis pour leur eutrophisation (figures 3 et 4, Sant' Amanza³ et Figari) sont pratiquement toutes situées à l'extérieur de la courbe de Calvi, ce qui souligne le caractère dégradé de la composition floristique du phytoplancton à la fin de la saison touristique.

³ En l'absence de données HPLC pour le site de Bastia, référence associée à Sant' Amanza, les données de Calvi sont utilisées.

Figure 2

Données de CARGESE comparées aux courbes de référence de CALVI (données du 01/01/2006 au 01/06/2010) pour les ensembles DiDiCRY (diatomées, dinoflagellés et cryptophycées) et CYANOS (Cyanobactéries). Concentrations en pigments traceurs exprimées en l^{-1} . Abréviations détaillées au tableau 2.

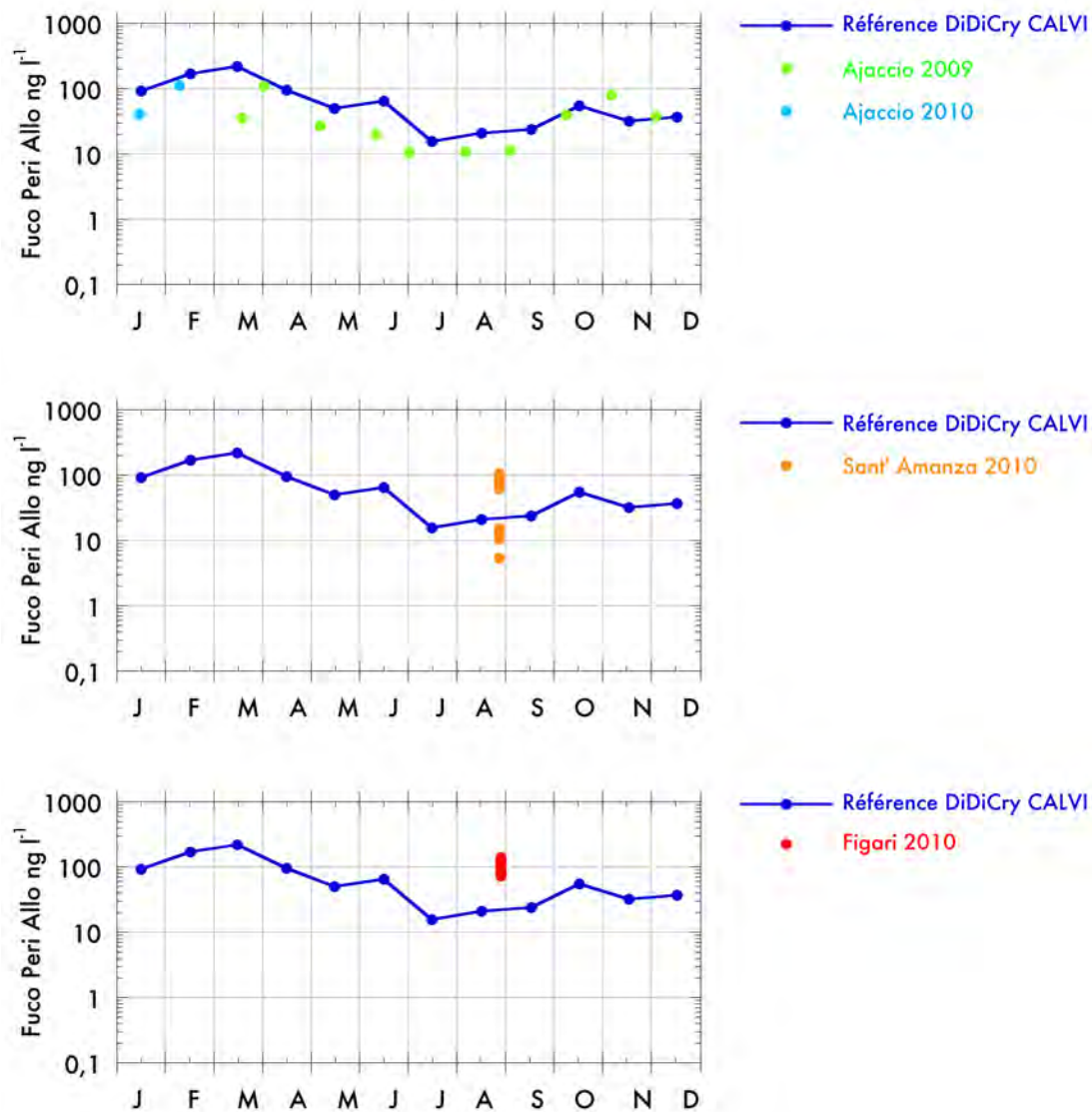


Une analyse fine de la distribution saisonnière des deux ensembles considérés permet aussi d'émettre des hypothèses sur le type de pressions qui modifient la composition phytoplanctonique. Un apport de nitrates et de silicates (e.g. apports d'eau douce) favorise un développement excessif de l'ensemble DiDiCRY, alors que des concentrations élevées en ammonium (liées par exemple à une dégradation importante de matière organique) est favorable au développement des cyanobactéries.

L'examen des résultats de Figari et de Sant' Amanza confirment cette hypothèse. A Figari, golfe peu profond soumis à des apports d'eau douce riches en nitrates et en silicates (zone humide, ruisseau de Canella), les biomasses phytoplanctoniques anormalement élevées sont dominées par l'ensemble DiDiCRY (figure 3). A Sant' Amanza, les points échantillonnés à proximité des enclos d'aquaculture montrent un développement très élevé de cyanobactéries (figure 4), probablement favorisées par l'ammonium issu de la dégradation des déchets de l'exploitation aquacole. Les points situés en sortie de golfe sont par contre beaucoup plus proches des valeurs de référence.

Figure 3

Données d'AJACCIO, de FIGARI et de SANT' AMANZA comparées aux courbes de référence de CALVI (données du 01/01/2006 au 01/06/2010) pour l'ensemble DiDiCry (diatomées, dinoflagellés et cryptophycées). Concentrations en pigments traceurs exprimées en l^{-1} . Abréviations détaillées au tableau 2.



4. DEFINITION ET SEUILS DE L'INDICE DE COMPOSITION $I_{C4 \text{ MEDIT}}$

L'indice de composition $I_{C4 \text{ MEDIT}}$ développé dans le cadre de cette étude est composé de deux sous-indices, un sous-indice DiDiCry pour l'ensemble « diatomées - dinoflagellés - cryptophycées » et un sous-indice CYANOS pour les cyanobactéries. Chaque sous-indice est défini comme le pourcentage du nombre de points situés à l'extérieur de la courbe de référence de l'évolution saisonnière de l'ensemble correspondant. Les seuils sont proposés au tableau 4. L'indice de composition final est la moyenne des deux sous-indices. Idéalement, les courbes de référence doivent être réalisées sur 6 ans (un plan de gestion) de mesures haute fréquence.

5. VARIANTES DU MODE DE CALCUL DES COURBES DE REFERENCE DE L'INDICE DE COMPOSITION $I_{C4 \text{ MEDIT}}$

En fonction des souhaits des gestionnaires, la méthode de calcul des courbes de référence peut être adaptée : pour chaque ensemble, le calcul des P_{90} mensuels peut être fait sur les données d'un plan de gestion (6 ans), et non sur les données annuelles.

Figure 4

Données d'AJACCIO, de FIGARI et de SANT' AMANZA comparées aux courbes de référence de CALVI (données du 01/01/2006 au 01/06/2010) pour l'ensemble CYANOS (cyanobactéries). Concentrations en pigments traceurs exprimées en ng l⁻¹. Abréviations détaillées au tableau 2.

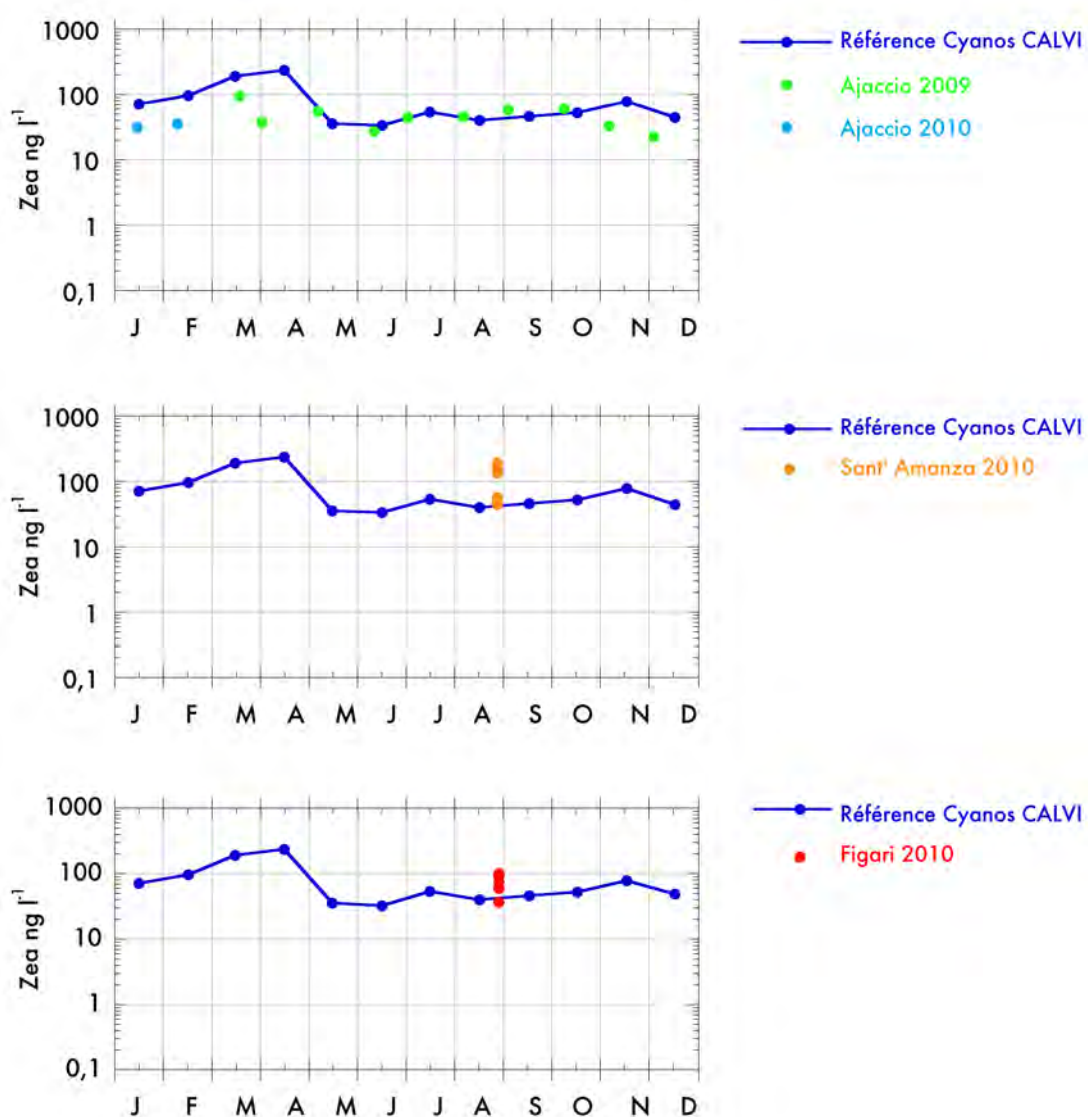


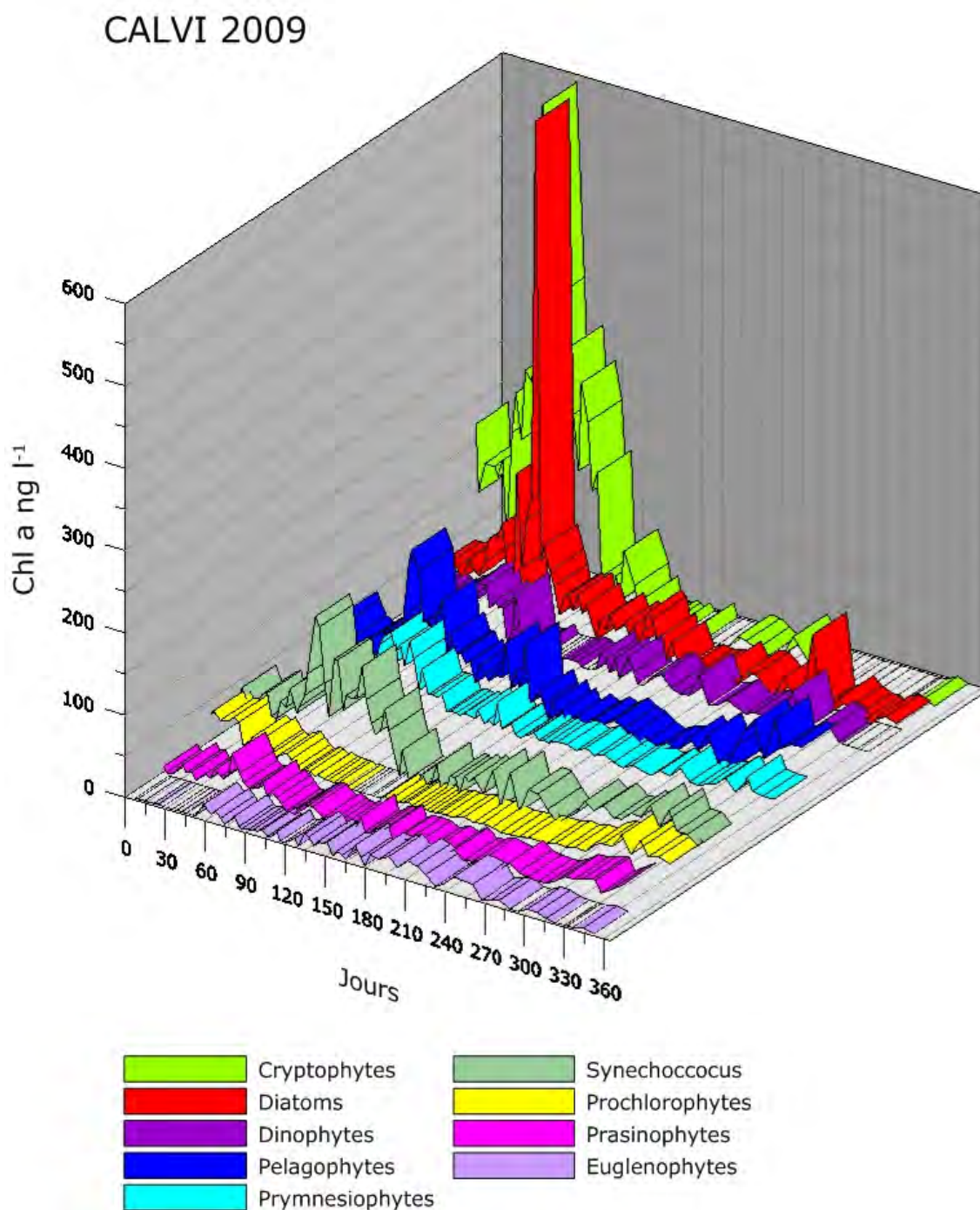
Tableau 4

Seuils proposés pour l'indice de composition I_{C4} Médit

Etat	Nombre de points situés à l'extérieur de la courbe de référence associée à un ensemble phytoplanctonique (DIDICRY ou CYANOS)
Très bon	< 15 %
Bon	< 25 %
Moyen	< 35 %
Médiocre	< 45 %
Mauvais	< 60 %

Un exemple de l'application de CHEMTAX aux données du cycle annuel 2009 de Calvi est présenté à la figure 5.

Figure 5 Evolution annuelle de la distribution de la biomasse des 9 groupes phytoplanctoniques principaux en Baie de Calvi (année 2009, données de subsurface - 1 m). Données pigmentaires traitées par CHEMTAX. Les résultats sont exprimés en équivalents chlorophylle a (Chl a associée aux diatomées par exemple).



La figure met en évidence l'évolution temporelle de la distribution de la biomasse des 9 groupes phytoplanctoniques principaux. En période de bloom (janvier – mars), le phytoplancton est dominé par

les diatomées et les cryptophycées. La biomasse totale est élevée, les réseaux trophiques sont relativement simples et la diversité est réduite. Au fur et à mesure que la saison avance, et en réponse aux modifications naturelles des contraintes environnementales (e.g. établissement de la thermocline saisonnière, épuisement des sels nutritifs dans les couches de surface, intensification de la pression du broutage, ...), la biomasse phytoplanctonique totale diminue, la diversité augmente et les réseaux trophiques se complexifient. Les changements sont intenses et rapides en début de saison. Ils s'amortissent par la suite.

7. APPLICATION DE CHEMTAX A L'INDICE IC4 MEDIT : L'INDICE I_{CHEMTAX MEDIT}

Si l'on souhaite exprimer en Chl a la biomasse des ensembles DiDiCry et CYANOS utilisés dans le développement de l'indice I_{C4 MEDIT}, il est nécessaire de traiter l'ensemble des données pigmentaires par CHEMTAX. Cette étape alourdit le travail : le traitement par CHEMTAX implique l'analyse de 17 pigments par HPLC et leur traitement statistique, qui comprend plusieurs étapes manuelles. Après transformation des concentrations en pigments en concentrations en chlorophylle associées aux principaux groupes phytoplanctoniques, la procédure de construction des courbes de référence et de positionnement des mesures réalisées dans les masses d'eau à évaluer mise au point pour l'indice I_{C4 MEDIT} reste la même. L'I_{C4 MEDIT} devient alors l'indice I_{CHEMTAX MEDIT}.

La figure 6 présente les courbes de référence de Calvi établies après traitement des données pigmentaires par CHEMTAX. A ce stade, et pour des raisons de cohérence des matrices pigmentaires (cfr. point 2.2), seuls les échantillons dosés selon la technique de Zapata et al. (2000) ont été pris en considération. La comparaison des courbes de référence « CHEMTAX » et « Pigments » établies pour la même période (05/07 – 05/10) montre la très bonne correspondance entre les courbes (figure 6).

Il en est de même pour la caractérisation des masses d'eau. Les figures 7 et 8 positionnent les données de Cargèse, Ajaccio, Sant' Amanza et Figari traités par CHEMTAX et confirment les tendances décrites au point 3. Le meilleur « classement » d'Ajaccio par CHEMTAX est probablement dû à des courbes de référence « CHEMTAX » (établies sur 3 ans de données) plus favorables que les courbes de référence « PIGMENTS » (établies sur 5 ans de mesures).

Figure 6

Courbes de référence de CALVI pour les ensembles DiDiCry (diatomées, dinoflagellés et cryptophycées) et Cyanos (cyanobactéries) obtenues après traitement des données par CHEMTAX et comparaison avec les courbes établies pour la même période sur base des concentrations en pigments. Données du 01/05/2007 au 01/06/2010.

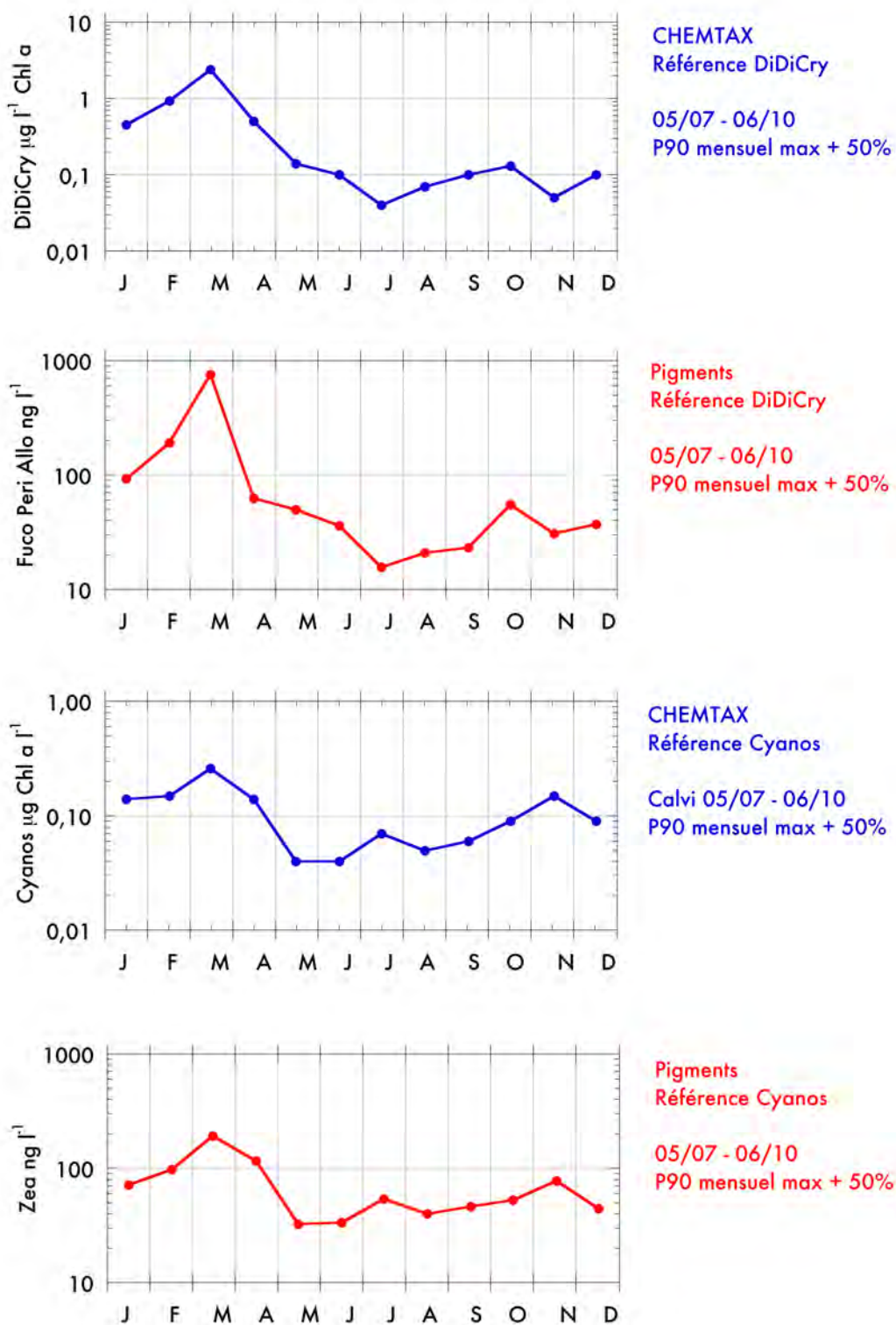


Figure 7

Positionnement des données de CARGESE, d'AJACCIO, de FIGARI et de SANT' AMANZA traitées par CHEMTAX par rapport à la courbe de référence de CALVI pour l'ensemble DiDiCry (diatomées, dinoflagellés et cryptophycées). Données du 01/05/2007 au 01/06/2010.

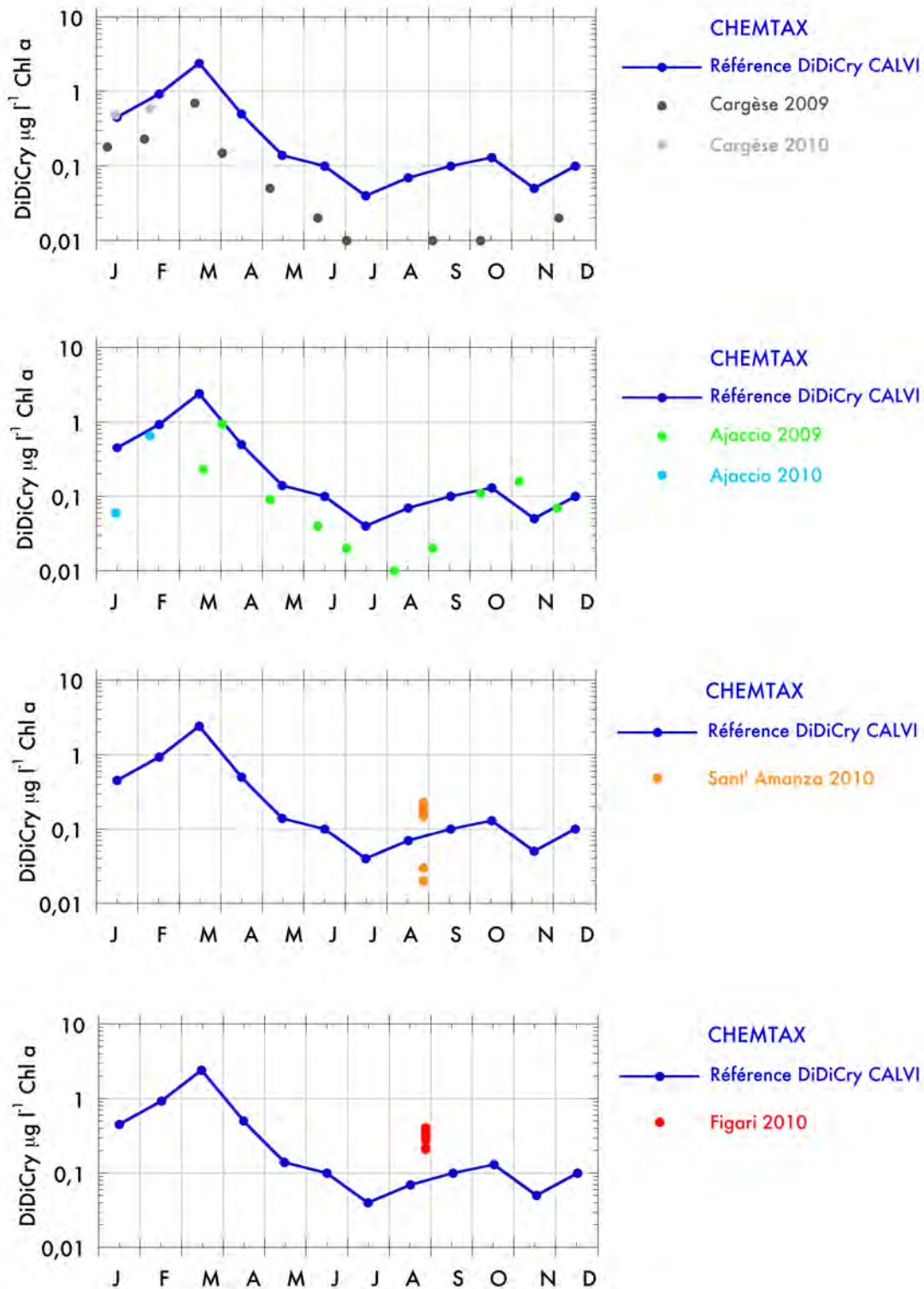
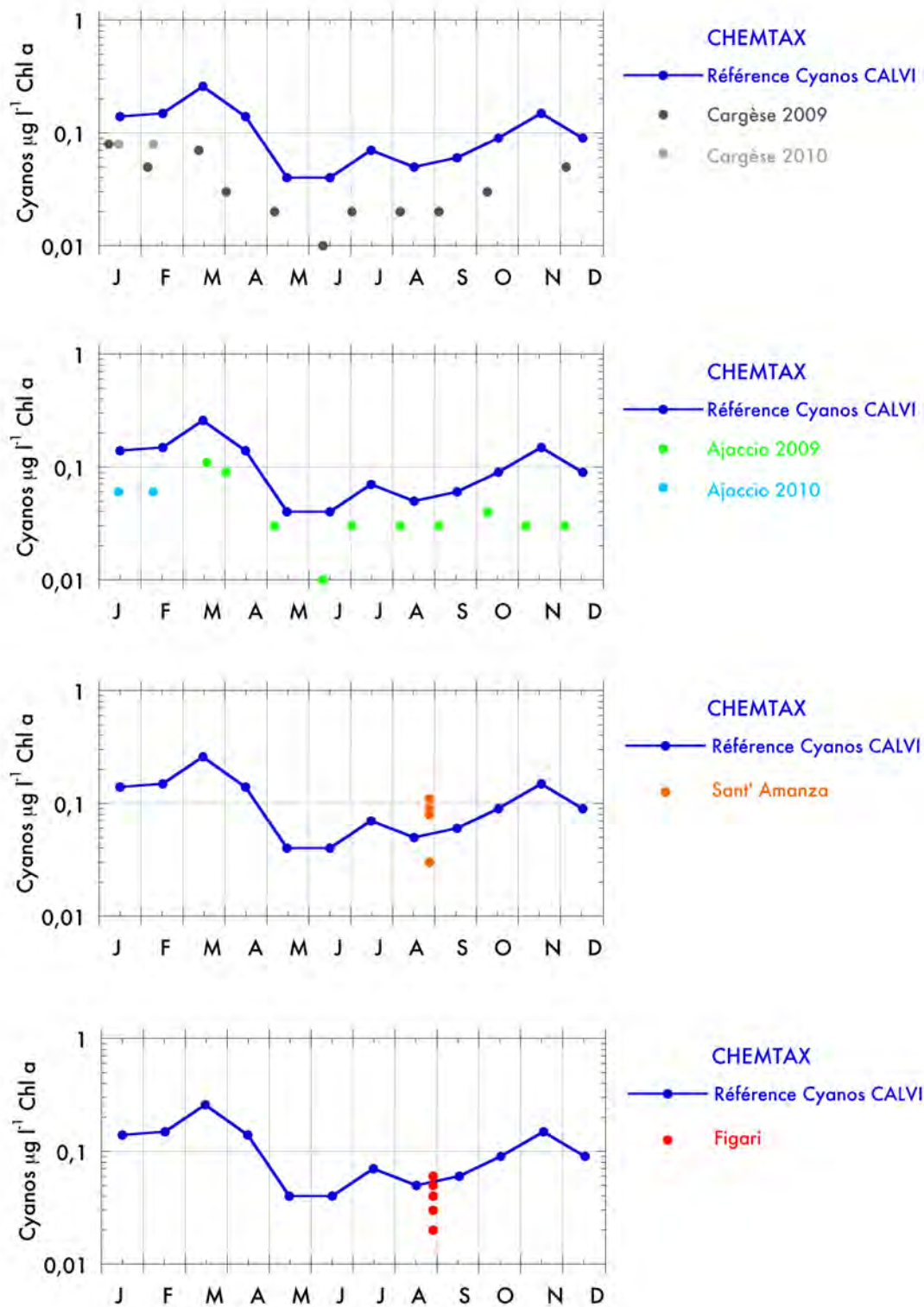


Figure 8

Positionnement des données de CARGÈSE, d'AJACCIO, de FIGARI et de SANT' AMANZA traitées par CHEMTAX par rapport à la courbe de référence de CALVI pour l'ensemble CYANOS (cyanobactéries). Données du 01/05/2007 au 01/06/2010.



8. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Le travail développé ci-dessus présente des résultats positifs et encourageants. Les phases suivantes du travail consisteront à :

- intégrer aux courbes de référence les résultats HPLC acquis à Calvi en 2010 et 2011;
- valider l'indice $I_{C\text{ Médit}}$ par l'acquisition et le traitement de données dans des masses d'eau méditerranéennes présentant un gradient croissant d'eutrophisation;
- publier les résultats;
- acquérir et tester la sonde Fluoroprobe pour mesurer in situ la biomasse phytoplanctonique totale et celles des grands groupes phytoplanctoniques utilisés dans l'indice $I_{C\text{ Médit}}$, dans une optique de calcul en temps réel de l'indice $I_{C\text{ Médit}}$.

9. REMERCIEMENTS

Ce travail (y compris l'acquisition et le traitement des données de Sant' Amanza et de Figari) a été réalisé grâce au soutien de l'ONEMA et de l'IFREMER. A l'exception des données de Sant' Amanza et de Figari, les données utilisées dans cette étude ont été acquises dans le cadre de plusieurs projets financés par l'IFREMER (suivis DCE), l'AGENCE DE L'EAU RMC et l'Université de Liège (Belgique). Cette étude a également bénéficié du soutien logistique de STARESO SA.

10. REFERENCES

- Andersen R.A., Sauders G.W., Paskind M.P. and Sexton J.P. (1993) Ultrastructure and 18S rRNA gene sequence for *Pelagomonas calceolata* nov. gen. et spec. nov. and the description of a new algal class, the Pelagophyceae classis nov. *Journal of Phycology* 29 : 701-715
- Barlow R.G., Mantoura R.F.C., Cummings D.G. and Fileman T.W. (1997) Pigment chemotaxonomic distributions of phytoplankton during summer in the western Mediterranean. *Deep-Sea Research Part II* 44 : 833–850
- Bel Hassen M., Drira Z., Hamza A., Ayadi H., Akrouf F. and Issaoui H. (2008) Summer phytoplankton pigments and community composition related to water mass properties in the Gulf of Gabes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 77 : 645–656
- Bel Hassen M., Hamza A., Drira Z., Zouari A., Akrouf F., Messaoudi S., Aleya L. and Ayadi H. (2009) Phytoplankton-pigment signatures and their relationship to spring–summer stratification in the Gulf of Gabes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 83 : 296–306
- Belviso S., Claustre H. and Marty J.C. (2001) Evaluation of the utility of chemotaxonomic pigments as a surrogate for particulate DMSP. *Limnology and Oceanography* 46 : 989–995
- Belviso S. (2004) Représentations de la source océanique de sulfure de diméthyle (DMS) à l'échelle planétaire. Thèse d'habilitation à diriger des recherches. Université d'Aix-Marseille II, Centre d'Océanologie de Marseille, 82 pp
- Bustillos-Guzman J., Claustre H. and Marty J.C. (1995) Specific phytoplankton signatures and their relationship to hydrographic conditions in the coastal northwestern Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 124 : 247-258

- Claustre H. (1994) The trophic status of various oceanic provinces as revealed by phytoplankton pigment signatures. *Limnology and Oceanography* 39 : 1206-1210
- Claustre H., Kerhervé P., Marty J.C., Prieur L., Videau C. and Hecq J.H. (1994) Phytoplankton distribution associated with a geostrophic front : ecological and biogeochemical implications. *Journal of Marine Research*, 52 : 711-742
- Devlin M., Best M., Coates D., Bresnan E., O'Boyle S., Parke R., Silke J., Cusack C. and Skeatsg J. (2007) Establishing boundary classes for the classification of UK marine waters using phytoplankton communities. *Marine Pollution Bulletin* 55 : 91-103
- Devlin M. (2008) Seasonal succession – new approach for assessment of phytoplankton communities. Bella Earth Environmental Consultancy. Report for Environment Agency (draft July 2008), 38 pp
- Goffart A. (1992) Influence des contraintes hydrodynamiques sur la structure des communautés phytoplanctoniques du bassin Liguro-Provençal (secteur Corse). Thèse de doctorat, Université de Liège Belgique, 163 pp
- Goffart A. (2009) Suivi DCE du phytoplancton en Baie de Calvi. Rapport d'avancement remis à l'Agence de l'Eau RMC (Pierre Boissery) en septembre 2009, 13 pp
- Goffart A. (2010) Rapport de la convention ONEMA – IFREMER : Mise au point de l'indice composition dans le cadre de l'indicateur phytoplancton. Les indices de composition phytoplanctonique en eaux côtières – synthèse bibliographique, 36 pp
- Goffart A., Catalano G. and Hecq J.H. (2000) Factors controlling the distribution of diatoms and *Phaeocystis* in the Ross Sea. *Journal of Marine Systems*, 27 : 161-175
- Goffart A., Hecq J.H. and Legendre L. (2002) Changes in the development of the winter-spring phytoplankton bloom in the Bay of Calvi (Northwestern Mediterranean) over the last two decades: a response to the changing climate ? *Marine Ecology Progress Series*, 236 : 45-60
- Guillard R.R.L., Murphy L.S., Foss P. and Jensen S.L. (1985) *Synechococcus* spp. as likely zeaxanthin-dominant ultraplankton in the North Atlantic. *Limnology and Oceanography* 30 : 4 124 14
- Hashihama F., Hirawake T., Kudoh S., Kanda J., Furuya K., Yamaguchi Y. and Ishimaru T. (2008) Size fraction and class composition of phytoplankton in the Antarctic marginal ice zone along the 140°E meridian during February - March 2003. *Polar Science* 2 : 109-120
- Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C. and Wright S.W. Eds (2005) *Phytoplankton pigments in oceanography : guidelines to modern methods*, 2nd edition. Monographs on Oceanographic Methodology, UNESCO Paris 10 : 667 pp
- Latasa M. (2007) Improving estimations of phytoplankton class abundances using CHEMTAX. *Marine Ecology Progress Series*, 329 : 13-21
- Latasa M., Estrada M. and Delgado M. (1992) Plankton-pigment relationships in the Northwestern Mediterranean during stratification. *Marine Ecology Progress Series* 88: 61-73

- Latasa M., Moran X.A.G., Scharek R. and Estrada M. (2005) Estimating the carbon flux through main phytoplankton groups in the northwestern Mediterranean. *Limnology and Oceanography*, 50(5) : 1447–1458
- Latasa M., Scharek R., Vidal M., Vila-Reixach G., Gutiérrez-Rodríguez A., Emelianov M. and Gasol J.M. (2010) Preferences of phytoplankton groups for waters of different trophic status in the northwestern Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 407 : 27–42
- Mackey M.D., Mackey D.J., Higgins H.W. and Wright S.W. (1996) CHEMTAX- a program for estimating class abundances from chemical markers : application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 144 : 265–283
- Mackey M.D., Higgins H.W., Mackey D.J. and Wright S.W. (1997) CHEMTAX user's manual : a program for estimating class abundances from chemical markers-application to HPLC measurements of phytoplankton pigments. CSIRO Marine Laboratories Report 229, Hobart, Australia, ISBN 0 643 06040 5 : 47 pp
- Marty J.C., Chiaverini J., Pizay M.D. and Avril B. (2002) Seasonal and interannual dynamics of nutrients and phytoplankton pigments in the western Mediterranean Sea at the DYFAMED time-series station (1991–1999). *Deep-Sea Research II* 49 : 1965–1985
- Marty J.C., Garcia N. and Raimbault P. (2008) Phytoplankton dynamics and primary production under late summer conditions in the NW Mediterranean Sea. *Deep-Sea Research I* 55 : 1131-1149
- Paerl H.W., Valdes L.M., Pinckney J.L., Piehler M.F., Dyle J. and Moisaner P.H. (2003) Phytoplankton Photopigments as Indicators of Estuarine and Coastal Eutrophication. *BioScience* 53 : 953-964
- Sarmiento H. & Descy J.P. (2008) Use of marker pigments and functional groups for assessing the status of phytoplankton assemblages in lakes. *Journal of Applied Phycology*, 20 : 1001–1011
- Uitz J. (2006). Structure des communautés phytoplanctoniques et propriétés photophysiques dans l'océan ouvert : paramétrisation en vue d'applications à la couleur de l'océan. Thèse de doctorat de l'Université de la Méditerranée - spécialité Sciences de l'Environnement marin – Biogéochimie, 226 pp
- Vidussi F., Marty J.C. and Chiavérini J (2000) Phytoplankton pigment variations during the transition from spring bloom to oligotrophy in the northwestern Mediterranean sea. *Deep-Sea Research* 47 : 423–445
- Vidussi F., Claustre H., Manca B., Luchetta, A. and Marty J.C. (2001) Phytoplankton pigment distribution in relation to the upper thermocline circulation in the Eastern Mediterranean Sea during winter. *Journal of Geophysical Research* 106 : 19 939-19 956
- Williams R. & Claustre H (1991) Photosynthetic pigments as biomarkers of phytoplankton populations and processes involved in the transformation of particulate organic matter at the Biotrans site (47°N, 20°W). *Deep-Sea Research* 38 : 347–355

- Wright S.W. and Jeffrey S.W. (1987) Fucoxanthin pigment markers of marine phytoplankton analysed by HPLC and HPTLC. *Marine Ecology Progress Series* 38 : 259–266
- Wright S.W., Thomas D.P., Marchant H.J., Higgins H.W., Mackey M.D. and Mackey D.J. (1996) Analysis of phytoplankton of the Australian sector of the Southern Ocean: comparisons of microscopy and size frequency data with interpretations of pigment HPLC data using the « CHEMTAX » matrix factorisation program. *Marine Ecology Progress Series* 144 : 285–298
- Zapata M., Rodriguez F. and Garrido J.L. (2000) Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine containing mobile phases. *Marine Ecology Progress Series* 195 : 29–45.