

Projet Seine-Aval 5

PROUESSE

« Production primaire de l'estuaire de la Seine »

Annexes du rapport de recherche

Janvier 2018

Coordination : Pascal CLAQUIN

Co-Auteur : Jérôme MORELLE, Mathilde SCHAPIRA, Francis ORVAIN et Pascal LOPEZ



TABLE DES MATIERES

1	ANNEXE I - Méthodes	3
	a. Habitat Pélagique	3
	a. Habitat benthique	8
	b. Correction des données PAM sur le microphytobenthos	10
I.	ANNEXE II – Caractérisation de l’habitat pélagique	14
II.	ANNEXE III - Caractérisation de l’habitat benthique	24
III.	ANNEXE IV - Dynamique journalière des TEP et EPS	26
IV.	ANNEXE V – <i>Expérimentations in vitro</i>	30

1 ANNEXE I - Méthodes

a. Habitat Pélagique

Caractérisation de l'habitat pélagique

Les données de rayonnement solaire global (Joules/cm²) ont été récupérées via la station météorologique de Bernières/mer (49.332 °N ; 0.422 °W) pour chaque tranche horaire de l'année 2015. Les données de flux de rivière ont été récupérées à partir des données de débit à Poses (m³/s) disponibles sur le site du GIP Seine-Aval.

Profils verticaux

Sur chaque station, les profils réalisés à l'aide d'une sonde multi-paramètres de type Seabird SBE 19plus-V2[®] ont permis de mesurer le long de la colonne d'eau sur chaque point de prélèvement : la profondeur (m), la température (°C), la salinité (PSU), la fluorescence dans le rouge (□□□□□nm ; chlorophylle), la fluorescence dans l'orange (□□□□□nm ; phycoérythrine), le PAR (Photosynthetic Active Radiation) et la turbidité (NTU).

Sels nutritifs

L'eau de mer a été filtrée directement après le prélèvement sur une soie de 100 µm avec une préfiltration supplémentaire sur une membrane de type SFCA-GF de 0,45 µm pour le dosage du silicate. A l'exception des silicates conservés à 4°C, les autres échantillons ont été congelés à -20°C jusqu'à l'analyse. Après décongélation, les sels nutritifs ont été dosés au LER-N (Ifremer) grâce à un auto-analyseur en flux continu (SEAL[®] AA3) suivant des protocoles standards [166]. Le dosage des nutriments dans les eaux salines et eaux saumâtres fait partie de la portée d'accréditation du LER-N (section Essais, accréditation n° 1-2048, portée disponible sur le site www.cofrac.fr). Pour chaque nutriment des domaines d'étalonnage et limites de quantification, de présence ou non de blanc optique et/ou d'un effet de sel et d'incertitudes de mesures ont été définis (Tableau A1).

Tableau A1: Incertitudes et limites de quantification pour l'analyse des différents sels nutritifs. Les limites de quantification ont été établies pour les différents domaines de concentration.

	NO ₃ ⁻ (µM)	NO ₂ ⁻ (µM)	NH ₄ ⁺ (µM)	PO ₄ ³⁻ (µM)	Si(OH) ₄ (µM)
Incertitudes	3%	4,9%	10,1%	4,4%	0,7%
Limites de quantification	0,10	0,02	0,10	0,04	0,2
	0,60	0,05	0,30	n.a.	1,0

Matières en suspension

Un volume de 250 à 500 ml d'eau par station a été filtrée sur des filtres GF/F (Porosité = 0,7 µm) pré-calcinés (24h à 50°C) et pré-pesés. Chaque filtre a ensuite été rincé avec de l'eau distillée afin d'éliminer les particules de sels. Les filtres ont ensuite séchés pendant 24h à 50°C puis pesés sur une balance de précision de type Sartorius[®]. La différence entre la masse du filtre après et avant filtration, permet d'estimer la concentration en matière en suspension (MES). La précision de cette méthode est de 0.0001 g l⁻¹.

Dosage de la chlorophylle a

La biomasse phytoplanctonique a été estimée par dosage de la chlorophylle a (chl_a). Afin d'estimer la biomasse des différentes classes de taille du phytoplancton, des mesures de chl_a ont été réalisées sur 2 types de filtres : (i) GF/F d'une porosité de 0,7 µm pour l'estimation de Chl a totale et (ii) ISOPORE PC d'une porosité de 10 µm pour l'estimation de Chl a dans la fraction supérieure à 10 µm. De retour au laboratoire, 250 à 500 ml d'eau de mer ont été filtrés sur les deux types de filtres. Ces derniers ont été conservés au noir et à -80°C jusqu'à l'analyse. Les filtres ont ensuite été plongés dans de l'acétone à 90% puis broyés et placés pendant 24 heures à 4°C afin d'extraire les pigments chlorophylliens. Après centrifugation, la

fluorescence de la chl a extraite ea été mesurée dans le surnageant grâce à un fluorimètre (Turner Design TD-700®) suivant la méthode de Lorenzen (1966). Par différence entre la Chl a totale et la Chl a >10 µm, la concentration en chl a des cellules de taille < 10µm est calculée. Ainsi pour chaque station, trois concentrations en Chl a différentes sont disponibles: (i) Chl a totale, (ii) Chl a dans la fraction >10 µm (i.e. estimation de la biomasse du microphytoplancton) et (iii) la Chl a dans la fraction < 10 µm (i.e. estimation de la biomasse du pico- et nanophytoplancton). Ces dosages ont été effectués à la station marine du CREC de l'Université de Caen au sein de l'unité BOREA.

Fluorescence PAM

Pour l'estimation à haute fréquence de la productivité primaire, l'efficacité de conversion d'énergie maximale (ou efficacité quantique de la séparation de charge du photosystème II (PSII) (F_V/F_M)) a été mesurée à des intervalles de 5 minutes à l'aide de la version en flux (FT) du WATER-PAM (Waltz, Effeltrich, Allemagne) [39].

L'eau en sub-surface a été prélevée *via* une pompe menant à une chambre noire isolée thermiquement qui a maintenu l'échantillon à la température initiale. Après 5 minutes d'acclimatation au noir, ce qui était suffisant pour l'oxydation du groupe de Quinone A (Q_A) dans cet environnement très turbide, un sous-échantillon a été automatiquement transféré dans la chambre de mesure. L'échantillon a été excité par une lumière bleue faible ($1 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 470 nm, fréquence 0.6 kHz) pour enregistrer la fluorescence minimale (F_0). La fluorescence maximale (F_M) a été obtenue lors d'une impulsion de lumière saturante (0,6 s, $1700 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 470 nm) permettant de réduire tout le pool de Q_A . F_V/F_M a été calculé selon l'équation suivante [168]:

$$\frac{F_V}{F_M} = \frac{(F_M - F_0)}{F_M}$$

Consécutivement, les échantillons ont été exposés à neuf irradiances (E) de 0 à 469 $\mu\text{mol de photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de janvier à juillet et de 0 à 1541 $\mu\text{mol de photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ d'août à décembre pendant 30 s pour chaque étape. La fluorescence à l'état stable (F_S) et la fluorescence maximale (F_M') ont été mesurées. L'efficacité quantique du PSII pour chaque irradiance a été déterminée comme suit [168]:

$$\frac{\Delta F}{F_M'} = \frac{(F_M' - F_S)}{F_M'}$$

Le taux relatif de transport d'électrons (rETR, $\mu\text{mol electron.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) a été calculé pour chaque irradiance. Le rETR est une mesure du taux de transport linéaire d'électrons par le PSII, qui est corrélée avec la performance photosynthétique globale du phytoplancton [169] :

$$\text{rETR}(E) = \frac{\Delta F}{F_M'} \times E$$

Sur chaque site, un échantillon de sub-surface (-1m) et de fond (+1m) ont été prélevé et adaptés au noir pendant 5 min. Chaque échantillon a été introduit dans la version cuvette du WATER-PAM (Waltz, Effeltrich, Allemagne) et les rETR ont été calculés comme décrit ci-dessus.

Un autre sous-échantillon adapté au noir a été placé dans un MULTI-COLOR-PAM pour l'estimation de la section transversale d'absorption fonctionnelle du PSII (σ_{PSII} exprimée en m^2) par la méthode « pump and probe » en augmentant progressivement l'intensité du flash et en suivant la courbe de saturation de la fluorescence variable en fonction de l'intensité du flash.

En suivant Schreiber et al. (2011), le taux maximal de transport d'électrons ($\text{ETR(II)}_{\text{max}}$; $\text{Electron.(PSII.s)}^{-1}$) a été calculé comme suit:

$$ETR(II)_{\max} = \frac{rETR_{\max} \times \sigma_{PSII} \times L}{F_V:F_M}$$

Avec $rETR_{\max}$ en moles d'électrons. $m^{-2}.s^{-1}$ et $F_V:F_M$ calculé ci-dessus, L la constante d'Avogadro en mol^{-1} et σ_{PSII} en m^2 . $ETR(II)_{\max}$ a d'abord été exprimé en électron. $(PSII.s^{-1})^{-1}$. $ETR(II)_{\max}$ a ensuite été exprimé en $mmol$ d'électrons. $mgchl^{-1}.h^{-1}$ selon l'équation:

$$ETR(II)_{\max} = \frac{[ETR(II)_{\max}] \times [PSII] \times 36.10^6}{[chl a] \times L}$$

Où $[ETR(II)_{\max}]$ est exprimé en électron. $(PSII.s^{-1})^{-1}$, $[chl a]$ la concentration en chlorophylle exprimée en $mg.ml^{-1}$ et $[PSII]$ la concentration des centres réactionnels des PSII en $PSII.ml^{-1}$ obtenu comme suit:

$$[PSII] = \frac{[chl a] \times L}{900 \times 1000}$$

Avec $[chl a]$ exprimé en $g.ml^{-1}$, en supposant un poids moléculaire de $900 g.mol^{-1}$ par chl et une taille d'unité photosynthétique de 1000 molécules de chl a par chaîne de transport d'électrons [170].

Incorporation de ^{13}C

Un photosynthetron (modifié par [35]) a été utilisé pour réaliser les incubation de ^{13}C sur les échantillons prélevés aux sites 2, 4, 6 et 8. Un tube fluorescent modulable en forme de U (OSRAM, DULUX L, 2G11, 55W / 12 -950, LUMILUX DE LUXE, lumière de jour) a produit la lumière, et la température dans le photosynthetron a été maintenue à la température *in situ* par un circuit d'eau de mer équipé d'un refroidisseur d'eau (AQUAVIE ICE 400).

Au total, 1100 ml d'échantillon ont été inoculés avec du $NaH_{13}CO_3$ (98% atom %, Sigma) correspondant à un enrichissement d'environ 15% du carbone inorganique dissous déjà présent dans l'eau de mer. L'eau de mer inoculée a été partagée entre 16 flasques de culture (62 ml) placés dans le photosynthetron. L'intensité lumineuse a été mesurée dans chaque flasque en utilisant un capteur quantique micro-sphérique (US-SQS; Walz) connecté à un enregistreur de données LI-COR 1400. L'un des flacons a été conservé dans le noir pour estimer l'incorporation du carbone inorganique non-photosynthétique. Après trois heures d'incubation, chaque flasque a été filtrée sur des filtres GF/F pré-brûlés de 25 mm (450 ° C, 12 h) et ils ont été conservés à -20 ° C jusqu'à l'analyse. Pour éliminer les carbonates, des filtres ont été exposés à du HCl fumant pendant 4 heures, puis séchés à 50 ° C pendant 12 heures. La concentration de carbone organique particulaire (POC) et le ratio isotopique de ^{13}C à ^{12}C ont été déterminés à l'aide d'un analyseur élémentaire (EA 3000, Eurovector) combiné à un spectrophotomètre de masse (IsoPrime, Elementar).

Le taux de fixation du carbone (P_{obs}) a été calculé selon Hama et al. (1983) et la valeur de l'incorporation dans l'obscurité a été soustraite de toutes les données. P_{obs} a été exprimé en $mmol C.L^{-1}.h^{-1}$.

A.1.2.4. Courbes P/E

Chaque série d' $ETR(II)$ et P_{obs} a été tracée en fonction de l'irradiance (E). Pour estimer les paramètres photosynthétiques, le modèle mécanique de Eilers & Peeters (1988) a été appliqué à ces courbes à l'aide de SigmaPlot 12.0 (Logiciel Systat):

$$X(E) = \frac{E}{(aE^2 + bE + c)}$$

Où X représente $ETR(II)$ ou P_{obs} . Ainsi, la capacité photosynthétique maximale ($ETR(II)_{\max}$ ou P_{\max}) et l'efficacité maximale d'utilisation de la lumière (α) ont été calculées comme suit:

$$X_{\max} = \frac{1}{(b + 2\sqrt{ac})}$$

$$\alpha = \frac{1}{c}$$

Exopolysaccharides

La concentration en particules exopolymériques transparentes (TEP) a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique décrite par Claquin et al. (2008) adapté Passow & Alldredge (1995). Ainsi, des échantillons de 15 à 50 ml ont été filtrés sur des filtres à membrane polycarbonate Isopore de 0,4 μm (Millipore) et stockés à -20°C jusqu'à l'analyse. Les particules retenues sur les filtres ont été colorées avec 5 ml de bleu Alcian 0,02% (Sigma) dans de l'acide acétique 0,06% (pH 2,5). Après centrifugation à 3500 g pendant 30 minutes, les surnageants ont été jetés, les filtres rincés avec 5 ml d'eau MilliQ et centrifugés jusqu'à ce que tout l'excès de colorant soit complètement éliminé du culot. Après une nuit de séchage dans un stérilisateur à 50°C , 6 ml de H_2SO_4 à 80% ont été ajoutés et après 2 heures d'attente, l'absorption du surnageant a été mesurée à l'aide d'un spectromètre à 787 nm. L'absorption au bleu Alcian a été étalonnée à l'aide d'une solution de gomme de Xanthane (XG). Les concentrations de TEP sont exprimées en $\mu\text{gXGeq.L}^{-1}$.

La teneur en exopolysaccharides solubles dit « colloïdaux » (S-EPS) a été mesurée à l'aide de la méthode de Dubois [7,173], le glucose étant le standard. Ainsi, après une filtration de 10 à 50 ml sur filtre GFF, les filtrats ont été considérés comme EPS colloïdaux. Les EPS de haut et de bas poids moléculaire ont été séparés en incubant les échantillons dans de l'éthanol (70% f.c.) pendant 16 heures à -20°C . Les échantillons ont été centrifugés à 3500 g, à 4°C pendant 30 min. le surnageant contenant les EPS de faible poids moléculaire ont été jetés et le culot contenant les EPS de haut poids moléculaire ont été séchés à 50°C pendant une nuit. Les échantillons secs ont été remis en suspension dans 1 ml d'eau distillée, puis 50 μL de phénol à 5% et 250 μl d'acide sulfurique ont été ajoutés à 50 μl de l'extrait et vortexés. L'absorption a été lue après 30 min avec un lecteur de plaque FlexStation (Molecular Devices) à 485 nm, en utilisant le glucose comme norme pour la courbe d'étalonnage. Les concentrations de S-EPS sont donc exprimées en $\mu\text{gGeq.L}^{-1}$.

Diversité micro-phytoplanctonique

Des échantillons d'eau de 250 ml ont été préservés dans une solution de Lugol (2% f.c.) et conservés à l'obscurité et à 4°C pour l'identification et l'énumération des espèces phytoplanctoniques selon la technique Utermöhl [174]. Au laboratoire 10 ml de l'échantillon ont été mis à décanter dans des cellules de comptage pendant 24h. L'identification et l'énumération ont ensuite été réalisées sous microscope inversé à contraste de phase. L'identification est réalisée jusqu'au plus bas niveau taxonomique possible. Ces analyses ont été réalisées au laboratoire Ifremer LER-N.

Diversité nano- et picophytoplanctonique

Chaque prélèvement a été réalisé en triplicat. 1ml d'eau a été fixé avec du glutaraldéhyde (concentration finale = 0,25%). Après 15 minutes dans le noir à 4°C , les échantillons ont été plongés dans l'azote liquide. De retour au laboratoire, ils ont été stockés à -80°C jusqu'à l'analyse [175,176]. Les analyses ont été réalisées avec l'aide de Marilyne Guillamin au plateau de cytométrie en flux de la structure fédérative 146 ICORE. L'appareil utilisé est un cytomètre en flux Gallios (Beckman Coulter®).

Après décongélation à température ambiante une solution de concentration connue de billes en latex auto-fluorescentes de 1 μm de diamètre (λ émission = 485 nm) a été ajoutée à chaque échantillon comme référence de taille et de fluorescence. Trois blancs d'eau de mer filtrée sur 0.2 μm ont été analysés lors de chaque session de cytométrie afin d'évaluer le bruit de fond lié à l'appareil. Pour chaque échantillon les paramètres de taille et de forme des cellules (i.e. forward scatter FS et side scatter SC) ont été enregistrés ainsi que leurs caractéristiques de fluorescence intrinsèques dans le rouge (FL4 ; $\lambda=695$ nm) et dans l'orange (FL3 ; $\lambda=620$ nm). Les différentes populations de picophytoplancton (i.e. *Synechococcus sp.*, *Prochlorococcus sp.*, et pico-eucaryotes) et nano-phytoplancton ont été discriminées d'après leur taille et leur contenu pigmentaire (e.g. Marie et al. 1999).

Diversité par biologie moléculaire

Préparation des ADN environnementaux et séquençage

Les ADN ont été extraits à partir des filtres correspondant à chaque échantillon en utilisant le kit a PowerBiofilm DNA Isolation kit et les instructions du fabricant (MO BIO).

Pour la préparation des banques d'AND du 18S et du 16S les amplifications ont été réalisées avec des amorces comportant aussi 8 bases à leurs extrémités 5' suivi par 2 à 4 bases aléatoires. La région de l'ADN ribosomal 18S a été amplifiée en utilisant les amorces :

0067a_deg - (AAGCCATGCATGYCTAAGTATMA) / NSR399 -
(TCTCAGGCTCCYTCTCCGG)

Le 16S en utilisant les amorces :

515 F/ - (GTGYCAGCMGCCGCGGTAA) / 926 R – (CCGYCAATTYMTTTRAGTTT).

La première étape de PCR a été réalisée à partir de 1 µl d'ADN (5-10 ng) selon le mélange réactionnel suivant : 1,00 µL ADN, 1,00 µL Forward Primer (10 µM), 1,00 µL Reverse Primer (10 µM), 0,75 µL DMSO, 0,25 µL BSA (10x), 8,50 µL H₂O, and 12.50 µL PCR Master Mix 2x (KAPA2G Robust HotStart DNA polymerase ReadyMix, KAP, Biosystems).

Le programme d'amplification utilisé a été : 95°C for 5 min; 30 cycles of 95°C for 15 sec, 52°C for 15 sec, and 72°C for 30 sec; and 72°C for 3 min.

Les produits de PCR ont été vérifiés sur gel d'agarose, purifiés grâce au kit Agencourt AMPure XP beads (Beckman Coulter) puis quantifiés en utilisant le Qubit dsDNA HS assay kit. Ils ont ensuite été normalisés puis rassemblés.

Les banques ont été préparées en utilisant 1 µg d'ADN des pools et le kit Illumina TruSeq DNA PCR-Free Library Preparation. Les recommandations du fabricant ont été suivies à l'exception de l'utilisation d'un mixte End-Repair différents afin d'éviter la formation de chimères.

Les banques ont finalement été quantifiées par PCR et séquencées selon le kit MiSeq 2x300 paired-end run, toujours selon les recommandations d'Illumina.

Analyses des séquences

Les amplicons ont été analysés en utilisant le logiciel *mothur* version 1.36.1 (Schloss et al 2009). Les lectures ont été traitées en utilisant principalement la procédure standard décrite par Schloss pour les données de type MiSeq Illumina (Kozich et al 2013). Dans un premier temps les contigs ont été assemblés permettant l'obtention de séquences pairées. Les séquences des codes-barres et amorces ainsi que les séquences de faibles qualités ont été enlevées (Taille minimale de 350 pb, taille maximale de 460 pb, et élimination de toute séquence contenant des bases ambiguës et des séquences comprenant des homopolymères supérieurs à 8pb). Les séquences ont alors été alignées en utilisant le dépôt 119 de la banque de références SILVA (Quast et al 2013) et des pré-clusters ont été réalisés (pre.cluster, diffs=1). Les singletons ont été exclus, ainsi que les chimères en utilisant la commande : the chimera.uchime *mothur* command. Les séquences ont été classifiées en utilisant l'algorithme *k-nearest neighbour* (*knn*) présent dans *mothur*, et la méthode de recherche d'homologie BLASTN toujours en utilisant le dépôt 119 de la banque de référence SILVA (Quast et al 2013). La classification des séquences a été réalisée en utilisant l'algorithme *knn*; une méthode trouvée plus optimale que les méthodes de classifications plus généralement utilisées de type Bayesian (Wang et al 2007). Après classification les séquences ne correspondant pas aux jeux de données (eucaryotes ou procaryotes) ont été enlevées. Pour tenir compte des différences de profondeur de séquençage, 7004 séquences (pour le jeu de données 16S) et 20624 (pour le 18S), ont été aléatoirement sélectionnées pour chaque échantillon. Les Unités Taxonomiques Opérationnelles (OTUs) ont été réalisées en utilisant l'algorithme *average neighbour*. Les OTUs ont été définies comme correspondant à 97% de similarité que ce soit pour les données 16S et 18S. Après sous-échantillonnage les données correspondent à 1029588 séquences pour le 16S et 3052352 séquences pour le 18S; elles ont été rassemblées en 11546 OTUs pour le 16S et 9487 OTUs pour le 18S. Ces séquences ont finalement été classifiées en utilisant l'algorithme *knn* présent dans *mothur* et la méthode BLASTN et les banques SILVA pour le 16S et PR2 (Guillou et al 2013) pour le 18S.

a. Habitat benthique

Granulométrie du sédiment

Pour déterminer la taille des particules, les sédiments ont été baignés dans du peroxyde d'hydrogène à 6% pendant 48 heures pour éliminer la matière organique. La distribution granulométrique a été mesurée avec un analyseur de taille de particules LS Coulter sur les sous-échantillons. La fraction de sédiments vaseux a été estimée comme le pourcentage de particules < 63 µm et la médiane de la taille du sédiment a été estimée à partir d'un histogramme en pourcentage cumulatif.

Teneur en eau

La teneur en eau (ω) a été déterminée en pourcentage d'eau par rapport au sédiment sec total. Le poids de l'eau a été calculé par la différence de poids avant et après le séchage des échantillons à 60 ° C pendant 3 jours dans une étuve. La teneur organique a ensuite été obtenue comme perte par calcination de l'échantillon sec à 450 ° C pendant 4 h. le poids de sel a également été pris en compte à partir du volume d'eau déduit.

Densité sédimentaire

La densité sèche du sédiment (C_{sed} ; $kg.m^{-3}$) a été estimée à partir de la teneur en eau (ω ; %) selon la formule suivante où γ_s est la densité de grain supposée (2650 $kg.m^{-3}$):

$$C_{sed} = \frac{\gamma_s \times 1000}{\left(\frac{\omega}{100}\right) \times \gamma_s + 1000}$$

Masse volumique

La masse volumique ($kg.L^{-1}$) a été estimée à partir de la teneur en eau et de la densité sédimentaire selon la formule suivante :

$$MV = \frac{C_{sed} + \frac{\omega}{100} \times C_{sed}}{1000}$$

Dosage de la chlorophylle a

Environ 1,5 ml de sédiment ont été prélevés aux différentes stations, homogénéisés et immédiatement congelés (-20 ° C) dans des tubes eppendorf. Ces échantillons ont été lyophilisés et une fraction d'environ 1 g de sédiments a été pesée pour chaque réplicat. Des photopigments ont été extraits dans 10 ml d'acétone à 90% en faisant tourner en continu (12 tour/min) les échantillons pendant 18h dans l'obscurité à 4 ° C. Après centrifugation (4 ° C, 2000g, 5 min), la fluorescence du surnageant a été mesurée à l'aide d'un fluorimètre TurnerTD-700 avant et après acidification (10 µL de HCl, 0,3 M pour 1 ml d'acétone). Les valeurs de chl a (en $\mu g.gDW^{-1}$) et les pheopigments (exprimés en pourcentage des photopigments totaux) ont ensuite été calculés à l'aide de la méthode de Lorenzen (1966) et convertis en $mg.m^{-2}$ en utilisant la densité sèche du sédiment en considérant les 1 cm de profondeur lors du prélèvement pour tenir compte des effets de dilution de la chlorophylle liés au compactage lors de l'exposition à marée basse [178,179].

A.2.2.2. fluorescence PAM

La fluorescence des microalgues benthiques a été mesurée en triplicat à chaque station en utilisant un fluorimètre PAM comprenant une unité de contrôle PAM et une unité de détection WATER-EDF (Walz, Effeltrich, Allemagne). La distance entre la sonde à fibre optique et la surface des sédiments a été maintenue constante à 2 mm pour toutes les mesures. De plus, un anneau de 4 cm de diamètre a été utilisé pour isoler l'échantillon de la lumière naturelle et pour contrôler l'adaptation au noir et le niveau d'irradiation imposé lors de la mesure de la courbe. Cette configuration a été maintenue à l'aide d'un porte-burette fixé sur une base enterrée dans les sédiments.

La méthode de fluorescence PAM a permis d'estimer un rendement de fluorescence initiale ($F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$) qui correspond à l'efficacité maximale du rendement quantique du PSII [180]. Après une adaptation au noir de 5 min, l'échantillon a été excité par une lumière

de mesure basse fréquence (1 μmol de photons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 460 nm, fréquence 0,6 kHz) pour accéder au niveau initial de fluorescence, F_0 . La fluorescence maximale (F_M) a été obtenue lors d'une impulsion de lumière saturante (0,6 s, 2 500 μmol de photons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 460nm), permettant au pool de quinone A (Q_A), de quinone B (Q_B) et une partie de la plastoquinone (PQ) d'être réduits.

Par la suite, chaque échantillon a été exposé à neuf irradiations (I : de 0 à 929 μmol photons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) pendant 30 secondes à chaque étape. Pour chaque niveau d'exposition à la lumière une fluorescence à l'état stationnaire (F_S) et une nouvelle fluorescence maximale (F_M') ont été mesurées et un rendement de fluorescence variable ($\Delta F/F_M = (F_M' - F_S)/F_M'$) calculé. Ensuite, le taux de transport relatif des électrons a été calculé en utilisant l'équation :

$$rETR = \Delta F/F \times I.$$

L'extinction non photochimique de la fluorescence a également été estimée avec l'équation :

$$NPQ = (F_M - F_M')/F_M'.$$

Profils verticaux de *chl*a

Très proche des mesures PAM, trois minicarottes (2 centimètres de profondeur et 1,2 cm de diamètre) ont été prélevées et immédiatement congelés à l'aide d'azote liquide sur le terrain. Une fois congelés, ils ont été plongés dans la bouteille de N_2 liquide et ramenés au laboratoire où ils ont été conservés dans un congélateur à -80°C .

Afin d'accéder à la répartition verticale de la biomasse en *chl*a, les microcarottes ont été découpés en utilisant un microtome de congélation (-25°C) pendant les deux semaines qui ont suivie l'échantillonnage. Chaque section tranchée (200 μm) du sédiment a été placée dans un tube Eppendorf pré-pesé et lyophilisée. La masse sèche a été mesurée avant l'analyse de *chl*a. Les valeurs en *chl*a ont été obtenues selon la méthode de Welschmeyer (1994). Les intervalles considérés étaient de 0-200, 200-400, 400-600, 600-800, 800-1000, 1800-2000, 2800-3000, 3800-4000, 5800-6000, 7800-8000 et 9800-10000 μm .

Exopolysaccharides

Comme Orvain et al. (2014), les exopolysaccharides ont été extraits à partir de 5 ml de sédiments frais placés dans des tubes de centrifugation de 15 ml avec 5 ml d'eau de mer artificielle filtrée à 0,2 μm et stérilisée. Les analyses ont été réalisées immédiatement de retour du terrain pour éviter toute perturbation cellulaire et contamination des extraits EPS [182,183]. Après 1 heure d'incubation dans l'eau de mer artificielle, les tubes ont été mélangés et centrifugés (4°C , 3000 g) pendant 10 min. Les surnageants contenant la fraction colloïdale ont été recueillis dans un nouveau tube de centrifugation et conservés à -20°C jusqu'à une analyse plus approfondie. En plus des EPS colloïdaux, nous avons choisi d'extraire les EPS liés à partir du culot de la dernière centrifugation, en utilisant 5 ml d'eau de mer artificielle et ~ 1 g de résine cationique activée (Dowex Marathon C, Na^+ , Sigma-Aldrich). Même si cette procédure est reconnue pour extraire seulement de petites proportions du volume total d'EPS liés [184], elles peuvent être strictement considérées comme des EPS purs, contrairement aux extractions avec de l'eau distillée, dont la majorité de l'extraction sera composée de composés internes [183]. Après la remise en suspension, les tubes ont été agités doucement pendant 1 heure à 4°C au noir, puis centrifugés (4°C , 3000 g, 10 min). Les surnageants ont été recueillis et maintenus congelés (-20°C) pour une analyse plus poussée des EPS liés. Pour chaque fraction EPS (colloïdale et liée), les EPS de haut et de bas poids moléculaire ont été extraits en incubant les échantillons dans l'éthanol (concentration finale 70%) pendant 16h à -20°C . Les échantillons ont été centrifugés (4°C , 3000 g, 30 min). Les EPS de bas poids moléculaire dans le surnageant ont été jetés et le culot contenant les EPS de haut poids moléculaire a été séchée à 60°C dans un bain sec sous débit d'air (de 6 à 48 h selon la fraction). Les échantillons séchés ont été remis en suspension dans 5 ml d'eau distillée et stockés à -20°C pour la quantification des glucides et des protéines. Pour chaque fraction, 1 ml ont été utilisés pour mesurer le contenu en glucides en utilisant de l'acide sulfurique et du phénol [173] avec le glucose comme standard. 1 ml ont également été utilisées pour estimer le contenu en protéines [185] en utilisant du sérum d'albumine de bovin (Sigma-Aldrich). L'absorbance a été lue sur des plaques multi-puits (96) pour une longueur d'onde de 600 nm à l'aide d'un

bioluminomètre (Mithras LB940 Berthold Technologies). 160µl d'échantillon ont été homogénéisés avec 40µL de réactif de dosage de Bradford (Bio-Rad). Chaque concentration d'EPS a d'abord été exprimée en fonction du volume de sédiments frais et a ensuite été convertie en concentration en utilisant la masse volumique.

b. Correction des données PAM sur le microphytobenthos

Coefficient d'atténuation de la lumière

Pour estimer l'atténuation de la lumière avec la profondeur dans le sédiment de l'estran, un coefficient d'atténuation de la lumière (k_d ; mm^{-1}) a été calculé en utilisant l'équation fournie par [186]. Cette équation tient compte de la proportion en poids de sédiment sec (PSed) dans chaque intervalle de profondeur, leur valeur d'atténuation spécifique $k^*_{d(\text{sed})}$, la proportion de la teneur en pigments de la chlorophylle (PChl) et son coefficient d'atténuation spécifique $k^*_{d(\text{chl})}$, comme suit:

$$k_{d(z_i)} = (\text{PSed}_{z_i} \times k^*_{d(\text{sed})}) + (\text{PChl}_{z_i} \times k^*_{d(\text{chl})})$$

PChl a été calculé à chaque section à partir de la concentration cumulée de chl a ($\text{mg} \cdot \text{m}^{-2}$) de la surface à la profondeur (z_i) de la section considérée suivant l'équation:

$$\text{PChl}(z_i) = \frac{\frac{\text{cumulative Chl a}(z_i)}{-z_i}}{2.9}$$

Avec z_i la profondeur de la section en μm , en supposant une concentration en chl par zone de $29 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ pour une profondeur de $10 \mu\text{m}$ [186], soit $2.9 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ pour une profondeur de 1 mm . Et des valeurs de chl a cumulées ($\text{mg} \cdot \text{m}^{-2}$) calculé directement à partir de la teneur en chl de chaque intervalle des profils verticaux ($\mu\text{g} \cdot \text{gDW}^{-1}$). La conversion de $\mu\text{g} \cdot \text{gDW}^{-1}$ en $\text{mg} \cdot \text{m}^{-2}$ était basée sur la masse volumique ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$) et la profondeur de la section (mm).

Les fractions PSed_{z_i} ont été calculées à la suite de la relation:

$$\text{PSed}_{z_i} = 1 - \text{Pchl}_{z_i}$$

La valeur de référence pour le coefficient d'atténuation spécifique de la chlorophylle de $0,02 \text{ m}^2 \cdot \text{mgchl a}^{-1}$ [186] a été utilisée pour estimer le coefficient d'atténuation intégré en profondeur, $k^*_{d(\text{chl})}$ et une valeur de 58 m^{-1} a été obtenu ($k^*_{d(\text{chl})} = 2,9 \text{ mgchl a} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \mu\text{m}^{-1} \times 0,02 \text{ m}^2 \cdot \text{mgchl a}^{-1} = 58 \text{ mm}^{-1}$). De même, la valeur de référence pour le coefficient d'atténuation spécifique des sédiments de $0,011 \text{ m}^2 \cdot \text{mgDW}^{-1}$ permet d'obtenir une valeur de 2 mm^{-1} pour $k^*_{d(\text{sed})}$ en l'absence de chl a [186]. Cependant, dans un contexte de mélange sablo-vaseux, la valeur de $k^*_{d(\text{sed})}$ peut changer avec la composition granulométrique des sédiments [187] et induire des changements dans les valeurs de k_d . De la même manière qu'il est nécessaire de tenir compte de la variation de la chlorophylle avec la profondeur, il apparaît nécessaire de tenir compte de la variation de la composition des sédiments.

Ainsi, afin d'estimer le coefficient d'atténuation intégrée en profondeur ($k^*_{d(\text{sed})}$ en mm^{-1}) pour chaque échantillon, l'absorbance a été lue sur des plaques multi-puits (96) pour la même longueur d'onde que le fiber-PAM (460 nm) en utilisant un lecteur de microplaques fluorescents FlexStation™ (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA). Pour chacune des 15 stations, 9 puits avec $200 \mu\text{l}$ d'eau milliQ ont été remplis avec les sédiments secs de chaque triplicat pour obtenir différentes épaisseurs de sédiments (25, 50, 75, 100, 125, 150, 200 et $400 \mu\text{m}$). Le poids (mg) a été déterminé avec le volume du puits (cm^3) en supposant une densité de $1,33 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$.

Par conséquent, $k^*_{d(\text{sed})}$ était représenté par le coefficient a de la courbe suivant l'équation d'ajustement :

$$y = e^{-ax}$$

Où y est la lumière absorbée et x l'épaisseur calculée avec le poids (mg) et la densité sèche ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$) de l'échantillon pour fournir les valeurs précises de l'épaisseur des sédiments.

Correction de l'irradiance

L'irradiance du rayonnement actif pour la photosynthèse (PAR) ainsi que de la lumière émise par le fluorimètre PAM discernée par le microphytobenthos peut être considérée comme atténué en raison des couches successives de sédiments et des biofilms superficiels selon un coefficient d'atténuation k_d . L'éclairement réel discerné par la MPB peut être exprimé à chaque distance de la surface en utilisant l'équation de Beer-Lambert comme suit:

$$I_{z_i} = I_0 \times e^{k_d(z_i) \times z_i}$$

Avec I_0 , l'irradiance soumise à la surface dans $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, $k_d(z_i)$ le coefficient d'atténuation de la lumière en mm^{-1} et z_i (mm) la profondeur de la section considérée.

Correction de la fluorescence

Pour une irradiance (I) envoyée par un fluorimètre PAM et reçue par les pigments du MPB, l'appareil photosynthétique effectue la photosynthèse et émet un signal de fluorescence (F_E) qui est mesuré par le dispositif PAM. Cependant, la valeur mesurée (F_R) est atténuée pour la même raison que l'irradiance.

On peut rappeler que PAM envoie une "lumière de mesure" pour estimer la fluorescence minimale (F_0), différentes impulsions d'intensité de lumière saturante pour estimer les fluorescences maximales (F_M) et des lumières actiniques pour estimer les fluorescences stables (F_S) [180]. Une fois les valeurs de fluorescence mesurées, la méthode PAM permet d'estimer un taux relatif de transport d'électrons pour chaque niveau d'irradiance actinique ($rETR(I)$) calculé par l'équation :

$$rETR(I) = \frac{F_M(I) - F_S(I)}{F_M(I)} \times I$$

Avec F_M , la fluorescence maximale et F_S la fluorescence à l'état stationnaire pour une irradiance connue (I ; $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). De la même manière que l'irradiance, pour obtenir le profil réel de $rETR(I)$ sur la profondeur, ces fluorescences doivent être corrigées en fonction de l'irradiation réelle reçue par les pigments MPB calculée précédemment et de l'atténuation de la fluorescence avec Les couches de sédiments.

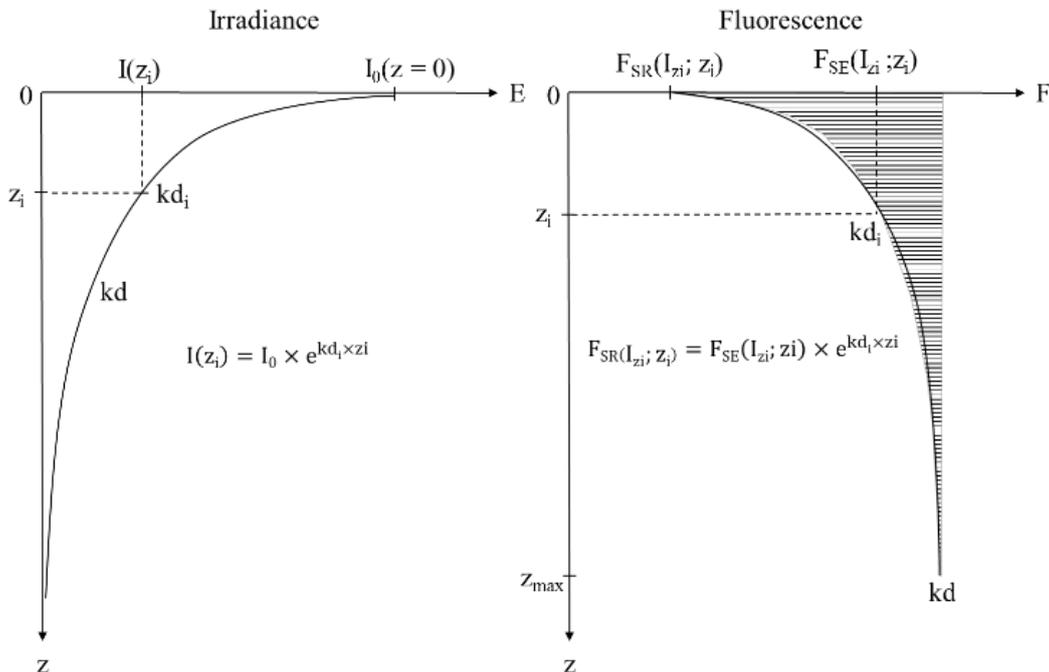


Figure A1. Illustration des termes utilisés dans les équations. L'irradiance reçue à chaque profondeur z_i (I_{z_i}) par les cellules microphytobenthiques est une valeur atténuée de l'éclairement réel à la surface (I_0) suite à un coefficient d'atténuation de la lumière (k_d) qui peut être différent en fonction de la lumière, de la biomasse et des sédiments. De la même façon, le niveau de fluorescence, $F_{SR}(I_{z_i}; z_i)$ perçu en

surface, est une valeur atténuée de la fluorescence réelle émise par les biofilms microphytobenthos non perturbés $F_{SE}(I_{zi}; z_i)$ en profondeur suivant le même coefficient d'atténuation.

Pour évaluer les valeurs réelles de fluorescence à l'état stationnaire (F_{SE}) à chaque irradiance et à chaque profondeur (I_{zi}), la relation non-linéaire entre l'irradiance et la fluorescence est nécessaire. La courbe de tendance polynomiale de la courbe F_S/I mesurée, qui ne change pas avec l'atténuation, a été tracée et ajustée pour extraire les coefficients (a, b, c et d) de la régression polynomiale (Fig. A2).

Ensuite, pour chaque I et pour chaque profondeur, la fluorescence à l'état d'équilibre émis par le microphytobenthos, $F_{SE}(I_{zi}; z_i)$, a été évaluée avec les coefficients polynomiaux et les valeurs de l'irradiation réelle reçue I_{zi} :

$$F_{SE}(I_{zi}; z_i) = (a \times I_{zi}^3 + b \times I_{zi}^2 + c \times I_{zi} + d) \times \frac{I_{zi} \times \text{Chl } a(z_i)}{I_T}$$

Là où I_T représente, pour une irradiation initiale I_0 , la somme de la nouvelle irradiation calculée (I_{zi}) reçue et utilisée par la teneur en chl a (mgchl a.m^{-2}) pour chaque intervalle de profondeur (di) calculé selon l'équation:

$$I_T = \sum_i (I_{zi} \times \text{chl } a(z_i) \times di)$$

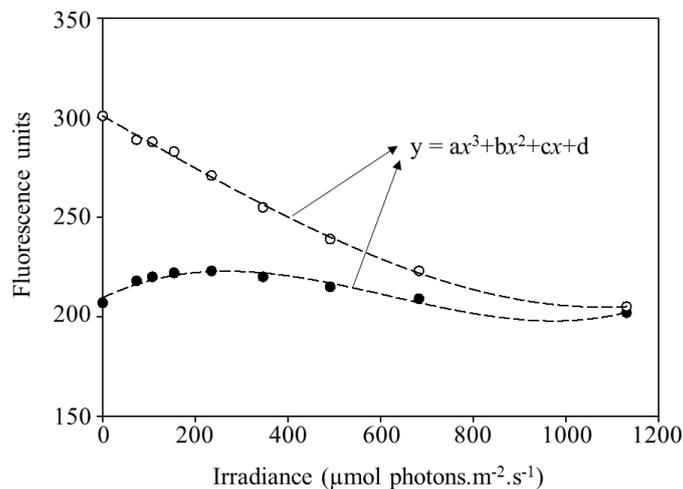


Figure A2. Graphes des fluorescences stables (F_S ; cercles noirs) et maximale (F_M ; cercles vides) en fonction des différentes valeurs d'irradiance envoyée par le PAM. Les relations ont été estimées en utilisant une tendance polynomiale ($y = ax^3 + bx^2 + cx + d$) dans le but d'estimer les valeurs de F_{SE} et F_{ME} en utilisant les irradiances réellement reçues par les cellules (I_{zi}).

Ensuite, la fluorescence stable F_S mesurée par le PAM devrait être l'intégration de ces F_{SE} après une atténuation par des couches de sédiments et des biofilms. Ainsi, le $F_{SE}(I_{zi}; z_i)$ a été utilisé pour estimer le F_{SE} après l'atténuation (F_{SR}):

$$F_{SR}(I_{zi}; z_i) = F_{SE}(I_{zi}; z_i) \times e^{kd_{zi} \times z_i}$$

Le F_S qui doit être mesuré par le dispositif PAM, qui représente l'intégration sur la profondeur de la fluorescence émettrice à l'état réel (F_{SE}), atténuée pendant le retour du faisceau à la surface (F_{SR}), peut être estimé avec l'équation :

$$F_{SRT}(I) = \int_0^{z_{max}} F_{SR}(I_{zi}; z_i) di$$

Où z_{max} est la profondeur maximale à laquelle le microphytobenthos peut détecter le faisceau sous la surface et di l'intervalle de profondeur où la fluorescence a été émise par des pigments chl a.

Dans l'obscurité ($I = 0$), les valeurs de fluorescence (F_{S0}) ne peuvent pas être évaluées par cette méthode, qui s'appuie sur l'irradiance. Ces valeurs initiales ont donc été extrapolées à

partir des courbes de tendance polynomiale des courbes $F_{SE}(z_i)/I_{z_i}$. Ainsi, l'équation polynomiale a été utilisée pour calculer le F_{SE} initial de la profondeur considérée dans l'obscurité.

En raison des effets de distorsion qui pourraient être dus à une dispersion des signaux qui ne peuvent pas être totalement évalués par le coefficient k_d , à un effet du dispositif de mesure ou à des mesures biologiques qui ne peuvent jamais être exactes, la valeur F_{SRT} était supérieure à la fluorescence vraiment mesurée à la surface par le PAM (F_S). Ainsi, pour chaque $F_{SE}(I_{z_i}; z_i)$, un coefficient d'erreur $ec(I)$ a été calculé et chaque profil de $F_{SE}(I_{z_i}; z_i)$ a été corrigé :

$$ec(I) = \frac{F_{SRT}(I)}{F_S(I)}$$

$$F_{SE}(I_{z_i}; z_i)c = F_{SE}(I_{z_i}; z_i) \times ec(I)$$

Ensuite, le $F_{SR}(I_{z_i}; z_i)$ a également été estimé à nouveau en utilisant les valeurs de $F_{SE}(I_{z_i}; z_i)c$ et la correction a été validée en vérifiant l'égalité entre le F_{SRT} corrigé et les F_S réellement mesurés. Les mêmes étapes ont été réalisées avec la fluorescence maximale, FM.

Les vraies fluorescences minimales, stables et maximales émises par le MPB avant l'atténuation ont donc été utilisées pour calculer le rETR réel à chaque intervalle de profondeur et chaque niveau d'irradiance de PAR:

$$rETRc(I_{z_i}; z_i) = \frac{F_{ME}(I_{z_i}; z_i)c - F_{SE}(I_{z_i}; z_i)c}{F_{ME}(I_{z_i}; z_i)c} \times I_{z_i}$$

Pour chaque niveau d'irradiance de PAR, les nouveaux F_S et F_M corrigés (F_{SET} et F_{MET}) ont été utilisés pour estimer le rETR réel de l'échantillon :

$$rETRc(I) = \frac{F_{MET}(I)c - F_{SET}(I)c}{F_{MET}(I)c}$$

I. ANNEXE II – Caractérisation de l’habitat pélagique

- Dynamique saisonnière

Lors de l’année d’échantillonnage (2015), le débit de la rivière a diminué progressivement de janvier à juin avec des pics mensuels pendant les cinq premiers mois allant jusqu’à $1240 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, le débit est resté faible de juin à novembre et a augmenté à nouveau en décembre. L’intensité lumineuse a suivi un cycle saisonnier avec une courbe en cloche présentant de faibles valeurs de janvier à mars et d’octobre à décembre et de fortes valeurs d’avril à septembre (Fig. A3).

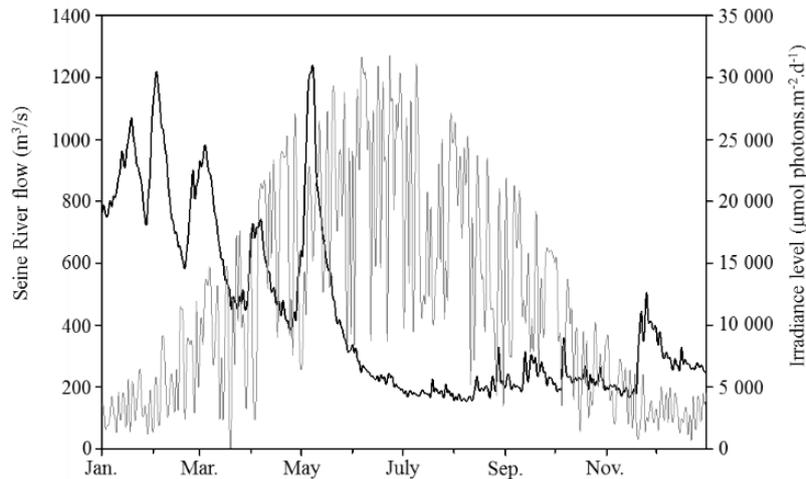


Figure A3. Dynamique de l’intensité lumineuse journalière (gris - $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$) et du flux de la Seine à Poses (noir - $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) au cours de l’année 2015.

La température de l’eau présente également une dynamique saisonnière caractéristique de nos régions avec un léger gradient inversé en fonction des saisons et des valeurs extrêmes enregistrées en amont avec 21.89°C en surface en juillet et 5.12°C au fond en février. Quelques patches de température sont observés au fond (Fig. A4). La salinité montre une dynamique typiquement estuarienne avec un gradient de dilution présent à la fois en surface et au fond et une stratification des masses d’eau avec des valeurs plus importantes dans la couche inférieure. L’hétérogénéité des valeurs au fond est tout comme la température plus importante. La position du gradient est saisonnièrement liée au débit de la rivière. Ainsi, la plus forte valeur (29.89 PSU) a été mesurée au fond de la station 2 en novembre et la plus faible (0.25 PSU) en surface du site 8 en mai (Fig. A4).

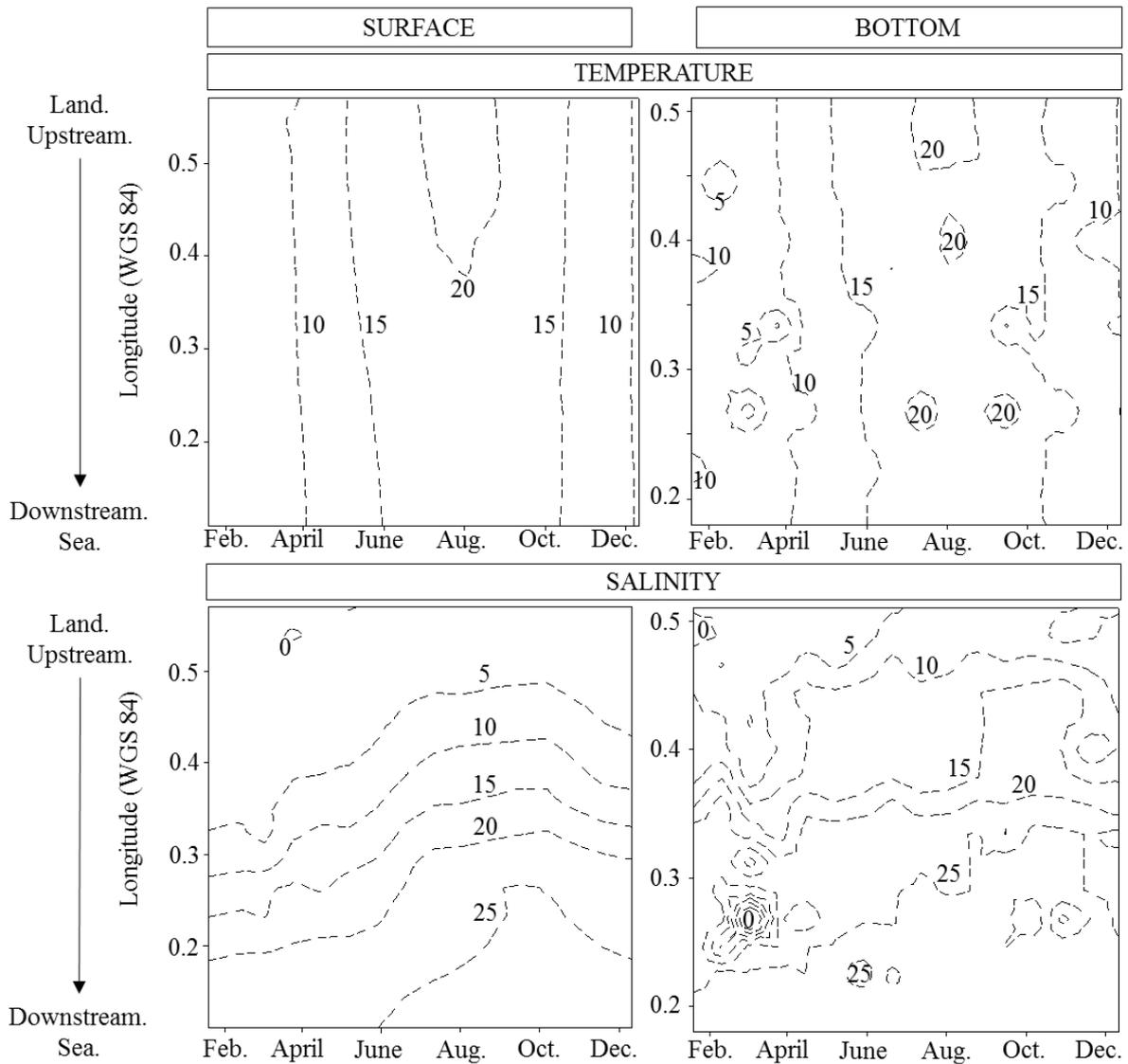


Figure A4. Dynamique de la température (°C) et de la salinité (PSU) au cours de l'année 2015 le long du gradient de salinité de l'estuaire pour les couches de surface et de profondeur.

Les MES dans l'estuaire sont plus importantes en hiver et au fond. A nouveau, l'hétérogénéité au fond est importante. La position de la MTZ a pu être déterminée par ces valeurs, avec de plus fortes valeurs à la station 8 de janvier à mars et en amont de la station 5 à partir d'octobre. La plus forte valeur a atteint 2.7 g.L^{-1} en décembre (Fig. A5). La turbidité est fortement corrélée aux valeurs de MES ($p < 0.001$). Le gradient de turbidité de l'aval vers l'amont est très marqué et les plus fortes valeurs confirment la position de la MTZ. En effet, la MTZ est créée par la remise en suspension et les processus de floculation qui atteignent leur maximum au niveau de la salinité 0, c'est-à-dire à l'endroit où le flux d'eau douce rencontre le flux de marée (Fig. A5).

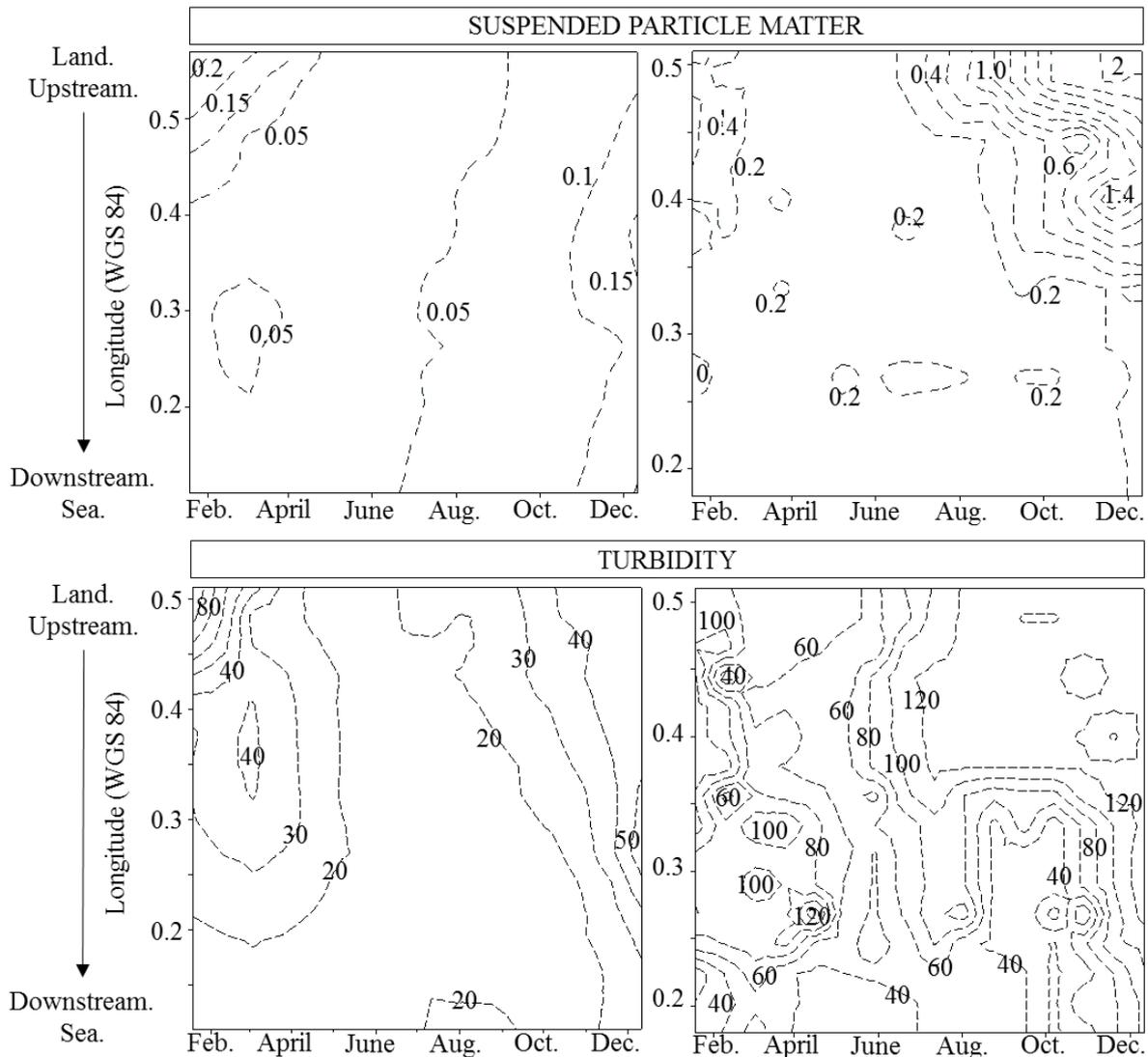


Figure A5. Dynamique des matières en suspension (MES ; g.L⁻¹) et de la turbidité (NTU) au cours de l'année 2015 le long du gradient de salinité de l'estuaire pour les couches de surface et de profondeur.

Les concentrations en azote inorganique dissous (DIN) et en silicates sont plus importantes en surface traduisant leur origine fluviale. Les plus fortes valeurs ont toujours été observées au niveau de la MTZ et sont plus élevées lors des périodes de fort débits (jusqu'à 482 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ pour les DIN et 165.5 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ pour les silicates). Les concentrations les plus faibles ont principalement été mesurées au fond et en aval en aout pour les DIN (40.87 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) et en mai pour les silicates (17.04 $\mu\text{mol.L}^{-1}$). En surface, les concentrations en DIN suivent un gradient de dilution de l'amont vers l'aval en relation directe avec le débit de la rivière. Malgré la présence d'un gradient de dilution également en profondeur, la dynamique du DIN présente une hétérogénéité qui n'est pas liée au débit de la Seine ou à des processus de dilution. La dynamique des silicates est similaire à celle du DIN (Fig. A6) et une relation linéaire a pu être mise en évidence ($[\text{Si}] = 0.38 \times [\text{DIN}]$; $R^2 = 0.75$) entre ces sels nutritifs.

Les concentrations en phosphates présentent une dynamique différente avec des valeurs similaires en surface et en profondeur. Les plus fortes valeurs (> 4 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) ont été mesurées en amont du site 7 en aout alors que la plus faible valeur a été mesurée en aval et en profondeur au mois de mai (Fig. A6). Ces valeurs sont positivement et significativement associées à la dynamique des MES et négativement avec le débit ($p < 0.001$).

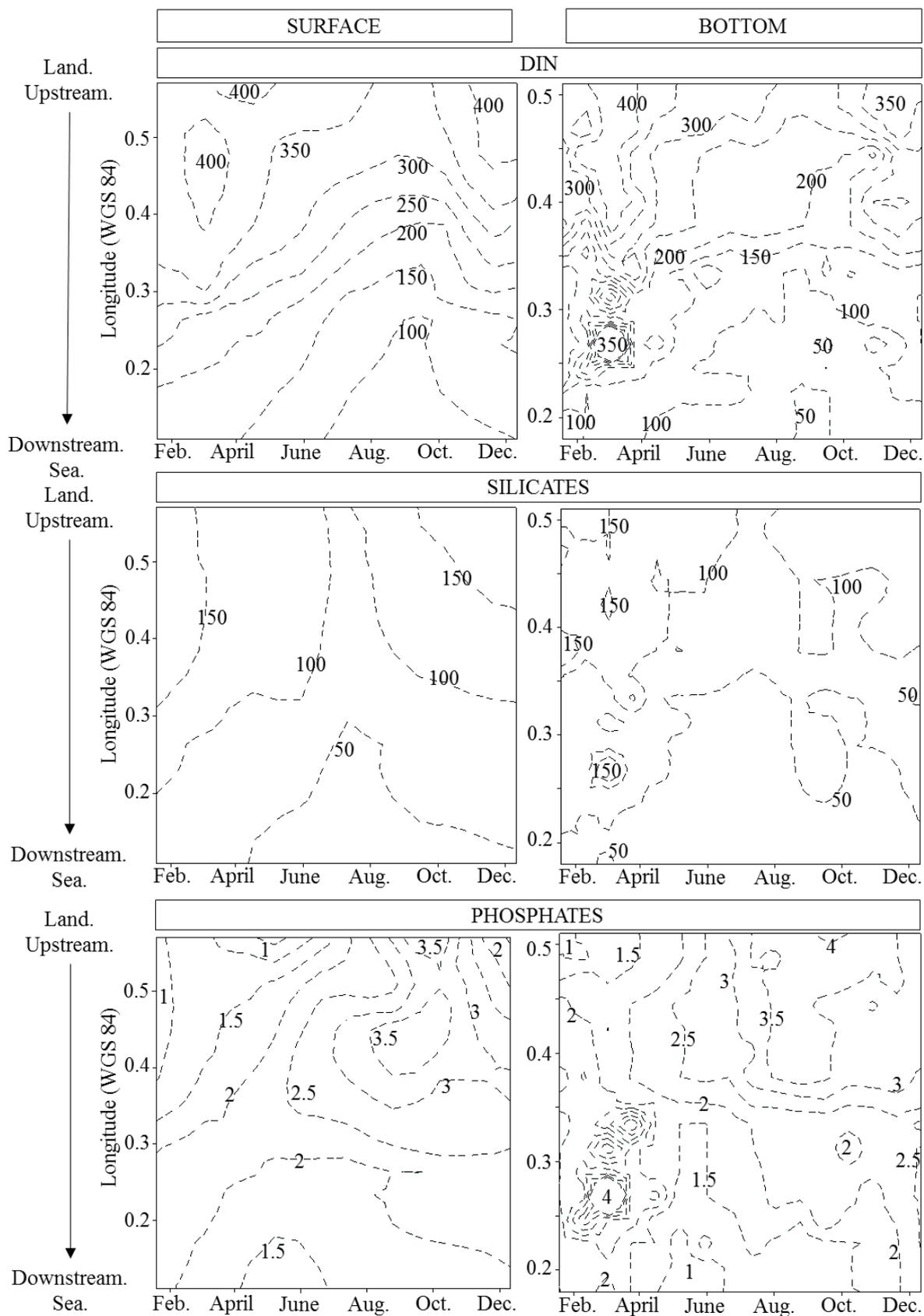


Figure A6. Dynamique de la concentration en nutriments (azote inorganique dissous (DIN), silicates et phosphates ; $\mu\text{mol.L}^{-1}$) au cours de l'année 2015 le long du gradient de salinité de l'estuaire pour les couches de surface et de profondeur.

- **Dynamique journalière**



Au cours d'un cycle tidal, la température reste globalement constante aux deux profondeurs à chaque station et aux deux saisons. En hiver à La Carosse, des températures légèrement plus élevées au fond ont été observées (Fig. A7). Comme attendu, la salinité est le paramètre le plus variable au cours d'un cycle tidal. Seules les stations de La Carosse en été et de Tancarville en hiver présente de faibles variations. En hiver à la Carosse les variations sont observables surtout en surface mais sans dynamique particulière. A Fatouville, une augmentation de la salinité est mesurée lors de la pénétration de la marée en surface. En été à Fatouville, la salinité suit également le cycle de la marée avec une amplitude de variation aussi importante en surface qu'au fond. A Tancarville une augmentation de la salinité a été enregistré avec un décalage d'environ 2 heures par rapport à la hauteur d'eau. Cette augmentation est plus importante au fond (Fig. A7).

Les MES ont également varié différemment en fonction des différentes stations et des deux saisons. A la Carosse, aucune dynamique des MES n'a pu être enregistrée pour les deux saisons. A Fatouville, les variations sont plus importantes en hiver et au fond. Deux pics important ont été enregistré au fond à la fin du flot et pendant le jusant et un pic plus faible en surface à la fin du jusant. En été deux pics au fond ont été enregistrés à marée basse et au début du flot aux deux profondeurs. A Tancarville en hiver, la variation est très faible, certainement dû à une position de la MTZ plus en aval. En été, la variation à Tancarville est plus importante que celle à Fatouville, montrant une position de la MTZ plus en amont que en hiver. Ainsi en été, les pics de MES observés à Tancarville sont plus important au fond et situés à la fin du flot et du jusant. En surface, l'augmentation des concentrations en MES a été enregistrée pendant la marée basse (Fig. A8). Ces observations suggèrent une forte relation entre les concentrations en MES et les processus de remise en suspension des sédiments induits par les courants horizontaux et verticaux produits par la marée.

Les nutriments présentent une dynamique très variable au cours du cycle tidal pour chaque station et aux deux saisons. Les valeurs sont plus fortes en hiver tout au long du gradient salin. En hiver à Tancarville, les valeurs sont constantes au cours du cycle tidal et aux deux profondeurs alors que de fortes variations sont observées aux deux autres stations. En effet, à La Carosse, bien que les valeurs soient restées relativement constantes au fond, une diminution des concentrations a été observée pendant le flot et une augmentation pendant le jusant. A Fatouville, les concentrations en DIN et en Si présentent une dynamique similaire avec une diminution des concentrations inversement corrélée à la hauteur d'eau liée à la marée. Cette dynamique est cependant absente en surface pour les concentrations en Si. La concentration en P montre une dynamique inverse avec des variations corrélées à la hauteur d'eau. En été, à la Carosse les valeurs sont relativement constantes avec une légère augmentation du DIN à marée basse. A Fatouville, le Si varie peu en surface et au fond et le DIN est largement lié aux apports fluviaux lors du jusant. Les concentrations en P présentent une dynamique inverse à celles du DIN avec de faibles valeurs à marée basse et une augmentation durant le flot, probablement due à la remise en suspension de particules sédimentaires. A Tancarville, les concentrations en Si sont relativement constantes alors que le DIN et le P présentent de nouveau des dynamiques inverses (Fig. A9).



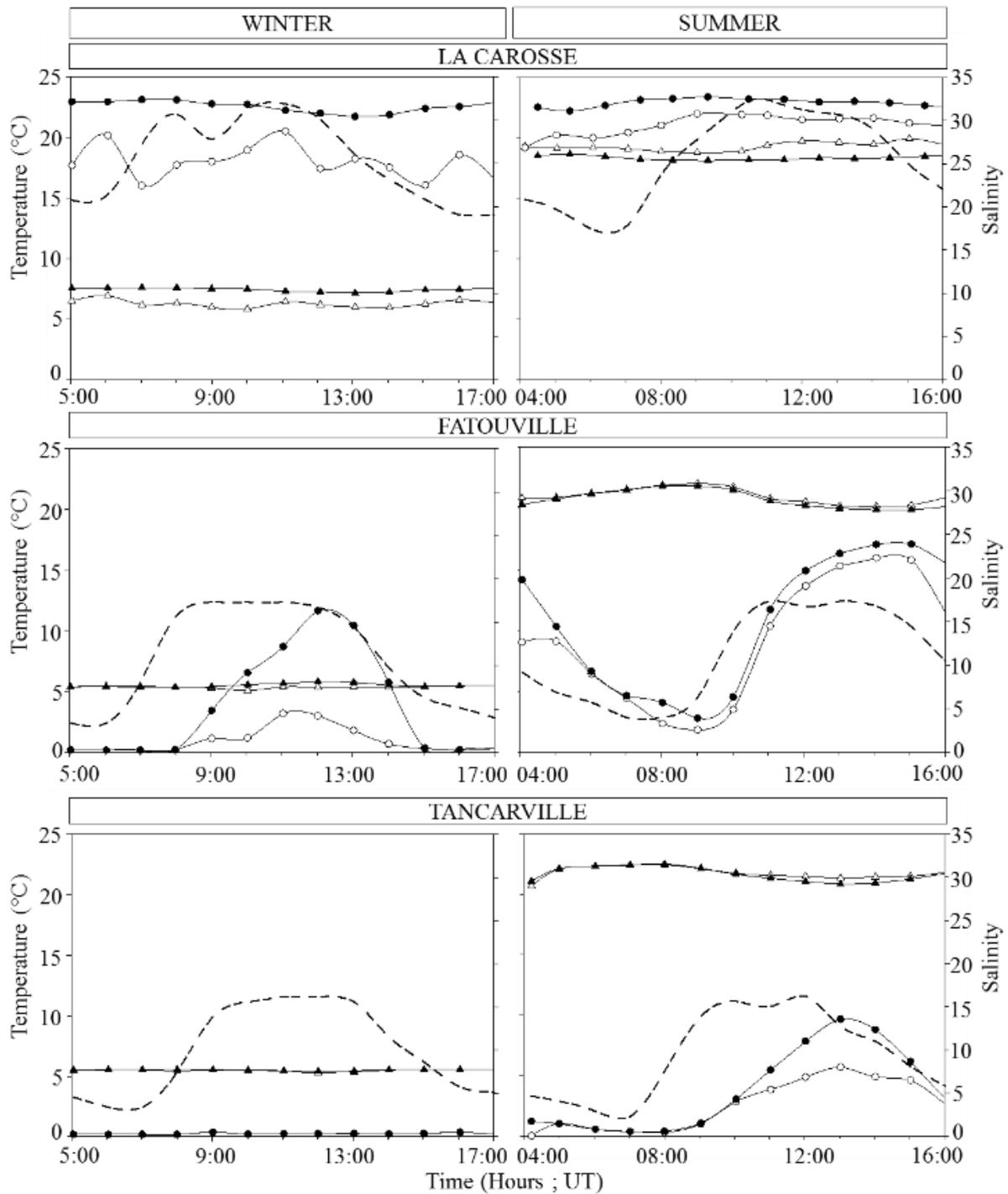


Figure A7. Dynamique de la de la salinité (symboles ronds) et de la température (symboles triangulaires) au cours d'un cycle tidal à trois station de l'aval vers l'amont (La Carosse, Fatouville et Tancarville) en Hiver (à gauche) et en été (à droite). Les symboles blancs représentent les valeurs en surface et les noirs au fond. La ligne en pointillés représente la hauteur d'eau (mesurée 1m au-dessus du fond).

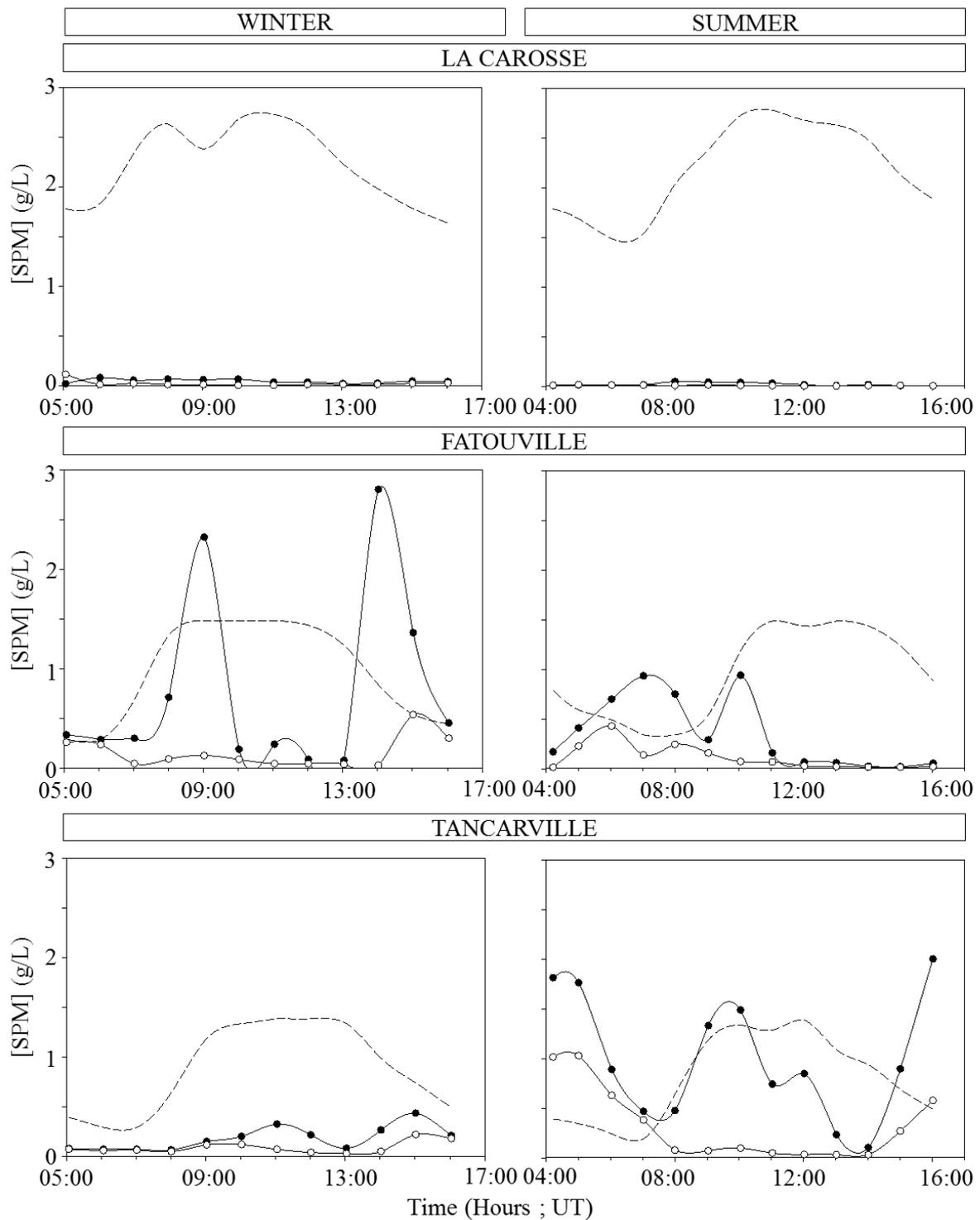


Figure A8. Dynamique de la de la concentration en (MES ; g.L⁻¹) au cours d'un cycle tidal à trois station de l'aval vers l'amont (La Carosse, Fatouville et Tancarville) en Hiver (à gauche) et en été (à droite). Les symboles blancs représentent les valeurs en surface et les noirs au fond. La ligne en pointillés représente la hauteur d'eau (mesurée 1m au-dessus du fond).

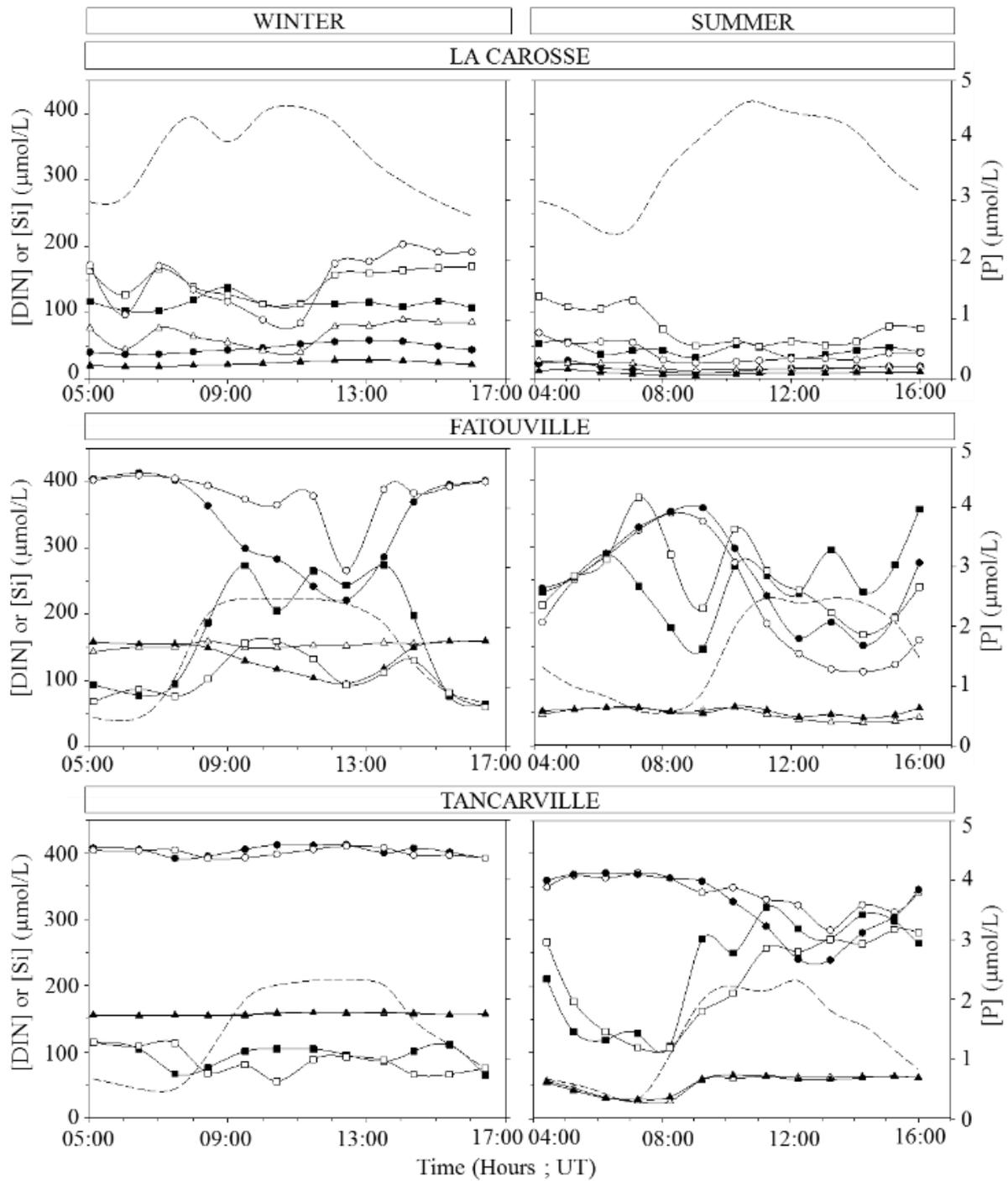


Figure A9. Dynamique de nutriments ($\mu\text{mol.L}^{-1}$) avec l'azote inorganique dissous (cercles), les phosphates (carrés) et les silicates (triangles) au cours d'un cycle tidal à trois station de l'aval vers l'amont (La Carosse, Fatouville et Tancarville) en Hiver (à gauche) et en été (à droite). Les symboles blancs représentent les valeurs en surface et les noirs au fond. La ligne en pointillés représente la hauteur d'eau (mesurée 1m au-dessus du fond).

- Analyse en triadique partielle

Une analyse triadique partielle (PTA) a été réalisée sur ces paramètres physicochimiques à l'échelle saisonnière afin de rechercher une structure spatiale commune entre les différentes stations et étudier la variation temporelle du système. Dans l'analyse de l'interstructure, les deux premiers axes ont permis d'expliquer plus de 80 % de l'inertie totale en surface comme en profondeur (Fig. A10-B & E). La projection des stations selon la méthode cluster de Ward divise le transect en deux zones distinctes. Ces deux zones sont composées pour la zone A des stations 1 à 4 et pour la zone B des stations 5 à 8 (Fig. A10-C).

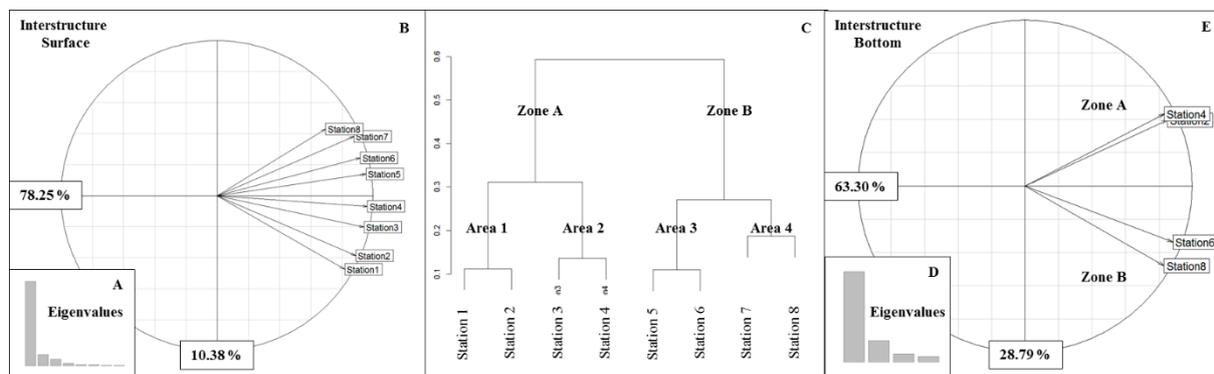


Figure A10. Analyse de l'interstructure de l'analyse triadique partielle réalisée sur les paramètres physicochimiques pour la couche de surface (A- histogramme des Eigenvalues basée sur la diagonalisation des coefficients de corrélation, B- organisation des station en fonction des deux premier vecteurs de la matrice de corrélation et C arbre topologique obtenu avec la méthode cluster de Ward) et la couche de profondeur (D - Histogramme des Eigenvalues basée sur la diagonalisation des coefficients de corrélation et E - organisation des stations en fonction des deux premiers vecteurs de la matrice de corrélation).

Dans l'analyse des compromis de l'analyse triadique partielle, les deux premiers vecteurs représentent plus de 80 % de l'inertie totale en surface et en profondeur (Fig. A11 - A & D) ce qui nous fournit une vision précise de la tendance temporelle commune. Pour les deux profondeurs, nous pouvons observer une dynamique saisonnière importante des paramètres physicochimiques avec de fortes concentrations en DIN et Si liées à un fort débit de la rivière de janvier à mars, une augmentation des températures et de l'irradiance en avril jusqu'en octobre suivie par une augmentation de la salinité due à une diminution du débit de la rivière. L'augmentation du débit à partir d'octobre entraîne ensuite une forte turbidité et des concentrations importantes en MES et par conséquent de fortes concentrations en P (Fig. A11 - B; C; E&F).

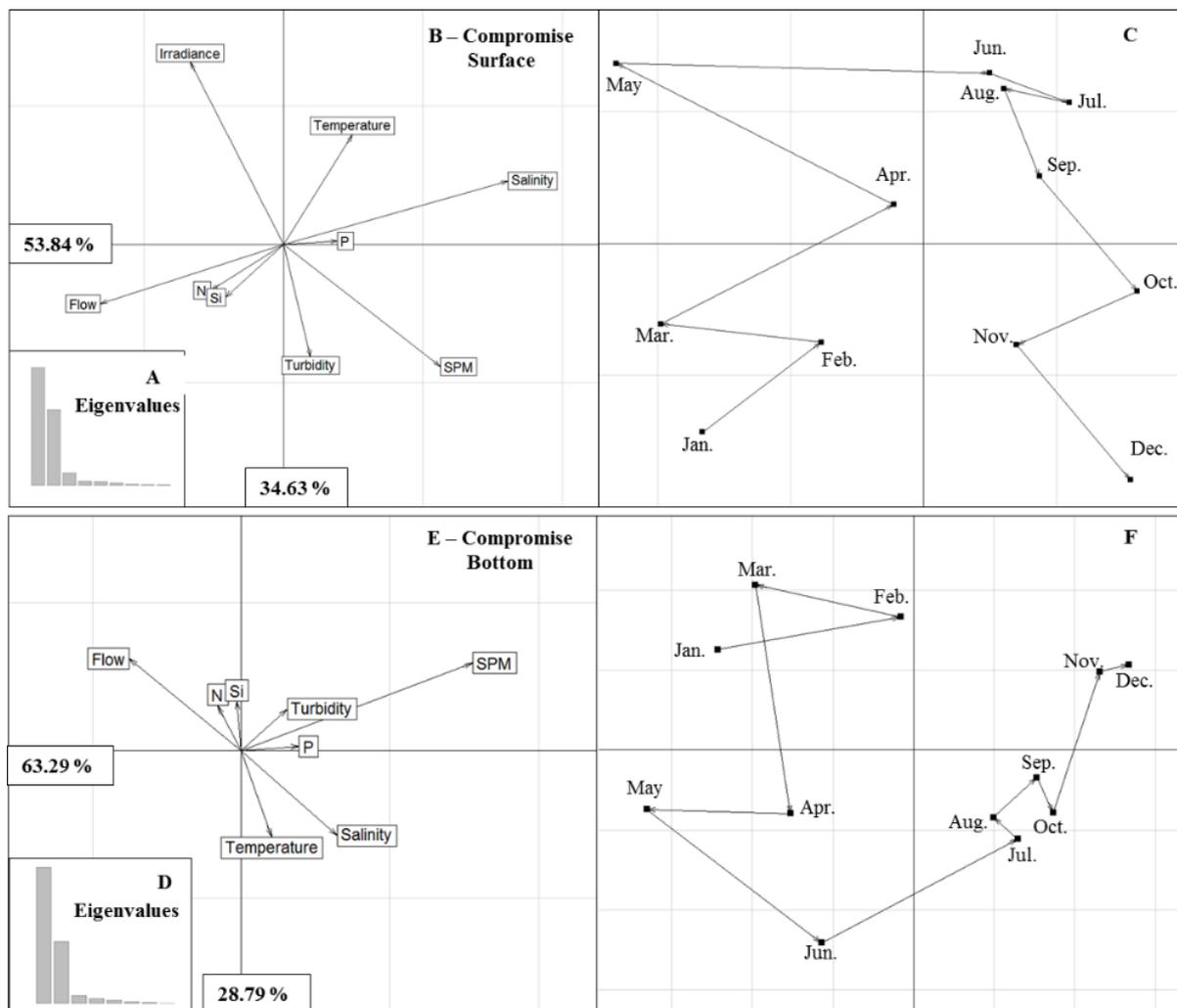


Figure A11. Analyses des compromis de l'analyse triadique partielle réalisée sur les paramètres physicochimiques pour la couche de surface (A- histogramme des eigenvalues, B- projection des variables et C – projection des dates d'échantillonnage dans le plan des deux premiers vecteurs) et en profondeurs (arbre topologique obtenu avec la méthode cluster de Ward) et la couche de profondeur (D- histogramme des eigenvalues, E- projection des variables et F – projection des dates d'échantillonnage dans le plan des deux premiers vecteurs).

II. ANNEXE III - Caractérisation de l'habitat benthique

Au cours de deux campagnes communes avec le projet BARBES GIP SA5 (fin septembre 2014 et avril 2015), 15 stations ont été échantillonnées en fonction de leur granulométrie. Un gradient sablo-vaseux est présent de la station O, la plus sableuse (8.61 % de particules fines en été et 3.71 % au printemps), à la station K, la plus vaseuse en été (73.70 %) et M au printemps (75.68 %) située toutes deux dans le chenal environnemental (Tab. A2).

Les autres paramètres sédimentaires (teneur en eau (%), masse volumique (kg.L^{-1})) sont également liés au pourcentage de sédiment fin et peuvent globalement être classés selon les mêmes rangs. Ainsi, les zones considérées comme sableuses présentent des faibles teneurs en eau (20 - 30 %) et les zones vaseuses des teneurs plus importantes (allant jusqu'à 200 %). La masse volumique est plus importante en zone sableuses (jusqu'à plus de 1.89 kg.L^{-1}) et plus faible en zone vaseuse (jusqu'à presque 1.26 kg.L^{-1}).

Les coefficients d'atténuation ($k_{d(\text{sed})}^*$) ont été mesurés en fonction de la granulométrie estivale des différentes stations. Plus les valeurs de $k_{d(\text{sed})}^*$ sont fortes plus la pénétration de la lumière dans la couche sédimentaire est réduite. Les valeurs les plus basses sont observées sur les sites les plus sableux ($< 3 \text{ mm}^{-1}$) alors que les plus vaseux présentent des valeurs variables mais plus élevées qui sont comprises entre de 3,32 à 5,46.



Tableau A2. Caractéristiques du sédiment des sites échantillonnés.

Site	<63 μ m (%)	Median (μ m)	$k^*_{d(sed)}$ (mm^{-1})	Volumetric mass ($kg.L^{-1}$)	Moisture content (%)	Dry bulk density ($kg.m^{-3}$)
SUMMER						
O	8.61	172.00	2.35 \pm 0.26	1.69 \pm 0.21	26.14 \pm 1.73	1566.19 \pm 42.44
C	21.80	167.60	2.75 \pm 0.29	1.85 \pm 0.06	28.85 \pm 6.00	1510.29 \pm 139.67
N	24.00	133.20	5.02 \pm 0.32	1.72 \pm 0.05	34.35 \pm 5.20	1392.18 \pm 102.77
E	28.70	122.80	3.68 \pm 0.28	1.67 \pm 0.14	27.61 \pm 3.70	1533.54 \pm 84.67
P	36.10	102.80	4.48 \pm 0.66	1.75 \pm 0.24	33.54 \pm 2.31	1403.93 \pm 45.88
B	47.10	69.12	4.28 \pm 0.39	1.66 \pm 0.08	54.63 \pm 8.62	1089.14 \pm 105.15
F	50.30	62.47	4.15 \pm 0.45	1.59 \pm 0.13	49.59 \pm 15.83	1168.48 \pm 193.66
H	51.50	60.09	3.68 \pm 0.33	1.51 \pm 0.10	81.58 \pm 5.56	839.32 \pm 39.81
G	57.20	53.61	3.43 \pm 0.91	1.38 \pm 0.07	122.64 \pm 8.43	624.65 \pm 31.92
I	58.10	50.85	3.87 \pm 1.49	1.42 \pm 0.10	77.29 \pm 10.02	873.63 \pm 72.80
A	58.30	51.22	5.46 \pm 0.06	1.56 \pm 0.15	56.99 \pm 4.22	1057.05 \pm 46.53
D	58.30	48.64	5.36 \pm 0.66	1.52 \pm 0.17	66.19 \pm 26.92	1003.23 \pm 239.07
L	67.30	41.33	3.32 \pm 0.68	1.27 \pm 0.03	201.24 \pm 7.84	418.76 \pm 13.83
M	69.70	41.01	4.76 \pm 0.65	1.55 \pm 0.06	69.40 \pm 5.66	935.14 \pm 49.22
K	73.70	35.85	4.20 \pm 0.36	1.26 \pm 0.01	198.68 \pm 3.27	423.04 \pm 5.85
SPRING						
O	3.71	202.72	2.42	1.81 \pm 0.02	26.16 \pm 0.62	1565.20 \pm 15.17
P	6.73	208.97	2.34	1.89 \pm 0.06	33.13 \pm 2.16	1411.91 \pm 43.27
N	7.44	209.74	2.33	1.81 \pm 0.07	29.29 \pm 1.96	1492.77 \pm 44.40
H	9.95	51.72	4.26	1.76 \pm 0.10	38.97 \pm 8.60	1315.32 \pm 156.13
B	35.52	128.00	3.33	1.38 \pm 0.03	137.96 \pm 9.36	570.26 \pm 30.57
A	37.05	117.40	3.46	1.33 \pm 0.02	168.18 \pm 5.20	485.83 \pm 12.25
F	43.76	79.02	3.93	1.71 \pm 0.09	53.93 \pm 3.80	1092.14 \pm 45.26
I	58.20	205.13	2.39	1.44 \pm 0.05	93.00 \pm 9.80	767.88 \pm 59.76
G	64.47	42.76	4.37	1.32 \pm 0.03	157.59 \pm 21.37	516.18 \pm 57.91
E	64.50	44.77	4.34	1.47 \pm 0.07	95.70 \pm 11.98	753.65 \pm 70.62
D	70.14	38.33	4.42	1.49 \pm 0.04	111.48 \pm 5.21	670.72 \pm 23.20
L	71.43	42.21	4.38	1.41 \pm 0.03	106.44 \pm 4.92	694.12 \pm 23.80

III. ANNEXE IV - Dynamique journalière des TEP et EPS

En hiver à La Carosse, trois pics sont enregistrés près du fond (Fig. A12): deux pendant la marée haute (jusqu'à 7.50 et 9.65 mgXGeq.L⁻¹) et un à la fin de la marée descendante (jusqu'à 9.31 mgXGeq.L⁻¹). En surface, un pic est enregistré au début du flot (jusqu'à 4,00 mgXGeq.L⁻¹) et une augmentation progressive est enregistrée pendant le flot jusqu'à 5,89 mgXGeq.L⁻¹. Une forte variabilité est observée à Fatouville au fond avec des pics jusqu'à 41,73 mgXGeq.L⁻¹ pendant le flot, diminuant pendant la marée haute jusqu'à 15,22 mgXGeq.L⁻¹ et augmentant à nouveau à la fin de l'étalement et pendant le jusant jusqu'à 68,69 mgXGeq.L⁻¹. En surface, une légère augmentation est enregistrée pendant le flot jusqu'à 17,75 mgXGeq.L⁻¹ et une seconde augmentation pendant le jusant atteignant 26,94 mgXGeq.L⁻¹. A Tancarville Malgré des valeurs faibles, [TEP] présente également quelques pics au cours de l'étalement de marée haute (jusqu'à 4,40 mgXGeq.L⁻¹ en surface et 8,38 mgXGeq.L⁻¹ près du fond) et le jusant (jusqu'à 8,15 mgXGeq.L⁻¹ en surface et 6,82 mgXGeq.L⁻¹ au fond).

Au cours de l'été, les variations de TEP à La Carosse sont faibles malgré deux petits pics enregistrés près du fond avec 2.10 mgXGeq.L⁻¹ à marée basse et 3.40 mgXGeq.L⁻¹ à marée haute. En amont, des pics élevés sont enregistrés pendant le jusant aux deux profondeurs, avec des valeurs atteignant 8,59 mgXGeq.L⁻¹ en surface et 14,10 mgXGeq.L⁻¹ près du fond à Fatouville et atteignant 30,59 mgXGeq.L⁻¹ en surface et 32,06 mgXGeq.L⁻¹ près du fond à Tancarville. De petits pics sont également enregistrés à marée haute à ces deux stations, avec 2,10 mgXGeq.L⁻¹ en surface et 2,48 mgXGeq.L⁻¹ près du fond à Fatouville et 5,78 mgXGeq.L⁻¹ en surface et 17,21 mgXGeq.L⁻¹ au fond à Tancarville. Pour l'ensemble des sites, les pics de TEP sont principalement observés lors des flux de la marée ou lors de la marée basse. Dans tous les cas, les pics de [TEP] peuvent être mis en relation avec les pics de MES aux mêmes moments.



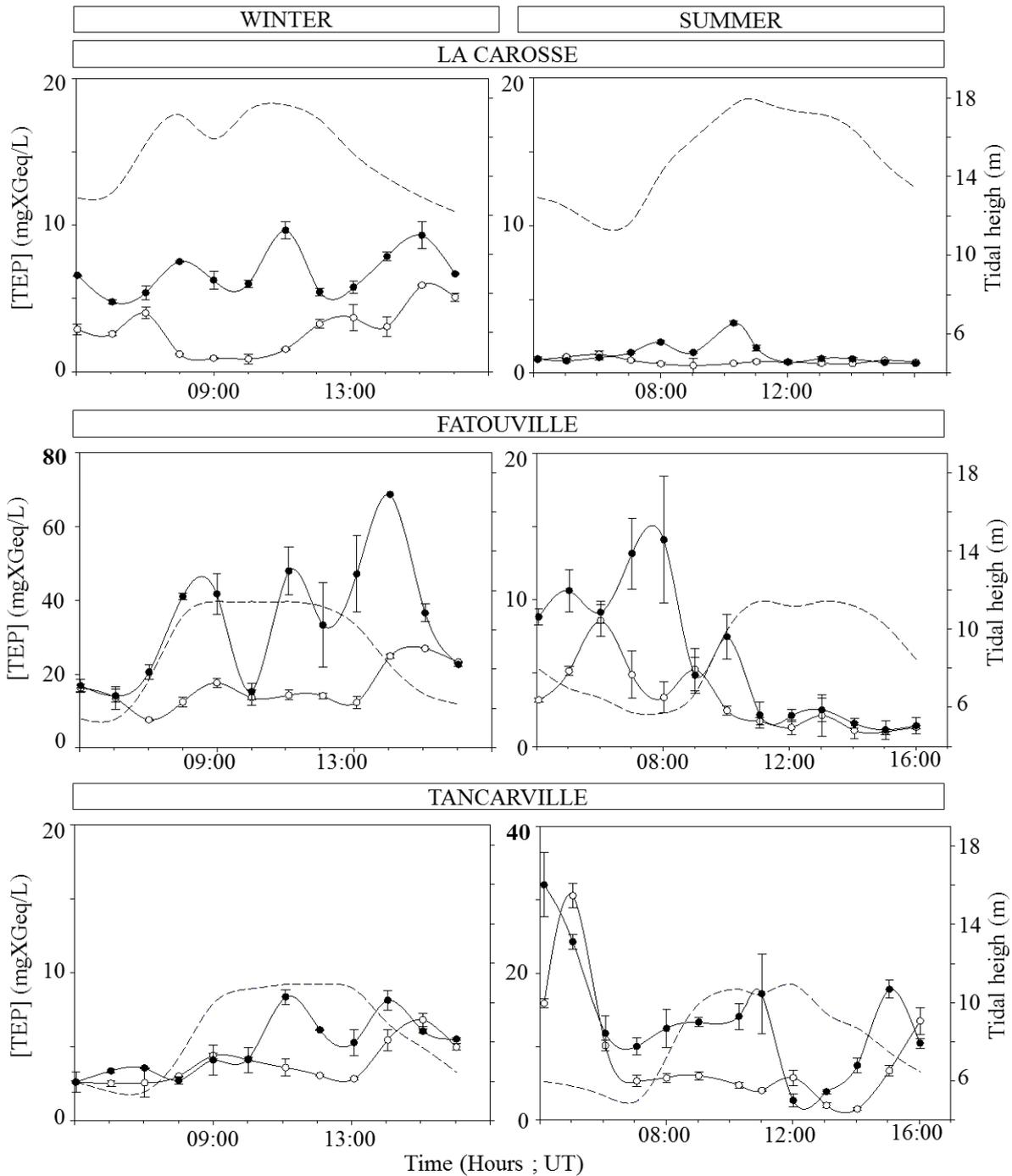


Figure A12. Dynamique des concentrations en TEP ([TEP] ; mgXGeq.L^{-1}) mesurées au cours d'un cycle tidal à trois stations (La Carosse, Fatouville et Tancarville). Valeurs mesurée 1m sous la surface (symboles vides) et 1 m au-dessus du fond (symbole pleins). La ligne pointillée représente la hauteur d'eau (m) et illustre le cycle de la marée.

En dépit d'un fort degré de variabilité, avec des valeurs comprises entre 0,85 et 7,64 mgGeq.L^{-1} , les concentrations de S-EPS ([S-EPS]) sont plus importantes au fond qu'en surface et en hiver qu'en été (fig. A13). En hiver, la valeur la plus élevée (7,64 mgGeq.L^{-1}) est enregistrée près du fond à Tancarville à la fin de la marée descendante tandis que la valeur la plus basse (3,06 mgGeq.L^{-1}) est enregistrée en surface à La Carosse pendant la marée haute. En été, la valeur la plus élevée (6,77 mgGeq.L^{-1}) est enregistrée à proximité du fond à Tancarville lors de la reverse des courants à la fin de la marée haute tandis que la valeur la plus basse (0,85 mgGeq.L^{-1}) est enregistrée en surface à La Carosse à la fin du jusant.



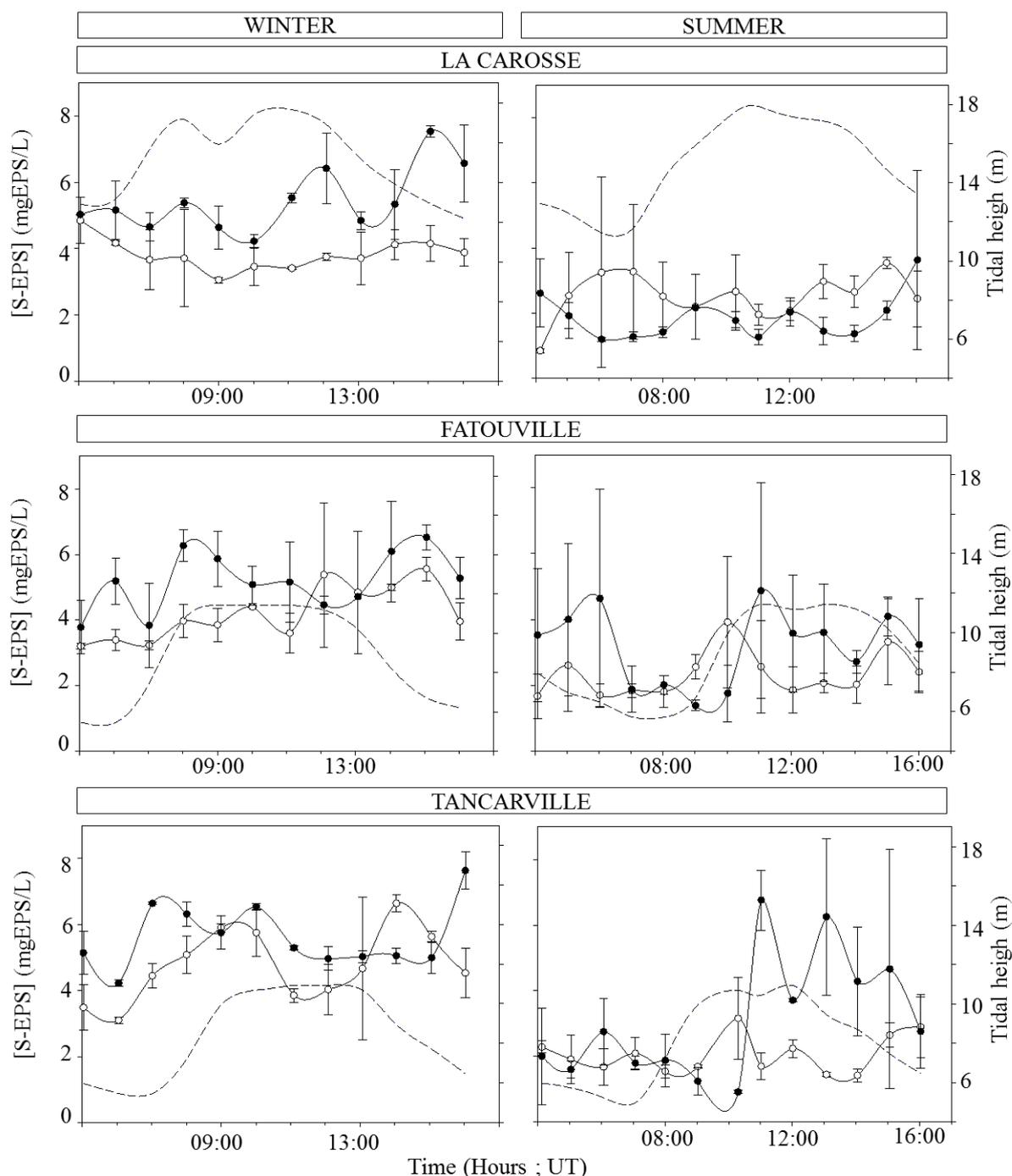


Figure A13. Dynamique des concentrations en S-EPS ($[S-EPS]$; mgGeq.L^{-1}) mesurées au cours d'un cycle tidal à trois stations (La Carosse, Fatouville et Tancarville). Valeurs mesurée 1m sous la surface (symboles vides) et 1 m au-dessus du fond (symbole pleins). La ligne pointillée représente la hauteur d'eau (m) et illustre le cycle de la marée.

En hiver à La Carosse, $[S-EPS]$ diminue pendant le flot et augmente légèrement lors du jusant pour atteindre des valeurs maximales pendant la marée basse. Près du fond, trois pics sont enregistrés, un à la fin du flot (jusqu'à $5,38 \text{ mgGeq.L}^{-1}$) et deux pendant le jusant (jusqu'à $6,42 \text{ mgGeq.L}^{-1}$ au début et $7,53 \text{ mgGeq.L}^{-1}$ à la fin). En été, les $[S-EPS]$ sont plus élevés en surface que près du fond et sont très variables pendant la marée basse, surtout en surface. Pendant l'étale de marée basse, une inversion des tendances est observée entre les deux profondeurs: les valeurs augmentent en surface et diminuent à proximité du fond. Ceci s'inverse à nouveau pendant le jusant suivant. À Fatouville en hiver, une forte variabilité est enregistrée au début du jusant aux deux profondeurs. À proximité du fond, une diminution de

[S-EPS] est enregistrée pendant l'étales de marée haute, avec des valeurs atteignant 6,53 mgGeq.L⁻¹. En dépit de la variabilité, une tendance croissante des [S-EPS] est enregistrée pendant le jusant aux deux profondeurs (jusqu'à 5,56 mgGeq.L⁻¹). En été, [S-EPS] est plus faible qu'en hiver et les mêmes modèles sont observés aux deux profondeurs avec des valeurs décroissantes aux étales de marées et des pics pendant les flux. En hiver à Tancarville, [S-EPS] suit un modèle semblable à celui de Fatouville en hiver, et se caractérise par de faibles [S-EPS] durant les étales de marées et des valeurs élevées lorsque la marée s'inverse. En été, pendant la marée haute, une forte augmentation de [S-EPS] est enregistrée près du fond, avec des valeurs augmentant jusqu'à 6,77 mgGeq.L⁻¹. En surface, une première augmentation de [S-EPS] est également enregistrée pendant la marée haute jusqu'à 3,16 mgGeq.L⁻¹ et une seconde à la fin de la marée descendante jusqu'à 2,89 mgGeq.L⁻¹.

Les concentrations en EPS sur les zones intertidales étaient plus importantes en été avec en moyenne 67.2 µg.gPS⁻¹ de carbohydrates et 28.35 µg.gPS⁻¹ de protéines que au printemps avec 44.34 µg.gPS⁻¹ de carbohydrates et 31 µg.gPS⁻¹ de protéines (EPS colloïdaux et EPS liés confondus). Cette différence en carbohydrates s'explique principalement par une très forte concentration d'EPS dans le chenal environnemental en été avec 136.3 µg.gPS⁻¹ contre 50.4 µg.gPS⁻¹ au printemps. En comparant les différentes vasières, la vasière Sud est la plus pauvre en EPS (environ 30 µg.gPS⁻¹ en carbohydrates pour 15 µg.gPS⁻¹ en protéines), alors que la vasière Nord et le chenal présentent des concentrations équivalentes aux deux saisons (environ 50 µg.gPS⁻¹ en carbohydrates et 35 µg.gPS⁻¹ en protéines) à l'exception des carbohydrates pour le chenal en été. Sur les sites vaseux, des quantités élevées de carbohydrates ont été observées, en particulier aux stations L et K en été (142.2 et 204 µg.gPS⁻¹ respectivement) où se trouvaient les sédiments vaseux les plus humides de la période estivale. A ces deux stations, on peut remarquer un contenu élevé de chl_a. Il est également intéressant de noter que les stations les plus riches en protéines coïncidant avec un mélange sable-boue caractérisé par une teneur en vase de 50-60% (stations H&G e été et A&B au printemps). Nous pouvons observer dans nos résultats une faible différence entre le teneur en carbohydrates et en protéines.

Les protéines mesurées peuvent en partie être d'origine animale. En effet, la matière organique est plus importante au printemps qu'en fin d'été et est également liée au gradient sablo-vaseux avec des valeurs plus faibles en milieu sableux (les valeurs minimales étaient de 0.18 % à la station N en été et 1.1 % à la station P au printemps) et graduellement plus importantes jusqu'à des valeurs maximales dans le chenal environnemental (> 2.4% en été et > 6% au printemps aux trois stations du chenal).

Les EPS ne sont pas négligeables en tant que source de carbone. En effet, au vu des résultats de carbohydrates, entre 166 et 846 mg en équivalant Glucose sont présent au m² en fonction des différentes stations. En sachant que le carbone représente 40% de la masse molaire du glucose, il aurait entre 66 et 339 mgC par m² au moment des prélèvements sous forme d'EPS.



IV. ANNEXE V – Expérimentations in vitro

- Rythme circadien

Les paramètres photosynthétiques évoluent au cours de la journée en fonction de la variation de la lumière incidente (Falkowski & Raven, 2007) et du pool intracellulaire de carbone (Claquin *et al*, 2004). Nous avons chez trois espèces de diatomées, *Thalassiosira pseudonana*, *Skeletonema marinoi* et *Pseudo-nitzschia australis* (espèce productrice d'acide domoïque – syndrome ASP) caractérisé la dynamique journalière des paramètres photosynthétiques et d'étudier leur incidence sur la relation ETR v carbone (^{13}C). Afin d'appréhender les variations journalières du paramètre Φ_{EC} . Ce travail a été réalisé à l'aide de la dernière génération des fluorimètres modulés (Multi-Color-PAM, Walz) (Schreiber *et al*, 2012).

La pente des courbes P/E obtenues grâce au modèle d'Eilers & Peeters représente l'efficacité photosynthétique (α) (fig. A14). Pour *T. pseudonana*, une augmentation significative (AMR ; $p < 0,001$) au début du jour et une diminution significative (AMR ; $p < 0,001$) à l'obscurité sont observées. Pour *S. marinoi*, nous observons une baisse significative à 14h (AMR ; $p < 0,05$) puis une baisse significative à la dernière heure (AMR ; $p < 0,001$). Pour *P. australis*, une augmentation significative (AMR ; $p < 0,05$) est observée à 11h30.

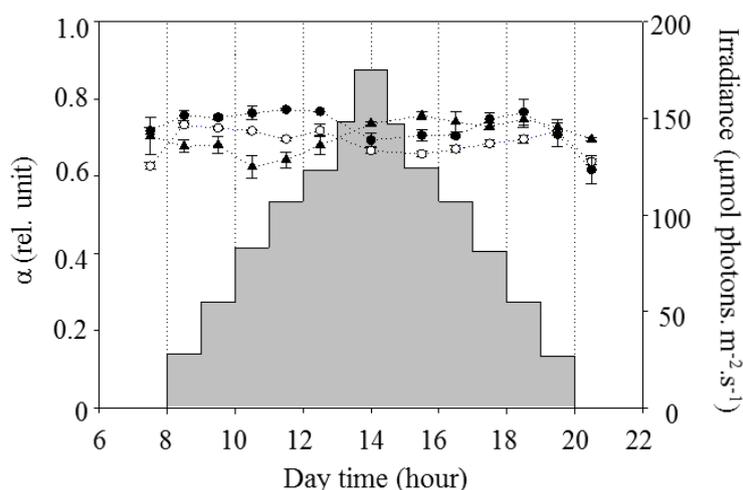


Figure A14. Dynamique de l'efficacité photosynthétique (α). Les cercles noirs représentent *S. marinoi*, Les cercles blancs représentent *T. pseudonana* et les triangles noirs représentent *P. australis*. Les barres grises représentent les variations de l'intensité lumineuse au cours de la journée ($\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$).

Pour les trois espèces une augmentation des valeurs de l'ETR(II)_{max} a été observée au début de la journée jusqu'à une valeur maximale qui est atteinte à différent moment de la journée en fonction des espèces (fig. A15). Ainsi, pour *T. pseudonana*, la valeur la plus forte est atteinte à 11h30 contre 9h30 pour *S. marinoi* et 16h30 pour *P. australis*. Initialement, le taux de production de carbone (P^{chl}) a été mesuré à trois heures distinctes de la journée.

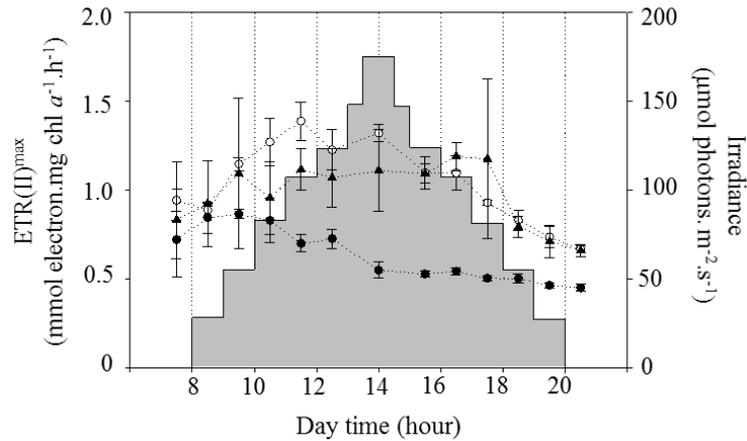


Figure A15. Dynamique du taux maximale du transport d'électrons au niveau du PSII (ETR(II)). Les cercles noirs représentent *S. marinoi*, Les cercles blancs représentent *T. pseudonana* et les triangles noirs représentent *P. australis*. Les barres grises représentent les variations de l'intensité lumineuse au cours de la journée ($\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$).

Le modèle d'Eilers et Peeters appliqué aux résultats a permis d'estimer P^{chl} sur une gamme d'intensités lumineuse à chacune de ces heures. Des relations linéaires significatives ont été obtenues entre P^{chl} et ETR pour les trois espèces et les trois heures étudiées (Fig. A16). Les coefficients directeurs « a » de ces relations aux différentes heures, représentant l'estimation du nombre de moles d'électrons nécessaires pour la fixation d'une mole de Carbone (Φ_{EC}) (Tab. A3) ont été comparés. Pour les Φ_{EC} obtenus avec ETR(II), *T. pseudonana* et *S. marinoi* ne présentent aucune différence significative entre les heures ($p > 0,05$) alors que pour *P. australis*, les valeurs de H1 (9h30) et H3 (19h30) sont significativement différentes ($p < 0,05$). Pour les Φ_{EC} obtenus avec ETR*, *T. pseudonana* présente des différences significatives entre chaque heure ($p < 0,05$), *S. marinoi* ne présente aucune différence significative ($p > 0,05$), et pour *P. australis*, les valeurs de H1 (9h30) sont significativement différentes des deux autres ($p < 0,05$).

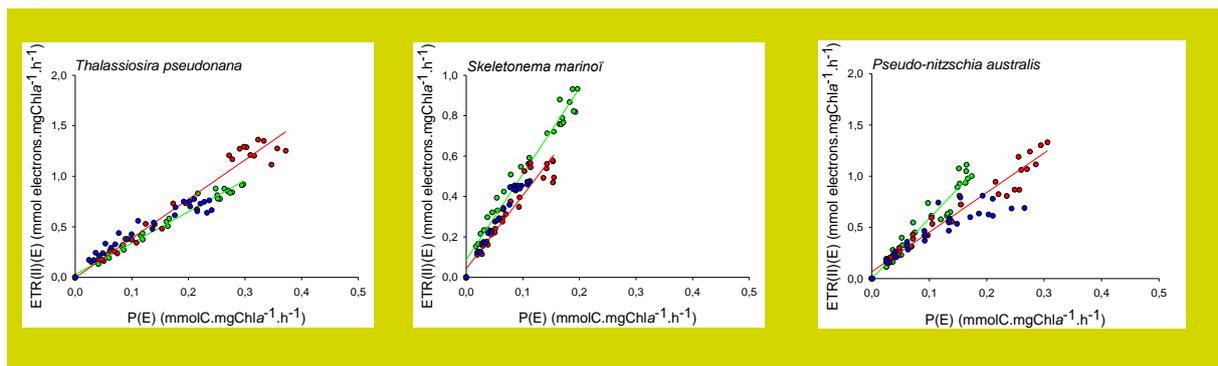


Figure A16. Relation entre P^{chl} et ETR(II) de *Thalassiosira pseudonana*, *Skeletonema marinoi* et *Pseudo-nitzschia australis*. L'heure H1 (9h30) est représentée par les points verts, l'heure H2 (14h00) par les rouges et l'heure H3 (19h30) par les bleus. Les régressions des deux paramètres se sont révélées significatives pour l'ensemble des espèces et à toutes les heures

Tableau A3. Φ_{EC} déterminé à partir des données de P^{chl} ($mmolC.mgChla^{-1}.h^{-1}$) et ETR(II) ($mmole.mgChla^{-1}.h^{-1}$) pour les trois espèces étudiées. R2 correspond au coefficient de corrélation P^{chl} vs ETR(II).

Species	Time	P^{chl} vs. ETR(II)	
		$\Phi_{e,c}$	R ²
<i>T. pseudonana</i>	8:30 am	3.24 ± 0.21	0.99
	2 pm	3.93 ± 0.45	0.99
	7:30 pm	3.52 ± 0.47	0.96
	Daily	3.56 ± 0.45	-
<i>S. marinoï</i>	8:30 am	4.85 ± 0.21	0.98
	2 pm	4.12 ± 0.70	0.98
	7:30 pm	4.91 ± 0.39	0.99
	Daily	4.62 ± 0.56	-
<i>P. australis</i>	8:30 am	5.77 ± 1.01	0.99
	2 pm	4.12 ± 0.50	0.99
	7:30 pm	3.69 ± 0.74	0.92
	Daily	4.53 ± 1.16	-

Les pentes de cette relation linéaire, représentant l'estimation du nombre de moles d'électrons nécessaires pour la fixation d'une mole de carbone (Φ_{EC}), obtenues dans cette étude sont beaucoup plus faibles que celles généralement observées dans la littérature (Kaiblinger & Dokulil, 2006 ; Barranguet & Kromkamp, 2000 ; Napoléon et al, 2013). Cette divergence peut être dû au fait que les valeurs de la littérature sont obtenues par des études *in situ* et sur des communautés phytoplanctoniques à large échelle spatio-temporelle. En effet, dans notre étude, l'échelle d'étude est fine (journée) et les mesures sont réalisées sur des cultures monoclonales en milieu contrôlé. Les cellules ne sont donc pas limitées par les paramètres influents le Φ_{EC} comme la variation de la température (Morris & Kromkamp, 2003) ou la disponibilité en nutriments (Babin et al, 1996). De plus, les cultures ont toujours été maintenues en phase exponentielle de croissance, elles sont donc dans les meilleures conditions. Ainsi, dans des conditions de croissance optimale le nombre de moles d'électrons nécessaires à la fixation d'une mole de carbone est réduit. Ce résultat est en accord avec Lawrenz et al. (2013) et Napoléon et al. (2013) qui ont montré qu'une limitation en nutriment et qu'un stress lumineux peuvent engendrer un fort Φ_{EC} . Selon ces auteurs, sous des conditions optimales de croissance la valeur de Φ_{EC} est comprise entre 4 et 6 moles d'électrons par mole de carbone, résultat en accord avec nos travaux. Les résultats inférieurs à 4 moles d'électrons par mole de carbone sont en principe physiologiquement impossibles. Ces faibles valeurs mettent en évidence les limites de ces mesures mais peuvent également mettre en évidence d'autres voies métaboliques. **L'ensemble de ces résultats montrent que les variations de lumière liées au rythme circadien affectent peu les valeurs du paramètre Φ_{EC} . Ce résultat est important d'un point de vue opérationnel pour le projet PROUESSE car il nous permet d'appliquer les valeurs de Φ_{EC} à l'ensemble d'une journée pour une masse d'eau donnée.** Ce résultat conforte notre approche et nous permet de mieux interpréter les résultats que nous avons obtenus *in situ*.

- Salinité

L'effet d'un gradient de salinité sur les capacités photosynthétiques de deux espèces de diatomées côtières (*Skeletonema marinoi* ; *Pseudo-nitzschia australis* (espèce productrice d'acide domoïque – syndrome ASP)) et d'une Chlorophyte dulçaquicole (*Chlorera vulgaris*) ont été étudiés. L'effet de la salinité sur les paramètres photosynthétiques (Pmax et α Chl) est cohérent avec les mesures de croissance réalisées (données non présentées). La diatomée *S. marinoi* et la chlorophyte *C. vulgaris* présente une forte capacité d'acclimatation aux variations de salinité et nous permettent d'appréhender le profil physiologique des microalgues euryhalines capables de résister à ce stress. En revanche *P. australis* est incapable de s'acclimater en dessous d'une salinité de 25. Nous détaillerons dans ce document uniquement les résultats obtenus chez *S. marinoi*. *S. marinoi* présente ainsi une plus grande capacité et efficacité photosynthétiques pour les salinités comprises entre 15 et 25. Comme indiqué précédemment, la relation entre le taux de transfert d'électrons du PSII (ETR_{II}) et le taux d'incorporation de carbone (PChl) a été étudiée. En effet, le croisement de ces deux mesures physiologiques permet d'estimer le nombre de moles d'électrons nécessaire à la fixation d'une mole de carbone (Φ_{EC}). Les valeurs de Φ_{EC} de *S. marinoi* décrit « une courbe en cloche » avec des valeurs à 10 et 35 de salinité significativement inférieures à celles obtenues pour 15 et 25. Plus les valeurs de Φ_{EC} sont faibles, plus le transfert d'énergie entre le photosystème II et le cycle de Calvin-Benson est efficace (Napoléon. et al 2013). A la salinité de 10, une diminution significative du σ_{PSII} (absorption fonctionnelle du photosystème II) aux différentes longueurs d'onde testées est observé ce qui montre une réorganisation des antennes pigmentaires collectrices. Cette espèce est ainsi capable de mettre en place des mécanismes de photoprotection lui permettant de limiter le flux d'énergie dirigé vers les centres réactionnels en amont de la chaîne photosynthétique et ainsi de les préserver [191]. A une salinité plus élevée 25 et 30, l'espèce est dans son habitat privilégié, les valeurs de σ_{PSII} sont plus élevées ce qui accroît l'incorporation d'énergie. Cette quantité plus importante d'énergie permet de fixer plus de carbone mais le surplus d'énergie doit être éliminée par des voies alternatives telles que la réaction de Mehler, le flux cyclique des électrons autour du PSII et du PSI ou la photorespiration [96,192] qui entraîne une augmentation des valeurs de Φ_{EC} . Il s'agit de voies alternatives du flux d'électrons qui permettent notamment d'optimiser les ratios ATP/NADPH en fonction de la demande métabolique des microalgues [103]. La production d'exopolysaccharides résiduels (EPSr) qui correspond aux EPS intracellulaires varie en fonction de la salinité (fig. A17). Chez *S. marinoi* le taux de production des EPSr est deux fois moins important aux faibles salinités ce qui suggère que les EPSr, carbohydrates présents dans le milieu intracellulaire, joue un rôle d'osmolyte [193]. Ainsi, la production d'EPS ralentie par une baisse de la salinité afin d'ajuster la pression osmotique du milieu intracellulaire à celle du milieu extracellulaire.

L'exemple détaillé ici permet de comprendre comment ces expériences en laboratoire nous ont permis de mieux interpréter les résultats obtenus in situ. Une publication en cours détaillera l'ensemble de ces résultats.

Tableau A4. Taux maximum d'incorporation de carbone (Pmax ; $\mu\text{g C } \mu\text{g Chl } a^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), efficacité d'incorporation de carbone (α_{Chl} ; $\mu\text{g C } \mu\text{g Chl } a^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), coefficient Φ_{EC} correspond au nombre de mole d'électrons nécessaire pour fixer une mole de carbone)

<i>Skeletonema marinoi</i>				
Salinité	35	25	15	10
Pmax ($\mu\text{g } \mu\text{gChl}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	4.09	6.57	5.70	3.63
α ($\mu\text{g } \mu\text{gChl}^{-1} \text{ h}^{-1}$).($\mu\text{mol photon m}^{-2}$)	$1.5 \cdot 10^{-2}$	$2.46 \cdot 10^{-2}$	$3.24 \cdot 10^{-2}$	$2.05 \cdot 10^{-2}$
Φ_{EC} (mol electrons mol C ⁻¹)	4	9	8	5
<i>Pseudo-nitzschia australis</i>				
Salinité	35	30	25	20
Pmax ($\mu\text{g } \mu\text{gChl}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	4.49	4.29	2.93	0.73
α ($\mu\text{g } \mu\text{gChl}^{-1} \text{ h}^{-1}$).($\mu\text{mol photon m}^{-2}$)	$8.07 \cdot 10^{-2}$	$1.72 \cdot 10^{-2}$	$1.41 \cdot 10^{-2}$	$1.13 \cdot 10^{-2}$

Φ_{EC} (mol electrons mol C ⁻¹)	1	4	3	4
<i>Chlorella vulgaris</i>				
Salinité	35	15	5	0
Pmax (µg µgChla ⁻¹ h ⁻¹)	1.56	1.19	1.75	1.15
α (µg µgChla ⁻¹ h ⁻¹). (µmol photon m ⁻²)	8.50.10 ⁻²	1.35.10 ⁻²	9.8.10 ⁻²	1.33.10 ⁻²
Φ_{EC} (mol electrons mol C ⁻¹)	16	11	12	9

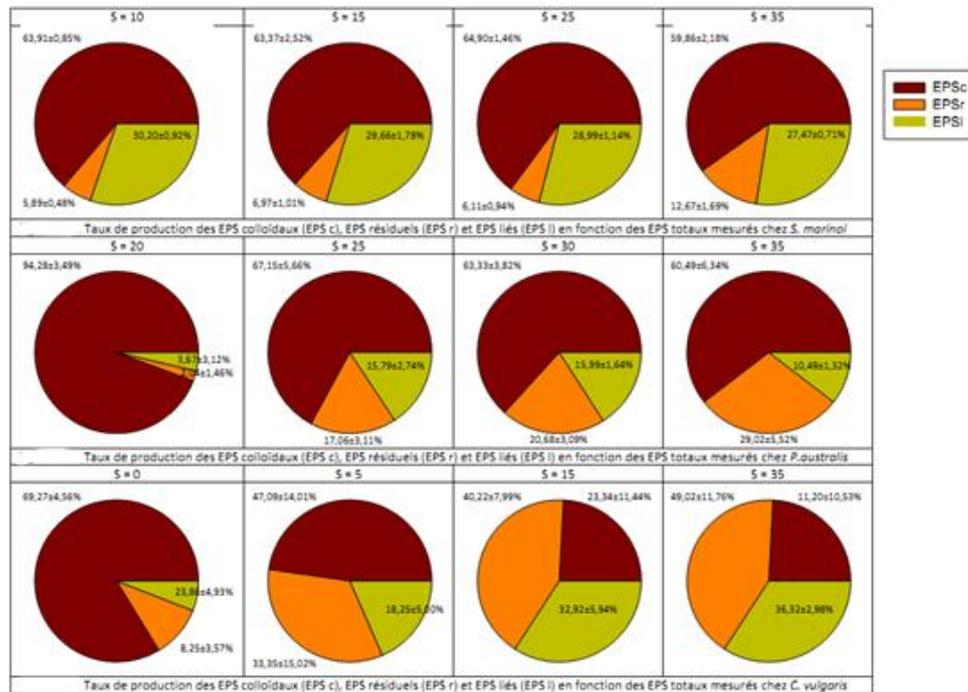


Figure A17. Fractions des EPS colloïdaux, résiduels et liés mesurées chez *Skeletonema marinoï* ; *Pseudo-nitzschia australis* et *Chlorera vulgaris*) en fonction de la salinité.

POUR PLUS D'INFORMATIONS SUR LE GIP SEINE-AVAL

www.seine-aval.fr

CONTACT

Groupement d'Intérêt Public Seine-Aval
Pôle Régional des Savoirs
115, Boulevard de l'Europe
76100 ROUEN
Tél : 02 35 08 37 64
gipsa@seine-aval.fr

En cas d'utilisation de données ou d'éléments de ce rapport, il devra être cité sous la forme suivante :

Claquin P. (coord.), Morelle J., Schapira M, Orvain F., Lopez P., 2018. Projet PROUESSE : « PRODUCTION PRIMAIRE DANS L'ESTUAIRE DE LA SEINE », Annexes du rapport de recherche du programme Seine-Aval 5, 35 p.

Le GIP Seine-Aval ne saurait être tenu responsable d'évènements pouvant résulter de l'utilisation et de l'interprétation des informations mises à disposition.
Pour tout renseignement, veuillez contacter le GIP Seine-Aval.

Les membres financeurs du GIP Seine-Aval sont :

