# Rapport Seine-Aval 4

## ZOOSEINE

Rôle du zooplancton dans le fonctionnement de l'écosystème estuarien dans la zone de gradient de salinité : sentinelle du bon état écologique et des changements climatiques



0.0

Souissi S., Tackx M., Forget-Leray J.





Mars 2011

GIP Seine-Aval Pôle Régional des Savoirs 115 Bd de l'Europe 76 100 - Rouen

tel : 02 35 08 37 64 http://www.seine-aval.fr

## <u>Sommaire</u>

I Rappel des objectifs généraux de l'action	3
Il Principaux résultats acquis dans la cadre du projet ZOOSEINE	3
1. Introduction	3
2. Etude de terrain	4
2.1. Cadre général – Zooplancton et changement climatique	4
2.2. Etude de la succession saisonnière des populations d'Eurytemora et	
d'Acartia	8
2.3. Variabilité spatio-temporelle des œufs de dormance de copépodes dans le	
sealment	11
3. Approche experimentale	13
3.1. Comportement natatoire et vulnérabilité à la prédation	13
3.2. Approche expérimentale au niveau de la population: protocole	
multigénération	16
3.3. Approche protéique et identification des marqueurs de stress physiologique	17
4. Modélisation	23
4.1. Modélisation multi-échelle : identification de l'habitat des copépodes	
estuarien	23
4.2. Modélisation individu-centré	26
III Références	28
IV Publications proposées ou acceptées suite aux travaux de ZOOSEINE	30
V Communications réalisées	31
VI Annexe	33

## I. Rappel des objectifs généraux de l'action

Le projet ZOOSEINE vise à comprendre le rôle du zooplancton – élément essentiel du réseau trophique estuarien – dans la zone de gradient de salinité. Il se base sur les capacités du zooplancton à répondre à des variabilités environnementales et climatiques (et également anthropiques) à différentes échelles spatiotemporelles. Le projet ZOOSEINE se base sur une approche multidisciplinaire combinant l'observation *in situ*, l'analyse de données disponibles (anciennes et en cours d'acquisition), l'expérimentation au laboratoire et la modélisation individu-centrée. Il est parfaitement intégré dans la thématique du changement climatique et se déroule en complémentarité avec le projet CLIMAT (expertise collective) et d'autres projets du GIP Seine-Aval. En plus de l'étude des principales espèces de copépodes estuariens *Eurytemora affinis* et *Acartia sp.* dans la zone de gradient de salinité, nous avons étudié le zooplancton dans l'estuaire amont. Une comparaison (ou début de comparaison) entre la Seine et l'Escaut a été également prévue. Enfin, nous avons proposé d'étudier pour la première fois dans un site estuarien la dynamique spatio-temporelle des œufs de résistance (diapause) de copépodes dans le sédiment de la Seine.

Le projet ZOOSEINE s'appui sur la grande expérience et la complémentarité entre les équipes impliquées dans les études des différents volets du projet. Les principaux objectifs de ZOOSEINE sont les suivants :

- Renforcer la stratégie d'observation des communautés planctoniques et de leurs habitats dans la zone de gradient de salinité à travers la demande de plusieurs campagnes de terrain dans le cadre des missions ZOOTRANZ accordées par le CIRMAT (2008 et 2009).
- ii) Elargir la zone d'étude en amont de la zone de référence entre les deux ponts de Normandie et Tancarville en incluant un point d'échantillonnage en amont à Quillebeuf mais également une radiale Honfleur- La Bouille.
- iii) Développer une approche expérimentale originale sur le copépode *Eurytemora affinis*, modèle biologique typiquement estuarien, afin de tester sa plasticité face à un changement climatique. Le but étant de comprendre les mécanismes susceptibles d'être mis en jeu par cette population pour faire face à un changement de type climatique.

## II. Principaux résultats acquis dans le cadre du projet ZOOSEINE

## 1. Introduction

Le projet ZOOSEINE a pleinement bénéficié de notre expérience scientifique et opérationnelle acquise durant les phases II et III du programme Seine-Aval (échantillonnage, expérimentation et modélisation). Le projet Zooseine bénéficie également de la complémentarité entre les trois équipes nationales (Wimereux – Toulouse et Le Havre) ainsi que des apports très significatifs des experts internationaux. En effet, l'équipe de Wimereux (LOG) a associé 6 doctorants (dont 3 doctorants en co-tutelle financés par Taiwan) et 4 professeurs invités (financements accordés par les universités de Lille 1 et du Littoral ainsi que la région Nord-Pas de Calais) pour renforcer ce projet (l'équipe de Toulouse a associé un doctorant travaillant simultanément sur la Seine et l'Escaut et l'équipe du Havre a associé un doctorant-ATER au projet). Nous avons également bénéficié du réseau d'experts internationaux sur le zooplancton pour proposer l'organisation d'un colloque international en juin 2010 sur la thématique majeure du projet Zooseine 'Les effets des changements climatiques sur les écosystèmes côtiers et estuariens : zoom sur le zooplancton'.

Ainsi que malgré <u>la signature tardive des conventions (fin 2008)</u> et <u>surtout malgré la réduction drastique du</u> <u>budget accordé à ZOOSEINE</u>, nous avons réalisé tous nos objectifs et nos résultats sont très positifs. Nous sélectionnons dans ce rapport les résultats majeurs qui vont définir nos priorités de poursuite de cette dynamique de recherche sur la Seine pour les années 2010-2011 mais également au delà de cette phase.

## 2. Etude de terrain



2.1. Cadre général - zooplancton et changement climatique

<u>Figure 1.</u> Variabilité interannuelle de la température de l'eau et du débit quotidien au niveau de Poses. Les différentes campagnes d'échantillonnage du zooplancton au niveau de la zone de gradient de salinité sont indiquées. L'effort d'échantillonnage a été renforcé durant le déroulement du projet ZOOSEINE en 2008 et 2009.



La figure 1 montre le grand effort d'échantillonnage réalisé en 2008-2009 dans le cadre du projet ZOOSEINE. Notre stratégie d'échantillonnage en point fixe a été validée durant la campagne SAZOOTOX en mai 2004 (Devreker et al., 2008) et appliquée en 2005 pour réaliser un suivi saisonnier lors des missions EURYPROD (Devreker et al., 2010). Dans le cadre de nos missions ZOOTRANZ en 2008 nous avons échantillonné le zooplancton et les paramètres hydrologiques en deux points fixes près du <u>Pont de Normandie</u> (PN : notre site de référence) mais également en amont de Tancarville au niveau de Quillebeuf. Un grand nombre de prélèvements de zooplancton a été effectué (332 prélèvements en PN et 334 prélèvements à Quillebeuf) et quasiment dépouillé avec un comptage <u>exhaustif</u> de <u>tous les stades de développement</u> des deux groupes majeurs de copépodes *Eurytemora affinis* et *Acartia sp.* De même les échantillons du zooplancton prélevés en 2005 durant la même période (EURYPROD) ont été dépouillés et comptés pour obtenir la dynamique complète des deux espèces *Eurytemora* et *Acartia*.



<u>Figure 2.</u> Variabilité des densités (10<sup>3</sup>.ind.m<sup>-3</sup>) et de la structure de la population du copépode *Eurytemora affinis* dans l'estuaire de la Seine au cours de cycle de marée en juin 2008, février 2009 et juin 2009. Les prélèvements ont été effectués sur un point fixe au niveau du pont de Normandie dans le cadre du projet ZOOSEINE.

Au cours des dix dernières années, la population du copépode *E. affinis* semble marquée par des bouleversements dans sa dynamique de population. Après une forte diminution de ses densités printanières entre 2002, 2004 et 2005 (de >500 000 ind.m<sup>-3</sup> à 100 000 ind.m<sup>-3</sup>); les campagnes ZooTranz du projet ZOOSEINE montrent une légère augmentation des densités en juin 2008 (200 000 ind.m<sup>-3</sup>) mais une forte baisse entre juin 2008 et 2009 (110 000 ind.m<sup>-3</sup>) (Figure 2). Toutefois si la forte diminution de 2005 était due à une anomalie négative des températures hivernales tardives ayant engendrée un déficit en nauplii (Devreker et al., 2010), il est difficile en l'état actuel des analyses d'affirmer si la diminution observée entre juin 2008 et juin 2009 est due à un décalage dans la phénologie ou à une dilution plus prononcée de la population en juin 2009. La salinité plus élevée en juin 2009, 3 à 25 contre 1 à 20 en 2008 (Figure 3), suggère une remontée saline plus importante dans l'estuaire ayant pu également entrainer une remontée de la

population plus en amont qu'en juin 2008. Ceci est appuyé par la forme des courbes de densité qui suggère que la totalité de la population a été échantillonnée sur le point fixe en juin 2008 (augmentation puis diminution des densités pendant le jusant) alors qu'une partie seulement a été observée en juin 2009 (maximum supposé atteint lors de la basse mer). En juin 2008 la population a aussi montré une structure marquée par une forte proportion de nauplii dans les faibles salinités et des adultes sur une gamme de salinité plus large. La campagne réalisée en juin 2009 montre une structure inverse indiquant certainement que seule une fraction de la population (partie contenant la plus forte proportion d'adultes) a été échantillonnée. La population hivernale d'*E. affinis* semble avoir été échantillonnée dans sa totalité confirmant ainsi la rétention de la population vers l'aval de l'estuaire à cette saison. Les densités sont aussi relativement faibles (90 000 ind.m<sup>-3</sup>) puisque l'augmentation démographique à lieu généralement au début du printemps. La structure de la population est alors marquée par une large dominance des nauplii, annonçant l'arrivée au stade adulte reproducteur 1 mois plus tard au début du printemps (6.5°C : ~1.5 mois de développement post embryonnaire).



<u>Figure 3.</u> Variation de la température (°C) et de la salinité au cours de cycle de marée en juin 2008, 2009 et 2010 et février 2009 au pont de Normandie au fond. Mesures effectuées par sonde CTD Seabird SBE 25.

Si la population du copépode *E. affinis* semble diminuer (ou reculer vers l'amont) ces dernières années cela s'est fait au bénéfice de l'espèce de copépode *Acartia* sp. (2 espèces du genre *Acartia* semblent être présentes dans l'estuaire de la Seine: *A. tonsa* et *A. bifilosa*). Si en juin 2008 *E. affinis* montre une dominance complète à faible salinité au fond et en surface, sa période de dominance se réduit en 2009 et encore plus en 2010 où elle ne présente qu'une dominance ponctuelle à marée basse au fond face à *Acartia* sp. Les échantillons 2010 ont été analysés dans le cadre du projet BIODISEINE (voir résumé exécutif de ce projet) très complémentaire au projet ZOOSEINE. La forte intrusion saline au niveau du Pont de

Normandie (salinité variant entre 5 et 30) explique le fait que le copépode *Temora longicronis* (une espèce marine côtière) est plus présent en 2010 qu'en 2009. Les copépodes marins *Centropages sp* et *Pseudocalanus elongatus* sont également présents à très faibles densités en 2010 durant la pleine mer. Ceci prouve que les populations zooplanctoniques marines tendent à gagner du terrain dans l'estuaire aval de la Seine. Si cette tendance se confirme par nos analyses et se maintient dans l'avenir cela pourrait avoir de fortes répercutions pour le réseau trophique de la Seine, comme cela a été le cas dans la Baie de Chesapeake en 2005 (Kimmel et al., 2006), avec un changement de régime alimentaire pour les larves de poissons ou une migration de ceux-ci vers l'amont.



<u>Figure 4.</u> Variation de la structure des communautés zooplanctoniques constitué autour des 3 copépodes majoritaires dans la partie aval de l'estuaire de la Seine: *Eurytemora affinis, Acartia* sp. et *Temora longicornis* au cours d'un cycle de marée au pont de Normandie en juin 2008, 2009 et 2010.

Cette analyse montre la grande pertinence de notre protocole d'observation qui se base sur l'échelle de la marée qui est très déterminante pour le système planctonique. En effet, la comparaison

7

interannuelle de la dynamique des principaux copépodes au niveau de l'estuaire aval témoigne du changement des conditions hydrologiques (salinité et température) très liées aux changements climatiques. Par conséquent ce travail va se poursuivre afin de finaliser une publication de synthèse sur l'évolution à long-terme des communautés zooplanctoniques dans l'estuaire aval de la Seine. Dans le cadre de cette publication nous allons intégrer la variabilité hydrologique et notamment le débit de la Seine. Cette publication représentera une synthèse importante de nos données sur la dynamique des principaux copépodes estuariens dans al zone de gradient de salinité. Elle nous permettra de mieux définir les conséquences des futurs changements climatiques sur la structuration des communautés zooplanctoniques.

#### 2.2. Etude de la succession saisonnière des populations d'Eurytemora et d'Acartia

La comparaison des deux années 2005 et 2008 est présentée dans la figure 5. Nous observons une différence nette dans la succession saisonnière (printemps-été) des espèces de copépodes entre les deux années 2005 et 2008. En effet, en 2005 on observe une claire succession d'espèces à partir de juillet alors qu'en 2008 *E. affinis* est resté l'espèce dominante à travers les saisons. Fin du printemps début d'été 2005 et 2008, l'espèce *E. affinis* a dominé la communauté zooplanctonique avec des densités importantes atteignant des maximas près du fond de 165 200 ind. m<sup>-3</sup> en 2005 et de 194 800 ind. m<sup>-3</sup> en 2008. Toutefois ces densités observées sont très inférieures aux densités maximales observées dans les études ultérieures en 2002 et 2004 (Devreker et al. 2008). Au milieu de l'été 2005, *E. affinis* n'est plus l'espèce dominante et est remplacée par des espèces de copépodes du genre *Acartia* avec des densités qui dominent de deux fois celles d'*E. affinis* atteignant jusqu'à 146 000 ind. m<sup>-3</sup> en surface. Cette succession d'espèces n'a pas été observée en milieu de l'été 2005, bien que les densités de la population d'*Acartia* sp ont diminué, elle est resté dominante à cette période *E. affinis* est resté l'espèce dominante et a été suivie de très près par *Acartia* sp . Fin de l'été 2005, *E. affinis* est resté l'espèce dominante et a été suivie de très près par *Acartia* sp . Fin de l'été 2005, bien que les densités d'*E. affinis* ont été faibles ~25 000 ind. m<sup>-3</sup>. Au contraire à la fin de l'été 2008, *E. affinis* est resté l'espèce dominante alors que les densités d'*Acartia* sp ont été inférieures à 10 000 ind. m<sup>-3</sup>.



Figure 5. Comparaison de la succession saisonnière entre les deux populations de copépodes majoritaires Eurytemora affinis et Acartia spp. entre les deux années 2005 et 2008. L'axe des abscisses représente le nombre de prélèvements en fonction du cycle de la marrée qui commence par la pleine mer, deux cycles sont observés en un seul pour 2008 2005, (Beyrend-Dur, 2010).

Les principaux habitats de chaque population sont différents. En général, les densités d'*E. affinis* sont plus importantes près du fond alors que celles d'*Acartia* spp. sont plus élevées en surface. De même, les pics de chaque population n'apparaissent pas au même moment de l'échantillonnage donc pas au même moment de la marée. Une seule exception est à noter en septembre 2005 où les densités d'*Acartia* spp. ne varient pas en fonction de la marée et couvrent celles d'*E. affinis* (Figure 5). Ce phénomène pourrait être expliqué par une plus large répartition de la population d'*Acartia* dans l'estuaire. Les habitats de chaque population sont caractérisés par des gammes de salinités différentes (Figure 6). Alors que la population d'*E. affinis* est présente sur une large gamme de salinité entre 0 et 25 avec des densités élevées (> 20 000 ind m<sup>-3</sup>) entre 0 et 10, la population d'*Acartia* spp. est présente sur une gamme de salinité plus restreinte entre 5 et 20 avec des densités élevées comprises entre 10 et 17 de salinité.



<u>Figure 6.</u> Densité des deux populations de copépodes majoritaires *Eurytemora affinis* (cercles et courbe gaussienne grise) et *Acartia sp* (triangles et courbe gaussienne noire) en 2008 au Pont de Normandie. L'axe des abscisses représente le gradient de salinité. Les coefficients des courbes gaussiennes R<sup>2</sup> sont indiqués. (Beyrend-Dur, 2010).

Il est à noter que la température estivale en 2008 est inférieure à celle rencontrée en 2005 (Figure 1 et nos données CTD). Il semble que notre hypothèse de travail se vérifie car un été chaud est favorable à *Acartia* au détriment d'*Eurytemora*. Les comptages de la mission ZooTranz réalisée en juin 2009 confirment cette hypothèse.

L'échantillonnage en point fixe en amont de Tancarville (Quillebeuf), <u>réalisé pour la première fois</u>, montre que seule *E. affinis* domine le zooplancton à cet endroit (Figure 7). La présence d'*Acartia* spp est observée notamment au moment de la marée haute mais à de très faibles densités (< 2 000 ind m<sup>-3</sup>). La figure 8 montre que la répartition d'*E. affinis* en fonction de la marée est sensible **au débit et à l'hydrodynamisme** qui pourrait agréger la population comme en novembre 2008.

La comparaison de la dynamique d'*E. affinis* au niveau des deux points fixes (Pont de Normandie et Quillebeuf) montre que les densités enregistrées à Quillebeuf peuvent être supérieures à celles observées au niveau de Pont de Normandie (Figure 7). En effet, à partir de juillet les densités maximales observées à Quillebeuf atteignent celles enregistrées en aval au niveau du Pont de Normandie mais il faut noter que les densités moyennes à Quillebeuf au cours du cycle de marée sont supérieures à celles du PN. En fin d'été et début d'automne, les densités totales observées à Quillebeuf sont largement supérieures à celle observées au PN. Cependant, il est à noter que la proportion des jeunes stades de développement, notamment les nauplii, dans la population est en général plus importante à Quillebeuf qu'au Pont de Normandie (Beyrend-Dur, 2010).



<u>Figure 7.</u> Dynamique saisonnière de la densité totale des populations d'*E. affinis* et *Acartia* spp. en fonction de la marée au niveau du point fixe amont à Quillebeuf (Beyrend-Dur, 2010).



Figure 8. Représentation schématique de la position longitudinale de la population (tous stades de développement mélangés) d'E. affinis (copépodes noirs) et d'Acartia spp. (copépodes blancs) au moment de la marée basse (low tide) et de la marée haute (high tide). Pour des raisons de simplification du schéma global, les différences fondsurface n'ont pas été prises en considération (Beyrend-Dur, 2010).

Finalement, la comparaison de la dynamique d'*E. affinis* et d'*Acartia* spp. au niveau des deux points fixes (PN et Quillebeuf), nous a permis d'établir un schéma simplifié de la répartition de ces 2 populations en fonction de la marée (Figure 8).

A noter que ce travail fastidieux est primordial pour: i) notre compréhension de la dynamique complexe de la zone de gradient de salinité et ii) pour affiner nos approches de modélisation (incluant les scénarios climatiques) dans le futur. Ce travail va se poursuivre par le dépouillement complet des campagnes ZOOTRANZ réalisées dans le cadre du projet BIODISEINE (en 2010) afin de réaliser un bilan de nos travaux.

#### 2.3. Variabilité spatio-temporelle des œufs de dormance de copépodes dans le sédiment

Ce travail a été réalisé essentiellement dans le cadre de la thèse de doctorat d'Olivier Glippa (bourse ministérielle) et dont l'objectif général était la mise en évidence de la présence ainsi que du rôle des œufs de résistance dans la dynamique des principales espèces de copépodes calanoïdes dans un milieu estuarien, et plus particulièrement dans l'estuaire de la Seine.

Pour ce faire, il a d'abord fallu localiser les zones les plus susceptibles de contenir des œufs de résistance, mais également développer une méthodologie pour l'étude de ces œufs, ceci dans un système hautement dynamique. Cela est passé par une approche multidisciplinaire couplant à la fois l'étude du compartiment benthique et pélagique. L'étude des faciès sédimentaires tout au long de ce travail, mais également la réalisation de profils d'oxygène sur les carottes échantillonnées, nous ont permis de caractériser l'environnement sédimentaire dans lequel se trouvaient les œufs de résistance.

Au cours de cette étude, nous avons pu mettre en évidence pour la première fois, la présence d'œufs de résistance de copépodes calanoïdes dans les sédiments de l'estuaire de la Seine, avec des abondances comparables à celles observées dans d'autres systèmes côtiers (de l'ordre de 10<sup>5</sup> à 10<sup>7</sup> œufs.m<sup>-3</sup>). Nous avons pu montrer que les œufs de résistances étaient présents aussi bien dans les premiers centimètres des couches sédimentaires qu'à des profondeurs allant jusqu'à 60 centimètres. Il est apparu au cours de cette étude exploratoire que les abondances étaient maximales dans la zone du bouchon vaseux (**Figure 9**), en comparaison avec celles relevées aux limites de cette zone que ce soit en domaine intertidal ou en domaine subtidal.



Figure 9. Carte des abondances en œufs de résistances de copépodes calanoïde relevées dans la zone d'étude.

Ces fortes abondances laissent penser que les œufs de résistance pourraient jouer un rôle dans la dynamique des populations de copépodes. La variation saisonnière dans l'abondance et le succès d'éclosion a alors été établi à partir de l'extraction des œufs des premières couches sédimentaires (jusqu'à 22 centimètres)

et de leur incubation sous différents régimes de température. Trois espèces de copépodes calanoïdes ont été identifiées à partir de l'éclosion des œufs : *Temora longicornis, Eurytemora affinis* et *Acartia* spp.

*Eurytemora affinis* et *Acartia* spp. sont les espèces dominantes de copépodes dans la zone du gradient de salinité de l'estuaire de la Seine, alors que *Temora longicornis* est l'espèce dominante en baie de Seine. Les résultats obtenus indiquent :

- 1) la production d'œufs quiescents et de diapause de l'espèce marine *Temora longicornis* au cours de l'été et de l'automne,
- 2) la production d'œufs de diapause et/ou quiescents durant l'automne et au début du printemps pour *Acartia* spp.,
- la production d'œufs de diapause et/ou quiescents pour *Eurytemora affinis* au début de l'été et à la fin de l'été - début de l'automne.

Bien que le succès d'éclosion moyen (toutes dates, toutes stations, toutes couches confondues) soit faible (environ 4 %), les taux d'émergences calculés sont respectivement de 600 000, 62 000 et 41 000 nauplii.m<sup>-3</sup>.mois<sup>-1</sup> pour *T. longicornis, Acartia* spp. et *E. affinis*.

Les œufs de diapause dans l'estuaire de la Seine pourraient avoir plusieurs rôles :

- venir en "renfort" de la production post-hivernale et contribuer au recrutement printanier,
- contribuer à la formation d'une banque d'œufs dans le cas où des conditions néfastes imprévisibles surviendraient (hiver très froid entrainant une perte importante des espèces de la colonne d'eau).

A cela vient s'ajouter les œufs dits soudains qui deviennent quiescents sous des conditions défavorables et qui ont émergé des sédiments tout au long des incubations. L'avantage possible d'une émergence en continue à partir du fond permettrait à l'espèce d'essayer plusieurs conditions environnementales tout au long de l'année et ainsi de permettre à une partie de ces nauplii nouvellement éclos de trouver les conditions idéales (De Stasio, 1989). Cela est particulièrement utile dans les environnements où les conditions hydrosédimentaires sont imprévisibles. Ces œufs agiraient plus en tant que survie à court terme (à l'échelle saisonnière). De par leur abondance, les œufs de résistances constituent donc une composante importante du couplage bentho-pélagique (Figure 10), pouvant assurer le recrutement des espèces dans la colonne d'eau si l'émergence à partir du sédiment peut se faire. L'étude des faciès sédimentaires est donc d'un intérêt crucial afin de relier les événements hydrologiques qui surviennent (érosion, dépôt, etc.) sur le lit sédimentaire et donc qui peuvent permettre directement la remise en suspension des œufs et leur permettre d'éclore.



Figure 10. Schéma conceptuel du couplage bentho-pélagique pour la zone du bouchon vaseux, montrant l'importance des formes de résistance dans la dynamique des populations des principales espèces de copépodes de l'estuaire de la Seine. Les processus du cycle de vie sont indiqués par les flèches. Les flèches en pointillés représentent les paramètres pouvant inhiber (-) ou activer (+) les processus d'émergence. Les points d'interrogations représentent paramètres qui demandent à être étudié pour une meilleure compréhension de l'importance de cette banque d'oeufs.

### 3. Approche expérimentale

## 3.1. Comportement natatoire et vulnérabilité à la prédation

Les copépodes occupent un rôle central dans les réseaux trophiques des écosystèmes aquatiques et notamment estuariens. Malgré des capacités de nage réduites, ils font preuve d'une variété de comportements à l'échelle de l'individu. Le succès de ces processus comportementaux (reproduction, capture de nourriture, esquive des prédateurs) affecte le fitness des individus et, à plus grande échelle, l'état de la population. Compte tenu de l'importance des fluctuations de la salinité à petite échelle temporelle (marée) nous avons étudié les effets de la salinité sur le comportement natatoire (nage libre) des stades adultes du copépode *Eurytemora affinis*. Ce travail a été réalisé dans le cadre du stage de Master 2 et d'une année de recherche pré-doctorale de F.-G. Michalec et a aboutit à une publication.



<u>Figure 11.</u> Figure modifiée de la publication Michalec *et al.* (2010) montrant les variations de la vitesse moyenne de nage (en mm/s) des mâles, femelles ovigères et femelles non-ovigères du copépode *Eurytemora affinis* en fonction de la salinité. Les individus utilisés proviennent directement de l'estuaire et le protocole d'acclimatation est parfaitement adapté.

Nous avons montré que l'augmentation de la salinité (5, 15, 25 et 30) décroît la vitesse instantanée de nage des stades adultes d'*E. affinis*. A 0,5 de salinité, les mâles, femelles non ovigères et femelles ovigères se comportent différemment. La vitesse décroît pour les femelles non ovigères et les femelles ovigères mais continue d'augmenter pour les mâles. La vitesse maximale a été observée à la salinité de 0,5 pour les mâles et de 5 pour les femelles non ovigères et femelles ovigères (cf. Figure 11). Ces résultats confortent l'existence d'une préférence physiologique d'*E. affinis* de la Seine pour les faibles salinités. Lorsque la salinité s'éloigne de l'optimal physiologique de l'espèce, l'augmentation de l'énergie dédiée à l'osmorégulation qui est supposée préjudiciable à d'autres processus peut expliquer la diminution de l'activité natatoire observée dans cette étude. Cette étude dédiée exclusivement au comportement natatoire se poursuit actuellement dans le cadre de la thèse de doctorat de F.-G. Michalec en co-tutelle entre la France et Taiwan.

Les variations du comportement sont des marqueurs biologiques largement utilisés en écotoxicologie et lient l'échelle moléculaire et cellulaire à l'individu et à la population. Ils permettent de mettre en évidence les effets de concentrations minimes en polluants, concentrations qui ne causent pas de mortalité directe mais qui perturbent, via leurs actions sur différents processus biologiques, le comportement et les interactions entre organismes. Nous avons observé des variations immédiates de l'activité de nage d'*E. affinis* en réponse à 2  $\mu$ g/L de nonylphénols, un surfactant non ionique utilisé comme intermédiaire dans la fabrication de détergents, pesticides et produits pétroliers et dont les rejets dans les écosystèmes aquatiques représentent un risque écotoxicologique certain. L'activité et la vitesse de nage augmentent en présence de nonylphénols pour les mâles et les femelles et le comportement manque de coordination. Ces effets peuvent être reliés à

une possible inhibition, par les nonyphénols, de l'acétylcholinestérase dans le système nerveux central des copépodes.

Ces résultats montrent que le comportement de nage des copépodes peut être profondément affecté par les paramètres naturels et les perturbations anthropogéniques et représente un marqueur potentiel sensible dans les programmes de surveillance écotoxicologiques.



Figure 12. Figure modifiée de la publication Cailleaud et al. (2011) montrant les variations des fréquences des états de nage des mâles (A) et femelles (B) E. affinis en présence et en absence de nonylphénol. Les vitesses instantanées entre deux positions successives d'un copépode ont été classées, en fonction de leur valeur et de la direction du mouvement, dans trois différents états de nage (pause, nage lente et sédimentation).

<u>Figure 13.</u> Figure modifiée de la publication Cailleaud *et al.* (2011) montrant les densités de probabilité des durées des temps de résidence dans l'état pause des mâles et femelles *E. affinis* en présence et en absence de nonylphénol. Des régressions puissance sont ajustées aux parties linéaires des courbes et leurs coefficients sont indiqués.

Nous illustrons également un résultat obtenu dans le cadre de la thèse de doctorat de M.S. Mahjoub (cotutelle avec Taiwan et soutenue en octobre 2010) sur la vulnérabilité du copépode *E. affinis* à la prédation. Parmi les espèces prédatrices de ce copépode, on retrouve les larves et les juvéniles de bar *Dicentrarchus labrax*, qui se nourrissent préférentiellement de ce copépode. Nous nous intéressons ici à deux paramètres qui semblent influencer les interactions prédateur-proie entre les larves de bar et le copépode *E. affinis*.

Le premier facteur étudié ici est l'état physiologique des copépodes. En effet, les femelles ovigères et notamment celles d'*E. affînis* sont souvent signalées comme étant plus vulnérables que les mâles ou les femelles non ovigères aux prédateurs (Figure 14). Du point de vue état physiologique du copépode, la vulnérabilité accrue des femelles ovigères est confirmée par des expériences en volume réduit (3L). Cette vulnérabilité serait due à une plus grande perceptibilité plutôt qu'a des capacités de fuite limitées puisque le taux de réussite des captures une fois la proie détectée est similaire pour les mâles, les femelles et les femelles ovigères (Figure 15). La vulnérabilité de ces dernières, est donc due à des événements pré-attaque i.e. un nombre supérieur de décisions d'attaque ou de rencontres prédateur-proie. Parmi les paramètres responsables de l'augmentation du taux de rencontres dans le plancton, on retrouve principalement la vitesse de nage. Conformément, l'utilisation de techniques vidéo en 2D, a révélé que les femelles ovigères du

copépode *E. affinis* exhibaient un comportement de nage le plus rapide que celui des mâles ou des femelles non ovigères (Mahjoub et al., in press).



<u>Figure 14.</u> Nombre moyen de proies ingérées par des larves de bar de 40 jours en fonction du sexe et de l'état du copépode. Des expériences complémentaires réalisées dans un grand volume (canal hydrodynamique de Wimereux) ont permis d'étudier les effets de <u>la turbulence</u> et de <u>la</u> <u>concentration de proies</u> sur l'interaction prédateur – proies.

<u>Figure 15.</u> Succès de capture des larves de bar de 40 jours en fonction du sexe et de l'état du copépode. La vulnérabilité accrue des femelles ovigères des copépodes par rapport aux males et aux femelles non ovigères a souvent été imputée à leur capacité de fuite réduite face aux prédateurs. Le graphique 7 montre que, contrairement a ce qui a été présumé plus haut, les prédateurs n'ont pas plus de facilite a capturer les femelles ovigères ( $\chi^2$ ;p>0.05).

Si l'activité de nage des femelles ovigères serait responsable de leur vulnérabilité, il est légitime de se demander comment est ce que cette espèce reste dominante dans l'estuaire de la Seine. L'étude bibliographique donne une explication à ce phénomène. En effet, plusieurs études ont montré que les œufs de plusieurs espèces de copépodes (Redden and Daborn, 1991; Conway et al., 1994; Saint-Jean and Pagano, 1995; Bartholme et al., 2005) y compris *E. affinis* (Conway et al., 1994; Flinkman et al., 1994) gardaient leur viabilité suite au passage dans le tractus digestif de poissons prédateurs. Cette capacité, pourrait donc montrer que la vulnérabilité accrue des femelles ovigères aux prédateurs, ne serait forcement pas préjudiciable à l'échelle de la population.

Le deuxième facteur étudié qui semble aussi influencer les interactions entre les larves de bar et le copépode *E. affinis* est la turbulence. En effet, depuis deux décennies, plusieurs études, principalement de modélisation, montrent que les niveaux modérés de turbulence favorisent l'alimentation des larves de poissons en augmentant le taux de rencontres avec les proies. Ces études se basent sur le fait que les densités en proies sont souvent limitâtes dans le milieu naturel. L'estuaire de la Seine, fait exception. En effet, des densités du copépode *E. affinis* très élevées y sont régulièrement reportées (Devereker et al., 2008). Nous avons donc étudié l'effet de la turbulence sur les taux d'ingestion de larves de bar. Les expériences ont été faites sur des individus du copépode *E. affinis* aussi bien vivants que morts.

Nos résultats montrent que les larves ingéraient plus de proies quand celles-ci étaient vivantes (Figure 16). Ceci prouve que les poissons sont capables de discriminer les mouvements dus à la turbulence des mouvements propres des copépodes. Quand les proies présentées étaient vivantes, un niveau modéré de turbulence a été bénéfique aux larves de bar (Figure 16). Ceci pourrait être expliqué par l'effet perturbateur exercé par la turbulence sur les aptitudes sensorielles et les capacités de fuite des copépodes (Mahjoub, 2010).



Figure 16. Nombre moyen de copépodes ingérés par larve de bar, *D. labrax*, en fonction de la turbulence exprimée en Nombre de Reynolds (*Re*) aussi bien pour les copépodes morts que vivants. Les lettres (pour les copépodes vivants) et les chiffres (pour les copépodes morts) indiquent des moyennes significativement différentes a  $\alpha$  = 0.05.

#### 3.2. Approche expérimentale au niveau de la population: protocole multigénération

Nous avons mis au point un protocole multi-générations pour suivre les effets d'une augmentation de la température et de la salinité (<u>scénario climatique</u>) sur la plasticité du copépode *E. affinis*. Ce protocole mis au point est unique à l'heure actuelle et nous avons pu suivre au total **55 générations** d'*E. affinis* de l'estuaire de la Seine (3 températures 7, 20 et 24°C et deux salinités 15 et 25) et également **55 générations** de deux populations témoins d'*E. affinis* provenant de la Gironde et du St Laurent. Les résultats obtenus lors des 10 dernières générations de chaque expérience ont été analysés d'une façon exhaustive (morphologie, fécondité, traits de cycle de vie) dans le cadre de la thèse de doctorat d'Anissa Ben Radhia – Souissi (soutenue en décembre 2010) et pleinement impliquée dans ZOOSEINE.

Afin de comprendre les réponses individuelles et populationnelles d'un organisme aquatique face à une augmentation de la température, nous avons développé un nouveau protocole expérimental basé sur l'étude de quelques paramètres clés du cycle de vie du copépode estuarien *E. affinis* sur plusieurs générations. La population a été, d'abord, acclimatée à une température estivale (20°C) pendant 16 à 17 générations avant de tester l'effet d'une augmentation de température (24°C) simulant le scénario d'un réchauffement climatique de +4°C. Les expériences ont été conduites sous deux salinités, une considérée optimale de 15psu et une considérée stressante de 25 psu. Nous avons aussi étudié l'effet d'un fort choc thermique de + 17°C sur une population d'*E. affinis* acclimatée à une faible température de 7°C et une salinité 15. L'effet d'une augmentation de température 3 générations successives dans les deux scénarios d'étude. Nous avons démontré à l'aide du protocole multi-générations qu'un double stress salin et thermique affecte négativement la croissance et la fécondité d'*E. affinis* et que les copépodes survivants à tous les traitements expérimentaux ont présentés une diminution de la taille corporelles avec l'augmentation de la température. Ces résultats sont valables pour le scénario de réchauffement climatique ainsi que pour l'expérience de choc thermique (figure 17).

Suite à l'observation d'une baisse de la qualité de nourriture dans l'expérience, nous avons démontré que l'effet sur la croissance et la fécondité du copépode a été beaucoup plus fort que l'effet de la salinité et/ou de

l'augmentation de la température. Nous avons aussi démontré que la faible qualité de nourriture associée à une forte salinité affecte encore plus négativement le cycle de vie d'*E. affinis* et de plus la sensibilité de la population à la température est amplifié (figure 17). Mais nous avons aussi noté que *E. affinis* peut rapidement faire face à l'effet d'une faible qualité de nourriture après seulement une génération.

Les résultats de cette étude ont dévoilé la haute capacité d'un copépode estuarien à faire face à une augmentation de la température et aussi à des changements dans d'autres paramètres environnementaux tels que la salinité et la nourriture. Il est donc nécessaire de considérer les interactions entre le changement climatique direct (c'est-à-dire la température) et les autres modifications associées aux habitats estuariens d'*E. affinis* dans les études futures sur les scénarios climatiques. Le protocole de multi-génération que nous avons développé semble être bien adapté pour évaluer l'effet de n'importe quel facteur externe sur les traits de cycle de vie de ce copépode estuarien mais il pourrait être aussi généralisé à d'autre copépode ou espèce zooplanctonique.



<u>Figure 17.</u> Relation entre la longueur du prosome et la fécondité de la femelle d'*Eurytemora affinis* aux différentes conditions expérimentales. Le symbole cercle désigne les données issues des conditions initiales de culture, le symbole étoile désigne les données issues de la phase de faible qualité de nourriture et le symbole carré indique les données obtenues après le transfert à 24°C. La couleur bleue désigne les données issues de 7°C, la couleur verte désigne les données issues de 20 °C et salinité 15 et la couleur rouge désigne les données issues de 20°C et salinité 25. Les barres d'erreur sont les écarts types. (D'après Ben Radhia-Souissi A., 2010 et Souissi A. et al, soumis)

#### 3.3. Approche protéique et identification des marqueurs de stress physiologique

Cette action a été réalisée par l'équipe de J. Forget-Leray (LEMA, Le Havre).

Dans une publication dans Science, Pörtner & Knust (2007) ont montré un lien direct entre la tolérance thermique du métabolisme de certaines espèces de poissons et d'invertébrés et le déclin de leurs populations. Ce travail a été basé sur une synthèse de données obtenues au laboratoire avec un protocole standard. Afin de compléter l'approche expérimentale, il est nécessaire d'étudier les marqueurs de stress physiologique. En effet, de nombreux travaux ont montré que l'expression de protéines de stress (Hsp) était impliquée dans la thermotolérance des vertébrés aquatiques. De plus, dans certaines circonstances, ces protéines peuvent être considérées comme des biomarqueurs de stress osmotique (Jean *et al.*, 2004).

Kimmel & Bradley (2001) ont montré que la température et la salinité peuvent modifier la composition des protéines d'*E. affinis*. Ces auteurs ont utilisé la cartographie en électrophorèse bidimensionnelle. Nous avons déjà appliqué cette technique dans le cadre d'autres actions menées dans le programme Seine aval afin d'identifier les variations d'expression ou les modifications de protéines couplées avec une identification des protéines sur ou sous exprimées et nouvellement synthétisées. Au cours de l'année 2008 nous avons confirmé la présence des protéines de type Hsp 60 et 70 sur gel d'électrophorèse bidimensionnelle (Figure 18). Chez *E. affinis* la synthèse des Hsps augmente fortement lorsque des individus sont exposés à des températures supérieures ou égales à 20°C (Bradley et al., 1992).



HSP 60

HSP 70

<u>Figure 18.</u> Empreintes protéiques des copépodes *Eurytemora affinis*. Les spots entourés en orange représentent les protéines Hsp60 et 70 identifiées après microséquencage et comparaison sur des banques de données.

A la suite de ces travaux, il avait été envisagé dans un premier temps de s'orienter vers des techniques de quantification et de localisation des Hsps au niveau transcriptomique par hybridation in situ, in toto. Nous avons finalement opté pour une méthode de quantification basée sur les principes de la PCR, plus sensible, précise et reproductible que celles précédemment mentionnées.

Ainsi, le clonage et la caractérisation de gènes de Hsps chez *E. affinis* a été entrepris afin de permettre la mesure de l'expression de ces gènes par la procédure de retro-transcription couplée à la PCR quantitative en temps réel (RT-qPCR). La méthodologie développée est si sensible qu'elle nous permet de réaliser nos mesures sur des pools de 50 organismes au lieu de plusieurs milliers pour les méthodes de dosages protéiques classiquement employés.

Les séquences d'ADNc d'une isoforme de Hsp70 et de Hsp90 ont été partiellement obtenues par PCR dégénérées, puis intégralement caractérisées par RACE-PCR (Figure 19 et 20). Les analyses structurelles et phylogénétiques des séquences protéiques montrent qu'il s'agit d'une Glucose-Regulated Protein 78 kDa (i.e. GRP78 : forme réticulum endoplasmique de Hsp70) et de la forme de cytosolique de Hsp90. A notre connaissance, les formes cytosoliques de Hsp70 et Hsp90 n'ont été caractérisées que chez une seule autre espèce de copépodes, *Tigriopus japonicus*. De même, la GRP78 a été caractérisée chez seulement deux

autres espèces de crustacés (tous taxons confondus), la crevette pénéide *Fenneropenaeus chinensis* et le cladocère *Daphniopsis tibetana*.

L'expression des gènes GRP78 et Hsp90 a été étudiée dans le cadre d'expérimentations contrôlées sur des souches de laboratoire mais également à l'occasion de campagnes de prélèvement au sein des populations naturelles de l'estuaire de Seine (missions ZOOTRANZ). Les objectifs étaient de "vérifier" la fonctionnalité des gènes caractérisés et d'évaluer l'influence des principaux facteurs abiotiques (i.e. température et salinité) sur les niveaux d'expression.

Chez les organismes maintenus dans des conditions d'élevage optimums (i.e. 15°C et salinité de 15‰; Devreker, 2007) le gène de GRP78 était en moyenne 30 fois plus exprimé que celui de Hsp90. Il a effectivement était démontré que dans des conditions non-stressantes le transcrit des formes de Hsps inductibles (e.g. formes cytosoliques) est maintenu à des niveaux relativement faibles par comparaison avec des formes considérées comme inductibles (e.g. GRPs) (Deane et Woo, 2005).

Des inductions d'expression ont été observées, pour les deux gènes de Hsps caractérisés, chez des individus soumis à des chocs thermiques de 90 min (Figure 21). Ces résultats corroborent l'implication bien connue de cette famille de protéines dans la réponse au stress thermique. Hsp90 était respectivement 2, 3 et 20 fois plus exprimée chez les individus choqués aux températures de 7.5, 22.5 et 30°C par comparaison à ceux maintenus dans les conditions optimales, soulignant le caractère très inductible de cette protéine. De façon similaire, Reeh et al. (2009) ont observé des inductions d'expression de la forme cytosolique de Hsp70 d'environ 50 fois chez *T. japonicus* choqués durant 90 min à 35°C. En revanche les taux d'induction de l'expression de Hsp90 rapportés par ces auteurs sont nettement inférieurs à ceux observés au cours de notre étude. Par comparaison, les taux d'induction de GRP78 mesurés pour les différents chocs étaient respectivement de 2, 2 et 7. La réponse plus contenue de ce gène vis à vis d'un choc thermique est liée à son rattachement au réticulum endoplasmique plus généralement associée aux formes constitutives de Hsps. Ces observations concordent avec celles rapportées par Luan et al. (2009) chez *F. chinensis* qui montrent que la GRP78 peut être significativement induite en réponse aux chocs thermiques mais de manière relativement modérée.

L'influence de la salinité a été évaluée à court terme dans le cadre de chocs hyper- et hypo-osmotiques (90 min) mais également à l'issue d'acclimatation à long terme (15 jours) (Figure 5). A court terme, la salinité influe de façon différente sur l'expression des deux gènes étudiés. GRP78 ne présente quasiment aucune modification du niveau de transcription contrairement à Hsp90 qui était environ 2 fois plus exprimée chez les organismes choqués à 1 et 30‰ en comparaison à ceux maintenus dans des conditions de salinité optimale (15‰). En revanche, GRP78 et Hsp90 présentent des profils d'expression similaire suite à une acclimatation de 15 jours. Une induction significative d'un facteur 2 a été observée chez les individus maintenus à la salinité de 1‰ alors qu'aucune différence significative d'expression n'a pu être mise en évidence entre les salinités de 15 et 25‰. Ces résultats corroborent les observations de Spees et al. (2002) qui rapportent des inductions significatives de Hsp90 et Hsp70 (forme cytosolique) chez *Homarus americanus* exposé durant 30, 60 et 120 min à des chocs hyper- et hypo-osmotiques. En revanche, aucune étude à notre connaissance, ne fait référence aux effets de la salinité sur la production de GRP78 durant un choc osmotique, ainsi qu'aux effets de la salinité sur la production de Hsps en générale suite à une acclimatation à long terme.

1	G C T T G A T T C A C T T C T A A A A G A G T G G G T A G G T T A A A T T T A C A A G T G C C G T A T A C G G A C A G T
1	<u>M K V L I L L S A V M A V F G</u> S D D
121 19	T A A G A A G G A G G C T G A T A T T G G G A C T G T G T T G G T A T C G A T C T T G G A A C C A C C T A T T C T T G K K E A D I G T V I G I D L G T T Y S C
181	T G T T G G A G T G T T A A G A A C G G C A G A G T G G A G A T T A T T G C T A A C G G G A A A C A G A A T
241	TACACCCAGCTACGTGGCATTTACAGCTGACGGAGAAAGATTGATT
<b>59</b> 301	T P S Y V A F T A D G E R L I G D A A K AAATCAGCTGACAACTAACCCTGAGAACACCGTGTTCGACGCTAAGCGACTGATTGGTCG
<b>79</b> 361	N Q L T T N P E N T V F D A K R L I G R TGACTGGACCGACAAAACTGTGCGCCAGCGACATGAAATACTTCCCCTTCAAGCTTGTGA
<b>99</b>	D W T D K T V A S D M K Y F P F K L V E
421 119	GAAGAATGCTAAGCCCCATATTCAGGTTGAGACTAGCCAGGGACAGAAAACATTCGCCGC K N A K P H I Q K N A K P H I Q K N A K
481 139	AGAGGAAATCTCCGCCATGGTTCTGGTCAAGATGAAGGAAACTGCCGAGGCGTATCTTGG E E L S A M V L V K M K E T A E A Y L G
541	CAAGAAGGTCACCCACGCCGTCGTCACCGTCCCCGCCTACTTTAACGACGCCCAGAGACA
159 601	<u>K</u> K V T H A V V T V P A Y F N D A Q R Q AGCTACCAAGGACGCCGGAGTCATTGCTGGTCTAAATGTTATGAGGATTATCAACGAACC
<b>179</b> 661	A T K D A G V I A G L N V M R I I N E P TACCGCTGCTGCCATCGCTTACGGTATGGACAAGAAGGATGGAGAAGAATGTCCTTGT
199	T A A A I A Y G M D K K D G E K N V L V
721 219	F D L G G G T F D V S L L T I D N G V F
781 239	TGAGGTCGTCTCTACCAACGGAGATACTCATCTTGGAGGAGGAGGATTTCGACCAGAGGGT E V V S T N G D T H L G G E D F D O R V
841	CAT GGA GCA CT T CAT CAA GCT GT A CAA GA A A A A A G A A G G G CAA G G A T CT CA G A A A A G A C G T
<b>239</b> 901	GCGAGCTGTACAGAAGCTAAGACGTGAGGGTTGAGAAGGCCAAGAGAGCTCTGTCCGCCGC
<b>279</b> 961	<b>R A V Q K L R R E V E K A K R A L S A A</b> TCACCAGGTTCGTGTTGAGGTTGAATCCTTGATTGACGGAGAGGATTTCTCCGAGACTCT
<b>299</b>	H Q V R V E V E S L I D G E D F S E T L
319	T R A K F E E L N M D L F R G T L K P V
1081 339	CCAGAAGGTTCTAGAAGATGCTGATCTCGGCAAGAAGGATATTGACGAGATTGTTCTTGT Q K V L E D A D L G K K D I D E I V L V
1141 359	TGGAGGTTCYACYCGYATCCCCAAGATTCAGGCTCTTGTCAAGGAGTTCTTCAACGGAAA G G S T B I P K I O A L V K E F F N G K
1201	GGAACCCTCCAGAGGAATCAACCCTGACGAGGCTGTTGCCTATGGAGCTGCTGTCCAGGC
379 1261	TGGAGTCCTCTCTGGAGAACAGGACACTGGAGATCTTGTCCTGCTTGACGTGAACCCACT
<b>399</b> 1321	G V L S G E Q D T G D L V L L D V N P L GACCCTTGGTATTGAAACTGTCGGAGGAGTTATGACCAAGTTGATCTCCAGGAACACTGT
<b>419</b>	T L G I E T V G G V M T K L I S R N T V
439	I P T K K S Q I F S T A A D N Q N T V T
1441 459	CATCCAGGTTTTCGAGGGAGAGCGTCCCATGACCAAGGACAACCATCAGCTTGGTAAATT I Q V F E G E R P M T K D N H Q L G K F
1501 479	TGACCTGACCAACATTCCCCCAGCACCCAGAGGAGTTCCCCCAGATCGAGGTCACCTTCGA D L T N L P P A P R G V P O L E V T F E
1561	GATTGACGCTAACGGTATCCTCCAGGTGTCTGCCGAGGACAAGGGAACTGGAAACAAGGA
499 1621	I D A N G I L Q V S A E D K G I G N K E GAAGATTACCATCACCAACGACCAGAACAGACTCACCCCTGAGGACATCGAGAGGATGAT
<b>519</b> 1681	K I T I T N D Q N R L T P E D I E R M I CAACGATGCTGAGAAGTTTGCTGATGAGGACGCCTAAGCTCAAGGGACGTGTTGAGGCTAG
<b>539</b>	N D A E K F A D E D A K L K G R V E A R
559	N E L E S Y A Y S L K N Q I A D K E K L
1801 579	TGGTGGTAAACTGAGTGATGACGAGAAGGAGGAGAAGATCGAAGAGATCTTGACTGAGAAGAT G G K L S D D E K E K I E E I L T E K I
1861 599	C G C T T G G T T G G A G G A A C C A G G A G G C T G A T G C C G A G G A G C T C A G A A A A A A A A A A A A A A A A A A A A
1921	GAT GGAGGAT ATT ATT CAACCT ATT ATT GCAAAACT GT ACCAGGGT GCT GGT GGAGGT CC
<b>619</b> 1981	M E D I I Q P I I A K L Y Q G A G G A P CCCCGGCGGTGAAGAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGACCTCAAGGATGAATTG <b>TAA</b> TC
<b>639</b> 2041	P G G E E E G G E E D E D L <u>K D E L</u> *
2101	GGCT GTT AAAAGT GAGAT CACGT GAT CAGAGAAAT CTGAATT AC GGTTT GCAAAAAT CCA
2161 2221	C G A A A G T T C G T G G A A A A T C C G C G C A T T C C G A G C A C A C T C A T G A C C T T T A G A T C C C A T G G T C A T G G A T G A A A T G T A A A C C A A T G A A T G A A T G A A T G T A A A T C C A T A T T T A T T A T T T G T T
2281 2341	G A T A A G T T T T G T G A T A T G <mark>A A T A A A</mark> T C T T C T G T T A G G T T T T <mark>A A T A A A</mark> A A G T T T T A A A C T A A A A A A A A A A A A A A A A A A A

<u>Figure 19.</u> Séquence nucléotidique et séquence d'acides amines (déduite du cadre de lecture) de la Glucose-Regulated Protein 78 d'*Eurytemora affinis*. Les motifs d'acides amines spécifiques de la famille des Hsp70 sont surlignés en gris. Respectivement, le peptide signal, les motifs consensus (1) du domaine de liaison de l'ATP et (2) des protéines du le réticulum endoplasmique sont soulignés. Les signaux de polyadénylation sont encadrés. Le codon stop est indiqué par  $\Box$ .

1	G C C A T A T A C T T C A C G A C A A A T C A A C T A A T A C T A A C A C
1 61	M S D E I E GACCTTCGCCTTTCAGGCCGAGATTGCACAGCTTATGTCCCTCATTATCAACACATTTTA
7	T F A F Q A E I A Q L M S L I I N T F Y
121 27	CTCCAATAAAGAAATTTTCCTCCGAGAGTTGATCTCCAATGCCTCCGATGCTCTGGACAA SNKELFLRELISNASDALDK
181	A A T T A G A T A T G A A T C C C T C A C T G A T G C C A G C A A G C T G G A G G G A C A A A A G G A T C T G T A C A T
47 241	I R Y E S L T D A S K L E G Q K D L Y I CAAACTCATCCCTGATGTTGACGCCAAGACCCTGACCATCATTGATTCCGGTATCGGTAT
67	<u>K L I P D V D A K T L T I I D S G I G M</u>
301 87	GACCAAGGCCGATATGATCAACAACTTGGGAACAATTGCAAAATCTGGAACCAAAGCTTT T K A D M I N N L G T I A K S G T K A F
361	C A T G G A G G C T C T T C A G G C C G G A G C T G A T A T T A G T A T G A T T G G A C A G T T T G G A G T A G G T T T
107 421	<u>M E A L Q A G A D I S M I G Q F G V G F</u> CTACTCGGCCTACCTCGTCGCTGACAAGGTTGTCGTCACCTCCAAGCACGATGACGA
127	Y S A Y L V A D K V V V T S K H N D D E
481 147	Q Y I W E S S A G G S F T I K T D S G E
541	GCCCATGGGCCGTGGAACCAAGATCGTCCTCCACATGAAGGAAG
601	<u>r m G k G i k i v L h m k E b</u> Q C <u>E i i</u> CGAGGAGAAGAAGATCAAGGAGATCGTAAAGAAGCACTCTCAATTCATTGGATATCCTAT
187 661	E E K K I K E I V K K H S Q F I G Y P I
207	K L L V Q K E R E K E V S D D E A E V E
721 227	GGAGCCCAAGGAGGAGGAGGAACCTAAGATTGAGGATGTTGGAGAGGATGCTGATGCTGA F P K F C F F P K I F D V C F D A D A F
781	GAAGAGCACGGAGAAGAAGACTAAGAAGATCAAGGAGAAGTATACCGAGGATGAGGAGCT
247 841	K S T E K K T K K I K E K Y T E D E E L GAACAAAACTAAACCCATCTGGACCAGATCTCCCTGATGATATCTCCCAACGAGGAGTATGG
267	NKTKPIWTRSPDDISNEEYG
901 287	AGAGTTCTACAAGTCTCTGACCAACGACTGGGAGGATCATCTCGCCGTCAAGCACTTCTC E F Y K S L T N D W E D H L A V K H F S
961	T G T T G A G G G T C A G C T T C A G A G C T C T T C T T C A T C C C C A A G C G T G C C C C T T C G A
307 1021	V E G Q L E F R A L L F I P K R A P F D TCTGTTCGAGAACAAGAAGTCCAAGAACAACATCAAGCTCTATGTTCGTCGTGTTTTCAT
327	L F E N K K S K N N I K L Y V R R V F I
347	M D N C E D I I P E Y L N F V R G V V D
1141 367	CTCTGAAGATCTTCCCCTCAACATCTCCAGAGAGATGCTCCAGCAGAACAAGATCCTCAA
1201	GGTTATCAGGAAGAACATCGTCAAGAAGGTCATGGATGTCATCGAGGAGATATCTGAGGA
387 1261	V I R K N I V K K V M D V I E E I S E D TAAGGATAATTACAAAAAGTTCTACGAGCAGTTTGGAAAGAACATCAAGCTCGGAATCCA
407	K D N Y K K F Y E Q F G K N I K L G I H
1321 427	CGAGGACTCTACCAACAGGAAGAAGCTGGCTGGACATCTCAGGTTTTACACCTCTGCCTC E D S T N R K K L A G H L R F Y T S A S
1381	C G G A G A C G A G A T G T C T C T C G G A G A T T A T G T C T C C A G G A T G A A G G A G A C T C A A A A G G A
<b>44</b> 7 1441	G D E M C S L G D Y V S R M K E T Q K D TGTTTACTATATCACCGGAGAATCCAAGGAGGTTGTTGCAACCTCATCCTTCGTTGAGAG
467	VYYITGESKEVVATSSFVER
487	L K K R G L E V V Y M T E P I D E Y V V
1561 507	CCAGCAGCTGAAGGAGTTCGACGGAAAGAACCTCGTCTCCGTCACTAAGGAGGGTCTTGA
1621	GCTCCCCGAGGATGAGGAGGAGGAGGAAGAAGAAGCGTGAGGAGGATGTTAAGAAGTTCGAGCC
527 1681	L P E D E E E K K K R E E D V K K F E P CCTCTGCAAGGTGATGAAGGATATCCTGGACAAGAAGTTGAGAAGGTTGTTGTCTCCAG
547	L C K V M K D I L D K K V E K V V V S S
1741 567	CCGTCTCGTCTCATCCCCCTGCTGCTGCATTGTTACATCTCAGTATGGTTGGACCGCTAACAT R L V S S P C C I V T S O Y G W T A N M
1801	GGAGAGGATCATGAAGGCTCAGGCTCTCAGAGACACCTCTACCATGGGATACATGGCTGC
587 1861	E R I M K A Q A L R D T S T M G Y M A A CAAGAAGCATCTGGAGATCAACCCCGACCACTCCATCGTCGAGAACCTCAGAGTCAGAGC
607	K K H L E I N P D H S I V E N L R V R A
627	E A D K N D K S V K D L V M L L F E T S
1981	TCTCCTCAGCTCCGGGTTCAGCCTGGAGGATCCTATGGTTCACGCCATGAGAATTCACAG
2041	GATGATCAAGCTTGGTCTGGGTATTGATGATGAGGAGGATAACGAGGCTGAGGCTGCTGA
667 2101	M I K L G L G I D E E D N E A E A A A D
687	D M D M P P L E G D A E D A S R M E E V
2161 707	CGATTAAACTCTTTGATCAAAGCGCAATTATTTTTAACCAAATGCATTGTACCGAAAATT D ★
2221	 С А С Т С А G Т Т Т Т Т Т Т Т Т Т Т Т Т Т Т Т С Т Т Т G Т А А Т А А А А А А А А А А А А
2281	A A A A A A A A A A A A A A A A A A A

<u>Figure 20.</u> Séquence nucléotidique et séquence d'acides amines (déduite du cadre de lecture) de la forme cytosolique de Hsp90 d'*Eurytemora affinis*. Les motifs d'acides amines spécifiques de la famille des Hsp90 sont surlignés en gris. Respectivement, les motifs consensus (1) du domaine de liaison de l'ATP et (2) des isoformes cytosoliques sont soulignés. Le signal de polyadénylation est encadré. Le codon stop est indiqué par  $\Box$ .



<u>Figure 21.</u> Expression de Hsp90 (a) et GRP78 (b) mesurée sur des pools d'*Eurytemora affinis* exposés durant 90 min à différentes températures. Les données sont reportées comme des moyennes  $\pm$  SEM du nombre de copies de cDNA contenues dans 5 ul de produit de la retro-transcription de 1ug d'ARNt (n = 3). Tindique une différence significative par comparaison au groupe de copépodes maintenu à l'optimum de température (15°C) (test de comparaison 2 à 2 de Mann-Whitney ; p < 0.05).



<u>Figure 22.</u> Expression de Hsp90 et GRP78 mesurée sur des pools de *Eurytemora affinis* exposés durant 90 min (**a** et **b**) et 15 jours (**c** et **d**) à différentes salinités. Les données sont reportées comme des moyennes ± SEM du nombre de copies de cDNA contenues dans 5µl de produit de la retro-transcription de 1µg d'ARNt (n = 3). L'étoile indique une différence significative par comparaison au groupe de copépodes maintenu à l'optimum de salinité (15‰) (test de comparaison 2 à 2 de Mann-Whitney ; p < 0.05).

Enfin, la variabilité spatio-temporelle de l'expression de GRP78 et Hsp90 au sein des population d'*E. affinis* de l'estuaire de Seine a été étudié à l'occasion de 3 campagnes de prélèvement sur le bouchon vaseux, le long du gradients de salinité, en Avril et Juin 2009 et Mai 2010. Les niveaux d'expression de gènes mesurés en Avril 2009, pour une température de l'eau de 14°C, était proche de ceux observés chez les copépodes maintenus en laboratoire sous conditions optimales. Ces résultats traduisent dans une certaine mesure la robustesse de la méthodologie développée. En revanche, d'importantes inductions ont été observées chez les organismes échantillonnés aux salinités de 0 et 5‰ en Juin 2009 et Mai 2010 pour des températures d'eau respectives de 20 et 18°C. L'analyse des données en composante principale tend à indiquer que ces inductions révèlent un effet cumulé de l'augmentation de température et de la faible salinité (résultats non montrés). Ces résultats concordent avec les quelques données que l'on peut trouver dans la littérature qui suggèrent que l'expression des Hsps est généralement sujette à l'acclimatation et que les niveaux de transcriptions peuvent fluctuer en réponses aux variations saisonnières (Mouneyrac et Roméo, 2011).

En définitive, les Hsps sont une famille de protéines qui jouent un rôle crucial dans de nombreux mécanismes cellulaires et physiologiques indispensables à l'organisme et ce, en condition de stress ou non. Les Hsps sont considérées comme une réponse ubiquiste qui pourrait être utilisée comme un marqueur générique dans des approches de screening d'un large spectre de stress environnementaux. Au cours de ces travaux, nous avons développé une méthode sensible de quantification du transcrit de Hsps chez *E. affinis*. Les résultats montrent que cette espèce ne fait pas figure d'exception puisque ces niveaux de production de Hsps augmentent en réponse au stress qu'elle est susceptible de rencontrer dans son milieu naturel. Ces travaux ont déjà fait l'objet d'une communication dans un congrès international et d'une publication récemment soumise dans un journal scientifique.

Cependant, des travaux supplémentaires seront nécessaires pour améliorer la compréhension du rôle des Hsps en réponse aux stress et de son potentiel d'utilisation en tant que biomarqueur chez le copépode *E. affinis*. Dans ce sens il pourrait être intéressant, parmi les pistes à suivre, de

- (1) caractériser d'avantage de gènes des familles Hsp70 et Hsp90 ou d'autres familles telles que Hsp60,
- (2) préciser l'influence de divers autres facteurs tels que le sexe, le statut reproducteurs, le stade de vie, l'oxygène dissous ou la contamination chimique et biologique sur leurs niveaux d'expression,
- (3) et poursuivre le suivi des niveaux d'expression *in situ* au sein de populations naturelles en prenant en considération un maximum de facteurs environnementaux.



<u>Figure 23.</u> Expression de Hsp90 (a)et GRP78 (b) mesurée sur des pools de *Eurytemora affinis* prélevés le long du gradient de salinité de l'estuaire de Seine au cours des campagnes ZOOTRANZ d'avril et juin 2009 et mai 2010. Les données sont reportées comme des moyennes  $\pm$  SEM du nombre de copies de cDNA contenues dans 5 ul de produit de la retro-transcription de 1ug d'ARNt (n = 3). Les lettres similaires indiquent l'absence de différence significative (test de comparaisons multiples de Ktuskal-Wallis ; p > 0.05).

## 4. Modélisation

## 4.1. Modélisation multi-échelle : identification de l'habitat des copépodes estuarien

Cette action a été conduite par S. Zongo doctorante sous la direction de F. Schmitt (thèse soutenue en octobre 2010). Nous avons analysé conjointement les données du débit de la Seine et des données Marel Honfleur. Toutes les figures sont tirées de Zongo et al. (en cours de rédaction).

L'estuaire de la Seine, confronté aux apports d'eaux douces amont, suscite ici l'intérêt d'études de l'influence des événements exceptionnels de crues ou d'étiages (les extrêmes dans le débit de la Seine) sur la distribution de certains paramètres biogéochimiques mesurés à Honfleur.

Des densités importantes d'espèce zooplanctonique sont rencontrées entre Honfleur et Tancarville tels que les copépodes (*Eurytemora* ou *Acartia*). L'espèce *Eurytemora* est étudiée en tant qu'« indicateur écologique ». Des habitats différents pour chaque groupe de stade de développement ont été proposés. Cet habitat apparent est déterminé par les paramètres environnementaux notamment la salinité mais également

l'hydrodynamisme. Kimmel et al. (2006) ont montré que la position des populations d'*Eurytemora* et d'*Acartia* dans la baie de Chesapeake est fortement liée aux conditions climatiques et surtout au débit. Par exemple, une année pluvieuse (i.e. fort débit) serait favorable à *Eurytemora affinis* alors qu'une année sèche est plus avantageuse pour *Acartia tonsa*. Sachant que les optimums thermiques des deux espèces sont opposés, nous devons nous intéresser aux saisons hydrologiques correspondant aux crues et aux étiages. En absence de suivi régulier et à long terme du zooplancton dans l'estuaire de la Seine, nous avons voulu nous baser sur les enregistrements à haute fréquence de la bouée MAREL Honfleur pour réaliser une analyse statistique poussée des propriétés des habitats de ces deux espèces (écosystème pélagique en général) pendant les extrêmes hydrologiques.

Nous considérons d'abord les débits de la Seine et leurs percentiles, avant d'analyser comment les extrêmes de ces débits peuvent conditionner certains paramètres biogéochimiques.

De façon à considérer un ensemble de fortes valeurs et un ensemble de faibles valeurs du débit, nous utilisons ici les percentiles 10 et 90 de la série de débits considérée sur l'ensemble des valeurs pendant la période de 1996 à 2007, correspondant aux mesures MAREL. Nous rappelons ici la méthode du percentile, à partir de la fonction de distribution On définit la fonction de distribution F(x):

$$F(x) = \Pr(X \le x) = \int_{-\infty}^{x} p(t) dt$$

où p(x) est la densité de probabilité, X correspond aux données étudiées et x est un seuil. Cette approche permet d'estimer des seuils correspondants aux percentiles. Ainsi le percentile 10, noté  $x_{10}$  est tel que  $F(x_{10}) = 0,1$  et  $x_{90}$  tel que  $F(x_{90}) = 0,9$ . Les percentiles 10 et 90 sont estimés à 208  $m^3/s$  et à 1059  $m^3/s$ .

La distance séparant le barrage de Poses (pK202) à la station MAREL Honfleur (pK355) est de l'ordre de 153 km. D'après la courbe de tarage donnée dans la thèse de Guézennec (1999) on a pu estimer la durée d'écoulement moyen de la Seine (en nombre de jours) du barrage de Poses à la station MAREL Honfleur (ceci ne tient pas compte des effets de la marée). Pour les débits supérieurs à 1000  $m^3/s$ , la durée d'écoulement est estimée à 4 jours et pour les débits de 250  $m^3/s$ , la durée est estimée à 14 jours.

Toutes les valeurs de débits inférieurs au percentile 10 (extrêmes faibles) et supérieurs au percentile 90 (extrêmes forts, crues) correspondent aux événements extrêmes. La figure 24A représente la durée cumulée de ces deux événements extrêmes sur tous les 10 ans de 1945 à 2007. Les extrêmes forts indiquent une tendance à l'augmentation avec une durée maximale de 430 jours de 1996 à 2007. Les extrêmes dans les faibles valeurs montrent également une tendance à l'augmentation et les deux dernières périodes de 10 ans révèlent des durées très proches (de 1985-1995 et de 1996 à 2007). Les deux premières périodes révèlent des durées d'extrêmes dans les faibles valeurs supérieurs à 3,5 ans.

La figure 24B indique une forte variabilité dans la durée des extrêmes de 1996 à 2007. La durée de ces événements extrêmes varie de 1 à 110 jours (environ 4 mois). Pour les extrêmes faibles (les valeurs inférieures au percentile 10), la durée des extrêmes varie de 1 jour à 4 mois et les années 1996 et 2003 mettent en évidence des durées supérieures à 3 mois. Quant aux extrêmes forts (les valeurs supérieures percentile 90), l'année 2001 montre une durée de 2,5 mois. On note également une variabilité importante de la durée de ces extrêmes au cours du temps.



<u>Figure 24</u>. length of extreme events every 10 years from 1945 to 2007 and 1996 to 2007. The first illustration shows a decrease of the extreme low (line red and gray bars) and the increase trend is most clearly visible for the extreme flood (line green and blue bars). The second illustration corresponds to length of the two extreme events for each year (1996 to 2007). Each bar graph displays the length by event (gray bar), the bars above are the duration of flood and bars below are the duration of extreme low.

Les analyses faites en périodes d'événement « extrêmes » à partir des séries temporelles enregistrées à Honfleur nous ont permis de déceler des différences au niveau de leur pdf. De plus, les pdfs des paramètres environnementaux durant ces événements extrêmes nous renseignent sur le mode de répartition de certaines espèces planctoniques telles que les copépodes et/ou le type de forçage qui peuvent rencontrer (ou subir).

Les pdfs de la température durant les extrêmes d'étiages et de crues indiquent une augmentation et une baisse de la température de l'eau respectivement (figure 25). Durant les extrêmes de crues, la pdf de la température révèle une forte probabilité d'apparition des modes autour de 6,7 et 9,5 °C. On constate également que durant la période d'extrêmes d'étiages la pdf de température indique une forte probabilité d'apparition d'un mode autour de 20 °C.



<u>Figure 25.</u> The probability density function of temperature during the two extreme events. The blue curve (dotted line) corresponds to pdf of extreme flood and displays a bimodal distribution. The black curve corresponds to pdf of extreme low flow. The pdf of all time series shows also a bimodal distribution (red curve).

Concernant l'oxygène dissous, la pdf durant les événements extrêmes révèle un gradient d'oxygène croissant (figure 26). En période d'extrêmes de crues, l'oxygène dissous présente des teneurs relativement élevées. La pdf montre une probabilité presque nulle d'apparition des teneurs en dessous de 5 mg/L. La pdf possède un mode à 8,6 mg/L et 10,6 mg/L. L'oxygène dissous mesuré en surface montre une situation d'oxygénation des eaux lors des crues et une baisse d'oxygène dissous est observée lors des étiages. Durant la période d'événements extrêmes d'étiages, la distribution de l'oxygène dissous indique une allure unimodale avec un mode de 6,5 PSU.



Figure 26. pdfs of dissolved oxygen during the two extreme events. The three curves show a discrepancy in the mode. A bimodal distribution is displayed in the pdf of extreme flood.

Les analyses confirment que les habitats des principaux copépodes peuvent être significativement affectés par les extrêmes hydrologiques. Ces extrêmes vont affecter la dynamique saisonnière mais également la position longitudinale des maximas des populations des copépodes *Eurytemora* et *Acartia*.

## 4.2. Modélisation individu-centré

Un modèle individu-centré représentant la dynamique de la reproduction d'*E. affinis* dans l'estuaire de la Seine a été développé et validé en utilisant la plateforme Mobidyc (Dur et al., 2009). Ce travail a été réalisé dans le cadre de la thèse de Gaël Dur (co-tutelle avec Taiwan et soutenue le 5 octobre 2009 à Taiwan). A noter que ce travail de modélisation se base sur les travaux expérimentaux réalisés au cours de la phase III du programme Seine-Aval mais actualisés dans le cadre de ZOOSEINE (voir article de synthèse de Devreker et al., 2009).

Le couplage de ce modèle de reproduction avec un modèle de cycle de vie se poursuit actuellement. La version du modèle à développer bénéficiera des acquis expérimentaux (*in situ* et laboratoire) escomptés du projet ZOOSEINE.

Ce nouveau modèle, permettant l'étude de la dynamique de population d'*E. affinis*, ne tient pas compte de la représentation spatiale. Son point fort réside sur la dépendance du cycle de vie (Fig. 27a) et du cycle de reproduction (Fig.27b) envers la température. Ainsi, les temps de développement dans chaque stade et les paramètres reproductifs dépendent de la température. Les conditions de salinité et de nourriture sont considérées constantes et optimales.



Β.

<u>Figure 27.</u> **A**. Cycle de vie du copépode *E. affinis. Ni* correspond aux différents stades larvaires ou naupliens, *Ci* : stades juvéniles ou copépodites. (dessin des stades par Katona 1971 compilés en cycle de vie Souissi S.). **B**. Cycle reproductif du copépode *E. affinis*. La femelle entre dans ce cycle après sa dernière mue de juvénile et réalise ce cycle jusqu'à sa mort (d'après Dur et al. 2009)

L'approche individu centrée a été choisie afin de pouvoir représenter chaque stade ou groupe de stades, et considérer leurs différences quant aux temps de développement et de leur mortalité associée à la prédation. Le modèle fut développé à l'aide de la plateforme MOBIDYC.

Les fonctions biologiques des individus furent sélectionnées et calibrées sur les données obtenues en laboratoire et *in situ* dans le cadre de précédents projets Seine Aval. Ces dernières nous ont permis de simuler un développement des individus réaliste pour des températures enregistrées dans l'estuaire de la Seine.

L'influence des variations de température sur le temps de développement furent intégré dans le modèle via l'approche degré-jour. Cette approche se base sur l'hypothèse que chaque stade requière une certaine quantité d'énergie, exprimée en degré-jour, afin de compléter son développement.

La mortalité due à la prédation fut corrélée aux variations saisonnières des prédateurs d'*E. affinis*, observées dans l'estuaires de Seine (Mouny 1998). Le choix des survies résulte d'une intégration de l'effet de la prédation sur les stades de développement ainsi que les résultats obtenus en laboratoire.

Le modèle nous permet des à présent de reproduire le pattern saisonnier de la population d'*E. affinis* observe dans l'estuaire de Seine. En effet, les dynamiques obtenues (Fig. 28) sont en accord avec les résultats issus des campagnes d'échantillonnage réalisées en estuaire de Seine montrant un maximum d'abondance à la fin du printemps et une chute de la population en été (Mouny 1998).



<u>Figure 28.</u> Variation saisoniere du nombre total d'individu d'*E. affinis* pour chaque répliqua (en gris) et la moyenne sur les dix répliquas en (rouge). Les périodes correspondant aux saisons clefs du cycle sont délimités par les traits discontinus verticaux.

Compte tenu de ces résultats, nous sommes raisonnablement confiants sur le fait que le modèle révèle le rôle prépondérant que jouent la température et la prédation en tant que moteur de la dynamique de population saisonnière du copépode *E. affinis* dans l'estuaire de Seine.

Nous disposons donc d'un modèle individu centré qui tient compte de chaque stade de développement et qui est capable de simuler le développement d'une population sur une, voire plusieurs années. En plus d'être un outil de synthèse de nos connaissances sur le modèle biologique *E. affinis*, ce modèle nous permet également de tester divers scenarios. Des simulations réalisées en augmentant la température annuelle moyenne (fig. 29), nous fournissent par exemple une idée des possibles conséquences du changement climatique sur la dynamique d'*E. affinis*.



<u>Figure 29.</u> Variation saisonniére du nombre total d'individus d'*E. affinis* pour les differentes valeurs de temperature annuelle moyenne ( $T_m$ ) de l'equation utilisée pour simuler la variation saisoniere de la temperature. Chaque courbe represente la moyenne des dix replicats simules pour chaque condition.

L'amélioration de cet outil est en cours de réalisation mais il est capable d'intégrer d'autres processus. Une des multiples applications du modèle pourrait bénéficier des résultats des études écotoxicologiques conduites sur *E. affinis* dans le cadre de Seine Aval. Il serait par exemple intéressant d'utiliser le modèle pour représenter l'effet de la présence d'un contaminant sur la bioaccumulation au niveau de la population.

## III. Références

Bartholme S., Samchyshyna L., Santer B. et al. (2005) Subitaneous eggs of freshwater copepods pass through fish guts: Survival, hatchability, and potential ecological implications. Limnol. Oceanogr., 50, 1291–1296.

Cailleaud K., Michalec F.-G., Forget-Leray J., Budzinski H., Hwang J.-S., Schmitt F.G. & Souissi S. (2011) Changes in the swimming behavior of *Eurytemora affinis* (Copepoda, Calanoida) in response to a sub-lethal exposure to nonylphenols. *Aquatic Toxicology*. 102, 228-231.

Conway V. P., McFadzen I. R. B. & Tranter, P. R. G. (1994) Digestion of copepod eggs by larval turbot Scophthalmus maximus and egg viability following gut passage. Mar. Ecol. Prog. Ser., 106, 303–309.

Devreker D. (2007) Dynamique de population du copépode *Eurytemora affinis* dans l'estuaire de la Seine : approche combinée *in situ* multi-échelle et expérimentale. Université du Havre, 285 pp.

Devreker D., Souissi S., Molinero J. C. et al. (2008) Trade-offs of the copepod Eurytemora affinis in megatidal estuaries: insights from high frequency sampling in the Seine estuary. J. Plankton Res., 30, 1329–1342. Devreker D., Souissi S., Winkler G., Forget-Leray J. and Leboulenger F. (2009). Effects of salinity and temperature on the reproduction of *Eurytemora affinis* (Copepoda; Calanoida) from the Seine estuary: a laboratory study. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 368: 113-123.

Devreker D., Souissi S., Molinero J.C., Beyrend-Dur D., Gomez F. and Forget-Leray J. (2010). Tidal and annual variability of the population structure of *Eurytemora affinis* in the middle part of the Seine Estuary during 2005. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 89: 245-255.

Deane E. E. & Woo N. Y. (2005) Cloning and characterization of the hsp70 multigene family from silver sea bream: Modulated gene expression between warm and cold temperature acclimation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 330:776-83.

De Stasio B.T. (1989) The seed bank of a freshwater crustacean: copepodology for the plant ecologist. *Ecology* 70, 1377-1389.

Dur G., Souissi S., Devreker D., Ginot V., Schmitt F.G. and Hwang J.-S. (2009). Effect of temperature and individual variability on the reproduction of the estuarine copepod *Eurytemora affinis* Individual-based experimental and modelling approach. *Ecological Modelling*, 220: 1073-1089.

Flinkman J., Vuorinen I. & Christiansen, M. (1994) Calanoid copepod eggs survive passage through fish digestive tracts. *ICES J. Mar. Sci.*, 51, 12–129.

Jean S., De Jong L. & Moreau X. (2004) Chaetognaths: a useful model for studying heat shock proteins. Effect of wound healing, *J Exp Mar Biol. Ecol* 312(2) 319-332

Kimmel D.G. & Bradley B.P. (2001) Specific protein responses in the calanoid copepod Eurytemora affinis (Poppe, 1880) to salinity and temperature variation. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.*, 266:135-149.

<u>Kimmel D.G., Miller W.D.& Roman M.R., (2006).</u> Regional scale climate forcing on zooplankton dynamics in Chesapeake Bay. *Estuaries and Coasts* 29, 375-387

Luan W., Li F., Zhang J., Wang B. & Xiang J. (2009) Cloning and expression of glucose regulated protein 78 (GRP78) in *Fenneropenaeus chinensis. Mol. Biol. Rep.* 36: 289-298.

Mahjoub M.-S., S. Souissi, F.G. Michalec, F. Schmitt, & J.-S.Hwang. (2011) Swimming kinematics of Eurytemora affinis (Copepoda, Calanoida) reproductive stages and differential vulnerability to predation of larval Dicentrarchus labrax (Teleostei, Perciformes). Journal of Plankton Research. (sous presse)

Michalec F.-G., Souissi S., Dur G., Mahjoub M.S., Schmitt F.G. & Hwang J.S. (2010) Differences in behavioral responses of *Eurytemora affinis* (Copepoda, Calanoida) reproductive stages to salinity variations. *Journal of Plankton Research*. 32(6), 805-813.

Mouneyrac C.& Roméo M. (2011). Stress proteins and the acquisition of tolerance. *In Amiard-Triquet C., Rainbow P. S. & Roméo M. (eds.)* Tolerance to environmental contaminants, Taylor & Francis Group, London, 209-228.

Mouny P. (1998) Structure spatio-temporelle du zooplancton et du suprabenthos de l'estuaire de la Seine. Dynamique et rôle des principales espèces dans la chaîne trophique pélagique. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, Paris. 237 p.

Pörtner H. O. & Knust R. (2007). Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance. Science 315, 95-97.Redden, A. M. and Daborn, G. R. (1991) Viability of subitaneous copepod eggs following fish predation on egg-carrying calanoids. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 77, 307–310.

Rhee J. S., Raisuddin S., Lee K. W., Seo J. S., Ki J. S., Kim I. C., Park H. G. & Lee J. S. (2009) Heat shock protein (Hsp) gene responses of the intertidal copepod *Tigriopus japonicus* to environmental toxicants. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 149:104-12.

Saint-Jean L. & Pagano M. (1995) Egg mortality through predation in egg-carrying zooplankters. Studies on Heterobranchus longifilis larvae fed on copepods, cladocerans and rotifers. *J. Plankton Res.*, 17, 1501–1512.

Spees J. F., Chang S. A., Snyder M. J. & Chang Ernest S. (2002) Osmotic Induction of Stress-Responsive Gene Expression in the Lobster *Homarus americanus*. *Biol. Bull.* 203:

## IV. Publications proposées ou acceptées suite aux travaux de ZOOSEINE

## Parues et sous presse

## <u>2009</u>

Beyrend-Dur D., Souissi S, Devreker D, Winkler G & Hwang J-S (2009). Life Cycle Traits of Two Transatlantic Populations of *Eurytemora affinis* (Copepoda: Calanoida): Salinity effects. *Journal of Plankton Research*, 31: 713-128.

Devreker D, Souissi S, Winkler G, Forget-Leray J & Leboulenger F (2009) Effects of temperature, salinity and individual variability on the reproduction of *Eurytemora affinis* (Copepoda, Calanoida) from the Seine estuary: a laboratory study. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 368: 113-123. (*Review Article*)

Dur G, Souissi S, Devreker D, Ginot V, Schmitt FG & Hwang J-S (2009) Effect of temperature and individual variability on the reproduction of the estuarine copepod *Eurytemora affinis* Individual-based experimental and modelling approach. *Ecological Modelling*, 220: 1073-1089.

## <u>2010</u>

Devreker D., Souissi S., Molinero J.C., Beyrend-Dur D., Gomez F. & Forget-Leray J. (2010) Tidal and annual variability of the population structure of *Eurytemora affinis* in the middle part of the Seine Estuary during 2005. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 89, 245-255.

Michalec, F.G., S. Souissi, G. Dur, M.S. Mahjoub, F.G. Schmitt, J.S. Hwang (2010) Differences in behavioral responses of *Eurytemora affinis* (Copepoda, Calanoida) adults to salinity variations, *Journal of Plankton Research*, 32(6):805-813.

Souissi A., Souissi S., Devreker D. & Hwang J. S. (2010) Occurence of intersexuality in a laboratory culture of the copepod *Eurytemora affinis* from the Seine estuary (France). *Marine Biology*, 157 : 851-861.

S. Souissi, Michalec, F.G., G. Dur, S. Mahjoub, F.G. Schmitt, J.S. Hwang (2010) How does salinity influence the estuarine copepod *Eurytemora affinis* ?: reply. 32(8), 1227-1229.

## <u>2011</u>

Mahjoub M.S., Souissi S., Michalec F.G., Schmitt F.G & Hwang J.S. (2011) Swimming kinematics of *Eurytemora affinis* (Copepoda, Calanoida) reproductive stages and differential vulnerability to predation of larval *Dicentrarchus labrax* (Teleostei, Perciformes). *Journal of Plankton Research*, sous presse.

Glippa O., Souissi S., Denis L. & Lesourd S. (2011) Calanoid copepod resting egg abundance and hatching success in the sediment of the Seine estuary (France), *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 92:255-262.

Dur, G., S. Souissi, F.G. Schmitt, F.G. Michalec, M.S. Mahjoub, J.S. Hwang (2011) Effects of animal density, volume, and the use of 2D/3D recording on behavioral studies of copepods. *Hydrobiologia*, DOI: 10.1007/s10750-010-0586-z, sous presse.

Cailleaud K., Michalec F.-G., Forget-Leray J., Budzinski H., Hwang J.S., Schmitt F.G. & Souissi S. (2011) Changes in the swimming behavior of *Eurytemora affinis* (Copepoda, Calanoida) in response to a sub-lethal exposure to nonylphenols. *Aquatic Toxicology*, 102:228-231.

Winkler G., Souissi S., Poux C. & Castric V. (accepté) Genetic heterogeneity among several *Eurytemora affinis* populations in Western Europe. *Marine Biology* 

Schmitt F.G., Devreker D., Dur G. & Souissi S. (en révision) Direct evidence of tidally-oriented behaviour of the copepod Eurytemora affinis in the Seine estuary. *Ecological Research* 

## D'autres publications sont actuellement en préparation et/ou en cours de soumission.

Souissi A., Souissi S. & Hwang J.-S. (Soumis) How an estuarine copepod could face a global warming scenario? General expectations are not always true.

Souissi A., Souissi S, Devreker D. & Hwang J.-S (en prép.)Multigenerational responses of life cycle traits to temperature increase in three genetically divergent populations of the copepod *Eurytemora affinis*.

## V. Communications réalisées

## Communications orales

(le nom du présentateur de communication est indiqué en gras)

**Devreker D**, Roman M, Pierson J, <u>Kimmel D</u> & <u>Souissi S</u> (2009) Population dynamics of the copepod *Eurytemora affinis* in two trans-Atlantic estuaries: the Chesapeake Bay (USA) and the Seine estuary (France). *CERF 2009 Estuaries and Coasts in a Changing World, 1-5 November 2009, Portland, OR, USA*.

<u>Glippa O.</u>, <u>Souissi S.</u>, <u>Lesourd S.</u> & <u>Denis L.</u> (2009) Spatio-temporal variability of copepod's resting eggs in the sediment of the macrotidal Seine estuary, France: first observations. *Resurrection Ecology Symposium 2009, September 13-18, 2009, Herzberg, Switzerland*.

<u>Souissi A.</u>, <u>Souissi S.</u>, <u>Devreker D.</u> & Hwang J.-S. (2009) Effect of temperature increase in the life cycle traits of an egg bearing copepod. 2<sup>nd</sup> European Large Lakes Symposium, 10-14 August, Norrtälje, Sweden.

## Thèse de doctorat

<u>Dur Gael (2009)</u> Study of two brackich copepod species from contrasted environments through multi-scale approach : from ethology to population dynamic. Doctorat de co-tutelle entre l'université de Lille 1 et National Taiwna Ocean University, soutenue à Keelung, Taiwan le 5 octobre 2009. 347 p.

<u>Sylvie Brizard Zongo (2010)</u> Fluctuations multi-échelles et extrêmes dans les séries temporelles biogéochimiques à moyen et long terme en milieu marin côtier. Doctorat de l'université de Lille 1, soutenue à Wimereux le 12 octobre 2010. 295 p.

<u>Beyrend-Dur Delphine (2010)</u> Comparison of the evolutionary life cycle traits of two estuarine copepods having contrasting temperature preferendum: *Eurytemora affinis* (temperate) and *Pseudodiaptomus annandalei* (subtropical). Doctorat de co-tutelle entre l'université de Lille 1 et National Taiwna Ocean University, soutenue à Keelung, Taiwan le 18 octobre 2010. 216 p.

<u>Mahjoub M. Sofiane (2010)</u> Effects of turbulence on fish larvae feeding ecology and growth: interaction with copepods. ). Doctorat de co-tutelle entre l'université de Lille 1 et National Taiwna Ocean University, soutenue à Keelung, Taiwan le 18 octobre 2010. 142 p.

<u>Ben Radhia – souissi Anissa (2010)</u> Etude de la plasticité et de la morphologie d'un copépode estuarien: comparaison intercontinentale. Doctorat université Lille 1 Sciences et Technologies, soutenue à Wimereux le 14 décembre 2010, 221 p.

<u>Mialet Benoit (2010)</u> Réponse du zooplancton à la restauration de l'estuaire de l'Escaut et test d'un modèle de sélectivité trophique. Doctorat de l'université de Toulouse 3, soutenue à Toulouse le 17 décembre 2010. 211 p.

<u>Glippa Olivier (2011)</u> Rôle des œufs de résistance benthiques dans la stratégie de cycle de vie des principaux copépodes planctoniques de l'estuaire de la Seine. Doctorat université Lille 1 Sciences et Technologies, soutenance prévue à Wimereux, le 4 avril 2011.

## Organisation du colloque

Toutes ces communications ont été réalisées lors du colloque international '**Climate change impacts on** estuarine and coastal ecosystems : a zooplankton perspective' organisé par S. Souissi du 28 au 30 juin 2010 à Boulogne sur Mer, en partenariat avec le GIP Seine-Aval et d'autres organismes financeurs

## Communications orales

<u>Anissa Souissi</u>, Sami Souissi, Hakim Derdar, Damien Ballenghien & Jiang-Shiou Hwang (2010) Effect of temperature increase on the body size and the fecundity of the estuarine copepod Eurytemora affinis

<u>Olivier Glippa</u>, Sami Souissi, Lionel Denis, Sandric Lesourd & Victor Alekseev (2010) Dormant eggs of calanoid copepods in the macrotidal Seine Estuary (France)

## <u>Posters</u>

Benoit Xuereb, Céline Boulangé-Lecomte, Teddy Lesueur, Olivier Glippa, Sami Souissi & Joëlle Forget-Leray (2010) Heat shock protein gene responses of the estuarine copepod Eurytemora affinis to environmental factors

Mohamed-S. Mahjoub, Sami Souissi, Ram Kumar, Francois Schmitt & Jiang-S. Hwang (2010). The effects of turbulence on the feeding of seabass larvae feeding on live versus dead copepods

Tahina Rabarimanantsoa, Emilien Heraud, Anissa Souissi & Sami Souissi (2010). Effect of food concentration on the body size, egg production and the survival of the copepod Eurytemora affinis using the multigeneration experimental protocol

Gaël Dur, Sami Souissi, David Devreker & Jiang-Shiou Hwang (2010). Individual Based Model for the phenology of Eurytemora affinis from the Seine Estuary, France

## VI. Annexe

Ce rapport a été réalisé par l'équipe du Pr. M. Tackx (Toulouse) sous forme d'un manuscrit de publication en préparation (le titre est provisoire).

## The zooplankton of the Seine estuary

Azémar F., F. Julien, J.L. Druilhe, C. Sossou, S. Souissi & M. Tackx

## Résumé

Le zooplancton de l'estuaire de la Seine a été échantillonné entre Honfleur et La Bouille sur 12 stations couvrant les zones polyhaline à oligonaline lors de 4 campagnes en 2008-2009.

Les résultats montrent que l'abondance et la diversité du zooplancton dans l'estuaire de la Seine sont faibles, mais d'un même ordre de grandeur qu'observé en 1993-1996 (Akopian et al., 2002; Mouny et al., 2002). Les rotifères étaient les plus diversifiés (26 taxa) suivis des branchiopodes (9 taxa). Les copépodes étaient représentés par 5 harpaticoides, 3 calanoides and 2 cyclopoides.

La diversité du zooplancton dans la Seine est toujours restée inférieure à 8 taxa quelle que soit la station ou la saison considérée. Cette diversité est légèrement supérieure en amont qu'en aval du fait de la plus grande diversité des rotifères dans cette zone.

L'abondance et la diversité du zooplancton dans la Seine sont inférieures à celles de l'Escaut ou de l'Elbe, malgré des conditions géo-climatiques similaires. Il faut remarquer la dominance des nauplii dans la Seine au détriment des rotifères qui dominent dans l'Escaut. En considérant la faible abondance des copépodes adultes et de leurs copépodites dans la Seine, cela indique des conditions de vie peu favorables pour les copépodes dans la Seine, mais aussi une compétition potentielle entre les nauplii et les rotifères.

De possibles explications aux abondances et diversité du zooplancton faibles dans la Seine peuvent trouver leur origine dans la composition de la matière en suspension qui est ici étudiée chimiquement et par imagerie. La MES est légèrement plus abondante dans la Seine que dans l'Escaut. Celle de la Seine contient une proportion de matière organique plus importante que celle de l'Escaut mais, parmi cette matière organique, la concentration en Chl *a* est considérablement plus importante dans l'Escaut. Ce ratio Chl *a*/détritus organique inférieur dans la Seine par rapport à l'Escaut est moins favorable au zooplancton, capable de sélectionner les algues parmi la MES pour s'en nourrir.

Dans les systèmes aquatiques, le zooplancton est un lien essentiel entre les niveaux trophiques inférieurs et supérieurs. Considérant que, dans les estuaires, la composition et concentration de la MES sont en partie influencées par des mesure de gestion (dragage, écluses, purification d'eau), il semble intéressant d'exploiter plus en profondeur les différences en abondance et diversité observées entre les estuaires, et le lien potentiel avec la MES.

## Abstract

The zooplankton in the Seine estuary was sampled at 12 stations covering the polyhaline to oligohaline zone between Honfleur and La Bouille during 4 sampling campaigns in 2008-2009.

The results show that both zooplankton abundance and diversity in the Seine estuary are low, but in the same order of magnitude as found during 1993 –'96 (Akopian et al., 2002; Mouny et al., 2002). Rotifers were the most diversified (26 taxa), followed by branchiopods (9 taxa). Copepods were represented by 5 harpaticoid, 3 calanoid and 2 cyclopoid taxa.

The zooplankton diversity in the Seine estuary was always below 8 taxa whatever the station and season and increases slightly from downstream to upstream, mainly because of numerous rotifer taxa.

Zooplankton abundance and diversity is substantially lower in the Seine than in the Scheldt or the Elbe estuary, despite comparable geo-climatic circumstances. An interesting difference between the Seine and the Scheldt is that rotifers dominate in the Scheldt, while copepod nauplii dominate in abundance in the Seine. Considering the low abundance of copepodite and adult copepods in the Seine, this indicates poor living conditions for copepods in the Seine but also a potential competition between copepod nauplii and rotifers.

Possible explanations for the low zooplankton abundance and diversity in the Seine estuary could be found within the composition of the suspended particulate matter, which is presently studied by chemical and image analysis methods. SPM was slightly more abundant in the Scheldt than in the Seine estuary. The proportion of organic matter within this SPM was lower in the Scheldt but its Chl *a* concentration was much higher. This lower ratio Chl *a*/organic detritus in the Seine estuary is less favourable than in the Scheldt for the zooplankton able to select algae within the SPM.

Zooplankton is recognised as an essential link between the lower and higher trophic levels, also in estuarine systems. As in estuaries, the composition of SPM is influenced by a number of management related processes (dredging, locks, water – purification), it seems interesting to further exploit the observed differences in zooplankton abundance in the different estuaries and its possible link to SPM composition.

## Introduction

The Seine estuary, located in the North of France, is the largest megatidal estuary in the English Channel, covering about 150 km<sup>2</sup> at high tide. The drainage area of about 78 650 km<sup>2</sup> in subject to an intensive anthropization: a quarter of the French population and a third of the industry and agriculture are concentrated along the Seine river.

Its biogeochemical functioning is studied by the Seine-aval program within a socio–economic – ecologic context (Dauvin et al., 2005). Considering the central role of zooplankton in the trophic functioning of aquatic ecosystems, research on this community is also included in the Seine-aval program.

Since the studies of Mouny et al. (2002) and Akopian et al. (2002), zooplankton in the Seine has mainly been studied in its downstream stretch (Devreker et al., 2008; Mouny et al., 2002). This is not surprising as, in general, freshwater stretches of European estuaries have been little studied, not only concerning zooplankton, but also considering most biological aspect of their ecology (Meire et al., 2005; Van Damme et al., 2005).

Downstream areas of temperate estuaries are generally known to be relatively poor in zooplankton diversity, with a strong dominance of the calanoid copepod *Eurytemora affinis* in spring and *Acartia tonsa* in summer (Castel, 1995; Castel et al., 1989; Dauvin et al., 2005; De Pauw, 1973; Marques et al., 2006; Mialet et al., 2010; M. Tackx et al., 2005).

It has been recently shown in the Scheldt estuary (Belgium/The Netherlands), that both diversity and abundance of zooplankton were considerably higher in the freshwater than in the brackish, more downstream, reach. It therefore seems worthwhile, within the Seine-aval framework, to re-inventorise the zooplankton community over the entire downstream –upstream transect of the Seine estuary.

This paper reports the observations done on this topic between 2008 and 2010. To allow a first interpretation of these first observations, a comparison is made with comparable campaigns in the Scheldt estuary. In this report, we only consider the comparison with the data from 2002, a year when zooplankton identification was done with the same taxonomic resolution as the one applied in the Zooseine project.

## Material and methods

## Sampling

The Seine estuary was sampled by boat between November 2008 and September 2009 (11/2008, 04/2009, 06/2009-07/2009 and 09/2009). The 12 sampling stations were located between Honfleur (ID 721, km 9 from the mouth) and La Bouille (ID 732,km 109 from the mouth). Subsurface water was collected at the middle of the stream using a pump.

Zooplankton was sampled by filtering 50 to 150 L of water, according to the amount of suspended matter, through a 50  $\mu$ m mesh size. In order to prevent rotifer contraction, carbonated water was added to each sample and then, after about 10 minutes, fixed with formaline at a final concentration of 4%.

In addition, total chlorophyll *a* (Chl *a*) and suspended particulate matter (SPM) concentrations were measured. SPM was sampled by filtering water through Whatman GF/C glass fiber filters (1.2  $\mu$ m). The volume of water was determined in order to prevent the clogging of the filter, between 0.25 to 1.1 L. Filters were preserved at 8°C till analysis in laboratory. Chl *a* samples were collected and filtered similarly but they were frozen in liquid nitrogen and transported to the laboratory, where they were stocked at -80 °C till analysis. For SPM only, filters were weighted prior to their use.

## Zooplankton analysis

For zooplankton, each sample was stained with several drops of erythrosine in order to facilitate detection of organisms within the detritus-rich samples. A subsample of at least 10 mL was collected with a wide bore syringe and placed in a counting wheel under a stereo microscope. Organisms were then counted and identified. If necessary, they were picked out, dissected when necessary, and placed on a slide in glycerin, to be observed with a microscope

## **Chemical analysis**

For SPM, filters were dried in the laboratory, at  $105^{\circ}$  during 2-3 hours and weighted in order to calculate the Dry Weight (DW, g.L<sup>-1</sup>). Filters were then oxidized in a muffle furnace at 500°C during 4 hours in order to measure the Ash-free dry weight (AFDW, g.L<sup>-1</sup>).

After extraction of pigments with acetone at 90%, Chl *a* was measured by colorimetry at 663, 645 and 630 nm with a SECONAM Uvilight XT5.

In addition to the classical analyse method of the SPM, an imagery method was developed. A know volume of each sample was pictured with an Olympus camera DP20 fixed on a stereomicroscope SZX10. 10 pictures were recorded with standardized parameters (light, aperture, magnification). Pictures were analyzed with Image J software applying an automatic adjustment of the brightness/contrast, a conversion to a grey scale 8-bits picture and a threshold to separate particulate matter from the water. The percentage of surface covered by SPM was then measured and the mean was calculated.

## Results

## Zooplankton taxonomic composition

Most of the zooplankton specimens were identified up to the species level (Table 1). Rotifers were the most diversified (26 taxa), followed by branchiopods (9 taxa). Copepods were represented by 5 harpaticoid, 3 calanoid and 2 cyclopoid species.

The zooplankton diversity in the Seine estuary was always below 8 taxa whatever the station and season (Fig. 1). This diversity was slightly higher upstream than downstream which was mainly due to a higher diversity of rotifers in this area. For comparison, the diversity estimated with the same taxonomic resolution in the Scheldt estuary is also presented in Fig. 1. Except in brackish water, this diversity is between 15 to 25 taxa in the Scheldt.

Table 1: Taxonomic list of the zooplankton from the Seine estuary.

 Tableau 1 : Liste taxonomique du zooplancton de l'estuaire de la Seine
 1

#### ROTIFERA

#### Monogononta

Aspelta sp. Asplanchna sp. Brachionus angularis Gosse 1851 Brachionus calyciflorusPallas, 1766 Cephalodella sp. Encentrum sp. Euchlanis dilatata Ehrb., 1832 Keratella cochlearis (Gosse, 1851) Keratella quadrata (Müller, 1786) Lecane closterocerca (Schmarda, 1853) Lecane bulla (Gosse, 1851) Lecane hastata (Murray, 1913) Lecane luna (O.F.Müller, 1776) Notholca squamula (Müller, 1786) Polyarthra major Burckhardt, 1900 Pompholyx sulcata Gosse, 1851 Proales similis de Beauchamp, 1908 Synchaeta bicornis Smith, 1904 Synchaeta neopolitana Rousselet, 1902 Synchaeta oblonga Ehrenberg, 1832 Synchaeta triophthalma Lauterborn, 1894 Synchaeta sp. Testudinella sp. Trichocerca marina (Daday, 1890) Trichocerca sp. Trichotria tetractis (Ehrb., 1830)

#### Digononta

Bdelloids

#### CRUSTACEANS

Calanoida

Acartia bifilosa inermis Rose, 1929 Acartia tonsa Dana, 1848 Eurytemora affinis (Poppe, 1880)

#### Cyclopoida

Acanthocyclops trajani Mirabdullayev & Defaye, 2002 Cyclops vicinus Ulianine, 1875

#### Harpacticoida

*Epactophanes richardi* Mrazek, 1893 *Halectinosoma curticorne* (Boeck, 1872) *Halectinosoma* sp. *Nitocra hibernica* (Brady, 1880) *Tisbe longicornis* (T. Scott & A. Scott, 1895)

#### Branchiopoda

Bosmina longirostris (O.F. Müller, 1785) Ceriodaphnia quadrangula (O.F. Müller, 1785) Daphnia cucullata Sars, 1862 Daphnia galeata Sars, 1863 Daphnia longispina (O.F. Müller, 1776) Disparalona rostrata (Koch, 1841) Evadne sp. Ilyocryptus sordidus (Liévin, 1848) Podon sp.



Fig. 1. Zooplankton diversity in the Seine and the Scheldt estuary. Horizontal axis indicates the distance to the mouth (km); the vertical axis indicates the number of taxa found. Data from the Scheldt estuary are obtained in the context of the OMES project (Azémar, 2007).

Fig. 1. Diversité du zooplankton dans les estuaires de la Seine et de l'Escaut. L'abscisse indique la distance à l'embouchure (km) ; l'ordonnée indique le nombre de taxa trouvés. Les données des l'Escaut sont issues du projet OMES (Azémar, 2007).

#### Zooplankton abundance

The abundance of the different taxa observed at each station during the 4 campaigns is given in annex 1. Below, we consider the general tendencies, using mean abundance values for zooplankton groups aver all campaigns.



Fig. 2. Mean abundance, considering all stations at each date, of rotifers, copepods (all adult copepods and copepodite V), cladocerans, nauplii and a focus on *Eurytemora affinis* in the Seine estuary.



Copepod nauplii were always the most abundant organisms counted in the Seine estuary, with a mean of 18 000 and 32 000 ind.m<sup>-3</sup> in May and Jun-July (Fig. 2). They were followed by rotifers and copepods (adult and copepodite V) with a maximum mean abundance in June-July of respectively 1 500 ind.m<sup>-3</sup> and 500 ind.m<sup>-3</sup>. Within copepods, *E. affinis* was the dominant species, except in September, as shown in Fig. 2. Cladocerans were quite rare in the estuary, with abundances lower than 150 ind.m<sup>-3</sup>.

Highest abundances occurred in summer (June-July) whatever the taxon or stage considered (Fig. 2). Rotifers remained abundant in September and quite rare in winter (November and May). Copepods (adults and copepodite V), nauplii, cladocerans followed the same pattern, with low abundances in November and September and highest abundances in May and June-July.

For comparison, an example of the zooplankton abundance in the Scheldt estuary is shown in Fig. 3. Rotifer mean abundances in the Scheldt were 200 time higher than in the Seine; copepods were more than 10 times more numerous in the Scheldt and cladocerans more than 60 times. Within copepods, *E. affinis* 

reached abundances 4 times higher in the Schelde whereas nauplii occurred in abundance of the same order of magnitude in both estuaries



- Fig. 3. Mean abundance, considering all stations at each date, of rotifers, copepods (all adult copepods and copepodite V), cladocerans, nauplii and a focus on *Eurytemora affinis* in the Scheldt estuary.
- Fig. 3. Abondance moyenne, considérant toutes les stations dans l'estuaire de l'Escaut à chaque date, des rotifères, copépodes (adultes et copépodites V), cladocères nauplii ainsi qu'un détail pour Eurytemora affinis.



Fig. 4. Spatio-temporal distribution of rotifers, cladocerans and copepods (all adult copepods and copepodite V) in the Seine estuary.



#### Zooplankton spatio-temporal distribution

Except for June-July, the bulk of development of rotifers was located, during each campaign, in the upper part of the investigated area (Fig. 4). In June-July, rotifers were concentrated downstream with the dominance of marine species like (*Synchaeta triophthalma*, *S. bicornis*). *Lecane* spp., *Keratella cochlearis* were dominant in spring, *Trichotria tretractis* in September and bdelloids in November.

Cladocerans were rare and mainly present in freshwater (Fig 4). *Bosmina longirostris* was dominant during spring and summer.



Fig. 5. Abundance of copepod nauplii and *Eurytemora affinis* (adult and copepodite V) in the Seine estuary.



Copepods were mainly present downstream (Fig. 4). Nauplii followed the same pattern as adult copepods, but reached much higher abundances (Fig. 5). *Eurytemora affinis* (Fig. 5) was the dominant species, followed by *Acartia tonsa* associated to *Halectinosoma curticorne* and were found in the marine area in September 2009.

Tardigrades and oligochetes occurred sporadically in freshwater, with low abundance (below 100 ind.m<sup>-3</sup>). Bivalve larvae were common in May and September all along the freshwater transect, with a

maximum abundance of 1 800 ind.m<sup>-3</sup>. Decapod larvae, polychetes and ostracods occurred in September in the downstream area and reached respectively 600, 300 and 200 ind.m<sup>-3</sup>.

#### Suspended particulate matter characterization

The longitudinal pattern of SPM concentration in the Seine estuary (Fig. 6) was similar during all campaigns: highest SPM concentrations were found downstream, decreasing towards upstream with some irregularities with a mean around  $0.02 \text{ g.L}^{-1}$ . Values did not exceed  $0.08 \text{ g.L}^{-1}$  except in September with a maximum of 0.64 g.L<sup>-1</sup> at the most downstream station followed by upstream variations around 0.05 and 0.25 g.L<sup>-1</sup>.

Chl *a* concentrations (Fig. 6) in the Seine estuary were low in November and May with highest values observed downstream (13  $\mu$ g.L<sup>-1</sup> at km 9 from the mouth). Maximum Chl *a* concentrations were observed in June and September with respectively 60  $\mu$ g.L<sup>-1</sup> (km 9) and 87  $\mu$ g.L<sup>-1</sup> (km 79).

Comparing the SPM concentration with the AFDW indicates the part of organic matter within the SPM. The AFDW/DW ratio is shown in Fig. 7. The organic matter fraction was low in June with 10 to 20% of the SPM. During the other campaigns, this reaches around 18 to 40% of the SPM. Highest values occurred in the upper estuary.

Comparing the Chl *a* concentration to the AFDW of the SPM indicates the contribution of algae within the organic suspended matter. This Chl *a*/AFDW ratio is also shown in Fig. 7. Low values occurred in November and May all along the transect. Highest values were found upstream, in freshwater, in June and mainly in September.



Fig. 6. Distribution of the Chl *a* and the SPM (dry weight) concentrations in Novembre (small indent), May (dotted line), June (large indent) and September (solid line), in the Seine and Scheldt estuary, respectively in 2008-2009 and 2002.

Fig. 6. Distribution de la concentration en Chl a et en MES (poids sec) en novembre (petits tirets), mai (pointillés), juin (grands tirets) et septembre (ligne pleine) dans les estuaires de la Seine et de l'Escaut, respectivement en 2008-2009 et 2002.

The Seine and Scheldt estuary showed the same pattern of distribution of the SPM with numerous irregularities. Except a high value (36 g.L<sup>-1</sup>) reached downstream in November 2002, all other observations in the Scheldt estuary where around 0.08 g.L-1 (0.025 to 0.18 g.L<sup>-1</sup>). Highest values were observed downstream and this trend was also observed using the imagery method tested (Chabert, 2010, not shown here). While the spatial distribution pattern of SMP concentration observed in the Scheldt estuary was similar to that observed in the Seine, SPM concentrations in the former were slightly higher (2 times as high as in the Seine). This is also the case for the Chl *a* concentration (Fig. 6), 3 times higher in the Scheldt than in the Seine estuary. Moreover, phytoplankton was often more abundant downstream in the Seine, whereas in the Scheldt, it was clearly abundant in the freshwater area. Considering the composition of the SPM (Fig. 7), the organic fraction was higher in the Seine (mean 22%) than in the Scheldt (mean 8%) but the Chl *a* fraction within this organic matter was much higer in the Scheldt (mean ratio 0.015) than in the Seine (mean ratio 0.0028).



Fig. 7. Distribution of the ratios Chl a/AFDW and AFWD/DW in Novembre (small indent), May (dotted line), June (large indent) and September (solid line), in the Seine and Scheldt estuary, respectively in 2008-2009 and 2002.

During this study the salinity value of 5 psu which is the limit of the oligohaline area is located around km 19-28 in the Seine estuary end km 71 in the Scheldt estuary. Its position varies as a function of the tide and the river discharge.

Fig. 7. Distribution des ratios Chl a/MSSC et MSSC/PS en novembre (petits tirets), mai (pointillés), juin (grands tirets) et septembre (ligne pleine) dans les estuaires de la Seine et de l'Escaut, respectivement en 2008-2009 et 2002.

## Discussion

The Seine estuary is characterized by a low number of zooplankton taxa found during this survey, compared to other estuaries (Azémar et al., 2010; Holst et al., 1998; Kerner et al., 2004). As the studied area included the downstream part of the Seine, the marine influence was noticeable. Many marine species were identified (*Synchaeta triophthalma, S. bicornis, S. neopolitana, Trichocerca marina, Evadne* sp., *Podon* sp., *Acartia* spp. and most harpacticoids). The river discharge was quite low during all campaigns (210-480 m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>) (Seine-aval data). It does not explain the downstream presence of rotifers observed in June-July 2009, which is only due to the development of marine species.

Freshwater taxa were much less numerous than observed in other estuaries (Azémar, 2007; Azémar et al., 2010; Holst et al., 1998). This was quite surprising, considering the geographical and climatic close location between the Seine and the Scheldt estuary. As in the Scheldt, zooplankton diversity increases from downstream to upstream the Seine (Fig. 1). Abundance of zooplankton was much lower in the Seine estuary than in the Scheldt. This is particularly noticeable with rotifers (Fig. 2 and 3). These low abundances could explain, for a part, the low diversity observed because the more rare species are, the more difficult it is to find them. Despite the lower abundance (x10) of adult and copepodite copepods in the Seine than in the Scheldt, nauplii were observed in similar order of abundance in both estuaries. This could be explained by the low abundance of potential competitors like rotifers in the Seine estuary. It also means that mortality of copepods in the Seine is high. The mean ratio nauplii/adults and CV observed in our study in the Seine (all campaigns and stations) is 102:1, with variations between 0 to 1281:1, while in the Scheldt, this ratio varies between 0.1:1 and 36:1 (mean at 5.3:1). Cladocera were 60 times more abundant in the Scheldt than in the Seine.

In the Elbe estuary, Kerner et al. (2004) reports abundances of rotifer reaching up to 1800 ind.L<sup>-1</sup>, and of *E. affinis* between 25 and 300 ind.L<sup>-1</sup> and up to 60 ind.L<sup>-1</sup> for cladocera. In this estuary, Holst et al. (Holst et al., 1998) reports a maximum abundance of 2048 ind.L<sup>-1</sup> for rotifers in spring. These data are also orders of magnitude higher than those observed presently in the Seine. In the freshwater part of the Rhine (Germany), de Ruyter van Steveninck (1992) observes maximum rotifer abundance up to 1 500 ind.L<sup>-1</sup> during the month of May 1990 and cladocera and copepod abundances of each around 5 ind.L<sup>-1</sup>. These crustacean abundances are comparable to our present findings in the Seine, but rotifers are again much more abundant in the Rhine than in the Seine.

Mouny et al. (2002) studied the zooplankton community of the Seine in a salinity range from 3 to 22 psu in 1996. They report a dominance of marine calanoid copepods (*Temora longicornis, Acartia tonsa*) and *Oikopleura* in the polyhaline reach (> 18 psu) while *E. affinis* reaches maximum abundance (up to 160 ind.L<sup>-1</sup>) in the oligohaline area (< 5 psu). Freshwater taxa were mainly *Acanthocyclops robustus* and *Diaptomus* spp. With maxima abundance in the oligohaline zone of 1 ind.L<sup>-1</sup>. Cladocerans, dominated by *Bosmina* and *Daphnia* spp, reached maximum abundances of 5 ind.L<sup>-1</sup> in the oligohaline zone. Akopian et al. (2002) studying the zooplankton (including *Dreissena* larvae) in the Seine between 1993-1995, reports quite stable total abundance downstream of Paris till Le Havre varying between 530 and 645 ind.L<sup>-1</sup>. 98,3% of this abundance (without *Dreissena*) is made out by rotifers and protozoa. As there are no abundance data available for each group, it is difficult to compare with our present data. Considering 1.7% of crustaceans (nauplii, copepodite and adult copepods and cladocera), would amount to maximum 11 individuals.L<sup>-1</sup>, which is in the same order of magnitude than 83 ind.L<sup>-1</sup> calculated for the same taxa from our present data.

Mouny et al. (Mouny et al., 2002) report considerable abundance of barnacle larvae in the meso- and polyhaline area. Akopian et al. (2002) also mentions an important fraction of *Dreissena* larvae in the Seine stretch between Caudebec and Rouen. Bivalve larvae were also abundant in our samples in the same area.

So, while precise comparison is difficult due to differences in taxonomic resolution, it seems that the abundances reported by previous studies in covering the freshwater stretch of the Seine are in the same order of magnitude as our present observations.

In this study, only sub-surface samples were taken for zooplankton. This could represent an underestimation of the abundance, as many estuarine zooplankton organisms are known to avoid export by staying close to the bottom during ebb tide (Devreker et al., 2008; Morgan et al., 1997). However, tests in the Scheldt have shown that there is no systematic significant difference in abundance of zooplankton organisms in samples at sub-surface, mid-surface and near the bottom (Toumi, unpublished data) nor between abundance obtained at sub-surface between bucket and pump sampling. A recent comparison with zooplankton data obtained by LOG during the same sampling campaigns of the Zoo-Seine program (Glippa, unpublished results) showed that our abundance obtained by only sampling at sub-surface are lower than those obtained by LOG by sampling at several depths, but the values obtained are in the same order of magnitude.

From this first comparison, considering the low zooplankton diversity and abundance, we can hypothesize that conditions for zooplankton are less favourable in the Seine than in the Scheldt and the Elbe estuary. This is also indicated by the fact that the copepod *E. affinis*, is smaller and produces a smaller clutch size in the Seine than in the Scheldt (Ben Radhia-Souissi, 2010).

From the observations of the suspended particulate matter in the zooplankton samples, it was obvious that its concentration and composition is different in the Seine and Scheldt estuary. Knowing that SPM components constitute the main food resource for zooplankton, we are at present considering the concentration and composition of SPM in both estuaries as a possible explanation for these differences in living conditions to zooplankton. It will be necessary however to analyse zooplankton abundance and community composition data in relation to a more complete dataset of environmental variables. Notably those factors representing water quality (oxygen concentration, NH<sub>4</sub>, BOD 5, etc...) have been shown in the Scheldt to explain the variability on zooplankton spatio-temporal distribution over the last 15 years (Mialet et al., 2010). In the Scheldt estuary, the improving water quality has been accompanied by a shift of calanoid copepods (mostly *E. affinis*) from the brackish towards the upstream area. This indicates that zooplankton, and especially *E. affinis*, can react to water quality changes and as such can be considered as bio indicator (Mialet et al., 2010).

In this study, SPM was slightly more abundant in the Scheldt than in the Seine estuary. Even if the proportion of organic matter within this SPM is lower in the Scheldt its Chl *a* concentration is much higher (Fig. 7). Characteristics of the SPM in the Scheldt in 2002 are similar to those reported by Chen et al. (2005) is her long term study. As a consequence, organic matter is comparatively detritus-rich in the Seine and algae-rich in the Scheldt. Even if organisms of the microbial web are of a general importance in the diet of numerous rotifers (Arndt, 1993) they also are known to be active algal feeders (Azémar et al., 2007; Bogdan et al., 1982; Bogdan et al., 1984; Wallace et al., 2006). Moreover, copepods like *E. affinis* are known to be able to select algae within the SPM (M. Tackx et al., 1995; M. L. M. Tackx et al., 2003). In this context, zooplankton can probably find better food conditions in the Scheldt than in the Seine estuary. This could explain for a part the differences in term of diversity, abundance and life traits of zooplankton observed between both estuaries.

Zooplankton is recognised as an essential link between the lower and higher trophic levels, also in estuarine systems. As in estuaries, the composition of SPM is influenced by a number of management related processes (dredging, locks, water – purification), it seems interesting to further exploit the observed differences in zooplankton abundance in the different estuaries and its possible link to SPM composition.

## Acknowledgements

This research was supported by the Seine-Aval program, Zooseine. Thanks to the crews of the ships of the CNRS for their assistance during the processing of the samples.

## References

- Akopian, M., J. Garnier & R. Pourriot, 2002. Cinétique du zooplancton dans un continuum aquatique : de la Marne et son réservoir à l'estuaire de la Seine, *C. R. Biologies* 325: 807–818.
- Arndt, H., 1993. Rotifers as predators on components of the microbial web (bacteria, heterotrophic flagellates, ciliates) a review, *Hydrobiologia* 255/256: 231–246.
- Azémar, F., 2007. L'écologie du zooplancton de l'estuaire de l'Escaut (Belgique). Thèse de doctorat. Université Paul Sabatier. Toulouse 3. 230 pp.
- Azémar, F., S. Boulêtreau, M. Lionard, K. Muylaert, W. Vyverman, P. Meire & M. Tackx, 2007. Looking for general trends in trophic interaction among estuarine micro- and mesozooplankton proposing a data standardization method, *J. Plankton Res.* 29: i135–i147.
- Azémar, F., T. Maris, B. Mialet, H. Segers, S. Van Damme, P. Meire & M. Tackx, 2010. Rotifers in the Schelde estuary (Belgium): a test of taxonomic relevance, *J. Plankton Res.* 32: 981-997.
- Ben Radhia-Souissi, A., 2010. Etude de la plasticité reproductive et de la morphologie d'un copépode estuarien : comparaison intercontinentale. Thèse de doctorat. Université Lille. pp.
- Bogdan, K. G. & J. J. Gilbert, 1982. Seasonal patterns of feeding by natural populations of *Keratella*, *Polyarthra*, and *Bosmina*: Clearance rates, selectivities, and contributions to community grazing, *Limnol. Oceanogr.* 27: 918-934.
- Bogdan, K. G. & J. J. Gilbert, 1984. Body size and food size in freshwater zooplankton, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 81: 6427-6431.
- Castel, J., 1995. Long-term changes in the population of *Eurytemora affinis* (Copepoda, Calanoida) in the Gironde estuary (1978-1992), *Hydrobiologia* 311: 85-101.
- Castel, J. & A. Feurtet, 1989. Dynamics of the copepod *Eurytemora affinis hirundoides* in the Gironde estuary: origine and fate of its production. In Ross, J. D. (ed.), Topics in Marine Biology. Sciencia Marina, Barcelona: 577-584.
- Chen, M. S., S. Wartel, B. Van Eck & D. Van Maldegem, 2005. Suspended matter in the Scheldt estuary, *Hydrobiologia* 540: 79–104.
- Dauvin, J.-C. & N. Desroy, 2005. The food web in the lower part of the Seine estuary: a synthesis of existing knowledge, *Hydrobiologia* 540: 13-27.
- De Pauw, N., 1973. On the distribution of *Eurytemora affinis* (Poppe) (Copepoda) in the Westerschelde estuary, *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 18: 1462-1472.
- de Ruyter van Steveninck, E. D., W. Admiraal, L. Breebaart, G. M. J. Tubbing & B. Van Zanten, 1992. Plankton in the River Rhine: structural and functional changes observed during downstream transport, *J. Plankton Res.* 14: 1351-1368.
- Devreker, D., S. Souissi, J. C. Molinero & F. Nkubito, 2008. Trade-offs of the copepod Eurytemora affinis in mega-tidal estuaries: insights from high frequency sampling in the Seine estuary, *J. Plankton Res.* 30: 1329-1342.
- Holst, H., H. Zimmermann, H. Kausch & W. Koste, 1998. Temporal and spatial dynamics of planktonic rotifers in the Elbe Estuary during spring, *Est. Coast. Shelf Sci.* 47: 261–273.
- Kerner, M., S. Ertl & A. Spitzy, 2004. Trophic diversity within the planktonic food web of the Elbe Estuary determined on isolated individual species by C-13 analysis, *J. Plankton Res.* 26: 1039-1048.

- Marques, S. C., U. M. Azeiteiro, J. C. Marques, J. M. Neto & M. A. Pardal, 2006. Zooplankton and ichthyoplankton communities in a temperate estuary: spatial and temporal patterns, *J. Plankton Res.* 28: 297-312.
- Meire, P., T. Ysebaert, S. Van Damme, E. Van den Bergh, T. Maris & E. Struyf, 2005. The Scheldt estuary: A description of a changing ecosystem, *Hydrobiologia* 540: 1–11.
- Mialet, B., F. Azémar, T. Maris, C. Sossou, P. Ruiz, M. Lionard, S. Van Damme, A. Lecerf, K. Muylaert, N. Toumi & M. Tackx, 2010. Spatial spring distribution of the copepod *Eurytemora affinis* (Copepoda, Calanoida) in a restoring estuary, the Scheldt (Belgium), *Est. Coast. Shelf Sci.* 88: 116-124.
- Morgan, C. A., J. R. Cordell & C. A. Simenstad, 1997. Sink or swim? Copepod population maintenance in the Columbia River estuarine turbidity-maxima region, *Mar. Biol.* 129: 309-317.
- Mouny, P. & J.-C. Dauvin, 2002. Environmental control of mesozooplankton community structure in the Seine estuary (English Channel), *Oceanol. Acta* 25: 13-22.
- Tackx, M., X. Irigoien, N. Daro, J. Castel, L. Zhu, L. Zhang & J. Nijs, 1995. Copepod feeding in the Westerschelde and the Gironde, *Hydrobiologia* 311: 71-83.
- Tackx, M., F. Azémar, S. Boulêtreau, N. De Pauw, B. Sautour, B. Bakker, S. Gasparini, K. Soetaert, S. Van Damme & P. Meire, 2005. Zooplankton in the Schelde estuary, Belgium and the Netherlands: longterm trends in spring populations., *Hydrobiologia* 540: 275-278.
- Tackx, M. L. M., P. M. J. Herman, S. Gasparini, X. Irigoien, R. Billiones & M. H. Daro, 2003. Selective feeding of *Eurytemora affinis* (Copepoda, Calanoida) in temperate estuaries: model and field observations., *Est. Coast. Shelf Sci.* 56: 305–311.
- Van Damme, S., E. Struyf, T. Maris, T. Ysebaert, F. Dehairs, M. Tackx, C. Heip & P. Meire, 2005. Spatial and temporal patterns of water quality along the estuarine salinity gradient of the Scheldt estuary (Belgium and The Netherlands): results of an integrated monitoring approach, *Hydrobiologia* 540: 29–45.
- Wallace, R. L., T. W. Snell & C. Ricci, 2006, Rotifera. Volume 1: Biology, ecology and systematics (2nd edition). Backhuys Publishers, Leiden, 299 pp.

Crédit photo couverture : Univ. de Lille, LOG, B. Xuereb Pour tout renseignement, veuillez contacter la coordination scientifique : cdegremont@seine-aval.fr

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.

Le GIP Seine-Aval est financé par :

