



Abondance et composition du phytoplancton sur les lagunes méditerranéennes oligo et mésohalines

***Valérie Derolez, Ifremer
Béatrice Bec, Université Montpellier 2
Patrick Grillas et Ana-Elena Sanchez, Tour du Valat
Patrick Rimbault, MIO***

Décembre 2014

Les auteurs

Valérie Derolez
Ingénieur de recherche
vderolez@ifremer.fr
Ifremer LER/LR
Avenue Jean Monnet
CS30171
34203 Sète Cedex

Béatrice Bec
Enseignant-chercheur
Beatric.Bec@univ-montp2.fr
Laboratoire Ecologie des systèmes marins côtiers (ECOSYM)
UMR 5119 UM2-CNRS-IRD-IFREMER-UM1
Equipe "Efflorescences Toxiques et Diversité Algale"
Université Montpellier 2, Place E. Bataillon, Bât. 24, cc 093
34095 Montpellier cedex 05

Patrick Grillas et Ana-Elena Sanchez
Directeur Général délégué au Programme
grillas@tourduvalat.org
Tour du Valat
Centre de recherche pour la conservation des zones humides méditerranéennes
Le Sambuc – 13 200 Arles

Patrick Raimbault
patrick.raimbault@mio.osupytheas.fr
M.I.O. Institut Méditerranéen d'Océanologie UMR 7294
Campus de Luminy
Bâtiment Méditerranée
13288 MARSEILLE cedex 09

Les correspondants

Onema : Marie-Claude Ximénès, **Direction**, marie-claude.ximenes@onema.fr
Référence du document :

Partenaire : Anaïs Giraud, Agence de l'Eau Rhône Méditerranée Corse, délégation de Montpellier, Anais.GIRAUD@eurmc.fr

Droits d'usage :	<i>accès libre</i>
Couverture géographique :	Lagunes du littoral méditerranéen français
Niveau géographique :	Régional (PACA et LR)
Niveau de lecture :	Experts
Nature de la ressource:	Document

ABONDANCE ET COMPOSITION DU PHYTOPLANCTON SUR LES LAGUNES MEDITERRANEENNES OLIGO ET MESOHALINES

VALERIE DEROLEZ, BEATRICE BEC, PATRICK GRILLAS, ANA-ELENA SANCHEZ, PATRICK RAIMBAULT

1. Introduction et objectif	8
2. Matériel et méthodes.....	8
a. Stations de prélèvement	8
b. Prélèvements d'eau	11
c. Procédures et analyses au laboratoire.....	12
3. Résultats	14
a. Biomasse chlorophyllienne totale.....	14
b. Abondances de pico- et nano-phytoplancton	16
c. Pigments accessoires	18
4. Discussion et conclusions	21
5. Références bibliographiques.....	23

**ABONDANCE ET COMPOSITION DU PHYTOPLANCTON SUR LES LAGUNES
MEDITERRANEENNES OLIGO ET MESOHALINES**

*VALERIE DEROLEZ, BEATRICE BEC, PATRICK GRILLAS , ANA-ELENA SANCHEZ,
PATRICK RAIMBAULT*

RESUME

Résumé

Dans le cadre de la mise en œuvre de la DCE sur les lagunes méditerranéennes, des travaux ont été menés depuis 2010 par Ifremer, la Tour du Valat et l'IRSTEA (financements Onema et AERM&C), visant à évaluer la pertinence des indicateurs macrophytes et macrofaune pour les lagunes oligohalines et mésohalines (salinité moyenne < 18 PSU).

La question de la pertinence des métriques et seuils de l'indicateur de l'élément de qualité biologique « phytoplancton » de pose également, en particulier du fait du caractère particulièrement confiné des lagunes oligo-mésohalines.

L'objectif de cette étude est de caractériser l'abondance et la composition phytoplanctonique de 5 lagunes oligo et mésohalines de la façade méditerranéenne française (Scamandre, Crey, Charnier, Bolmon et Grand-Palun).

Les analyses des pigments accessoires (chlorophylliens et xanthophylles) mettent en évidence des profils de composition phytoplanctonique distincts en rapport avec les niveaux de biomasse phytoplanctonique totale observés dans les cinq lagunes. La lagune de la Grande Palun, caractérisée par une biomasse phytoplanctonique modérée, présente une diversité pigmentaire forte, avec une contribution similaire des différents groupes phytoplanctoniques identifiés. Les lagunes du complexe Scamandre-Crey-Charnier, caractérisées par des biomasses phytoplanctoniques fortes et la dominance du nanophytoplancton (Scamandre et Crey) ou du picophytoplancton (Charnier), présentent majoritairement des espèces de la lignée brune et des cyanobactéries. Enfin, la lagune de Bolmon, caractérisée par une très forte biomasse phytoplanctonique et la dominance du picophytoplancton, se distingue par l'importance des espèces de la lignée verte (Chlorophytes et Prasinophytes) et la présence possible de cyanobactéries.

Les grilles actuelles du phytoplancton et de la physico-chimie de l'eau ont été développées et consolidées sur un jeu de données de lagunes poly-euhalines. Les seuils demandent à être consolidés pour l'ensemble des lagunes oligo-mésohalines, en prenant en compte les particularités hydromorphologiques et les pressions pesant sur ces écosystèmes (confinement, faible profondeur, fort stock sédimentaire, apports continus par des canaux,...).

Mots clés (thématique et géographique)

Lagunes, Méditerranée, oligohalin, mésohalin, phytoplancton, cytométrie, pigments chlorophylliens

PHYTPLANKTON ABUNDANCE AND COMPOSITION OF MEDITERRANEAN OLIGO-MESOHALINE LAGOONS

VALERIE DEROLEZ, BEATRICE BEC, PATRICK GRILLAS, ANA-ELENA SANCHEZ, PATRICK RAIMBAULT

ABSTRACT

In the context of WFD implementation on Mediterranean lagoons, work has been carried out since 2010 by Ifremer, Tour du Valat and IRSTEA (Onema and AERM & C fundings), to assess the relevance of macrophytes and macrofauna indicators for oligohaline and mesohaline lagoons (mean salinity <18 PSU).

The question of the relevance of indicator metrics and thresholds for the "phytoplankton" biological quality element also arises, especially due to the confined nature of oligo-mesohaline lagoons.

The objective of this study is to characterize the abundance and composition of phytoplankton on 5 oligo and mesohaline lagoons of the French Mediterranean coast (Scamandre, Crey, Charnier, Bolmon and Grand Palun).

Analyses of accessory pigments (chlorophyll and xanthophylls) performed for the five lagoons, highlight different phytoplankton composition profiles, related to total phytoplankton biomass levels. Grand-Palun lagoon, characterized by moderate phytoplankton biomass, has a high pigment diversity, with a similar contribution of the different phytoplankton groups. The lagoons of the Scamandre-Crey-Charnier complex, characterized by high phytoplankton biomass and dominance of nanophytoplankton (Scamandre and Crey) or picophytoplankton (Charnier), predominantly present species of brown line and cyanobacteria. Finally, Bolmon lagoon, characterized by a very high phytoplankton biomass and dominance of picophytoplankton, is distinguished by the importance of species of the green line (Chlorophyta and Prasinophytes) and the possible presence of cyanobacteria.

The current grids for phytoplankton or water physico-chemical quality have been developed and consolidated on a data set of poly-euhaline lagoons. The thresholds have to be consolidated for all oligo-mesohaline lagoons, taking into account the hydromorphological particularities and pressures on these ecosystems (confinement, sedimentary stock, continuous input through channels,...).

Key words (thematic and geographical area)

Lagoons, Mediterranean Sea, oligohaline, mesohaline, phytoplankton, cytometry, chlorophyll pigments.

**ABONDANCE ET COMPOSITION DU PHYTOPLANCTON SUR LES LAGUNES
MEDITERRANEENNES OLIGO ET MESOHALINES**

*VALERIE DEROLEZ, BEATRICE BEC, PATRICK GRILLAS, ANA-ELENA SANCHEZ,
PATRICK RAIMBAULT*

Onema
Hall C – Le Nadar
5 square Félix Nadar
94300 Vincennes
01 45 14 36 00
www.onema.fr

Ifremer
LER/LR
Avenue Jean Monnet
CS 30171
34203 Sète Cedex
04.99.57.32.00
www.ifremer.fr

1. Introduction et objectif

Dans le cadre de la mise en œuvre de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) sur les lagunes méditerranéennes, des travaux sont menés depuis 2010 par Ifremer, la Tour du Valat et l'IRSTEA, visant à évaluer la pertinence des indicateurs macrophytes et macrofaune pour les lagunes oligohalines et mésohalines (salinité moyenne < 18 PSU) (Grillas & David, 2010 ; Grillas et Derolez, 2012 ; Provost *et al.*, 2012 ; Sanchez & Grillas, 2014 -financements Onema et AERM&C).

La question de la pertinence des métriques et seuils de l'indicateur de l'élément de qualité biologique « phytoplancton » se pose également, du fait du caractère particulièrement confiné des lagunes oligo-mésohalines. Trois métriques sont à prendre en compte pour l'évaluation de l'état du phytoplancton dans le cadre de la DCE : l'abondance, la biomasse et la composition. A ce jour, l'indicateur phytoplancton appliqué pour les lagunes méditerranéennes françaises concerne la biomasse et l'abondance (MEDDE, 2013).

L'objectif de cette étude est de caractériser l'abondance et la composition phytoplanctonique de 5 lagunes oligo et mésohalines de la façade méditerranéenne française (Scamandre, Crey, Charnier, Bolmon et Grand-Palun).

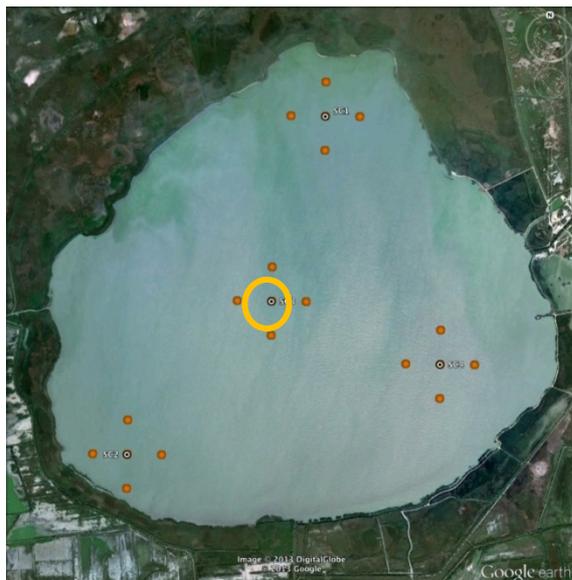
2. Matériel et méthodes

a. Stations de prélèvement

Des prélèvements d'eau ont été réalisés de l'été 2013 sur 5 lagunes oligo et mésohalines de la façade méditerranéenne française (Scamandre, Crey, Charnier, Bolmon et Grand-Palun) (Figure 1).



Figure 1. Localisation des lagunes oligo-mésohalines de la façade méditerranéenne (les 5 lagunes étudiées ici sont entourées en jaune).



SCAMANDRE



CHARNIER



CREY



GRANDE PALUN



BOLMON

Figure 2. Localisation des stations de prélèvement d'eau (stations ayant fait l'objet des analyses d'abondance et de composition phytoplanctonique entourées en orange).

En 2013, dans le cadre de l'étude de « Mise au point d'un indicateur DCE compatible pour les lagunes oligo et méso-halines » (Sanchez & P. Grillas, 2014), 3 à 5 stations ont été échantillonnées selon les lagunes, dans le but d'avoir une vision représentative de chaque masse d'eau (Figure 2). En parallèle aux échantillonnages des peuplements de macrophytes, des prélèvements d'eau et de sédiments ont été effectués au niveau de ces stations, en vue d'évaluer les teneurs en nutriments.

Pour chaque lagune, les échantillons prélevés au niveau d'une station centrale ont fait l'objet d'analyses pour caractériser l'abondance et la composition du phytoplancton (Tableau 1).

Tableau 1. Coordonnées géographiques des stations de suivi. Les stations ayant fait l'objet d'analyses de l'abondance et de la composition du phytoplancton sont encadrées en orange.

LAGUNE	STATION	LATITUDE	LONGITUDE	OBSERVATIONS
BOLMON	BOL1	43.40283	5.156891	Station 2010 (11)
	BOL2	43.41343	5.18016	Point DCE
	BOL3	43.421031	5.192274	Station 2010 (3)
GRANDE PALUN	GP1	43.357289	4.8021	Nouvelle station
	GP2	43.354926	4.811736	Station 2010
	GP3	43.350517	4.805436	Station 2010
	GP4	43.351556	4.810597	Point DCE
	GP5	43.350321	4.817766	Station 2010
SCAMANDRE	SC1	43.632344	4.360225	Nouvelle station
	SC2	43.614581	4.345892	Nouvelle station
	SC3	43.622617	4.356317	Station 2010
	SC4	43.619267	4.368433	Station 2010 (8)
CHARNIER	CH1	43.611283	4.311367	Station 2010 (8)
	CH2	43.625834	4.303242	Nouvelle station
	CH3	43.61875	4.284467	Station 2010
	CH4	43.613433	4.291283	Station 2010 (7)
CREY	CR1	43.624413	4.317987	Nouvelle station
	CR2	43.632825	4.329127	Nouvelle station
	CR3	43.63438	4.316049	Nouvelle station

b. Prélèvements d'eau

Les prélèvements d'eau des étangs de Bolmon, Grand Palun, Scamandre, Crey et Charnier ont été assurés par la Tour du Valat (Tableau 2). Les prélèvements ont été effectués trois fois au cours de l'été 2013 (juin, juillet et août), par remplissage d'un flacon d'1L en polyéthylène opaque. Avant le remplissage, chaque flacon a été rincé trois fois avec l'eau du prélèvement. Après le remplissage, le flacon a été conservé au frais et à l'abri de la lumière jusqu'au retour au laboratoire.

Les mesures de salinité ont été effectuées en surface (-50 cm).

Tableau 2. Salinité, volume analysé par HPLC et teneurs en chlorophylle a et phéopigments mesurés en juin, juillet et août 2013 au niveau des 5 stations.

Lagune	Station	Code station phytoplancton	Mois	Salinité	Volume HPLC (mL)	Chla (µg/L)	Pheo (µg/L)
Bolmon	BOL2	BOL	6	6,3	230	119,7	22,0
	BOL2		7	7,3	150	33,7	4,9
	BOL2		8	8,2	131	249,4	63,1
Charnier	CH2	CH	6	3,9	100	55,1	10,3
	CH3		7	4,3	100	76,7	19,4
	CH3		8	4,1	90	70,1	4,7
Crey	CR1	CREY	6	1,3	182	46,0	6,8
	CR1		7	2,1	124	127,1	7,7
	CR3		8	0,7	185	37,8	3,3
Scamandre	SC3	SCAM	6	2,7	138	34,9	10,9
	SC3		7	3,0	102	64,4	16,3
	SC3		8	3,2	131	76,0	5,3
Grande Palun	GP4	GP	6	0,3	250	17,3	4,4
	GP4		7	0,9	301	13,6	1,8
	GP4		8	2,9	301	15,3	5,3

c. Procédures et analyses au laboratoire

Les analyses d'abondance et de composition pigmentaire du phytoplancton ont été réalisées par le laboratoire ECOSYM de l'Université de Montpellier 2.

Pour l'analyse des abondances cellulaires phytoplanctoniques par cytométrie en flux, un volume d'1 mL d'échantillon non filtré a été prélevé, fixé à l'aide de formol à 40% (50 µl, filtré à 0,2 µm) dans un tube NUNC, congelé rapidement à l'azote liquide (-196°C) puis stocké à -80°C.

Pour l'analyse des concentrations de pigments accessoires phytoplanctoniques par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC), un volume variable d'eau (90 à 300 mL, Tableau 2) a été filtré sur filtre GF/F (diamètre 47 mm). Les filtres ont été mis dans des tubes et stockés au congélateur à -80°C.

Les analyses de Chlorophylle *a* et Phéopigments (µg/L) ont été effectuées par le MIO-Marseille (P. Raimbault) (Tableau 2). Ils sont utilisés dans ce rapport pour mettre en parallèle les biomasses chlorophylliennes totales mesurées (µgChl*a*/L) avec les concentrations des pigments accessoires (chlorophylles et caroténoïdes).

Abondances cellulaires par cytométrie en flux

Les abondances de picophytoplancton (≤ 3 µm de diamètre) et de nanophytoplancton (> 3 µm de diamètre) ont été déterminées par cytométrie en flux (FACS Calibur, Becton Dickinson, équipé d'un laser avec une longueur d'excitation de 488 nm). La cytométrie permet de discriminer des populations phytoplanctoniques en fonction de leur fluorescence, liée à leurs caractéristiques pigmentaires (chlorophylle et phycoérythrine), et de leur diffraction lumineuse (taille cellulaire).

Les cellules phytoplanctoniques eucaryotes sont discriminées sur la base de la fluorescence rouge (chlorophylle, FL3) et de la diffraction lumineuse (Forwardscatter FSC et Side Scatter SCC). Deux groupes sont ainsi définis suivant la taille cellulaire : ≤ 3 µm (PEUC, picoeucaryotes autotrophes) et > 3 µm (NANO, nanophytoplancton). Les picocyanobactéries (CYAN) sont identifiées par leur fluorescence rouge (chlorophylle, FL3) et orange (phycoérythrine, FL2) et la diffraction lumineuse.

Lors de l'analyse des échantillons, des billes standard fluorescentes de taille connue (1 µm, 2 µm, 3 µm, 6 µm et 10 µm) sont ajoutées. Les temps d'acquisition des échantillons (1 mL) sont de 3 à 6 min (Bec *et al.*, 2011). Les abondances phytoplanctoniques sont exprimées en 10^6 cellules/L.

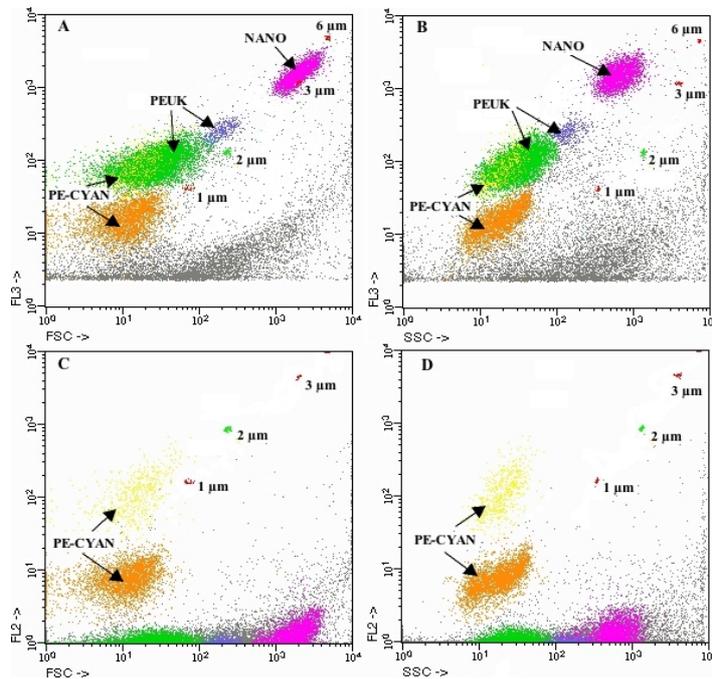


Figure 3. Exemple de cytogrammes obtenus par cytométrie en flux.

Les picoeucaryotes (PEUC) et le nanophytoplancton (NANO) se distinguent en fonction de leur fluorescence rouge et de leur taille (A et B) et les picocyanobactéries (CYAN) se distinguent en fonction de leur fluorescence orange (C et D). (Bec et al., 2011).

Concentrations pigmentaires par HPLC

La composition pigmentaire des communautés phytoplanctoniques a été analysée par HPLC (Waters D600) selon la méthode de Wright *et al.* (1991). Les concentrations pigmentaires sont exprimées en $\mu\text{g/L}$.

La méthode de Wright (1991) repose sur la séparation des pigments sur une colonne ODS C-18 en utilisant un gradient ternaire composé de trois phases distinctes ayant un débit de 1 mL/min (Phase A : Méthanol/Acétate d'ammonium 0,5 M (80/20) ; Phase B : Acétonitrile/Eau milliQ (90/10) ; Phase C : Ethylacétate 100%). La calibration a été réalisée à l'aide de pigments standard (DHI, Danemark). Ces standards ont été injectés afin de déterminer les temps de rétention de chaque pigment. Trois concentrations ont été injectées pour chaque pigment afin d'obtenir des droites d'étalonnage permettant la quantification des différents pigments contenus dans les échantillons. Les chromatogrammes obtenus pour chaque échantillon et standard pigmentaire ont été analysés à l'aide du logiciel EMPOWER Pro (Waters).

Pour l'identification et la quantification des pigments, les paramètres retenus ont été le temps de rétention du pigment, l'aire du pic correspondant et le spectre d'absorption du pic entre 400 et 700 nm. La formule permettant de calculer la concentration en pigment est la suivante :

$$[\text{pigment}] = A \times \text{pente} \times [(V_{\text{ext}}/V_{\text{inj}}) / V_f] \times 1000, \text{ exprimée en } \mu\text{g/L}$$

Avec :

A = aire du pic

pente = pente de la droite de régression du standard

V_{ext} = volume de l'extrait (2500 μL)

V_{inj} = volume d'extrait injecté (120 μL)

V_f = volume d'échantillon filtré.

Les pigments quantifiés sont les suivants : alloxanthine, chlorophylle *b*, chlorophylle *c2*, diadinoxanthine, fucoxanthine, lutéine, néoxanthine, péridinine, 19'but-fucoxanthine, 19'hex-fucoxanthine, prasinoxanthine, violaxanthine etzéaxanthine.

La chlorophylle *a* est un pigment actif présent chez tous les groupes

phytoplanctoniques. Les autres pigments dits accessoires (chlorophylles b et c, xanthophylles et carotènes) sont, pour certains, caractéristiques de groupes particuliers (Tableau 3).

Tableau 3. Liste des pigments associés aux différents groupes phytoplanctoniques (Roy et al., 2011). Les couleurs indiquées dans le tableau sont celles utilisées pour représenter les différents pigments dans les graphiques.

Pigments		Groupes phytoplanctoniques
Chlorophylles		
Chlorophylle a	Chla	Présent chez tous les groupes
Chlorophylle b	Chlb	Chlorophytes et Prasinophytes, Euglénophytes
Chlorophylle c2	Chlc2	Diatomées, Dinophytes, Haptophytes et plusieurs autres classes appartenant à la lignée brune
Xanthophylles		
Alloxanthine	Allo	Cryptophytes, (Dinophytes)
Diadinoxanthine	Diadino	Euglénophytes, Diatomées, Dinophytes, Haptophytes et d'autres classes appartenant à la lignée brune
Fucoxanthine	Fuco	Diatomées, Dinophytes, Haptophytes et d'autres classes appartenant à la lignée brune
19' Hex-Fucoxanthine	Hex-Fuco	Haptophytes, (Dinophytes)
19' But-Fucoxanthine	But-Fuco	Haptophytes, Dictyophytes
Lutéine	Lut	Chlorophytes et Prasinophytes
Néoxanthine	Neo	Chlorophytes, Prasinophytes, Euglénophytes (mineur)
Péridinine	Peri	Dinophytes
Prasinoxanthine	Pras	Prasinophytes
Violaxanthine	Viola	Chlorophytes, Prasinophytes, Chrysophytes, Eustigmatophytes
Zéaxanthine	Zea	Cyanobactéries, Chrysophytes, Eustigmatophytes, Chlorophytes et Prasinophytes (mineur dans les deux dernières classes)

D'un point de vue phylogénétique, les microalgues des classes des Chlorophytes, Prasinophytes et Euglénophytes appartiennent à la lignée verte. Elles se caractérisent par la présence potentielle des pigments suivants : chlorophylle *b*, lutéine, néoxanthine, violaxanthine et zéaxanthine. La zéaxanthine est également présente chez les cyanobactéries (procaryotes). La prasinoxanthine est un pigment spécifique des Prasinophytes.

D'un point de vue phylogénétique, les microalgues des classes des Dinoflagellés, Diatomées, Cryptophytes, Haptophytes et Chrysophytes appartiennent à la lignée brune ou rouge. Elles se caractérisent par la présence potentielle des pigments suivants : Chlorophylle c2, Diadinoxanthine, Fucoxanthine.

Une représentation de l'arbre phylogénétique des eucaryotes est indiquée en Annexe (Figure 8).

3. Résultats

a. Biomasse chlorophyllienne totale

Lagune de Bolmon

La biomasse phytoplanctonique totale, exprimée par la concentration de chlorophylle *a* (Figure 4), a varié de 33,7 (juin) à 249,4 µg Chla/L (août). La lagune de Bolmon se caractérise donc par une forte variabilité de la biomasse phytoplanctonique au cours de l'été. La biomasse phytoplanctonique moyenne est très élevée (134 ± 108,6 µg Chla/L).

Complexe Scamandre-Crey-Charnier

La biomasse phytoplanctonique totale est du même ordre de grandeur dans les lagunes de Scamandre (valeur moyenne : $58,4 \pm 21,2 \mu\text{g Chla/L}$), Crey (valeur moyenne : $70,3 \pm 49,4 \mu\text{g Chla/L}$) et Charnier (valeur moyenne : $67,3 \pm 11,1 \mu\text{g Chla/L}$). Elle augmente au cours de l'été dans la lagune Scamandre ($76 \mu\text{g Chla/L}$ en août), alors que dans les lagunes de Charnier et Crey les valeurs maximales sont mesurées en juillet ($76,7$ et $127,1 \mu\text{g Chla/L}$, respectivement).

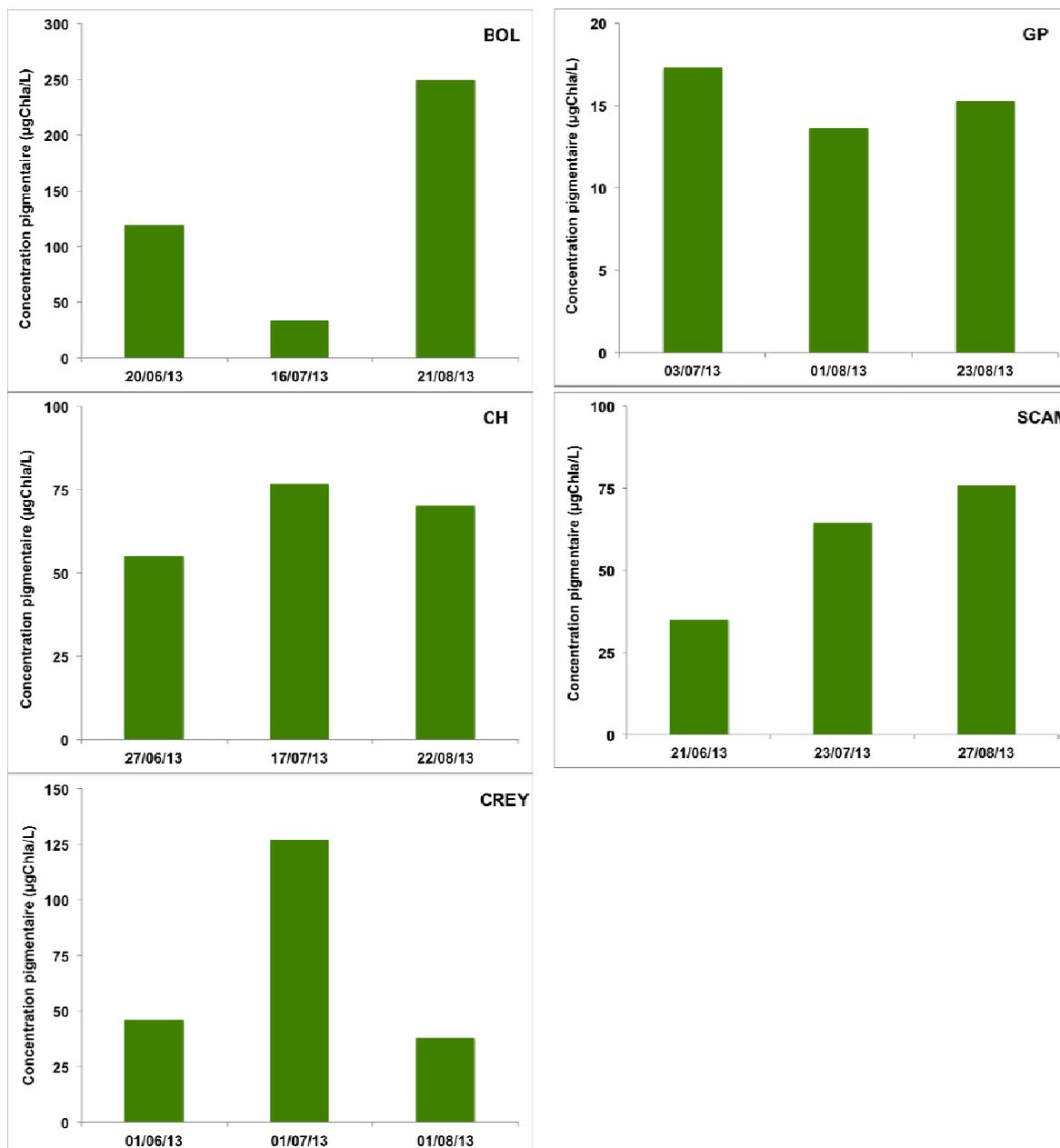


Figure 4. Biomasse phytoplanctonique totale ($\mu\text{g Chla/L}$) mesurée en juin, juillet et août 2013 dans les cinq lagunes.

Lagune de la Grande Palun

La biomasse phytoplanctonique totale est nettement plus faible (valeur moyenne : $15,4 \pm 1,8 \mu\text{g Chl}a/\text{L}$) dans la lagune de la Grande Palun que dans les lagunes précédemment décrites. Elle a varié de $13,6 \mu\text{g Chl}a/\text{L}$ (juin) à $17,3 \mu\text{g Chl}a/\text{L}$ (août).

b. Abondances de pico- et nano-phytoplancton

Les résultats bruts des analyses sont reportés en Annexe (Tableau 5 et Tableau 6).

Lagune de Bolmon

Les abondances de picoeucaryotes autotrophes ($\sim 2\text{-}3 \mu\text{m}$ de diamètre) sont élevées, variant de $1\,777 \times 10^6$ cellules/L (juin) à $2\,942 \times 10^6$ cellules/L (août) (Figure 4). Les abondances de picocyanobactéries ($\sim 1 \mu\text{m}$ de diamètre) sont plus faibles et ont varié de 8 à 173×10^6 cellules/L.

Les abondances de nanophytoplancton ($3\text{-}20 \mu\text{m}$ de diamètre) sont très faibles, variant de 0,14 à $0,47 \times 10^6$ cellules/L. **La compétition vis-à-vis des nutriments entre les picoeucaryotes et le nanophytoplancton apparaît être à l'avantage des picoeucaryotes.**

Complexe Scamandre-Crey-Charnier

Pour les trois lagunes de Scamandre, Crey et Charnier, les abondances picophytoplanctoniques sont plus faibles qu'à Bolmon.

Les abondances de picoeucaryotes et de nanophytoplancton les plus élevées sont du même ordre de grandeur et sont mesurées respectivement à Charnier (PEUC : $93,7 - 361 \times 10^6$ cellules/L) et à Scamandre (NANO : $187 - 252 \times 10^6$ cellules/L) (Figure 4).

Dans la lagune de Charnier, où les abondances de picoeucaryotes sont fortes, les abondances nanophytoplanctoniques sont inférieures à 60×10^6 cellules/L, **soulignant l'avantage compétitif des picoeucaryotes vis-à-vis des nutriments.**

A l'inverse, dans les lagunes de Crey et Scamandre, les abondances nanophytoplanctoniques sont supérieures aux abondances de picoeucaryotes.

Des picocyanobactéries sont observées dans les lagunes de Charnier ($22,2 - 55,3 \times 10^6$ cellules/L) et de Crey ($0 - 2,0 \times 10^6$ cellules/L).

Lagune de la Grande Palun

Dans la lagune de la Grande Palun, les abondances de picoeucaryotes et de nanophytoplancton sont faibles et ont varié respectivement de $18,9$ à 29×10^6 cellules/L et de $4,8$ à $8,4 \times 10^6$ cellules/L. Les picocyanobactéries n'ont pas été observées (Figure 4).

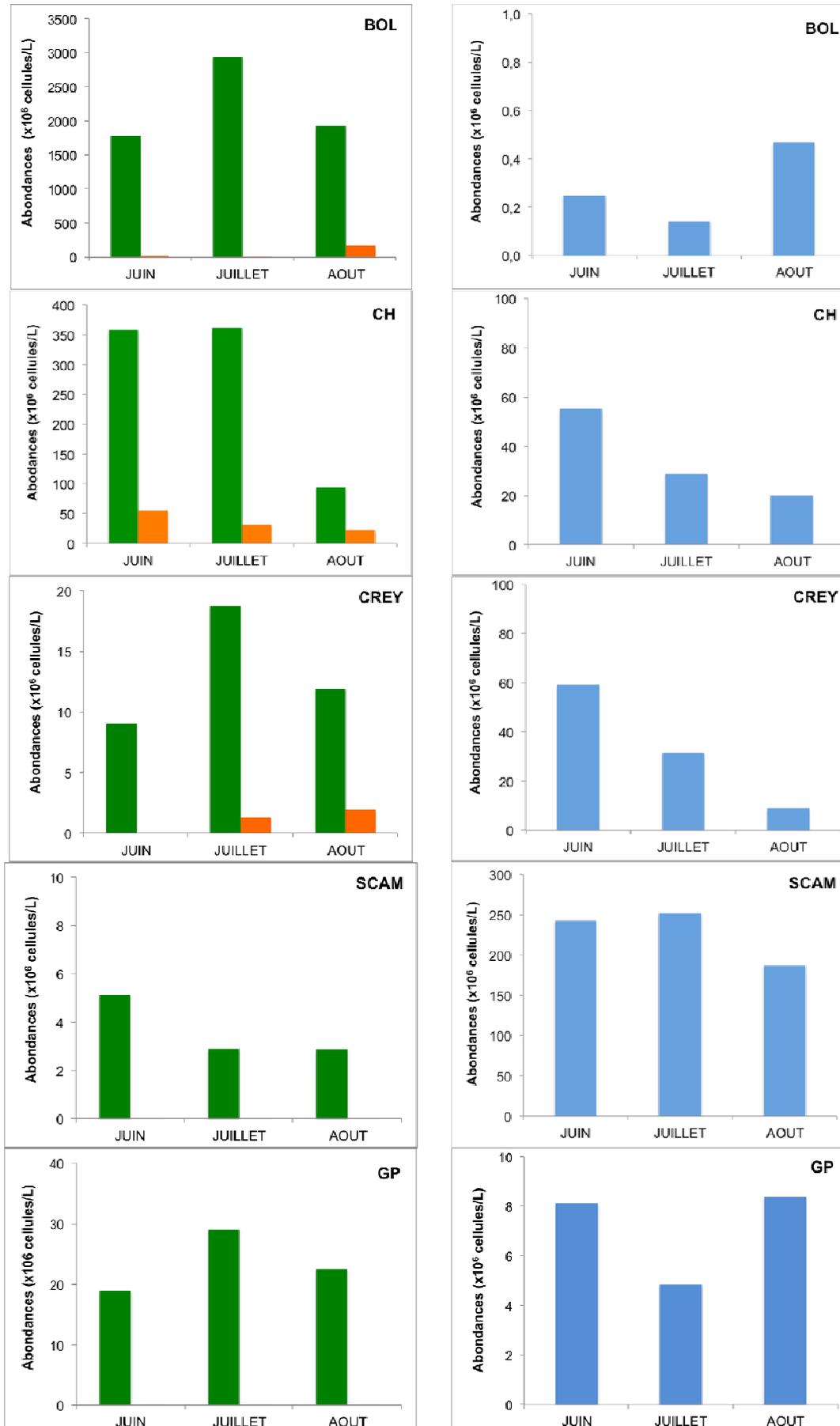


Figure 4. Abondances des picocucyotes autotrophes (vert), des picocyanobactéries (orange) et du nanophytoplancton (bleu) aux 5 stations.

c. Pigments accessoires

Lagune de Bolmon

La lagune de Bolmon est caractérisée par une forte biomasse phytoplanctonique totale ($134 \pm 108,6 \mu\text{g Chla/L}$) sur les trois mois de l'été 2013. Cette forte biomasse est associée à une composition pigmentaire phytoplanctonique dominée par une **forte composante de la lignée verte** (lutéine, chlorophylle *b*, néoxanthine, violaxanthine, prasinoxanthine et zéaxanthine), représentant plus de 90% des pigments quantifiés (Figure 6). Les pigments accessoires dominants sont la lutéine (32%), la zéaxanthine (27%), la chlorophylle *b* (14%), la violaxanthine (11%) et la néoxanthine (7,8%). En excluant la zéaxanthine, commune aux algues vertes et aux cyanobactéries, les pigments accessoires spécifiques de la lignée verte représentent en moyenne 65,5% de la composition pigmentaire phytoplanctonique. **Ces résultats suggèrent la présence et la dominance de microalgues appartenant aux groupes des Chlorophytes, Prasinophytes et/ou Euglénophytes.** La présence de cyanobactéries ne peut être exclue compte tenu de la présence significative de la zéaxanthine (26%).

Les deux pigments majoritaires quantifiés sont la lutéine ($11,9\text{-}23,1 \mu\text{g Lut/L}$) et la zéaxanthine ($11,4\text{-}18,5 \mu\text{g Zea/L}$). Ces pigments sont associés respectivement aux Chlorophytes et aux Chlorophytes et/ou aux cyanobactéries.

A l'échelle de l'été, les concentrations cumulées des pigments accessoires (Figure 7) sont fortes : $52,1 \mu\text{g/L}$ (juin), $35,7 \mu\text{g/L}$ (juillet) et $72,3 \mu\text{g/L}$ (août). La dynamique des concentrations pigmentaires accessoires est similaire à celle de la chlorophylle *a* (Figure 4), avec une diminution en juillet, puis une forte augmentation en août. La composition pigmentaire ne varie pas au cours de l'été malgré les fortes variations de la biomasse phytoplanctonique totale.

Complexe Scamandre-Crey-Charnier

Les trois lagunes du complexe sont caractérisées par des biomasses phytoplanctoniques totales du même ordre de grandeur ($60\text{-}70 \mu\text{g Chla/L}$ en moyenne). Elles présentent également de fortes similitudes quant à la composition pigmentaire des communautés phytoplanctoniques (Figure 6), avec une **dominance de pigments accessoires appartenant à la lignée brune** (Fucoxanthine, Diadinoxanthine et Chlorophylle *c2*), représentant 56%, 45% et 49%, respectivement à CH, CREY et SCAM. **Ces pigments suggèrent la présence de communautés telles que les diatomées.** La composition pigmentaire des communautés phytoplanctoniques des trois lagunes se caractérise également par la présence significative de zéaxanthine (35%, 41% et 41%, respectivement à CH, CREY et SCAM). A la différence de la lagune de Bolmon, la zéaxanthine n'est pas associée à de fortes concentrations des autres pigments accessoires de la lignée verte (lutéine, chlorophylle *b*, néoxanthine, violaxanthine et prasinoxanthine). Ces derniers représentent moins de 10% de la composition pigmentaire. Ces résultats suggèrent **la présence et une contribution des cyanobactéries** à la biomasse phytoplanctonique.

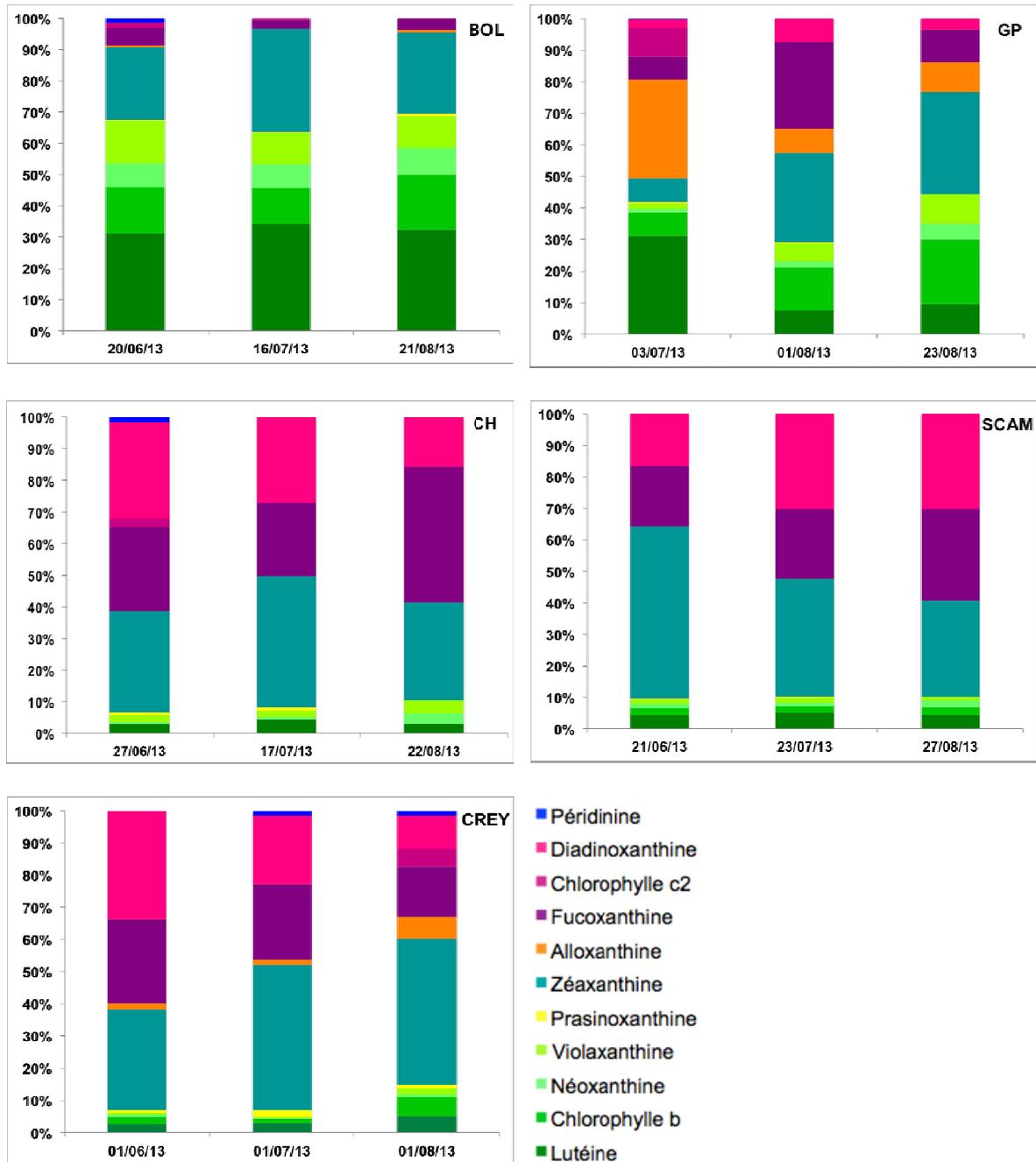


Figure 6. Concentrations pigmentaires phytoplanctoniques accessoires dans les cinq lagunes en juin, juillet et août 2013

A l'échelle des trois lagunes, les concentrations de pigments accessoires cumulées (Figure 7) les plus fortes sont mesurées à Scamandre (17 $\mu\text{g/L}$), où elles apparaissent stables au cours de l'été. A Charnier et Crey, les concentrations pigmentaires tendent à diminuer au cours de l'été, respectivement de 25,2 à 4,0 $\mu\text{g/L}$ et de 13,5 à 5,0 $\mu\text{g/L}$. **La lagune de Crey se différencie des deux autres lagunes par la présence d'alloxanthine (0,2 à 0,3 $\mu\text{g/L}$), pigment marqueur des Cryptophycées (petits flagellés).**

La zéaxanthine est présente à forte concentration dans les trois lagunes (CH : 1,2-8,1 $\mu\text{g/L}$, CREY : 2,3-5,1 $\mu\text{g/L}$ et SCAM : 4,9-10 $\mu\text{g/L}$) contrairement aux autres pigments spécifiques de la lignée verte. Ces concentrations de zéaxanthine pourraient être associées à la présence de cyanobactéries. Leur présence est confortée dans les trois lagunes par

l'identification par HPLC d'un autre pigment spécifique des cyanobactéries, l'échinénone (Roy *et al.*, 2011). Ce pigment, détecté uniquement dans le complexe Scamandre-Crey-Charnier, n'a pas été quantifié en l'absence de standard.

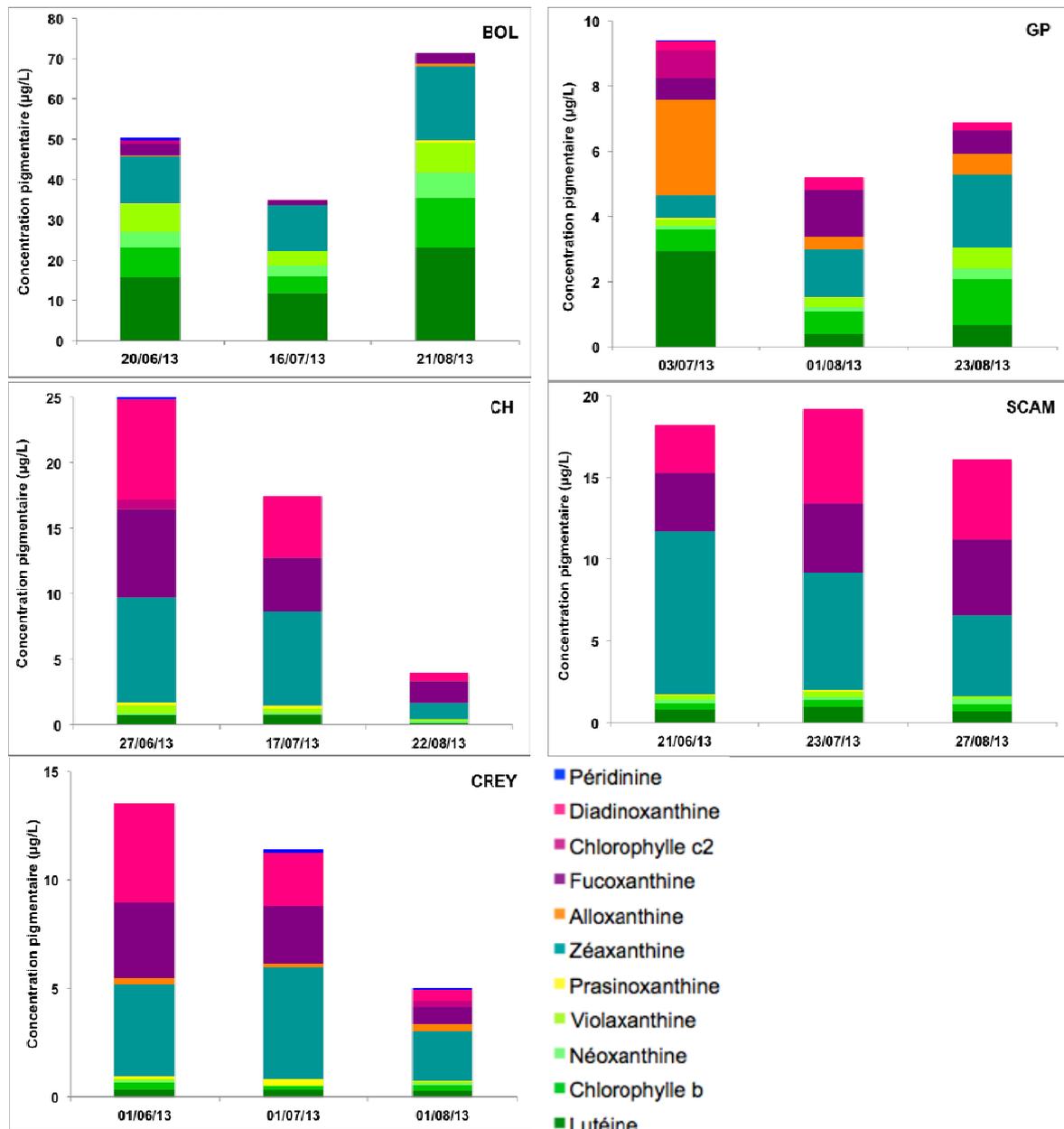


Figure 7. Concentrations pigmentaires phytoplanctoniques accessoires dans les cinq lagunes en juin, juillet et août 2013

Lagune de la Grande Palun

La lagune de la Grande Palun se caractérise par des biomasses phytoplanctoniques totales nettement plus faibles ($15,4 \pm 1,8 \mu\text{g Chl}a/L$) que dans les lagunes précédemment décrites. La composition pigmentaire des communautés phytoplanctoniques **est caractérisée par une diversité pigmentaire forte**, avec la présence des pigments accessoires observés à Bolmon et dans le complexe Scamandre-Crey-Charnier, mais par des concentrations pigmentaires plus faibles que dans les autres lagunes.

La plus forte diversité pigmentaire observée dans la lagune de la Grande Palun se traduit par une contribution relativement proche des différents pigments accessoires. Ainsi, les **pigments caractéristiques de la lignée brune** (fucoxanthine, diadinoxanthine et chlorophylle c2) **représentent en moyenne 25%** des pigments quantifiés, les **pigments caractéristiques de la lignée verte** (lutéine, chlorophylle *b*, néoxanthine, violaxanthine et prasinoxanthine) **représentent en moyenne 33%** (hors zéaxanthine) des pigments accessoires quantifiés et la **zéaxanthine représente 23% des pigments accessoires** quantifiés.

La lagune de la Grande Palun est caractérisée par la présence notable d'alloxanthine (0,4 à 2,9 µg Allo/L), représentant 30% (juin) à 10% (juin). Elle se différencie ainsi des autres lagunes par la **plus forte contribution de l'alloxanthine** (19,4% en moyenne), **marqueur des Cryptophytes** et par la plus faible contribution de la zéaxanthine (23%, contre 27% à Bolmon, 35% à Charnier et 41% à Crey et Charnier).

4. Discussion et conclusions

Les analyses effectuées sur les échantillons d'eau collectés au cours de l'été 2013 sur cinq des neuf lagunes oligo-mésohalines méditerranéennes françaises ont permis pour la première fois de caractériser simultanément l'abondance, la biomasse et la composition du phytoplancton de ces masses d'eau.

Les abondances de cellules phytoplanctoniques mesurées par cytométrie en flux mettent en évidence un gradient de concentrations, avec de faibles niveaux pour la lagune de la Grande Palun, des teneurs en nanophytoplancton importantes sur Crey et Scamandre, et des teneurs élevées à extrêmement élevées de picophytoplancton, respectivement sur Charnier et Bolmon (Tableau 4). La compétition pour les nutriments se fait donc à l'avantage des cellules de grande taille sur Scamandre et Crey (nanophytoplancton), alors que les cellules de petite taille (picophytoplancton) dominent sur Bolmon et Charnier. Cette différence de structure de taille peut être associée au mode de fonctionnement des apports nutritifs dans les lagunes (Bec *et al.*, 2011). Des apports nutritifs en flux continu (constants et diffus) favoriseraient les picoeucaryotes (de petite taille) alors que des apports ponctuels plus importants en concentration favoriseraient les organismes de plus grande taille.

Les données de biomasse phytoplanctonique acquises en parallèle à ces analyses (Sanchez et Grillas, 2014) indiquent un gradient croissant de concentration en chlorophylle *a*, de la Grande Palun à Bolmon, en passant par le complexe Scamandre-Crey-Charnier.

Les analyses des pigments accessoires (chlorophylliens et xanthophylles) mettent en évidence des profils de composition phytoplanctonique distincts en rapport avec les niveaux de biomasse phytoplanctonique totale observés dans les cinq lagunes. La lagune de la Grande Palun, caractérisée par une biomasse phytoplanctonique modérée, présente une diversité pigmentaire forte, avec une contribution similaire des différents groupes phytoplanctoniques identifiés. Les lagunes du complexe Scamandre-Crey-Charnier, caractérisées par des biomasses phytoplanctoniques fortes, présentent majoritairement des espèces de la lignée brune et des cyanobactéries. Enfin, la lagune de Bolmon se caractérise par une très forte biomasse phytoplanctonique et par la dominance des espèces

de la lignée verte (Chlorophytes et Prasinophytes) et la présence possible de cyanobactéries.

L'application des grilles actuelles de diagnostic DCE pour les métriques de biomasse et d'abondance du phytoplancton (Giraud et Derolez, 2014) conduisent à un classement mauvais pour Bolmon, Scamandre, Crey et Charnier et médiocre pour la Grande Palun (Tableau 4). Les teneurs en azote et phosphore dissous et totaux sont élevées et caractérisent également des états mauvais au regard des grilles de diagnostic de la colonne d'eau. Les grilles actuelles du phytoplancton et de la physico-chimie de l'eau ont été développées et consolidées sur un jeu de données de lagunes poly-euhalines (Baehr *et al.*, 2013). **Les seuils demandent à être consolidés pour l'ensemble des lagunes oligo-mésahalines** (Bolmon, Scamandre, Crey, Charnier, Grande Palun, Bagnas, Vendres, Campagnol et Murette), en prenant en compte les particularités hydromorphologiques et les pressions pesant sur ces écosystèmes (confinement, faible profondeur, fort stock sédimentaire, apports continus par des canaux,...).

Tableau 4. Synthèse des données acquises lors de l'été 2013 sur les 5 lagunes oligo-mésahalines concernant l'abondance, la biomasse, la composition du phytoplancton et l'état de la colonne d'eau vis-à-vis de l'eutrophisation (les couleurs indiquent l'état donné par les grilles de diagnostic DCE actuellement valides pour les lagunes poly-euhalines. Les seuils des grilles sont en cours de consolidation pour les lagunes oligo-mésahalines - Giraud et Derolez, 2014).

Lagune	Abondance cellulaire (x10 ⁶ cell/L)		Biomasse (µgChla/L)	Composition pigmentaire (groupes dominants)	Etat de la colonne d'eau vis-à-vis de l'eutrophisation (paramètres les plus déclassants)
	Pico-phytoplancton	Nano-phytoplancton			
Bolmon	1 777 à 2942	0,14 à 0,47	33,7 à 249,4	Lignée verte (Chlorophytes et Prasinophytes)	Etat mauvais (NH ₄ , PT)
Scamandre	2,9 à 5,1	187 à 252	34,9 à 76	Lignée brune (diatomées) et cyanobactéries	Etat mauvais (NT)
Crey	9 à 18,7	9 à 59,4	37,8 à 127,1	Lignée brune (diatomées), cyanobactéries, Cryptophycées (petits flagellés)	Etat mauvais (NT)
Charnier	93,7 à 361	20,2 à 55,3	55,1 à 76,7	Lignée brune (diatomées) et cyanobactéries	Etat mauvais (NT, PT)
Grande Palun	18,9 à 29	4,8 à 8,4	13,6 à 17,3	Grande diversité de groupes	Etat mauvais (NO ₃)

Très Bon
Bon
Moyen
Médiocre
Mauvais

Enfin, les données acquises sur la composition phytoplanctonique permettent de dégager des profils pigmentaires contrastés pour les cinq lagunes oligo-mésahalines étudiées. Ces résultats seront à intégrer dans la poursuite des travaux de mise au point de métriques de composition du phytoplancton (Dubroca, 2012 ; thèse en cours d'Amandine Leruste (Ecosym/UM2)).

5. Références bibliographiques

- Baehr A., Derolez V., Fiandrino A., Le Fur I., Malet N., Messiaen G., Munaron D., Oheix J., Ouisse V., Roque d'Orbcastel E., Bec B. (2013) Bilan méthodologique de l'outil de diagnostic de l'eutrophisation RSL. Quatorze années de résultats en Région Languedoc-Roussillon. RST/LER/LR 13-01. 279 p.
- Bec B., Collos Y., Souchu P., Vaquer A., Lautier, J., Fiandrino A., Benau L., Orsoni V., Laugier T. (2011) Distribution of picophytoplankton and nanophytoplankton along an anthropogenic eutrophication gradient in French Mediterranean coastal lagoons. *Aquatic Microbial Ecology* 63: 29-45.
- Dubroca L. (2011) Définition de nouveaux indices de composition phytoplanktonique pour les masses d'eau de transition méditerranéennes dans le cadre de la DCE. *Partenariat Onema/Ifremer*. 105 p.
- Giraud A., Derolez V. (2014) Evaluation de l'état des lagunes des bassins Rhône Méditerranée et Corse pour les plans de gestion 2016-2021. *Note technique*. 15 p.
- Grillas P., David T. (2010) Etude pilote pour une évaluation de l'état des macrophytes des lagunes méditerranéennes oligo et mésohalines. *Partenariat Onema/Ifremer*. 62 p.
- Grillas P., Derolez V. (2012) Propositions d'indicateurs pour l'évaluation de l'élément de qualité macrophytes pour les lagunes oligohalines dans le cadre de la DCE. *Partenariat Onema/Ifremer*. 22 p.
- Keeling P.J., Burger G., Durnford D.G., Lang B.F., Lee R.W., Pearlman R.E., Roger A.J., Gray M. W. (2005) The tree of eukaryotes. *TRENDS in Ecology and Evolution* 20 : 670-676
- Ministère de l'Écologie, du Développement Durable et de l'Énergie (2013) Guide relatif aux règles d'évaluation de l'état des eaux littorales (eaux côtières et eaux de transition) en vue de la mise à jour des états des lieux. 128 p. http://www.developpement-durable.gouv.fr/IMG/pdf/guide_REEE_EL_-vf.pdf.
- Derolez V., Belin C., Soudant D. (2013) Façade Méditerranée – Masses d'eau de transition de type lagunes. *Indicateur Phytoplankton*. pp. 96-101.
- Provost C., Gevrey M., Argillier C. (2012) La macrofaune benthique indicatrice de l'état des lagunes oligohalines méditerranéennes ? *Partenariat Onema/Irstea*. 37 p.
- Roy S., Llewellyn C., Egeland E.S., Johnsen G. (2011) *Phytoplankton Pigments: Characterization, Chemotaxonomy and Applications in Oceanography*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 845 pp.
- Sanchez A.E. & P. Grillas (2014) Mise au point d'un indicateur DCE compatible pour les lagunes oligo et méso-halines. *AERM&C*. 79 p.
- Wright S. W., Jeffrey S. W., Mantoura R. F. C., Llewellyn C. A., Bjørnland T., Repeta D., Welschmeyer N. (1991) Improved HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 77:183–196.

ANNEXE

Tableau 5. Abondances ($\times 10^6$ cellules/L) du pico- et du nano-phytoplancton dans les lagunes oligo- et mésohalines au cours de l'été 2013. **CYAN** : picocyanobactéries riches en phycoérythrine ; **PEUC** : picoeucaryotes ; **PICO TOT** : CYAN + PEUC ; **NANO** : nanophytoplancton.

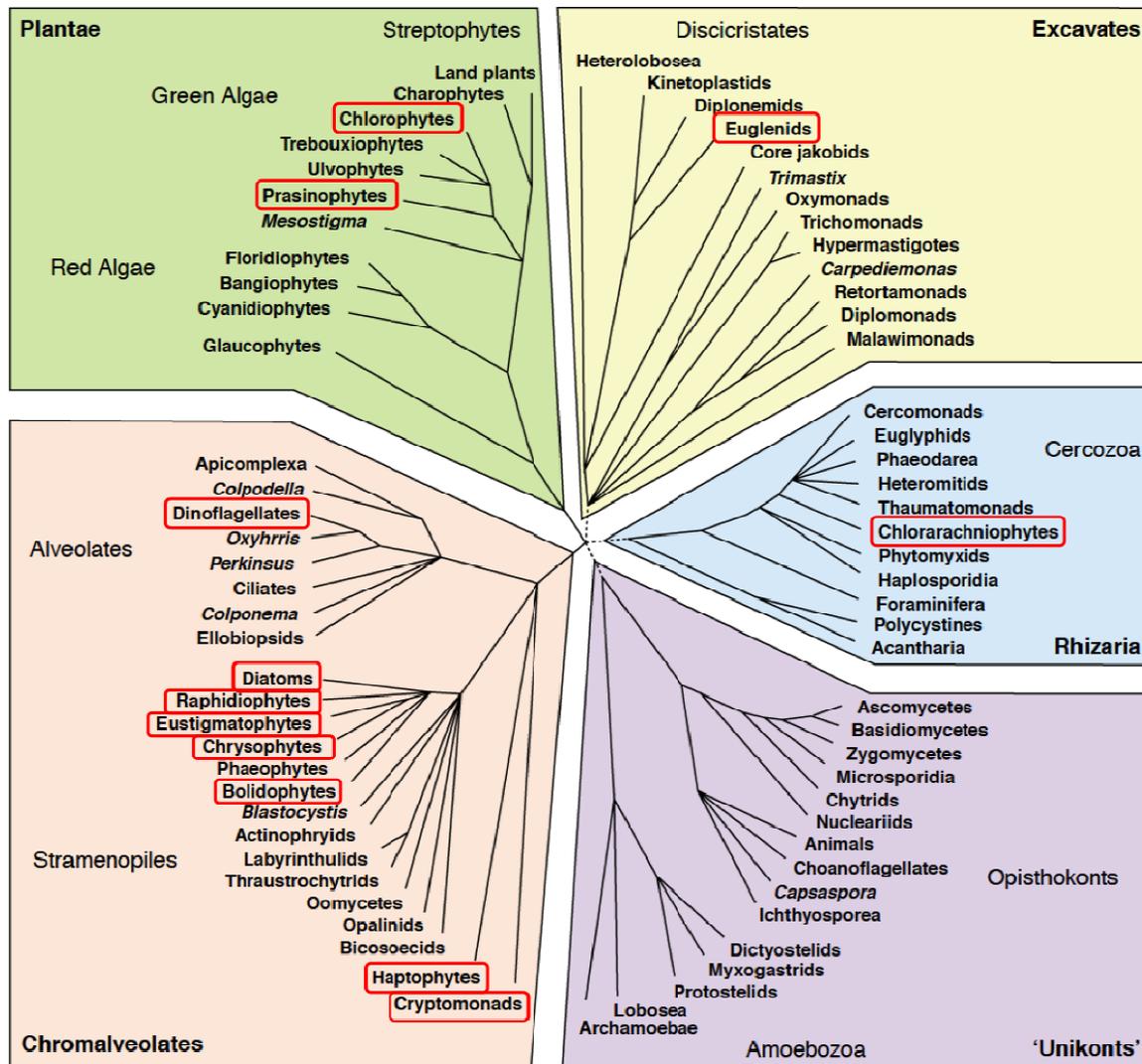
Lagune	Mois	Picophytoplancton ($\times 10^6$ cellules/L)			Nanophytoplancton ($\times 10^6$ cellules/L)
		CYAN	PEUC	PICO TOT	NANO
Bolmon	juin	22,0	1777,5	1799,6	0,25
	juillet	7,8	2942,7	2950,5	0,14
	août	173,7	1918,8	2092,5	0,47
Charnier	juin	55,3	358,9	414,2	55,3
	juillet	31,4	361,2	392,6	29,0
	août	22,2	93,7	115,9	20,2
Crey	juin	0,0	9,0	9,0	59,4
	juillet	1,3	18,7	20,1	31,5
	août	2,0	11,9	13,9	9,0
Scamandre	juin	0,0	5,1	5,1	242,7
	juillet	0,0	2,9	2,9	251,7
	août	0,0	2,9	2,9	187,0
Grande Palun	juin	0,0	18,9	18,9	8,1
	juillet	0,0	29,0	29,0	4,8
	août	0,0	22,5	22,5	8,4

Tableau 6. Concentrations pigmentaires ($\mu\text{g/L}$) quantifiées dans les lagunes oligo- et mésahalines au cours de l'été 2013. Les abréviations sont explicitées dans le Tableau 3. Les valeurs maximales observées pour chaque pigment sont indiquées en gras.

Lagune	Mois	Allo	Lut	Chlb	Néo	Viol	Pras	Zea	Chlc2	Diadino	Fuco	Peri
Bolmon	juin	0,24	15,72	7,38	3,91	6,85	0,06	11,79	0,97	1,76	2,81	0,63
	juillet		11,88	4,05	2,64	3,56	0,11	11,44	0,18	0,51	1,01	
	août	0,56	23,08	12,54	6,16	7,28	0,61	18,48		0,94	2,66	
Charnier	juin		0,73		0,15	0,54	0,24	8,05	0,72	7,65	6,74	0,39
	juillet		0,75		0,16	0,32	0,20	7,24		4,73	4,05	
	août		0,12		0,13	0,16		1,22		0,62	1,70	
Crey	juin	0,28	0,34	0,33	0,07	0,09	0,13	4,21		4,58	3,52	
	juillet	0,18	0,32	0,15	0,03	0,06	0,26	5,13		2,43	2,65	0,19
	août	0,34	0,26	0,29	0,04	0,09	0,05	2,29	0,28	0,50	0,78	0,09
Scamandre	juin		0,78	0,42	0,21	0,26	0,07	9,96		2,99	3,56	
	juillet		0,96	0,41	0,22	0,28	0,10	7,19		5,82	4,22	
	août		0,70	0,41	0,30	0,19		4,95		4,88	4,65	
Grande Palun	juin	2,93	0,58	0,68	0,11	0,17	0,07	0,69	0,85	0,27	0,68	0,02
	juillet	0,39	0,48	0,70	0,11	0,30	0,02	1,47		0,40	1,43	
	août	0,65	0,86	1,42	0,34	0,64		2,22		0,24	0,71	

Tableau 7. Pourcentage des pigments accessoires ($\mu\text{g/L}$) quantifiées dans les lagunes oligo- et mésohalines au cours de l'été 2013. Les abréviations sont explicitées dans le Tableau 3. Les valeurs maximales observées pour chaque pigment sont indiquées en gras.

Lagune	Allo	Lut	Chlb	Néo	Viol	Pras	Zea	Chlc2	Diadino	Fuco	Peri
Bolmon	0,4	31,9	14,3	7,8	11,1	0,4	26,8	4,0	0,8	2,0	0,4
Charnier	0,0	3,4	0,0	1,6	2,7	0,7	34,8	31,0	0,9	24,4	0,5
Crey	3,4	3,5	3,2	0,5	1,0	1,4	40,6	21,6	1,9	21,7	1,1
GrandePalun	19,4	9,8	14,3	2,8	5,1	0,4	23,0	15,6	4,0	4,9	0,1
Scamandre	0,0	4,6	2,3	1,4	1,4	0,3	40,9	23,5	0,0	25,7	0,0



TRENDS in Ecology & Evolution

Figure 8. Positionnement des grandes classes de microalgues dans l'arbre phylogénétique des eucaryotes d'après Keeling *et al.*, 2005.

La **lignée verte** désigne l'ensemble des végétaux (plantes et algues) possédant un plaste vert issu d'une endosymbiose primaire (tous les organismes du règne Plantae) ou secondaire avec une algue verte (les Chlorarachniophytes et les Euglénophytes).

La **lignée rouge** ou **lignée brune** ou **lignée brun-rouge** est l'ensemble des algues possédant un plaste rouge ou brun issu d'une endosymbiose primaire (Algues rouges ou Rhodophytes) ou secondaire avec une algue rouge (toutes les algues à plaste brun : Dinoflagellés, Diatomées, Raphidiophytes, Eustigmatophytes, Chrysophytes, Bolidophytes, Haptophytes et Cryptophytes).