



# Mise en place d'analyses pigmentaires dans le cadre du REPHY Observation

Contribution à la finalisation d'un indice composition pour la DCE

Note technique. Version définitive, décembre 2016

# Mise en place d'analyses pigmentaires dans le cadre du REPHY Observation.

Contribution à la finalisation d'un indice composition pour la DCE.

Version définitive, décembre 2016.

---

## Sommaire

Contexte .....	2
Financements .....	3
Pour l'acquisition des données .....	3
Manche Atlantique.....	3
Méditerranée .....	4
Pour le traitement des données et le calcul d'un indice composition.....	4
Echantillonnage et paramètres mesurés .....	5
Introduction.....	5
Manche - Atlantique.....	5
Artois Picardie .....	7
Normandie.....	9
Bretagne .....	11
Récapitulatif pour Manche Atlantique.....	14
Méditerranée .....	18
Information sur les prélèvements et sur les analyses pigmentaires.....	20
Bancarisation des résultats .....	20
Interprétation des résultats de l'étude .....	20
Bibliographie .....	21
Annexe 1. Protocole d'échantillonnage en vue de l'analyse des pigments phytoplanctoniques par HPLC, actuellement utilisé pour les échantillons de Manche-Atlantique.....	23
Annexe 2. Référentiel pour la bancarisation des résultats des analyses pigmentaires.....	24

## Contexte

La mise en place de la directive cadre sur l'eau (DCE) en France a été progressive depuis le début des années 2000, et toutes les façades ont désormais une surveillance permettant de qualifier l'état écologique des masses d'eau côtières. Pour l'élément de qualité phytoplancton, l'annexe de la directive prévoit qu'il soit évalué au travers des évaluations respectives de la biomasse, de l'abondance et de la composition taxonomique. Un indicateur a été développé en France avec actuellement deux indices, basés respectivement sur : (i) la mesure de la chlorophylle-a qui donne une approche de la biomasse phytoplanctonique, (ii) les dénombrements au microscope optique qui fournissent une bonne estimation de l'abondance du micro-phytoplancton (correspondant aux espèces > 20 µm, et à celles plus petites mais en colonies) (*cf. Belin et al., 2014*). A ce jour, l'indice biomasse a été partiellement intercalibré au niveau européen, avec une méthode commune (percentile 90 des mesures de chlorophylle-a), mais des grilles qui restent à caler, aussi bien en Manche-Atlantique qu'en Méditerranée. L'indice abondance n'a pas donné lieu à une intercalibration européenne.

L'Onema ayant financé un certain nombre d'études concernant le développement de nouveaux indices pour la DCE en métropole et dans les DOM, a souhaité il y a quelques années que des études explorent la faisabilité de décrire un indice composition pour le phytoplancton.

Un projet conventionné par l'ONEMA a démarré en 2013 avec une étude sur trois ans (2013-2015), consacrée au développement d'un indice composition pour le phytoplancton, sur les bases suivantes : élargir la fenêtre d'investigation actuellement limitée à la chlorophylle-a et au micro-phytoplancton, et bénéficier des avancées de nouvelles technologies. Les études menées ces dernières années avaient en effet suggéré que la fraction du phytoplancton non identifiable au microscope optique et correspondant au nano- et au pico-phytoplancton (respectivement < 20 µm et < 2 µm) jouait un rôle écologique majeur, et qu'il était impossible de comprendre le fonctionnement de l'écosystème sans elle.

Par ailleurs, l'évolution récente des techniques analytiques ouvrait de nouvelles perspectives pour une évaluation plus fine de l'indicateur phytoplancton. Parmi les possibilités offertes par les nouvelles technologies : la cytométrie en flux, l'imagerie numérique et satellite, la génétique, et l'approche pigmentaire par les mesures en HPLC (chromatographie liquide haute performance). Trois de ces techniques ont été étudiées dans le cadre de l'étude Onema 2013-2015 : la cytométrie en flux (*Artigas et al., 2014 ; Artigas et al., 2015 ; Artigas et al., 2016*), l'analyse pigmentaire (*Goffart, 2013 ; Goffart, 2014 ; Lampert, 2015 ; Hernandez-Farinas et al., 2016*), la génétique et l'approche pigmentaire (*Delmas & Siano, 2014 ; Siano et al., 2015*).

Certaines méthodes testées pour ce nouvel indice composition semblent prometteuses de par leur facilité de mise en œuvre et leur capacité d'intégration de l'information. L'approche pigmentaire se situe dans cette catégorie : elle permet en effet, à partir d'échantillons d'eau de mer filtrés, d'accéder à la composition phytoplanctonique de toutes les classes de taille, incluant les cyanobactéries. Cette méthode a donc au moins deux avantages : (i) elle inclut une mesure plus fine (en termes de limite de détection) de la chlorophylle-a, faite jusqu'ici par d'autres méthodes (spectrophotométrie ou fluorimétrie, qui n'auront donc plus besoin d'être utilisées, quand les analyses pigmentaires pourront être faites en routine), (ii) elle complète les dénombrements

phytoplanctoniques (qui restent indispensables pour avoir une compréhension fine des populations du micro-phytoplancton au niveau taxinomique), avec la mesure d'un certain nombre de pigments.

Une étude préliminaire sur les eaux de la Manche et de l'Atlantique a permis de valider la pertinence d'un indice composition basé sur les analyses pigmentaires (Lampert, 2015). La phase suivante est de le tester dans des conditions réelles sur le terrain et d'obtenir les financements qui permettent de soutenir une ou des études sur ce sujet. L'objectif principal de ces études est donc d'acquérir les données qui permettront de construire un indice composition qui pourrait compenser les faiblesses éventuelles des deux autres indices biomasse et abondance, et ainsi d'améliorer l'indicateur phytoplancton tout en affinant les évaluations des masses d'eau pour cet indicateur.

Plus spécifiquement en Méditerranée, une étude menée en 2012 par la STARESO, et conventionnée par l'ONEMA, avait déjà conduit à la description d'un indice composition, basé sur les pigments et adapté aux eaux méditerranéennes et en particulier corses (Goffart, 2013). L'étude a été prolongée en 2013 dans le cadre plus global de la convention ONEMA 2013-2015 : le dernier rapport faisant état de l'avancement d'un indice composition pour les eaux côtières de Corse date de juillet 2014 (Goffart, 2014). Depuis cette date, les échanges ont continué entre la STARESO et le LER PAC, même si en 2014-2015 l'essai d'extension des analyses de pigments sur des points du continent n'a pas été concluant.

En décembre 2015, lors du GT DCE national à Paris, les interventions conjointes de Luis Lampert d'une part, et d'Anne Goffart d'autre part, ont conclu à la nécessité d'un rapprochement entre les actions conduites en Manche-Atlantique et en Méditerranée pour les pigments, en particulier sur les traitements des données et le calcul de l'indice composition : ceci va se concrétiser avec des conventions ONEMA dont les détails sont précisés dans le chapitre ci-dessous.

Les études décrites ci-dessous ne concernent qu'une partie des régions littorales de France, et sont restreintes aux eaux côtières, à l'exclusion des eaux de transition (dont les lagunes méditerranéennes). Les résultats de ces études montreront s'il est pertinent d'étendre la mesure des pigments à d'autres régions.

## Financements

### Pour l'acquisition des données

#### Manche Atlantique

Un projet de fiche a été rédigé début 2015 par Luis Lampert pour la convention ONEMA 2016-2018, avec pour objectif d'évaluer l'utilisation d'un indice de composition dans le contexte de la DCE en Manche-Atlantique, avec une stratégie d'échantillonnage adéquate. Ce projet concernait deux zones atelier, une en Manche (Nord Pas de Calais, Picardie, Haute et Basse-Normandie) et une en Atlantique (Finistère-Morbihan), avec des prélèvements et analyses à une fréquence d'une fois par quinzaine sur deux années (2016, 2017), sur quatre points d'échantillonnage au minimum dans chacune des régions. Une année d'étude et d'analyse des données (2018) était également prévue dans le projet. Lors de la commission Onema de 2015, la partie qui concerne les années 2016-2017

(prélèvements et analyses) n'a pas été retenue, considérant que l'ONEMA n'a pas à financer ce qui relève d'une surveillance opérationnelle. Par contre, pour ce qui concerne la partie 2018 c'est-à-dire le traitement des données et l'étude, cette phase a été mise en priorité 0 par l'ONEMA (voir plus bas).

Pour ce qui concerne les aspects prélèvements et analyses, trois initiatives ont été prises en parallèle :

Début 2016, la coordination REPHY (VIGIES) et Luis Lampert (DYNECO-PELAGOS) ont décidé conjointement de faire une demande de financement à l'AELB (Agence de l'Eau Loire Bretagne). Cette demande a abouti à une convention signée le 23 mai 2016 (réf. Ifremer : 16/5210590/F). La subvention de l'AELB est de 68 858.40 € pour deux ans, soit 60% des coûts complets s'élevant à 114 764 €.

En février, Florence Menet-Nedelec (LER N) propose à l'AESN (Agence de l'Eau Seine-Normandie) le projet PIANO (Dynamique du phytoplancton via l'approche des Pigments Appliquée au littoral NORmand). La convention a été signée pour 36 mois le 20 mai 2016 (réf. 1062714(1)2016). La subvention de l'AESN est de 157 928 € pour trois ans, soit 80% des coûts complets s'élevant à 197 409 €.

Début 2016, Alain Lefebvre (LER BL) propose d'introduire dans la convention générale avec l'AEAP (Agence de l'Eau Artois Picardie) un échantillonnage des pigments sur deux ans.

## Méditerranée

L'ONEMA a souhaité conventionner directement avec la STARESO pour une étude sur 2017-2019, comprenant quatre volets : (i) la validation de l'indice composition IC Medit, basé sur les pigments, dans des eaux côtières méditerranéennes soumises à de fortes pressions anthropiques (donc sur le continent), (ii) une application croisée de méthodes analytiques (signature pigmentaire du phytoplancton) et innovantes (imagerie satellitaire) pour déterminer la composition phytoplanctonique à grande échelle, (iii) l'application des indices composition Manche Atlantique et Méditerranée sur des jeux de données pigmentaires croisés et comparaison des résultats, en collaboration avec Luis Lampert, (iv) la contribution à l'optimisation d'un indice composition phytoplanctonique dans les lagunes méditerranéennes, en collaboration avec Béatrice Bec (Univ. Montpellier).

## Pour le traitement des données et le calcul d'un indice composition

Outre la convention passée directement entre l'ONEMA et la STARESO comprenant une partie interprétation des données (voir ci-dessus), deux fiches sont présentées par Ifremer pour un conventionnement ONEMA (responsable : Luis Lampert) et sont actuellement acceptées en priorité 0 pour un financement en 2018 :

- une fiche « Interprétation des données issues des analyses HPLC réalisées dans les eaux de la Manche et de l'Atlantique », pour le travail spécifique qui sera réalisé par Luis Lampert sur ces deux façades

- une fiche « Etude comparative des indices de composition méditerranéens et Manche-Atlantique », qui formalise le travail commun entre Luis Lampert et Anne Goffart sur la construction de l'indice composition

## Echantillonnage et paramètres mesurés

### Introduction

En 2016, la réorganisation-optimisation du REPHY entamée en 2014, définit désormais deux niveaux pour le phytoplancton et les paramètres hydrologiques associés : (i) le REPHY Observation dont l'objectif principal est de répondre à des questions scientifiques, (ii) le REPHY Surveillance dont l'objectif est de répondre aux attentes des politiques publiques, en particulier la DCE et la DCSMM, en complément du REPHY Observation. Il a donc semblé judicieux de profiter de cette nouvelle structuration du REPHY qui a permis, entre autres, de bien recentrer sur les points d'échantillonnage d'intérêt, pour avancer sur la définition et la validation d'un indice composition.

### Manche - Atlantique

Les points retenus pour les trois études, en Artois-Picardie, en Normandie, et en Bretagne, appartiennent majoritairement au REPHY Observation, afin de profiter de l'effort d'échantillonnage porté sur ces points : une fois par quinzaine pour tous les paramètres, incluant le phytoplancton, la chlorophylle, les mesures hydrologiques (température, salinité, turbidité, oxygène dissous) et les nutriments. A noter que tous les points retenus en Artois Picardie appartiennent également au SRN, et ceux de Normandie au RHLN. Par ailleurs, trois points supplémentaires sont mobilisés en Bretagne de façon provisoire, afin de disposer d'une radiale permettant d'ajuster les seuils de l'indice en fonction des pressions. La figure 1 présente l'ensemble des points retenus pour l'ensemble des trois régions. Tous les détails des échantillonnages sont décrits plus bas pour chacune des trois régions concernées.

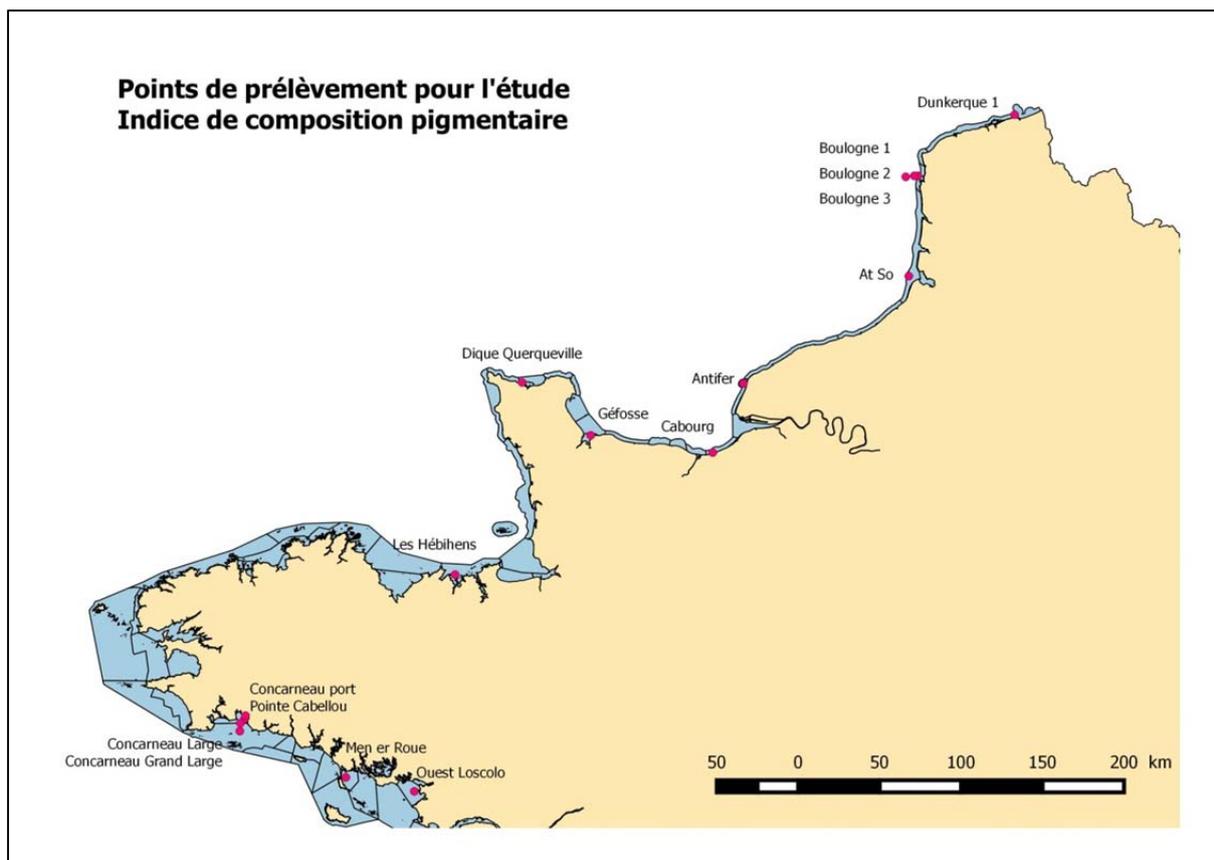


Figure 1. Points retenus pour l'échantillonnage des pigments sur la façade Manche-Atlantique

## Artois Picardie

Cinq points sont retenus en Artois-Picardie (voir **figure 2**).

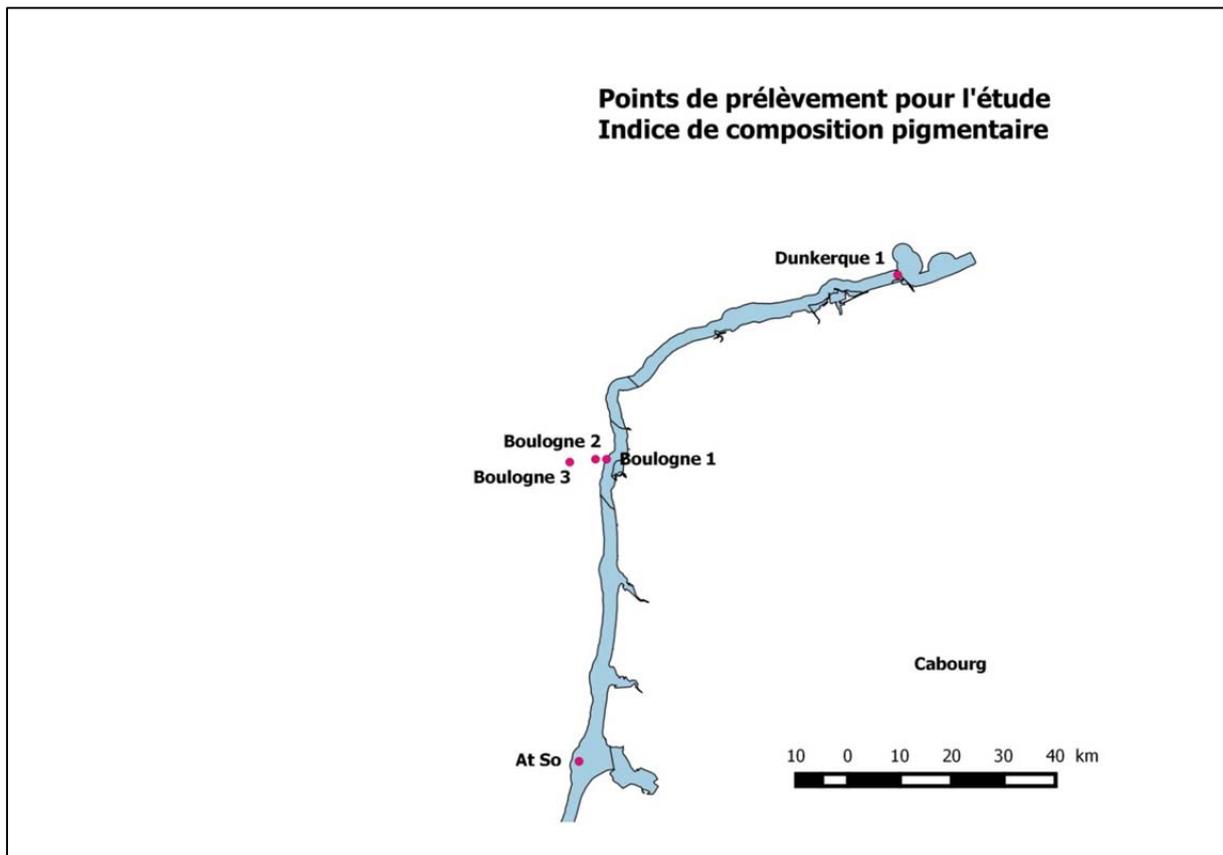
Trois points appartiennent au REPHY Observation et au SRN :

- 001-P-015 Point 1 Dunkerque
- 002-P-007 Point 1 Boulogne
- 006-P-001 At so

Les deux autres appartiennent strictement au SRN et seront utilisés avec le point Point 1 Boulogne pour ajuster les seuils de l'indice en fonction des pressions, elles-mêmes mesurées via les concentrations en nutriments :

- 002-P-029 Point 2 Boulogne
- 002-P-030 Point 3 Boulogne

Tous ces points relèvent du LER BL.



**Figure 2. Points retenus pour l'échantillonnage des pigments en région Artois Picardie**

### *Description des points (d'après Alain Lefebvre)*

#### **001-P-015 Point 1 Dunkerque**

Ce point fait partie d'un des trois écosystèmes caractéristiques du littoral d'Artois Picardie (zone côtière de faible profondeur avec gradient côte-large prononcé), avec un intérêt particulier du fait de sa proximité avec la Belgique (aspects transfrontaliers des transports de particules vivantes ou inertes). C'est également une zone de transition entre la Manche et la Mer du Nord. Par ailleurs, elle est proche d'une zone fortement industrialisée (impact anthropique fort). Les séries de données acquises sur ce lieu sont associées à des travaux conjoints entre Ifremer et le CNRS Wimereux depuis longtemps (cf. par exemple le projet InterReg DYMAPHY), et de nombreuses mesures sont régulièrement réalisées en supplément sur ces points par le laboratoire LOG (ULCO-CNRS) de Wimereux dans le cadre de RESOMAR et de SOMLIT, par exemple des mesures de cytométrie en flux.

#### **002-P-007 Point 1 Boulogne + 002-P-029 Point 2 Boulogne + 002-P-030 Point 3 Boulogne**

Ces trois points forment une radiale côte-large dans le deuxième écosystème caractéristique du littoral d'Artois Picardie, qui est une zone de balancement de la structure frontale (le Fleuve Côtier), déterminante pour la structuration des masses d'eaux et par conséquent pour les échanges entre la côte et le large. Les genres *Phaeocystis globosa* (nuisible) et *Pseudo-nitzschia* (toxique) sont régulièrement présents dans la zone. Cette radiale est complémentaire de celle du RESOMAR / SOMLIT, qui est plus au sud et totalement différente puisqu'elle vise à s'affranchir de toutes les influences anthropiques. La radiale de Boulogne est également particulière du fait qu'elle a été complétée à la côte par une station MAREL Carnot et est également une sorte de plateforme d'essais pour d'autres méthodes ou systèmes instrumentés (HPLC, cytométrie, fluorimétrie spectrale).

#### **006-P-001 At so**

Ce point est situé dans le troisième écosystème caractéristique du littoral d'Artois Picardie : un système estuarien (le 2ème plus important, après la Seine, pour la Manche orientale). Ce système est le fer de lance du nouveau Parc Marin des estuaires picards.

## Normandie

Quatre points sont retenus en Normandie (voir **figure 3**).

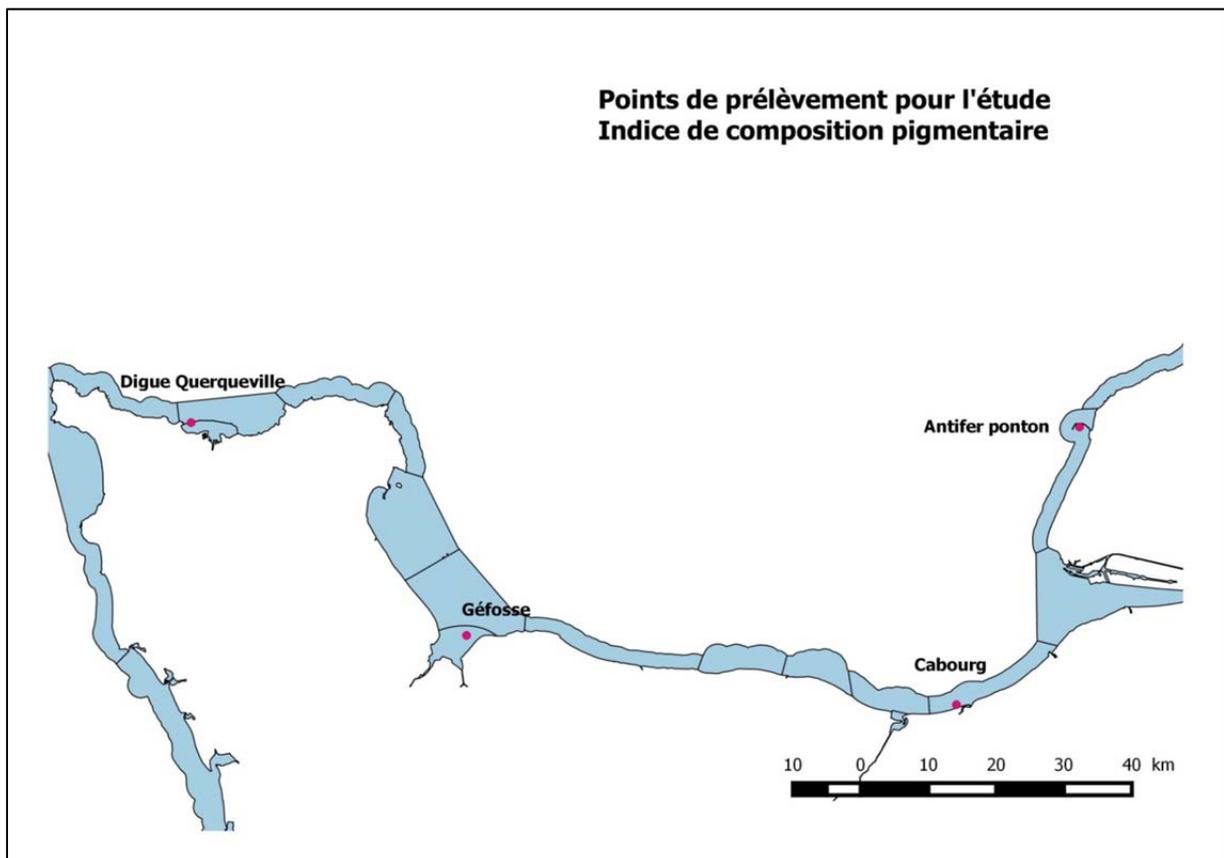
Trois points appartiennent au REPHY Observation et au RHLN :

- 010-P-001 Antifer ponton pétrolier
- 010-P-109 Cabourg
- 014-P-023 Géfosse

Le dernier appartient au REPHY Surveillance et au RHLN :

- 016-P-025 Digue Querqueville

Tous ces points relèvent du LER N.



**Figure 3. Points retenus pour l'échantillonnage des pigments en région Normandie**

Les stations ont été sélectionnées afin de présenter des caractéristiques hydrodynamiques, des pressions, et des populations micro-phytoplanctoniques contrastées (Menet-Nédélec et al., 2015).

### *Description des points (d'après Florence Menet-Nédélec)*

#### **010-P-001 Antifer ponton pétrolier**

Ce point est indirectement sous l'influence du panache de la Seine lorsque celui-ci est sous l'influence de vents provenant du Sud-Ouest, et présente un cycle des nutriments perturbé par des apports terrigènes. La biomasse y est modérée, et le milieu est largement dominé par les diatomées, dont certaines font partie de la liste des espèces nuisibles à l'environnement. Le genre toxique *Dinophysis* est régulièrement présent dans ces eaux.

#### **010-P-109 Cabourg**

Ce point est directement soumis à l'influence des apports terrigènes de la Dives, et se trouve également à proximité de l'estuaire de la Touques, et surtout aussi directement sous l'influence de la Seine. Pour cette raison, la salinité peut varier de manière importante, ces dessalures rechargeant le milieu en nutriments. Le cycle des nutriments y apparaît donc perturbé. Malgré une biomasse totale modérée, des blooms phytoplanctoniques d'abondance supérieure à 100 000 cellules par litre y sont très régulièrement observés et sont dominés par les diatomées. Parmi les espèces rencontrées, des espèces toxiques du genre *Pseudo-nitzschia* sont périodiquement recensées.

#### **014-P-023 Géfosse**

Ce point est situé dans l'estuaire concentrant les apports de la Vire, de l'Aure, de la Taute et de la Douve via les chenaux de Carentan et d'Isigny qui drainent un bassin versant d'environ 3 500 km<sup>2</sup>. Les stocks hivernaux en nutriments sont très faibles en comparaison d'autres masses d'eau estuariennes, même si de très nets excédents en azote ont pu être observés en mars et des apports terrigènes rechargent le milieu régulièrement. Le cycle des nutriments y apparaît donc perturbé. Du fait de la présence d'une importante zone conchylicole consommant le phytoplancton, la biomasse chlorophyllienne y reste faible. Malgré cela, des blooms phytoplanctoniques d'abondance supérieure à 100 000 cellules par litre, y sont régulièrement observés et sont dominés par les diatomées, aucune d'entre elles n'étant toxique.

#### **016-P-025 Digue Querqueville**

Ce point est situé à l'exutoire de la zone portuaire de Cherbourg, avec des courants de marée complexes du fait des aménagements portuaires, créant des zones confinées ou au contraire des zones d'accélération des courants déjà forts dans les eaux du Nord Cotentin. La présence d'apports terrigènes ou de rejets provoquent des dessalures modérées en période de forte pluviosité avec une turbidité faible. Les stocks hivernaux en nutriments y sont faibles, proches de ceux des eaux ouvertes de la Manche, la biomasse chlorophyllienne y est très faible, sans espèce en état de bloom, et les stocks en nutriments ne sont pas complètement consommés pendant la période productive. Le cycle des nutriments est donc atypique. Ce type d'écosystème contrôlé par l'hydrodynamique pourrait donc être favorable au développement de nano- et picophytoplancton.

## Bretagne

Sept points sont retenus en Bretagne (voir **figures 4, 5 et 6**).

Quatre points appartiennent au REPHY Observation :

- 022-P-018 Les Hébihens
- 047-P-016 Concarneau large
- 055-P-001 Men er Roue
- 063-P-002 Ouest Loscolo

Les trois autres ont été créés spécifiquement pour cette étude et font donc partie d'un programme « REPHY Etudes » destiné à héberger des études non pérennes ; ils seront utilisés avec le point Concarneau large pour ajuster les seuils de l'indice en fonction des pressions, elles-mêmes mesurées via les concentrations en nutriments :

- 047-P-022 Concarneau port
- 047-P-014 Pointe Cabellou
- 043-P-033 Concarneau grand large

Le point Les Hébihens relève du LER BN, les quatre points de la radiale de Concarneau relèvent du LER BO, les deux points du Morbihan relèvent du LER MPL TM.

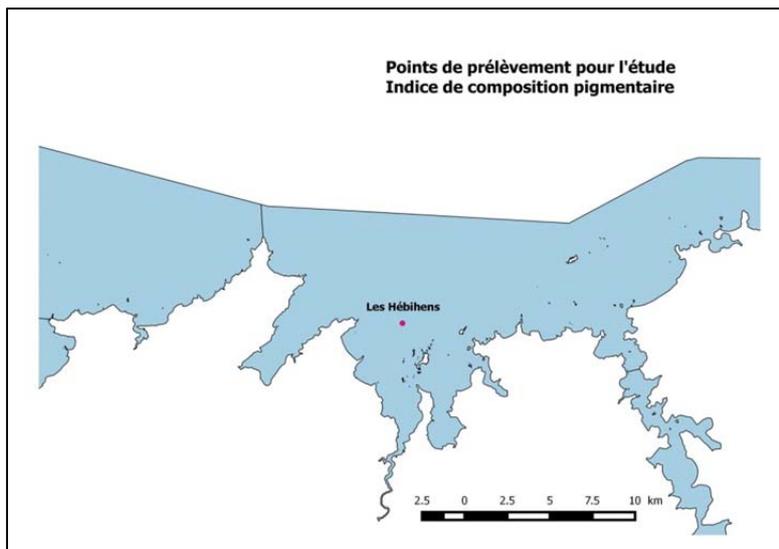


Figure 4. Points retenus pour l'échantillonnage des pigments en région Bretagne, Côtes d'Armor

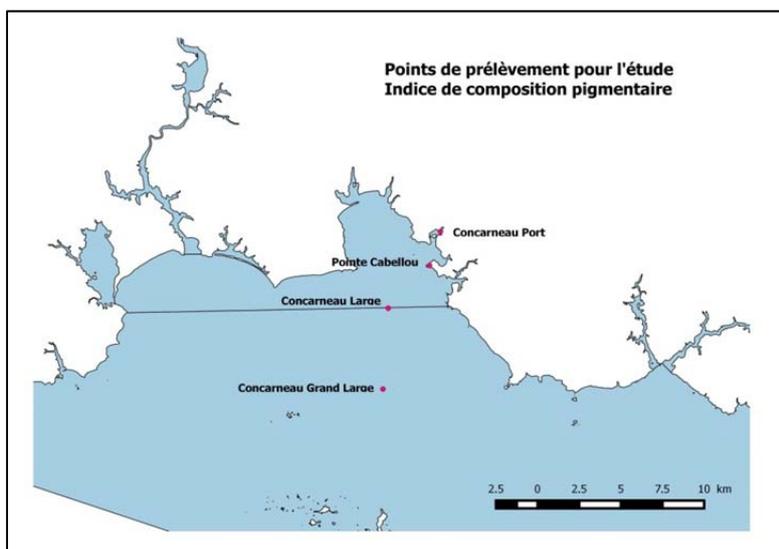


Figure 5. Points retenus pour l'échantillonnage des pigments en région Bretagne, Finistère sud

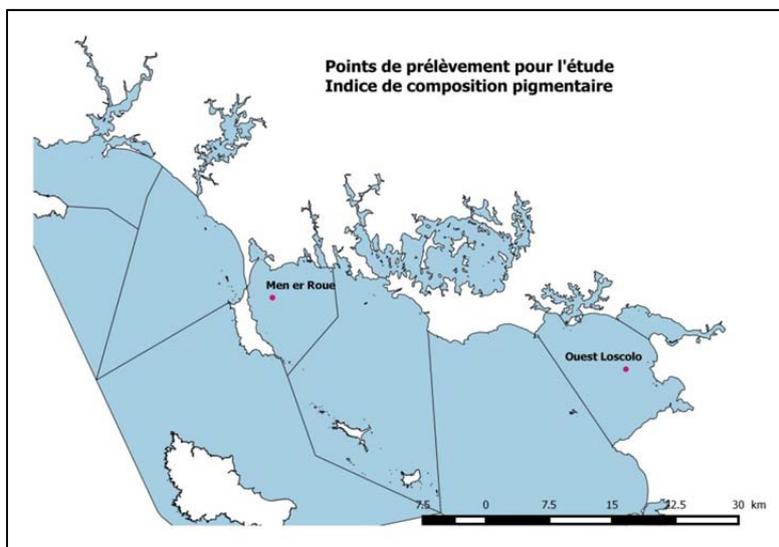


Figure 6. Points retenus pour l'échantillonnage des pigments en région Bretagne, Morbihan

Les points retenus sont déjà connus pour être différents en termes de biomasse et d'abondance du phytoplancton au regard des évaluations faites pour l'indicateur phytoplancton sur la période 2009-2014 (en cours de publication).

### *Description des points*

#### **022-P-018 Les Hébihens**

Ce point est situé dans la masse d'eau Rance-Fresnaye, évaluée en bon état (et même en très bon état pour le seul indice biomasse) avec une diversité d'espèces remarquable pour la côte nord de Bretagne.

### *D'après Anne Doner*

#### **047-P-022 Concarneau port + 047-P-014 Pointe Cabellou + 047-P-016 Concarneau large + 043-P-033 Concarneau grand large**

Ces quatre points forment une radiale avec un gradient de pressions qui permettra d'ajuster les seuils en fonction des concentrations en nutriments et des influences côtières sur la masse d'eau. Le point Concarneau Port (047-P-022) représente le point le plus impacté par l'activité humaine sur cette radiale. Le point 047-P-016 Concarneau large est un point du REPHY Observation, et le seul pérenne dans cette radiale : il s'agit d'un point de référence pour la station de biologie marine (Ifremer + MNHN) et il a également fait l'objet de mesures de diversité génétique, dans le cadre d'une étude pilotée par PELAGOS.

Le point Concarneau large fait l'objet de flores totales régulières depuis 2004, et, en y associant le point précédent Men Du, depuis 1992. Ce site est soumis à l'influence du panache de la Loire et sa situation géographique (nord golfe de Gascogne) lui confère un caractère riche et diversifié en termes d'observations d'espèces phytoplanctoniques. En effet des espèces d'eaux tempérées chaudes à tropicales y sont ponctuellement observées.

Dans l'avenir il devrait s'y dérouler de nouvelles études de la biodiversité phytoplanctonique par métabarcoding en association avec Dyneco-Pelagos.

### *D'après Michael Retho*

#### **055-P-001 Men er Roue**

Ce point est situé en baie de Quiberon, masse d'eau évaluée en bon état (et même en très bon état pour le seul indice biomasse). Il s'agit d'un point emblématique du REPHY, des flores totales étant réalisées sur ce point depuis 1987 (au niveau mi-profondeur avant 2006 puis en sub-surface depuis), et qui plus est par le même observateur, depuis cette date jusqu'à mars 2015. Les nutriments sont analysés toutes les quinzaines depuis 1996.

La baie de Quiberon est située dans le Mor Braz, limité au large par une échine rocheuse entre Quiberon et la pointe du Croisic qui limite les échanges entre la zone côtière et le large. Les courants y sont donc plus lents, laissant le temps au phytoplancton de consommer les nutriments d'origine fluviale. Le point Men er Roué est sous l'influence de la Loire et de la Vilaine même s'il est plus éloigné que le point Ouest Loscolo. La biomasse chlorophyllienne y est plus faible qu'en baie de

Vilaine. Ce point est situé au cœur de la zone d'élevage d'huîtres creuses en eau profonde. Les efflorescences à *Pseudo-nitzschia* sont fréquentes dans ce secteur.

### 063-P-002 Ouest Loscolo

Ce point est situé en baie de Vilaine, dans une masse d'eau évaluée en état moyen pour le paramètre « phytoplancton » DCE, en particulier au regard de l'abondance. Il s'agit d'un point emblématique du REPHY, des flores totales étant réalisées sur ce point depuis 1987 (au niveau mi-profondeur avant 2006 puis en sub-surface depuis), et qui plus est par le même observateur, depuis cette date jusqu'à mars 2015. Les nutriments sont analysés toutes les quinze semaines depuis 1996. Des analyses pigmentaires et de cytométrie en flux ont été réalisées en 2011 sur ce point avec une fréquence hebdomadaire dans le cadre du projet DINOPHAG.

Ce point est sous l'influence directe de la Vilaine et de la Loire. Il présente un degré supplémentaire de confinement de ses eaux par la présence d'une ligne de hauts fonds d'où émerge l'île Dumet. Le temps de résidence des eaux est plus élevé en baie de Vilaine que dans le reste du Mor Braz, favorisant le développement de phytoplancton. La biomasse chlorophyllienne est élevée et des développements d'eaux colorées sont régulièrement observés pouvant conduire à des déficits en oxygène des eaux du fond. La baie de Vilaine a connu en 1982 un épisode hypoxique majeur et c'est la zone la plus vulnérable vis-à-vis de l'eutrophisation sur la côte atlantique. La baie de Vilaine est également une des zones littorales françaises les plus impactées par le dinoflagellé *Dinophysis* qui engendre chaque année des épisodes de toxicité dans les moules.

## Récapitulatif pour Manche Atlantique

Le **tableau 1** détaille le nombre de mesures, d'échantillons à prélever et d'analyses à réaliser sur chacun des points, par mois et par paramètre.

En résumé :

- une grande partie des points sont échantillonnés toute l'année, une fois par quinze jours, pour tous les paramètres
- la majorité des points du LER BL suit une stratégie optimisée (une fois par quinze jours de mars à juin, et une fois par mois le reste de l'année) car elle a été jugée pertinente au vu de l'historique des données sur ces points
- les points de la radiale de Concarneau, hors point REPHY Observation, ont une stratégie allégée en termes de nutriments pour deux d'entre eux (une fois par mois seulement pour les deux points les plus au large), et en termes de flore totale (une fois par mois seulement pour les trois)

**Tableau 1. Prélèvements, mesures *in situ* et analyses à réaliser sur les deux années 2016-2017. Le nombre d'échantillons/analyses est détaillé par mois et par paramètre**

Programme	Point : mnémo + libellé	LER responsable	janvier				février				mars				avril				mai				juin				juillet				août				septembre				octobre				novembre				décembre			
			nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ								
REPHY Obs + SRN	001-P-015 Point 1 Dunkerque	LER BL	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
REPHY Obs + SRN	002-P-007 Point 1 Boulogne	LER BL	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2				
SRN	002-P-029 Point 2 Boulogne	LER BL	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
SRN	002-P-030 Point 3 Boulogne	LER BL	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
REPHY Obs + SRN	006-P-001 At so	LER BL	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
REPHY Obs + RHLN	010-P-001 Antifer ponton pétrolier	LER N	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2				
REPHY Obs + RHLN	010-P-109 Cabourg	LER N	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2				
REPHY Obs + RHLN	014-P-023 Gêfosse	LER N	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2				
REPHY Surv + RHLN	016-P-025 Digue Querqueville	LER N	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2				
REPHY Obs	022-P-018 Les Hébihens	LER BN	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2				
REPHY Etudes	047-P-022 Concarneau port	LER BO	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2				
REPHY Etudes	047-P-014 Pointe Cabellou	LER BO	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2				
REPHY Obs	047-P-016 Concarneau large	LER BO	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2				
REPHY Etudes	043-P-033 Concarneau grand large	LER BO	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2				
REPHY Obs	055-P-001 Men er Roue	LER MPL TM	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2				
REPHY Obs	063-P-002 Ouest Loscolo	LER MPL TM	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2				

points REPHY Observation  
 autres points  
 fréquence deux fois par mois (plus précisément une fois par quinzaine)  
 fréquence une fois par mois

Le **tableau 2** détaille les laboratoires qui assurent les diverses analyses

En résumé :

- les analyses de pigments seront assurées par le LER N pour les points des LERs BL et N, et par le LER BO pour les points des LERs BN, BO et MPL TM
- les analyses de nutriments seront effectuées par (i) le LER N pour les trois points REPHY du LER BL, et tous les points du LER N, (ii) le LER BL pour les deux points SRN stricts, (iii) le LER MPL NT pour tous les points des LERs BN, BO et MPL TM
- les flores totales sont déjà effectuées dans le cadre normal par les observateurs du REPHY Observation, chacun pour ses points. Pour ce qui concerne les trois points supplémentaires de la radiale de Concarneau, le point Concarneau grand large sera pris en charge par le LER BO (Anne Doner), les deux autres seront assurés par DYNECO-PELAGOS (Pascale Malestroit) ; à noter que pour ces deux derniers, les flores totales ne seront identifiées qu'au niveau de la famille (mais devront néanmoins être saisies dans Q<sup>2</sup> en tant que flores totales)

**Tableau 2. Laboratoires assurant les mesures et analyses sur les deux années 2016-2017. Le nombre d'analyses est détaillé par mois et par paramètre**

Programme	Point : mnémo + libellé	LER responsable	janvier				février				mars				avril				mai				juin				juillet				août				septembre				octobre				novembre				décembre								
			nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ	nutriments	pigments	flore totale	mesures in situ													
REPHY Obs + SRN	001-P-015	Point 1 Dunkerque	LER BL	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
REPHY Obs + SRN	002-P-007	Point 1 Boulogne	LER BL	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2				
SRN	002-P-029	Point 2 Boulogne	LER BL	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
SRN	002-P-030	Point 3 Boulogne	LER BL	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
REPHY Obs + SRN	006-P-001	At so	LER BL	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
REPHY Obs + RHLN	010-P-001	Antifer ponton pétrolier	LER N	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2				
REPHY Obs + RHLN	010-P-109	Cabourg	LER N	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2								
REPHY Obs + RHLN	014-P-023	Géfosse	LER N	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2								
REPHY Surv + RHLN	016-P-025	Digue Querqueville	LER N	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2								
REPHY Obs	022-P-018	Les Hébihens	LER BN	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2				
REPHY Etudes	047-P-022	Concarneau port	LER BO	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2								
REPHY Etudes	047-P-014	Pointe Cabellou	LER BO	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2								
REPHY Obs	047-P-016	Concarneau large	LER BO	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2								
REPHY Etudes	047-P-033	Concarneau grand large	LER BO	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2								
REPHY Obs	055-P-001	Men er Roue	LER MPL TM	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2								
REPHY Obs	063-P-002	Ouest Loscolo	LER MPL TM	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2								

**Laboratoires analystes**

	LER BL
	LER N
	LER BN
	LER BO
	LER MPL NT
	LER MPL TM
	PELAGOS

## Méditerranée

Cinq points sont retenus en Méditerranée (voir **figures 7 et 8**).

Deux points sont en Corse, appartiennent au REPHY Observation, et relèvent du LER PAC CO :

- 115-P-008 Sud Bastia
- 122-P-083 Calvi

Ce sont les deux seuls points situés en eau côtière corse, l'un sur la façade est (Sud Bastia), l'autre sur la façade ouest (Calvi). Ils ont des caractéristiques très différentes, en particulier en termes de production primaire. Le point Calvi est échantillonné par la STARESO.

Les trois autres points sont sur le continent, et relèvent du LER PAC TL :

- 112-P-010 22B - Toulon gde rade, appartient au REPHY Observation
- 113-P-010 Ile du soleil, est un point du REPHY Surveillance (DCE)
- 112-P-001 Lazaret (a), est un point REPHY sanitaire strict

Trois des cinq points retenus appartiennent au REPHY Observation, afin de profiter de l'effort d'échantillonnage porté sur ces points : une fois par mois ou par quinzaine pour les paramètres phytoplancton, chlorophylle, mesures hydrologiques (température, salinité, turbidité, oxygène dissous), une fois par mois pour les nutriments.

Comme il était nécessaire de disposer de points différemment impactés dans un même type de masse d'eau afin d'ajuster les seuils de l'indice en fonction des pressions, le choix s'est porté sur des points situés dans des masses d'eau de la même typologie 3W (qui est une typologie DCE : eaux côtières non affectées par des apports en eaux douces, et situées en Méditerranée d'Europe occidentale). Les trois points du continent sont donc respectivement considérés comme : référence (Ile du Soleil), impacté (22B Toulon grande rade), très impacté (Lazaret).

Les prélèvements d'eau sont assurés respectivement par LER PAC CO et TL, sauf pour Calvi qui est échantillonné directement par la STARESO. Les filtrations pour les pigments sont effectuées par Ifremer, et les échantillons envoyés pour analyses à la STARESO. Les nutriments sont analysés par Ifremer, sauf pour le point Lazaret sur lequel il n'est pas prévu de nutriments, puisqu'il n'appartient pas au REPHY Observation. Les données nutriments acquises par Ifremer sur les autres points aux fréquences REPHY, seront fournies à Anne Goffart.

L'échantillonnage est prévu pour 2017, mais a déjà débuté sur certains points.

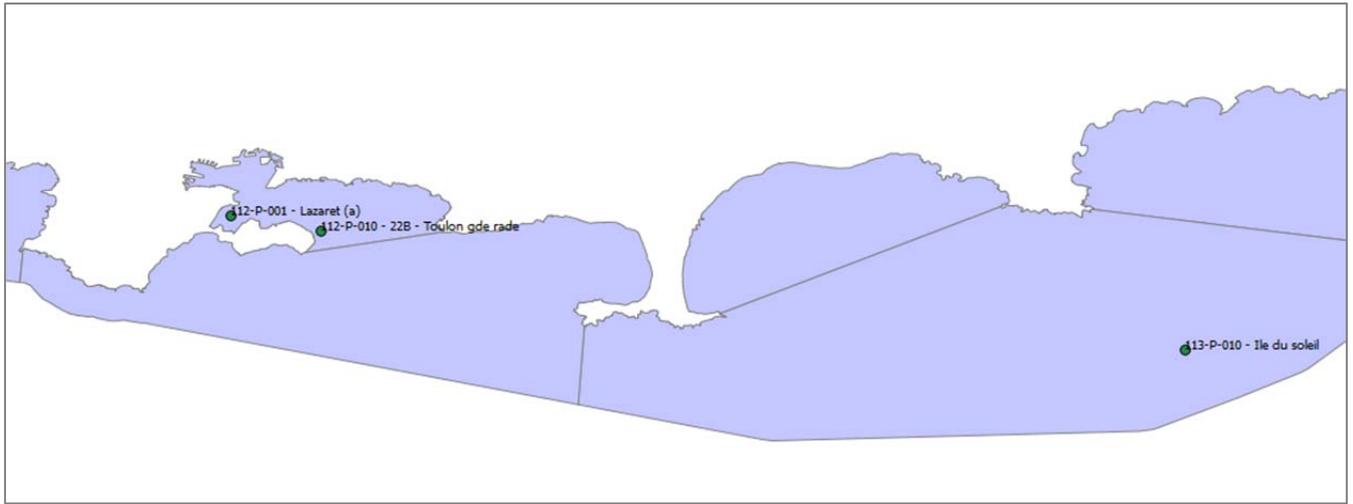


Figure 7. Points retenus pour l'échantillonnage des pigments en Méditerranée (continent)

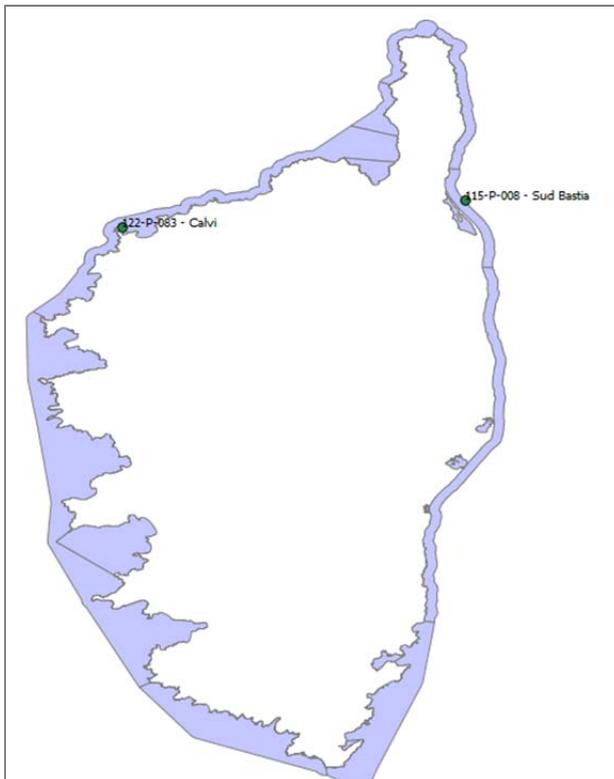


Figure 8. Points retenus pour l'échantillonnage des pigments en Méditerranée (Corse)

## Information sur les prélèvements et sur les analyses pigmentaires

Un protocole d'échantillonnage en vue de l'analyse des pigments par HPLC est joint en annexe 1. Il a été rédigé par Luis Lampert pour les échantillons de Manche-Atlantique.

Les analyses pigmentaires seront faites à Ifremer, selon une organisation se mettant en place, et utilisant des créneaux de disponibilité de matériels HPLC existants, aux LERS N et LER BO. Les formations HPLC et analyses chémotaxonomiques sont encadrées conjointement par Daniel Delmas et Luis Lampert (Ifremer Brest), spécialistes des techniques HPLC et de la chémotaxonomie. Un document de méthodes HPLC est en cours de rédaction.

A l'heure actuelle, les prélèvements ont commencé dans toutes les régions, mais les échantillons sont congelés pour analyses ultérieures.

## Bancarisation des résultats

Le référentiel permettant de saisir les données des analyses pigmentaires a été décrit par Luis Lampert et est disponible dans Quadrigé. Il comporte 71 paramètres qui sont associés à 13 fractions et 3 méthodes, soit 2769 PSFMs (Paramètres-Supports-Fractions-Méthodes) : voir les détails en **annexe 2**.

Les données peuvent donc être bancarisées dans Quadrigé, dès que les résultats des analyses seront disponibles. En attendant, les passages, prélèvements et échantillons peuvent être bancarisés. La bancarisation est à faire sous le programme REPHY (REPHY-ETUDES pour les trois points supplémentaires de la radiale de Concarneau). Les stratégies sont à jour ou en cours de mise à jour.

## Interprétation des résultats de l'étude

Les données acquises en 2016 et 2017 en Manche Atlantique seront traitées par Luis Lampert en 2018 dans le cadre d'une fiche ONEMA. Le traitement sera basé sur l'approche des indices de similarité et tout particulièrement ceux de Bray-Curtis ( $Ic_{-BCSI}$ ) et de Kulczynski ( $Ic_{-K}$ ) selon les modalités décrites dans Lampert (2015). Cette étude devra permettre de :

- valider l'indice de composition pigmentaire sur les façades Manche-Atlantique
- étudier la validité de l'indice biomasse qui sera désormais également calculé à partir des résultats de l'analyse pigmentaire par HPLC des échantillons (la chlorophylle-a faisant partie des pigments traités par cette analyse)

Une étude complémentaire sera réalisée en utilisant les méthodes Manche-Atlantique d'une part, Méditerranée d'autre part, avec les données croisées des deux façades. Ceci permettra d'envisager la possibilité d'une seule méthode valide et applicable sur les deux façades afin de simplifier le suivi de l'Indice de composition.

## Bibliographie

ARTIGAS L.F., DIDRY M., BARTHELEMY V., BROUTIN M., BONATO S., LIZON F., & LEFEBVRE A., 2014. Acquisition de données complémentaires aux dénombrements, avec les techniques de cytométrie en flux, fluorescence totale ou spectrale. Etat d'avancement et premiers résultats. Convention Ifremer / Onema 2013. Action Indice Composition. Livrable n° A III. 21 p. Rapport final, 23 septembre 2014.

ARTIGAS L.F., DIDRY M., PREVOST E., BONATO S. & LEFEBVRE A., 2015. Premières propositions pour un indice de composition du phytoplancton, basé sur les résultats cytométrie en flux. Action 3 – Indice Composition – Livrable 2. Février 2015. Convention ONEMA / Ifremer 2014 - Domaine Evolution, fonctionnement et évaluation des écosystèmes littoraux

ARTIGAS L.F., DIDRY M., BONATO S., FENAUX A., PREVOST E., & BRETON E., 2016. Propositions pour un indice de composition du phytoplancton, basé sur les résultats de cytométrie en flux. Convention Ifremer / Onema 2015. Action 3 – Indice composition - Livrable 2. Rapport provisoire, février 2016. 39 p.

BELIN C., LAMOUREUX A. & SOUDANT D., 2014. Evaluation de la qualité des eaux littorales de la France métropolitaine pour l'élément de qualité Phytoplancton dans le cadre de la DCE. Etat des lieux des règles d'évaluation, et résultats pour la période 2007-2012. Rapport DYNECO / VIGIES / 14-05, avril 2014.

Tome 1 - Etat des lieux, méthodes et synthèse des Résultats

<http://envlit.ifremer.fr/content/download/81901/580117/version/3/file/Evaluation+DCE+phytoplancton+2007-2012+-+Tome+1.pdf>

Tome 2 - Résultats détaillés : fiches par masse d'eau et éléments d'expertise

<http://envlit.ifremer.fr/content/download/81902/580120/version/4/file/Evaluation+DCE+phytoplancton+2007-2012+-+Tome+2.pdf>

DELMAS D. & SIANO R., 2014. Acquisition de données complémentaires aux dénombrements, avec les techniques d'analyses pigmentaires et de diversité génétique. Etat d'avancement et premiers résultats. Rapport final, 16 juillet 2014.

GOFFART A., 2013. Validation de l'indice de composition phytoplanctonique IC Medit dans des masses d'eau côtières méditerranéennes caractérisées par un gradient croissant d'eutrophisation. Convention Ifremer / Onema 2012. Action Méthodes de bio-indication en eaux littorales. Indicateur phytoplancton et physico-chimie - Livrable A4. 29 p. Rapport intermédiaire, février 2013.

GOFFART A., 2014. Validation de l'indice composition IC Medit pour les eaux côtières de Corse et de la région PACA. Convention Ifremer / Onema 2013. Action 3. Indice Composition. Livrable n° B. 30 p. Rapport final, juillet 2014.

HERNANDEZ-FARINAS T., BRUN M., SIANO R. & DELMAS D., 2016. Propositions pour un indice de composition du phytoplancton, basé sur les résultats des méthodes microscopie, pigments et diversité génétique. Convention Ifremer / Onema 2015. Action 3 - Indice Composition - Livrable 1. Rapport final, février 2016. 68 p.

LAMPERT, Luis. 2015. « Test d'un Indice de composition pigmentaire pour les secteurs Atlantique et Manche (DCE) ». Scientifique et technique 2015-02. Brest: IFREMER. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00254/36556/>.

**Inclus dans :** Premières propositions pour un indice de composition du phytoplancton, basé sur les résultats des méthodes pigments et diversité génétique. Action 3 – Indice Composition – Livrable 1. Février 2015. Partie 1 : Raffaele SIANO & Daniel DELMAS. Partie 2 : Luis LAMPERT. Février 2015. Convention ONEMA / Ifremer 2014 - Domaine Evolution, fonctionnement et évaluation des écosystèmes littoraux

MENET-NEDELEC F., RIOU P., ETOURNEAU C., COURTAY G., FONTAINE B., FRANCOISE S., JACQUELINE F., LESAULNIER N., MAHEUX F., PIERRE-DUPLESSIX O., RABILLER E., SCHAPIRA M. & SIMON B., 2015. Réseau Hydrologique Littoral Normand – Année 2013. Rapport Ifremer ODE/LERN/15-07, 138 pp.

SIANO R., DELMAS D. & LAMPERT L., 2015. Premières propositions pour un indice de composition du phytoplancton, basé sur les résultats des méthodes pigments et diversité génétique. Convention Ifremer / Onema 2014. Action 3 - Indice Composition - **Livrable 1**. Rapport provisoire, février 2015. Partie 1 : Raffaele SIANO & Daniel DELMAS. Partie 2 : Luis LAMPERT. 76 p.

# Annexe 1. Protocole d'échantillonnage en vue de l'analyse des pigments phytoplanctoniques par HPLC, actuellement utilisé pour les échantillons de Manche-Atlantique

*Une version provisoire de ce protocole a été envoyée le 9 décembre 2015 aux LERs BL, N, BN, BO et MPL TM.*

## Echantillonnage

L'échantillonnage doit être effectué de la même façon que celui destiné aux analyses de chlorophylle-a pour le REPHY. Dans les eaux côtières de la Manche et de l'Atlantique, il doit être effectué un prélèvement de 2 L d'eau de mer (pré-filtrés à 200  $\mu\text{m}$ ) à la profondeur de - 1 m. Selon les moyens à la mer et le point échantillonné, il pourra être utilisé une bouteille Niskin, une pompe embarquée, ou une simple immersion de la bouteille de prélèvements.

## Stockage des échantillons d'eau de mer

Entre le moment du prélèvement et la filtration (laboratoire, camion, bateau équipé,...), le stockage de la bouteille avec l'eau de mer doit se faire dans un endroit à l'abri de la lumière et au frais. Ce délai doit être le plus court possible et compatible avec la tournée de prélèvement. Surtout éviter de laisser la bouteille au soleil ou dans un endroit surchauffé. Dans le cahier de prélèvements indiquer tout écart à cette règle.

## Filtration

La filtration doit être effectuée avec une rampe de filtration sous vide modéré avec des filtres GF/F de 25mm ou 47mm. De préférence, utiliser des filtres de 25mm. Une fois filtrée la quantité nécessaire selon la charge en cellules phytoplanctoniques (coloration du filtre), et avant colmatage, arrêter la filtration, consigner le volume filtré et introduire le filtre plié dans un cryotube de 2 à 5 mL. Ne pas laisser le filtre qui commence à colmater très longtemps dans la rampe, et éviter qu'il reste au sec pendant la filtration. Puis congeler immédiatement à -176°C (azote liquide) ou -80°C (surgélateur). Cette phase est critique et doit être exécutée très rapidement.

## Stockage filtres

Une fois les échantillons congelés, ils pourront être transférés sur un congélateur à -20°C s'il manque de la place dans le surgélateur. De préférence les laisser à -80°C. Ils peuvent rester ainsi une année avant leur analyse à l'HPLC.

## Annexe 2. Référentiel pour la bancarisation des résultats des analyses pigmentaires

Ce référentiel comporte 71 paramètres qui sont associés à 13 fractions et 3 méthodes, soit 2769 PSFMs (Paramètres-Supports-Fractions-Méthodes)

Les 71 paramètres sont les suivants :

Allo	Alloxanthin
Anth	Antheraxanthin
Asta	Astaxanthin
Auro	Auroxanthin
Bchla	Bacteriochlorophyll a
beta,beta-Car	beta,beta-Carotene (beta carotène)
beta,epsilon-Car	beta,epsilon-Carotene (alpha carotène)
beta,psi-Car	beta,psi-Carotene
But-fuco	19'-Butanoyloxyfucoxanthin
Calo	Caloxanthin
Cantha	Canthaxanthin
Chlide-a	Chlorophyllide a
Chlide-b	Chlorophyllide b
CHLOROA	Chlorophylle a
CHLOROA'	Chlorophyll a epimer
CHLOROA-allo	Chlorophyll a allomer
CHLOROB	Chlorophyll b
CHLOROB'	Chlorophyll b epimer
CHLOROC1	Chlorophyll c1
CHLOROC1+C2	Chlorophyll c1 + Chlorophyll c2
CHLOROC2	Chlorophyll c2
CHLOROC2-MGDG_14:0-14:0	Chlorophyll c2-monogalactosyldiacylglyceride ester [14:0/14:0]
CHLOROC2-MGDG_18:4-14:0	Chlorophyll c2-monogalactosyldiacylglyceride ester [18:4/14:0]
CHLOROC3	Chlorophyll c3
CHLOROD	Chlorophyll d
C-neo	9'-cis-Neoxanthin
C-neochr	9'-cis-Neochrome
Croco	Crocoxanthin
Cryp	Cryptoxanthin
Dhlut	Dihydrolutein
Diadchr	Diadinochrome
Diadino	Diadinoxanthin
Diato	Diatoxanthin
Dino	Dinoxanthin
DVCHLOROA	Divinyl chlorophyll a
DVCHLOROB	Divinyl chlorophyll b
Echin	Echinenone
epsilon,epsilon-Car	epsilon,epsilon-Carotene
Eutr	Eutreptiellanone
Fuco	Fucoxanthin
Gyro-de	Gyroxanthin dodecanoate ethanoate
Hex-fuco	19'-Hexanoyloxyfucoxanthin
Hex-kfuco	19'-hexanoyloxy-4-ketofucoxanthin
Loro	Loroxanthin
Loro-d	Loroxanthin dodecanoate
Lut	Lutein

Lyco	psi,psi-Carotene (Lycopene)
Mg-DVP	Magnesium 2,4-dyvinilpheoporpyrin a5 monomethyl ester
Micral	Micromonal
Microl	Micromonol
Monado	Monadoxanthin
Mutato	Mutatoxanthin
MV-CHLOROC3	Monovinyl Chlorophyll C3
Myxo	Myxol quinoside
Nosto	Nostoxanthin
Oscil	Oscillol diquinoside
Peri	Peridinin
Phe-a	Pheophytin a
Phe-b	Pheophytin b
Pheide-a	Pheophorbide a
Pphe-a	Pyropheophytin a
Ppheide-a	Pyropheophorbide a
Pras	Prasinoxanthin
Siph	Siphonaxanthin
Siph-do	Siphonaxanthin dodecenote
T-neo	all-trans-Neoxanthin
Uri	Uriolide
Vauch	Vaucheriaxanthin
Vauch-eo	Vaucheriaxanthin ethanoate octanoate
Viola	Violaxanthin
Zea	Zeaxanthin

Les 13 fractions sont les suivantes :

Phase particulaire $\geq 0.35 \mu\text{m}$
Phase particulaire $\geq 0.45 \mu\text{m}$
Phase particulaire $\leq [0.45-200[ \mu\text{m}$
Phase particulaire $\geq 0.7 \mu\text{m}$
Phase particulaire $\geq 1.2 \mu\text{m}$
Phase particulaire $\geq 20 \mu\text{m}$
Phase particulaire $[0.7-1[ \mu\text{m}$
Phase particulaire $[0.7-10[ \mu\text{m}$
Phase particulaire $[0.7-20[ \mu\text{m}$
Phase particulaire $[0.7-3[ \mu\text{m}$
Phase particulaire $\geq 1 \mu\text{m}$
Phase particulaire $\geq 10 \mu\text{m}$
Phase particulaire $\geq 3 \mu\text{m}$

Les trois méthodes sont les suivantes :

Chromatographie liquide - pigments phytoplanctoniques (Van Heukelem et Thomas 2001)
Chromatographie liquide - pigments phytoplanctoniques (Wright et al. 1991)
Chromatographie liquide - pigments phytoplanctoniques (Zapata et al. 2000)

L'unité est systématiquement :  $\mu\text{g.l}^{-1}$