


2013 - **Domaine** Evolution, fonctionnement et évaluation des écosystèmes littoraux
Action 3 Indice Composition



Validation de l'indice composition **IC_{MEDIT}** dans des masses d'eau côtières méditerranéennes caractérisées par un gradient croissant d'eutrophisation

Action Indice Composition. Livrable n° B

Rapport final

**Anne GOFFART, Université de Liège, Belgique & STARESO,
Calvi, France**

**Bruno ANDRAL, IFREMER de Méditerranée, La Seyne-sur-Mer,
France**

Juillet 2014

AUTEURS

Anne GOFFART, Université de Liège, Belgique & STARESO, Calvi, France,
A.Goffart@ulg.ac.be

Bruno ANDRAL, IFREMER de Méditerranée, La Seyne-sur-Mer, France
Bruno.Andral@ifremer.fr

CORRESPONDANTS

ONEMA : **Marie Claude XIMENES**, marie-claude.ximenes@onema.fr

IFREMER : **Catherine BELIN**, catherine.belin@ifremer.fr

Droits d'usage : publication des résultats prévue pour l'automne 2014

Niveau géographique : national

Couverture géographique : nationale

Niveau de lecture : experts

RESUME

$I_{C\text{Medit}}$ est un nouvel indice de composition phytoplanctonique adapté aux spécificités des eaux côtières méditerranéennes. Il utilise la signature pigmentaire du phytoplancton mesurée par HPLC comme méthode de détermination rapide de la composition floristique. Le but de cette étude est de faire évoluer et de valider l'indice développé en 2010 grâce aux résultats de mesures ciblées réalisées dans des masses d'eau côtières d'eau soumises à des forces de pression bien identifiées et d'intensité croissante.

Grâce à l'interprétation des données acquises dans les eaux côtières corses, nous avons (i) décrit la succession saisonnière des principaux groupes phytoplanctoniques dans les conditions de référence, (ii) étudié les réponses des différents groupes à des forces de pression ponctuelles et bien identifiées, (iii) évalué les écarts aux références observés dans des sites caractérisés par un gradient croissant d'eutrophisation, (iv) établi des relations pressions / impacts entre les concentrations en sels nutritifs et les concentrations en pigments, et (vi) établi des recommandations pour l'échantillonnage et pour la construction de l'indice.

Dans sa version 2014, $I_{C\text{Medit}}$ est un indicateur de composition phytoplanctonique facile à mettre en œuvre. Il fournit des informations utiles sur l'intensité des pressions et pourrait être utilisée à des fins de gestion. Il est remarquable de noter que les corrélations entre les sels nutritifs et les différents groupes sont presque toujours meilleures que celles entre les sels nutritifs et la biomasse totale. Néanmoins, en l'absence des données de la région PACA, il reste à définir des seuils de qualité. Ce point devra être développé en collaboration avec des statisticiens.

MOTS CLES (THEMATIQUE ET GEOGRAPHIQUE)

Phytoplancton, indicateur de composition, pigments, $I_{C\text{Medit}}$, relations pressions / impacts, conditions de référence, Méditerranée, Corse, DCE

TITLE

Validation of the phytoplankton composition index $I_{C\text{MEDIT}}$ in Mediterranean coastal waters characterized by eutrophication gradients

ABSTRACT

The aim of this study is to show the current status of the development and use of the new $I_{C\text{Medit}}$ phytoplankton composition index as a sub-metric within the phytoplankton quality element in assessing phytoplankton quality in Mediterranean coastal waters. $I_{C\text{Medit}}$ uses pigment concentrations determined by HPLC for assessing phytoplankton composition.

Focusing on coastal waters of Corsica, we (i) described the seasonal succession of the main phytoplankton groups in reference conditions, (ii) studied responses of phytoplankton groups to well identified drivers, (iii) assessed the shift of the seasonal succession of phytoplankton groups from the reference conditions in impacted areas, (iv) revealed pressure / impact relationships between nutrients and pigments, and (v) established guidelines for sampling and $I_{C\text{MEDIT}}$ implementation.

$I_{C\text{MEDIT}}$ is an indicator that improves the information provided by chl *a* in relation to anthropogenic pressures. It provides useful information on water quality, and could be used for management purposes. Nevertheless, due to the lack of information about the relationship between phytoplankton composition and pressures in highly impacted areas, boundary conditions are still to be defined. This should be done in collaboration with statisticians.

KEY WORDS (THEMATIC AND GEOGRAPHICAL AREA)

Phytoplankton, indicator of community composition, pigments, $I_{C\text{Medit}}$, pressure impact relationships, reference conditions, Mediterranean Sea, Corsica, Water Framework Directive

SYNTHESE POUR L'ACTION OPERATIONNELLE

Un premier travail mené grâce au soutien de l'ONEMA avait abouti au développement de l'indice de composition phytoplanctonique $I_{C\text{Medit}}$ (Goffart 2011). $I_{C\text{Medit}}$ a été conçu à partir des données pigmentaires du phytoplancton des eaux côtières corses où, contrairement à beaucoup de régions, les conditions de référence sont bien connues mais les forces de pressions (drivers) rencontrées sont généralement faibles et limitées spatialement et/ou temporellement. Ce projet avait pour but de valider $I_{C\text{Medit}}$ dans des masses d'eau caractérisées par un gradient croissant d'eutrophisation et de le faire évoluer sur base des résultats obtenus. Au départ, il était prévu d'acquérir un jeu de données complémentaires dans des masses d'eau de type Island 3W et 3W soumises respectivement à des forces de pression ponctuelles et bien identifiées (e.g. aquaculture, mouillage forain, apports fluviaux) et à de fortes pressions urbaines, portuaires et/ou conchylicoles. Suite à des problèmes techniques survenus au sein du LER/PAC de l'IFREMER lors des analyses des échantillons prélevés en région PACA, seuls les résultats des eaux côtières corses sont disponibles et discutés dans ce rapport.

$I_{C\text{Medit}}$ utilise la signature pigmentaire du phytoplancton mesurée par HPLC comme méthode de détermination rapide de la composition floristique. L'analyse des pigments phytoplanctoniques, séparés et quantifiés par HPLC, est la seule méthode qui permette (i) de mesurer la biomasse phytoplanctonique totale et (ii) d'identifier et de quantifier tous les groupes phytoplanctoniques présents dans un échantillon, indépendamment des classes de taille. Le niveau d'information taxonomique obtenu est suffisant pour rencontrer les besoins de la DCE et de la DCSSM et la rapidité des mesures (40 minutes pour une analyse pigmentaire complète) permet de traiter de grandes séries d'échantillons dans des délais rapprochés. Concrètement, la mesure de la chlorophylle *a*, présente dans tous les groupes phytoplanctoniques (à l'exception des prochlorophytes où elle est remplacée par la divinyl-chlorophylle *a*), et de la divinyl-chlorophylle *a* permet de déterminer la biomasse phytoplanctonique totale. La mesure des caroténoïdes, dont la nature varie d'un groupe phytoplanctonique à l'autre, permet de caractériser la composition taxonomique du phytoplancton total. Certains pigments sont spécifiques d'un groupe taxonomique, alors que d'autres peuvent être observés dans deux ou trois groupes. Deux méthodes peuvent être utilisées pour quantifier la biomasse des grands groupes présents (diatomées, dinoflagellés, prymnésiofycées, cryptophycées, cyanobactéries, ...) à partir des données de composition pigmentaire. La méthode la plus simple utilise les concentrations en pigments diagnostiques comme traceurs directs : l'abondance d'un groupe (e.g. les dinoflagellés) est considérée comme étant directement proportionnelle à la concentration en pigment diagnostique (e.g. la péridinine). Cette méthode ne nécessite aucune transformation des mesures après analyse. De plus, elle présente les avantages (i) d'être rapide et reproductible et (ii) de pouvoir être mise en œuvre dans des laboratoires qui maîtrisent les techniques HPLC, mais ne sont pas spécialisés en écologie du phytoplancton. Elle a cependant l'inconvénient de ne pas intégrer le fait que certains pigments traceurs se trouvent dans plusieurs groupes taxonomiques. Une méthode plus complexe, CHEMTAX (CHEMICAL TAXONOMY; Mackey et al. 1996, Mackey et al. 1997), offre la possibilité d'évaluer la biomasse des différents groupes sur base de plusieurs pigments par classe d'algues. CHEMTAX est un logiciel statistique basé sur une analyse numérique multi-matricielle dont l'utilisation requiert une expertise élevée en écologie du phytoplancton. Dans ce travail, nous utiliserons les concentrations en pigments diagnostiques pour développer et faire

évoluer l'indice I_{C_MEDIT} . Pour les raisons expliquées ci-dessus, cette approche nous paraît plus facile à mettre en œuvre et plus opérationnelle que CHEMTAX. C'est aussi le choix qui a été fait par Alvain et al. (2006, 2008) pour établir des cartes de distribution spatio-temporelle des principaux groupes de phytoplancton à partir de l'imagerie satellitaire.

Les mesures réalisées dans les eaux côtières corses ont permis d'étudier la variabilité de la composition phytoplanctonique le long des côtes occidentale et orientale.

Pour la première fois, les résultats obtenus dans les *sites non impactés* ont montré que :

- la distribution des concentrations en pigments diagnostiques est homogène le long de chacune des côtes, chaque côte étant caractérisée par une dynamique spécifique;
- l'évolution saisonnière des grands groupes fonctionnels est synchrone entre les différentes masses d'eau non impactées de chacune des côtes.

Concrètement, cela signifie que les données d'un site peuvent être comparées à celles du site de référence associé (Calvi pour la côte occidentale, Sud Bastia pour la côte orientale). Selon les besoins, les échantillons seront prélevés à des fréquences fixes ou variables dans les masses d'eau à évaluer. Les résultats seront ensuite comparés à ceux du site de référence associé, qui doit être échantillonné à haute fréquence.

Dans les *sites soumis à des pressions saisonnières et bien localisées*, les travaux menés dans le cadre de cette étude ont montré que l'altération de la biomasse et de la composition phytoplanctonique présente un caractère saisonnier prononcé qui reflète l'intensité des forces de pression durant la période estivale. Plus spécifiquement, les résultats

- ont mis en évidence des modifications importantes de la composition phytoplanctonique en réponse à des forces de pression saisonnières bien localisées;
- ont contribué à établir des liens entre la nature des forces de pression et la réponse spécifique de certains groupes (e.g. diatomées ou cyanobactéries);
- ont montré que les communautés phytoplanctoniques retrouvent des caractéristiques proches de celles des milieux de référence avec l'éloignement des points de rejets.

A condition de disposer de suivis haute fréquence des masses d'eau de référence, des mesures ponctuelles réalisées à des périodes clés dans une baie ou dans un golfe permettent (i) de mesurer l'altération de la composition phytoplanctonique à proximité des points de pression et (ii) de mettre en évidence le retour à la normale avec l'éloignement des points de rejets. A plus grande échelle, des suivis mensuels réalisés à des points fixes dans différentes masses d'eau permettent d'obtenir une image globale de l'état du phytoplancton d'une région. Dans ce cas, l'effort d'échantillonnage sera valorisé au mieux si les recommandations suivantes sont respectées :

- veiller à ce que l'échantillonnage couvre un cycle annuel complet (janvier – décembre),
- effectuer les prélèvements dans les différentes masses d'eau à date fixe (par exemple partout le premier mardi de chaque mois), afin de disposer d'un jeu de données le plus synoptique possible.

Dans sa version initiale, I_{C_Medit} fixait les limites naturelles de l'évolution saisonnière de 2 grands ensembles phytoplanctoniques clés d'une masse d'eau de référence et mesurait la fréquence des

dépassements dans les masses d'eau à évaluer. Des dépassements nombreux traduisent une composition floristique altérée. Les 2 grands ensembles phytoplanctonique clés (DIDICRY : diatomées, dinoflagellés et cryptophycées et CYANOS : cyanobactéries) avaient été choisis en fonction de leur importance dans le fonctionnement de l'écosystème côtier méditerranéen et de leurs préférences trophiques. La réponse aux pressions des groupes retenus initialement sur base d'une analyse écologique a été étudiée dans le but (i) d'établir des relations pressions / impacts et (ii) de consolider le choix initial des pigments inclus dans l'indice $I_{C\text{ MEDIT}}$. En l'absence des données de la région PACA, des tests de corrélation de Spearman et de Pearson ont été réalisés sur l'ensemble des données corses pour étudier les relations entre les concentrations en sels nutritifs (nitrates, nitrites, silicates et ammonium) et celles en pigments diagnostiques. Malgré la diversité des fréquences de prélèvements, les résultats sont encourageants et montrent que 7 pigments sont corrélés de façon significative aux pressions. Parmi ceux-ci, deux pigments n'apparaissent qu'une fois dans le tableau des corrélations et ne sont pas retenus. Les autres pigments qui répondent aux pressions sont la péridinine, la fucoxanthine, l'alloxanthine, la zéaxanthine et la prasinoxanthine. Ces corrélations confortent le choix des quatre pigments inclus dans la première version de l'indice $I_{C\text{ MEDIT}}$. Ils sont maintenus dans la version 2014 de l'indice, mais étudiés individuellement puisqu'ils ne répondent pas tous aux mêmes pressions :

- réponse de la péridinine (dinoflagellés) aux silicates,
- réponse de la fucoxanthine (diatomées) aux nitrates et aux silicates,
- réponse de l'alloxanthine (cryptophycées) aux nitrites et aux silicates,
- réponse de la zéaxanthine (cyanobactéries) aux nitrates, aux nitrites et à l'ammonium.

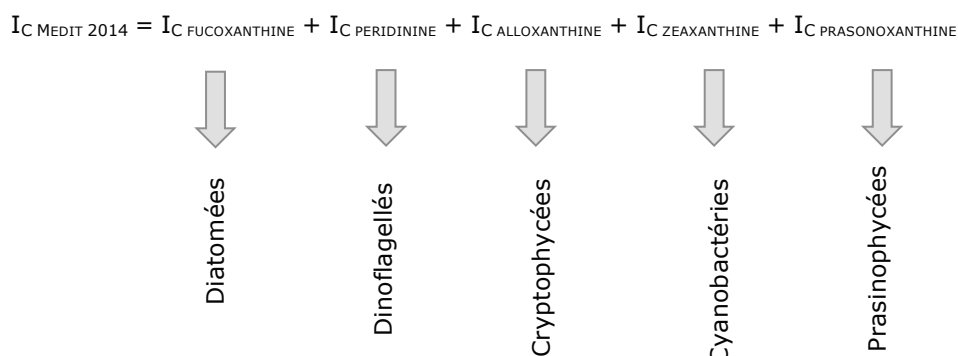
Un cinquième pigment, la prasinoxanthine (prasinophycées), répond aux nitrites et aux silicates comme l'alloxanthine. Cependant, ces deux pigments présentent des évolutions saisonnières différentes, aussi bien en conditions de référence qu'en milieu fortement impacté. En conséquence, la prasinoxanthine sera intégrée dans la version 2014 de l'indice $I_{C\text{ MEDIT}}$. Il est aussi remarquable de noter que les corrélations entre les sels nutritifs et les différents groupes sont presque toujours meilleures que celles entre les sels nutritifs et la biomasse totale.

Sur base des résultats des corrélations pressions / impacts, l'indice de composition $I_{C\text{ MEDIT } 2014}$ a évolué et est composé de 5 sous-indices (figure 1). Chaque sous-indice est associé à un pigment diagnostique dont la concentration est proportionnelle à l'abondance du groupe dont il est le traceur. Une courbe de référence décrit l'évolution saisonnière naturelle de chaque pigment diagnostique. Elle est construite à partir des données haute fréquence du (des) site(s) de référence et est assortie d'une marge de sécurité qui intègre la variabilité interannuelle des communautés. Deux méthodes de construction des courbes ont été testées. La méthode de construction des courbes proposée dans la première version de l'indice est maintenue.

En pratique, les courbes de référence des 5 pigments diagnostiques inclus dans la version 2014 de l'indice $I_{C\text{ MEDIT}}$ doivent être élaborées. Les concentrations des cinq pigments sont ensuite mesurées dans les masses d'eau ou les sites à évaluer. Pour chaque pigment, les mesures sont reportées sur la courbe de référence associée. Un point correspond à une mesure. Si toutes les mesures (ou pratiquement toutes) sont situées entre la courbe de référence et l'axe des x, la composition floristique de la masse d'eau à évaluer ne se distingue pas de celle de la masse d'eau de référence associée. Par contre, un

nombre élevé de points situés à l'extérieur de la courbe de référence met en évidence des concentrations anormalement élevées en pigment diagnostique, et donc une composition floristique altérée.

Figure 1 Représentation schématique de l'indice $I_{C\text{MEDIT}} 2014$.



Dans la version 2010 de l'indice $I_{C\text{Medit}}$, le pourcentage du nombre de points situés à l'extérieur des courbes de référence était considéré pour évaluer la qualité de la masse d'eau. A l'heure actuelle, il apparait utile de travailler aussi sur l'importance de l'écart aux courbes de référence, et de combiner les deux informations. Les nouveaux seuils devront intégrer le pourcentage du nombre de points situés à l'extérieur des courbes de référence et leur éloignement à celles-ci, mais l'absence des données de la région PACA ne permet pas d'avancer sur ce point. Le développement de ce volet spécifique implique la participation de spécialistes en statistique qui définiront aussi le mode d'agrégation des sous-indices (moyennes, élément le plus déclassant, ...). Le tableau 1 résume l'évolution et les caractéristiques de l'indice $I_{C\text{Medit}}$.

Tableau 1 Caractéristiques des indices $I_{C\text{Medit}} 2010$ et 2014

	$I_{C\text{Medit}} 2010$	$I_{C\text{Medit}} 2014$
Nombre de pigments inclus dans l'indice	4 (fucoxanthine, péridinine, alloxanthine, zéaxanthine)	5 (fucoxanthine, péridinine, alloxanthine, zéaxanthine, prasinoxanthine)
Groupes fonctionnels	2 : DiDYCRY (diatomées + dinoflagellés + cryptophycées) et CYANOS (cyanobactéries)	5 (diatomées, dinoflagellés, cryptophycées, cyanobactéries et prasinophycées)
Choix des groupes fonctionnels	Analyse écologique de la dynamique des communautés	Réponse aux pressions
Courbes de référence	Etablies sur base de suivis haute fréquence, P_{90} mensuel maximum calculé sur 6 ans + marge de sécurité de 50%. 1 courbe = 12 points.	Idem
Nombre de courbes de référence	2	5

Critères d'évaluation	Fréquence des dépassements	Fréquence des dépassements et écart aux références
Seuils	Etablis à dire d'expert (Anne Goffart) pour les eaux côtières corses	A définir avec l'aide de statisticiens quand les données de sites eutrophisés en permanence seront disponibles
Perspectives		Envisager l'utilisation de l'imagerie satellitaire pour applique r l'indice à l'échelle de la Méditerranée.

En conclusion, l'indice $I_{C\text{Medit}}$ que nous avons développé est un indice de composition phytoplanctonique qui fournit des informations utiles sur l'intensité des pressions. Il est facile à mettre en œuvre et pourrait être utilisée à des fins de gestion.

Alvain S., Moulin C., Dandonneau Y., Loisel H., Bréon F.M. (2006) A species-dependent bio-optical model of case 1 waters for global ocean color processing. *Deep Sea Research Part 1*, 53 : 917-925

Alvain S., Moulin C., Dandonneau Y., Loisel H. (2008) Seasonal distribution and succession of dominant phytoplankton groups in the global ocean : a satellite view. *Global Biogeochemical Cycles*, 22 : GB3001

Goffart A. (2011) Mise au point de l'indice composition dans le cadre de l'indicateur phytoplancton : traitement des données pigmentaires des eaux côtières corses pour le développement d'un indice de composition phytoplanctonique. Rapport de convention ONEMA - IFREMER – STARESO, 20 pp

Mackey M.D., Mackey D.J., Higgins H.W., Wright S.W. (1996) CHEMTAX- a program for estimating class abundances from chemical markers : application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 144 : 265–283

Mackey M.D., Higgins H.W., Mackey D.J., Wright S.W. (1997) CHEMTAX user's manual : a program for estimating class abundances from chemical markers-application to HPLC measurements of phytoplankton pigments. CSIRO Marine Laboratories Report 229, Hobart, Australia, ISBN 0 643 06040 5 : 47 pp

RAPPORT COMPLET JOINT



**VALIDATION DE L'INDICE DE COMPOSITION PHYTOPLANCTONIQUE $I_{C\text{MEDIT}}$ DANS DES MASSES D'EAU COTIERES
MEDITERRANEENNES CARACTERISEES PAR UN GRADIENT CROISSANT D'EUTROPHISATION**

CONVENTION ONEMA - IFREMER – STARESO REFERENCE 12/5 210 883

ANNE GOFFART

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

SOMMAIRE

Resumé	2
1 Introduction	3
2 Matériel et méthodes	4
2.1 Sites de référence et acquisition de données	4
2.1.1 Corse	4
2.1.2 Région PACA	6
2.2 Prélèvements et analyses	6
2.3 Chémotaxonomie : avantages et limitations	6
3 Résultats et discussion.....	10
3.1 Variabilité de la composition phytoplanctonique entre sites non impactés	10
3.2 Exemples de réponses des communautés phytoplanctoniques aux forces de pression.....	11
3.3 Relations pigments - pressions	15
3.4 Evolution de l'indice $I_{C\text{Medit}}$	17
3.4.1 Rappel de l'indice 2010	17
3.4.2 Pigments retenus et courbes de référence	17
3.4.3 L'indice $I_{C\text{Medit}}$ en pratique : positionnement des mesures et seuils.....	18
3.4.4 Résumé de l'évolution de l'indice.....	20
4 Conclusions	20
5. Références	21
6. Remerciements.....	24

RESUME

$I_{C\ Medit}$ est un nouvel indice de composition phytoplanctonique adapté aux spécificités des eaux côtières méditerranéennes. Il utilise la signature pigmentaire du phytoplancton mesurée par HPLC comme méthode de détermination rapide de la composition floristique. Le but de cette étude est de faire évoluer et de valider l'indice développé en 2010 grâce aux résultats de mesures ciblées réalisées dans des masses d'eau côtières d'eau soumises à des forces de pression bien identifiées et d'intensité croissante.

Grâce à l'interprétation des données acquises dans les eaux côtières corses, nous avons (i) décrit la succession saisonnière des principaux groupes phytoplanctoniques dans les conditions de référence, (ii) étudié les réponses des différents groupes à des forces de pression ponctuelles et bien identifiées, (iii) évalué les écarts aux références observés dans des sites caractérisés par un gradient croissant d'eutrophisation, (iv) établi des relations pressions / impacts entre les concentrations en sels nutritifs et les concentrations en pigments, et (vi) établi des recommandations pour l'échantillonnage et pour la construction de l'indice.

Dans sa version 2014, $I_{C\ Medit}$ est un indicateur de composition phytoplanctonique facile à mettre en œuvre. Il fournit des informations utiles sur l'intensité des pressions et pourrait être utilisée à des fins de gestion. Il est remarquable de noter que les corrélations entre les sels nutritifs et les différents groupes sont presque toujours meilleures que celles entre les sels nutritifs et la biomasse totale. Néanmoins, en l'absence des données de la région PACA, il reste à définir des seuils de qualité. Ce point devra être développé en collaboration avec des statisticiens.

1 INTRODUCTION

Les directives cadres européennes sur l'eau (DCE) et sur la stratégie pour le milieu marin (DCSMM) établissent les principes selon lesquels les Etats membres doivent agir en vue d'atteindre le bon état écologique de leurs eaux côtières et du milieu marin aux horizons 2015 et 2020.

La DCE et la DCSMM recommandent d'utiliser le phytoplancton comme descripteur qualitatif des milieux. Ce choix est motivé par le rôle fondamental du phytoplancton dans les réseaux trophiques : en présence de sels nutritifs et de lumière, il assure la fixation initiale du carbone minéral et est à la base de la chaîne alimentaire. De plus, il répond en quelques jours aux perturbations provoquées par des apports anthropiques de sels nutritifs (eutrophisation) et à long terme aux variations de type climatique.

La biomasse, l'abondance et la composition du phytoplancton sont les paramètres retenus par la DCE et la DCSMM pour caractériser les communautés phytoplanctoniques. La biomasse phytoplanctonique totale est déterminée de façon universelle grâce aux mesures de chlorophylle *a* totale ($Tchl\ a = \text{chlorophylle } a^1 + \text{divinyl-chlorophylle } a$). L'abondance du phytoplancton est obtenue par dénombrement du nombre de cellules. De nombreuses techniques permettent d'étudier la composition phytoplanctonique. Les plus utilisées sont (i) l'identification taxonomique classique et les comptages effectués sous microscope inversé (méthode d'Uthermöhl), (ii) l'étude de la signature pigmentaire des communautés (chémostonomie, mesures HPLC) et (iii) la cytométrie en flux et la microscopie en épifluorescence. Dans certains cas, la microscopie électronique à balayage permet d'identifier des espèces que la microscopie classique ne permet pas de reconnaître avec certitude. Enfin, depuis quelques années, des équipements qui privilégient l'identification automatique du phytoplancton se développent. Certains sont prometteurs mais doivent être validés (cytomètres en flux couplés à de l'analyse d'images : FlowCAM/Phytoimage); d'autres ne sont pas adaptés aux milieux marins oligotrophes (Fluoroprobe).

Dans les eaux côtières françaises, la biomasse et l'abondance sont caractérisées par des métriques (P_{90} de la chlorophylle *a* pour la biomasse, pourcentage de blooms d'un certain nombre d'espèces pour l'abondance) bien définies pour la DCE. En ce qui concerne la composition, des travaux sont en cours sur les différentes façades. Dans les eaux côtières méditerranéennes, un premier travail mené grâce au soutien de l'ONEMA a abouti au développement de l'indice de composition $I_{C\ Medit}$ (Goffart 2011). $I_{C\ Medit}$ utilise la signature pigmentaire du phytoplancton comme méthode de détermination rapide de la composition floristique. Dans sa version initiale, $I_{C\ Medit}$ fixe les limites naturelles de l'évolution saisonnière de 2 grands ensembles phytoplanctoniques clés d'une masse d'eau de référence et mesure la fréquence des dépassements dans les masses d'eau à évaluer. Des dépassements nombreux traduisent une composition floristique altérée. Les 2 grands ensembles phytoplanctoniques clés ont été choisis en fonction de leur importance dans le fonctionnement de l'écosystème côtier méditerranéen et de leurs préférences trophiques. Le premier ensemble (DiDiCRY) comprend les diatomées, les dinoflagellés et les cryptophycées. Les cyanobactéries (CYANOS) constituent le second ensemble.

$I_{C\ Medit}$ a été conçu à partir des données pigmentaires du phytoplancton des eaux côtières corses. Contrairement à beaucoup de régions, les conditions de référence y sont bien connues, en particulier sur la côte occidentale où les suivis haute fréquence réalisés en Baie de Calvi permettent de fixer les limites de la variabilité naturelle des communautés. Par contre, les forces de pressions (drivers) rencontrées le long du littoral corse sont généralement faibles et limitées spatialement et/ou temporellement. Pour consolider l'utilisation de l'indice $I_{C\ Medit}$ dans les eaux côtières méditerranéennes, il est donc

¹ La chlorophylle *a* est présente dans tous les groupes phytoplanctoniques à l'exception des prochlorophytes où elle est remplacée par la divinyl-chlorophylle *a*.

indispensable d'étudier la réponse des communautés phytoplanctoniques dans des sites soumis à des pressions anthropiques d'intensité croissante.

Le but de cette étude est de valider l'indice de composition phytoplanctonique $I_{C\ Medit}$ dans des masses d'eau caractérisées par un gradient croissant d'eutrophisation. Plus spécifiquement, les objectifs de ce projet sont :

1. d'acquérir, au cours d'un cycle annuel ou à des périodes clés, un jeu de données pigmentaires cohérent dans des masses d'eau de type Island 3W et 3W soumises respectivement à des forces de pression ponctuelles et bien identifiées (e.g. aquaculture, mouillage forain) et à de fortes pressions urbaines, portuaires et/ou conchylicoles;
2. de valider une stratégie d'échantillonnage modulable définie en fonction des objectifs. Selon les besoins, les échantillons sont prélevés à des fréquences fixes ou variables dans les masses d'eau à évaluer. Les résultats sont ensuite comparés à ceux des sites de référence associés, échantillonnés eux à haute fréquence;
3. de corrélérer les variables phytoplanctoniques (pigments) avec les pressions (sels nutritifs) dans le but d'établir des relations pressions/impacts et de sélectionner les groupes phytoplanctoniques qui répondent le mieux aux forces de pression étudiées;
4. d'adapter l'indice $I_{C\ Medit}$ en fonction des résultats du point 3, tout en conservant l'aspect opérationnel de l'indice, et de définir les seuils de qualité.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 SITES DE REFERENCE ET ACQUISITION DE DONNEES

2.1.1 CORSE

En Corse, les conditions de référence ont été déterminées sur base des jeux de données de Calvi (côte occidentale, point en sortie de baie) et du point Sud Bastia (côte orientale). Les points choisis correspondent aux références DCE. Ils ont été définis à dire d'experts sur base de plusieurs critères (pressions mineures, existence de données historiques, accessibilité).

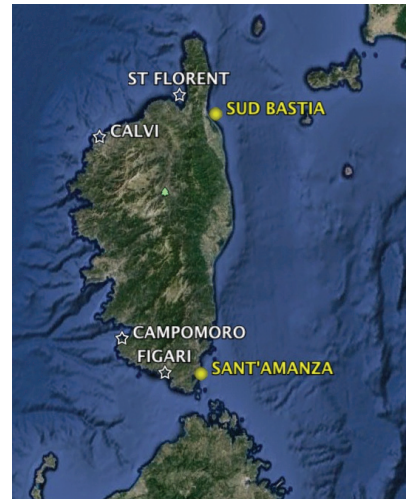
Le tableau 1 synthétise les caractéristiques des sites échantillonnés et les mesures réalisées dans le cadre du projet Indice de composition. En Corse, les données nécessaires à la validation de l'indice $I_{C\ Medit}$ ont été acquises dans quatre sites soumis à des forces de pressions ponctuelles et bien identifiées (figure 1). Des prélèvements ont également été réalisés au point Sud Bastia, pour lequel il n'y avait pas de données pigmentaires. Les prélèvements ont été effectués lors de cycles annuels, et dans certains cas, le long de transects (fond – sortie de golfe) échantillonnés juste au début de la saison touristique (début juin) et à la fin de celle-ci (fin août - début septembre). Au-delà des données acquises par le projet, les résultats des suivis haute fréquence du site de référence de Calvi (42.58050°N 8.7255°E) ont été intégrés au jeu de données utilisé dans ce travail. Ces suivis reposent sur des prélèvements bi-hebdomadaires réalisés dans le cadre de la DCE et d'autres projets Phytoplancton développés au départ de STARESO (données Anne Goffart). Ils permettent de décrire la variabilité temporelle de la dynamique saisonnière du phytoplancton et d'en fixer les limites.

Tableau 1

Caractéristiques des sites échantillonnés dans les eaux côtières corse et mesures réalisées dans le cadre du projet Indice de composition (2010 : phase 1, 2012-13 : phase 2).

<i>Site</i>	<i>Forces de pression et intensité relative (de + à +++)</i>	<i>Positions</i>	<i>Morphologie côtière et distance des points à la côte</i>	<i>Période d'échantillonnage</i>	<i>Nombre d'échantillons</i>	<i>Prélèvements</i>	<i>Analyses nutriments et pigments HPLC</i>
<i>Bastia, côte orientale corse</i>	- (référence)	42.62447° N 9.49115° E	Côte rectiligne, point à 2 115 m de la côte	04/12 - 04/13, 2 x par mois	22	Ifremer	Université de Liège (ULg) - A. Goffart
<i>Sant'Amanza, côte orientale corse</i>	Aquaculture, ++	Fond de golfe 41.40850°N 9.22102°E	Golfe long et relativement étroit, point à 350 m du fond de golfe	04/12 - 04/13, 1 x par mois	13	Ifremer	ULg A. Goffart
		Sortie de golfe 41.42967°N 9.26540°E	Point à 4 935 m du fond de golfe	04/12 - 04/13, 1 x par mois	13	Ifremer	ULg A. Goffart
		Transect entre 41.40850°N 9.22102°E et 41.42967°N 9.2654°E	10 points repartis entre le fond et la sortie de golfe	26/08/10 19/06/12 05/09/12	10 10 10	STARESO A. Goffart	ULg A. Goffart
<i>Saint Florent, côte occidentale corse</i>	Apports terrigènes, tourisme, plaisance, +++	Port de plaisance 42.67603°N 9.29994°E	Port de plaisance	03/12 - 02/13, cycle annuel, 1 x par mois	11	STARESO A. Goffart	ULg A. Goffart
		Sortie de golfe 42.73086°N 9.30619°E	Grand golfe ouvert vers le nord, point à 6 360 m du fond de golfe	03/12 - 02/13, cycle annuel, 1 x par mois	12	STARESO A. Goffart	ULg A. Goffart
		Transect entre 42.67603°N 9.29994°E et 42.73086°N 9.30619°E	8 points ajoutés aux 2 points mensuels	04/06/12 30/08/12	8 8	STARESO A. Goffart	ULg A. Goffart
<i>Campomoro, golfe du Valinco, côte occidentale corse</i>	Aquaculture et mouillage forain, +	Transect entre 41.64222°N 8.81139°E & 41.63833°N 8.82806°E	Petite baie ouverte vers le nord et protégée à l'ouest par un cap rocheux. Les 2 points situés aux extrémités du transect sont situés à 1 450 m du fond de la baie	06/06/12 06/09/12	10 10	STARESO A. Goffart	ULg A. Goffart
<i>Figari, côte occidentale corse</i>	Apports terrigènes, ++ et aquaculture en fin d'exploitation, +	Transect entre 41.47639°N 9.07389°E & 41.46278°N 9.05694°E	Golfe peu profond ouvert vers le SO, extrémités du transect situées respectivement à 340 et 2 235 m du fond de golfe	27/08/10	10	STARESO A. Goffart	ULg A. Goffart
	Apports terrigènes, ++			07/06/12 07/09/12	10 10	STARESO A. Goffart	ULg A. Goffart

Figure 1 *Position des sites échantillonnés dans le cadre de cette étude (eaux côtières corses).*



2.1.2 REGION PACA

En région PACA, trois sites soumis à de fortes pressions urbaines, portuaires et/ou conchylicoles (Lazaret, Carteau et sortie de port de la Seyne) et le site de référence associé (Cap Cepet) ont été échantillonnés deux fois par mois par le laboratoire LER/PAC de l'Ifremer. En raison de problèmes techniques survenus au sein du LER/PAC lors des analyses, les résultats de ces suivis ne sont pas utilisables.

2.2 PRELEVEMENTS ET ANALYSES

Les échantillons d'eau ont été prélevés en subsurface (1 m) à la bouteille Niskin. Pour éviter toute altération, le conditionnement des échantillons a été réalisé dans le quart d'heure suivant les prélèvements pour les sels nutritifs et dans l'heure pour les pigments. La fraction destinée à l'analyse des sels nutritifs (20 ml) a été congelée dans des flacons de polyéthylène stockés à -20° C jusqu'à l'analyse. Les flacons avaient été préalablement lavés à l'HCl dilué à 10% pendant 24 h, puis rincés trois fois avec de l'eau Milli-Q et trois fois avec l'eau de l'échantillon. Les échantillons d'eau destinés aux analyses pigmentaires par HPLC (0,3 - 1 L en fonction de la charge en matière organique) ont d'abord été conservés au frais dans des bidons noirs, puis préfiltrés sur une soie de 200 µm de vide de maille pour éliminer le mésozooplancton. Ils ont ensuite été filtrés sur filtre GF/F de 25 mm sous une pression inférieure à 100 mm de mercure. Les filtres, séchés à l'aide de papier de laboratoire absorbant, ont été stockés à -20° C jusqu'à l'analyse, réalisée dans les 3 mois suivant le prélèvement.

Les sels nutritifs ont été dosés sur un Technicon Autoanalyseur II selon les procédures décrites par Tréguer et Le Corre (1975) pour les nitrates et les nitrites, Hansen et Grasshof (1983) pour l'ammonium et Gordon et al. (1993) pour les silicates. L'extraction des pigments a été réalisée par sonication dans du méthanol selon la technique décrite par Vidussi et al. (2000). Les pigments ont ensuite été séparés par HPLC selon la technique décrite par Zapata et al. (2000) puis quantifiés à l'aide du logiciel Empower de Waters. Les courbes de calibration ont été réalisées à partir des pigments vendus par la société DHI (Danemark). Au total, 5 chlorophylles et 12 caroténoïdes sont séparés et quantifiés. Les courbes de calibration ont été réalisées à partir de solutions standards achetées chez OSIL.

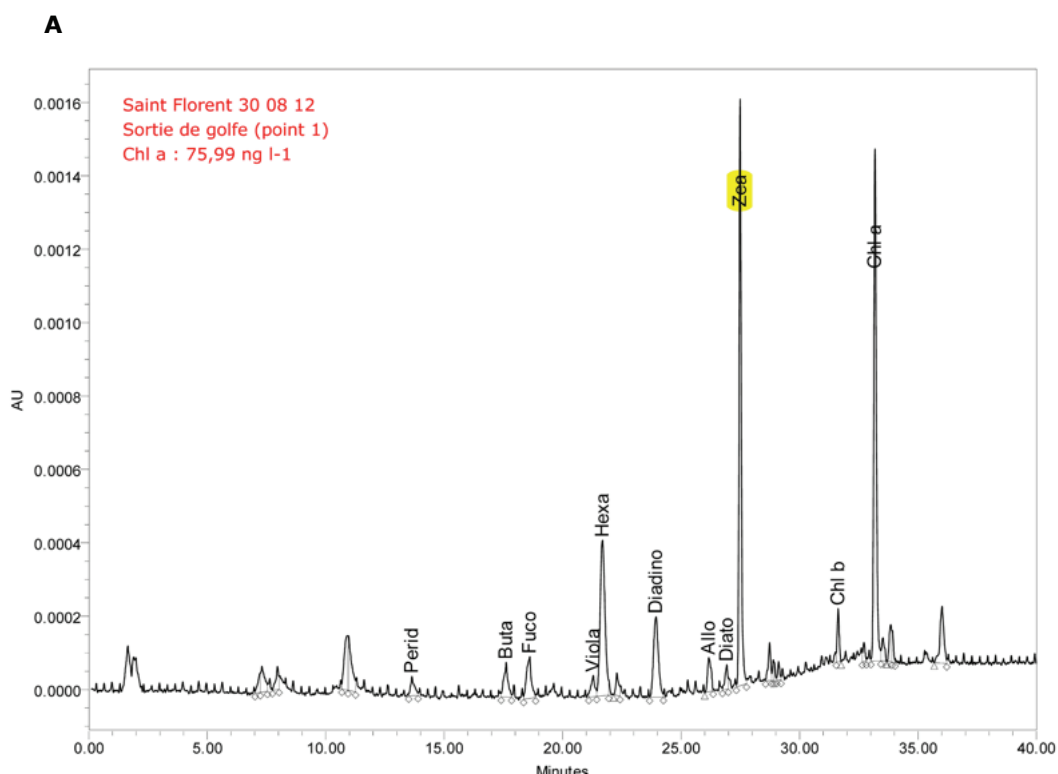
2.3 CHEMOTAXONOMIE : AVANTAGES ET LIMITATIONS

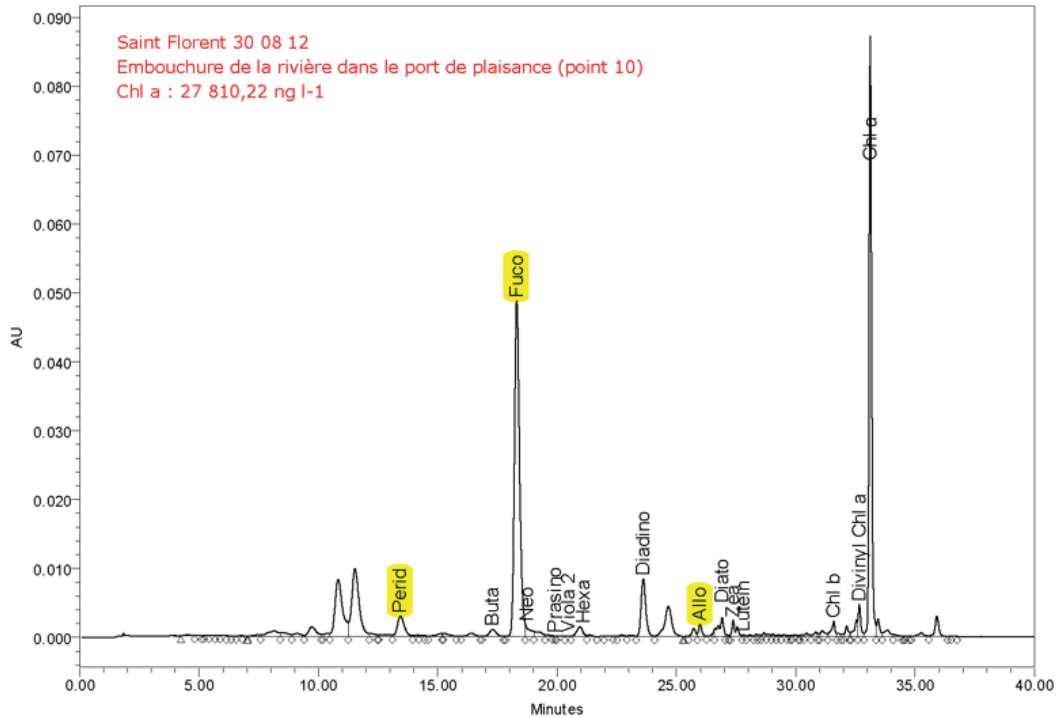
La chémotaxonomie est une méthode d'identification rapide basée sur la mesure du contenu pigmentaire

du phytoplancton. Les différents pigments, en particulier les chlorophylles et les caroténoïdes, sont séparés et quantifiés par HPLC. C'est la seule méthode qui permette (i) de mesurer la biomasse phytoplanctonique totale et (ii) d'identifier et de quantifier tous les groupes phytoplanctoniques présents dans un échantillon, indépendamment des classes de taille. Les petites cellules, qui ne peuvent pas être identifiées au microscope, et les cellules qui supportent mal la fixation, sont prises en compte grâce à leur contenu pigmentaire. Le niveau d'information taxonomique obtenu est suffisant pour rencontrer les besoins de la DCE et de la DCSSM et la rapidité des mesures (40 minutes pour une analyse pigmentaire complète) permet de traiter de grandes séries d'échantillons dans des délais rapprochés.

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

Figure 2 *Composition pigmentaire contrastée de 2 échantillons de phytoplancton du golfe de SAINT FLORENT (30 08 12). A : Sortie de golfe, échantillon typique d'un milieu oligotrophe dominé par les cyanobactéries, identifiées par leur pigment traceur, la zéaxanthine (Zea). B : Embouchure de la rivière dans le port de plaisance : échantillon typique d'un milieu très eutrophisé dominé par les diatomées, identifiées par leur pigment traceur, la fucoxanthine (Fuco). Pigments dosés selon Zapata et al. (2000), détection des pics à 440 nm.*



B

Deux méthodes peuvent être utilisées pour quantifier la biomasse des grands groupes présents (diatomées, dinoflagellés, prymnésiophycées, cryptophycées, cyanobactéries, ...) à partir des données de composition pigmentaire.

La méthode la plus simple utilise les concentrations en pigments diagnostiques comme traceurs directs : l'abondance d'un groupe (e.g. les dinoflagellés) est considérée comme étant directement proportionnelle à la concentration en pigment diagnostique (e.g. la périidine). Cette méthode ne nécessite aucune transformation des mesures après analyse. De plus, elle présente les avantages (i) d'être rapide et reproductible et (ii) de pouvoir être mise en œuvre dans des laboratoires qui maîtrisent les techniques HPLC, mais ne sont pas spécialisés en écologie du phytoplancton. Elle a cependant l'inconvénient de ne pas intégrer le fait que certains pigments traceurs se trouvent dans plusieurs groupes taxonomiques (tableau 2). Cette approche a été utilisée par de nombreux auteurs (e.g. Claustre et al. 1994, Bustillos-Guzman et al. 1995, Barlow et al. 1997, Goffart et al. 2000, Marty et al. 2002) dans tous les océans du monde.

Une méthode plus complexe, CHEMTAX (CHEMICAL TAXONOMY; Mackey et al. 1996, Mackey et al. 1997), offre la possibilité d'évaluer la biomasse des différents groupes sur base de plusieurs pigments par classe d'algues. CHEMTAX est un logiciel statistique basé sur une analyse numérique multi-matricielle dont le grand avantage est de permettre de distinguer des groupes qui ont des compositions pigmentaires proches. Par contre, CHEMTAX ne peut s'appliquer de manière efficace que dans les régions où une expertise précise du phytoplancton a été réalisée préalablement pour déterminer les groupes présents. Il faut ensuite établir une matrice des rapports pigments diagnostiques / chl *a* et l'introduire dans le programme. Ces rapports sont variables en fonction des conditions environnementales (e.g. disponibilité en sels nutritifs, éclaircissement, saison, profondeur), ce qui impose souvent d'avoir recours à plusieurs matrices (tableau 3) et introduit un risque d'erreurs et/ou d'interprétation subjective (Irigoien et al., 2004; Henriksen et al., 2011; Seoane et al., 2011). De plus, le traitement statistique des données comprend plusieurs étapes manuelles, ce qui alourdit considérablement le traitement des données. En Méditerranée, des applications de CHEMTAX ont principalement été réalisées sur le milieu pélagique

(Latasa et al. 1992, Latasa et al. 2005, Marty et al. 2008, Bel Hassen et al. 2008, Bel Hassen et al. 2009).

Tableau 2 *Pigments diagnostiques et signification taxonomique appliquée à la Méditerranée.*

Pigments	Abréviations	Groupes	Tailles μM	Références (non exhaustives)
Péridinine	Peri	Dinoflagellés	> 20	1
Butanoyloxyfucoxanthine	Buta	Pélagophycées	< 3	2, 3
Hexanoyloxyfucoxanthine	Hexa	Prymnesiophycées	< 20	2, 3, 4, 5
Néoxanthine	Neo	Prasinophycées Euglénophycées Chlorophycées	Toutes classes de taille > 20 10 - 40	1, 2, 3, 4
Prasinoxanthine	Prasino	Prasinophycées	Toutes classes de taille	2, 3, 4
Violaxanthine	Viola	Prasinophycées Chlorophycées	Toutes classes de taille 10 - 40	1, 2
Fucoxanthine	Fuco	Diatomées (pigment dominant) Prymnesiophycées Pélagophycées	généralement > 20 < 20 < 3	2, 3, 4, 6, 7, 8
Alloxanthine	Allo	Cryptophycées	2 - 20	1, 9
Zéaxanthine	Zea	Cyanobactéries : Synechococcus et Prochlorophytes Chlorophycées (traces)	< 2 10 - 40	2, 6, 12
Lutéine	Lut	Prasinophycées Chlorophycées	Toutes classes de taille 10 - 40	1, 10, 14
Chlorophylle b	Chl b	Prasinophycées Euglénophycées Chlorophycées	Toutes classes de taille > 20 10 - 40	1, 14, 15
Divinyl-chlorophylle a	Dv-chl a	Prochlorophytes	< 2	2, 6, 13

1 : Jeffrey et al. 2005, 2 : Marty et al. 2008, 3 : Latasa et al. 2010, 4 : Bel Hassen et al. 2009, 5 : Wright & Jeffrey 1987, 6 : Vidussi et al. 2000, 7 : Bustillos-Guzman et al. 1995, 8 : Andersen et al. 1993, 9 : Vidussi et al. 2001, 10 : Mackey et al. 1996, 11 : Latasa et al. 2005, 12 : Guillard et al. 1985, 13 : Marty et al. 2002, 14 : Roy 2011, 15 : Jarry et al. 1990.

Dans ce travail, nous utiliserons les concentrations en pigments diagnostiques pour développer et faire évoluer l'indice $I_{C\text{MEDIT}}$. Pour les raisons expliquées ci-dessus, cette approche nous paraît plus facile à mettre en œuvre et plus opérationnelle que CHEMTAX. C'est aussi le choix qui a été fait par Alvain (2006) et Alvain et al. (2006, 2008) pour établir des cartes de distribution spatio-temporelle des principaux groupes de phytoplancton à partir de l'imagerie satellitaire. L'utilisation de CHEMTAX sera réservée à des études de cas conduites par des spécialistes du phytoplancton. Par ailleurs, une première comparaison entre les résultats obtenus par la méthode des concentrations en pigments diagnostiques et ceux obtenus après traitement des données par CHEMTAX a montré la très bonne correspondance entre les résultats (Goffart, 2011).

Tableau 3

Matrice de rapports pigments diagnostiques / chl a à introduire dans CHEMTAX pour 3 périodes distinctes (bloom, post bloom et période stratifiée). Tableau valable pour le phytoplancton de surface de la Méditerranée Occidentale (zone du large entre les Baléares, la Corse et la Sardaigne). Bacillariophyceae = diatomées; voir tableau 2 pour les abréviations. D'après Latasa et al 2010.

	Chl c ₂	Per	19'But	Fuco	Pras	19'Hex	Allo	Zea	Chl b
Cryptophyceae									
Bloom	0.36	-	-	-	-	-	0.62	-	-
Post-bloom	0.30	-	-	-	-	-	0.67	-	-
Stratification	0.37	-	-	-	-	-	0.74	-	-
Bacillariophyceae									
Bloom	0.36	-	-	0.75	-	-	-	-	-
Post-bloom	0.12	-	-	0.87	-	-	-	-	-
Stratification	0.22	-	-	0.70	-	-	-	-	-
Dinophyceae									
Bloom	0.38	0.65	-	-	-	-	-	-	-
Post-bloom	0.52	0.38	-	-	-	-	-	-	-
Stratification	0.31	0.71	-	-	-	-	-	-	-
Prymnesiophyceae									
Bloom	0.23	-	-	0.17	-	0.72	-	-	-
Post-bloom	0.18	-	-	0.28	-	0.42	-	-	-
Stratification	0.22	-	-	0.03	-	1.01	-	-	-
Pelagophyceae									
Bloom	0.45	-	0.78	0.27	-	-	-	-	-
Post-bloom	0.16	-	0.90	0.31	-	-	-	-	-
Stratification	0.27	-	0.97	0.03	-	-	-	-	-
Prasinophyceae									
Bloom	-	-	-	-	0.12	-	-	-	0.40
Post-bloom	-	-	-	-	0.09	-	-	-	0.58
Stratification	-	-	-	-	^a	-	-	-	0.79
Synechococcus spp.									
Bloom	-	-	-	-	-	-	-	0.63	-
Post-bloom	-	-	-	-	-	-	-	0.66	-
Stratification	-	-	-	-	-	-	-	0.72	-

^aConcentrations of prasinolaxanthin were too low to be included in the analyses

3 RESULTATS ET DISCUSSION

Suite aux problèmes techniques survenus au sein du LER/PAC de l'Ifremer lors des analyses des échantillons prélevés en région PACA, seuls les résultats des eaux côtières corses sont disponibles et discutés dans ce chapitre.

3.1 VARIABILITE DE LA COMPOSITION PHYTOPLANCTONIQUE ENTRE SITES NON IMPACTES

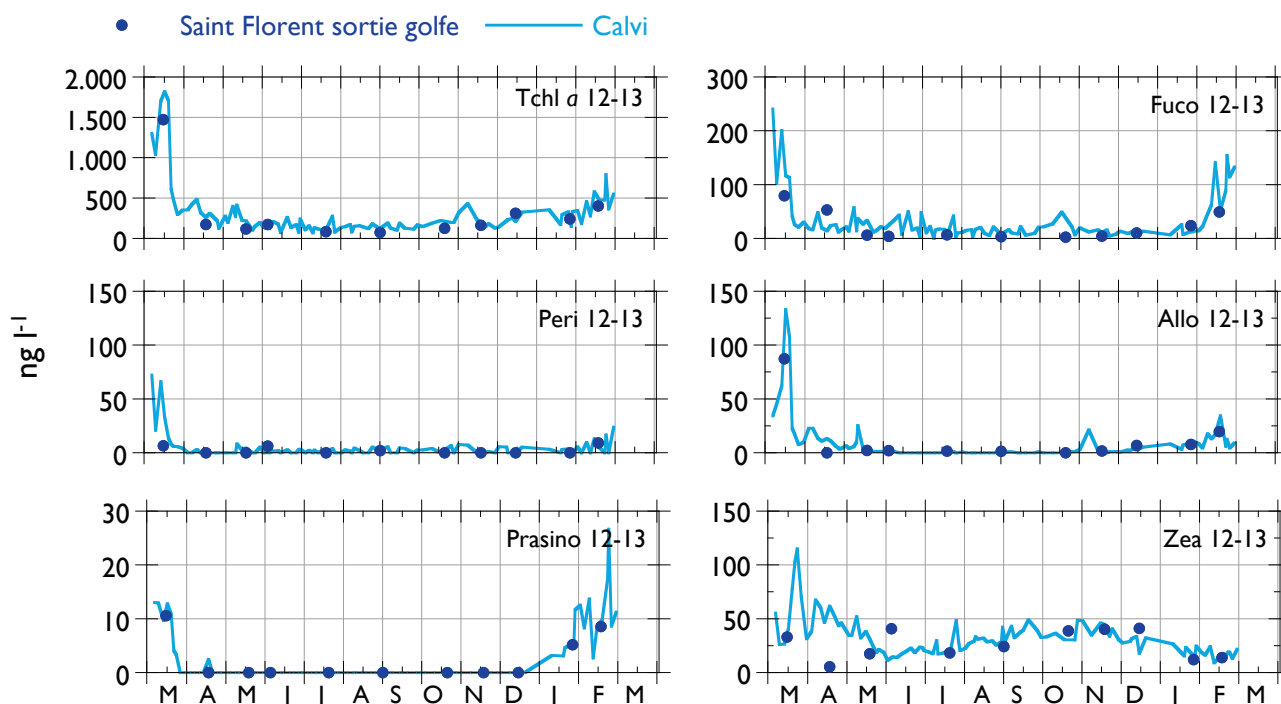
Dans le cadre des contrôles de surveillance du phytoplancton, l'Agence de l'Eau RMC et l'Ifremer soutiennent un échantillonnage à haute fréquence des sites de référence. Les données acquises lors de ces suivis sont considérées comme représentatives de la dynamique du phytoplancton des autres masses d'eau non impactées. Le bien fondé de ce choix, qui intègre les spécificités de l'écosystème planctonique des eaux côtières méditerranéennes, a été démontré pour la biomasse (Goffart 2007).

Au-delà de la biomasse, les mesures réalisées dans le cadre de ce projet permettent d'étudier la variabilité de la composition phytoplanctonique le long des deux côtes corses. Les résultats mettent en évidence la très bonne correspondance entre les concentrations en pigments mesurées au cours d'un cycle annuel (i) dans la masse d'eau de référence de Calvi et en sortie de golfe à Saint Florent (côte

occidentale, figure 3) et (ii) au point de référence Sud Bastia et en sortie de golfe à Sant’Amanza (côte orientale, figure 4). La correspondance est particulièrement remarquable sur la côte occidentale, où les deux masses d’eau ont été échantillonnées simultanément ou avec un décalage d’un jour.

Figure 3

Evolution temporelle (mars 2012 – février 2013) de la biomasse phytoplanctonique totale et de 5 pigments traceurs en Baie de CALVI (trait continu, suivi haute fréquence, 111 mesures) et en sortie de golfe à SAINT FLORENT (points bleus, prélèvements mensuels). Prélèvements en subsurface, mesures HPLC. Tch1 a : chl a+ divinyl chl a; voir tableau 1 pour les autres abréviations.



Ces résultats montrent pour la première fois que :

- la distribution des concentrations en pigments diagnostiques dans les sites non impactés est homogène;
- l'évolution saisonnière des grands groupes fonctionnels est synchrone entre les différentes masses d'eau non impactées des côtes occidentale et orientale.

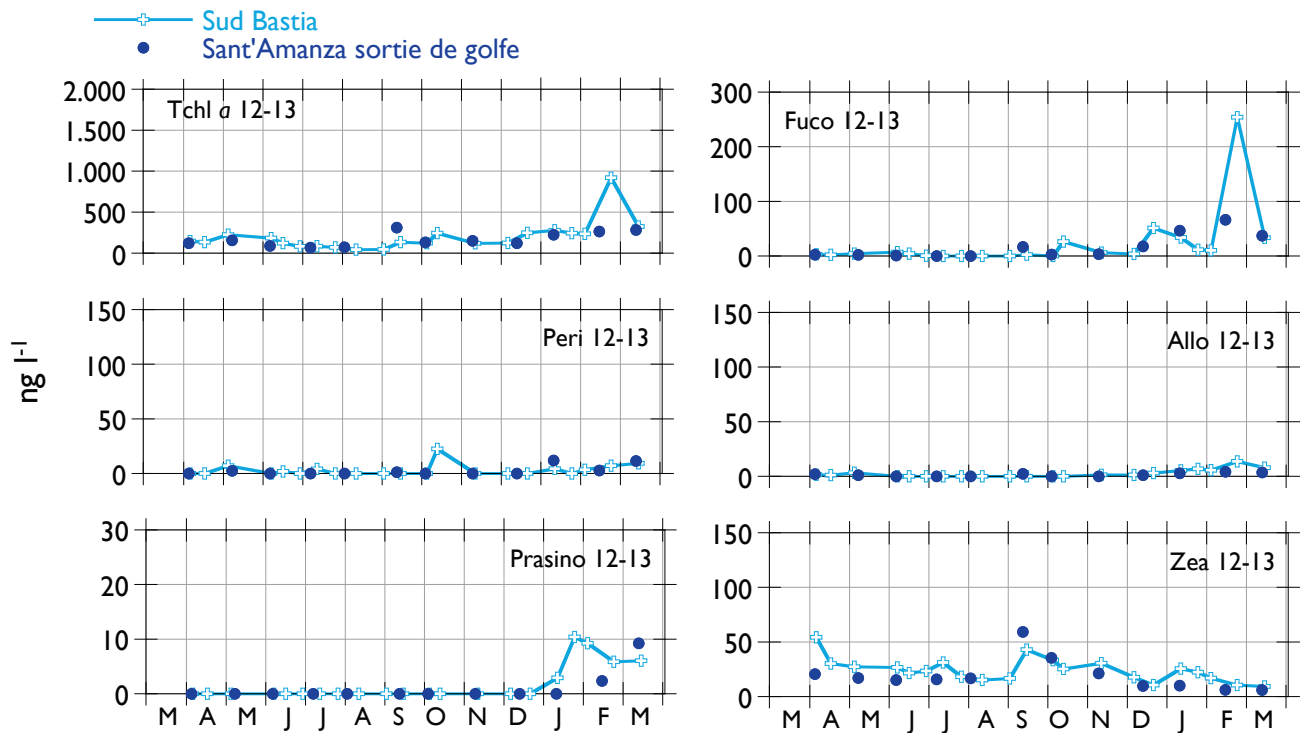
Ils confirment aussi la répartition uniforme de la biomasse totale le long de chacune des deux côtes déjà mise en évidence dans Goffart 2007.

3.2 EXEMPLES DE REPONSES DES COMMUNAUTES PHYTOPLANCTONIQUES AUX FORCES DE PRESSION

Dans les eaux côtières corses, les communautés phytoplanctoniques sont généralement en bon ou en très bon état. Il existe cependant un certain nombre de sites où une force de pression (e.g. aquaculture, apport fluviaux, plaisance, ...) altère localement la qualité de l'eau. L'existence de ces forces pressions ponctuelles et bien identifiées, relativement rares en dehors de la Corse, permet d'étudier la corrélation entre la modification de la composition du phytoplancton et la nature des perturbations. Ce paragraphe n'est pas exhaustif, mais présente quelques exemples d'altérations de la composition du phytoplancton en réponse à une force de pression.

Figure 4

Evolution temporelle (avril 2012 – mars 2013) de la biomasse phytoplanctonique totale et de 5 pigments traceurs au point SUD BASTIA (trait continu et croix, prélèvements bi-mensuels) et en sortie de golfe à SANT'AMANZA (points bleus, prélèvements mensuels). Prélèvements en subsurface, mesures HPLC. Tchl a : chl a+ divinyl chl a; voir tableau 1 pour les autres abréviations.



L'analyse d'une première série de résultats avait montré l'impact de l'*aquaculture* sur la qualité du phytoplancton de Sant'Amanza (Goffart 2011) : les points échantillonnés à proximité des cages fin août montraient un développement très élevé de cyanobactéries, probablement favorisé par l'ammonium issu de la dégradation des déchets de l'exploitation aquacole. Les points situés en sortie de golfe étaient par contre très proches des valeurs de référence.

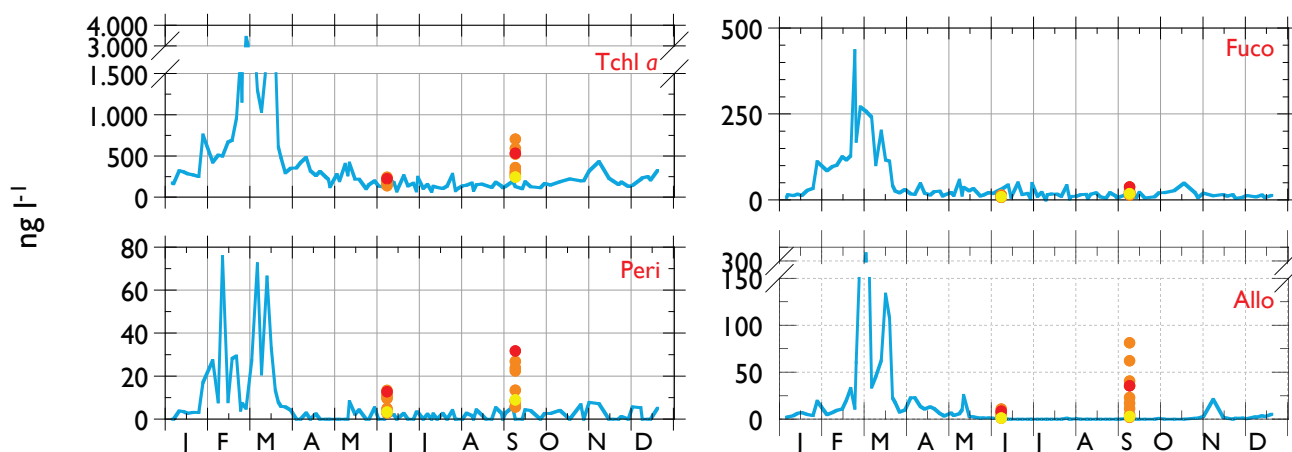
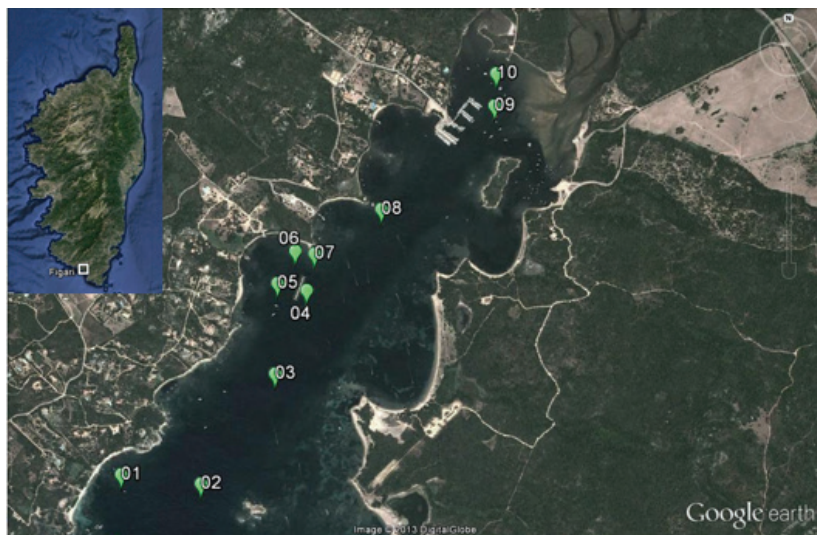
En Baie de Calvi, une étude en cours montre qu'il existe une corrélation positive et significative entre l'augmentation des cyanobactéries et le nombre de bateaux présents dans une zone de *mouillage forain* de relativement petite taille (Goffart et al. in preparation). Les apports diffus liés aux rejets des eaux usées de la plaisance paraissent donc suffisants pour affecter la composition du phytoplancton en période estivale et privilégier le développement d'un groupe dont la croissance est favorisée par la présence d'ammonium (e.g. Blasco & Conway 1982, Moore et al. 2002; Domingues et al. 2011).

A Figari, deux transects ont été réalisés entre le fond du golfe, qui est soumis à des *apports fluviaux* et enrichi par la présence d'une zone humide, et sa sortie (figure 5). L'analyse des communautés phytoplanctoniques montre qu'en début de saison touristique (07/06/12), la biomasse et les concentrations en pigments diagnostiques sont proches des valeurs de référence, à l'exception de la péricidine, traceur des dinoflagellés, dont les concentrations sont plus élevées dans la zone proche des rejets fluviaux (figure 5).

Figure 5

Variations des concentrations en Tchl a, fucoxanthine (Fuco), périidine (Peri) et alloxanthine (Allo) le long d'un transect situé entre le fond (point 10) et la sortie du golfe (point 1) de FIGARI et comparaison avec les données du site de référence de CALVI. Transect de Figari échantillonné les 07/06/12 et 07/09/12; données de Calvi : janvier - décembre 12. Prélèvements en subsurface, mesures HPLC.

Golfe de Figari



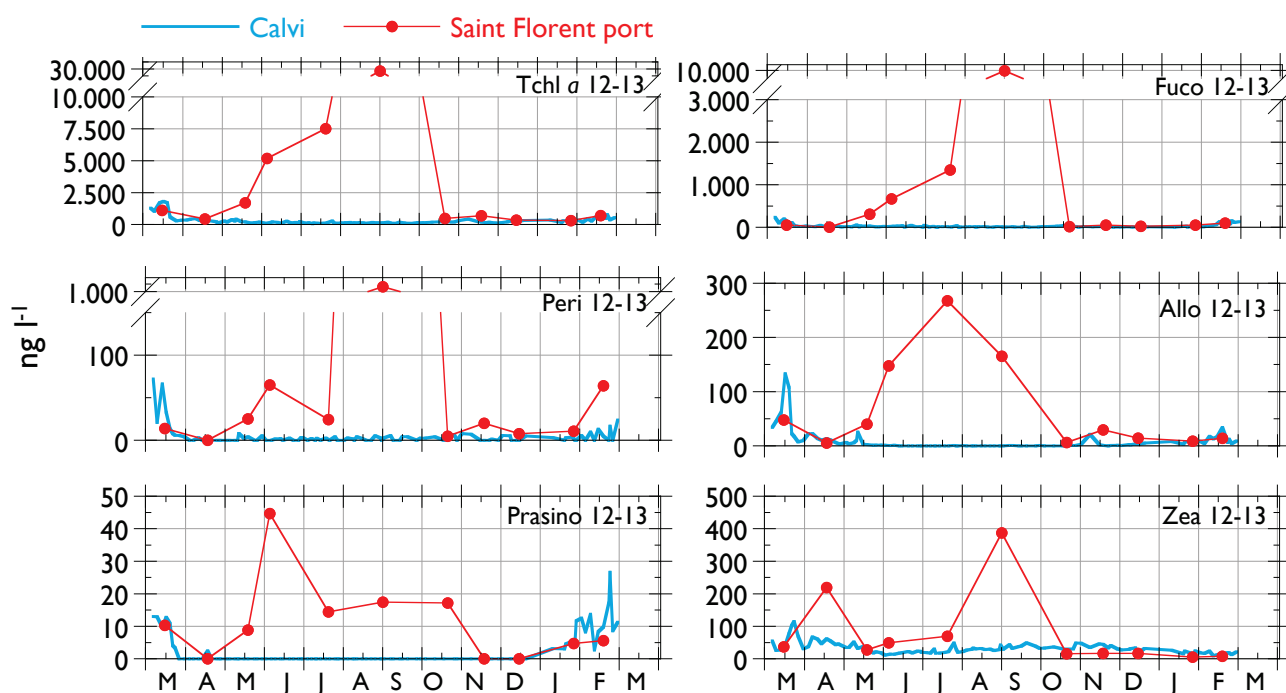
En fin d'été (07/09/12), la situation s'est fortement dégradée dans tout le golfe, avec une forte augmentation de la biomasse totale (Tchl a) et de plusieurs pigments, dont la périidine et l'alloxanthine, traceur des cryptophycées. Seul le point situé en sortie de golfe n'est pas, ou peu, altéré. Dans cet exemple, le développement anormal des dinoflagellés et des cryptophycées peut être mis en relation avec l'enrichissement du site par les apports fluviaux et la réduction des échanges avec le large, notamment en raison des vents dominants qui ont tendance confiner l'eau dans le golfe et à réduire son renouvellement.

A Saint Florent, l'impact de forces de *pression intenses et multiples* (activités portuaires, rejets urbains, embouchure de l'Aliso, un petit fleuve côtier) sur la biomasse et la composition phytoplanctonique a été étudié lors d'un cycle annuel réalisé dans le port de plaisance (figure 6). Dans le port, la biomasse phytoplanctonique totale s'accroît de manière continue et spectaculaire de mai à fin août, pendant la

haute saison touristique². Pendant cette période, tous les groupes présentent des biomasses anormalement élevées et des écarts à la référence très marqués. Les groupes les plus impactés sont les diatomées, les dinoflagellés et les cryptophycées, identifiés respectivement par leurs pigments traceurs, la fucoxanthine, la périidine et l'alloxanthine. A partir d'octobre, la situation revient à la normale et les communautés phytoplanctoniques retrouvent des caractéristiques proches de celles observées en sortie de golfe (figure 3) et à Calvi. Pour les prasinophycées, le retour à la normale est un peu plus long et est observé à partir de novembre. Dans cet exemple, l'altération de la biomasse et de la composition phytoplanctonique présente un caractère saisonnier prononcé qui reflète l'intensité des forces de pression durant la période estivale.

Figure 6

Evolution temporelle (mars 2012 – février 2013) de la biomasse phytoplanctonique totale et de 5 pigments traceurs en Baie de CALVI (trait continu, suivi haute fréquence, 111 mesures) et dans le port de SAINT FLORENT (points rouges, prélèvements mensuels). Prélèvements en subsurface, mesures HPLC. Tchl a : chl a + divinyl chl a; voir tableau 1 pour les autres abréviations.



Les résultats présentés ci-dessus soulignent le bien fondé de la stratégie d'échantillonnage retenue pour le développement de l'indice $I_{C\text{ MEDIT}}$ dans les eaux côtières corses. A condition de disposer de suivis haute fréquence des masses d'eau de référence, des mesures ponctuelles réalisées à des périodes clés dans une baie ou dans un golfe permettent (i) de mesurer l'altération de la composition phytoplanctonique à proximité des points de pression et (ii) de mettre en évidence le retour à la normale avec l'éloignement des points de rejets. A plus grande échelle, des suivis mensuels réalisés à des points fixes dans différentes masses d'eau permettent d'obtenir une image globale de l'état du phytoplancton d'une région. Dans ce cas, l'effort d'échantillonnage sera valorisé au mieux si les recommandations suivantes sont respectées :

² Une concentration maximale en Tchl a de 27 810 ng l⁻¹ a été mesurée fin août dans le port de plaisance, alors qu'elle était de 76 ng l⁻¹ en sortie de golfe.

- veiller à ce que l'échantillonnage couvre un cycle annuel complet (janvier – décembre),
- effectuer les prélèvements dans les différentes masses d'eau à date fixe (par exemple partout le premier mardi de chaque mois), afin de disposer d'un jeu de données le plus synoptique possible.

En conclusion, les résultats présentés ci-dessus :

- montrent des modifications importantes de la composition phytoplanctonique en réponse à des forces de pression saisonnières bien localisées;
- contribuent à établir des liens entre la nature des forces de pression et la réponse spécifique de certains groupes (e.g. diatomées ou cyanobactéries);
- mettent en évidence que les communautés phytoplanctoniques retrouvent des caractéristiques proches de celles des milieux de référence avec l'éloignement des points de rejets.

3.3 RELATIONS PIGMENTS - PRESSIONS

Dans la première version de l'indice I_{C_MEDIT} , deux grands ensembles phytoplanctoniques avaient été retenus en fonction de leurs rôles clés dans le fonctionnement de l'écosystème côtier méditerranéen et de leurs préférences trophiques (Goffart 2011). Le premier ensemble (DIDICRY) comprenait les diatomées, les dinoflagellés et les cryptophycées. Ces trois groupes sont connus pour préférer les milieux méditerranéens eutrophes (riches en sels nutritifs; Latasa et al. 2010). Les cyanobactéries (*Synechococcus* et *Prochlorococcus*) constituaient le second ensemble (CYANOS). Dans les zones de référence méditerranéennes, les cyanobactéries sont présentes toute l'année, mais préfèrent les milieux pauvres en sels nutritifs (milieux mésotrophes devenant oligotrophes, milieux oligotrophes et ultraoligotrophes) ou enrichis en ammonium (e.g. Blasco & Conway 1982, Moore et al. 2002; Domingues et al. 2011).

Dans cette étude, la réponse aux pressions des groupes retenus initialement sur base d'une analyse écologique a été étudiée dans le but (i) d'établir des relations pressions / impacts et (ii) de consolider le choix initial des pigments inclus dans l'indice I_{C_MEDIT} . En l'absence des données de la région PACA, qui auraient dû être comparées aux résultats des cycles annuels réalisés en Corse (échantillonnage homogène), une analyse a été effectuée sur l'ensemble des données corses (cycles annuels et transects). Des tests de corrélation de Spearman et de Pearson ont été réalisés pour étudier les relations entre les concentrations en sels nutritifs (nitrates, nitrites, silicates et ammonium) et celles en pigments diagnostiques. Les tests ont été menés séparément sur les façades occidentale et orientale, soumises à forces de pression différentes, puis sur l'ensemble des données (tableau 4). Malgré la diversité des fréquences de prélèvements, les résultats sont encourageants et montrent que 7 pigments sont corrélés de façon significative aux pressions. Parmi ceux-ci, les deux pigments (lutéine et 19'HF) qui n'apparaissent qu'une fois dans le tableau des corrélations ne sont pas retenus. Les autres pigments qui répondent aux pressions sont la périidine, la fucoxanthine, l'alloxanthine, la zéaxanthine et la prasinoxanthine. Ces corrélations confortent le choix des quatre pigments inclus dans la première version de l'indice I_{C_MEDIT} . Ils seront maintenus dans la version 2014 de l'indice, mais étudiés individuellement puisqu'ils ne répondent pas tous aux mêmes pressions :

- réponse de la périidine (dinoflagellés) aux silicates,
- réponse de la fucoxanthine (diatomées) aux nitrates et aux silicates,
- réponse de l'alloxanthine (cryptophycées) aux nitrites et aux silicates,
- réponse de la zéaxanthine (cyanobactéries) aux nitrates, aux nitrites et à l'ammonium.

Un cinquième pigment, la prasinoxanthine (prasinophycées), répond aux nitrites et aux silicates comme l'alloxanthine. Cependant, ces deux pigments présentent des évolutions saisonnières différentes, aussi

bien en conditions de référence (figures 3 et 4) qu'en milieu fortement impacté (figure 6). En conséquence, la prasinoxanthine sera intégrée dans la version 2014 de l'indice $I_{C\text{ MEDIT}}$.

Tableau 4	<i>Corrélations significatives entre les pigments phytoplanctoniques mesurés par HPLC et les concentrations en sels nutritifs dans les eaux côtières corses. Données acquises dans le cadre des projets Indice de composition 2010 et 2012-2013 & données hebdomadaires mesurées à Calvi aux mêmes périodes. Côte occidentale : n = 143, côte orientale : n = 78 ; r : coefficient de détermination; * : p-value < 0,0001; ** : p-value = 0.</i>
-----------	---

Pigment et groupe associé	Indicateur de pression	COTE OCCIDENTALE		COTE ORIENTALE		COTES OCCIDENTALE ET ORIENTALE	
		Spearman r	Pearson r	Spearman r	Pearson r	Spearman r	Pearson r
TChl α	Nitrites	0,47*					
	Silicates	0,44*					
	Ammonium				0,51*		
Péridinine / dinoflagellés	Silicates	0,41*				0,32**	
Fucoxanthine / diatomées	Nitrates			0,43**		0,32**	
	Silicates					0,32**	
Prasinoxanthine / prasinophycées	Nitrites	0,56*	0,48*				
	Silicates	0,48*				0,33**	
19'HF / prymnesiophycées	Ammonium				0,59*		
Alloxanthine / cryptophycées	Nitrites	0,54*					
	Silicates	0,51*				0,42**	
Zéaxanthine / cyanobactéries	Nitrates	-0,44**				-0,36**	
	Nitrites			-0,44**			
	Ammonium				0,59*		
Lutéine / prasinophycées, chlorophycées	Ammonium				0,49*		

Il est aussi remarquable de noter que les corrélations entre les sels nutritifs et les différents groupes sont presque toujours meilleures que celles entre les sels nutritifs et la biomasse totale. En Méditerranée, très peu d'études mettent en évidence des relations pression/impacts sur le phytoplancton. A notre connaissance, seuls Pachés et al (2012) établissent des relations sur base de la réponse des communautés aux concentrations en phosphore total.

En conclusion, ces résultats établissent le lien entre la composition phytoplanctonique et certaines pressions anthropiques. Plus spécifiquement, ils montrent que :

- les pigments diagnostiques mesurés par HPLC constituent un bon outil pour détecter les changements de la composition phytoplanctonique en relation avec les pressions polluantes;

- dans les eaux de type 3W Island, l'analyse de 5 pigments permet de quantifier les effets des pressions anthropiques sur la composition du phytoplancton aussi bien à l'échelle d'une masse d'eau qu'à une échelle locale (e.g. une baie).

3.4 EVOLUTION DE L'INDICE $I_{C \text{ MEDIT}}$

3.4.1 RAPPEL DE L'INDICE 2010

L'indice $I_{C \text{ MEDIT}}$ a été développé à partir des données pigmentaires des eaux côtières corses (Goffart 2011). Il se base sur :

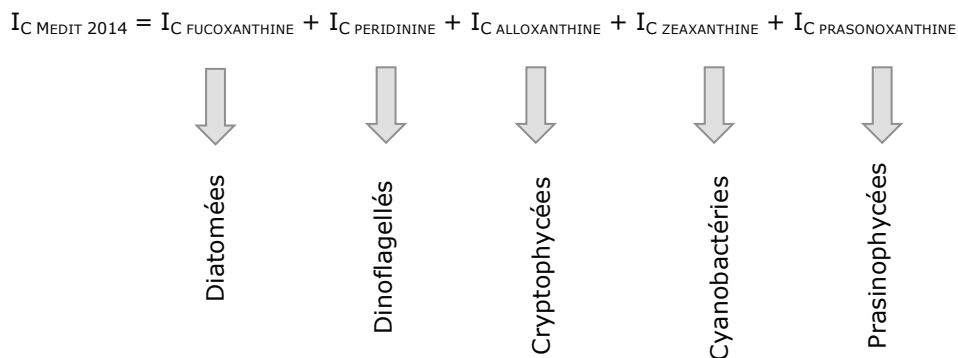
- la construction de courbes de référence qui décrivent l'évolution saisonnière d'une sélection de groupes fonctionnels dans les masses d'eau de référence,
- le positionnement des données acquises dans les sites à évaluer sur les courbes de référence associées,
- la mesure de la fréquence des éventuels dépassements.

3.4.2 PIGMENTS RETENUS ET COURBES DE REFERENCE

Les pigments phytoplanctoniques qui seront intégrés dans la version 2014 de l'indice $I_{C \text{ MEDIT}}$ sont ceux qui répondent aux pressions (cfr § 3.3). A ce jour, l'indice de composition $I_{C \text{ MEDIT } 2014}$ est composé de 5 sous-indices. Chaque sous-indice est associé à un pigment diagnostique dont la concentration est proportionnelle à l'abondance du groupe dont il est le traceur (figure 7).

Figure 7

Représentation schématique de l'indice $I_{C \text{ MEDIT } 2014}$.



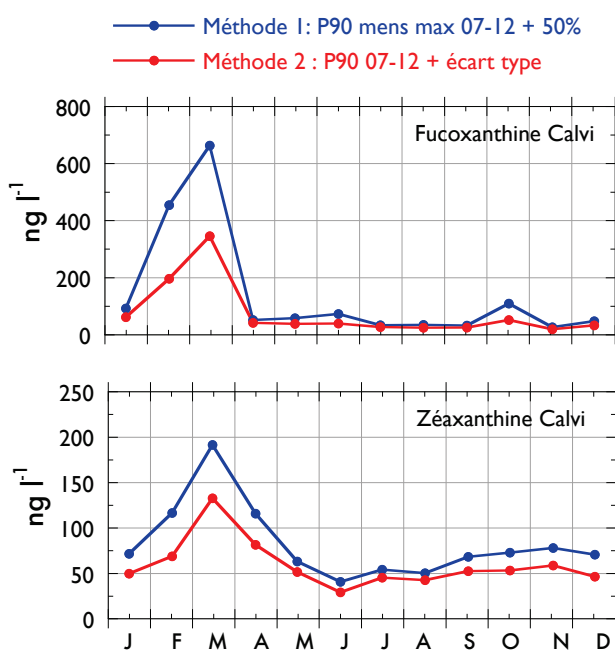
Une courbe de référence décrit l'évolution saisonnière naturelle de chaque pigment diagnostique. Elle est construite à partir des données haute fréquence du (des) site(s) de référence et est assortie d'une marge de sécurité qui intègre la variabilité interannuelle des communautés. Dans notre cas, les données haute fréquence de Calvi (période 2007-2012) ont été utilisées pour tester deux méthodes de construction des courbes (figure 8).

Méthode 1: pour chaque pigment et pour chaque année, les percentiles 90 mensuels sont calculés (e.g. janvier 2007 : 9,20 ng l⁻¹, janvier 2008 : 44,10 ng l⁻¹; janvier 2009 : 27,02 ng l⁻¹; janvier 2010 : 30,06 ng l⁻¹, janvier 2011 : 61,48 ng l⁻¹, janvier 2012 : 57,43 ng l⁻¹ pour la fucoxanthine) et la valeur maximale est conservée (61,48 ng l⁻¹). Une marge de sécurité de 50% est ajoutée (61,48 ng l⁻¹ devient 92,22 ng l⁻¹). Le principe de la marge de sécurité vise à intégrer la variabilité interannuelle des communautés phytoplanctoniques. Il a été proposé par Devlin (2008).

Méthode 2: pour chaque pigment, les percentiles 90 mensuels sont calculés sur la durée d'un plan de gestion (e.g. janvier 2007-2012 : 39,10 ng l⁻¹ pour la fucoxanthine). L'écart type est ajouté (39,10 ng l⁻¹ devient 62,15 ng l⁻¹).

La comparaison entre les courbes obtenues par les deux méthodes montre que la seconde méthode est beaucoup plus pénalisante. Elle n'intègre pas suffisamment la variabilité interannuelle naturelle du système, qui est importante à la fin de l'hiver et au début du printemps et est directement contrôlée par les processus physiques (Goffart et al 2002; Goffart et al. in revision). La méthode 1 est retenue pour la construction des courbes de référence. Elle avait été développée pour la version 2010 de l'indice I_{C Medit} et est conservée.

Figure 8 *Courbes de référence établies selon les méthodes 1 et 2 détaillées ci-dessus sur base des données des suivis haute fréquence de CALVI (données DCE et autres projets Anne Goffart, 465 données, 2007-2012). Exemples de la fucoxanthine et de la zéaxanthine.*



3.4.3 L'INDICE I_{C MEDIT} EN PRATIQUE : POSITIONNEMENT DES MESURES ET SEUILS

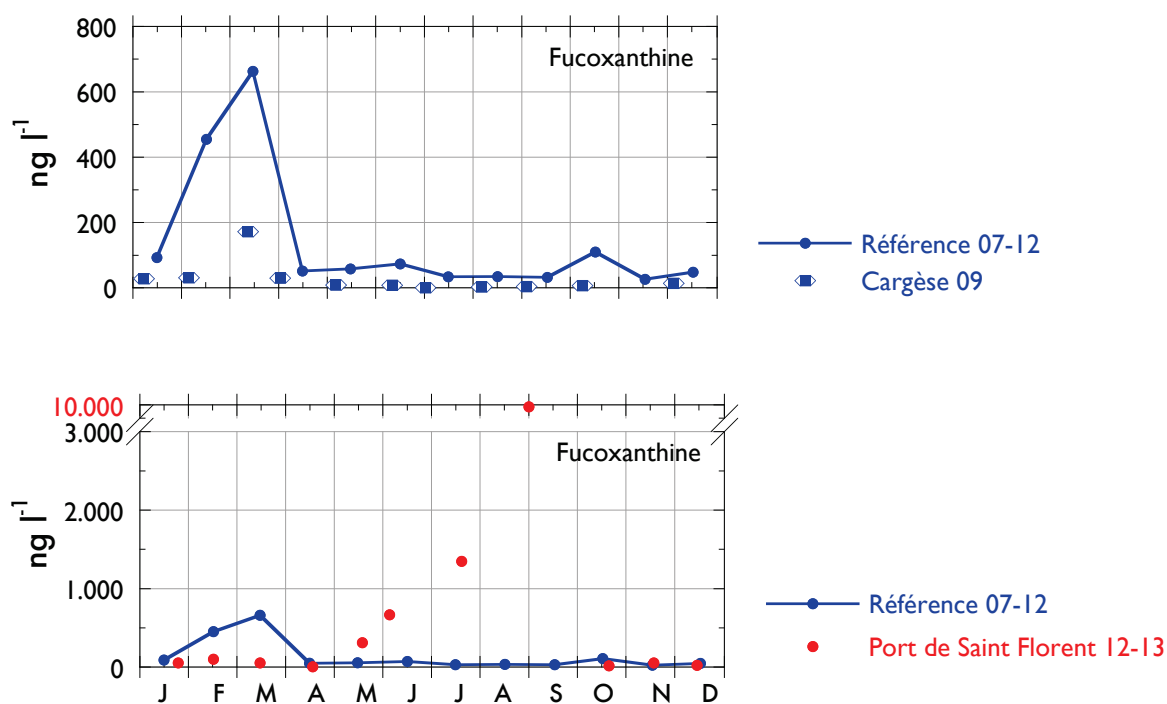
Dans un premier temps, les courbes de référence des 5 pigments diagnostiques inclus dans la version 2014 de l'indice I_{C Medit} doivent être élaborées. Les concentrations des cinq pigments sont ensuite mesurées dans les masses d'eau ou les sites à évaluer. Pour chaque pigment, les mesures sont reportées sur la courbe de référence associée. Un point correspond à une mesure. Si toutes les mesures (ou pratiquement toutes) sont situées entre la courbe de référence et l'axe des x, la composition floristique de la masse d'eau à évaluer ne se distingue pas de celle de la masse d'eau de référence associée (figure 9, exemple de Cargèse). Par contre, un nombre élevé de points situés à l'extérieur de la courbe de référence met en évidence des concentrations anormalement élevées en pigment diagnostique, et donc une composition floristique altérée (figure 9, exemple du port de Saint Florent).

Dans la version 2010 de l'indice I_{C Medit}, le pourcentage du nombre de points situés à l'extérieur des courbes de référence était considéré pour évaluer la qualité de la masse d'eau (tableau 5). Les seuils proposés dans la première version de l'indice I_{C Medit} avaient été établis sur base de mon expertise et de

ma connaissance du terrain. Il faut cependant noter que le faible écart entre les classes risque d'engendrer des incertitudes de classement. A l'heure actuelle, il apparait utile de travailler aussi sur l'importance de l'écart aux courbes de référence, et de combiner les deux informations. Les nouveaux seuils devront intégrer le pourcentage du nombre de points situés à l'extérieur des courbes de référence et leur éloignement à celles-ci, mais l'absence des données de la région PACA ne permet pas d'avancer sur ce point. Le développement de ce volet spécifique implique la participation de spécialistes en statistique qui définiront aussi le mode d'agrégation des sous-indices (moyennes, élément le plus déclassant, ...).

Tableau 5		Seuils proposés pour l'indice de composition $I_{C4\text{Medit}}$ dans sa version 2010.
Etat	Nombre de points situés à l'extérieur de la courbe de référence associée à un groupe fonctionnel ou à un pigment	
Très bon	< 15 %	
Bon	< 25 %	
Moyen	< 35 %	
Médiocre	< 45 %	
Mauvais	> 45 %	

Figure 9 Données de fucoxanthine de CARGESE (données Anne Goffart) et du port de SAINT FLORENT positionnées sur la courbe de référence de CALVI (données 2007-2012). Courbe de référence calculée selon la méthode 1, voir 3.4.2.



3.4.4 RESUME DE L'ÉVOLUTION DE L'INDICE

Les différentes étapes développées dans ce travail ont fait évoluer l'indice $I_{C\text{Medit}}$. Elles sont résumées dans le tableau 6.

	$I_{C\text{Medit}}$ 2010	$I_{C\text{Medit}}$ 2014
Nombre de pigments inclus dans l'indice	4 (fucoxanthine, péridinine, alloxanthine, zéaxanthine)	5 (fucoxanthine, péridinine, alloxanthine, zéaxanthine, prasinoxanthine)
Groupes fonctionnels	2 : DiDYCRY (diatomées + dinoflagellés + cryptophycées) et CYANOS (cyanobactéries)	5 (diatomées, dinoflagellés, cryptophycées, cyanobactéries et prasinophycées)
Choix des groupes fonctionnels	Analyse écologique de la dynamique des communautés	Réponse aux pressions
Courbes de référence	Etablies sur base de suivis haute fréquence, P_{90} mensuel maximum calculé sur 6 ans + marge de sécurité de 50%. 1 courbe = 12 points.	Idem
Nombre de courbes de référence	2	5
Critères d'évaluation	Fréquence des dépassements	Fréquence des dépassements et écart aux références
Seuils	Etablis à dire d'expert (Anne Goffart) pour les eaux côtières corses	A définir avec l'aide de statisticiens quand les données de sites eutrophisés en permanence seront disponibles.

4 CONCLUSIONS

Grâce à une stratégie d'échantillonnage ciblée et à l'analyse de la réponse des communautés phytoplanctoniques à plusieurs types de forces de pression (e.g. apports fluviaux, aquaculture, mouillage forain), nous avons développé un indice de composition phytoplanctonique adapté aux spécificités des eaux côtières corses et facile à mettre en œuvre. Nous avons montré (i) que les groupes phytoplanctoniques retenus pour être intégrés à l'indice répondent aux différents types de pression et (ii) que le lien entre les sels nutritifs et les différents groupes est presque toujours meilleur que le lien entre les sels nutritifs et la biomasse totale. Selon les besoins et les objectifs, l'indice peut être appliqué à l'échelle des masses d'eau ou à une échelle locale, beaucoup plus fine. Les critères à prendre en considération pour la définition des seuils de qualité ont été définis. Néanmoins, en l'absence des données de la région PACA, nous manquons encore d'informations sur la réponse des communautés phytoplanctoniques à des forces de pression intenses et permanentes. L'acquisition de celles-ci devrait permettre de mettre en œuvre les analyses statistiques appropriées à l'établissement des seuils, des EQR et des probabilités d'appartenance à chacune des classes.

5. REFERENCES

- Alvain S. (2006) Étude de la distribution des principaux groupes de phytoplancton par télédétection satellitaire : développement de la méthode PHYSAT à partir des données GeP&CO et application à l'archive SEAWIFS entre 1998 et 2004. Thèse de doctorat, version 1, 26 juin 2007, http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/15/73/72/PDF/These_2006_impr.pdf
- Alvain S., Moulin C., Dandonneau Y., Loisel H., Bréon F.M. (2006) A species-dependent bio-optical model of case 1 waters for global ocean color processing. *Deep Sea Research Part 1*, 53 : 917-925
- Alvain S., Moulin C., Dandonneau Y., Loisel H. (2008) Seasonal distribution and succession of dominant phytoplankton groups in the global ocean : a satellite view. *Global Biogeochemical Cycles*, 22 : GB3001
- Andersen R.A., Saunders G.W., Paskind M.P., Sexton J.P. (1993) Ultrastructure and 18S rRNA gene sequence for *Pelagomonas calceolata* nov. gen. et spec. nov. and the description of a new algal class, the Pelagophyceae classis nov. *Journal of Phycology* 29 : 701-715
- Barlow R.G., Mantoura R.F.C., Cummings D.G., Fileman T.W. (1997) Pigment chemotaxonomic distributions of phytoplankton during summer in the western Mediterranean. *Deep-Sea Research Part II* 44 : 833-850
- Bel Hassen M., Drira Z., Hamza A., Ayadi H., Akrouf F., Issaoui H. (2008) Summer phytoplankton pigments and community composition related to water mass properties in the Gulf of Gabes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 77 : 645-656
- Bel Hassen M., Hamza A., Drira Z., Zouari A., Akrouf F., Messaoudi S., Aleya L., Ayadi H. (2009) Phytoplankton-pigment signatures and their relationship to spring-summer stratification in the Gulf of Gabes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 83 : 296-306
- Blasco D. & Conway H.L. (1982) Effect of ammonium on the regulation of nitrate assimilation in natural phytoplankton populations. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* : 157-16
- Bustillos-Guzman J., Claustre H., Marty J.C. (1995) Specific phytoplankton signatures and their relationship to hydrographic conditions in the coastal northwestern Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 124 : 247-258
- Claustre H., Kerhervé P., Marty J.C., Prieur L., Videau C., Hecq J.H. (1994) Phytoplankton distribution associated with a geostrophic front : ecological and biogeochemical implications. *Journal of Marine Research*, 52 : 711-742
- Devlin M. (2008) Seasonal succession – new approach for assessment of phytoplankton communities. Bella Earth Environmental Consultancy. Report for Environment Agency (draft July 2008), 38 pp

- Domingues R.B., Barbosa A.B., Sommer U., Galvão, H.M. (2011) Ammonium, nitrate and phytoplankton interactions in a freshwater tidal estuarine zone : potential effects of cultural eutrophication. *Aquatic Sciences*, 73 : 331-343
- Goffart A. (2007) Suivi 2006 du phytoplancton dans les eaux côtières corses : évaluation de la stratégie d'échantillonnage proposée dans le cadre des contrôles de surveillance de la DCE et première caractérisation des masses d'eau. Rapport à l'attention de Ifremer, 15 pp
- Goffart A. (2011) Mise au point de l'indice composition dans le cadre de l'indicateur phytoplancton : traitement des données pigmentaires des eaux côtières corses pour le développement d'un indice de composition phytoplanctonique. Rapport de convention ONEMA - IFREMER – STARESO, 20 pp
- Goffart A., Catalano G., Hecq J.H. (2000) Factors controlling the distribution of diatoms and Phaeocystis in the Ross Sea. *Journal of Marine Systems*, 27 : 161-175
- Goffart A., Hecq J.H., Legendre L. (2002) Changes in the development of the winter-spring phytoplankton bloom in the Bay of Calvi (Northwestern Mediterranean) over the last two decades: a response to the changing climate ? *Marine Ecology Progress Series*, 236 : 45-60
- Goffart A., Hecq J.H., Legendre L. (in revision) Drivers of phytoplankton bloom in the oligotrophic Bay of Calvi (NW Mediterranean) : results from a long-term study. In revision for *Progress in Oceanography*.
- Goffart A., Collignon A., Lejeune P. (in preparation) Impact of the frequentation of a mooring area on phytoplankton dynamics. In preparation for *Marine Pollution Bulletin*
- Gordon L.I., Jennings J.C., Ross Jr. A.R., Krest J.M. (1993) A suggested protocol for continuous flow automated analysis of seawater nutrients (phosphate, nitrate, nitrite, and silicic acid) in the WOCE hydrographic program and the Joint Global Ocean Fluxes Study. WOCE Hydrographic Program Office, Methods Manual WHPO 91-1
- Guillard R.R.L., Murphy L.S., Foss P., Jensen S.L. (1985) *Synechococcus* spp. as likely zeaxanthin-dominant ultraplankton in the North Atlantic. *Limnology and Oceanography* 30 : 412-414
- Hansen H.P. & Grasshoff Y. (1983) Automated chemical analysis. In « Grasshoff K., Ehrhardt M., Kremling K. Eds. », Verlag Chemie Weinheim Methods of seawater analysis, 2nd Ed. pp. 347-379
- Henriksen, P., Revilla M., Lehtinen S., Kauppila P., Kaitala S., Agustí S., Icely J., Basset, A., Moncheva S., Sorensen K. (2011). WISER Deliverable D4.1-2: Assessment of pigment data potential or multi-species and assemblage indices. <http://www.wiser.eu/download/D4.1-2.pdf>
- Irigoien X., Meyer B., Harris R., Harbour D. (2004). Using HPLC pigment analysis to investigate phytoplankton taxonomy: the importance of knowing your species. *Helgoland Marine Research*, 58 : 77-82

- Jarry V., Fiala M., Frisoni G F., Jacques G., Neveux J., Panouse M. (1990) The spatial distribution of phytoplankton in a Mediterranean lagoon (Etang de Thau). *Oceanologica Acta* 13(4) : 503-512
- Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C., Wright S.W. Eds (2005) *Phytoplankton pigments in oceanography : guidelines to modern methods*, 2nd edition. *Monographs on Oceanographic Methodology*, UNESCO Paris 10 : 667 pp
- Latasa M., Estrada M., Delgado M. (1992) Plankton-pigment relationships in the Northwestern Mediterranean during stratification. *Marine Ecology Progress Series* 88 : 61-73
- Latasa M., Moran X.A.G., Scharek R., Estrada M. (2005) Estimating the carbon flux through main phytoplankton groups in the northwestern Mediterranean. *Limnology and Oceanography*, 50(5) : 1447-1458
- Latasa M., Scharek R., Vidal M., Vila-Reixach G., Gutiérrez-Rodríguez A., Emelianov M., Gasol J.M. (2010) Preferences of phytoplankton groups for waters of different trophic status in the northwestern Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 407 : 27-42
- Mackey M.D., Mackey D.J., Higgins H.W., Wright S.W. (1996) CHEMTAX- a program for estimating class abundances from chemical markers : application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 144 : 265-283
- Mackey M.D., Higgins H.W., Mackey D.J., Wright S.W. (1997) CHEMTAX user's manual : a program for estimating class abundances from chemical markers-application to HPLC measurements of phytoplankton pigments. CSIRO Marine Laboratories Report 229, Hobart, Australia, ISBN 0 643 06040 5 : 47 pp
- Marty J.C., Chiaverini J., Pizay M.D., Avril B. (2002) Seasonal and interannual dynamics of nutrients and phytoplankton pigments in the western Mediterranean Sea at the DYFAMED time-series station (1991-1999). *Deep-Sea Research II* 49 : 1965-1985
- Marty J.C., Garcia N., Raimbault P. (2008) Phytoplankton dynamics and primary production under late summer conditions in the NW Mediterranean Sea. *Deep-Sea Research I* 55 : 1131-1149
- Moore L.R., Post A.F., Rocap G., Chisholm S.W. (2002) Utilization of different nitrogen sources by the marine cyanobacteria *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. *Limnology and Oceanography*, 47 : 989-996
- Pachés M., Romero I., Hermosilla Z., Martínez-Guijarro R. (2012) PHYMED: An ecological classification system for the Water Framework Directive based on phytoplankton community composition. *Ecological Indicators*, 19 : 15-23.

- 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
- Seoane S., Garmendia M., Revilla M., Borja A., Franco J., Orive E., Valencia V. (2011) Phytoplankton pigments and epifluorescence microscopy as tools for ecological status assessment in coastal and estuarine waters, within the Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin* 62 : 1484–1497.
- Tréguer P., Le Corre P. (1975) *Manuel d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer*. Laboratoire d'Océanographie Chimique, Université de Bretagne Occidentale, Brest, 110 pp
- Vidussi F., Marty J.C., Chiavérini J. (2000) Phytoplankton pigment variations during the transition from spring bloom to oligotrophy in the northwestern Mediterranean sea. *Deep-Sea Research* 47 : 423–445
- Vidussi F., Claustre H., Manca B., Luchetta A., Marty J.C. (2001) Phytoplankton pigment distribution in relation to the upper thermocline circulation in the Eastern Mediterranean Sea during winter. *Journal of Geophysical Research* 106 : 19 939-19 956
- Wright S.W. & Jeffrey S.W. (1987) Fucoxanthin pigment markers of marine phytoplankton analysed by HPLC and HPTLC. *Marine Ecology Progress Series* 38 : 259–266
- Zapata M., Rodriguez F., Garrido J.L. (2000) Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine containing mobile phases. *Marine Ecology Progress Series* 195 : 29–45.

6. REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé grâce au soutien de l'ONEMA. Les données utilisées dans cette étude ont été acquises dans le cadre des deux projets « Indice de composition » financés par l'ONEMA. D'autres données caractérisant les eaux côtières corses et issues de plusieurs projets financés par l'IFREMER (suivis DCE), l'AGENCE DE L'EAU RMC et l'Université de Liège (Belgique) ont été utilisées pour pallier à l'absence des données de la région PACA. Cette étude a également bénéficié du soutien logistique de STARESO SAS.