



PROJET « INDICES PHYTOPLANCTONIQUES POUR LES EAUX COTIERES DE LA REUNION »

RAPPORT INTERMEDIAIRE

ANNE GOFFART

Université de Liège, Belgique A.Goffart@uliege.be

07/10/20

TABLE DES MATIERES

Résumé	3
1. Contexte de l'étude et objectifs de la 1 ^{ère} phase du travail	4
2. Importance de la caractérisation des zones de référence	4
3. Variations saisonnières de la zone Ermitage Large : approche satellitaire	4
3.1 Température	4
3.2 Nitrates	5
3.3 Chlorophylle <i>a</i>	6
3.4 Saisonnalité	6
4. Comparaison des données satellitaires et in situ pour la zone Ermitage Large	7
4.1 Température	7
4.2 Nitrates	8
4.3 Chlorophylle <i>a</i>	8
4.3.1 Précision sur les termes « chl <i>a</i> » et « Tchl <i>a</i> »	8
4.3.2 Fluorimetrie vs données satellitaires	9
4.3.4 Fluorimétrie vs HPLC	10
5. Nutriments et communautés phytoplanctoniques du point de référence Ermitage Large : analyse	des
données <i>in situ</i>	11
5.1 Echantillonnage et données utilisées	11
5.2 Nutriments	11
5.3 Pigments phytoplanctoniques (mesures HPLC)	13
5.3.1 Introduction à la chémotaxonomie	13
5.3.2 Chlorophylles	15
5.4 Cytométrie en flux (pico- et nano-phytoplancton)	17
5.5 Flores totales (microphytoplancton et « grand » nanophytoplancton)	19
5.6 Synthèse de l'évolution saisonnière des communautés phytoplanctoniques du point Ermitage Large	e 20
6. Relations entre les nutriments et les paramètres phytoplanctoniques du point de référence Ermit	tage
Large	21
7. Suite du travail	22
8. Remerciements	24
9. Liste des légendes et des tableaux	24
	26

RESUME

Dans la 1^{ère} phase du projet « Indices phytoplanctoniques pour les eaux côtières de La Réunion », la dynamique saisonnière des communautés phytoplanctoniques de la zone de référence Ermitage Large a été étudiée de manière approfondie. Les variations temporelles de la biomasse et de la composition du phytoplancton sont décrites et mises en relation avec les facteurs environnementaux. Les résultats fournissent la ligne de base sur laquelle s'appuieront les observations réalisées dans les autres sites. Les mesures *in situ* et celles issues de l'imagerie satellitaire et/ou de la modélisation sont comparées.

1. CONTEXTE DE L'ETUDE ET OBJECTIFS DE LA 1^{ERE} PHASE DU TRAVAIL

Le projet « Indices phytoplanctoniques pour les eaux côtières de La Réunion » a pour but de développer un indicateur « Phytoplancton » adapté aux spécificités régionales, caractérisées entre autres par l'ultraoligotrophie des sites peu impactés et par un forçage physique très fort. L'étude accorde une attention particulière à la composition et se base sur les données bancarisées dans Quadrige². La dernière extraction a été réalisée le 21/08/2020.

La première phase du travail cible la caractérisation du phytoplancton de la zone de référence *Ermitage Large*. Les objectifs spécifiques sont de :

- décrire de façon approfondie la dynamique saisonnière des communautés phytoplanctoniques,
- comprendre comment les facteurs environnementaux, dont les sels nutritifs, contrôlent l'évolution temporelle des variables phytoplanctoniques (biomasse totale, groupes fonctionnels, signature pigmentaire, taxons).

La compréhension des mécanismes qui sous-tendent l'évolution du phytoplancton en milieu non/peu perturbé nous permettra de mieux comprendre et éventuellement de prédire les changements observés dans les sites impactés par l'activité anthropique.

2. IMPORTANCE DE LA CARACTERISATION DES ZONES DE REFERENCE

L'évaluation de la qualité des eaux côtières à l'aide de mesures (métriques) du phytoplancton consiste à comparer les variables phytoplanctoniques mesurées sur la base d'une fréquence d'échantillonnage recommandée à la valeur de référence. Les nombres de dépassements sont calculés de différentes manières et comparés aux valeurs de référence (*e.g.* Devlin et al. 2014). Il est donc essentiel de connaître les caractéristiques du phytoplancton de(s) zone(s) de référence et d'en décrire l'évolution saisonnière.

A La Réunion, le lieu de référence pour le phytoplancton est la station Ermitage Large (GTs DCE La Réunion et Mayotte 2019). Les campagnes de terrain y ont lieu 6 fois par an, à une fréquence qui ne permet pas une description fine de la saisonnalité des communautés. Nous avons donc utilisé les données satellitaires ou issues de la modélisation disponibles sur différentes plateformes pour caractériser la saisonnalité des paramètres environnementaux et de la biomasse phytoplanctonique totale de la zone Ermitage Large. Ces données ont l'avantage d'être en « open access » : leur extraction ne demande pas d'expertise en traitement des données satellitaires ou en gestion de banques de données. Elles ont par contre l'inconvénient de présenter une résolution de l'ordre de 4 km, alors qu'aujourd'hui des images à haute résolution (300 m) sont utilisées par les experts en télédétection.

3. VARIATIONS SAISONNIERES DE LA ZONE ERMITAGE LARGE : APPROCHE SATELLITAIRE

3.1 Température

En surface, les données satellitaires montrent une forte saisonnalité de la température moyenne de surface, avec des moyennes sur 8 jours variant de \approx 23.5 à \approx 31.0 °C (Figure 1A). Chaque année, les minima sont observés pendant l'hiver austral (juillet - septembre) et les maxima sont enregistrés en janvier et février, pendant l'été austral (Figure 1B).

Figure 1. Série temporelle de température de surface dans la zone Ermitage Large. Mesures satellitaires MODIS-AQUA, moyennes par périodes de 8 jours dans une maille de 4 km de côté incluant le point Ermitage Large du réseau de surveillance DCE pour les eaux côtières de La Réunion. Source des données : https://giovanni.gsfc.nasa.gov/giovanni/. A : Série temporelle 2010 - 2020; B : Zoom sur les années 2017 et 2018.



3.2 Nitrates

En surface, des concentrations en nitrates issues de la modélisation sont disponibles pour le point -20.6667, 55.00, situé en milieu océanique au nord de la station Ermitage Large (-21.091, 55.206). Les données sont calculées par le modèle NOBM_MON 2017 accessible via la plateforme Giovanni pour la période 2010 - 2015. Les concentrations mensuelles moyennes sont très basses (< 0.1μ M) et caractéristiques des milieux ultra-oligotrophes (Figure 2A). Néanmoins, la saisonnalité est bien marquée : les concentrations maximales sont observées à la fin de l'hiver austral et en début de saison chaude (septembre - novembre). Les minima sont enregistrés en période chaude, entre janvier et avril (Figure 2B).

Figure 2 : Série temporelle de nitrates en surface calculés par le modèle NOBM_MON 2017 pour le point - 20.6667 55.00 (MODIS-based NPP data). Moyennes mensuelles accessibles via https://giovanni.gsfc.nasa.gov/giovanni/. A : Série temporelle 2010 - 2015; B : Zoom sur les années 2014 et 2015.



3.3 Chlorophylle a

En surface, les données satellitaires montrent une saisonnalité bien marquée de la chlorophylle *a* (chl *a*) de surface moyennée sur 8 jours (Figure 3A). A l'exception de quelques « spikes », les concentrations sont typiques des milieux ultra-oligotrophes. Chaque année, les concentrations minimales en chl *a* (\approx 50 ng L⁻¹) sont observées pendant l'été austral entre janvier et mars. Les concentrations en chl *a* augmentent ensuite pour atteindre 100 - 150 ng L⁻¹ entre juin et septembre pendant l'hiver austral (Figure 3B). Quelques pics > 200 ng L⁻¹ apparaissent parfois en saison chaude ou en début de saison froide.

3.4 Saisonnalité

L'étude des variations saisonnières et interannuelles de la température, des nitrates et de la chl *a* détectés par imagerie satellitaire et modélisation s'est avérée très instructive. Nous avons maintenant une vision d'ensemble des cycles saisonniers et interannuels de la température, des nitrates et de la chl *a* à proximité du point de référence Ermitage Large (Figure 4). Malgré le caractère ultra-oligotrophe de la région, les cycles saisonniers sont très nets et relativement réguliers d'une année à l'autre. L'augmentation progressive de la biomasse phytoplanctonique se produit chaque année en avril - mai quand l'eau commence à se refroidir et que les nitrates sont un peu plus abondants. Bien que modeste, le bloom phytoplanctonique est observé chaque année pendant la période d'eau froide, entre juin et septembre. Pendant le bloom, les concentrations maximales en chl *a* sont de l'ordre de 100 à 150 ng chl *a* L⁻¹.

Figure 3. Série temporelle de chl *a* de surface dans la zone Ermitage Large. Mesures satellitaires générées par SEADAS utilisant des données OCI, OC3 et/ou OC5 (version 4.2, résolution de 4 km), moyennes par périodes de 8 jours dans un polygone incluant le point Ermitage Large dans sa partie Ouest. Source des données : https://www.oceancolour.org/portal/. A : Série temporelle 2010 - 2020; B : Zoom sur les années 2014 et 2015.



В



Figure 4. Séries temporelles de température (en bleu, °C), de nitrates (trait rose, μM) et de chl *a* (en vert, ng L⁻¹) de surface dans la zone Ermitage Large (période 2010 - 2015). Sources des données détaillées dans les légendes des Figures 1 à 3.



4. COMPARAISON DES DONNEES SATELLITAIRES ET IN SITU POUR LA ZONE ERMITAGE LARGE

4.1 Température

Bien que l'on compare une mesure ponctuelle avec des données moyennées sur 8 jours dans une maille de 4 km, une très bonne corrélation ($R^2 = 0.91$) est observée entre les données satellitaires et les mesures *in situ* (Figure 5A et 5B).

Figure 5. A : Série temporelle de température de surface dans la zone Ermitage Large (2010 - 2020). *Trait bleu continu* : mesures satellitaires MODIS-AQUA, moyennes par périodes de 8 jours dans un polygone incluant le point Ermitage Large (source des données : https://giovanni.gsfc.nasa.gov/giovanni/). *Points rouges :* mesures *in situ* réalisées au point Ermitage Large (données extraites de Surval Océan Indien). B : Relation entre les mesures de température satellitaire et *in situ* (°C, n = 50).



4.2 Nitrates

Durant la période 2010 - 2015, des données de nitrates issues du traitement des informations MoDIS par modélisation (cfr. § 3.2) et des données *in situ* sont disponibles. Contrairement à ce qui est observé pour la température, les deux jeux de données ne sont pas cohérents (Figure 6). Très souvent, les mesures *in situ* de NO₃ sont largement supérieures aux données issues de la modélisation et de forts écarts sont observés.

Figure 6 : Série temporelle de nitrates en surface dans la zone Large Ermitage (2010 - 2020). *Trait rose continu* : concentrations calculées par le modèle NOBM_MON 2017 pour le point -20.6667 55.00 (MoDIsbased NPP data). Moyennes mensuelles accessibles via https://giovanni.gsfc.nasa.gov/giovanni/. *Points rouges* : mesures *in situ* réalisées au point Ermitage Large (données extraites de Quadrige²).



Le manque de cohérence entre les deux jeux de données peut s'expliquer partiellement par la distance géographique qui sépare les deux points et par le caractère beaucoup plus côtier du point Ermitage Large, susceptible d'être soumis à une influence continentale. Néanmoins, un changement prononcé est observé dans la série de données *in situ* : à partir de la mi-2016 et à l'exception d'un point, toutes les mesures *in situ* de NO₃ sont < 0.1 μ M¹. Elles sont beaucoup plus proches des concentrations calculées par le modèle entre 2010 et 2015. Il serait utile de connaître la raison de cette rupture : correspond-elle à des changements réels de l'environnement marin ? Les protocoles de prélèvement et d'analyses ont-ils été modifiés ? S'agit-il de problèmes d'encodage dans Quadrige (par exemple, la valeur de 2.18 μ M du 28/03/11 est signalée comme étant inférieure à la limite de quantification de 0.08 μ M) ?

4.3 Chlorophylle a

4.3.1 Précision sur les termes « chl a » et « Tchl a »

La chlorophylle *a* (chl *a*) est présente dans tous les groupes phytoplanctoniques, à l'exception des prochlorophytes où elle est remplacée par la divinyl-chlorophylle *a* (DV-chl *a*). La mesure de la chlorophylle *a* totale (Tchl *a* = chl *a* + DV-chl *a*) permet donc de déterminer la biomasse phytoplanctonique totale.

La fluorimétrie et la télédétection ne permettent pas de séparer la chl *a* de la DV-chl *a*. Ces deux techniques mesurent donc la Tchl *a*, qui, par abus de langage, est appelée chl *a*. Par contre, les techniques de dosage des pigments phytoplanctoniques par HPLC permettent de séparer la chl *a* de la DV-chl *a*. Dans la suite du texte, nous conserverons l'appellation « chl *a* » quand il s'agit de données obtenues par fluorimétrie et par télédétection. Nous utiliserons le terme de « Tchl *a* » pour les concentrations mesurées par HPLC.

 $^{^1}$ Limite de quantification (LQ) de NO3+NO2 : 0.08 μM ; LQ NO2 : 0.04 $\mu\text{M}.$

4.3.2 Fluorimétrie vs données satellitaires

Dans la zone Ermitage Large, des écarts importants sont observés entre les concentrations en chl *a* mesurées par fluorimétrie sur les échantillons prélevés *in situ* et les mesures satellitaires (Figure 7A). Ces écarts sont positifs ou négatifs, et les deux types de données ne sont pas corrélés (Figure 7B).

Figure 7. A : Série temporelle 2010 - 2019 de chl *a* de surface dans la zone Large Ermitage. *Trait vert continu* : Mesures satellitaires générées par SEADAS utilisant des données OCI, OC3 et/ou OC5 (version 4.2, résolution de 4 km), moyennes par période de 8 jours dans un polygone incluant le point Ermitage Large. Source des données : https://www.oceancolour.org/portal/. *Triangles roses :* mesures *in situ* réalisées par fluorimétrie (Aminot & Kérouel 2004) au point Ermitage Large (données extraites de Quadrige²).



Figure 7. B : Relations entre la chl α (ng L⁻¹) mesurée par satellite et *in situ* par fluorimétrie pour les périodes 2010 - 2019 (n = 49) et 2015 - 2019 (n = 23).



4.3.3 HPLC vs données données satellitaires

Les écarts entre les données satellitaires et les concentrations en Tchl *a* mesurées par HPLC sont moins marqués que pour la fluorimétrie (Figure 8A). Dans leur ensemble, les mesures HPLC sont très proches ou supérieures aux mesures satellitaires. Compte-tenu des différences d'échelles spatiale et temporelle propres aux deux méthodes (prélèvements ponctuels en milieu côtier pour les mesures *in situ* et données moyennées sur 8 jours dans un polygone de plusieurs km² pour les mesures satellitaires) et des incertitudes liées au traitement des données satellitaires (seuil de détection des capteurs, couverture nuageuse, ...), les résultats obtenus montrent une relativement bonne cohérence des deux méthodes (Figure 8B).

Figure 8. A : Série temporelle 2010 - 2019 de chl a de surface dans la zone Ermitage Large. Trait vert continu : Mesures satellitaires générées par SEADAs utilisant des données OCI, OC3 et/ou OC5 (version 4.2, résolution de 4 km), moyennes par périodes de 8 jours dans un polygone incluant le point Ermitage Large. Source des données : https://www.oceancolour.org/portal/. Points rouges : mesures in situ réalisées par HPLC (Van Heukelem et Thomas 2001) au point Ermitage Large (données extraites de Quadrige²). B : Relation entre la chl α mesurée par satellite et la Tchl α mesurée *in situ* par HPLC (ng L⁻¹, n = 25).



В

4.3.4 Fluorimétrie vs HPLC

Le jeu de données disponibles pour le point Ermitage large montre que la pente de la ligne de corrélation entre les mesures réalisées par fluorimétrie et par HPLC est proche de 1 (Figure 9). Une dispersion importante est cependant observée : aucune explication claire ne permet d'expliquer les écarts fréquemment observés entre les mesures de chlorophylle réalisées par HPLC et par spectrofluorométrie (e.g. Neveux et al. 1990), mais plusieurs auteurs soulignent que la fluorimétrie est très sensible aux interférences dues à la chl b, aux chlorophylles dégradées et/ou à la matière en suspension (e.g. Gibb 1979, Wrigth 2005).

Figure 9. Relation entre la chl a mesurée par fluorimétrie (Aminot & Kérouel 2004) et la Tchl a mesurée par HPLC (Van Heukelem et Thomas 2001) au point Ermitage Large (ng L⁻¹, n = 28, données extraites de Quadrige²).



5. NUTRIMENTS ET COMMUNAUTES PHYTOPLANCTONIQUES DU POINT DE REFERENCE ERMITAGE LARGE : ANALYSE DES DONNEES IN SITU

5.1 Echantillonnage et données utilisées

Dans le cadre du réseau de surveillance DCE des masses d'eau côtières de La Réunion, la station de référence Ermitage Large est échantillonnée en surface 6 fois par an : 2 fois pendant l'hiver austral (juillet et août), 2 fois en début de saison chaude (novembre et décembre) et 2 fois en milieu de saison chaude et en saison cyclonique (février et mars) (GTs DCE La Réunion et Mayotte 2019). Nous travaillerons sur *période 2015 - 2019* pour laquelle le programme de surveillance a permis d'obtenir un jeu de données complet comprenant :

- les concentrations en nutriments,
- les concentrations en pigments phytoplanctoniques du phytoplancton total (mesures HPLC),
- les abondances cellulaires des fractions pico- et nano-phytoplanctoniques, respectivement < 2 μm et comprise entre 2 et 20 μm (cytométrie en flux),
- les dénombrements de flore totale portant sur la fraction microphytoplanctonique (> 20 μm) et le « grand » nanophytoplancton (comptages).

Les concentrations en nutriments et en pigments ont été mesurées lors de chaque sortie (6 fois par an). Les identifications de flore totale ont été réalisées une fois par saison (3 fois par an). Théoriquement, les mesures de cytométrie en flux sont réalisées une fois par saison, mais, en pratique, la fréquence des informations bancarisées est inférieure. Les données utilisées ont été extraites de Quadrige². La dernière extraction a été réalisée le 21/08/2020.

5.2 Nutriments

A l'exception des silicates, les concentrations en nutriments mesurées entre 2015 et 2019 sont souvent sous la limite de détection des techniques de mesure utilisées. Les concentrations, très basses, confirment le caractère ultra-oligotrophe de la station Ermitage Large (Figure 10). Les différences entre les trois périodes échantillonnées sont faibles. Cependant, une légère augmentation de la concentration moyenne de NO₃ (R² = 1.00), de DIN (R² = 0.95) et de Si(OH)₄ (R² = 0.55) est observée entre l'hiver austral (juillet - septembre) et l'été (février - mars) (Figure 11). Cette tendance est opposée à celle observée plus au large (voir § 4.2). Ceci pourrait s'expliquer par la situation plus côtière du point de prélèvement soumis à une influence continentale pendant l'été (*e.g.* ruissellement lié aux pics de pluviométrie).

Lors des 3 saisons, les ratios DIN/PO₄ sont < 5, et donc largement inférieurs au rapport N/P de Redfield (égal à 16), ce qui suggère une limitation de la production phytoplanctonique par l'azote.

Figure 10. Boxplots des concentrations en sels nutritifs au point Ermitage Large pour la période 2015 - 2019 (concentrations moyennes, P_{10} et P_{90} , min, max). De gauche à droite et de haut en bas : période 2015 - 2019 toutes saisons confondues; hiver austral (juillet - septembre, n = 8); début de saison chaude (novembre - décembre, n = 10); été austral (février - mars, n = 8). Données extraites de Quadrige².



Figure 11. Variations saisonnières des concentrations moyennes en sels nutritifs au point Ermitage Large (période 2015 - 2019; juillet - septembre : n = 8; début de saison chaude (novembre - décembre) : n = 10); été austral (février - mars) : n = 8). Données extraites de Quadrige².



5.3 Pigments phytoplanctoniques (mesures HPLC)

5.3.1 Introduction à la chémotaxonomie

La chémotaxonomie pigmentaire utilise la signature pigmentaire du phytoplancton comme traceur des groupes phytoplanctoniques. En pratique, l'analyse par HPLC des chlorophylles et des caroténoïdes permet la séparation et la quantification des pigments diagnostiques dont la présence identifie les groupes présents dans un échantillon, indépendamment des classes de taille (Tableau 1).

La méthode la plus simple pour identifier les groupes phytoplanctoniques à partir de leur signature pigmentaire consiste à relier linéairement les concentrations en pigments diagnostiques aux concentrations des groupes présents (1 pigment par groupe). Dans cette approche, chaque pigment retenu est utilisé comme traceur direct de l'abondance du groupe correspondant, sans transformation des mesures après analyse. Par exemple, la présence d'alloxanthine indique la présence de cryptophycées dont la biomasse est directement proportionnelle (mais pas égale) à la concentration en pigment traceur. Il est important de noter que les rapports pigment diagnostique / chl *a* varient d'un groupe à l'autre, et éventuellement au cours d'un cycle annuel en réponse aux variations des conditions environnementales.

Cette méthode a été utilisée par de nombreux auteurs (*e.g.* Claustre et al. 1994, Bustillos-Guzman et al. 1995, Goffart et al. 2002) dans tous les océans du monde. Elle présente les avantages d'être rapide et reproductible et de pouvoir être mise en œuvre dans des laboratoires qui maîtrisent les techniques HPLC mais ne sont pas spécialisés en écologie du phytoplancton. Par contre, elle ne permet pas d'exprimer les biomasses des différents groupes en unités de chl*a* et n'intègre pas le fait que certains pigments diagnostiques se trouvent dans plusieurs groupes taxonomiques.

Tableau 1 (page suivante). Message taxonomique apporté par les caroténoïdes du phytoplancton marin.Synthèse de Goffart (2019), d'après l'ouvrage de référence de Roy et al. (2012).

Caroténoïdes	Abréviations	Message taxonomique	Exemples de taxon			
Couleur des pigments						
<i>Péridinine</i> Rouge brique	Peri	Dinoflagellés photosynthétiques de type Dino-1	Ceratium sp., Amphidinium sp.			
Butanoyloxyfucoxanthine Jaune-orange	Buta	Pélagophycées	Hemiselmis sp., Rhodomonas sp., Pelagomonas sp.			
Hexanoyloxyfucoxanthine Orange	Hexa 19'HF	Prymnesiophycées (= haptophycées) de type Hapto-6 et Hapto-8	Emiliana huxleyi (Hapto-6), Phaeocystis pouchetii (Hapto-8)			
Cis-néoxanthine Jaune	C-Neo	Prasinophycées	Tetraselmis sp., Pycnococcus sp., Micromonas sp., Ostreococcus sp., Halosphaera viridis.			
		Chlorophycées	Dunaliella sp., Chlamydomonas sp.			
Prasinoxanthine Rosé foncé	Prasino	Prasinophycées de type Prasino-3A et Prasino-3B	Pycnococcus provasolii (3A), Micromonas pusilla (3B), Halosphaera viridis.			
Violaxanthine Jaune	Viola	Prasinophycées, chlorophycées Dinoflagellés de type Dino-5 (dinoflagellés contenant des prasinophycées endosymbiontes)	Voir plus haut Gymnodinium chlorophorum			
Fucoxanthine Orange	Fuco	Diatomées Prymnesiophycées (= haptophycées) Silicoflagellés (= dictyophycées) Pélagophycées	Chaetoceros sp., Thalassiosira sp. Emiliana huxleyi, Phaeocystis pouchetii, Chrysochromulina sp. Dictyocha sp. Voir plus haut			
Alloxanthine	Allo	Cryptophycées	Plagioselmis sp., Chroomonas sp., Cryptomonas sp.			
Zéaxanthine Jaune-orange	Zea	Cyanobactéries Euglénophycées Prasinophycées Chlorophycées	Synechococcus sp., prochlorophytes Euglena gracilis Voir plus haut Voir plus haut			
Lutéine Jaune	Lut Lutein	Prasinophycées de type 1et 2B Chlorophycées	Pyramimonas amylifera, Nephroselmis pyriformis. Voir plus haut			

5.3.2 Chlorophylles

Les chlorophylles les plus abondantes au point Ermitage Large sont, en ordre décroissant, la chl *a*, la Dv-chl *a* et la Tchl *b* (Tchl *b* = chl *b* + DV-chl *b*). La chl *a* et la Dv-chl *a* sont les traceurs respectifs de la biomasse autotrophe totale à l'exception des prochlorophytes. La chl *b* est présente chez les prasinophycées, les chlorophycées et les euglénophycées et la DV-chl *b* est un marqueur des prochlorophytes (Roy et al. 2012). Les concentrations moyennes annuelles sont très basses (Tchl *a* : 108 ± 51 ng L⁻¹, chl *a* : 71 ± 42 ng L⁻¹, DV-chl *a* : 32 ± 12 ng L⁻¹, Tchl *b* : 11 ± 8 ng L⁻¹) et les variations saisonnières sont peu marquées (Figure 12). En été, la dispersion des concentrations en chl *a* est plus élevée, probablement en réponse à des apports ponctuels en nutriments.

Figure 12. Boxplots des concentrations en chlorophylles au point Ermitage Large pour la période 2015 - 2019 (concentrations moyennes, P_{10} et P_{90} , min, max). De gauche à droite et de haut en bas : période 2015 - 2019 toutes saisons confondues (n = 26); hiver austral (juillet - septembre, n = 8); début de saison chaude (novembre - décembre, n = 10); été austral (février - mars, n = 8). Données extraites de Quadrige².



5.3.3 Pigments

A l'échelle annuelle, la zéaxanthine est le pigment le plus abondant au point Ermitage Large ($48 \pm 13 \text{ ng L}^{-1}$) (Figure 13). Elle représente 56.7 % des pigments présents retenus pour leur intérêt taxonomique (Figure 14). Le second pigment le plus abondant est la 19'HF ($16 \pm 8 \text{ ng L}^{-1}$), suivi par la fucoxanthine ($8 \pm 5 \text{ ng L}^{-1}$) et la buta ($6 \pm 5 \text{ ng L}^{-1}$). La 19'HF, la fucoxanthine et la buta représentent respectivement 18.7 %, 8.9 % et 7.0% des pigments à intérêt taxonomique.

Figure 13. Boxplots des concentrations en pigments à intérêt taxonomique au point Ermitage Large pour la période 2015 - 2019 (concentrations moyennes, P_{10} et P_{90} , min, max). De gauche à droite et de haut en bas : période 2015 - 2019 toutes saisons confondues (n = 26); hiver austral (juillet - septembre, n = 8); début de saison chaude (novembre - décembre, n = 10) ; été austral (février - mars, n = 8). Données extraites de Quadrige².



Une première interprétation de la signature pigmentaire du phytoplancton du point Ermitage Large montre que les procaryotes, représentés par les prochlorophytes et les *Synchococcus*, dominent les communautés phytoplanctoniques. Les prochlorophytes sont identifiés par la zéaxanthine, la DV-chl *a* et la Tchl *b*. Les *Synchococcus* sont identifiées par la zéaxanthine et la chl *a*. Les eucaryotes les plus abondants en terme de biomasse sont les prymnesiophycées, identifiées par la 19'HF et la chl *a*. Les pigments traceurs des diatomées, des pélagophycées, des prasinophycées et des dinoflagellés sont présents en proportions inférieures à 10%.

La contribution relative des caroténoïdes à intérêt taxonomique varie peu au cours des saisons (Figure 14). Les variations les plus marquées concernent la zéaxanthine et la 19'HF, dont les pourcentages respectifs augmentent et diminuent lorsque l'on passe de l'hiver à la saison chaude. La dispersion des concentrations en fucoxanthine est plus élevée l'été qu'aux autres saisons (Figure 13).

Figure 14. Contribution relative (%) des caroténoïdes à intérêt taxonomique au point Ermitage Large (mesures de surface) au cours de la période 2015 - 2019. De gauche à droite et de haut en bas : période 2015 – 2019 toutes saisons confondues (n = 26); hiver austral (juillet - septembre, n = 8), début de saison chaude (novembre - décembre, n = 10) et été austral (février - mars, n = 8). Données extraites de Quadrige².



5.4 Cytométrie en flux (pico- et nano-phytoplancton)

Les données de cytométrie en flux sont disponibles pour les fractions pico- et nano-phytoplanctoniques. La fraction picophytoplanctonique est dominée par les *Prochlorococcus* et les *Synechococcus* (Figure 15). L'abondance moyenne annuelle des *Prochlorococcus* est de 19 153 \pm 21 701 cellules ml⁻¹. Les *Synechococcus* sont moins abondantes et présentent une abondance moyenne annuelle de 6 338 \pm 6 856 cellules ml⁻¹. Ces abondances, qui peuvent paraître élevées, sont de l'ordre de grandeur de celles rencontrées dans les eaux ultra-oligotrophes de la Méditerranée orientale (*e.g.* Casotti et al. 2003, Denis et al. 2010).

A la station Ermitage Large, les abondances cellulaires *Prochlorococcus* et des *Synechococcus* augmentent de l'hiver à l'été, avec une dispersion importante des mesures en début de saison chaude et en été (Figure 15). Les picoeucayotes (abondance moyenne annuelle : 3354 ± 2698 cellules ml⁻¹) sont moins abondants que les picoprocaryotes et leur abondance varie peu au cours des saisons.

Figure 15. Boxplots des abondances du picophytoplancton au point Ermitage Large pour la période 2015 - 2019 (concentrations moyennes, P_{10} et P_{90} , min, max). Données issues de la cytométrie en flux. De gauche à droite et de haut en bas : période 2015 - 2019 toutes saisons confondues (n = 11 triplicats); hiver austral (juillet - septembre, n = 4 triplicats); début de saison chaude (novembre - décembre, n = 4 triplicats); été austral (février - mars, n = 3 triplicats). Données extraites de Quadrige².



A l'échelle annuelle, l'abondance moyenne des cellules nanophytoplanctoniques est de 1330 ± 1287 cellules ml⁻¹. Les cyanobactéries filamenteuses représentent une part importante de la fraction nanophytoplanctonique. Leur abondance est maximale en été (Figure 16).

Figure 16. Boxplots des abondances du nanophytoplancton au point Ermitage Large pour la période 2015 - 2019 (concentrations moyennes, P_{10} et P_{90} , min, max). Données issues de la cytométrie en flux. De gauche à droite et de haut en bas : période 2015 - 2019 toutes saisons confondues (n = 11 triplicats); hiver austral (juillet - septembre, n = 4 triplicats); début de saison chaude (novembre - décembre, n = 4 triplicats); été austral (février - mars, n = 3 triplicats). Données extraites de Quadrige².



5.5 Flores totales (microphytoplancton et « grand » nanophytoplancton)

A l'échelle annuelle, les prymnesiophycées $(2\ 790 \pm 2\ 962\ cellules\ L^{-1})$ sont les organismes microphytoplanctoniques les plus abondants, suivis par les dinoflagellés $(2\ 463 \pm 3\ 405\ cellules\ L^{-1})$ et les diatomées $(1\ 083 \pm 1\ 476\ cellules\ L^{-1})$ (Figure 17). Les abondances cellulaires des prymnesiophycées sont maximales en hiver. Elles diminuent en début de saison chaude et sont minimales en été. La dispersion des mesures est maximale en début de saison chaude. A l'inverse, les abondances cellulaires des diatomées et des dinoflagellés augmentent de l'hiver à l'été. Figure 17. Boxplots des dénombrements de flore totale (micro- et « grand » nano-phytoplancton) au point Ermitage Large pour la période 2015 - 2019 (concentrations moyennes, P_{10} et P_{90} , min, max). De gauche à droite et de haut en bas : période 2015 - 2019 toutes saisons confondues (n = 13); hiver austral (juillet - septembre, n = 4); début de saison chaude (novembre - décembre, n = 5); été austral (février - mars, n = 4). Données extraites de Quadrige².



5.6 Synthèse de l'évolution saisonnière des communautés phytoplanctoniques du point Ermitage Large

Les grandes tendances de l'évolution saisonnière des paramètres environnementaux et des communautés phytoplanctoniques du point de référence Ermitage Large sont schématisées à la Figure 18. Elles sont basées sur l'examen du jeu de données 2015 - 2019 et sont résumées ci-dessous :

- 1. En hiver (juillet septembre), la Tchl a moyenne à la station Ermitage Large est de l'ordre de 125 ng L⁻¹, puis elle diminue en début de saison chaude, ce qui est en très bon accord avec les informations issues de l'imagerie satellitaire. En été, la Tchl a augmente légèrement à la station Ermitage Large alors qu'elle est minimale un peu plus au large (Figures 3 et 12). Les niveaux de concentrations restent cependant inférieurs aux valeurs hivernales. Cette augmentation, bien que modeste, pourrait être mise en relation avec l'augmentation des nitrates et de l'azote inorganique dissous observée entre l'hiver et l'été (Figure 11).
- Tout au long de l'année, les communautés phytoplanctoniques sont dominées par les cyanobactéries picophytoplanctoniques. Elles sont identifiées par la présence de zéaxanthine et par les mesures de cytométrie en flux. Les deux techniques montrent que l'abondance cellulaire et la biomasse des cyanobactéries augmentent de l'hiver à l'été (Figures 14, 15 et 16).

- Les prymnesiophycées constituent le groupe microphytoplanctonique le plus abondant. Elles sont identifiées par leur pigment traceur, la 19'HF, et par les dénombrements cellulaires (Figures 13 et 17). Leurs abondances et leurs biomasses sont maximales en hiver et minimales en été.
- 4. Les dinoflagellés représentent le 2^{ème} groupe microphytoplanctonique identifié par les dénombrements et par la présence de péridinine, leur pigment diagnostique (Figures 13 et 17). L'abondance des dinoflagellés augmente de l'hiver à l'été. Il faut noter que certaines espèces de dinoflagellés identifiées dans les comptages sont hétérotrophes ou ont la capacité de le devenir (*e.g. Prorocentrum* sp., *Pronoctiluca* sp.).
- 5. Les diatomées sont peu abondantes. Elles sont identifiées par les dénombrements et la fucoxanthine, pigment traceur présent aussi chez les pélagophycées. Leur biomasse est minimale en hiver et augmente en été (Figures 13 et 17).
- 6. La biomasse des pélagophycées, pico- et/ou nano-planctoniques, diminue de l'hiver à l'été. Elles sont identifiées par la présence de butanoyloxyfucoxanthine (buta).
- 7. En été, l'abondance des cyanobactéries filamenteuses augmente (Figure 16). Associés au nanoplancton, leur présence est mise en évidence par la cytométrie en flux.

Figure 18. Représentation schématique de l'évolution saisonnière des paramètres environnementaux et des communautés phytoplanctoniques du point de référence Ermitage Large.



6. RELATIONS ENTRE LES NUTRIMENTS ET LES PARAMETRES PHYTOPLANCTONIQUES DU POINT DE REFERENCE ERMITAGE LARGE

Une condition préalable pour que des indicateurs ou des indices biologiques soient écologiquement significatifs est qu'ils répondent aux proxys de pression (*e.g.* Birk et al. 2012, Garmendia et al. 2013). En Méditerranée occidentale, notre démarche a été de sélectionner <u>a priori</u> les variables phytoplanctoniques qui répondent le mieux aux variations des concentrations en nutriments pour construire l'indice de composition ICPP Médit (Goffart 2019). Cette approche, retenue aussi par Pachès et al. (2013), se base sur l'analyse « écologique » des spécificités des communautés phytoplanctoniques des régions étudiées. Elle

nous semble mieux adaptée aux systèmes (ultra-)oligotrophes que celles qui testent uniquement <u>a</u> <u>posteriori</u> la sensibilité d'indicateurs aux pressions estimées (i) à dire d'experts (*e.g.* Lugoli et al. 2012), (ii) par des métriques fortement agrégées (moyennes annuelles des concentrations en sels nutritifs, Lampert & Farinas 2018) ou par des approches de type Lusival difficiles à mettre en œuvre (Romero et al. 2013). De plus, notre approche contient des informations qui peuvent indiquer une altération précoce ou saisonnière des communautés phytoplanctoniques, ces informations n'étant pas mises en évidence par des indices basés sur un traitement uniquement statistique des données (*e.g.* indices de similarité ou de diversité). Dans ce cadre, les relations nutriments / paramètres phytoplanctoniques ont été testées sur la série de données 2015 - 2019 du point Ermitage Large afin d'identifier les variables phytoplanctoniques qui répondent le mieux à la température et aux variations naturelles des concentrations des différentes formes d'azote (Tableau 2). Nous avons ajouté les silicates et le rapport Si/PO₄. Les silicates ne sont pas considérés comme une pression d'origine anthropique, mais ils peuvent limiter la croissance des diatomées et des silicoflagellés. Des travaux récents (Baines et al. 2012) ont aussi montré que certaines lignées de *Synechococcus* accumulent de la silice en milieu tropical et équatorial.

Peu de corrélations significatives sont mises en évidence, en raison essentiellement du caractère ultraoligotrophe du point Ermitage Large et de la faible amplitude des variations saisonnières des concentrations en nutriments. Il apparaît néanmoins que :

- 1. la DV-chl *a* et la buta sont corrélées négativement à la température, indiquant une préférence des *Prochlorococcus* et des pélagophycées pour l'eau plus froide;
- les prasinophycées, identifiées par la Tchl b et la prasinoxanthine, sont favorisés lorsque le rapport Si/PO₄ augmente;
- 3. les cyanobactéries répondent négativement à une augmentation des NO₃+NO₂ dans l'eau, ce qui suggère une préférence pour d'autres formes d'azote;
- 4. les silicoflagellés, dont la croissance demande de la silice, sont favorisés par une augmentation du rapport Si/PO₄.

7. SUITE DU TRAVAIL

La suite du travail consistera à :

- travailler sur les données des autres stations du réseau Réunion DCE pour étudier les relations proxys de pression / paramètres phytoplanctoniques et identifier les variables phytoplanctoniques qui répondent le mieux aux pressions,
- tenter de définir un indice de composition adapté aux caractéristiques des eaux côtières de La Réunion et l'intégrer aux métriques existantes pour la biomasse,
- le cas échéant, et en collaboration avec les acteurs concernés, émettre des recommandations pour consolider le protocole de terrain (fréquence de surveillance, points, ...).

Tableau 2 (page suivante). Corrélations entre les paramètres environnementaux et les principales variables phytoplanctoniques de la station Ermitage Large (données 2015 - 2019). Coefficients de corrélation de Spearman pour α = 0.05; - : non significatif.

Rapport intermédiaire du projet « Indices phytoplanctoniques pour les eaux côtières de La Réunion »

	Temp	NO ₃	NO2	NO ₃ +NO ₂	\mathbf{NH}_4	DIN	PO ₄	Si	DIN/PO ₄	NO ₃ +NO ₂ /PO ₄	Si/PO ₄
Pigments (2 mesures par saison)											
Tchl a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Dv-chl <i>a</i>	-0.43	-	-	-	-	-	-	-	-		
Tchl <i>b</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.44
Zéa	-	-	-	-0.44	-	-	-	-	-0.42	-0.46	
19'HF Fucoxanthine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Péridinine Buta	-0.68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Prasinoxanthine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.45
Dénombrements (1 mesure par saison)											
Diatomées Dinoflagellés Cyanobactéries	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Prymnésiophycées	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Silicoflagellés	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.67
Cytométrie (1 mesure par saison, moyenne des triplicats)											
Picophytoplancton total Prochlorococcus Synechococcus Picoeucaryotes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nanophytoplancton total Cyanos filamenteuses	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nanoeucaryotes	-	_	-	-	-0.66	-	-	-	-	-	-

8. REMERCIEMENTS

Nous remercions tous les personnels qui ont permis l'acquisition, l'analyse et la bancarisation des données utilisées dans ce rapport.

9. LISTE DES LEGENDES ET DES TABLEAUX

- Figure 2 : Série temporelle de nitrates en surface calculés par le modèle NOBM_MON 2017 pour le point 20.6667 55.00 (Modis-based NPP data). Moyennes mensuelles accessibles via https://giovanni.gsfc.nasa.gov/giovanni/. A : Série temporelle 2010 2015; B : Zoom sur les années 2014 et 2015.

- Figure 7. A : Série temporelle 2010 2019 de chl a de surface dans la zone Large Ermitage. Trait vert continu : Mesures satellitaires générées par SEADAS utilisant des données OCI, OC3 et/ou OC5 (version 4.2, résolution de 4 km), moyennes par période de 8 jours dans un polygone incluant le point Ermitage Large. Source des données : https://www.oceancolour.org/portal/. Triangles roses : mesures in situ réalisées par fluorimétrie (Aminot & Kérouel 2004) au point Ermitage Large

- Figure 15. Boxplots des abondances du picophytoplancton au point Ermitage Large pour la période 2015 2019 (concentrations moyennes, P₁₀ et P₉₀, min, max). Données issues de la cytométrie en flux. De gauche à droite et de haut en bas : période 2015 2019 toutes saisons confondues (n = 11 triplicats); hiver austral (juillet septembre, n = 4 triplicats); début de saison chaude (novembre -

- Tableau 1 (page suivante). Message taxonomique apporté par les caroténoïdes du phytoplancton marin.Synthèse de Goffart (2019), d'après l'ouvrage de référence de Roy et al. (2012).13
- Tableau 2 (page suivante). Corrélations entre les paramètres environnementaux et les principales variablesphytoplanctoniques de la station Ermitage Large (données 2015 2019). Coefficients decorrélation de Spearman pour a = 0.05; : non significatif.22

10. REFERENCES

- Aminot A. & Kéroulel R., 2004. Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. IFREMER, 336 pp.
- Baines S.B., Twining B.S., Brzezinski M.A., Kraus, J.W., Vogt S., Assael D., McDaniel H., 2012. Significant silicon accumulation by marine picocyanobacteria. *Nature Geoscience* 5, 886-891.
- Birk S., Bonne W., Borja A., Brucet S., Courrat A., Poikane S., Solimini A., van de Bund W., Zampoukas N., Hering D., 2012. Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecological Indicators* 18, 31-41.
- Bustillos-Guzmán J., Claustre H., Marty J.-C., 1995. Specific phytoplankton signatures and their relationships to hydrographic conditions in the coastal northwestern Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series* 124, 247–258.
- Casotti R., Landolfi A., Brunet C., D'Ortenzio F., Mangoni O., Ribera d'Alcala M., 2003. Composition and dynamics of the phytoplankton of the Ionian Sea (eastern Mediterranean). *Journal of Geophysical Research* 108.
- Claustre H., Kerhervé P., Marty J.-C., Prieur L., Videau C., Hecq J.-H., 1994. Phytoplankton dynamics associated with a geostrophic front: Ecological and biogeochemical implications. *Journal of Marine Research* 52, 711-742.
- Denis M., Thyssen M., Martin V., Manca B., Vidussi F., 2010. Ultraphytoplankton basin-scale distribution in the eastern Mediterranean Sea in winter: link to hydrodynamism and nutrients. *Biogeosciences* 7, 2227-2244.

- Devlin M., Best M., Bresnan E., Scanlan C., Baptie M., 2014. Water Framework Directive : The development and status of phytoplankton tools for ecological assessment of coastal and transitional waters. United Kingdom. SNIFFER final report, 95 pp.
- Garmendia M., Borja Á., Franco J., Revilla M., 2013. Phytoplankton composition indicators for the assessment of eutrophication in marine waters: Present state and challenges within the European directives. *Marine Pollution Bulletin* 66, 7-16.
- Gibbs C.F., 1979. Chlorophyll b Interference in the Fluorometric Determination of Chlorophyll a and Phaeo-Pigments. Australian Journal of Marine and Freshwater Research 30(5), 597 - 606.
- Goffart A., 2019. Consolidation de l'indice composition IC Médit pour les eaux côtières de Méditerranée. Rapport final de l'action 1 du projet « Indicateur de composition phytoplanctonique ». Convention de subvention Onema - Université de Liège, 38 pp.
- Goffart A., Hecq J.-H., Legendre L., 2002. Changes in the development of the winter-spring phytoplankton bloom in the Bay of Calvi (NW Mediterranean) over the last two decades: a response to changing climate ? *Marine Ecology Progress Series* 236, 45-60.
- GTs DCE La Réunion et Mayotte « Physico-Chimie et Phytoplancton », 2019. Fascicule technique pour la mise en oeuvre des suivis « Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton » des réseaux de contrôle de surveillance DCE dans l'océan Indien. 61pp.
- Lampert, L., Hernandez-Fariñas, T., 2018. Détermination d'un indice de composition phytoplanctonique pigmentaire pour les eaux de la Manche et de l'Atlantique (DCE). Rapport final ONEMA IFREMER n°24, Brest, France, 66 pp.
- Lugoli F., Garmendia M., Lehtinen S., Kauppila P., Moncheva S., Revilla M., Roselli L., Slabakova N., Valencia,
 V. Dromph, K.M., Basset A., 2012. Application of a new multi-metric phytoplankton index to the assessment of ecological status in marine and transitional waters. *Ecological Indicators* 23, 338-355.
- Neveux J. Delmas D., Romano J.C., Algarra P., Ignatiades L., Herbland A., Morand D., Neori A., Bonin D., Barbe J., Sukenik A., Berman T., 1990. Comparison of chlorophyll and phaeopigment determinations by spectrophotometric, fluorometric, spectrofluorometric and HPLC methods. *Marine Microbial Foods Webs*, 4 (2), 217-238.
- Pachés M., Romero I., Hermosilla Z., Martinez-Guijarro R., 2012. PHYMED : An ecological classification system for the Water Framework Directive based on phytoplankton community composition. *Ecological Indicators* 19, 15-23.
- Romero I., Pachés M., Martínez-Guijarro R., Ferrer J., 2013. Glophymed: An index to establish the ecological status for the Water Framework Directive based on phytoplankton in coastal waters. *Marine Pollution Bulletin* 75, 218-223.
- Roy S., Llewellyn C.A., Egeland E.S., Johnsen G.E., 2012. Phytoplankton Pigments : Characterization, Chemotaxonomy and Applications in Oceanography. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 845 pp.
- Van Heukelem L. & Thomas C.S., 2001. Computer-assisted high-performance liquid chromatography method development with applications to the isolation and analysis of phytoplankton pigments. Journal of Chromatography A, 910 (1), 31-49.
- Wrigth S., 2005. Course notes for a workshop « Pigment Analysis Of Antarctic Microorganisms », University of Malaya, June 29 July 1, 2005, 52 pp.