



Rapport de Stage de 2ème année de Master

Mention Science de la Mer Parcours Ecologie Marine et Halieutique (EMaH)

Année 2021-2022



Étude de la dynamique des communautés phytoplanctoniques côtières à haute fréquence au cours du bloom printanier en Manche Orientale

Kévin Robache

Encadré par M. Luis Felipe Artigas (Enseignant-Chercheur) Co-encadré par M. François Schmitt (Directeur de recherche)

Remerciements

Je remercie M. Felipe ARTIGAS et M. François SCHMITT pour leur encadrement et pour ce que ce stage m'a apporté. Je remercie également M. Hubert LOISEL pour son accueil au sein du Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences ainsi que l'IR ILICO et le CNRS pour le financement de ce stage.

Je remercie toutes les personnes avec qui j'ai pu travailler lors de ce stage et m'ayant aidé dans ce travail, au LOG mais également en collaboration avec IFREMER.

En particulier, je remercie Alexandre EPINOUX, Arnaud LOUCHART, Clémentine GALLOT, Florine VERHAEGHE et Zéline HUBERT pour leurs précieux conseils, aussi bien sur la rédaction que sur les méthodes d'analyse. Je les remercie également pour leur bonne humeur journalière ayant rendu ce stage particulièrement agréable. J'en garde de nombreux très bon souvenirs, agrémentés de café, de thé, des paroles d'Aline et du Sud.

Je souhaite remercier aussi tout particulièrement Vincent CORNILLE, les marins du Sépia II (Christophe et Noël), Manon et Eva pour la réalisation des échantillonnages discrets. Également, je remercie Jean-Valéry FACQ et Benoit CHEDOT pour leurs disponibilité lors des nombreuses interventions sur le site de MAREL Carnot, toujours dans la bienveillance et le professionnalisme.

Je remercie le corps enseignant du Master EMaH (ULCO) pour leurs cours lors du Master. Je remercie également les personnes qui reliront ce rapport pour le temps et l'investissement qu'ils y accordent.

Enfin, je remercie ma famille, mes amis et Félicia pour leur soutien au quotidien.

Cette étude s'inscrit au sein des CPER MARCO et IDEAL, ainsi qu'au sein du projet européen H2020 JERICO S3. Je remercie ces projets pour le soutien financier à la recherche associée à ce stage.



Sommaire

I – Introduction	1
A – Le phytoplancton	1
B – Les zones côtières	2
C – L'observation du phytoplancton en zone côtière	2
D – La cytométrie en flux automatisée à haute-fréquence	
E – Problématique et objectifs de l'étude	4
II – Matériels et méthodes	4
A – Présentation de la zone d'étude	4
1 – Localisation et paramètres de la zone d'étude	4
a – La bathymétrie et le marnage de la zone d'étude	5
b – La courantologie de la zone d'étude	6
c – Le fleuve côtier	7
2 – La station MAREL Carnot	8
B – Les appareils de mesures	8
1 – La cytométrie en flux	8
a – La diffusion aux petits angles (0°-15°)	11
b – La diffusion aux grands angles (45°-135°)	11
c – Les fluorescences rouge, orange et jaune	11
2 – Les autres appareils de la station MAREL Carnot	
C – Stratégie d'échantillonnage	
1 – Échantillonnage haute fréquence (MAREL Carnot)	
2 – Échantillonnage basse fréquence (MAREL Carnot, SRN Boulogne)	
3 – Protocoles d'analyse cytométrique	14
4 – Source des autres données utilisées	15
D – Traitement des données	15
1 – Traitement des données de cytométrie en flux	15
2 – Étude de la phénologie au cours du bloom	16
3 – Étude des périodicités dans les données phytoplanctoniques	16
4 – Désaisonnalisation des données	17
5 – Données environnementales utilisées	
III – Résultats	
A – Groupes phytoplanctoniques optiques distingués	
B – Dynamique et phénologie des blooms	19
1 – Bloom printanier de l'année 2021	19
a – Dynamique des abondances phytoplanctoniques	19
b – Dynamique de la fluorescence rouge phytoplanctonique	
2 – Bloom printanier de l'année 2022	

a – Dynamique des abondances phytoplanctoniques	
b – Dynamique de la fluorescence rouge phytoplanctonique	
3 – Observation de la phénologie en lien avec les paramètres abiotiques	
C – Étude de la variabilité multi-échelles	
a – Périodicités des signaux phytoplanctoniques à petite échelle temporelle	
b – Périodicités des abondances à l'échelle des marées V.E – M.E	
b – Dynamique du bloom printanier à grande échelle temporelle	
IV – Discussion	
V – Conclusions et perspectives	
Bibliographie	
Sitographie	40
Sources des données utilisées	40
Annexes	
Annexe I : Carte de la bathymétrie de la zone d'étude	41
Annexe II : Caractéristiques détaillées de la sonde MPE NK6 de la station MAREL	
Annexe III : Comparaison entre les données haute fréquence et basse fréquence	42
Annexe IV : Images des différents groupes optiques distingués	
Annexe V : Chronologie de l'étude	
Annexe VI : Figures complémentaires : cyclicité de 14 jours	
Annexe VII : <i>EMDs</i> complètes	49
Annexe VIII : Représentation de quelques données environnementales	51
Annexe IX : Alternances entre les groupes Nano/Micro et les groupes Pico	54
Annexe X : Dynamique des différents groupes séparés	57
Annexe XI : Clusterisation (protocole « Micro ») et paramètres d'acquisition	61
Annexe XII : Matrice de corrélation (résidu de l'EMD/données environnementales)	

Liste des illustrations

Figures

	-
<u>Figure 1</u> : Carte de la zone d'étude	5
<u>Figure 2</u> : Marnage de la Manche.	5
Figure 3 : Exemple des courants du 17 mai 2022 à haute et basse mer en Manche	6
<u>Figure 4</u> : Images aériennes de la sortie de la rade et du port de Boulogne-sur-Mer lors de la marée montante à $HM + 2h(A)$ et $HM - 1h(B)$.	7
<u>Figure 5</u> : Salinités de surface et débits moyens des apports fluviaux en avril 1988 (A) et structure théorique de l'interface entre le fleuve côtier et les eaux du large (B)	7
<u>Figure 6</u> : Photographie d'opérateurs réalisant une maintenance des appareils de la bouée MAREL (A) et de la bouée MAREL vue de l'extérieur (indiquée par une flèche jaune ; B)	8
Figure 7 : CytoSub (A) et CytoSense (B) utilisés.	9
Figure 8 : Le principe de fonctionnement d'un cytomètre en flux.	9
Figure 9 : La focalisation hydrodynamique.	10
<u>Figure 10</u> : Exemple de profil optique d'une diatomée coloniale (<u>Lauderia sp.</u>) et image associée	10
Figure 11 · Influence de la taille des particules sur la diffusion aux petits angles	10
Figure 12 : Représentation schématique de la diffusion aux grands angles	11
<u>Figure 12</u> . Representation schematique de la diffusion das grands angles.	11
<u>Figure 15</u> . Trincipe de fonctionnement des fuires optiques	11
<u>Figure 14</u> : Principe de Jonctionnement à un miroir alchroique.	12
<u>Figure 15</u> : Système de mesure de la station MAREL immergé sur sa perche	13
<u>Figure 16</u> : Exemple de cytogramme basé sur les données du protocole « Pico » de l'échantillon du 29 avril 2022 à 14h00 : FLR (proxy de la chlorophylle a) en fonction du FWS (proxy de la taille). Les différents clusters sont légendés. Les billes sont utilisées en guise d'étalon pour la taille des particules.	15
<u>Figure 17</u> : Abondances phytoplanctoniques totale (trait noir) et relatives (aires empilées colorées) déterminées par cytométrie en flux in-situ et in-vivo sur le site de MAREL entre le 23 mars et le 12 mai 2021.	19
<u>Figure 18</u> : FLR (proxy non-calibré de la biomasse chlorophyllienne) phytoplanctonique totale (trait noir) et relatives (aires empilées colorées) déterminées par cytométrie en flux in-situ et in- vivo sur le site de MAREL Carnot entre le 23 mars et le 12 mai 2021	20
<u>Figure 19</u> : Abondances phytoplanctoniques totale (trait noir) et relatives (aires empilées colorées) déterminées par cytométrie en flux in-situ et in-vivo sur le site de MAREL Carnot entre le 17 mars et le 13 juin 2022.	21
<u>Figure 20</u> : FLR (proxy non-calibré de la biomasse chlorophyllienne) phytoplanctonique totale (trait noir) et relatives (aires empilées colorées) déterminées par cytométrie en flux in-situ et in- vivo sur le site de MAREL Carnot entre le 17 mars et le 13 juin 2022	22
<u>Figure 21</u> : nMDS des données d'abondances phytoplanctoniques de 2021 (A) et 2022 (B) en lien avec les données environnementales.	23
<u>Figure 22</u> : Périodogrammes de Lomb-Scargle des abondances phytoplanctoniques et de la fluorescence rouge totale (proxy de la chlorophylle a) lors du printemps 2021 (A) et du printemps 2022 (B). La ligne bleue représente le seuil de significativité des pics de périodicité (avec une p-	

value de 0,01). Les figures par groupe (pour les abondances) sont disponbles en annexe (annexe X). NP (Normalised Power) représente l'amplitude du signal du périodogramme	24
Figure 23 : Anomalies du signal d'abondance phytoplanctonique totale de 2021	25
Figure 24 : Anomalies du signal d'abondance phytoplanctonique totale de 2022	25
<u>Figure 25</u> : Anomalies du signal d'abondances phytoplanctoniques et de la hauteur d'eau en 2021. Les anomalies des abondances sont calculées à partir d'une moyenne propre à chaque période (ces dernières étant séparées par des bandes noires).	26
<u>Figure 26</u> : Anomalies du signal d'abondances phytoplanctoniques et de la hauteur d'eau en 2022. Les anomalies des abondances sont calculées à partir d'une moyenne propre à chaque période (ces dernières étant séparées par des bandes noires).	26
<u>Figure 27</u> : ACP des abondances totales et des données environnentales de 2021 (A) et 2022 (B)	27
<i>Figure 28</i> : Corrélation croisée entre les anomalies d'abondances phytoplanctoniques et de la hauteur d'eau en 2021	27
<u>Figure 29</u> : Corrélation croisée entre les anomalies d'abondances phytoplanctoniques et de la hauteur d'eau en 2022.	28
<u>Figure 30</u> : Anomalies d'abondances phytoplanctoniques (lissées avec une moyenne mobile de 12h) et anomalies de l'amplitude de marée journalière de 2021	28
<u>Figure 31</u> : Anomalies d'abondances phytoplanctoniques (lissées avec une moyenne mobile de 12h) et anomalies de l'amplitude de marée journalière de 2022	29
<u>Figure 32</u> : Résidus des EMDs réalisées sur les abondances phytoplanctoniques de 2021 (A) et de 2022 (B). L'axe des ordonnées représente les abondances ($.10^4$ cell.mL ⁻¹)	30
<u>Figure 33</u> : Matrices de corrélation de Pearson des résidus des abondances phytoplanctoniques avec les données environnementales pour les données de 2021 (A) et de 2022 (B). Les coefficients barrés d'une croix ne sont pas significatifs (p-value > 0,01). Figure disponible en grand format en annexe (annexe XII).	30

Tableaux

<u>Tableau 1</u> : Principe d'établissement des trois protocoles d'acquisition.	14
<u>Tableau 2</u> : Données environnementales utilisées et unités associées	18
<u>Tableau 3</u> : Lexique détaillé et correspondance des groupes optiques recensés	18

Annexes

Figure I : Carte de la bathymétrie de la zone d'étude	.41
Tableau II : Caractéristiques principales de la sonde MPE NK6	.41
<u>Figure IIIa</u> : Abondances phytoplanctoniques totales en 2021. Le trait noir correspond aux données haute fréquence (MAREL Carnot) et les points rouges correspondent aux données basse fréquence (SRN BL1).	.42
<u>Figure IIIb</u> : Abondances phytoplanctoniques totales en 2022. Le trait noir correspond aux données haute fréquence et les points rouges correspondent aux données basse fréquence (MAREL Carnot)	.42
<i><u>Figure IVa</u> : Image d'une particule du groupe NanoRED2, associée à une cellule flagellée de P. globosa.</i>	.43

<u>Figure IVb</u> : Image d'une particule du groupe NanoRED2, associée à une cellule flagellée de P. globosa.	43
<u>Figure IVc</u> : Images de particules du groupe NanoRED3, associée à des cellules coloniales libres de P. globosa.	43
<u>Figure IVd</u> : Images de particules du groupe NanoSWS, associée à un coccolithophoridé <u>Figure IVe</u> : Images de particules du groupe NanoORG, associée à une cryptophyte	44 44
Figure IVf : Images de particules du groupe MicroRED, associée à une <u>Pseudo-nitzschia sp</u>	44
Figure IVg : Images de particules du groupe MicroRED2, associée à une <u>Rhizosolenia sp</u>	44
<u>Figure IVh</u> : Images de particules du groupe MicroRED2, associée à une <u>Leptocylindrus danicus</u> Cleve, 1889.	45
<u>Figure IVi</u> : Images de particules du groupe MicroRED2, associée à <u>Lohmanniella oviformis</u> Leegaard, 1915	45
Figure IVj : Images de particules du groupe MicroRED2, associée à <u>Ditylum brightwellii</u>	45
<u>Figure IVk</u> : Images de particules du groupe MicroRED2, associée à une <u>Rhizosolenia imbricata</u> Brightwell, 1858.	45
Figure Va : Chronologie de l'étude de l'année 2021	46
Figure Vb : Chronologie de l'étude de l'année 2022	47
<u>Figure VI</u> : ACPs des données cytométriques et environnementales (avec une moyenne mobile de 12 heures pour les abondances) de 2021 (A) et 2022 (B).	48
Figure VIIa : EMD du signal des abondances phytoplanctoniques de 2021	49
Figure VIIb : EMD du signal des abondances phytoplanctoniques de 2022.	50
Figure VIIa : Température de l'eau en 2021 (A) et 2022 (B)	51
Figure VIIb : Rose des vents à Boulogne-sur-Mer (Météo France) de 2021.	52
Figure VIIc : Rose des vents à Boulogne-sur-Mer (MAREL Carnot) de 2022.	52
<u>Figure VIId</u> : Vitesse des vents en 2021 (A ; Météo France) et vitesse des vents (ligne noire) et des vents en rafale (ligne pointillée rouge) en 2022 (B ; MAREL Carnot)	53
<u>Figure IXa</u> : Rapport entre les groupes Nano/Micro et les groupes Pico des données de 2021. La ligne noire représente la valeur 1.	54
<u>Figure IXb</u> : Anomalies du rapport (par périodes, séparées par des bandes noires) entre les groupes Nano/Micro et les groupes Pico des données de 2021	54
<u>Figure IXc</u> : Matrice de corrélation entre les abondances cumulées des groupes Nano/Micro et Pico en 2021 et leur rapport.	55
<u>Figure IXd</u> : Rapport entre les groupes Nano/Micro et les groupes Pico des données de 2022. La ligne noire représente la valeur 1.	55
<u>Figure IXe</u> : Anomalies du rapport (par périodes, séparées par des bandes noires) entre les groupes Nano/Micro et les groupes Pico des données de 2022	56
<u>Figure IXf</u> : Matrice de corrélation entre les abondances cumulées des groupes Nano/Micro et Pico en 2022 et leur rapport.	56
<u>Figure Xa</u> : Abondances phytoplanctoniques et FLR (proxy de la biomasse chlorophyllienne) pour chacun des groupes optiques distingués en 2021.	57
<u>Figure Xb</u> : Abondances phytoplanctoniques et FLR (proxy de la biomasse chlorophyllienne) pour chacun des groupes optiques distingués en 2022.	58
<u>Figure Xc</u> : Périodogrammes de Lomb-Scargle des abondances des différents groupes phytoplanctoniques, données de 2021	59

<u>Figure Xd</u> : Périodogrammes de Lomb-Scargle des abondances des différents groupes phytoplanctoniques, données de 2022.	59
<u>Figure Xe</u> : Périodogrammes de Lomb-Scargle du FWS (proxy de la taille) par cellule des différents groupes phytoplanctoniques, données de 2021.	60
<u>Figure Xf</u> : Périodogrammes de Lomb-Scargle du FWS (proxy de la taille) par cellule des différents groupes phytoplanctoniques, données de 2022.	60
<u>Figure XI</u> : Exemple de cytogramme basé sur les données du protocole « Micro » de l'échantillon du 18 mai 2022 à 10h00 : FLR (proxy de la chlorophylle a) en fonction du FWS (proxy de la taille). Les différents clusters sont légendés.	61
<u>Tableau XI</u> : Détails des paramètres des protocoles d'acquisition de 2021 (orange) et 2022 (bleu).	61
Figure XII : Figure 33 en grand format	62

Lexique

- CPER IDEAL/MARCO = Contrat de Plan État-Région
- *EMD* : Empirical *Mode Decomposition* = Décomposition Modale Empirique
- *FLO* : *Orange Fluorescence* = Fluorescence orange
- *FLR* : *Red Fluorescence* = Fluorescence rouge
- *FLY*: *Yellow Fluorescence* = Fluorescence jaune
- *FWS* ou *FSC* : *Forward Scatter* = Diffusion aux petits angles
- IDEAL = approche Intégrée des Défis maritimes et Littoraux
- ILICO = Infrastructure de recherche Littorale et Côtière
- JERICO = Joint European Research Infrastructure of Coastal Observatories
- MARCO = recherche Marine et littorale en Côte d'Opale
- MAREL = Mesures Automatisées en Réseau pour l'Environnement Littoral
- *nMDS* : *non-metric Multidimensional Scaling* = Mise à l'échelle multidimensionnelle non métrique
- IGN = Institut Géographique National
- SHOM = Service Hydrographique et Océanographique de la Marine
- *SWS* ou *SSC* : *Sideward Scatter* = Diffusion aux grands angles
- V.E. M.E. = vives-eaux mortes-eaux

I – Introduction

A – Le phytoplancton

Le phytoplancton (du grec ancien *phyton* qui signifie « plante » et *planktos* qui signifie « errant ») représente l'ensemble des organismes unicellulaires et autotrophes au carbone vivant en suspension dans la colonne d'eau (Falkowski, 2003 ; Pal & Choudhury, 2014).

Ces organismes jouent le rôle de producteurs primaires au sein des écosystèmes marins en produisant de la matière organique à partir de matière inorganique (et donc inutilisable par les organismes hétérotrophes), par le biais de la photosynthèse (Eq. 1) notamment. Ils forment, avec les bactéries hétérotrophes, la base des écosystèmes marins puisqu'ils sont la plus grande source de production de matière organique. Cette dernière transitera par la suite au sein du réseau trophique vers les échelons trophiques supérieurs, directement par le broutage ou indirectement par le réseau trophique microbien (Legendre & Rassoulzadegan, 1995).

$$6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2 \text{ O} (+ \text{Lumière}) \rightarrow \text{C}_6 \text{H}_{12} \text{O}_6 + 6 \text{ O}_2$$
 (1)

Le phytoplancton représente environ la moitié de la production primaire nette mondiale annuelle. Pourtant, il ne représente que 0,2% de la biomasse chlorophyllienne (Falkowski *et al.*, 1998 ; Field *et al.*, 1998 ; Falkowski, 2003). De plus, le phytoplancton produirait environ 70% du dioxygène atmosphérique (O_2 ; Pal & Choudhury, 2014) tout en absorbant 40% du dioxyde de carbone (CO_2) produit chaque année, en partie par les activités humaines (Falkowski, 1994 ; Salam & Noguchi, 2005). Les organismes phytoplanctoniques font partie de la « pompe biologique », un processus permettant l'absorption de CO_2 dans les mers et océans (De La Rocha & Passow, 2006).

Différents contrôles trophiques s'exercent sur le compartiment phytoplanctonique. Un contrôle *bottom-up*, exercé par les paramètres physico-chimiques du milieu (liés aux ressources ; disponibilité des nutriments, taux d'ensoleillement), permet de réguler la croissance et la reproduction du phytoplancton (Ward *et al.*, 2014 ; Wyatt, 2014). Également, un contrôle *top-down* est exercé sur le phytoplancton par les compartiments trophiques supérieurs par le biais du broutage (Lehman, 1991 ; Banse, 1994 ; Verity & Smetacek, 1996 ; Smith & Lancelot, 2004 ; Menge & Weitz, 2009). Certains virus et autres parasites exercent un contrôle *top-down* sur le compartiment phytoplanctonique (Fuhrman, 1999 ; Wilhelm & Suttle, 1999 ; Wommack & Colwell, 2000 ; Weinbauer, 2004 ; Suttle, 2005 ; Menge & Weitz, 2009). Le phytoplancton est capable de proliférer rapidement (on parle d'efflorescence ou de bloom phytoplanctonique ; Smayda, 1997) lorsque les conditions physico-chimiques du milieu sont favorables

phytoplanctonique ; Smayda, 1997) lorsque les conditions physico-chimiques du milieu sont favorables à sa croissance, par exemple suivant l'apport naturel ou anthropique de nutriments (nitrates, silicates et phosphates) et d'un ensoleillement suffisant (Chiswell *et al.*, 2015).

En général, deux efflorescences ont lieu dans l'année dans les systèmes marins tempérés. Le bloom printanier apparaît lorsque l'ensoleillement ne devient plus limitant (« *detrainment bloom* » ; Banse & English, 2000). Cette condition peut par exemple permettre de rendre la couche de mélange moins profonde que la couche critique (Sverdrup, 1953), ce qui permet l'apparition du bloom printanier dans les océans. Ensuite, le bloom automnal apparaît lorsque les nutriments ne sont plus limitants (« *entrainment bloom* » ; Banse & English, 2000), à la suite des précipitations automnales qui enrichissent le milieu en nutriments lors d'une saison où l'ensoleillement est réduit mais suffisant. Des conditions particulières peuvent également favoriser l'apparition d'un bloom, comme les remontées d'eau (*upwelling*) côtières (McCreary *et al.*, 1996), l'advection et les structures frontales en général. L'importance du phytoplancton est par conséquent significative au sein de presque tous les écosystèmes et grands cycles biogéochimiques.

B – Les zones côtières

Les zones côtières sont des zones de transition entre le milieu terrestre et le milieu marin. Elles représentent environ 12% de la surface de la Terre (Crossland *et al.*, 2005).

Ce sont des zones de fortes interactions entre le milieu terrestre et le milieu océanique offrant de multiples gradients biogéochimiques environnementaux et permettant l'apparition d'écosystèmes spécifiques. Ce sont également des zones très influencées par les paramètres physiques et hydrologiques, permettant par exemple le transport de sédiments, de nutriments et de contaminants (Crossland *et al.*, 2005).

Ces milieux connaissent une forte variabilité temporelle et spatiale due aux forçages extérieurs, dont les changements d'origine anthropique directe et le changement global. Pourtant, ces zones où réside une grande partie de la population mondiale (entre 23% et 50% ; Crossland *et al.*, 2005) sont cruciales pour certaines activités humaines comme la pêche (90% de la pêche mondiale ; Crossland *et al.*, 2005).

C – L'observation du phytoplancton en zone côtière

Les eaux côtières sont des zones de forte production primaire, dû à leur enrichissement en nutriments notamment (Cloern *et al.*, 2014). L'observation du phytoplancton dans ces zones présente de nombreux avantages écologiques, mais aussi socio-économiques.

Les communautés phytoplanctoniques *in-vivo* sont par exemple de bons indicateurs, à temps réel (elles ne permettent pas toujours de garder une trace des perturbations passées à grande échelle temporelle à un instant donné ; Margiotta *et al.*, 2020), de l'état de l'environnement dans lequel elles évoluent, puisqu'elles répondent rapidement à certains changements environnementaux (Willén, 2001 ; Tett *et al.*, 2008). C'est par exemple pour cela que dans le cadre de la directive 2008/56/CE ou « DCSMM » (Directive Cadre Stratégie Milieu Marin), le compartiment phytoplanctonique est utilisé pour la mise en place de plusieurs indicateurs de l'état des écosystèmes. Les indicateurs PH2 et PH3, liés respectivement

à la biomasse et à la diversité phytoplanctonique (Duflos *et al.*, 2018), sont des indicateurs en cours de développement pour l'étude de l'état écologique du milieu marin. Également, plusieurs critères du descripteur 5 (sur l'eutrophisation des masses d'eau) de la DCSMM s'appuient sur l'étude du phytoplancton en mesurant des paramètres comme la concentration de chlorophylle *a* (Devreker & Lefebvre, 2018).

L'étude du phytoplancton peut aussi permettre la surveillance des efflorescences d'algues nuisibles. Dans le cas de la Manche Orientale, plusieurs cas peuvent être recensés. Par exemple, le bloom de *Phaeocystis globosa* qui engendre l'apparition d'une écume mucilagineuse (Lancelot, 1995) pouvant nuire aux activités humaines comme la pêche (Lefebvre & Delpech, 2004). Également, le bloom de certaines espèces de *Pseudo-Nitzschia* (Hasle, 2002 ; Klein *et al.*, 2010) produisent une toxine nommée acide domoïque (Lelong *et al.*, 2012) provoquant des problèmes de santé chez l'Homme et pouvant s'accumuler dans certains produits de la mer comme les moules (Fehling *et al.*, 2004).

Tous ces éléments démontrent donc la pertinence de l'étude du phytoplancton, et en particulier dans un milieu comme la Manche Orientale. Plus précisément, son étude au large de Boulogne-sur-Mer présente un réel intérêt puisque c'est un milieu fortement anthropisé, le port de Boulogne-sur-Mer étant un grand port de pêche en France. Également, cette zone est soumise à de nombreux apports terrigènes provenant des estuaires Picards et de la Mer d'Opale comme de celui de la Liane, entraînant une variabilité physico-chimique spatio-temporelle (température, salinité et sels nutritifs en particulier ; Brylinski *et al.*, 1991 ; Bonato *et al.*, 2015).

D – La cytométrie en flux automatisée à haute-fréquence

Les études à haute-fréquence permettent d'observer le milieu marin avec une haute précision. Elles permettent l'observation de phénomènes rapides se déroulant à l'échelle de quelques heures (Dubelaar *et al.*, 2004). Elles permettent aussi d'appréhender la forte variabilité spatiale du milieu marin, liée à la méso et sub-méso échelle (Rantajarvi *et al.*, 1998 ; Bonato *et al.*, 2015).

La cytométrie en flux (de type « *pulse-shape recording* ») est une méthode ataxonomique d'analyse permettant de déterminer les différents paramètres optiques d'une particule ayant une taille comprise entre 0,5µm (picophytoplancton) et 900µm (colonies phytoplanctoniques) en réalisant et enregistrant leur « scan optique » (ou « *pulse shape* » ; Pomati *et al.*, 2013 ; Fontana *et al.*, 2014). Ainsi, les différentes communautés phytoplanctoniques présentes dans un échantillon peuvent être distinguées en fonction de leurs ressemblances optiques (Dubelaar & Gerritzen, 2000 ; Dubelaar & Jonker, 2000 ; Olson *et al.*, 2003 ; Dubelaar *et al.*, 2004 ; Thyssen *et al.*, 2008, 2014 ; Bonato, 2015 ; Louchart, 2020 ; Louchart *et al.*, 2020 ; Epinoux, 2021).

L'utilisation de la cytométrie à basse fréquence au sein de la plupart des systèmes et services d'observation nécessite d'aller prélever de l'eau à bord d'un bateau, puis de transporter les échantillons pour les analyser vivants (et donc peu de temps après la collecte) en laboratoire. Cette méthode prend

du temps, et ne peut pas être réalisée à haute fréquence pour des raisons diverses (conditions météos, disponibilité du personnel, coûts, etc.).

C'est donc pour cela que lors de cette étude, la cytométrie en flux automatisée de type « *pulse-shape recording* » a été employée *in-situ*, couplée à une station de mesures automatisée. Cette méthode a déjà permis de démontrer des réponses rapides de groupes phytoplanctoniques après un évènement venteux soudain à Marseille (Dugenne *et al.*, 2014). Encore, elle a permis de mettre en évidence la variabilité rapide des communautés phytoplanctoniques en Mer Méditerranée, avec des mesures réalisées sur la bouée EOL (Thyssen *et al.*, 2014).

E – Problématique et objectifs de l'étude

L'objectif de cette étude est de pouvoir étudier à haute fréquence la dynamique des différentes communautés phytoplanctoniques au cours des blooms printaniers de 2021 (23 mars – 12 mai) et de 2022 (17 mars – 13 juin) en Manche Orientale, et notamment la dynamique de certaines espèces comme *Phaeocystis globosa* (qui peut être utilisée comme indicateur d'eutrophisation ; Lefebvre & Perrouchet, 2016).

Les abondances et les biomasses chlorophylliennes seront estimées à partir de la cytométrie en flux automatisée dans le but de pouvoir suivre la dynamique de ces communautés et de pouvoir estimer leur importance au sein du bloom avec une fréquence d'échantillonnage de deux heures.

Les données environnementales générées sur le site de MAREL Carnot en 2021 et 2022 (Service National d'Observation COAST-HF) seront traitées dans le but de mieux comprendre les mécanismes biotiques et abiotiques régulant un évènement de bloom printanier à différentes échelles temporelles (de quelques heures à plusieurs jours).

II – Matériels et méthodes

A – Présentation de la zone d'étude

1 – Localisation et paramètres de la zone d'étude

La zone d'étude se situe sur les côtes françaises de la Manche Orientale, au large de Boulognesur-Mer (figure 1). Plus précisément, elle se situe à la sortie de la rade communiquant avec le port de Boulogne-sur-Mer, une zone très anthropisée, avec notamment la présence d'un grand port de pêche associé à une zone industrielle. Elle se situe également à l'embouchure de la Liane, un fleuve lui aussi soumis à des pollutions agricole et urbaine (Agence de l'eau Artois-Picardie, 2016). Ce fleuve se déverse dans la Manche au niveau du bassin Frédéric Sauvage du port de Boulogne-sur-Mer lorsque les écluses sont ouvertes. Cela se produit lorsque le niveau de la mer est inférieur à celui de la Liane, principalement à marée descendante ou plus sporadiquement lors d'épisodes de crue (Georgeon *et al.*, 2018).



<u>Figure 1</u> : Carte de la zone d'étude. (Réalisée sur QGis avec l'extension « MetaSearch Catalog Client »)

a – La bathymétrie et le marnage de la zone d'étude

La bathymétrie de la Manche est assez faible, avec une profondeur moyenne de 54m (Kossinna, 1921). Pour nos points d'étude, la bathymétrie est comprise entre 8m (sur le point MAREL) et 18m (sur le point BL1 ; annexe I). Le marnage des eaux côtières de Boulogne-sur-Mer suit un régime macrotidal (marnage supérieur à 4m ; figure 2), voire mégatidal (supérieur à 8m ; Levoy, 2000). Les marées de la zone sont semi-diurnes, un cycle de marée complet dure donc environ 12 heures (Lazure & Desmare, 2012).



<u>Figure 2</u> : Marnage de la Manche. (Source : Lazure & Desmare, 2012)

b – La courantologie de la zone d'étude

Le courant de jusant est dirigé vers le Sud-Ouest (lorsque la marée est descendante) et le courant de flot est dirigé vers le Nord-Est (lorsque la marée est montante). La courantologie globale de la zone connaît donc une inversion au cours de la marée (figure 3). Cette circulation peut néanmoins être affectée par le vent (Lazure & Desmare, 2012).

La vitesse moyenne des courants de la Manche reste souvent proche de 1 m/s, avec cependant quelques variations au cours des marées de vives-mortes eaux et de basse-haute mer (figure 3). Les vitesses au sein du goulot d'étranglement de la Manche entre la France et le Royaume-Uni sont quant à elles plus élevées, avec des vitesses proches de 2m/s (figure 3).

La sortie de la rade de Boulogne-sur-Mer, dans laquelle se trouve la bouée MAREL Carnot, connaît quant à elle une dynamique locale particulière. En effet, à marée montante, les eaux de la rade forment un tourbillon (figure 4B). Cela a donc une influence sur les transports des particules de la zone, puisqu'une grande partie de ces dernières se retrouvent « piégées » dans la rade. Les échanges sont alors limités avec les eaux du large. À l'inverse, à marée descendante, les eaux emmenées vers le large partent en direction du sud, se dirigeant vers la Baie de Canche (figure 4 ; Jouanneau *et al.*, 2013 ; Sentchev & Yaremchuk, 2016).

Les vitesses des courants dans la rade sont plus faibles qu'au large, avec des vitesses souvent comprises entre 0,1 m/s et 0,3 m/s (Sentchev & Yaremchuk, 2016).



<u>Figure 3</u>: Exemple des courants du 17 mai 2022 à haute et basse mer en Manche. (Source : Modèle MARS3D sur le site LOPS MARC ; https://marc.ifremer.fr/resultats/courants/modeles_mars3d_manche_gascogne)



<u>Figure 4</u> : Images aériennes de la sortie de la rade et du port de Boulogne-sur-Mer lors de la marée montante à HM +2 h (A) et HM –1h (B). (Source : Jouanneau et al., 2013)

c – Le fleuve côtier

Les courants de la zone forment également ce que l'on appelle le « fleuve côtier » (Brylinski *et al.*, 1991). C'est une zone où certains paramètres physico-chimiques tels que les nutriments et la salinité sont affectés par l'eau déversée par les cours d'eau terrestres dans la mer (figure 5). On y remarque des eaux dessalées sur une bande côtière allant de 3 à 5 milles nautiques de large, séparée des eaux du large par une interface assimilée à un front de dessalure et de marée (Brylinski *et al.*, 1991).



<u>Figure 5</u> : Salinités de surface et débits moyens des apports fluviaux en avril 1988 (A) et structure théorique de l'interface entre le fleuve côtier et les eaux du large (B). (Source : Brylinski et al., 1991)

2 – La station MAREL Carnot

La station MAREL Carnot est une station automatisée fixe de mesures hautes fréquences située au bout de la digue Carnot, à Boulogne-sur-Mer. Elle a été construite en 2004 dans le but de surveiller l'anthropisation du milieu marin (Lefebvre & Repecaud, 2008) à la suite d'une collaboration entre l'État, le FEDER (Fonds européen de Développement Economique et Régional), le conseil régional de la région Nord-Pas-de-Calais, l'IFREMER (Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer) et le CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique ; Derot, 2014).

La station est une bouée flottante fixée le long d'un tube, dans lequel elle coulisse avec les variations de la hauteur d'eau dues à la marée (figure 6). De ce fait, l'échantillonnage peut être réalisé en subsurface, indépendamment du marnage.

Actuellement, cette station fait partie du SNO (Système National d'Observation) COAST-HF, dont le but est de réaliser la surveillance des eaux côtières de France métropolitaine via 14 stations de mesures à haute fréquence. Ce SNO fait également partie de l'infrastructure de recherche IR-ILICO qui vise à fédérer ces différents systèmes. La station MAREL Carnot est équipée de différents appareils de mesure des paramètres environnementaux et de la fluorescence *in-vivo*.



<u>Figure 6</u> : Photographie d'opérateurs réalisant une maintenance des appareils de la bouée MAREL (A) et de la bouée MAREL vue de l'extérieur (indiquée par une flèche jaune ; B).

B – Les appareils de mesures

1 – La cytométrie en flux

La cytométrie en flux a été utilisée pour réaliser l'étude des communautés phytoplanctoniques, déterminées à partir des paramètres optiques.

Les cytomètres utilisés sont un CytoSub, qui est une version submersible du CytoSense, et un CytoSense (figure 7). Ces appareils sont produits par la compagnie CytoBuoy b.v. (Pays-Bas).



Figure 7 : CytoSub (A) et CytoSense (B) utilisés.

La cytométrie en flux est une méthode qui permet l'analyse optique individuelle des particules. L'appareil se décompose en trois systèmes : le système fluidique, le système optique et le système électronique (figure 8).



<u>Figure 8</u> : Le principe de fonctionnement d'un cytomètre en flux. (Source : https://www.univ-reims.fr/urcacyt)



<u>Figure 9</u> : La focalisation hydrodynamique. (Source : Beauvillain et al., 2008)

Tout d'abord, un liquide de gaine (de l'eau de mer filtrée ayant le même indice de réfraction que l'échantillon) est mis en mouvement par une pompe à engrenage qui lui est associée. L'échantillon est mis en mouvement par une pompe péristaltique, avec une vitesse significativement plus faible. La différence de vitesse des flux permet l'accélération progressive de l'échantillon. De plus, une canalisation est réalisée en faisant passer l'échantillon par une buse. Ce sont ces deux processus qui permettent la création d'un flux laminaire où les particules sont alignées les unes derrière les autres (figure 9) : on parle de focalisation hydrodynamique (Bansept, 2022).



<u>Figure 10</u> : *Exemple de profil optique d'une diatomée coloniale (<u>Lauderia sp.</u>) et image associée.*

Les particules peuvent alors passer les unes après les autres devant un laser caractérisé par une longueur d'onde donnée (bleu dans le cas présent). Ce sont les interactions (diffraction et émission de fluorescence) de la particule passant devant le laser qui sont enregistrées et numérisées sous forme de

profil optique (ou *pulse shape* ; figure 10). Ainsi, plusieurs paramètres optiques sont relevés avec une résolution spatiale à l'échelle de la taille de la particule.

a – La diffusion aux petits angles (0°-15°)

La diffusion aux petits angles (*FWS* ou *FSC*) est mesurée par le biais d'une photodiode. Elle est liée à la taille de la particule analysée (figure 11), et sert donc de *proxy* pour son estimation (Cunningham & Buonnacorsi, 1992).



<u>Figure 11</u> : Influence de la taille des particules sur la diffusion aux petits angles. (Source : Chen, 2016)

b – *La diffusion aux grands angles (45°-135°)*

La diffusion aux grands angles (*SWS* ou *SSC*) est liée à la granularité et à la composition interne de la particule analysée (figure 12 ; Fragoso *et al.*, 2019). Elle est mesurée par des photomultiplicateurs car le signal d'origine est très faible, et est collectée sur les longueurs d'onde supérieures à 506 nm.



Figure 12 : *Représentation schématique de la diffusion aux grands angles.* (Source : Chen, 2016)

c – Les fluorescences rouge, orange et jaune

Les fluorescences sont utilisées pour détecter les pigments présents dans les particules analysées. Elles sont enregistrées par le biais de photomultiplicateurs, après être passées par un système de filtres (figure 13) et de miroirs (figure 14) permettant d'isoler les longueurs d'ondes visées.

Trois fluorescences sont utilisées au cours de cette étude (Hofstraat et al., 1994) :

- La fluorescence rouge (659-735 nm, *FLR*) : elle indique la présence de chlorophylle *a*, émettant une fluorescence rouge lorsqu'elle est excitée par un laser bleu (Bonato, 2015). Elle sera utilisée comme proxy de la biomasse chlorophyllienne.
- La fluorescence orange (604-644 nm, *FLO*) : elle indique la présence de pigments accessoires tels que la phycocyanine ou la phycoérythrine que l'on retrouve chez certains groupes taxonomiques (Bonato, 2015).
- La fluorescence jaune (559-575 nm, *FLY*) : elle indique la présence de matière organique en décomposition (pigments dégradés ; Louchart, 2020) ainsi que la présence de certains pigments accessoires comme la phycoérythrine (Bonato, 2015).



<u>Figure 13</u> : Principe de fonctionnement des filtres optiques. (Source : Site Slide Player, https://player.slideplayer.fr/74/12483707/slides/slide_22.jpg)



<u>Figure 14</u> : Principe de fonctionnement d'un miroir dichroïque. (Source : Cours cytométrie CIMI 2018 – Immulab)

2 - Les autres appareils de la station MAREL Carnot

La station MAREL Carnot est équipée d'une sonde multi-paramètres MPE NK6 (MPE Inc., USA ; figure 15 ; annexe II) mesurant la température, la salinité, l'oxygène dissous, la fluorescence *in-vivo* de la chlorophylle *a* et la turbidité. Elle est également équipée d'une pompe, d'un débitmètre, d'un automate de contrôle de mesure et d'un électrolyseur qui rendent la station indépendante d'une action humaine pour les mesures (Lefebvre & Grassi, 2020).



<u>Figure 15</u> : Système de mesure de la station MAREL immergé sur sa perche. (Source : Lefebvre & Grassi, 2020)

C – Stratégie d'échantillonnage

1 – Échantillonnage haute fréquence (MAREL Carnot)

Les mesures de cytométrie à haute fréquence ont été réalisées sur la station MAREL Carnot. Un circuit d'eau constitué d'une pompe, d'une chambre d'échantillonnage et du cytomètre ayant été construit en amont en laboratoire a été monté sur la station.

Une fois les mesures réalisées, les données étaient transférées en temps réel au Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences par WiFi longue portée (avec un réseau d'antennes). Ces données ont été prétraitées par le logiciel EasyClusLive (Thomas Rutten Projects ; https://www.fytoplankton.nl/) dans une double optique : (i) permettre la visualisation de l'abondance phytoplanctonique dans le milieu en temps réel via internet, et (ii) vérifier le bon fonctionnement du système via des outils fournissant un « bilan de santé » rapide du cytomètre, ce qui permet de planifier et réduire au minimum les délais d'intervention lors d'une panne.

2 – Échantillonnage basse fréquence (MAREL Carnot, SRN Boulogne)

Parallèlement aux données acquises en haute fréquence, des données sont acquises à basse fréquence (i.e. échantillonnage discret) ont pu être obtenues pour le suivi de 2022 sur le site de MAREL Carnot. Cependant, durant l'étude de 2021, aucun échantillonnage discret en basse fréquence n'a été réalisé sur le site de MAREL Carnot à titre de comparaison avec les données hautes fréquences et de validation de ces dernières. Il a donc été choisi de comparer les données cytométriques haute fréquence de MAREL Carnot aux données obtenues avec le point d'échantillonnage discret BL1 de la radiale SRN (Suivi Régional des Nutriments) de Boulogne-sur-Mer. En effet, ce point se trouve être assez proche (au sens géographique, mais pas forcément hydrologique; figure 3; Jouanneau et al., 2013) du point MAREL Carnot.

Les échantillonnages à basse fréquence sont réalisés à bord du navire de station « Sépia II » de la FOF (Flotte Océanographique Française) à l'aide de bouteilles Niskin. Les bouteilles Niskin sont des bouteilles ouvertes de bout en bout et qui peuvent être fermées à l'aide d'un percuteur, permettant l'échantillonnage à différentes profondeurs). Les échantillons sont ensuite ramenés au laboratoire et analysés *in-vivo* (moins de 3 heures après collecte) sur paillasse à l'aide d'un cytomètre CytoSense.

3 – Protocoles d'analyse cytométrique

Trois protocoles cytométriques ont été utilisés lors de cette étude. Chacun de ces protocoles a pour but de cibler un ensemble de particules (tableau 1 ; informations plus précises en annexe XI).

Protocole	Protocole « Pico »	Protocole « Micro »	Protocole « Micro-Photo »
Particules ciblées	Petites (particules pico, de 0,2 à 2nm environ)	Grosses (particules nano/micro, de taille supérieure à 2nm)	Grosses (particules nano/micro, de taille supérieure à 2nm)
Vitesse de passage de l'échantillon	Rapide (+)	Faible (-)	Très faible ()
Seuil de détection (ou <i>Trigger level</i>)	Faible (-)	Haut (+)	Haut (+)
Sensibilité de l'amplification des photomultiplicateurs	Haute (+)	Faible (-)	Faible (-)

<u>Tableau 1</u> : Principe d'établissement des trois protocoles d'acquisition.

En 2022, deux seuils de détection (ou *trigger level*) ont été utilisés lors des mesures *in-situ* de MAREL Carnot avec le CytoSub. Le premier seuil utilisé permet de discriminer les particules selon un seuil calibré sur le signal du *SWS*. Les particules ayant dépassé ce seuil sont ensuite soumises à un second seuil de détection basé cette fois ci sur un minimum de *FLR*. Les particules doivent donc dépasser ces seuils pour être détectées par l'appareil, ce qui permet de cibler les particules voulues mais également de limiter le bruit dans les échantillons.

En 2021, seul un seuil, calibré sur un minimum de *FLR* à dépasser, avait été utilisé pour chacun des deux protocoles.

La sensibilité de l'amplification des signaux optiques en signaux électroniques par les photomultiplicateurs doit également être augmentée lorsque l'on cible des petites particules, car les signaux émis par ces dernières sont, proportionnellement à la taille, faibles.

4 – Source des autres données utilisées

Des données extérieures au système MAREL Carnot et SRN Boulogne ont été utilisées pour les traitements présentés dans la partie résultats :

- Les données de hauteur d'eau du SHOM (REFMAR) pour les années 2021 et 2022.
- Les données de la force et de la direction des vents de Météo France pour l'année 2021.

D – Traitement des données

1 – Traitement des données de cytométrie en flux

Les données de cytométrie ont été traitées sur le logiciel CytoClus4 de la compagnie CytoBuoy *b.v.* (Pays-Bas).



<u>Figure 16</u> : Exemple de cytogramme basé sur les données du protocole « Pico » de l'échantillon du 29 avril 2022 à 14h00 : FLR (proxy de la chlorophylle a) en fonction du FWS (proxy de la taille). Les différents clusters sont légendés. Les billes (1µm) sont utilisées en guise d'étalon pour la taille des particules.

Ce logiciel permet d'afficher les différentes particules enregistrées par le cytomètre sous forme de graphiques en 2 dimensions (appelés cytogrammes) à l'aide des différents attributs des signaux optiques mesurés. Les particules forment un nuage de points dont les particules optiquement similaires vont se regrouper sous forme d'agrégats ovoïdes appelés *clusters* que l'utilisateur peut distinguer manuellement (figure 16). Les différentes propriétés optiques (*FLR*, *FWS*, etc.) sont ensuite extraites par *cluster*, en partant du principe que les similarités optiques correspondent à des similarités biologiques.

Les propriétés optiques mesurées pour les particules picophytoplanctoniques sont déterminées à partir du protocole « Pico » (tableau 1) et les données sur les particules nano et microphytoplanctoniques sont déterminées à partir du protocole « Micro » (tableau 1).

Les données obtenues avec CytoClus4 sont ensuite harmonisées (entre les protocoles et avec les données environnementales, pour permettre les traitements suivants) pour obtenir un unique jeu de données avec le *package* R « lubridate » (permettant de travailler avec des dates sur RStudio) et en « normalisant » les paramètres optiques par le facteur de leur amplification par le cytomètre. Les données sont ensuite interpolées avec la fonction « na_interpolation » (*package* « imputeTS »). Les interpolations sont réalisées avec la méthode « spline » et ne sont réalisées que pour des périodes sans données inférieures à 6 heures de suite.

2 – Étude de la phénologie au cours du bloom

La mise à l'échelle multidimensionnelle non métrique (*non-metric MultiDimensional Scaling*; *nMDS*) est utilisée pour visualiser le lien entre la répartition des communautés phytoplanctoniques et les variables environnementales. Cette méthode de visualisation repose sur une analyse statistique multivariée. Son but est de représenter la variabilité des échantillons en lien avec les données environnementales sous deux dimensions qui sont déterminées lors de la mise en place d'une matrice de similarité basée sur un indice (de Bray-Curtis par exemple dans cette étude) entre les échantillons (Kruskal, 1964 ; Epinoux, 2021). C'est donc une méthode d'analyse multivariée « exploratoire » (Paliy & Shankar, 2016). Le *package* R « vegan » a été utilisé pour cette méthode (Oksanen, 2015). Les figures d'abondances et de fluorescence rouge relatives sont également réalisées à partir du *package*

R « ggplot2 » dans le but d'observer la phénologie du bloom printanier.

3 – Étude des périodicités dans les données phytoplanctoniques

Les périodicités dans les différents signaux traités sont recherchées à l'aide du périodogramme de Lomb-Scargle. Cette méthode est une analyse univariée de série temporelle visant à chercher les périodicités présentes dans les données. Originellement, il est utilisé pour étudier les mouvements des planètes (VanderPlas, 2018), basés sur des séries temporelles marquées par de nombreuses absences d'observations. Il a été montré que cette analyse est adaptée également aux séries temporelles d'observations biologiques, également marquées par de fréquentes absences d'observations (ce qui est le cas des données acquises sur le site de MAREL Carnot ; Ruf, 1999). Il est ici appliqué aux données sur les communautés phytoplanctoniques. Pour réaliser ces périodogrammes, le *package* R « lomb » a été utilisé.

Pour lier les périodicités repérées aux paramètres abiotiques du milieu, des *ACP* (Analyse en Composantes Principales) sont réalisées pour observer les dépendances possibles entre les données biotiques et abiotiques. Puis, des anomalies de signaux (par rapport à la moyenne) sont réalisées pour montrer visuellement les liens entre les variables. Parallèlement à cela, des corrélations et des corrélations croisées sont utilisées pour démontrer numériquement ces dépendances. Chacune de ces méthodes sont détaillées dans les paragraphes suivants.

L'analyse en composantes principales est une méthode statistique multivariée permettant de convertir plusieurs variables corrélées en deux axes orthogonaux non corrélés, appelés composantes principales (Janžekovič & Novak, 2012). Cela permet donc de passer d'une représentation à n-dimensions à une représentation à 2 dimensions (sous forme de deux axes), permettant de visualiser les possibles liens entre différentes variables. Les ACP qui seront présentées ont été réalisées avec le *package* R « FactoMineR ».

Les anomalies par rapport à la moyenne permettent d'observer les écarts que peuvent prendre les valeurs par rapport à la moyenne globale du signal observé. Elles se calculent en soustrayant la valeur de la moyenne du signal à toutes les valeurs de ce même signal. Cette méthode permet de pouvoir comparer visuellement les variations de deux signaux d'ordres de grandeur différents de manière visuelle.

Des coefficients de corrélation de Pearson sont présentés lors de cette étude. Ces coefficients reflètent la relation linéaire entre deux variables sous forme d'un chiffre compris entre -1 (correlation négative) et 1 (corrélation positive) en passant par la valeur 0 (absence de corrélation). Cette méthode permet donc de mettre en lumière le lien entre deux variables évoluant de façon similaire ou non. Les matrices de corrélations seront réalisées avec les *packages* R « stats » et « Hmisc » et seront représentées avec le *package* R « corrplot ».

Les corrélations croisées (ou *cross-correlation*) sont des mesures de similitudes entre deux signaux suivant un décalage régulier dans le temps. Cette méthode permet de visualiser le lien entre deux variables ainsi que le pas de temps de ce lien, dans le cas où les variables évoluent de façon dépendante dans le temps. Elles seront également réalisées avec le *package* R « stats ».

4 – Désaisonnalisation des données

Pour étudier la dépendance entre les données phytoplanctoniques et les données abiotiques à différentes échelles temporelles, les signaux des variables biotiques (abondances, *FLR*, *FWS*) sont désaisonnalisés.

Pour cela, la méthode de la moyenne mobile « simple » sera employée, car elle permet de s'affranchir des périodicités ciblées (Kleiber & Zeileis, 2008). Cette méthode consiste à lisser un signal en réalisant une moyenne des valeurs comprises dans une fenêtre glissante de taille choisie. Pour réaliser les moyennes mobiles, le *package* R « zoo » a été utilisé en réalisant la moyenne à chaque point du jeu de données en se servant à la fois des données antérieures et postérieures à la donnée moyennée.

La méthode de l'*EMD (Empirical Mode Decomposition*; Huang *et al.*, 2008) sera également utilisée. Cette méthode permet de réaliser une décomposition d'un signal étudié en plusieurs sous-signaux le composant : les *IMFs (Intrinsic Mode Functions)*. Les *EMDs* seront réalisées sur R avec le package « emd ».

5 – Données environnementales utilisées

Seules les données environnementales considérée comme « correctes » par les sources de ces mêmes données ont été utilisées. Plusieurs paramètres sont utilisés, leurs unités respectives sont présentées dans le tableau suivant (tableau 2).

Paramètre environnemental	Unité	
(équivalent dans les figures présentées)		
Direction du vent (Wind direction)	° (degré depuis le Nord)	
Vitesse du vent (Wind speed)	m.s ⁻¹ (mètre par seconde)	
Turbidité (<i>Turbidity</i>)	NTU	
Température (<i>Temperature</i>)	°C (degré Celsius)	
Salinité (Salinity)	Sans unité (U.A.)	
Hauteur d'eau (Water Height)	m (mètre)	
Saturation en $O_2(O_2 Saturation)$	0/0	
O_2 dissous (O_2)	$mL.L^{-1}$ (millilitre par litre)	
Pression atmosphérique (<i>Atmospheric pressure</i>)	hPa (hectopascal)	
Vitesse du vent en rafales (Gust wind speed)	m.s ⁻¹ (mètre par seconde)	
Direction du vent en rafales (Gust wind	ection du vent en rafales (<i>Gust wind</i> ° (degré depuis le Nord)	
direction)		

Tableau 2 : Données environnementales utilisées et unités associées.

III – Résultats

Les mesures à haute fréquence présentées dans les parties suivantes ont été comparées (pour éviter un biais induit par la machine) avec des mesures à basse fréquence (annexe III).

A – Groupes phytoplanctoniques optiques distingués

Tableau 3 : Lexique détaillé et correspondance des groupes optiques recensés.

Groupe optique	Équivalent optique [Différence avec les groupes de nom similaire]
PicoRED	Picoeucaryotes chlorophylliens [FWS (-)]
PicoRED2	Picoeucaryotes chlorophylliens, [FWS (+)]
PicoORG	Synechococcus sp.
NanoRED	Phaeocystis globosa, cellules flagellées, [FLR (-)]
NanoRED2	Phaeocystis globosa, cellules flagellées, [FLR (+)]
NanoRED3	Phaeocystis globosa, cellules coloniales, [FLR (++)]
NanoORG	Cryptophyceae sp.
NanoSWS	Coccosphaerales sp.
MicroRED	Pseudo-Nitzschia sp.
MicroRED2	Diatomées diverses et colonies
MicroORG	Diatomées diverses et colonies

Au cours des deux blooms étudiés, plusieurs groupes optiques ont été distingués. La bibliographie de la zone d'étude (Guiselin, 2010 ; Bonato *et al.*, 2015 ; Louchart *et al.*, 2020) ainsi que le protocole « Micro-Photos » ont permis d'identifier l'équivalent taxonomique de certains d'entre eux (tableau 3 ; annexe IV).

B – Dynamique et phénologie des blooms

1 – Bloom printanier de l'année 2021

a – Dynamique des abondances phytoplanctoniques

La dynamique du bloom printanier de 2021 à échelle saisonnière se décompose en différentes phases (figure 17). Tout d'abord, une dominance du groupe PicoRED2 se met en place au début de la série de mesures, passant de 10% de l'abondance totale le 25 mars à 40% dès le 26 mars puis devenant majoritaire jusqu'au 7 avril. À la suite de cela, une autre phase démarre, marquée par une dominance des groupes NanoREDs (qui dominaient le milieu au début de la période d'étude). Leur importance au sein des abondances phytoplanctoniques semble tout de même varier de façon rapide, avec des phases où ces groupes sont très abondants (lorsque les abondances totales connaissent des maximas locaux) avant de décroître. Les groupes PicoRED, PicoRED2 et MicroRED connaissent les mêmes variations, mais avec une amplitude moindre.

Vers la fin du bloom, l'importance des abondances des groupes NanoRED, NanoRED2, NanoSWS, MicroRED s'accroissent alors que celle du groupe NanoRED3 diminue.



<u>Figure 17</u> : Abondances phytoplanctoniques totale (trait noir) et relatives (aires empilées colorées) déterminées par cytométrie en flux in-situ et in-vivo sur le site de MAREL entre le 23 mars et le 12 mai 2021.

b – Dynamique de la fluorescence rouge phytoplanctonique

En termes de fluorescence rouge (qui est un proxy de la biomasse chlorophyllienne), une dynamique saisonnière est également observable (figure 18). Le groupe MicroRED2 est bien représenté en début de bloom (du 23 au 27 mars environ), puis son importance s'amenuise progressivement jusqu'en début avril. La quasi-totalité du bloom semble par la suite dominée par le groupe NanoRED3 en termes de *FLR*. Le maximum de fluorescence rouge est enregistré le 24 avril (8,9.10⁹ AU.mL⁻¹), au cœur du bloom des groupes NanoREDs. Il est tout de même notable que les groupe NanoRED, NanoRED2 et MicroRED deviennent plus importants vers la fin du bloom (à partir du 7 mai notamment).

Une période particulière peut également être relevée du 3 au 6 mai : le groupe MicroRED devient dominant dans le milieu alors que la biomasse chlorophyllienne totale devient faible.



<u>Figure 18</u> : FLR (proxy non-calibré de la biomasse chlorophyllienne) phytoplanctonique totale (trait noir) et relatives (aires empilées colorées) déterminées par cytométrie en flux in-situ et in-vivo sur le site de MAREL Carnot entre le 23 mars et le 12 mai 2021.

2 – Bloom printanier de l'année 2022

a – Dynamique des abondances phytoplanctoniques

La dynamique du bloom printanier de 2022 se décompose elle aussi en différentes phases (figure 19), marquées par des périodes d'arrêt des mesures (annexe V). Une première phase est marquée par une domination quasi-totale (pouvant atteindre 90% en termes d'abondances) des groupes PicoREDs. C'est durant cette phase que le maximum du bloom est atteint avec un pic de 12.10⁴ cellules par mL le

9 avril. Le groupe PicoORG est lui aussi bien représenté (jusque 20% environ de l'abondance phytoplanctonique totale) du 23 au 27 mars 2022.

Puis, à partir du 10 avril, une augmentation de l'importance des groupes NanoREDs est visible. Entre le 5 et le 27 mai, les abondances de ces groupes sont les plus fortes (notamment entre le 6 et le 16 mai 2022 pour le groupe NanoRED3 et entre le 17 et 26 mai 2022 pour le groupe NanoRED2; figure 19).

Enfin, après le 17 avril, le groupe NanoRED3 disparaît quasiment pour laisser place à une dominance plus forte du groupe NanoRED2. Ce dernier finit lui aussi par décroître, avant de laisser place à une nouvelle dominance des groupes PicoREDs et PicoORG à partir du 10 juin. Les groupes NanoORG et NanoSWS sont eux aussi plus abondants que lors du reste de l'étude.



<u>Figure 19</u>: Abondances phytoplanctoniques totale (trait noir) et relatives (aires empilées colorées) déterminées par cytométrie en flux in-situ et in-vivo sur le site de MAREL Carnot entre le 17 mars et le 13 juin 2022.

b – Dynamique de la fluorescence rouge phytoplanctonique

La dynamique de la *FLR* phytoplanctonique (proxy de la biomasse chlorophyllienne) lors du bloom printanier de 2022 présente une phénologie différente de celle observée lors du bloom de 2021 (figure 20). En effet, le milieu est tout d'abord progressivement dominé par le groupe MicroRED2 (représentant environ 70% de la *FLR* le 24 mars) jusqu'au 12 avril. Ensuite, le groupe NanoRED3 devient prépondérant, permettant même l'apparition du maximum de fluorescence rouge (environ 2.10⁹ AU.mL⁻¹; figure 20) du bloom le 10 mai. Enfin, à partir du 6 mai, le groupe NanoRED2 devient de plus en plus important jusqu'à devenir le groupe le plus fluorescent avec le groupe MicroRED2 à partir du 21 mai (avec une augmentation de la contribution du groupe MicroRED2 au signal de la *FLR* totale jusqu'au 26 mai).



La période post-bloom ayant été enregistrée à partir du 10 juin laisse apparaître une augmentation de l'importance des groupes NanoSWS et NanoORG au sein des très faibles valeurs de fluorescence rouge.

<u>Figure 20</u> : FLR (proxy non-calibré de la biomasse chlorophyllienne) phytoplanctonique totale (trait noir) et relatives (aires empilées colorées) déterminées par cytométrie en flux in-situ et in-vivo sur le site de MAREL Carnot entre le 17 mars et le 13 juin 2022.

3 – Observation de la phénologie en lien avec les paramètres abiotiques

Pour la réalisation des *nMDS* présentées (figure 21), différentes périodes ont été séparées en lien avec les cycles de vives-eaux – mortes-eaux (ce choix étant motivé par les résultats des parties suivantes). La variabilité des groupes NanoREDs semble liée à la variabilité de la hauteur d'eau en 2021, ce qui n'est pas le cas en 2022 (figure 21).

La variabilité de la température et la variabilité de la hauteur d'eau apparaissent comme des paramètres clés de la phénologie du bloom de 2021 puisqu'elles semblent liées à la dominance des groupes prépondérants (NanoREDs, MicroRED). La vitesse et la direction du vent jouent aussi un rôle important pour la première partie du bloom, leur variabilité semblant liée à la présence majoritaire des groupes PicoREDs (qui sont dominants au début du bloom ; figure 17 ; figure 21 A).

En 2022, la variabilité de la température semble être un paramètre clé de la phénologie observée puisqu'elle semble liée avec les périodes de dominance des groupes MicroRED2 et NanoRED2. Ces groupes sont dominants (en termes de *FLR*) au début et à la fin du bloom (figure 20 ; figure 21 B). La dominance de NanoRED3 durant la période du 11 au 24 mai (figure 20) semble quant à elle associée à la dynamique des vents, mais dans une moindre mesure (figure 21 B).



- 1: Water height
- 2: Temperature
- 3: Salinity
- 4: O₂
- 5: Turbidity
- 6: O₂ saturation

- 7: Wind speed 8: Wind direction 9: Atmospheric pressure 10: Gust wind speed
- 11: Gust wind direction

Phytoplankton group:

1: PicoRED 2: PicoRED2 3: PicoORG 4: NanoRED 5: NanoRED2 6: NanoRED3

7: NanoORG 8: NanoSWS 9: MicroRED

- 10: MicroRED2
- 11: MicroORG



Figure 21 : nMDS des données d'abondances phytoplanctoniques de 2021 (A) et 2022 (B) en lien avec les données environnementales.
C – Étude de la variabilité multi-échelles

a – Périodicités des signaux phytoplanctoniques à petite échelle temporelle

Des périodogrammes de Lomb-Scargle ont été réalisés pour les données d'abondances phytoplanctoniques totales et de *FLR* totale (figure 22). Ces périodogrammes ont permis de mettre en évidence une périodicité commune entre la *FLR* et les abondances de 12 heures pour 2021 et 2022.



<u>Figure 22</u> : Périodogrammes de Lomb-Scargle des abondances phytoplanctoniques et de la fluorescence rouge totale (proxy de la chlorophylle a) lors du printemps 2021 (A) et du printemps 2022 (B). La ligne bleue représente le seuil de significativité des pics de périodicité (avec une p-value de 0,01). Les figures par groupe (pour les abondances) sont disponbles en annexe (annexe XI). NP (Normalised Power) représente l'amplitude du signal du périodogramme.

Les anomalies d'abondance par rapport à la moyenne ont été représentées pour visualiser ces périodicités en 2021 (figure 23) et 2022 (figure 24).

Pour le bloom de 2021 (figure 23), la période « anté-bloom » ressort particulièrement, avec des anomalies négatives entre le 23 et le 27 mars. Une cyclicité sous-jacente est perceptible (surtout en 2021), avec des périodes marquées par des anomalies positives (comme du 13 au 19 arvil 2021 ; figure 23) et des périodes marquées par des anomalies négatives (comme du 7 au 9 avril 2021 ; figure 23). Ces alternances semblent être liées à des cycles de deux semaines environ, qui pourraient correspondre au cycle des marées V.E. – M.E. (vives-eaux – mortes-eaux). Cette périodicité sera étudiée dans la partie suivante. Le bloom de 2022 connaît quant à lui une dynamique semblant plus désordonnée, avec quelques périodes d'anomalies positives (notamment entre le 8 et le 10 avril et entre 6 et le 16 mai) et davantage de périodes d'anomalies négarives réparties principalement au cours du premier mois de mesure (de fin mars à fin avril). La cyclicité précédemment évoquée n'est quasiment pas observable.

Elle sera tout de même étudiée pour cette année également, dans le cas où les données seraient biaisées par les périodes sans données.



Figure 24 : Anomalies du signal d'abondance phytoplanctonique totale de 2022.

Ces périodes de deux semaines ont été séparées et les anomalies d'abondance ont été représentées pour chacune d'entre elles en lien avec les anomalies de hauteur d'eau (figure 25 ; figure 26). La période du 23 au 28 mars 2021 (marquée par des anomalies négatives et représentant le démarage du bloom) a été retirée et n'a donc pas été prise en compte pour calculer la moyenne de la première période. Ce choix a été fait pour ne pas rendre toutes les anomalies du 26/03 au 06/04 positives, ce qui aurait rendu l'observation des cyclicités compliquée. Il est observable que la cyclicité de 12 heures précédemment

citée semble graphiquement liée à la marée semi-diurne puisque les anomalies des deux signaux évoluent de la même façon dans le temps (figure 25 ; figure 26). En effet, les maximums et minimums locaux des anomalies d'abondance et des anomalies de hauteur d'eau sont atteint quasiment au même moment, un lien possible entre les deux variables peut donc être attendu.



Figure 25 : Anomalies du signal d'abondances phytoplanctoniques et de la hauteur d'eau en 2021. Les anomalies des abondances sont calculées à partir d'une moyenne propre à chaque période (ces dernières étant séparées par des bandes noires).

0 5 10



Figure 26 : Anomalies du signal d'abondances phytoplanctoniques et de la hauteur d'eau en 2022. Les anomalies des abondances sont calculées à partir d'une moyenne propre à chaque période (ces dernières étant séparées par des bandes noires).

Les ACP ont été réalisées en ne gardant que des variables n'étant pas correlées positivement entre elles (dans le cas où deux variables le sont, une seule est gardée ; figure 27). Ces ACPs semblent amener la même conclusion que précedemment de façon visuelle. Les axes de l'ACP de l'année 2021 (53,94% ; figure27 A) semblent expliquer une plus grande partie de la variabilité du jeu de donnée que ceux de l'ACP de l'année 2022 (42,24% ; figure 27 B). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les données de 2022 soient caractérisée par de nombreuses périodes sans données (dues à des contraintes techniques ; annexe V).



Figure 27 : ACP des abondances totales et des données environnentales de 2021 (A) et 2022 (B).

Des corrélations croisées ont également été réalisées pour observer le comportement des signaux d'anomalies des abondances et et de la hauteur d'eau en 2021 (figure 28) et 2022 (figure 29).



<u>Figure 28</u> : Corrélation croisée entre les anomalies d'abondances phytoplanctoniques et de la hauteur *d'eau en 2021*.



<u>Figure 29</u> : Corrélation croisée entre les anomalies d'abondances phytoplanctoniques et de la hauteur d'eau en 2022.

Ces corrélations croisées (figure 28 ; figure 29) démontrent la périodicité de 12 heures dans les données en lien avec le cycle de marée semi-diurne.



b – Périodicités des abondances à l'échelle des marées V.E – M.E.

<u>Figure 30</u> : Anomalies d'abondances phytoplanctoniques (lissées avec une moyenne mobile de 12h) et anomalies de l'amplitude de marée journalière de 2021.



<u>Figure 31</u> : Anomalies d'abondances phytoplanctoniques (lissées avec une moyenne mobile de 12h) et anomalies de l'amplitude de marée journalière de 2022.

Dans le paragraphe précédent, une périodicité sous-jacente de deux semaines environ avait été observée. Pour confirmer ou affirmer cette observation, une moyenne mobile de 12 heures est appliquée sur les données d'abondances phytoplanctoniques dans le but de lisser le signal et de s'affranchir de l'effet de la marée de 12 heures. Une amplitude journalière est également calculée (figure 30 ; figure 31). Cette dernière représente la différence entre le minimum et le maximum de la hauteur d'eau au cours de chaque journée durant l'étude.

Lors du bloom printanier de 2021, les abondances phytoplanctoniques suivent une dynamique liée à l'amplitude de marée journalière (figure 30). Le cycle de V.E. – M.E. exerce donc une influence significative sur les données d'abondances, avec des abondances plus élevées en marée de vives-eaux qu'en marée de mortes-eaux. Cette observation n'est cependant pas visualisable avec les données de 2022 (figure 31) sauf entre le 8 et le 24 mai. Cette période est marquée par une poussée du groupe NanoRED3 (on y atteint d'ailleurs le pic de *FLR*; figure 20). Ces observations sont également visualisables par le biais d'ACPs présentées en annexe (annexe VI).

b – Dynamique du bloom printanier à grande échelle temporelle

Pour visualiser les facteurs exerçant une influence sous-jacente sur le bloom par rapport aux mécanismes précédemment cités, une décomposition de signal (réalisée par le biais de l'*EMD*) a été appliquée sur les signaux d'abondances totales phytoplanctoniques de 2021 et 2022. Seul le résidu (qui représente la tendance globale du signal) a été retenu ici, la décomposition complète est disponible en annexe (annexe VII).



<u>Figure 32</u> : Résidus des EMDs réalisées sur les abondances phytoplanctoniques de 2021 (A) et de 2022 (B). L'axe des ordonnées représente les abondances (.10⁴ cell.mL⁻¹).

Pour 2021, la tendance montre une augmentation des abondances tout au long de la période d'échantillonnage (figure 32 A). Pour l'année 2022, les abondances croissent jusqu'au 21 avril avant de décroître jusqu'à la fin de la période d'étude (figure 32 B). Ces signaux ont été corrélés avec les données environnementales dans le but de comprendre leur dynamique.



<u>Figure 33</u> : Matrices de corrélation de Pearson des résidus des abondances phytoplanctoniques avec les données environnementales pour les données de 2021 (A) et de 2022 (B). Les coefficients barrés d'une croix ne sont pas significatifs (p-value > 0,01). Figure disponible en grand format en annexe (annexe XII).

À grande échelle, les abondances du bloom de 2021 sont principalement régies par la température (coefficient de corrélation 0,79 ; figure 33 A). Les coefficients de corrélation des abondances avec $l'O_2$ et la salinité sont eux aussi élevés mais ces paramètres environnementaux sont fortement corrélés (négativement) avec la température. La corrélation entre ces paramètres et les abondances génère donc potentiellement un effet de multi-colinéarité entre la température et la salinité et entre la température et l'O₂. Les abondances du bloom de 2022 semblent quant à elles être corrélées négativement dans une moindre mesure à la température (-0,51) mais également à la direction du vent (-0.55 ; figure 33 B).

IV – Discussion

Les données de l'année 2021 et 2022 ont permis de mettre en lumière la dynamique multiéchelle des communautés phytoplanctoniques au cours de deux blooms printaniers. Ainsi, la phénologie des blooms a pu être appréciée et une partie des mécanismes biotiques et abiotiques influant sa dynamique ont pu être relevés.

Le bloom de 2021 est caractérisé par une efflorescence importante des groupes NanoREDs, apparaissant phénologiquement dans un milieu où les groupes MicroRED2 et PicoREDs sont dominants (en termes de *FLR* ou d'abondance). Les groupes NanoREDs sont caractérisés par une microalgue en particulier, ayant pu être distinguée par l'imagerie (du protocole « Micro-Photos ») et la littérature scientifique (Rutten *et al.*, 2005 ; Guiselin, 2010 ; Bonato *et al.*, 2015) : *Phaeocystis globosa*. La phénologie entre les diatomées (MicroRED2) et *P. globosa* (NanoREDs ; exceptionnellement quelques colonies dans le groupe MicroRED2), observable également en 2022, a déjà pu être observée dans des systèmes dominés par cette dernière (Guiselin, 2010 ; Grattepanche *et al.*, 2011).

L'abondance du groupe MicroRED est elle aussi significative. Ce groupe optique est caractérisé par des diatomées pennées semblables (optiquement) à *Pseudo-Nitzschia sp.* selon les données du protocole « Micro-Photo » (annexe IV). La présence de ce groupe en 2021 peut être reliée aux fortes abondances de *P. globosa*, puisqu'une relation symbiotique de commensalisme existerait entre ces deux espèces (épibiose ; Sazhin *et al.*, 2007). Leur épisode de dominance du 3 au 6 mai 2021 peut quant à lui être relié à un fort épisode venteux (annexe VIII). Une remise en suspension des cellules ayant sédimenté pourrait expliquer cette augmentation soudaine, hypothèse appuyée par le fait qu'une hausse de la turbidité ai également eu lieu à ce moment. Cet épisode venteux a également engendré une diminution de l'abondance phytoplanctonique totale, et plus particulièrement des abondances des groupes NanoREDs. Plus globalement, ce bloom semble influencé par différents facteurs à différentes échelles. À une échelle fine (12 heures), le cycle de marée haute-mer – basse-mer (la hauteur d'eau) influence les abondances et la *FLR* (proxy de la biomasse chlorophyllienne), avec des valeurs plus élevées à marée haute qu'à marée basse. Cette dynamique pourrait s'expliquer par la courantologie particulière de la zone car un tourbillon se forme dans le port de Boulogne-sur-Mer à marée montante (Jouanneau *et al.*, 2013). Un

piégeage des particules au sein de la rade pourrait alors être potentiellement à l'origine de l'augmentation des abondances et de la fluorescence rouge phytoplanctoniques. De même, un piégeage des apports de la Liane dans la rade pourrait avoir lieu, ce qui pourrait d'ailleurs favoriser la compétitivité des plus grandes cellules phytoplanctoniques (comme les cellules du groupe NanoRED3; Litchman et al., 2007). Des mesures de nutriments (silicates, phosphates, nitrates) à haute fréquence seraient nécessaires pour confirmer ou infirmer cette hypothèse. Il est cependant probable que les nutriments jouent un rôle essentiel dans la phénologie et les cyclicités du bloom (Wilkerson et al., 2006). C'est également à cette échelle temporelle que des alternances rapides entre les groupes Nano/Micro et les groupes Pico ont pu être remarquées (annexe IX ; figure 17). Ces alternances, causées par les variations des groupes NanoREDs en particulier, pourraient être le signe d'une compétition pour les nutriments, les cellules plus petites devenant plus compétitives lorsque les nutriments deviennent plus limitants (Litchman et al., 2007). En effet, des variations de nutriments à l'échelle de la marée semidiurne ont déjà été observées dans un estuaire de la Manche (le Dourduff; Riaux-Gobin, 1985) et pourraient avoir lieu lors de la formation du tourbillon à marée montante (par piégeage des apports de la Liane et/ou par remise en suspension du sédiment). Cela pourrait correspondre aux observations faites, puisque les minimums des abondances observés sont atteints à marée descendante avant que ces dernières ne se remettent à croître après la marée basse.

Une augmentation des abondances des groupes NanoREDs, dominés par *P. globosa*, est aussi remarquable lors de la marée montante. Un piégeage des nutriments (apports de la Liane) pourrait être favorable à cette espèce, qui est capable d'atteindre des taux de croissance importants de seulement quelques heures (Riegman & Van Boekel, 1996). Des alternances rapides entre les groupes NanoRED2 et NanoRED3 sont observables. Ces deux groupes sont respectivement dominés par la forme flagellée et la forme coloniale libre de *P.globosa*. Ces alternances pourraient être dues à son comportement face aux forçages environnementaux, puisque sa forme de cellule flagellée est privilégiée sous un seuil limite en phosphate notamment (Rousseau *et al.*, 1994 ; Peperzak *et al.*, 2000).

À une échelle de temps plus moyenne (2 semaines environ), le bloom est dirigé par les variations d'amplitude de marée (cycle de V.E. – M.E.). Cette dynamique pourrait encore une fois s'expliquer par la courantologie particulière de la zone évoquée précédemment, dont les effets pourraient être renforcés lors des marées de vives-eaux. Également, des variations en nutriments à cette échelle ont déjà été observées (Riaux-Gobin, 1985), et pourraient conditionner les alternances entre les groupes phytoplanctoniques ainsi que la tendance des abondances à cette échelle par le biais de la compétition phytoplanctonique et de la limitation en nutriments par le milieu (Litchman *et al.*, 2007).

Enfin, à l'échelle saisonnière couvrant toute la période de l'échantillonnage, c'est la température qui semble influencer la dynamique des communautés phytoplanctoniques, et en particulier de *P. globosa* (NanoREDs). Cela pourrait s'expliquer par des périodes d'ensoleillement potentiellement plus fortes et plus longues à cette période de l'année (réchauffant par la même occasion les eaux côtières) profitant au phytoplancton. De plus, l'approche des optimums biologiques des différentes souches de *P. globosa*

pour la température (représentées par les groupes NanoREDs, ayant en grande partie dominé le bloom ; Rousseau *et al.*, 1994) pourrait aussi être à l'origine de cette tendance.

Le bloom de 2022 a été un moins important que le bloom de 2021 en termes de FLR (figure 18 ; figure 20). De plus, il présente une dynamique différente de la dynamique de l'efflorescence de 2021. En effet, bien que la cyclicité de 12 heures soit retrouvée statistiquement dans les données des abondances phytoplanctoniques et les données de FLR, les effets des deux cycles de marée (de 12 heures et 2 semaines) semblent plus limités. Cela pourrait s'expliquer par un effet antagoniste des périodes sans données, ou bien par le fait que le bloom de P. globosa soit bien moins important que lors de l'année 2021. La FLR et les abondances des nanoeucaryotes mesurées (pour le groupe NanoRED3 en particulier) sont bien moins élevées (figure 18 ; figure 20) en 2022 qu'en 2021. Cette dernière hypothèse peut être appuyée par le fait que lors de la poussée du groupe NanoRED3 entre le 6 et le 15 mai 2022 (figure 19; figure 20), les cyclicités visualisées en 2021 apparaissent de nouveau. La réapparition de cette cyclicité pourrait être le signe d'un enrichissement du milieu par un facteur particulier. Cette période est une période ayant été ensoleillée, une intensité lumineuse plus forte pourrait alors être à l'origine de formations de colonies de P. globosa (Riegman & Van Boekel, 1996), et donc de cette poussée ponctuelle du groupe NanoRED3 puis du groupe NanoRED2. La nMDS réalisée (figure 21 B) appuie cette hypothèse, puisque la variabilité du groupe NanoRED2 paraît liée aux variations de la température. Aussi, une plus grande dominance des grandes diatomées (MicroRED2) a pu être observée en 2022, en début et fin de période. Cela pourrait être lié à la compétition des diatomées avec P. globosa, qui selon certaines études pourrait inhiber la croissance de ses compétiteurs (Liu et al., 2010) tout en étant extrêmement compétitive, notamment pour les nutriments (Riegman et al., 1992; Riegman & Van Boekel, 1996). La dominance moindre des groupes NanoREDs en 2022 aurait donc pu laisser place au développement du groupe MicroRED2.

Le groupe NanoRED2 a lui aussi connu une période de dominance entre le 20 et le 26 mai. Cette période pourrait marquer la fin du bloom de *P. globosa*, qui n'avait pas pu être enregistrée en 2021. En effet, le groupe NanoRED2 domine le milieu à la suite du groupe NanoRED3. La forme flagellée de *P. globosa* devient donc plus importante que sa forme coloniale libre. Cela pourrait être la cause de l'utilisation et de l'épuisement des nutriments par le phytoplancton, puisque les cellules flagellées sont plus compétitives dans un milieu plus pauvre en nutriments (Riegman & Van Boekel, 1996).

Également, les groupes PicoREDs ont eu une importance considérable en représentant la quasi-totalité des abondances phytoplanctoniques en 2022. Leur importance dans la *FLR* est cependant restée réduite. Lors de cette année d'étude, le facteur vent a également prit une importance accrue à grande et moyenne échelle temporelle. Notamment, la direction du vent influe directement sur la dynamique des abondances phytoplanctoniques. Cela pourrait être lié à la dynamique des courants de surface, ces derniers étant soumis à l'influence du régime des vents (Cosoli *et al.*, 2012). Cette augmentation observée de l'influence des vents, et notamment de leur direction pourrait s'expliquer par un shift du régime des vents entre les périodes d'échantillonnage de 2021 et 2022, ainsi que par le fait que l'année

2022 a été une année marquée par des vents plus forts (et représentant donc un forçage accru ; annexe VIII). La direction des vents a un impact direct sur la retenue des particules phytoplanctoniques dans le port de Boulogne-sur-Mer (Jouanneau *et al.*, 2013) et des vents plus fort vers le Nord-Est en 2022 pourraient donc avoir un effet sur les abondances phytoplanctoniques en créant un effet de chasse des particules (du port vers la baie d'Authie). Également, des épisodes de vents forts ont un effet antagoniste au développement des groupes NanoREDs au vu des résultats de 2021 (entre le 3 et le 6 mai 2021). Il est donc possible que le bloom de l'année 2022 ai été en partie réduit par l'effet du vent.

Un épisode de froid inhabituel a également eu lieu entre le 28 mars et le 2 avril 2022, avec notamment des chutes de neige. Cet épisode a fait chuter la température de l'eau de quasiment 2°C en l'espace de seulement quelques jours (annexe VIII). En 2021, les résultats ont montré que la dynamique globale du bloom printanier dans la région était régulée par la température. Cet épisode pourrait alors avoir réduit grandement l'importance du bloom de 2022.

V – Conclusions et perspectives

Cette étude a permis d'observer la dynamique des efflorescences printanières de 2021 et 2022 à haute fréquence avec un suivi eulérien. Différents mécanismes biotiques et abiotiques ont pu être observés lors des deux printemps à différentes échelles, allant de certaines variations très rapides (à l'échelle de la marée semi-diurne) jusqu'à une échelle temporelle plus vaste de plusieurs semaines.

Le bloom de 2022 s'est montré être un bloom moins important (en termes de biomasse chlorophyllienne) que le bloom de 2021, et cette importance moindre a laissé apparaître une variabilité des mécanismes régulant le bloom de la région. En effet, l'influence de la hauteur d'eau a été réduite en 2022, alors que celle du régime des vents a été plus importante. La température quant à elle semble être restée un paramètre déterminant pour les deux années.

Notre méthode présente tout de même quelques limites. Tout d'abord, des soucis techniques à l'origine de périodes d'arrêt des mesures plus ou moins importantes pourraient avoir biaisé notre analyse des mécanismes. Également, un couplage avec d'autres méthodes serait très utile car la cytométrie en flux est une méthode qui reste ataxonomique. Un couplage avec des méthodes d'imagerie (pour les grosses cellules et colonies ; Wacquet *et al.*, 2020) ou de biologie moléculaire (pour le picophytoplancton et le petit nanophytoplancton, non discriminables par imagerie ; Mirasbekov *et al.*, 2021) automatisées serait complémentaire. De même, le traitement automatisé des fichiers de cytométrie (logiciel EasyClus ; Fuchs *et al.*, 2022) permettrait d'aller plus loin dans la discrimination des groupes fonctionnels et aussi de réduire le potentiel biais introduit par la *clusterisation* (qui dépend de l'utilisateur). De plus, seul le compartiment phytoplanctonique a été pris en compte. Il serait intéressant de prendre en compte à la fois le compartiment bactérien et le compartiment zooplanctoniques, ces derniers exerçant une influence directe sur le phytoplancton et donc sur le bloom printanier dans sa globalité (Lamy *et al.*, 2009 ; Grattepanche *et al.*, 2011 ; Behrenfeld & Boss, 2014).

Bibliographie

- Agence de l'Eau Artois-Picardie (2016). La qualité des eaux de la LIANE à WIRVIGNES et CARLY : données 2013. Rapport AEAP/DDCPP/SCEMNA – FH/CH 042016. 98p.
- Banse, K. (1994). Grazing and zooplankton production as key controls of phytoplankton production in the open ocean. *Oceanography*, 7(1), 13-20.
- Banse, K., & English, D. C. (2000). Geographical differences in seasonality of CZCS-derived phytoplankton pigment in the Arabian Sea for 1978–1986. Deep Sea Rese arch Part II: Topical Studies in Oceanography, 47(7-8), 1623-1677.
- Bansept, M. A. (2022). Développement d'un cytomètre en flux portable basé sur des technologies micro-optofluidiques pour l'étude des communautés picophytoplanctoniques arctiques (Mémoire de maîtrise, Université Laval, Québec).
- Beauvillain, C., Drouet, M., & Renier, G. (2008). Le test d'activation des basophiles. Revue Francophone des laboratoires, 2008(404), 67-77.
- Behrenfeld, M. J., & Boss, E. S. (2014). Resurrecting the ecological underpinnings of ocean plankton blooms. Annu. Rev. Mar. Sci, 6(1), 167-194.
- Bonato, S. (2015). Étude de la variabilité spatiale et temporelle des communautés phytoplanctoniques en Manche-Orientale
 Utilisation de la cytométrie en flux de scanning. (Thèse, Université du Littoral Côte d'Opale, France).
- Bonato, S., Christaki, U., Lefebvre, A., Lizon, F., Thyssen, M., & Artigas, L. F. (2015). High spatial variability of phytoplankton assessed by flow cytometry, in a dynamic productive coastal area, in spring: The eastern English Channel. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 154, 214-223.
- Brylinski, J. M., Lagadeuc, Y., Gentilhomme, V., Dupont, J. P., Lafite, R., Dupeuble, P. A., Huault, M. F., & Auger, Y. (1991). Le fleuve côtier : un phénomène hydrologique important en Manche Orientale. Exemple du Pas-de-Calais. Oceanologica Acta, Special issue.
- Chen, W. (2016). Spectroscopie diélectrique hyperfréquence de cellules uniques cancéreuses : de l'optimisation du capteur en sensibilité et répétabilité jusqu'au suivi en temps réel de stimuli chimiques (Thèse, Université Paul Sabatier-Toulouse III, France).
- Chiswell, S. M., Calil, P. H., & Boyd, P. W. (2015). Spring blooms and annual cycles of phytoplankton: a unified perspective. *Journal of Plankton Research*, 37(3), 500-508.
- Cloern, J. E., Foster, S. Q., & Kleckner, A. E. (2014). Phytoplankton primary production in the world's estuarine-coastal ecosystems. *Biogeosciences*, 11(9), 2477-2501.
- Cosoli, S., Gačić, M., & Mazzoldi, A. (2012). Surface current variability and wind influence in the northeastern Adriatic Sea as observed from high-frequency (HF) radar measurements. *Continental Shelf Research*, *33*, 1-13.
- Crossland, C. J., Baird, D., Ducrotoy, J. P., Lindeboom, H., Buddemeier, R. W., Dennison, W. C., Maxwell, B. A., Smith, S. V., & Swaney, D. P. (2005). The coastal zone a domain of global interactions. In *Coastal fluxes in the Anthropocene* (pp. 1-37). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Cunningham, A., & Buonnacorsi, G. A. (1992). Narrow-angle forward light scattering from individual algal cells: implications for size and shape discrimination in flow cytometry. *Journal of plankton research*, *14*(2), 223-234.
- De La Rocha, C. L., & Passow, U. (2006). The biological pump. *Treatise on geochemistry*, *6*, 83-111.
- Derot, J. (2014). Utilisation des données de MAREL Carnot pour la compréhension des mécanismes des extrêmes dans la qualité des eaux à Boulogne-sur-Mer (Thèse, Université du Littoral Côte d'Opale, France).
- Devreker, D., & Lefebvre, A. (2018). Évaluation du descripteur 5 « Eutrophisation » en France métropolitaine. Rapport scientifique pour l'évaluation 2018 au titre de la DCSMM.
- Dubelaar, G. B. J., & Gerritzen, P. L. (2000). CytoBuoy: a step forward towards using flow cytometry in operational oceanography. *Scientia Marina*, 64(2), 255-265.

- Dubelaar, G. B., & Jonker, R. R. (2000). Flow cytometry as a tool for the study of phytoplankton. *Scientia Marina*, 64(2), 135-156.
- Dubelaar, G. B., Geerders, P. J., & Jonker, R. R. (2004). High frequency monitoring reveals phytoplankton dynamics. *Journal of environmental monitoring*, 6(12), 946-952.
- Duflos, M., Wacquet, G., Aubert, A., Rombouts, I., Mialet, B., Devreker, D., Lefebvre, A., & Artigas, L. F. (2018). Évaluation de l'état écologique des habitats pélagiques en France métropolitaine. Rapport scientifique pour l'évaluation 2018 au titre du descripteur 1 de la DCSMM.
- Dugenne, M., Thyssen, M., Nerini, D., Mante, C., Poggiale, J. C., Garcia, N., Garcia, F., & Grégori, G. J. (2014). Consequence of a sudden wind event on the dynamics of a coastal phytoplankton community: an insight into specific population growth rates using a single cell high frequency approach. *Frontiers in microbiology*, *5*, 485.
- Epinoux, A. (2021). In-situ, high-frequency assessment of phytoplankton functional groups and their ecology in diverse marine areas. (Doctoral dissertation, The Open University, United Kingdom).
- Falkowski, P. G. (1994). The role of phytoplankton photosynthesis in global biogeochemical cycles. *Photosynthesis research*, 39(3), 235-258.
- Falkowski, P. G., Barber, R. T., & Smetacek, V. (1998). Biogeochemical controls and feedbacks on ocean primary production. *Science*, 281(5374), 200-206.
- Falkowski, P. G., Laws, E. A., Barber, R. T., & Murray, J. W. (2003). Phytoplankton and their role in primary, new, and export production. In *Ocean biogeochemistry* (pp. 99-121). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Fehling, J., Green, D. H., Davidson, K., Bolch, C. J., & Bates, S. S. (2004). Domoic acid production by *pseudo-nitzschia* seriata (bacillariophyceae) in Scottish waters 1. *Journal of Phycology*, 40(4), 622-630.
- Field, C. B., Behrenfield, M. J., Randerson, J. T., and Falkowski, P. G. (1998). Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. Science 281, 237–240.
- Fontana, S., Jokela, J., & Pomati, F. (2014). Opportunities and challenges in deriving phytoplankton diversity measures from individual trait-based data obtained by scanning flow-cytometry. *Frontiers in microbiology*, *5*, 324.
- Fragoso, G. M., Poulton, A. J., Pratt, N. J., Johnsen, G., & Purdie, D. A. (2019). Trait-based analysis of subpolar North Atlantic phytoplankton and plastidic ciliate communities using automated flow cytometer. *Limnology and Oceanography*, 64(4), 1763-1778.
- Fuchs, R., Thyssen, M., Creach, V., Dugenne, M., Izard, L., Latimier, M., Louchart, A., Marrec, P., Rijkeboer, M., Grégori, G., & Pommeret, D. (2022). Automatic recognition of flow cytometric phytoplankton functional groups using convolutional neural networks. *Limnology and Oceanography: Methods*.
- Fuhrman, J. A. (1999). Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature*, 399(6736), 541-548.
- Georgeon, M., Rigault, B., Le Peru, Y., & Audran, M. (2018). Suivi de la passe-piège à anguilles du barrage de Marguet sur la Liane, Campagne 2018. Fédération du Pas de Calais pour la Pêche et la Protection des Milieux Aquatiques, 18p.
- Grattepanche, J. D., Breton, E., Brylinski, J. M., Lecuyer, E., & Christaki, U. (2011). Succession of primary producers and micrograzers in a coastal ecosystem dominated by Phaeocystis globosa blooms. *Journal of Plankton Research*, 33(1), 37-50.
- Grattepanche, J. D., Vincent, D., Breton, E., & Christaki, U. (2011). Microzooplankton herbivory during the diatom– Phaeocystis spring succession in the eastern English Channel. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 404(1-2), 87-97.
- Hasle, G. R. (2002). Are most of the domoic acid-producing species of the diatom genus Pseudo-nitzschia cosmopolites? *Harmful algae*, 1(2), 137-146.
- Hofstraat, J. W., Van Zeijl, W. J. M., De Vreeze, M. E. J., Peeters, J. C. H., Peperzak, L., Colijn, F., & Rademaker, T. W. M. (1994). Phytoplankton monitoring by flow cytometry. *Journal of plankton research*, *16*(9), 1197-1224.
- Huang, Y. X., Schmitt, F. G., Lu, Z. M., & Liu, Y. L. (2008). An amplitude-frequency study of turbulent scaling intermittency using empirical mode decomposition and Hilbert spectral analysis. *EPL (Europhysics Letters)*, 84(4), 40010.

- Janžekovič, F., & Novak, T. (2012). PCA-a powerful method for analyze ecological niches. Principal component analysismultidisciplinary applications, 127-142.
- Jouanneau, N., Sentchev, A., & Dumas, F. (2013). Numerical modelling of circulation and dispersion processes in Boulogne-sur-Mer harbour (Eastern English Channel): sensitivity to physical forcing and harbour design. *Ocean Dynamics*, 63(11), 1321-1340.
- Kleiber, C., & Zeileis, A. (2008). Time Series. In Applied Econometrics with R (pp. 1-31). Springer, New York, NY.
- Klein, C., Claquin, P., Bouchart, V., Le Roy, B., & Véron, B. (2010). Dynamics of Pseudo-nitzschia spp. and domoic acid production in a macrotidal ecosystem of the Eastern English Channel (Normandy, France). *Harmful Algae*, 9(2), 218-226.
- Kossinna, E. (1921). Die Tiefen des Weltmeeres. Berlin Univ., Institut f. Meereskunde, Veroeff., NF, A. Geogr.naturwiss. *Reihe, Heft*, 9, 1-70.
- Kruskal, J. B. (1964). Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. *Psychometrika*, 29(1), 1-27.
- Lamy, D., Obernosterer, I., Laghdass, M., Artigas, L. F., Breton, E., Grattepanche, J. D., Lecuyer, E., Degros, N., Lebaron, P., & Christaki, U. (2009). Temporal changes of major bacterial groups and bacterial heterotrophic activity during a Phaeocystis globosa bloom in the eastern English Channel. *Aquatic Microbial Ecology*, 58(1), 95-107.
- Lancelot, C. (1995). The mucilage phenomenon in the continental coastal waters of the North Sea. Science of the total environment, 165(1-3), 83-102.
- Lazure, P., & Desmare, S. (2012). Courantologie. Sous-région marine Manche-Mer du Nord. Evaluation initiale DCSMM.
 9p.
- Lefebvre, A., & Delpech, J. P. (2004). Le bloom de Phaeocystis en Manche orientale. Nuisances socio-économiques et/ou écologiques ?
- Lefebvre, A., & Repecaud, M. (2006). MAREL Carnot-Partie 1: Bilan de la mise en place d'un système de mesures automatisées à haute fréquence en zone côtière de Boulogne-sur-Mer. *Rapport Ifremer/RST. LER. BL*, 6, 18.
- Lefebvre, A., & Perrouchet, W. (2016). Résultats de la mise en œuvre des réseaux REPHY et SRN–Zones côtières de la Manche orientale et de la baie sud de la Mer du Nord – Bilan de l'année 2015.
- Lefebvre, A., & Grassi, K. (2020). MAREL Carnot. Bilan d'une surveillance à haute fréquence en zone côtière sous influence anthropique (Boulogne-sur-Mer). Bilan 2019. Rapport n° 14.
- Legendre, L., & Rassoulzadegan, F. (1995). Plankton and nutrient dynamics in marine waters. Ophelia, 41(1), 153-172.
- Lehman, J. T. (1991). Interacting growth and loss rates: The balance of top-down and bottom-up controls in plankton communities. *Limnology and Oceanography*, 36(8), 1546-1554.
- Lelong, A., Hegaret, H., Soudant, P., & Bates, S. S. (2012). Pseudo-nitzschia (Bacillariophyceae) species, domoic acid and amnesic shellfish poisoning: revisiting previous paradigms. *Phycologia*, 51(2), 168-216.
- Levoy, F., Anthony, E. J., Monfort, O., & Larsonneur, C. (2000). The morphodynamics of megatidal beaches in Normandy, France. *Marine Geology*, 171(1-4), 39-59.
- Litchman, E., Klausmeier, C. A., Schofield, O. M., & Falkowski, P. G. (2007). The role of functional traits and trade-offs in structuring phytoplankton communities: scaling from cellular to ecosystem level. *Ecology letters*, 10(12), 1170-1181.
- Liu, J., Van Rijssel, M., Yang, W., Peng, X., Lü, S., Wang, Y., Chen, J., Wang, Z. & Qi, Y. (2010). Negative effects of Phaeocystis globosa on microalgae. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 28(4), 911-916.
- Louchart, A. (2020). Dynamique spatio-temporelle des communautés phytoplanctoniques côtières et de leurs caractéristiques intrinsèques, à partir d'une approche automatisée à haute résolution (Thèse, Université du Littoral Côte d'Opale, France).
- Louchart, A., Lizon, F., Lefebvre, A., Didry, M., Schmitt, F. G., & Artigas, L. F. (2020). Phytoplankton distribution from Western to Central English Channel, revealed by automated flow cytometry during the summer-fall transition. *Continental Shelf Research*, 195, 104056.

- Louchart, A., Lizon, F., Lefebvre, A., Didry, M., Schmitt, F. G., & Artigas, L. F. (2020). Phytoplankton distribution from Western to Central English Channel, revealed by automated flow cytometry during the summer-fall transition. *Continental Shelf Research*, 195, 104056.
- Margiotta, F., Balestra, C., Buondonno, A., Casotti, R., D'Ambra, I., Di Capua, I., Gallia, R., Mazzocchi, M. G., Merquiol, L., Pepi, M., Percopo, I., Saggiomo, M., Sarno, D., & Zingone, A. (2020). Do plankton reflect the environmental quality status? The case of a post-industrial Mediterranean Bay. *Marine Environmental Research*, 160, 104980.
- McCreary Jr, J. P., Kohler, K. E., Hood, R. R., & Olson, D. B. (1996). A four-component ecosystem model of biological activity in the Arabian Sea. *Progress in Oceanography*, 37(3-4), 193-240.
- Menge, D. N., & Weitz, J. S. (2009). Dangerous nutrients: evolution of phytoplankton resource uptake subject to virus attack. *Journal of theoretical biology*, 257(1), 104-115.
- Mirasbekov, Y., Abdimanova, A., Sarkytbayev, K., Samarkhanov, K., Abilkas, A., Potashnikova, D., Arbuz, G., Issayev, Z., Vorobjev, I. A., Malashenkov, D. V., & Barteneva, N. S. (2021). Combining Imaging Flow Cytometry and molecular biological methods to reveal presence of potentially toxic algae at the Ural river in Kazakhstan. *Frontiers in Marine Science*, *8*, 680482.
- Oksanen, J. (2015). Vegan: an introduction to ordination.
- Olson, R. J., Shalapyonok, A., & Sosik, H. M. (2003). An automated submersible flow cytometer for analyzing pico-and nanophytoplankton: FlowCytobot. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 50(2), 301-315.
- Pal, R., & Choudhury, A. K. (2014). An introduction to phytoplanktons: diversity and ecology. Berlin : Springer.
- Paliy, O., & Shankar, V. (2016). Application of multivariate statistical techniques in microbial ecology. *Molecular* ecology, 25(5), 1032-1057.
- Passow, U., & Carlson, C. A. (2012). The biological pump in a high CO2 world. *Marine Ecology Progress Series*, 470, 249-271.
- Peperzak, L., Duin, R. N. M., Colijn, F., & Gieskes, W. W. C. (2000). Growth and mortality of flagellates and non-flagellate cells of Phaeocystis globosa (Prymnesiophyceae). *Journal of Plankton Research*, 22(1), 107-120.
- Pomati, F., Kraft, N. J., Posch, T., Eugster, B., Jokela, J., & Ibelings, B. W. (2013). Individual cell based traits obtained by scanning flow-cytometry show selection by biotic and abiotic environmental factors during a phytoplankton spring bloom. *PloS one*, 8(8), e71677.
- Rantajärvi, E., Olsonen, R., Hällfors, S., Leppänen, J. M., & Raateoja, M. (1998). Effect of sampling frequency on detection
 of natural variability in phytoplankton: unattended high-frequency measurements on board ferries in the Baltic Sea. *ICES Journal of Marine Science*, 55(4), 697-704.
- Riaux-Gobin, C. (1985). Sels minéraux et cycles de marées dans un estuaire de Bretagne nord (Dourduff, France). *Hydrobiologia*, 124(1), 35-44.
- Riegman, R., Noordeloos, A. A., & Cadée, G. C. (1992). Phaeocystis blooms and eutrophication of the continental coastal zones of the North Sea. *Marine Biology*, 112(3), 479-484.
- Riegman, R., & Van Boekel, W. (1996). The ecophysiology of Phaeocystis globosa: a review. Journal of Sea Research, 35(4), 235-242.
- Rousseau, V., Vaulot, D., Casotti, R., Cariou, V., Lenz, J., Gunkel, J., & Baumann, M. (1994). The life cycle of Phaeocystis (Prymnesiophycaea): evidence and hypotheses. *Journal of marine systems*, 5(1), 23-39.
- Ruf, T. (1999). The Lomb-Scargle periodogram in biological rhythm research: analysis of incomplete and unequally spaced time-series. *Biological Rhythm Research*, 30(2), 178-201.
- Rutten, T. P., Sandee, B., & Hofman, A. R. (2005). Phytoplankton monitoring by high performance flow cytometry: a successful approach?. *Cytometry Part A: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 64(1), 16-26.

- Sazhin, A. F., Artigas, L. F., Nejstgaard, J. C., & Frischer, M. E. (2007). The colonization of two Phaeocystis species (Prymnesiophyceae) by pennate diatoms and other protists: a significant contribution to colony biomass. In *Phaeocystis,* major link in the biogeochemical cycling of climate-relevant elements (pp. 137-145). Springer, Dordrecht.
- Salam, M., & Noguchi, T. (2005). Impact of human activities on carbon dioxide (CO2) emissions: A statistical analysis. *Environmentalist*, 25(1), 19-30.
- Sentchev, A., & Yaremchuk, M. (2016). Monitoring tidal currents with a towed ADCP system. Ocean dynamics, 66(1), 119-132.
- Smayda, T. J. (1997). What is a bloom? A commentary. Limnology and Oceanography, 42(5part2), 1132-1136.
- Smith, W. O., & Lancelot, C. (2004). Bottom-up versus top-down control in phytoplankton of the Southern Ocean. *Antarctic Science*, 16(4), 531-539.
- Suttle, C. A. (2005). Viruses in the sea. *Nature*, 437(7057), 356-361.
- Sverdrup, H. U. (1953). On conditions for the vernal blooming of phytoplankton. J. Cons. Int. Explor. Mer, 18(3), 287-295.
- Tett, P., Carreira, C., Mills, D. K., Van Leeuwen, S., Foden, J., Bresnan, E., & Gowen, R. J. (2008). Use of a Phytoplankton Community Index to assess the health of coastal waters. *ICES Journal of Marine Science*, 65(8), 1475-1482.
- Thyssen, M., Mathieu, D., Garcia, N., & Denis, M. (2008). Short-term variation of phytoplankton assemblages in Mediterranean coastal waters recorded with an automated submerged flow cytometer. *Journal of Plankton Research*, 30(9), 1027-1040.
- Thyssen, M., Grégori, G. J., Grisoni, J. M., Pedrotti, M. L., Mousseau, L., Artigas, L. F., Marro, S., Garcia, N., Passafiume, O., & Denis, M. J. (2014). Onset of the spring bloom in the northwestern Mediterranean Sea: influence of environmental pulse events on the in situ hourly-scale dynamics of the phytoplankton community structure. *Frontiers in microbiology*, *5*, 387.
- VanderPlas, J. T. (2018). Understanding the lomb-scargle periodogram. The Astrophysical Journal Supplement Series, 236(1), 16.
- Verity, P. G., & Smetacek, V. (1996). Organism life cycles, predation, and the structure of marine pelagic ecosystems. *Marine Ecology Progress Series*, 130, 277-293.
- Wacquet, G., Lefebvre, A., Blondel, C., Louchart, A., Grosjean, P., Neaud-Masson, N., Belin, C., & Artigas, L. F. (2020). Combination of machine learning methodologies and imaging-in-flow systems for the automated detection of Harmful Algae. *Harmful algae 2018 – from ecosystems to socio-ecosystems*, 46.
- Ward, B. A., Dutkiewicz, S., & Follows, M. J. (2014). Modelling spatial and temporal patterns in size-structured marine plankton communities: top–down and bottom–up controls. *Journal of Plankton Research*, 36(1), 31-47.
- Weinbauer, M. G. (2004). Ecology of prokaryotic viruses. FEMS microbiology reviews, 28(2), 127-181.
- Wilhelm, S. W., & Suttle, C. A. (1999). Viruses and nutrient cycles in the sea: viruses play critical roles in the structure and function of aquatic food webs. *Bioscience*, 49(10), 781-788.
- Wilkerson, F. P., Lassiter, A. M., Dugdale, R. C., Marchi, A., & Hogue, V. E. (2006). The phytoplankton bloom response to wind events and upwelled nutrients during the CoOP WEST study. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 53(25-26), 3023-3048.
- Willén, E. (2001). Phytoplankton and water quality characterization: experiences from the Swedish large lakes Mälaren, Hjälmaren, Vättern and Vänern. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 30(8), 529-537.
- Wommack, K. E., & Colwell, R. R. (2000). Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiology and molecular biology reviews*, 64(1), 69-114.
- Wyatt, T. (2014). Margalef's mandala and phytoplankton bloom strategies. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, *101*, 32-49.

Sitographie

- Site SlidePlayer, cours sur la cytométrie (consulté le 07/05/2022) : https://player.slideplayer.fr/74/12483707/slides/slide 22.jpg
- URCACyt Plateau technique de cytométrie en flux (Consulté le 08/05/2022) : https://www.univ-reims.fr/urcacyt
- Cours cytométrie CIMI 2018 Immulab (Consulté le 10/05/2022) : http://www.immulab.fr/media/cours%20base%20de%20la%20cytometrie%20CIMI%202018.pdf
- Modèle MARS3D Manche Gascogne (Consulté le 15/05/2022) : https://marc.ifremer.fr/resultats/courants/modeles mars3d manche gascogne
- Visualisation des données environnementales MAREL Carnot (Consulté le 13/06/2022) : https://data.coriolis-cotier.org/platform/6200443

Sources des données utilisées

Données de bathymétrie : SHOM, 2015. MNT topo-bathymétrique côtier du port de Boulogne-sur-Mer et de ses abords à 10m (Projet TANDEM). http://dx.doi.org/10.17183/MNT COTIER PORT BSM TANDEM 10m WGS84

- Données de hauteur d'eau : Données issues du réseau REFMAR (SHOM).
 DOI du marégraphe : http://dx.doi.org/10.17183/REFMAR#111
- Données de modélisation des courants : Données issues des simulations des modèles MARS3D, projet « Modélisation et Analyse pour le Recherche Côtière » (MARC) https://marc.ifremer.fr, Ifremer, University of Brest, CNRS, IRD, Laboratoire d'Océanographie Physique et Spatiale (LOPS), IUEM, Brest, France
- Données de vents : Données Météo France. Poste 62160001, Boulogne-sur-Mer.
- Données environnementales de la station MAREL Carnot : Ces données ont été collectées et mises à disposition gratuitement par le projet Coriolis et les programmes qui y contribuent (http://www.coriolis.eu.org). Lefebvre, A. (2015). Données et métadonnées MAREL Carnot issues du centre de données Coriolis. SEANOE. https://doi.org/10.17882/39754

Annexes



Annexe I : Carte de la bathymétrie de la zone d'étude

<u>Figure I</u> : Carte de la bathymétrie de la zone d'étude. (*Réalisée sur QGis ; données issues de l'IGN et du SHOM*)

Annexe II : Caractéristiques détaillées de la sonde MPE NK6 de la station MAREL

Paramètres	Précision	Résolution	Gamme
Pression	0,06 m	0,006 m	0 à 20 m
Température	0,0005 °C à 0°C	0,05 °C	-5 à +35 °C
Conductivité	0,05 mS/cm	0,0012 mS/cm	0 à 70 mS/cm
Oxygène dissous	5 %	0,01 %	0 à 120 %
Fluorescence	1% gamme	0,08 µg/l	0 à 500 μg/l
Turbidité	2% gamme	0,012 NTU	0 à 2000 NTU

<u>Tableau II</u> : Caractéristiques principales de la sonde MPE NK6. (Source : Lefebvre & Grassi, 2020)

Annexe III : Comparaison entre les données haute fréquence et basse fréquence



Comparaison des données de 2021





Comparaison des données de 2022

<u>Figure IIIb</u> : Abondances phytoplanctoniques totales en 2022. Le trait noir correspond aux données haute fréquence et les points rouges correspondent aux données basse fréquence (MAREL Carnot).

Annexe IV : Images des différents groupes optiques distingués

NanoRED



Figure IVa : Image d'une particule du groupe NanoRED2, associée à une cellule flagellée de P. globosa.

NanoRED2



<u>Figure IVb</u> : Image d'une particule du groupe NanoRED2, associée à une cellule flagellée de P. globosa.</u>

NanoRED3



<u>Figure IVc</u> : Images de particules du groupe NanoRED3, associée à des cellules coloniales libres de P. globosa.

NanoSWS



Figure IVd : Images de particules du groupe NanoSWS, associée à un coccolithophoridé.

NanoORG



Figure IVe : Images de particules du groupe NanoORG, associée à une cryptophyte.

MicroRED



Figure IVf : Images de particules du groupe MicroRED, associée à une <u>Pseudo-nitzschia sp</u>.

MicroRED2



Figure IVg : Images de particules du groupe MicroRED2, associée à une <u>Rhizosolenia sp</u>.



<u>Figure IVh</u> : Images de particules du groupe MicroRED2, associée à une <u>Leptocylindrus danicus</u> Cleve, 1889.



<u>Figure IVi</u> : Images de particules du groupe MicroRED2, associée à <u>Lohmanniella oviformis</u> Leegaard, 1915.



Figure IVj : Images de particules du groupe MicroRED2, associée à Ditylum brightwellii.



<u>Figure IVk</u> : Images de particules du groupe MicroRED2, associée à une <u>Rhizosolenia imbricata</u> Brightwell, 1858.

Annexe V : Chronologie de l'étude



Figure Va : Chronologie de l'étude de l'année 2021.

Page 46 sur 62



Figure Vb : Chronologie de l'étude de l'année 2022.

Annexe VI : Figures complémentaires : cyclicité de 14 jours

Les ACPs suivantes ont été réalisées en utilisant les moyennes journalières des différents paramètres utilisés. Pour rappel, ce sont les anomalies d'abondances calculées avec une moyenne mobile de 12h qui sont ici utilisées.



<u>Figure VI</u> : ACPs des données cytométriques et environnementales (avec une moyenne mobile de 12 heures pour les abondances) de 2021 (A) et 2022 (B).

Annexe VII : EMDs complètes



Figure VIIa : *EMD du signal des abondances phytoplanctoniques de 2021.*



Figure VIIb : *EMD du signal des abondances phytoplanctoniques de 2022.*









Figure VIIb : Rose des vents à Boulogne-sur-Mer (Météo France) de 2021.



Figure VIIc : Rose des vents à Boulogne-sur-Mer (MAREL Carnot) de 2022.



<u>Figure VIId</u>: Vitesse des vents en 2021 (A ; Météo France) et vitesse des vents (ligne noire) et des vents en rafale (ligne pointillée rouge) en 2022 (B ; MAREL Carnot).

Annexe IX : Alternances entre les groupes Nano/Micro et les groupes Pico

En 2021, des alternances rapides entre les groupes Nano/Micro et les groupes Pico ont pu être remarquée. Ces alternances ont été liées à la variation de la hauteur d'eau (figure IXa ; figure IXb). Elles sont également principalement dues à la variabilité des groupes Nano et Micro (corrélation de 0,62 contre 0,19 pour les groupes Pico ; figure IXc), et en particulier à la variabilité du groupe NanoRED3, étant le groupe le plus influencé par la marée semi-diurne (annexe X).



<u>Figure IXa</u> : Rapport entre les groupes Nano/Micro et les groupes Pico des données de 2021. La ligne noire représente la valeur 1.



<u>Figure IXb</u> : Anomalies du rapport (par périodes, séparées par des bandes noires) entre les groupes Nano/Micro et les groupes Pico des données de 2021.



<u>Figure IXc</u> : Matrice de corrélation entre les abondances cumulées des groupes Nano/Micro et Pico en 2021 et leur rapport.

Ces alternances sont beaucoup moins visibles dans les données du bloom de 2022 (figure IXd ; figure Ixe), sauf pour la période du 26 avril au 26 mai (lors du bloom de NanoRED3 ; figure 20).

Cela pourrait donc être lié au fait que l'année 2022 soit marquée par une présence bien plus limitée de *P. globosa*, étant sûrement le moteur de ces variations au vu des résultats.



<u>Figure IXd</u> : Rapport entre les groupes Nano/Micro et les groupes Pico des données de 2022. La ligne noire représente la valeur 1.



<u>Figure IXe</u> : Anomalies du rapport (par périodes, séparées par des bandes noires) entre les groupes Nano/Micro et les groupes Pico des données de 2022.



Figure IXf : Matrice de corrélation entre les abondances cumulées des groupes Nano/Micro et Pico en 2022 et leur rapport.



<u>Figure Xa</u> : Abondances phytoplanctoniques et FLR (proxy de la biomasse chlorophyllienne) pour chacun des groupes optiques distingués en 2021.



<u>Figure Xb</u> : Abondances phytoplanctoniques et FLR (proxy de la biomasse chlorophyllienne) pour chacun des groupes optiques distingués en 2022.



<u>Figure Xc</u> : Périodogrammes de Lomb-Scargle des abondances des différents groupes phytoplanctoniques, données de 2021.



<u>Figure Xd</u> : Périodogrammes de Lomb-Scargle des abondances des différents groupes phytoplanctoniques, données de 2022.

Les périodogrammes de Lomb-Scargle des abondances phytoplanctoniques de 2021 et 2022 permettent d'observer l'effet marqué de la marée sur les données d'abondance en 2021, et bien moins marqué sur les données de l'année 2022 (figure Xc ; figureXd). Le groupe NanoRED3 semble être le groupe le plus influencé par la marée en 2021 (figure Xc). Cela s'accorde avec les observations de la partie « résultats » de ce rapport.


En 2022, des périodicités de 24 heures peuvent être remarquées pour certains groupes (MicroORG, NanoRED).

<u>Figure Xe</u> : Périodogrammes de Lomb-Scargle du FWS (proxy de la taille) par cellule des différents groupes phytoplanctoniques, données de 2021.



<u>Figure Xf</u> : Périodogrammes de Lomb-Scargle du FWS (proxy de la taille) par cellule des différents groupes phytoplanctoniques, données de 2022.</u>

Les périodogrammes de Lomb-Scargle des *FWS* par cellule (proxy de la taille par cellule) laisse apparaître le cycle de division cellulaire pour une majorité des groupes. Les principaux pics sont repérés à 12 heures (surtout en 2021 ; figure Xe) et 24 heures. Les périodicités sont plus visibles en 2021 qu'en 2022. Cela pourrait s'expliquer par les périodes sans données plus longues en 2022 ou par le fait que le bloom a été moins important en 2022 (en termes de biomasse chlorophyllienne ; figure 18 ; figure 20).



Annexe XI : *Clusterisation* (protocole « Micro ») et paramètres d'acquisition

<u>Figure XI</u> : Exemple de cytogramme basé sur les données du protocole « Micro » de l'échantillon du 18 mai 2022 à 10h00 : FLR (proxy de la chlorophylle a) en fonction du FWS (proxy de la taille). Les différents clusters sont légendés.

Tableau XI : Détails des	paramètres des protocoles	s d'acquisition de 2021	(orange) et 2022 (bleu).
		1	

Protocole	Pico	Micro	Micro-Photo
Paramètre			
Vitesse de pompage de	5 μL/s	13 µL/s	3 μL/s
l'échantillon	7 μ L/s (minimum speed:	13 µL/s	1 μL/s
	0,5 μL/s)		
Limite d'acquisition	5 minutes	8 minutes	8 minutes (ou 450
	20 minutes (ou volume	8 minutes	images acquises)
	analysé de 800µL)		10 minutes (ou 400
			images acquises)
Sensibilité des photo-	<i>SWS</i> : x54 ; x107	<i>SWS</i> : x2 ; x11,2	<i>SWS</i> : x2 ; x11,2
amplificateurs	<i>FLR</i> : x527 ; x1305	FLR : x110 ; x110	FLR : x110 ; x110
	<i>FLO</i> : x1073 ; x2792	<i>FLO</i> : x366 ; x202	<i>FLO</i> : x366 ; x202
	<i>FLY</i> : x1073 ; x2792	<i>FLY</i> : x107 ; x202	<i>FLY</i> : x107 ; x202
<i>Trigger level</i> (basé sur la <i>FLR</i>	12 mV	22 mV	22 mV
ou le <i>SWS</i>)	35 mV	50 mV	50 mV
Smart trigger (second trigger	Aucun	Aucun	Aucun
level, basé sur la FLR)	Maximum $FLR > 10 \text{ mV}$	Maximum $FLR > 12 \text{ mV}$	Maximum $FLR > 12 \text{ mV}$







Résumé

L'observation du phytoplancton est essentielle dans le cadre de l'évaluation de l'état du milieu marin puisqu'il représente un bon indicateur de la qualité de l'eau. La dynamique des communautés phytoplanctoniques évolue de façon rapide. Pour comprendre et prédire au mieux l'évolution de l'état de nos milieux côtiers, il est nécessaire de suivre cette dynamique à haute fréquence. Dans le cadre de financements du CPER MARCO et IDEAL, de l'IR ILICO et du projet H2020 JERICO S3, un cytomètre en flux automatisé de type CytoSub (CytoBuoy b. v., Pays-Bas) a été déployé sur le système de mesures automatisé MAREL se trouvant au bout de la digue Carnot (Boulogne-sur-Mer) afin de prendre en compte la dynamique des communautés phytoplanctoniques en continu et à haute fréquence lors des efflorescences printanières de 2021 et 2022. Les blooms des nano- et microeucaryotes (en termes de biomasse chlorophyllienne) et des nano- et picoeucaryotes (en termes d'abondance) ont été observés avec différents ordres de grandeur. De plus, les biomasses chlorophylliennes totales de 2021 ont été plus importantes que celles de 2022. Les phénologies des blooms ont pu être relevées, permettant d'observer des successions à grande échelle temporelle entre les nano- et les microeucaryotes par exemple (en termes de fluorescence rouge, proxy de la chlorophylle a) et des successions à fine échelle temporelle d'augmentation d'abondance entre les pico- et les nanoeucaryotes. Certains paramètres biotiques (comme la compétition pour la ressource) et abiotiques (hauteur d'eau, température...) régulant les blooms ont pu être appréhendés et la dynamique multi-échelle temporelle a pu être caractérisée par le biais de données physico-chimiques. Il a été remarqué différents mécanismes à différentes échelles, avec un effet de la marée, des vents et de la température en particulier à différentes échelles temporelles (de 12 heures à plusieurs mois). Cette étude a permis une caractérisation multi-échelle partielle des blooms printaniers de 2021 et 2022, et pourrait être complétée avec d'autres mesures à haute fréquence (p. ex : nutriments).

Mots-clés : Phytoplancton / Efflorescence / Cytométrie en flux automatisée / Manche Orientale / Haute fréquence

Abstract

Monitoring of phytoplankton is essential in assessing the state of the marine environment as it is a good indicator of water quality. Phytoplankton community dynamics unfolds rapidly. To better understand and predict the evolution of the state of our coastal environments, it is necessary to monitor these dynamics at high frequency. As part of funding from CPER MARCO and IDEAL, IR ILICO and the H2020 JERICO S3 project, an automated flow cytometer of the CytoSub type (CytoBuoy b. v., Netherlands) was deployed on the MAREL automated measurement system. It was located at the end of the Carnot dike (Boulogne-sur-Mer). The aim was to study the dynamics of the phytoplankton communities continuously and at high frequency during the spring blooms of 2021 and 2022. The blooms of nano- and microeukaryotes (in terms of chlorophyll biomass) and nano- and picoeukaryotes (in terms of abundance) were observed with different orders of magnitude. Moreover, the total chlorophyll biomasses of 2021 were higher than those of 2022. It was possible to record the phenology of the blooms, allowing to observe successions on a large temporal scale between nano- and microeukaryotes for example (in terms of red fluorescence, proxy for chlorophyll a) and successions on a fine temporal scale of increase in abundance between pico- and nanoeukaryotes. Some biotic (competition for the resource) and abiotic parameters (water height, temperature, etc.) regulating the blooms could be apprehended and the multi-temporal scale dynamics could be characterized through physico-chemical data. Different mechanisms were observed at different scales, with an effect of the tide, winds, and temperature at different time scales (from 12 hours to several months). This study allowed a partial multi-scale characterization of the spring blooms of 2021 and 2022 and could be supplemented with other high-frequency measurements (i.e. nutrients).

Keywords: Phytoplankton / Bloom / Automated flow cytometry / Eastern English Channel / High frequency