

Méthodes d'observation et stratégie d'échantillonnage des communautés phytoplanctoniques en milieu côtier. Illustrations à partir de résultats de campagnes réalisées à bord du Côte de la Manche

Lunven Michel⁽¹⁾, Colas Florent⁽²⁾, Youéno Agnès⁽¹⁾, Le Gall Erwan⁽¹⁾, Crassous Marie Pierre⁽²⁾, Tardivel Morgan⁽²⁾, Daniélou Marie Madeleine⁽¹⁾, Quéré Julien⁽¹⁾, Malestroit Pascale⁽¹⁾, Delmas Daniel⁽¹⁾, Labry Claire⁽¹⁾, Siano Raffaele⁽¹⁾, Jegou Klet⁽¹⁾, Bryere Philippe⁽¹⁾, Gohin Francis⁽¹⁾, Thyssen Melilotus⁽³⁾, Sourisseau Marc⁽¹⁾, Chapelle Annie⁽¹⁾, Compère Chantal⁽²⁾.



(1) Département DYNECO/EP, Ifremer, B.P. 70, 29280 Plouzané.
 (2) Département RDT/LDCM, Ifremer, B.P. 70, 29280 Plouzané.
 (3) M.I.O., Institut Méditerranéen d'Océanologie, Campus de Luminy, 13288 MARSEILLE cedex 09

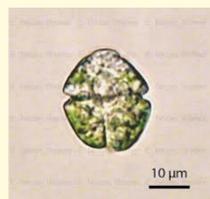
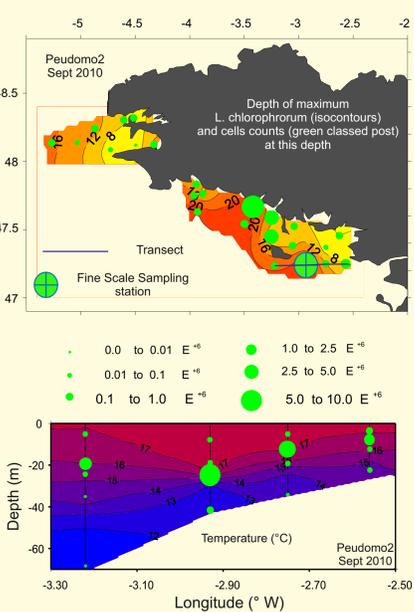
Trois campagnes en mer ont été réalisées entre 2009 et 2014 à bord du Côte de la Manche afin d'évaluer de nouvelles méthodes de détection des espèces phytoplanctoniques et de leurs toxines. Inscrites dans le cadre des projets « Capteurs Méthodes et Systèmes » et « DiAltoxe », ces campagnes avaient également pour objectifs d'étudier la dynamique et la variabilité spatio-temporelle des espèces phytoplanctoniques en relation avec les conditions environnementales. Quelques résultats issus de ces campagnes sont présentés ci-dessous.



Campagne PSEUDOMO2 - Côte de la Manche - 18 au 24 Septembre 2010

Etude des distributions de *Lepidodinium chlorophorum* en Bretagne Sud et Iroise

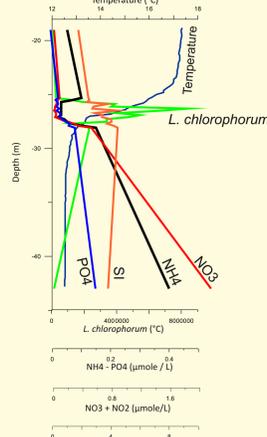
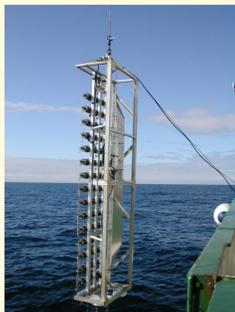
La campagne PSEUDOMO2 réalisée en septembre 2010 a permis de mettre en évidence la présence d'un bloom de très grande ampleur de *Lepidodinium chlorophorum* s'étendant des panaches de la Loire et de la Vilaine et atteignant la mer d'Iroise et le front d'Ouessant. Cette espèce, responsable d'eau colorée verte à fortes concentrations, peut être à l'origine d'hypoxie due à la dégradation de la matière organique par les bactéries. Les données et prélèvements réalisés à fine échelle à l'aide du profileur pélagique et du préleveur étagé ont permis d'établir précisément la distribution spatiale de l'espèce. Les maxima de densité de *L. chlorophorum* ont été détectés à la côte dans les panaches dessalés (Loire et Vilaine).



Cellule de *Lepidodinium chlorophorum*

Etude des couches fines de phytoplancton

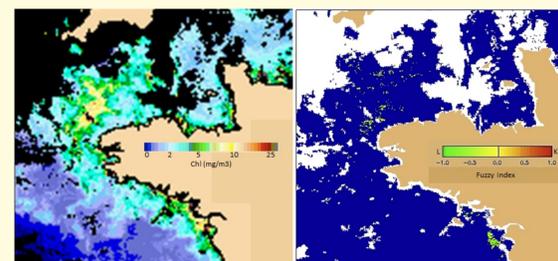
Préleveur étagé : système de prélèvement déployé pour l'échantillonnage et la description des couches fines de phytoplancton en milieu stratifié. Il permet de prélever instantanément 15 échantillons espacés de 20 cm.



En milieu stratifié, sur le plateau Nord Gascogne, les eaux de surface étant appauvries en nutriments, *L. chlorophorum* s'établit en formant une couche continue de forte concentration (maximum de 8 millions de cellules/litre observé) et de faible épaisseur (3 à 4 mètres) au niveau de la nutricline vers 25 mètres.

Analyse des images satellite

Les observations effectuées au cours de cette campagne ont été complétées par les données plus côtières, issues du Réseau d'Observation du Phytoplancton d'Ifremer (REPHY) et par les résultats d'analyses satellite effectuées sur les eaux de surface de l'ensemble de la zone : Bretagne Sud, Iroise, Manche Occidentale (Sourisseau et al., 2015). Le calcul d'un indice de discrimination (indice de fuzzy) a pu être mis au point à partir de l'imagerie MODIS pour la détection des blooms de *L. chlorophorum* (Jégou, 2013).



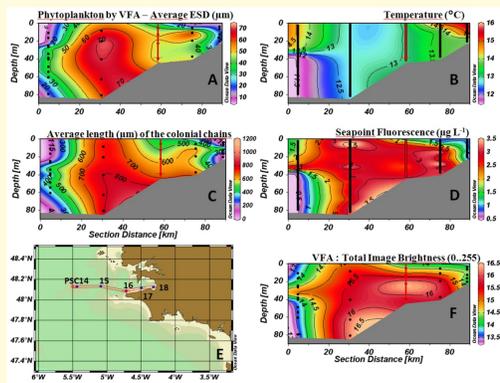
Distribution en surface de la chlorophylla a calculée à partir des images du satellite MODIS (algorithme IFREMER).

Résultat du calcul de l'indice de fuzzy pour la détection de la présence de *L. chlorophorum* : journée du 19 Septembre. Il révèle l'abondance de l'espèce à la côte dans les panaches Loire et Vilaine et au large, dans la zone Iroise au niveau du front de Ouessant.

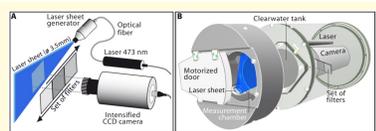
Campagne PSEUTEC - Côte de la Manche - 9 au 14 Juin 2011

Analyse des structures de taille du phytoplancton par Vidéo-Fluorescence In situ

La campagne PSEUTEC réalisée en juin 2011 a permis d'effectuer une description précise des communautés phytoplanctoniques présentes sur l'ensemble de la zone Bretagne Sud et Mer d'Iroise. Les résultats des analyses des images obtenues *in situ*, lors des profils effectués à l'aide du Vidéo-Fluo-Analyseur montre une grande variété des structures de taille de la communauté phytoplanctonique en relation avec les conditions environnementales : stratification thermique, mélange vertical, limitations en nutriments (Lunven et al., 2012). Ces observations réalisées par ce capteur sont cohérentes avec celles effectuées sur la même zone, lors de la campagne FROMVAR (Côte de la Manche, septembre 2009 ; Landeira et al., 2014)



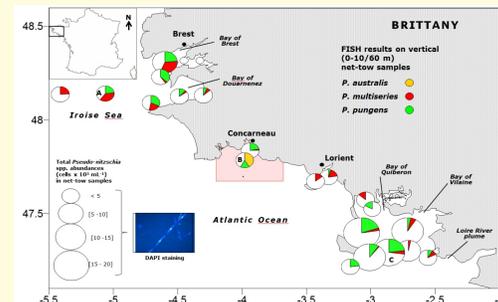
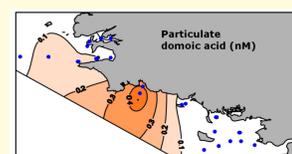
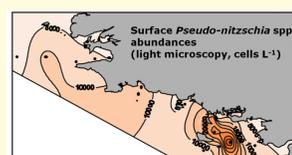
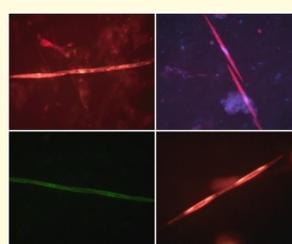
Le profileur pélagique permet d'effectuer des profils et des prélèvements dans la colonne d'eau. Il est équipé d'une CTD Sea-Bird, de capteurs optiques (fluorimètre, granulomètre Laser, Vidéo-Fluo-Analyseur) pour la caractérisation du matériel particulaire et du nouveau capteur d'acide domoïque *in situ*.



Vidéo-Fluo-Analyseur, principe optique et dessin mécanique. Ce capteur permet la visualisation directe des cellules phytoplanctoniques dans le milieu. Un logiciel de traitement d'images associé permet l'analyse des structures de taille de la communauté phytoplanctonique.

Distribution des espèces toxiques *Pseudonitzschia* sp et de leur toxine (Acide domoïque)

Cellules de *Pseudonitzschia* visualisées au microscope à épifluorescence par méthode FISH



Distribution spatiale et abondance relative des espèces de *Pseudonitzschia* détectées par méthode FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) dans les eaux de la Mer d'Iroise et du Sud Bretagne lors de la campagne PSEUTEC (Siano et al., 2012)

La campagne PSEUTEC a également permis d'obtenir des prélèvements pour la validation d'une nouvelle méthode d'analyse par HPLC de l'acide domoïque, toxine produite par les espèces du genre *Pseudonitzschia* (Devez et Delmas, 2013), de valider un nouveau capteur *in situ* d'acide domoïque développé par le département RDT d'Ifremer (Colas et al., 2015) et de classifier les différentes espèces de ce genre par méthode FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) (Siano et al., 2012).

Campagne PHYTEC - Côte de la Manche - 21 au 29 Juin 2013

Concentration et analyse par imagerie en flux des échantillons de phytoplancton

La campagne PHYTEC (juin 2013) a permis d'améliorer et de valider de nouvelles techniques de détection et de quantification des espèces rares du genre *Dinophysis*, responsables d'événements toxiques même à densités très faibles (à partir de 100 cellules/litre).



Concentrateur de cellules phytoplanctoniques à bord du Côte de la Manche

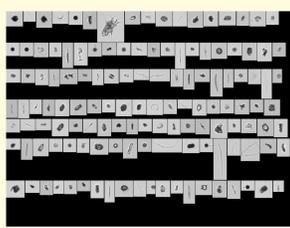
Un système automatisé de concentrateur de cellules a été mis au point permettant d'augmenter 40 fois la concentration des cellules à partir des échantillons prélevés. Les estimations de densité de *Dinophysis* ont été réalisées directement à bord en utilisant le système d'imagerie en flux FLOWCAM, couplé à des méthodes de classification automatisées des organismes détectés par data-mining.



Cellule de *Dinophysis acuminata*

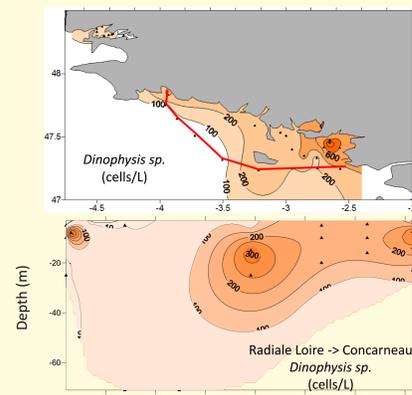


Système d'imagerie en flux FLOWCAM



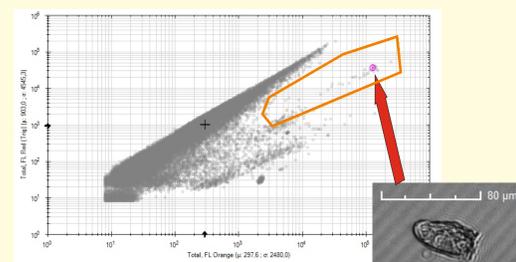
Vignettes de cellules phytoplanctoniques générées par le FLOWCAM.

Distributions de *Dinophysis* sp en Bretagne Sud et Rade de Brest



Des cartes de distribution spatiale des densités de *Dinophysis* sp ont pu être établies à partir des résultats obtenus, montrant la présence de 2 maxima d'abondance de l'espèce (Baie de Vilaine et Baie de Concarneau).

Dans le cadre du projet FP7 ASIMUTH, les échantillons de la campagne ont été analysés par cytométrie (Cytosense) pour évaluer une méthode de détection automatique des espèces du genre *Dinophysis*, celles-ci peuvent en effet être discriminées par leurs propriétés morphométriques et fluorescentes (émissions orange et rouge). La technique est apparue pertinente notamment pour estimer une population en pleine croissance.



Analyse par cytométrie de flux des échantillons de phytoplancton : scatterplot des émissions fluorescentes dans les bandes spectrales rouge et orange permettant la discrimination des cellules de *Dinophysis* parmi l'ensemble de la communauté phytoplanctonique.

Exemple de vignette de *Dinophysis* générée par le Cytomètre à partir des critères de fluorescence définis.

Références

* Colas F., Crassous M. P., Laurent S., Litaker W., Rinnert E., Le Gall E., Lunven M., Delauney L., Compère C. (2015). A Surface Plasmon Resonance system for the underwater detection of domoic acid. *Limnology and Oceanography methods* (submitted).
 * Devez A., Delmas D. (2013). Selective liquid chromatographic determination of trace domoic acid in seawater and phytoplankton: improvement using the ophthalaldehyde/9-fluorenylmethylchloroformate derivatization. *Limnology and Oceanography methods*, 11, 327-336.
 * Landeira J. M., Ferron B., Lunven M., Morin P., Marie L., Sourisseau M. (2014). Biophysical Interactions Control the Size and Abundance of Large Phytoplankton Chains at the Ushant Tidal Front. *Plos One*, 9(2).
 * Jegou Klet (2013). Identification satellitaire des efflorescences de deux dinoflagellés, *Lepidodinium chlorophorum* et *Karenia mikimotoi*, grâce à leurs caractéristiques optiques. Rapport de stage Master 2 STEE.
 * Lunven M., Landeira J. M., Lehaitre M., Siano R., Podeur C., Daniélou M. M., Le Gall E., Gentien P., Sourisseau M. (2012). In situ video and fluorescence analysis (VFA) of marine particles: applications to phytoplankton studies. *Limnology and Oceanography methods*, 10, 807- 823.
 * Siano R., Dreanno C., Quéré J., Le Roy V., Ducasse E., Nézan E., Youéno A., Devez A., Delmas D. (2012). Spatio temporal dynamics of toxic *Pseudo-nitzschia* species in Brittany (France). 15th International Conference on Harmful Algae, Gyeongnam, Korea.
 * Sourisseau M., Jegou K., Lunven M., Quéré J., Gohin F.; Bryere P. (2015). Distribution and dynamics of two *Dinophyceae* producing high biomass blooms over the French Shelf. *Harmful Algae* (submitted).