UNIVERSITE DU LITTORAL CÔTE D'OPALE
UMR 8013 ELICO
Fonctionnement des Réseaux Trophiques des Ecosystèmes Côtiers

THÈSE DE DOCTORAT

pour l'obtention du titre de

Docteur en océanologie biologique

Dynamique bactérienne en Manche orientale -

Relation avec les poussées de *Phaeocystis globosa.*

présentée et soutenue publiquement par

Dominique LAMY

Le 19 juin 2006 devant un jury composé de :

Dr. Michel DENIS (DR, CNRS, Centre d'Océanologie de Marseille)	Rapporteur
Dr. Télesphore SIME N'GANDO (DR, CNRS, Laboratoire de Biologie des Protistes, Clermond-Ferrand)	Rapporteur
Dr. Daniel DELMAS (CR, IFREMER, CRELA L'Houmeau)	Examinateur
Pr. Urania CHRISTAKI (ULCO)	Examinateur
Pr. Marc FRISCHER (Skidaway Institute of Oceanography, USA)	Professeur invité
Pr. Jean-Michel BRYLINSKI (ULCO)	Directeur de thèse
Dr. Felipe ARTIGAS (ULCO)	Responsable Scientifique

A mes « deux âmes »…

Je remercie Messieurs les Professeurs Jean-Claude Dauvin, Directeur de l'UMR 8013 ELICO, et Jean-Michel Brylinski, Directeur de la Maison de la Recherche en Environnements Naturels, pour m'avoir accueillie au sein de leurs laboratoires.

Cette étude n'aurait pu être menée à bien sans le soutien financier de l'Agence de l'Eau Artois-Picardie et la région Nord – Pas de Calais qui ont co-financé ce travail de recherche.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de deux programmes de recherche, « CPER Ecosystèmes perturbés du littoral : bloom de *Phaeocystis* » et « PNEC Chantier Manche orientale – Sud Mer du Nord ».

Les campagnes océanographiques ont été réalisées à bord des navires « Côtes de la Manche » et « SEPIA II », mis à disposition par l'Institut National des Sciences de l'Univers (INSU).

Je tiens à remercier les membres du jury qui ont accepté d'évaluer mon travail.

Messieurs les Directeurs de Recherche CNRS Michel Denis et Télesphore Sime N'Gando, pour avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse.

Madame la Professeur Urania Christaki, pour avoir été Présidente de mon jury de thèse, et pour son aide pour la soumission de l'article JSR, et la préparation de ma soutenance orale.

Monsieur le Professeur Marc Frischer et Monsieur le Docteur Daniel Delmas, pour avoir accepté de participer au jury d'évaluation de ce travail.

Monsieur le Professeur Jean-Michel Brylinski pour avoir pris la direction de ma thèse, et de participer à ce jury. Je voudrais également le remercier d'avoir été mon tuteur de monitorat CIES et de m'avoir laissé ma chance en tant qu'ATER au sein de l'ULCO cette dernière année.

Monsieur le Docteur Luis Felipe Artigas pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser une thèse au sein de son équipe. Je lui suis reconnaissante d'avoir permis la réalisation de mes projets de recherche (campagnes océanographiques, faisabilité des manips…), et de m'avoir donné la possibilité de participer à des colloques internationaux. J'ai pu disposer à ses côtés de beaucoup de libertés dans mon travail, et assumer pleinement certaines responsabilités, qui m'ont permis d'acquérir une certaine autonomie.

Je remercie toutes les personnes qui ont participé à la réalisation de ce travail.

Daniel Delmas, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire, et m'avoir consacré de son temps pour me former aux manips délicates des activités exo-enzymatiques bactériennes. Et surtout, sincèrement merci pour son soutien, particulièrement au cours de ces derniers mois de thèse, pour l'attention qu'il a su porter à mon travail, l'écoute qu'il a su me donner, pour ses nombreux conseils (la chronique d'Alain Rey !) et sa disponibilité (et tout cela même à distance).

Dorothée Vincent, pour avoir été un tel « pilier » dans mon travail, pour ses cadrages et re-cadrages, pour le temps, l'énergie et l'attention qu'elle a su porter à mon manuscrit de thèse. Merci, sincèrement, d'avoir toujours été là pour répondre à mes questions, de m'avoir initiée aux analyses multivariées. Merci pour les encouragements (« alleeez Domy » !), salvateurs surtout en fin de thèse, d'avoir cru en moi jusqu'au bout et apaisé mes craintes et mes doutes (« mais si, ça va l'faire ! »).

Michel Denis et Mélilotus Thyssen, pour m'avoir aussi chaleureusement accueillie à Marseille, et avoir consacré de leur temps pour me former à la cytométrie. Merci, sincèrement, à Lotty, pour l'immense service rendu pour le traitement de mes (nombreux !) échantillons, d'avoir toujours été là pour répondre à mes questions, et pour ses nombreux conseils (merci à l'œil de la spécialiste !!). Merci aussi pour sa gentillesse et sa générosité, ses encouragements tellement bienvenus dans les derniers moments de la rédaction.

Christophe Luczak, pour avoir toujours accepté de prendre de son temps et jeter un œil à mes données, et me prodiguer de si précieux conseils sur les analyses numériques. Il est pour moi LA référence stat' ici, et en plus il l'est avec beaucoup de gentillesse et de patience.

Laurent Seuront, pour m'avoir engagée dans les manips cyto, et pour son coup de pouce dans la rédaction de leurs résultats.

Carole Vallet, pour ses nombreux coups de pouce et encouragements au cours de ma rédaction ; Philippe Koubbi et Philippe Dubuisson pour leurs conseils dans les derniers moments de ma thèse. Merci d'avoir pris ce temps-là pour moi.

Mathilde Schapira, Cédric Boulart, Céline Dubus, Ludivine Choteau, Eric Lécuyer, Vincent Cornille et Valérie Gentilhomme, pour les analyses dites des « paramètres de bases », telles que l'hydro et le traitement des chloro et des sels nut. Merci à Cédric d'avoir accepté de m'initier aux « mystères » du Technicon. Merci à Mathilde, Céline, Eric et Vincent pour ces moments si particuliers passés ensemble sur le bateau (on s'en souviendra longtemps, Vincent, de ce force 5 sur le SEPIA !! Même pas peur !!).

Les étudiants stagiaires qui ont participé à ce travail : Julien Bellegueule, Fabien Gourlé, pour le traitement des chloro, et leur sérieux coup de main sur le bateau.
Merci aux étudiants que j'ai pu encadrer (les pauvres !), Tatiana Potier, Jérémy Lasalle et Vanessa Kowalski, pour m'avoir fait confiance pour mener à bien leur propre stage universitaire, et pour avoir participé aussi activement et avec autant d'enthousiasme à certaines de mes manips.
Mention spéciale ici à Van, qui, au-delà de son rôle dans ma thèse, est devenue une amie sincère, et qui a su m'apporter soutien, courage (par son propre courage à elle !), et fous rires. Merci aussi, Van, d'avoir assuré « pour deux » à Helsinki !

Jean-François Berthon, Vincent Vantrepotte, Elvire Antajan, Nicolas Spilmont et Jonathan Selleslagh pour leur aide et leurs conseils pour mes enseignements.

Les étudiants et les titulaires de la M.R.E.N., et de la S.M.W., pour leur sympathie quotidienne, et leurs mots d'encouragement sur la fin de ma thèse.

Bertrand Lubac et Xavier Mériaux, pour m'avoir donné accès aux données des campagnes « bio-optiques » avec la plus grande facilité. Merci aussi à Xavier pour ses réponses et ses coups de pouce sur l'hydro.

Céline Thisse (j'ai pu « dompter » à nouveau SURFER !!), Matthieu Fayeulle et Francis Zagolski, pour leurs nombreux conseils et le temps qu'ils m'ont consacré, malgré leur propre (sur-)charge de travail.

Natacha Guiselin, pour ses infos phyto, et ses encouragements.

Corinne Bazin, pour son petit café du matin, mais surtout pour son coup de main les jours de « grosse » vaisselle, pour son écoute et sa patience.

Les équipes de marins du « Côtes de la Manche », et Greg et Charlie du « SEPIA », pour leur aide sur le terrain, et leur bonne humeur. Merci d'avoir su créer une bonne ambiance à bord, malgré des conditions parfois « ardues ».

Je tiens à sincèrement remercier tous mes amis, qui, de près ou de loin (voire de vraiment loin !), ont été un vrai soutien au cours de ces années de thèse. Merci pour votre écoute et votre aide. Merci pour tous ces tellement bons moments passés ensemble.

Marie et Lucile, pour vos encouragements et votre bonne humeur, au quotidien.

Ivaneide, pour avoir pu, si souvent, partager nos expériences en tant que thésardes, et m'avoir aussi bien comprise.

Vincent et Camille, pour vos invit' si agréables dans votre chez-vous.
Fred, pour avoir partagé ton bureau (et du coup certaines de mes « angoisses » !!), et pour m'avoir écoutée si souvent.
Jonathan, pour nos discussions en TP de BA, et ta bonne humeur de tous les jours.
Merci aussi, les gars, d'avoir partagé des moments « pèke » avec mon homme !

Matthieu et Francis, pour nos Dimanches et nos dîners partagés au labo (et les chocolats !), votre présence en cas de coups durs, nos « discussions de 5 minutes » qui durent 2 heures.

Laure, pour me supporter tous les jours, déjà, en tant que coloc' de bureau !!! (Et en plus me rassurer, même dans les dernières semaines de la rédaction : « mais non, t'es pas chiante du tout » !!). Merci pour ton soutien quotidien, d'avoir été vraiment là lors de certains de mes « pétages de plombs », et pour ta bonne humeur communicative.

Cédric et Delphine, pour cette année que vous avez passée courageusement dans le ch'Nord !! Merci pour votre compréhension, et vos encouragements.

Do, Mathilde et Anne-Laure, mon trio incontournable du labo. Merci pour les pauses café et les déj' sur la digue ; justement, la digue, si souvent parcourue avec vous pour me changer (et rafraîchir !) les idées. Merci pour votre soutien de tous les jours, jusqu'au bout, pour votre écoute, à chaque fois sans faille même si c'était pour écouter et apaiser un peu toujours les mêmes doutes, les mêmes rancoeurs, les mêmes colères… Merci aussi pour nos p'tites soirées entre nanas, les p'tites bières, les p'tits restos, les p'tits ciné, qui ont été pour moi de grands moments.

Merci au Géant triste, au Gluant bleu, à Tigrou et à mini-Hulk (!!). Merci pour votre éternelle bonne humeur, vos mots d'esprit et vos blagues « à deux balles », tout cela me permettait de m'évader bien loin…
Sincèrement merci, JC, pour tes conseils et ton soutien « hors normes », notamment pour mon travail de recherche et mon expérience d'enseignante. Et surtout pour nos « missions » inoubliables, nos rayons de soleil chopés parmi les bulles (?!), nos discussions à bâtons rompus sur tout et rien (et surtout sur tout !!).
Je n'oublie pas ici Philippe, pour les ch'tites bières à l'Australian, pour avoir activement participé à ma formation « billard », pour m'avoir fait autant rire aux cours de Step (!!).

Cécile, pour ton soutien, ici, là-bas, et toujours aussi fort. Merci pour nos fous rires, ton petit côté « Scrat » (l'Âge de Glace), ces moments inégalés à bord du bateau. Merci sincèrement d'avoir été là comme tu l'as été.

Mes 7 comparses de toujours (15 ans, déjà…), Sandrine, Eléonore (malgré les 6000 km qui nous séparent depuis quelque temps), Paty (et son Manu, cela va sans dire !), Clotilde, Dorothée, Anne et Florence, pour votre soutien malgré les kilomètres, pour avoir toujours accepté mes silences et mes absences, et compris certains de mes sacrifices. Merci aussi pour nos petits et grands délires (toutes ensemble, on ne nous refera pas…!!!).

Bérengère et Sylvain, pour avoir pu nous retrouver à chacun de mes retours sur Paris. Merci Bérengère pour tes petits coups de fil quasi-hebdomadaires, et pour m'avoir fait sentir que tu n'étais jamais bien loin.

Marilyne, pour notre Amitié et notre complicité de toujours, inébranlables, malgré ces longs mois sans la possibilité de se voir. Merci aussi au médecin Marilyne d'avoir pris soin de ma santé !

Je remercie sincèrement Dominique, Francis et Nizier, pour tous ces moments passés avec vous, en famille. Pour m'avoir fait découvrir ce merveilleux pays qu'est la Sardaigne (« à quand l'Irlande ?! »), pour toutes vos attentions qui ont jalonné ces années passées dans le Nord et qui m'ont beaucoup soutenue.

Je remercie infiniment ma famille pour avoir été si présente, si proche, même loin. Merci d'avoir toujours cru autant en moi et de m'avoir toujours soutenue. Merci aussi d'avoir supporté mes changements de dernière minute pour mes retours à la maison !

Tatie, et Jean-Christophe, Marylise et Sarah. Mention spéciale ici pour la 104, et mes petits séjours sur Lille lors de mes stages CIES.
Mes frérots, Alexandre et David. Ma belle-sœur (qui peut aussi s'écrire belle sœur), Florence.
Mes parents, Dominique et Jean. J'emprunterais à Henri de Montherlant cette pensée, « Deviens ce que tu es », pour résumer un de leurs plus précieux conseils, qui m'a permis d'avancer, bien au-delà de ce travail de thèse.

Pour vos encouragements, votre compréhension, votre confiance en moi. Pour nos fous rires, notre complicité et notre amour filial, qui permettent de déplacer des montagnes, et surmonter les moments les plus douloureux. Pour nos coups de fil, nos échanges MSN (les petites bonnes femmes !!) et web-cam.

Mes plus vifs et mes plus tendres remerciements sont pour Romain, pour tous tes week-ends passés ici, pour ta présence, si réconfortante (même avec parfois 10h de décalage horaire !). Merci de m'accompagner comme tu le fais, et me donner la volonté et la force d'aller toujours plus loin.
Merci pour ta si belle et si précieuse confiance en moi,
et en nous.

TABLE DES MATIERES

INRODUCTION GENERALE……..01

PARTIE I - ETAT DE L'ART…….. 11

CHAPITRE I - Les écosystèmes côtiers marins : Importance des bactéries…… 13

I. Importance des écosystèmes marins…….... 13
II. Place et rôle des bactéries dans les écosystèmes côtiers……..14
II.1. Evolution conceptuelle de l'importance du compartiment bactérien……..... 14
II.2. Boucle microbienne et réseau trophique microbien…….. 15
II.3. Rôle des bactéries au sein des écosystèmes côtiers…….. 20

CHAPITRE II – Site d'étude : l'écosystème Manche orientale…… 23

I. Caractéristiques générales…….....23
II. Caractéristiques physiques…….....25
II.1. Régime marégraphique et circulation des masses d'eau……..... 25
II.2. La zone frontale……..... 26
II.3. Interface mer / cours d'eau……..... 27
II. Caractéristiques biologiques……..... 29
III.1. Phytoplancton……..... 29
III.2. Zooplancton……..30
III.3. Bactérioplancton……..... 30

PARTIE II – DE L'APPROCHE ECOSYSTEMIQUE..…….. 33

INTRODUCTION…….. 35

I. Problématique et contexte scientifique…….... 35
II. Objectifs de l'étude et description des échelles spatio-temporelles d'observation…..... 38
II.1. Echelle 1 : Approche globale de l'écosystème à l'échelle inter annuelle……..... 41
II.2. Echelle 2 : Site de Wimereux à l'échelle saisonnière……..... 45
II.3. Echelle 3 : Site de Wimereux à l'échelle journalière……..... 46

CHAPITRE I - Méthodes d'étude…… 49

I. Acquisition des données…….... 49
I.1. Paramètres physico-chimiques……..... 49
I.1.1. Température et salinité…… 49
I.1.2. Sels nutritifs…….... 49
I.1.3. Carbone organique dissous (COD)…….... 50
I.2. Paramètres biologiques……..... 51
I.2.1. Biomasse phytoplanctonique…… 51
I.2.2. Abondance bactérienne totale…… 52
I.2.3. Production bactérienne…….... 53
I.2.3.1. Saturation en marqueur radioactif…… 54
I.2.3.2. Spécificité du marquage…… 55
I.2.3.3. Protocole de mesure…… 56
I.2.3.4. Calcul de la production cellulaire par ^{3}H-Thymidine…… 57
I.2.3.5. Calcul de la production de biomasse par ^{3}H-Leucine…….... 57
II. Traitement et analyse des données…….... 59
II.1. Analyses graphiques……..... 59
II.1.1. Box-Plot…… 59
II.1.2. Cartographie spatio-temporelle…… 60
II.2. Analyses univariées……..... 61
II.2.1. Méthode des sommes cumulées…… 61
II.2.2. ANOVA…… 62
II.3. Analyses multiivariées……..... 62
II.3.1. Analyse en composantes principales (ACP)…… 62
II.3.2. Méthode de régionalisation à différents niveaux hiérarchiques…….... 63
II.3.2.1. Classification hiérarchique pour chaque date de prélèvement…….... 63
II.3.2.1. Identification des similarités entre stations…… 64

II.3.3. Matrice de corrélation de rang de Spearman…… 66
II.3.4. Régression linéaire multiple…… 66

CHAPITRE II – Echelle 1 : Suivi interannuel de l'écosystème Manche orientale…….. 67

I. Contexte climatique 2003 - 2004…….. 67
I.1. Températures atmosphériques…….. 67
I.2. Pluviométrie…….. 69
II. Contexte hydro-biologique…….. 70
II.1. Contexte hydrologique……..70
II.1.1. Evolution du gradient thermo-halin……70
II.1.2. Profils température / salinité……74
II.2. Typologie du développement phytoplanctonique en Manche orientale : 2003 et 2004.....76
II.2.1. Situations hivernales……76
II.2.2. Situations printanières……80
II.2.3. Situations estivales……84
III. Réponses des communautés bactériennes au bloom phytoplanctonique printanier.....88
III.1. Abondances bactériennes……88
III.1.1. Evolution temporelle……88
II.1.2. Hétérogénéité spatiale……90
III.2. Productions bactériennes……91
III.2.1. Evolution temporelle……91
III.2.2. Hétérogénéité spatiale……94
IV. Caractérisation de la variabilité interannuelle et inter-site……95
IV.1. Codage des variables et des observations…….. 95
IV.2. Résultats de l'ACP appliquée à la matrice des variables hydro-biologiques et bactériennes……97
IV.2.1. Projection sur le plan 1-2……97
IV.2.2. Projection sur le plan 1-3……100
IV.2.3. Projection sur le plan 2-3……102
V. Discussion……104
V.1. Contexte climatique 2003-2004 : deux années atypiques……104
V.2. Conséquences sur la typologie phytoplanctonique en 2003 et 2004……104
V.2.1. Variabilité inter annuelle phytoplanctonique……104
V.2.2. Variabilité spatiale des paramètres hydrologiques, chimiques et biologique (Chl-a)……109
V.3. Conséquences sur les communautés bactériennes : une variabilité induite par celle du compartiment phytoplanctonique ?.....111
V.3.1. Estimations des stocks et processus bactériens en manche orientale Comparaison avec d'autres écosystèmes soumis à P. globosa…… 111
V.3.2. Conséquences de la variabilité inter annuelle phytoplanctonique sur la dynamique bactérienne et le fonctionnement de l'écosystème planctonique.114
V.3.3. Variabilité spatiale des paramètres bactériens……116

CHAPITRE III – Echelle 2 : Suivi saisonnier sur le site de Wimereux……..119

I. Contexte climatique ……..120
II. Contexte hydro-biologique……121
II.1. Régionalisation du site de Wimereux sur la base des paramètres hydro-biologiques…….. .121
II.2. Variabilité des paramètres hydro-biologiques à l'échelle saisonnière……125
II.2.1. Conditions hydrologiques : température et salinité……125
II.2.2. Conditions chimiques : concentrations en sels nutritifs……127
II.2.3. Ressources trophiques bactériennes……128
III. Contexte bactérien……132
III.1. Régionalisation du site de Wimereux sur la base des paramètres bactériens……132
III.2. Variabilité des paramètres bactériens à l'échelle saisonnière……134
III.3. Relation entre abondance et production bactériennes……138
IV. Détermination des facteurs de contrôle de l'évolution saisonnière bactérienne……140
IV.1. Inter-dépendance entre variables……140
IV.2. Relations entre paramètres hydro-biologiques et bactériens……141
V. Discussion……143
V.1. Régionalisation du site de Wimereux : hétérogénéité spatiale côte/large……143
V.2. Contexte phytoplanctonique saisonnier et conséquences sur la dynamique bactérienne....145
V.2.1. Contexte phytoplanctonique……145
V.2.2. Conséquences sur la dynamique bactérienne……147

CHAPITRE IV – Echelle 3 : Variabilité à court terme……...155

I. Introduction…….. ……..155
II. Variabilité journalière des facteurs environnementaux : contexte climatique.....…….....157
II.1. Trajectoires de la bouée dérivante…….....157
II.2. Contexte climatique……..159
III. Variabilité journalière des paramètres hydro-biologiques…….....…….....160
III.1. Conditions hydrologiques…….....160
III.2. Conditions chimiques et biologiques..……..163
III.2.1. Concentrations en sels nutritifs……..163
III.2.2. Concentrations en Chl-a……..165
III.2.3. Activité bactérienne……..169
III.2.4. Evolution comparée des quantités de traceurs (^{3}H-Thy et ^{3}H-Leu) incorporées…….171
IV. Relations entre les processus bactériens et les conditions hydro-biologiques.....…….....172
V. Discussion…….....…….....173
V.1. Production bactérienne par incorporation de ^{3}H-Thymidine et ^{3}H-Leucine : considérations méthodologiques et implications écologiques ……..174
V.2. Dynamique journalière de l'activité bactérienne…….....175

CONCLUSIONS……...179

PARTIE III – … A L'APPLICATION D'OUTILS MICROBIENS SPECIFIQUES……185

INTRODUCTION……187

I. Problématique……..…….....187
II. Viabilité bactérienne..…….....188
II.1. Etat de l'art…….....188
II.2. Méthode LIVE/DEAD..…….....190
II.2. Méthode SYBR Green II..…….....191
III. Activités de dégradation exo-enzymatiques..…….....191
IV. Synthèse des principaux objectifs……..…….....194

CHAPITRE I – Viabilité bactérienne……...195

I. Viabilité et production bactériennes en zones côtières de la Manche orientale : Etude de cas lors d'un bloom de *Phaeocystis globosa*…….....196
II. Quelles proportions de cellules sont réellement actives ? Etude de cas lors d'une situation de post-bloom de *P. globosa*……..…….....221
II.1. Matériels et méthodes……..…….....221
II.1.1. Détermination des différentes fractions bactériennes……221
II.1.1.1. Méthode LIVE/DEAD……221
II.1.1.2. Méthode SYBR Green II……222
II.1.2. Production bactérienne……224
II.1.3. Concentration en Chl-a……224
II.1.4. Analyses statistiques……225
II.2. Résultats……..…….....226
II.2.1. Dynamique spatiale : gradient côte/large……226
II.2.2. Evolution temporelle : suivi de la dérive lagrangienne d'une masse d'eau……228
II.2.3. Comparaison des différentes fractions bactériennes……230
II.3. Discussion……..…….....233
II.3.1. Considérations méthodologiques : comptages bactériens totaux……233
II.3.2. Quels sont les rôles écologiques des cellules HNA et MEM+……236

CHAPITRE II – Activités exo-enzymatiques au cours d'une succession phytoplanctonique……...241

CONCLUSIONS……...269

CONCLUSION GENERALE……273

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES……287

INTRODUCTION GENERALE

Figure 1 : Organigramme schématisant le plan suivi dans l'écriture du manuscrit.

PARTIE I
ETAT DE L'ART

LISTE DES FIGURES

Figure I.1 : Réseaux trophiques microplanctoniques et la boucle microbienne d'après Azam *et al.* (1983) et Bianchi et Van Wambeke (1989). Les principaux transferts de matière et d'énergie entre les composants du réseau trophique planctonique sont représentés (i) en trait plein épais pour les composants spécifiques de la boucle microbienne, (ii) en trait pointillé pour la minéralisation en sels nutritifs et (iii) en trait plein fin pour les voies d'approvisionnement en matière organique dissoute (MOD)

Figure I.2 : Le réseau trophique microplanctonique, incluant les boucles microbiennes et virales, d'après Sherr et Sherr (2000), Legendre et Rivkin (2002) et Weinbauer (2004). Les principales voies de consommation de la matière organique (MO) sont figurées (i) en trait rouge pour les différents composants de la boucle microbienne et (ii) en trait plein noir pour les autres compartiments. Les traits pointillés représentent les voies d'infection virale.
Chaque maillon trophique est, en retour, source de MO (MOD et MOP) ; ces voies d'approvisionnement en MO ne sont pas représentées sur ce schéma pour plus de lisibilité.

Figure I.3 : Site d'étude Manche Orientale – Situation géographique.
Les débits moyens annuels des principaux fleuves sont indiqués (données Agence de l'Eau Artois-Picardie).

Figure I.4 : Mise en évidence du fleuve côtier et de la zone frontale du site atelier Manche orientale (d'après Brylinski *et al.*, 1991).

Figure I.5 : Structure théorique du système eaux côtières / eaux du large dans le secteur sud Pas-de-Calais (Brylinski *et al.*, 1991).

PARTIE II
DE L'APPROCHE ECOSYSTEMIQUE…

Réponses du bactérioplancton à la variabilité spatio-temporelle de l'écosystème : approche multi-échelle en Manche orientale

LISTE DES FIGURES

Figure II.1 : Site d'étude Manche orientale – Présentation des échelles spatio-temporelles d'observation (Echelles 1 à 3) : localisation des points de prélèvement pour chaque échelle spatiale et chaque échelle temporelle associée.

Figure II.2 : Localisation des stations d'échantillonnage correspondant à l'échelle 1 (inter annuelle et inter site) d'observation. **A.** Stations échantillonnées au cours des transects côte/large sur les sites de Wimereux et baie de Somme. **B.** Stations d'échantillonnage complémentaires réalisées sur l'ensemble de la zone d'étude en 2003 et 2004 (campagnes « bio-optique »).

Figure II.3 : Localisation des stations d'échantillonnage relatives à l'échelle 2 (échelle saisonnière) d'observation.

Figure II.4 : Structure schématique du système dérivant utilisé lors des suivis lagrangiens. Système mis au point par A. Sentchev (UMR 8013 ELICO).

Figure II.5 : Courbes de saturation : cinétique d'incorporation du traceur radioactif (en $pmol.L^{-1}.h^{-1}$) en fonction de la concentration en traceur ajoutée. Données acquises sur le site de Wimereux. **A.** ^{3}H-Thymidine ; **B.** ^{3}H-Leucine.

Figure II.6 : Cinétique d'incorporation du traceur radioactif (en $pmol.L^{-1}.h^{-1}$) en fonction du temps d'incubation (concentration finale pour chaque traceur de 20nM). **A.** ^{3}H-Thymidine; **B.** ^{3}H-Leucine.

Figure II.7 : Représentation schématique d'une boîte de dispersion ou Box-Plot. Les différentes valeurs caractéristiques de ce type de tracé citées dans le texte y sont figurées. Q1 = 1er quartile ; Q2 = médiane ; Q3 = 3ème quartile.

Figure II.8 : Températures atmosphériques (°C) et précipitations (mm) sur les sites de Wimereux et Somme entre janvier et décembre 2003 (gauche) et 2004 (droite ;. Données METEOFRANCE).

Figure II.9 : Distribution des températures de surface (°C, 1er mètre de profondeur) en Manche orientale au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004. Les données sont manquantes en mai 2003 en raison d'un problème technique lié à la sonde CTD.

Figure II.10 : Distribution de la salinité de surface (p.s.u., 1er mètre de profondeur) en Manche orientale au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004. De haut en bas : hiver (mars 2003 et février 2004), printemps (avril), printemps (mai 2004), été (juillet 2003 et juin 2004). Les données sont manquantes en mai 2003 en raison d'un problème technique lié à la sonde CTD.

Figure II.11 : Distribution des concentrations en nitrate (NO_3^- ; µM) en Manche orientale au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004.

Figure II.12 : Distribution des concentrations en ammonium (NH_4^+ ; µM) en Manche orientale au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004. Les données sont manquantes en juin 2004 en raison d'un problème technique lié à l'analyseur Alliance Technicon.

Figure II.13 : Distribution des concentrations en phosphates (HPO_4^{2-} ; µM) en Manche orientale au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004. Les données sont manquantes en juin 2004 en raison d'un problème technique lié à l'analyseur Alliance Technicon.

Figure II.14 : Distribution des concentrations en silicates ($Si(OH)_4$; µM) en Manche orientale au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004.

Figure II.15 : Distribution de la biomasse phytoplanctonique (teneurs en Chl-*a* ; $\mu g.L^{-1}$) en Manche orientale au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004.

Figure II.16 : Synthèse des résultats relatifs aux paramètres hydro-biologiques du suivi inter-annuel (hiver – été 2003 et 2004) sur les deux sites d'étude principaux nord et sud (Wimereux et baie de Somme).

Figure II.17 : Abondances bactériennes (x 10^6 $cell.mL^{-1}$) sur les sites de Wimereux (Wx) et de la baie de Somme (S) entre la côte et la large, sur les périodes hiver – été 2003 et 2004.

Figure II.18 : Productions bactériennes (10^4 $cell.mL^{-1}.h^{-1}$; par incorporation de ^{3}H-Thymidine) sur les sites de Wimereux (Wx) et de la baie de Somme (S) entre la côte et la large, sur les périodes hiver – été 2003 et 2004.

Figure II.19 : Analyse spatio-temporelle des observations hydro-biologiques (T, S, Chl-*a*) et bactériennes (AB, PB). Cercle des corrélations des variables (A.) et projections des observations (B.) sur le plan 1 – 2 issu de l'ACP réalisée sur les paramètres hydrologiques et bactériens [5 variables x 60 observations]. Les observations correspondant à l'année 2003 sont représentées par un triangle et celles correspondant à l'année 2004 par un cercle. Les différentes périodes échantillonnées au cours de ces deux années sont figurées par une couleur différente (bleu pour l'hiver, vert et rouge pour le printemps, jaune et orange pour l'été) sur les deux sites d'étude Wimereux (W) et baie de Somme (S ; cf. légende).

Figure II.20 : Analyse spatio-temporelle des observations hydro-biologiques (T, S, Chl-*a*) et bactériennes (AB, PB). Cercle des corrélations des variables (A.) et projections des observations (B.) sur le plan 1 – 3 issu de l'ACP réalisée sur les paramètres hydrologiques et bactériens [5 variables x 60 observations]. Les observations correspondant à l'année 2003 sont représentées par un triangle et celles correspondant à l'année 2004 par un cercle. Les différentes périodes échantillonnées au cours de ces deux années sont figurées par une couleur différente (bleu pour l'hiver, vert et rouge pour le printemps, jaune et orange pour l'été) sur les deux sites d'étude Wimereux (W) et baie de Somme (S ; cf. légende).

Figure II.21 : Analyse spatio-temporelle des observations hydro-biologiques (T, S, Chl-*a*) et bactériennes (AB, PB). Cercle des corrélations des variables (A.) et projections des observations (B.) sur le plan 2 – 3 issu de l'ACP réalisée sur les paramètres hydrologiques et bactériens [5 variables x 60 observations]. Les observations correspondant à l'année 2003 sont représentées par un triangle et celles correspondant à l'année 2004 par un cercle. Les différentes périodes échantillonnées au cours de ces deux années sont figurées par une couleur différente (bleu pour l'hiver, vert et rouge pour le printemps, jaune et orange pour l'été) sur les deux sites d'étude Wimereux (W) et baie de Somme (S ; cf. légende).

Figure II.22 : Températures atmosphériques moyennes mensuelles (°C ; courbe noire) et précipitations mensuelles totales (mm ; barres grises) au cours de l'année 2004 sur la zone de Boulogne-sur-mer (Données METEO FRANCE).

Figure II.23 : Régionalisation du site d'étude de Wimereux sur la base des paramètres hydro-biologiques. Méthode de régionalisation à 2, 3 et 4 niveaux hiérarchiques (Souissi *et al.,* 2000) appliquée à la matrice des paramètres hydro-biologiques du suivi saisonnier sur Wimereux (février – octobre 2004) [7 variables x 64 observations]. Litt. = zone littorale ; Côte = zone côtière ; Front = zone intermédiaire contenant la zone frontale ; Large = zone du large.

Figure II.24 : Evolution temporelle (février – octobre 2004) des paramètres hydrologiques sur les 4 zones caractéristiques du site de Wimereux. **A.** Température, °C ; **B.** Salinité.
Les barres d'erreur en zone frontale (triangles verts) correspondent aux écart-types des valeurs acquises sur les stations W2, W3 et W4.

Figure II.25 : Evolution temporelle (février 2004 – octobre 2004) des paramètres chimiques sur les 4 zones caractéristiques du site de Wimereux (de haut en bas : Nitrates NO_3^-, µM ; Silicates $Si(OH)_4$, µM ; Phosphates, HPO_4^{2-}, µM). Prtps = printemps ; Aut. = automne.

Figure II.26 : Evolution temporelle (février – octobre 2004) des concentrations en chlorophylle *a* (Chl-*a*, $\mu g.L^{-1}$) et en carbone organique dissous (COD, µM) sur les 4 zones caractéristiques du site de Wimereux. Prtps = printemps ; Aut. = automne.

Figure II.27 : Régionalisation du site d'étude de Wimereux sur la base des paramètres bactériens (abondance et production bactériennes). Méthode de régionalisation à 2, 3 et 4 niveaux hiérarchiques (Souissi *et al.,* 2000) appliquée à la matrice des paramètres hydro-biologiques du suivi saisonnier sur Wimereux (février – octobre 2004) [2 variables x 64 observations]. Litt. = zone littorale ; Côte = zone côtière ; Front = zone intermédiaire contenant la zone frontale ; Large = zone du large.

Figure II.28 : Evolution temporelle (février 2004 – juin 2004) des paramètres bactériens sur les 4 zones caractéristiques du site de Wimereux (de haut en bas : AB = abondance bactérienne, 10^6 cell.mL^{-1} ; PB = production bactérienne, 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1}). Prtps = printemps ; Aut. = automne.

Figure II.29 : Régression linéaire entre abondance (variable dépendante, AB) et production bactériennes (variable indépendante, PB). Pour chaque régression (toutes saisons confondues, trait pointillé ; printemps, trait plein) sont indiqués : (i) l'équation de la droite de régression, (ii) le coefficient de détermination (R^2) , (iii) la probabilité p et (iv) le nombre de données (n) impliquées dans la régression.

Figure II.30 : Trajectoires de la bouée dérivante au cours des suivis lagrangiens des 11 mai et 07 juillet 2003 (gauche), et des 16 février et 19 juin 2004 (droite). Les trajectoires et les cartes ont été réalisées par A. Sentchev.

Figure II.31 : Vitesse (m.s^{-1}) et direction horaires du vent (° / 360°) au cours des suivis lagrangiens. **A.** 2003 ; **B.** 2004.

Figure II.32 : Diagrammes Température – Salinité à partir des données mesurées sur le premier mètre de profondeur de la colonne d'eau, obtenus au cours des différents suivis lagrangiens en 2003 et 2004. **A.** 17.03.03 ; **B.** 11.05.03 ; **C.** 20.04.04 ; **D.** 19.06.04. (Certains suivis sont manquants ici en raison de problèmes techniques liés à la sonde CTD).

Figure II.33 : Représentation des sommes cumulées relatives aux paramètres hydrologiques (température, °C ; salinité) pour les différents suivis de masse d'eau. **A.** 17.03.03 ; **B.** 11.05.03; **C.** 20.04.04; **D.** 19.06.04.

Figure II.34 Suivi journalier des concentrations en sels nutritifs (Nitrates, NO_3^-, µM ; Silicates, $Si(OH)_4$, µM ; Phosphates, HPO_4^{2-}) exprimées par rapport à leur moyenne journalière, à différentes situations caractéristiques du bloom printanier en 2003 (gauche) et en hiver 2004 (droite).

Figure II.35 : Concentrations en chlorophylle *a* (Chl-*a*, µg.L^{-1}) et dynamique du bloom phytoplanctonique associée au cours des suivis lagrangiens en 2003 et 2004.

Figure II.36 : Suivi journalier des concentrations en Chl-*a* (µg.L^{-1}), exprimées par rapport à leur moyenne journalière, au cours des différentes situations caractéristiques du bloom printanier en 2003 (gauche) et 2004 (droite).

Figure II.37 : Suivi journalier de la production bactérienne (en taux d'incorporation du traceur radioactif ^{3}H-Thymidine, pmol ^{3}H-Thy .L^{-1}.h^{-1}, et ^{3}H-Leucine, pmol ^{3}H-Leu .L^{-1}.h^{-1}) exprimée par rapport à la moyenne journalière au cours des différentes situations caractéristiques du bloom printanier en 2003 (gauche) et en 2004 (droite). La production par incorporation de ^{3}H-Leucine n'a pas été estimée le 16.02.04 en raison de problèmes techniques.

Figure II.38 : Box-Plot du ratio Leucine / Thymidine à différents moments de la journée (d'après Gasol *et al.,* 1998); données acquises en 2003 (**A**) et 2004 (**B**); sites de Wimereux et baie de Somme confondus.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau II.1 : **A.** Calendrier des campagnes de prélèvements suivies sur les différentes stations des deux sites d'étude (W pour les stations du site de Wimereux et S pour celles de la baie de Somme) entre mars 2003 et juin 2004 (Echelle 1). **B.** Conditions de marée lors des différentes campagnes relatives à l'échelle 1. MM : marée moyenne ; ME : mortes eaux ; VE : vives eaux ; F : flot ; J : jusant (d'après les données du SHOM).

Tableau II.2 : Calendrier des campagnes d'échantillonnage suivies depuis la côte vers le large sur le site de Wimereux en 2004 (Echelle 2). MM : marée moyenne ; ME : mortes-eaux ; VE : vives-eaux ; F : flot ; J : jusant.

Tableau II.3 : Calendrier des campagnes de prélèvements suivies sur le site de Wimereux sur une échelle d'observation journalière (Echelle 3). Les temps indiqués correspondent à : durée des campagnes journalières / fréquence d'échantillonnage. MM : marées moyennes ; ME : mortes eaux ; VE : vives eaux.

Tableau II.4 : Moyennes saisonnières (correspondant aux différentes périodes de l'échantillonnage relatives à l'échelle 1), écart-type saisonniers et étendue [minimum – maximum] des températures atmosphériques (°C) et des précipitations (journalières $mm.j^{-1}$ et totales, mm) sur les sites de Wimereux et de la baie de Somme en 2003 et 2004. (Données METEOFRANCE).

Tableau II.5 : Distribution des températures (°C) et des salinités des eaux de surface (sur le 1^{er} mètre de profondeur) sur les radiales de Wimereux et de Somme au cours des campagnes des 12 et 13 mai 2003.

Tableau II.6 : Abondances bactériennes (AB x 10^6 $cell.mL^{-1}$) observées depuis la côte vers le large sur les sites de Wimereux (Wx) et de la baie de Somme (S) en 2003 et 2004.

Tableau II.7 : Productions bactériennes (PB x 10^4 $cell.mL^{-1}.h^{-1}$) observées depuis la côte vers le large sur les sites de Wimereux (Wx) et de la baie de Somme (S) en 2003 et 2004.

Tableau II.8 : Liste des abréviations utilisées relatives aux variables hydro-biologiques et bactériennes présentées dans le cadre des graphiques de l'analyse en composantes principales.

Tableau II.9 : Comparaison des périodes de biomasses phytoplanctoniques maximales observées en Manche orientale et en Mer du Nord, zones côtières soumises à des blooms récurrents de *P. globosa*.

Tableau II.10 : Comparaison des concentrations en sels nutritifs (µM) en Manche orientale et Mer du Nord, mesurés avant et après l'efflorescence de *P. globosa*.

Tableau II.11 : Gamme de variation ou valeurs maximales (max.) (i) de l'abondance bactérienne (AB), (ii) de la production bactérienne (PB) et (iii) de la biomasse phytoplanctonique (Chl-*a*) dans différents écosystèmes soumis à des blooms de *Phaeocystis sp.* (données en eaux de surface).

Tableau II.12 : Moyennes saisonnières et écart-types des paramètres environnementaux mesurés au cours du suivi saisonnier (février – octobre 2004) dans les différentes zones du site de Wimereux. **A. Contexte hydrologique** (T, température ; S, Salinité) ; **B. Conditions chimiques** (NO_3^-, nitrates ; $Si(OH)_4$, silicates ; HPO_4^{2-}, phosphates) **C. Contexte biologique** (Chl-*a*, chlorophylle *a* ; COD, Carbone organique dissous).

Tableau II.13 : Moyennes saisonnières et écart-types des paramètres bactériens mesurés au cours du suivi saisonnier (février – octobre 2004) dans les différentes zones du site de Wimereux. PB = production bactérienne, 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} ; AB = abondance bactérienne, 10^6 cell.mL^{-1} ; Bμ = activité cellulaire spécifique, soit PB/AB, h^{-1}.

Tableau II.14 : Coefficients de corrélation de Spearman (ρ) entre les paramètres bactériens et hydro-biologiques sur l'ensemble des données acquises en 2004. Les abréviations utilisées ici se réfèrent à celles utilisées dans le chapitre. Le nombre de d'échantillons n varie, suivant les relations considérées, entre 21 et 64.

Tableau II.15 : Analyse par régression multiple pas-à-pas ascendante des paramètres bactériens (AB, 10^6 cell.mL^{-1} ; PB, 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} ; variables dépendantes) et hydro-biologiques (Chl-*a*, μg.L^{-1} ; COD, μM ; T, °C ; S ; NO_3^-, μM ; $Si(OH)_4$, μM ; HPO_4^{2-}, μM). Seules les variables explicatives de la variable dépendante sont présentées, avec leur ordre d'insertion dans la régression pas-à-pas, et le R^2 intermédiaire associé à chaque nouvelle insertion. Les coefficients de détermination R^2 sont les coefficients ajustés.

Tableau II.16 : Moyennes journalières et valeurs extrêmes (minimum – maximum) des principaux paramètres climatiques (hauteur des précipitations, mm ; vitesse du vent, m.s^{-1} ; rayonnement solaire, μmol photon.m^{-2}.s^{-1}) mesurés au cours des suivis lagrangiens.

Tableau II.17 : Valeurs minimales (Min.) et maximales (Max.) et coefficient de variation journalier associé (CV, %) aux concentrations en nitrates (NO_3^-, μM), silicates [$Si(OH)_4$, μM) et phosphates (HPO_4^{2-}, μM) sur les différents suivis lagrangiens de 2003 et 2004 réalisés sur le site de Wimereux. *Remarque : le nombre d'échantillons varie entre 7 et 11. Les valeurs manquantes ne correspondent pas à une absence de prélèvements, mais à un problème technique.*

Tableau II.18 : Valeurs minimales (Min.) et maximales (Max.) et coefficients de variation journaliers associés (CV, %) des concentrations en chlorophylle *a* (Chl-*a*, μg.L^{-1}) sur les différents suivis lagrangiens en 2003 et 2004 sur le site de Wimereux. *Remarque : le nombre d'échantillons varie entre 3 et 11*

Tableau II.19 : Valeurs minimales (Min.) et maximales (Max.) des productions bactériennes exprimées en taux d'incorporation de traceur (IT, pmol ^{3}H-Thy.L^{-1}.h^{-1} ; IL, pmol ^{3}H-Leu L^{-1}.h^{-1}) et coefficients de variation journaliers associés (CV, %) sur les différents suivis lagrangiens en 2003 et 2004 sur le site de Wimereux.

PARTIE III
… A L'APPLICATION D'OUTILS MICROBIENS SPECIFIQUES

Couplage bactéries / phytoplancton (*P. globosa*) : Evolution de la viabilité bactérienne et des activités exo-enzymatiques

LISTE DES FIGURES

Figure III.1 : Représentation schématique des différentes fractions cellulaires mesurées en fonction des méthodes de marquage utilisées. Les proportions représentées ici pour chaque fraction n'est qu'indicative, et peut varier dans le temps et l'espace.

Figure III.2 : Modèle conceptuel des processus d'utilisation de la matière organique par une cellule bactérienne (d'après Billen *et al.,* 1990a) et régulations de la synthèse d'enzymes et de leur activité hydrolytique (d'après Chròst, 1991). Les textes en rouge concernent les analyses biologiques exploitées dans cette étude (PB, Production Bactérienne).

Figure III.3 : Cytogrammes représentant la fluorescence verte (GR-FL) en fonction du signal RT-SC (diffusion à angle droit).

Figure III.4 : Evolution spatiale des différentes fractions bactériennes (abondance, AB, 10^6 cell.mL^{-1}) mesurées sur une radiale côte (R0 ou R1) /large (R5) à Wimereux et en baie de Somme. **A & B** : abondances en HNA, LNA, et totales en cytométrie en flux, à Wimereux (A) et en Somme (B) ; **C & D** : abondances en MEM+ et DAPI en microscopie à épifluorescence, à Wimereux (C) et en Somme (D). Notez la différence d'échelle entre les comptages faits en microscopie (C & D) et les estimations réalisées en cytométrie (A & B). Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types.

Figure III.5 : Evolution spatiale des productions bactériennes (PB, 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1}) et des concentrations en chlorophylle *a* (Chl-*a*, mg.m^{-3}) mesurées sur une radiale côte (R0 ou R1) / large (R5). **A.** Wimereux ; **B.** baie de Somme. Les barres d'erreur correspondent aux écart-types mesurés sur les productions bactériennes.

Figure III.6 : Evolution journalière des différentes fractions bactériennes (abondance, AB, 10^6 cell.mL^{-1}) mesurées au cours d'une dérive de masse d'eau à Wimereux et en baie de Somme. **A & B** : abondances en HNA, LNA, et totales en cytométrie en flux, à Wimereux (A) et en Somme (B) ; **C & D** : abondances en MEM+ et DAPI en microscopie à épifluorescence, à Wimereux (C) et en Somme (D). Notez la différence d'échelle entre les comptages faits en microscopie (C & D) et les estimations réalisées en cytométrie (A & B). Les barres d'erreur correspondent aux écart-types.

Figure III.7 : Evolution des productions bactériennes (PB, 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1}) et des concentrations en chlorophylle *a* (mg.m^{-3}) au cours d'une dérive de masse d'eau à Wimereux (figurés pleins) et en baie de Somme (figurés vides). Les barres d'erreur correspondent aux écart-types mesurés sur les productions bactériennes.

Figure III.8 : Corrélations entre les abondances des différentes sous populations bactériennes, déterminées par microscopie et cytométrie, sur les dérives (losanges) et les radiales (carrés), sites de Wimereux et Somme confondus. **A.** MEM+ / HNA ; **B.** MEM+ / LNA ; **C.** DAPI / Totales déterminées par cytométrie (HNA + LNA). Les équations des droites de corrélation et les coefficients de corrélation sont indiquées sur chaque graphe. Les abondances de chaque fraction bactérienne sont log-transformées.

Figure III.9 : Régression linéaire entre l'abondance des différentes fractions bactériennes (variable dépendante, AB) et la production bactérienne (variable indépendante, PB). **A.** Cytométrie ; **B.** Microscopie. Les équations des droites de régression sont données sur le graphe.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau III.1 : Proportions moyennes des fractions HNA et MEM+ à Wimereux et en baie de Somme, en juin 2004, sur les dérives et les radiales côte / large.

Tableau III.2 : Pentes des droites de corrélation (MEM+/HNA ; MEM+/LNA ; DAPI/Totales) obtenues à partir des données log-transformées (d'après Gasol *et al.,* 1998) et coefficients de corrélation associés.

INTRODUCTION GENERALE

« Quant aux infusoires, quant à ces milliards d'animalcules, qui existent par millions dans une gouttelette, et dont il faut huit cent mille pour peser un milligramme, leur rôle n'est pas moins important. Ils absorbent les sels marins, ils s'assimilent les éléments solides de l'eau, et, véritables faiseurs de continents calcaires, ils fabriquent des coraux et des madrépores ! Et alors la goutte d'eau, privée de son aliment minéral, s'allège, remonte à la surface, y absorbe les sels abandonnés par l'évaporation, s'alourdit, redescend et rapporte aux animalcules de nouveaux éléments à absorber. De là, un double courant, ascendant et descendant, et toujours le mouvement, toujours la vie ! La vie, plus intense que sur les continents, plus exubérante, plus infinie, s'épanouissant dans toutes les parties de cet océan, élément de mort pour l'homme, a-t-on dit, élément de vie pour des myriades d'animaux, - et pour moi ! »

Vingt mille lieues sous les mers – Jules Verne - 1869

INTRODUCTION GENERALE

Les zones côtières sont des zones d'interface et d'échanges privilégiés entre le continent et l'océan ouvert, et constituent des sites géochimiquement très actifs et biologiquement très productifs ((Day *et al.*, 1989 ; McLusky, 1989). Leur rôle dans le cycle global du carbone (source et puits de carbone) et de la matière organique a fait l'objet de nombreuses études (Antia *et al.*, 1980 ; Lee et Wakeham, 1992 et références citées; Middelboe *et al.*, 1998 ; Mannino et Harvey, 2000 ; Thomas, 2003) et souligne l'importance de ces écosystèmes dans la production océanique mondiale.

La conservation et la gestion durable de ces écosystèmes côtiers exploités, soumis de ce fait à une forte pression anthropique sont une nécessité absolue. Elles requièrent en amont (i) l'étude *in situ* des compartiments qui les composent, et (ii) la caractérisation fine des liens trophiques qui peuvent s'établir entre ces compartiments, ceci afin de déterminer le devenir de la matière et de l'énergie qui transitent dans ces environnements (Alongi, 1998).

Au sein des écosystèmes côtiers, le rôle et l'importance du compartiment microbien, mieux appréhendés depuis maintenant une trentaine d'années, s'avèrent déterminants dans les mécanismes de régulation des flux de matière et d'énergie. De par leurs activités de reminéralisation et de dégradation, les bactéries jouent un rôle clef au sein du « réseau trophique microbien » plus ou moins complexe (Rasoulzadégan *et al*., 1993) communément appelé « boucle microbienne » (Azam *et al*., 1983). En effet, en tant que principal consommateur du Carbone Organique Dissous (COD ; Cole *et al.*, 1988), le bactérioplancton assure (i) la reminéralisation du COD et (ii) la transformation des matières organiques dissoutes et particulaires en biomasse carbonée, utilisable par le réseau trophique planctonique.

La Manche orientale, qui a constitué le site d'étude de mon travail, représente un écosystème côtier privilégié de par ses particularités hydrologiques et biologiques. En effet, la localisation géographique de la Manche orientale en fait avant tout une zone de transition (Brylinski *et al.*, 1991 ; Salomon et Breton, 1993) et d'interfaces (Brylinski et Lagadeuc, 1990 ; Lagadeuc *et al.*, 1997) supportant de fortes productions autochtones et permettant une exportation de matière non négligeable.

Par ailleurs, la Manche orientale est aussi le site de proliférations phytoplanctoniques printanières récurrentes, en particulier celles de *Phaeocystis globosa*[1] (Brylinski *et al.*, 1984 ; Brunet *et al.,* 1992 ; Brunet *et al.,* 1996 ; Hoch et Garreau, 1998 ; Breton *et al.,* 2000). Cette Prymnésiophycée présente un cycle de vie polymorphe, où se succèdent un stade de cellules flagellées solitaires et un stade colonial (van Boekel, 1992 ; Rousseau *et al.,* 1994 ; Peperzack, 1998 ; Whipple *et al.,* 2005), qui correspond à des milliers de cellules incorporées dans une matrice muqueuse polysaccharidique (Lancelot et Rousseau, 1994 ; Thingstad et Billen, 1994). Cette espèce est également connue pour atteindre des niveaux d'abondance et de biomasse très élevés dominant la communauté algale printanière (Rousseau *et al.,* 2000 ; Schapira, 2005 ; Seuront *et al*., 2006). Ces proliférations exceptionnelles peuvent être nuisibles[2] et revêtent des conséquences socio-économiques importantes en particulier en termes de pêche et de tourisme local : l'abondante mousse de *P. globosa* est très odorante, et se dépose en quantité non négligeable dans les filets de pêche et sur les plages.

Des études antérieures ont montré que l'effondrement de ce bloom pouvait être très soudain, et principalement dû à la lyse cellulaire (van Boeckel *et al*., 1992 ; Brussaard *et al*., 2005a) d'origine virale (Brussaard *et al*., 2004), plutôt qu'au broutage zooplanctonique (Joiris *et al.*, 1982 ; Gasparini *et al.*, 2000 ; Verity, 2000). Par conséquent, la biomasse algale serait efficacement transformée en matériel dissous et colloïdal, disponible pour les procaryotes hétérotrophes, en particulier les bactéries (Brussaard *et al*., 2005b) et pour les protozoaires flagellés et ciliés (Stelfox-Widdicombe *et al*., 2004). Le transfert direct entre la biomasse phytoplanctonique et les niveaux trophiques supérieurs est alors réduit. Ces spécificités favorisent le développement d'une boucle microbienne particulièrement active (Becquevort *et al*., 1998 ; Stelfox-Widdicombe *et al.*, 2004).

Le site de la Manche orientale a été bien investi en termes de recherches sur les composantes phytoplanctoniques (Brunet *et al.,* 1996; Lizon *et al.,* 1998 ; Gentilhomme et Lizon, 1998 ; Breton *et al*., 2000 ; Lizon, 2002 ; Vantrepotte, 2002 ; Brunet et Lizon, 2003 ; Seuront *et al.,* 2005) et zooplanctoniques (Brylinski *et al.,* 1988 ; Breton *et al.,* 1999; Cotonnec *et al.,* 2001, 2003 ; Devreker *et al.,* 2005) en relation avec l'hydrodynamisme (Brylinski et Lagadeuc, 1990; Brylinski *et al.,* 1991 ; Salomon et Breton, 1993 ; Lagadeuc *et al.,* 1997) et les conditions climatiques (Seuront et Souissi, 2002). En revanche, les études du

[1] Le terme *P. globosa* se référera dans la suite du manuscrit à *Phaeocystis globosa* identifiée par M.J. Chretiennot Dinet et V. Rousseau – Chantier PNEC Manche Orientale.

[2] Les blooms de *Phaeocystis globosa* sont classés, dans la littérature anglo-saxonne, parmi les « Harmful Algal Blooms » (HAB) c'est-à-dire « les blooms algaux nocifs » (Veldhuis et Wassman, 2005 et références citées).

compartiment bactérien n'ont démarré que très récemment (Lamy *et al., sous presse*), si l'on excepte les premiers travaux de Maillard-Quisthoudt (1988) au niveau du détroit du Pas de Calais.

Ainsi, il s'est avéré nécessaire de compléter les recherches sur le compartiment bactérien de la Manche orientale,

- (i) en réexaminant la dynamique des stocks bactériens du milieu, par la distinction des stocks de bactéries totales tels que mesurés jusqu'à présent sur le site, et ceux de bactéries vivantes, afin d'obtenir une estimation de la biomasse bactérienne potentiellement active,

- mais surtout (ii) en appliquant des mesures de processus bactériens (production de cellules et de matière bactériennes, activités enzymatiques), qui n'avaient jusqu'alors jamais été réalisées en Manche orientale. Ces mesures permettront d'appréhender l'importance de ce compartiment dans le système Manche orientale, et en particulier dans la dégradation des produits issus des blooms phytoplanctoniques (*P. globosa*).

Les objectifs principaux de ce travail sont de répondre à **deux questions principales** :

1. Quelle est la réponse du bactérioplancton à la variabilité spatio-temporelle de l'écosystème ?

L'écosystème pélagique côtier de la Manche orientale est par nature très variable, en raison des fluctuations spatio-temporelles importantes de ses caractéristiques physiques, chimiques et biologiques. Il s'agit alors (i) de quantifier les stocks et les processus bactériens du milieu, (ii) d'étudier leur variabilité à différentes échelles spatio-temporelles d'observation et (iii) de déterminer les facteurs environnementaux susceptibles de contrôler cette variabilité. Pour répondre à ces objectifs, des mesures *in situ* ont été réalisées entre 2003 et 2004 sur deux sites contrastés, situés aux limites nord et sud de notre zone d'étude :

– la baie de Somme, à l'origine du système[3] biologique du fleuve côtier,

– le site de Wimereux, situé au sud du détroit du Pas de Calais.

2. Quel est le rôle trophique du bactérioplancton au sein de l'écosystème ?

Si l'environnement agit sur le compartiment bactérien, celui-ci agit en retour et participe pleinement au fonctionnement de l'écosystème. Il apparaît alors nécessaire d'étudier le rôle

[3] Le terme *système biologique* désigne la séparation, au niveau de la baie de Somme, des deux provinces biologiques de la Manche orientale décrites par Brunet *et al.* (1996) et Brylinski *et al.* (1996).

du compartiment bactérien au sein des réseaux trophiques pélagiques par une analyse fine à la fois des stocks et des processus, et plus particulièrement d'étudier les mécanismes intervenant dans la relation bactérioplancton/phytoplancton. Deux questions se posent alors à ce niveau :

a. *Quelle est la fraction des stocks bactériens réellement responsable des processus bactériens mesurés ?*

Les méthodes dites « classiques » de comptages bactériens (*e.g.* coloration par le DAPI, Porter et Feig, 1980) sont appliquées dans les études les plus récentes et dans des environnements variés. Cependant, elles ne donnent qu'une estimation des abondances bactériennes totales. Ces mesures prennent alors en compte les cellules actives et celles potentiellement actives (cellules vivantes) mais aussi une grande proportion de cellules mortes (Zweifel et Hagström, 1995), en dormance et/ou en état de survie (Choi *et al.*, 1996). Il apparaît donc important de quantifier la fraction cellulaire bactérienne participant réellement aux processus bactériens mesurés. Parmi l'ensemble des méthodes disponibles, deux méthodes de coloration des cellules bactériennes appliquées en microscopie à épifluorescence et en cytométrie en flux ont été les outils développés pour évaluer cette fraction du pool bactérien.

b. *Quelles sont les relations trophiques entre bactérioplancton et phytoplancton, et plus particulièrement entre bactérioplancton et P. globosa ?*

La question est alors de déterminer comment les populations bactériennes réagissent au bloom de *P. globosa*, et quelles sont les conséquences pour l'écosystème. Plus particulièrement, il s'agit de savoir si les bactéries participent à la restauration de l'écosystème après ces blooms massifs, par dégradation de la matière organique d'origine phytoplanctonique accumulée. L'application d'outils de mesures de l'activité de dégradation bactérienne de la matière, notamment celle issue de la matrice coloniale de *P. globosa*, a permis d'estimer la réponse bactérienne au bloom de cette Prymnésiophycée.

Le manuscrit s'organise en fonction de ces questions clés, et comporte **3 parties** (Figure 1).

La **partie I** est consacrée à un **« état de l'art »** précisant la place et l'importance du compartiment bactérien dans les écosystèmes côtiers (**chapitre 1**), et présentant le site atelier Manche orientale (**chapitre 2**).

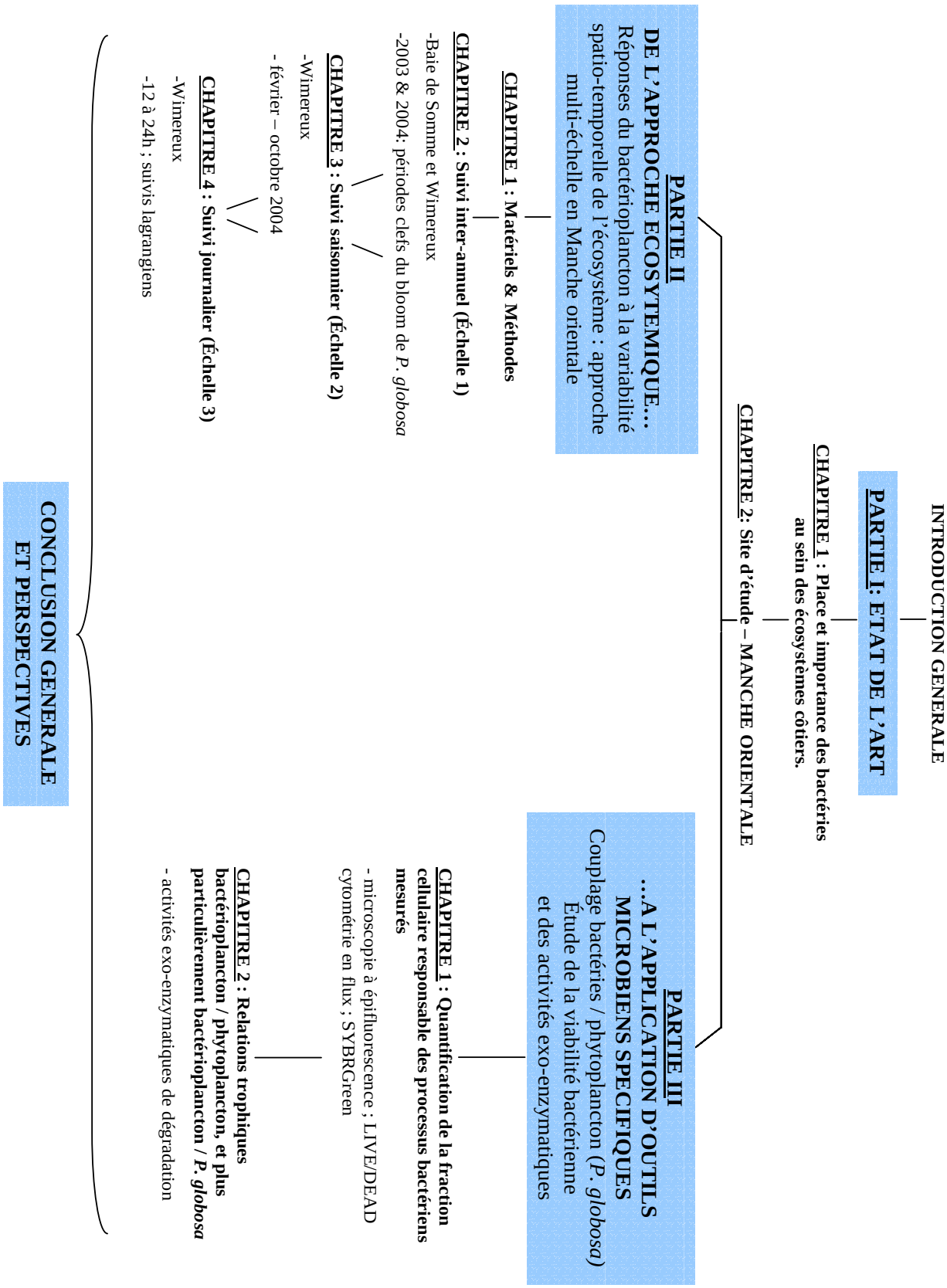


Figure 1 : Organigramme schématisant le plan suivi dans l'écriture du manuscrit.

Le manuscrit s'organise ensuite depuis une approche écosystémique[4] de la Manche orientale (**partie II**), à l'application d'outils microbiens spécifiques (**partie III**) permettant de définir le rôle du bactérioplancton au sein de l'écosystème Manche orientale.

La **partie II** présente les réponses du bactérioplancton à la variabilité spatio-temporelle de l'écosystème Manche orientale, selon une approche multi-échelle.
Dans le **chapitre 1** sont présentées les différentes méthodes d'étude et d'analyse appliquées (acquisition et traitement des données).
Le **chapitre 2** développe les résultats de l'étude menée à l'échelle de l'écosystème Manche orientale au cours de deux années consécutives (échelle inter annuelle ; Echelle 1). Plus précisément, ce chapitre compare l'évolution inter annuelle du compartiment bactérien au cours des périodes qui précèdent, accompagnent et suivent le bloom de *P. globosa* sur deux années consécutives (2003 et 2004). Les sites de Wimereux et de la baie de Somme, suivis depuis la côte vers le large, constituent les deux sites principaux de l'étude, permettant une comparaison inter site de la variabilité bactérienne. Si cette première approche globalisée nous a permis de définir le contexte hydrologique de la dynamique bactérienne en Manche orientale et d'appréhender l'importance des stocks (abondances bactériennes) et des processus bactériens (productions bactériennes), il s'est avéré nécessaire de travailler à échelle plus fine.
Ainsi, l'évolution du compartiment bactérien à l'échelle saisonnière (Echelle 2) est présentée dans le **chapitre 3**. Le site de Wimereux est choisi comme site atelier, selon une radiale représentative d'un gradient côte/large marqué.
Nous avons alors cherché à nous affranchir de cette variabilité spatiale marquée, dans le **chapitre 4**, par l'étude de la dynamique bactérienne au cours de suivis lagrangiens. Ce chapitre rend compte de la variabilité des populations bactériennes à l'échelle journalière (Echelle 3), au cours de suivis de dérive de la masse d'eau sur le site de Wimereux, pendant 12 à 24h.

[4] Le terme *approche écosystémique* désigne la théorie des écosystèmes développée par Frontier et Leprêtre (1998). Cette démarche d'analyse d'un écosystème rend compte (i) des interactions entre les différents systèmes qui le constituent, (ii) des dynamiques qui lui sont inhérentes, (iii) de son cadre spatio-temporel, (iv) de son organisation hiérarchique et ses niveaux d'intégration, (v) de ses interactions physique-biologie, (vi) de son évolution et (vii) de ses relations avec d'autres écosystèmes.

La **partie III** est consacrée au rôle du bactérioplancton au sein de l'écosystème Manche orientale.

Le **chapitre 1** porte sur la quantification de la fraction cellulaire participant réellement aux processus bactériens mesurés. Deux outils ont été utilisés dans ce cadre :

– la microscopie à épifluorescence, après coloration des cellules bactériennes au LIVE/DEAD® BacLight™ (Decamp et Rajendran, 1998). Cette méthode permet de distinguer les cellules viables des cellules mortes sur la base de leur intégrité membranaire, reconnue comme l'un des principaux critères de viabilité (Joux and Lebaron, 2000 ; Grégori *et al.,* 2001, 2003) ;

– la cytométrie en flux, après coloration des cellules bactériennes au SYBRGreen® II (Marie *et al.,* 1997). Cette méthode permet de distinguer les cellules les plus actives au sein des populations bactériennes sur la base de leur contenu en acides nucléiques (Gasol *et al.,* 1999 ; Lebaron *et al.,* 2001, 2002).

Les résultats relatifs à la méthode LIVE/DEAD® sont présentés sous forme d'un article accepté au *Journal of Sea Research* (Lamy *et al., sous presse*).

Le **chapitre 2** examine les relations trophiques entre bactérioplancton et phytoplancton, et plus particulièrement entre bactérioplancton et *P. globosa*. L'application d'outils de mesures de l'activité de dégradation bactérienne de la matière (activités exo-enzymatiques), notamment celle issue de la matrice coloniale de *P. globosa*, donne une estimation de la réponse bactérienne au bloom de cette Prymnésiophycée. Les résultats de cette étude sont présentés sous forme d'un article à soumettre au *Journal of Plankton Research*.

Ce travail a été réalisé dans le cadre de deux programmes de recherche :

- CPER (2001 – 2004) : Ecosystèmes perturbés du littoral : bloom de *Phaeocystis,*
- PNEC (2002 – 2006) : Chantier Manche orientale et Sud Mer du Nord,

à bord des N.O. « Sepia II » et « Côtes de la Manche » de l'INSU.

Par ailleurs, ce travail a été soutenu par la région Nord – Pas de Calais et l'Agence de l'Eau Artois-Picardie (Contrat n° 43709, « Etude sur l'importance du compartiment microbien dans la régulation des effets de l'eutrophisation en Manche orientale et des blooms de *Phaeocystis* en particulier »).

Partie I

ETAT DE L’ART

CHAPITRE I

Les écosystèmes marins côtiers : importance des bactéries

I. Importance des écosystèmes côtiers marins

Les zones côtières sont des systèmes complexes situés en amont de la rupture du plateau continental, et de profondeur < 200 m. Elles constituent des zones d'interface et d'échanges privilégiés entre le continent et l'océan ouvert, géochimiquement très actives et biologiquement très productives (Day *et al.*, 1989 ; McLusky, 1989). Elles contribuent significativement à la production primaire océanique nette totale (jusqu'à 30%), concentrent près de 90% des activités de pêche mondiale (Holligan et Reiners, 1992) et produisent 1/4 à 1/3 du carbone organique marin (Mann, 1982) alors qu'elles ne représentent que 8 et 0,5% de la surface et du volume océaniques mondiaux, respectivement (Alongi, 1998).

L'océan côtier jouant le rôle de récepteur de « matière continentale », sa forte productivité résulte à la fois (i) des apports continentaux massifs en matière organique et en nutriments (Conley, 2000), et (ii) de phénomènes d'upwelling (Gonzáles *et al.*, 2004) et/ou de diffusion (Middelboe *et al.*, 1998). Enfin, la turbulence associée à la faible profondeur des zones côtières entraîne une remontée des sels nutritifs en surface favorisant ainsi la production primaire (Eyre, 1994). De par leur localisation à l'interface continent/océan, le fonctionnement et la structure des zones côtières sont soumis à de fortes contraintes physico-chimiques (marées, apports d'eau douce, turbidité, courants, influences anthropiques) qui en font des zones particulièrement sensibles à la pollution (organique ou minérale) et aux phénomènes d'eutrophisation (Cloern, 2001 ; McManus *et al.*, 2004). Ces forçages physiques et chimiques peuvent revêtir une grande variabilité spatio-temporelle et influencer fortement celle des paramètres environnementaux (Gentilhomme et Lizon, 1998 ; Laprise et Dodson, 1994 ; Siokou-Frangou *et al.*, 1998 ; Vincent *et al.*, 2002) et biologiques (Lee et Furhman, 1991 ; Brylinski *et al.*, 1996; Pinhassi *et al.*, 1997 ; Middelboe et Lundsgaard, 2003 ; McManus *et al.*, 2004).

La conservation et la gestion durable de ces milieux productifs et sensibles sont donc indispensables. Elles passent par (i) l'étude de leur structure intrinsèque (étude des compartiments constitutifs) et (ii) la caractérisation de leur fonctionnement (liens trophiques

qui existent entre ces compartiments ; Alongi, 1998). Parmi les compartiments des systèmes côtiers, les bactéries sont apparues comme un compartiment clef, particulièrement déterminant dans les mécanismes de régulation des flux de matière et d'énergie.

II. Place et rôle des bactéries dans les écosystèmes côtiers

II.1. Evolution conceptuelle de l'importance du compartiment bactérien

Avant le milieu des années 70, le seul composant microbien des réseaux trophiques pélagiques pris principalement en considération était le « net phytoplankton » (*sensu* Steele, 1974). Ce terme désignait alors l'ensemble des cellules algales dominé taxonomiquement par des diatomées centriques et des dinoflagellés pouvant être collectés par le filet à plancton de maille la plus fine (~ 200 µm). Ainsi, les réseaux trophiques pélagiques, de structure pyramidale (Ryther, 1969), pouvaient être schématisés par une chaîne herbivore dominante (Billen *et al.,* 1990a) s'étendant de « larges » producteurs primaires jusqu'au zooplancton herbivore, lui-même consommé par des prédateurs de taille croissante. Les bactéries hétérotrophes ne jouaient alors qu'un rôle de « décomposeur » de matière, constituant simplement une source de nutrition pour les organismes benthiques (Steele, 1974). De plus, les mesures d'abondance réalisées à cette période par culture sur milieu solide (*e.g.* gélose nutritive ou agar-agar, Zobell, 1946) ne donnaient pas d'estimations quantitativement fiables (Billen *et al.* 1990a et références citées), dès lors qu'elle ne prenaient pas en compte les cellules viables (et plus précisément actives) non « cultivables » (« viable but non-culturable cells », VNC cells ; Roszak *et al.*, 1984 ; « active but non-culturable cells », ANC cells, Barer et Harwood, 1999).

Après les années 70, l'utilisation de nouvelles technologies, principalement basées sur le développement de la microscopie en épifluorescence mais aussi sur l'emploi de techniques de fixation et coloration bactériennes (Acridine Orange, Francisco *et al.,* 1973 ; Daley et Hobbie, 1975 ; 4'-6-diamino-2-phenylindole, DAPI, Porter et Feig, 1980), a considérablement modifié le regard porté sur le compartiment bactérien, et plus généralement sur les microbes. Toutefois, si le dénombrement total des cellules bactériennes a été un des premiers paramètres à progresser et ne posait plus de problème technique majeur, la quantification de la fraction viable restait encore à appréhender. Or, évaluer la viabilité des micro-organismes se révèle être très important dans l'étude de leur interaction avec leur environnement, car elle permet de ramener les activités globales mesurées à la seule fraction potentiellement responsable de ces

observations (Grégori *et al.,* 2003). Le développement récent de nouvelles techniques (*e.g.* cytométrie en flux ; Veal *et al.,* 2000 ; Vives-Rego *et al.,* 2000 ; Gruden *et al.,* 2004) et de nouvelles méthodes moléculaires a alors permis d'estimer l'activité et l'état physiologique des cellules bactériennes (pour revue : McFeters *et al.,* 1995 ; Barer et Harwood, 1999 ; Joux et Lebaron, 2000 ; Howard-Jones *et al.,* 2001 ; Keer et Birch, 2003). La plupart de ces méthodes sont basées sur l'utilisation de sondes physiologiques et permettent de détecter la présence de fonctions cellulaires actives (*e.g.* activité de respiration par coloration au 5-cyano-2,3-ditolyl tetrazolim chlorode, CTC, Rodriguez *et al.,* 1992 ; Servais *et al.,* 2001 ; Créach *et al.,* 2003) et/ou la présence et l'intégrité de structures cellulaires (*e.g.* intégrité membranaire par coloration par le LIVE/DEAD® BacLight™, Decamp et Rajendran, 1998 ; Boulos *et al.,* 1999 ; Schumann *et al.,* 2003 ; Quéric *et al.,* 2004). Cependant, faute d'outils universels adéquats, la détermination de la viabilité des micro-organismes reste encore à l'heure actuelle sujet à débat au sein de la communauté scientifique.

Suite à ces avancées techniques et conceptuelles majeures en écologie microbienne, l'importance quantitative des bactéries hétérotrophes dans les flux de matière et d'énergie a largement été réévaluée (Legendre et Rivkin, 2002) et leur rôle dans le réseau trophique progressivement mis en évidence. Le compartiment microbien, alors mieux appréhendé et étudié, s'est avéré comme étant essentiel dans les mécanismes de maintien de l'équilibre et de régulation des flux de matière et d'énergie au sein des écosystèmes pélagiques (Pomeroy, 1974).

II.2. Boucle microbienne et réseau trophique microbien

Parallèlement à l'évolution des méthodes de comptages bactériens, le développement de mesures des activités des microorganismes hétérotrophes (Sorokin, 1964 ; Hagström *et al.,* 1979 ; Fuhrman et Azam, 1980, 1982 ; Hoppe, 1993 et références citées; Servais, 1995 pour revue) ainsi que la découverte de relargages significatifs de matière organique dissoute par les producteurs primaires ont fortement amélioré la conceptualisation des relations entre les différents compartiments autotrophes et hétérotrophes (Billen *et al.,* 1990a).

Ainsi, Azam *et al.* (1983) ont développé un modèle conceptuel de réseau trophique au sein duquel le transfert et le recyclage de la matière et de l'énergie sont assurés par la boucle microbienne (« microbial loop », Figure I.1). Les microbes hétérotrophes tels que les bactéries, flagellés bactérivores, et ciliés consommateurs de flagellés assurent (i) le recyclage

des éléments nutritifs, pour lesquels bactérioplancton et phytoplancton sont en compétition (Kirchman et Wheeler, 1998 ; Wheeler et Kirchman, 1998), et (ii) le transfert de matière et d'énergie depuis les producteurs primaires vers les niveaux trophiques supérieurs (Azam *et al.*, 1983). Par la suite, Rassoulzadégan (1993) distinguait la « boucle microbienne » où le phytoplancton n'avait pas ou peu de rôle, du « réseau trophique microbien » incluant le phytoplancton de petite taille (< 5 µm) à l'origine de flux significatifs de matière et d'énergie vers les échelons trophiques supérieurs.

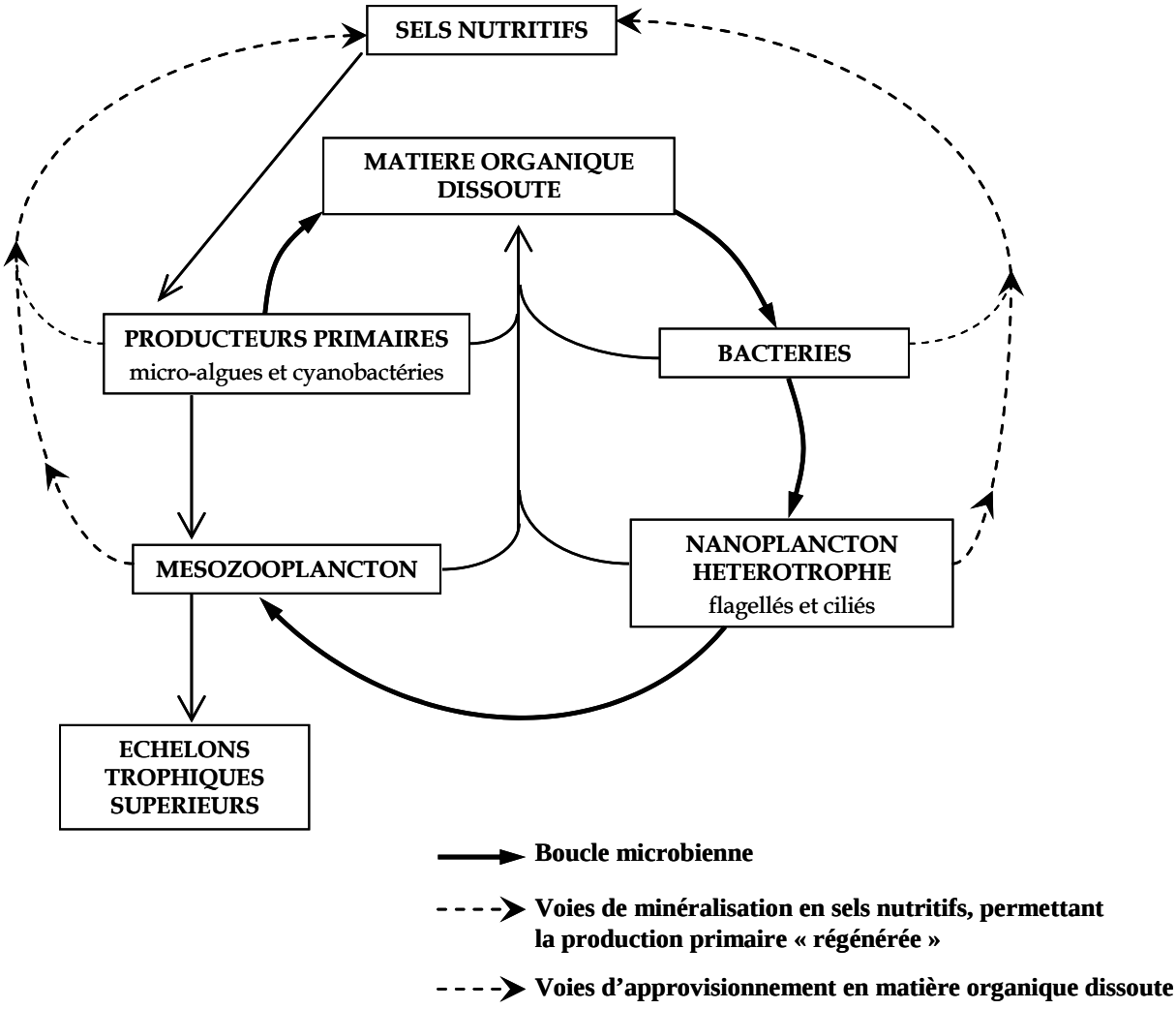


Figure I.1 : Réseaux trophiques microplanctoniques et la boucle microbienne d'après Azam *et al.* (1983) et Bianchi et Van Wambeke (1989). Les principaux transferts de matière et d'énergie entre les composants du réseau trophique planctonique sont représentés (i) en trait plein épais pour les composants spécifiques de la boucle microbienne, (ii) en trait pointillé pour la minéralisation en sels nutritifs et (iii) en trait plein fin pour les voies d'approvisionnement en matière organique dissoute (MOD).

Par la suite, des observations *in situ* et en laboratoire ont permis de définir clairement les structures de taille des organismes impliqués et de préciser les liens trophiques existant entre ces compartiments microbiens (Figure I.2 ; d'après Sherr et Sherr, 2000 ; Legendre et Rivkin, 2002 ; Weinbauer, 2004).

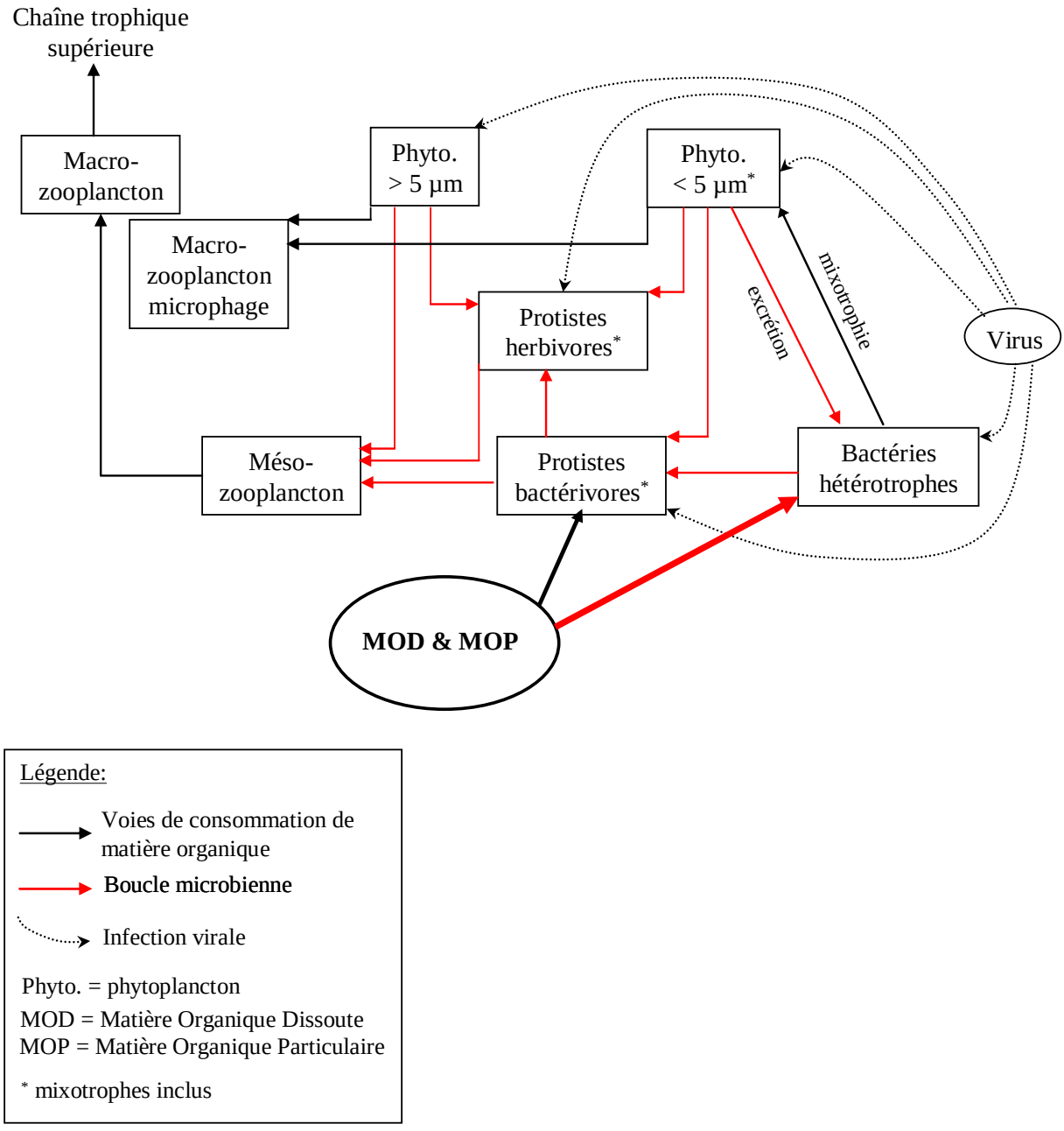


Figure I.2 : Le réseau trophique microplanctonique, incluant les boucles microbiennes et virales, d'après Sherr et Sherr (2000), Legendre et Rivkin (2002) et Weinbauer (2004). Les principales voies de consommation de la matière organique (MO) sont figurés (i) en trait rouge pour les différents composants de la boucle microbienne et (ii) en trait plein noir pour les autres compartiments. Les traits pointillés représentent les voies d'infection virales.
Chaque maillon trophique est, en retour, source de MO (MOD et MOP) ; ces voies d'approvisionnement en MO ne sont pas représentées sur ce schéma pour plus de lisibilité.

Un seuil de 5 µm est fixé comme limite arbitraire afin de diviser le phytoplancton en deux fractions de taille. Ce seuil correspond approximativement à la plus petite taille de particules efficacement broutée par la majorité des crustacés zooplanctoniques (Fortier *et al.*, 1994). Le phytoplancton de petite taille (< 5 µm) est, quant à lui, principalement consommé par les protistes hétéro/mixotrophes (nanoflagellés de grande taille, dinoflagellés et ciliés) ou le macrozooplancton microphage (salpes, appendiculaires et ptéropodes, Fortier *et al.*, 1994).

Au sein du réseau planctonique, les bactéries hétérotrophes peuvent être consommées à la fois par des protistes bactérivores (nanoflagellés et petits ciliés, Sherr et Sherr, 1994), et par du phytoplancton mixotrophe (Neuer et Cowles, 1995 ; Strom et Morello, 1998 ; Caron, 2000). Ces prédateurs bactériens constituent à leur tour les proies principales d'organismes de niveau trophique supérieur tels que les copépodes de différents stades (Stoecker et Capuzzo, 1990 ; Merrel et Stoecker, 1998 ; Vincent et Hartmann, 2001), les organismes du méroplancton (larves de bivalves ou de gastéropodes ; Douillet, 1993a et b ; Aldana Aranda, 1991 ; Anderson et Underwood, 1997) et les larves de poissons (Runge, 1980). Ainsi, la présence de différents types de microorganismes illustre la particularité et la complexité plus ou moins grande du réseau trophique microbien. Par ailleurs, les matières organiques (MO), dissoutes (MOD) ou particulaires (MOP) qui proviennent du métabolisme des organismes planctoniques (excrétion, égestion ; *e.g.* Le Borgne, 1986 ; Møller, 2004) et/ou de leur mort (lyse cellulaire), peuvent constituer une ressource trophique non négligeable pour les bactéries et les protistes hétérotrophes (Sherr, 1988 ; Tranvik *et al.*, 1993).

Récemment, la mise en évidence d'infections virales concernant différents compartiments de la chaîne trophique planctonique a diversifié les origines potentielles de MOD et MOP (Weinbauer, 2004). La lyse virale entraîne une mortalité significative des bactéries (Proctor et Fuhrman, 1990 ; Noble et Fuhrman, 1999 ; Fuhrman, 2000). Elle perturbe également les activités enzymatiques (Noble et Fuhrman, 1999), la production et la respiration bactérienne (Middelboe et Lyck, 2002), la concentration et la composition en MOD et MOP (Peduzzi et Weinbauer, 1993), les concentrations en chlorophylle *a*, la production primaire et la photosynthèse (Pedduzi et Weinbauer, 1993 ; Hewson *et al.*, 2001a, b).

Ainsi, à côté d'une chaîne trophique « herbivore classique » suivant le schéma phytoplancton – zooplancton – poissons, co-existe un réseau microbien plus complexe au sein duquel les liens trophiques sont multiples : la co-existence de ces 2 types de systèmes complexes (*i.e.* réseau trophique « multivore » *sensu* Legendre et Rassoulzadégan, 1995) représente un continuum de situations trophiques.

II.3. Rôle des bactéries au sein des écosystèmes côtiers

Parmi les maillons trophiques décrits précédemment, le compartiment bactérien constitue un maillon fondamental dans les transferts de carbone océanique (dissous et particulaire) vers les échelons trophiques supérieurs. En effet, les bactéries en tant que premiers consommateurs de Carbone Organique Dissous (COD) dans les systèmes marins (Cole *et al.*, 1988) en régulent l'accumulation, l'exportation, la reminéralisation et la transformation (Ducklow *et al.*, 1999 ; Legendre et Rivkin, 2002). Or, le COD constitue plus de 95% du pool de carbone organique total dans les océans (Hedges, 1992 ; Legendre et Rivkin, 2002). Ces organismes sont également capables de dégrader significativement le Carbone Organique Particulaire (COP) et d'utiliser les matières dissoutes issues de cette dégradation pour réaliser leurs activités organotrophes[1] (Hoppe *et al.*, 1993). L'efficacité des bactéries à consommer le COD, directement ou après transformation du COD non assimilable, et du COP, puis à les convertir en biomasse et/ou les oxyder illustre leur rôle prépondérant de producteurs de matière et/ou de minéralisateurs.

Savoir si ces organismes jouent un rôle de « relais » (« link » ou lien trophique) ou d'« impasse » trophique (« sink » ou « puits » de carbone) entre le carbone consommé et le reste du réseau trophique côtier (Jumars, 1993) apparaît essentiel pour comprendre le devenir de la matière et de l'énergie au sein d'un écosystème donné.

Au cours du cycle annuel, le compartiment bactérien est responsable de la plus grande partie de la respiration hétérotrophe dans la zone euphotique (del Giorgio et Cole, 2000 ; Rivkin et Legendre, 2001 et références citées ; Robinson *et al.*, 2002). Par conséquent, il peut avoir de profonds effets sur les cycles globaux et locaux de CO_2 au niveau de l'interface air-mer (Carlson *et al.*, 1994 ; Hansell et Carlson, 1998). De plus, il peut contrôler sensiblement la quantité de carbone organique transférée aux métazoaires, accumulée dans les couches de surface et/ou exportée dès lors que seule reste disponible la fraction de la production primaire non respirée par les bactéries. Ainsi, et alors que presque tous les organismes pélagiques apportent du COD au milieu, seules les bactéries (et dans une moindre mesure les flagellés hétérotrophes ; Sherr, 1988 ; Tranvik *et al.*, 1993) sont capables d'en consommer directement en quantités significatives (Legendre et Rivkin, 2002). Elles sont donc susceptibles de contrôler les caractéristiques du pool de COD dans la colonne d'eau et peuvent exercer une influence non négligeable sur son devenir.

[1] Les activités organotrophes bactériennes désignent la production de cellules et de biomasse bactérienne, et la respiration.

Les bactéries jouent donc un rôle crucial et unique dans le cycle biogéochimique du carbone organique en zones côtières : en représentant le principal consommateur et minéralisateur d'une partie du COD et du COP, le bactérioplancton peut être considéré comme un « puits » de carbone organique au sein de la « boucle microbienne ». Par contre, au sein du « réseau trophique microbien » les bactéries jouent un rôle de « relais » trophique indispensable à l'alimentation de l'écosystème planctonique côtier en matière organique et donc à son fonctionnement (Rassoulzadégan *et al.,* 1993).

Comprendre le rôle et la dynamique du compartiment bactérien apparaît alors fondamental pour (i) comprendre les processus de flux de matière et d'énergie, et (ii) analyser la dynamique du réseau trophique dans les zones côtières (Alongi, 1998). Ainsi, les informations fournies par l'évaluation tant des stocks totaux et actifs que des productions et activités bactériennes doivent permettre de préciser le fonctionnement des écosystèmes pélagiques côtiers, et constituent un pré-requis absolu à la compréhension de la dynamique de ces écosystèmes.

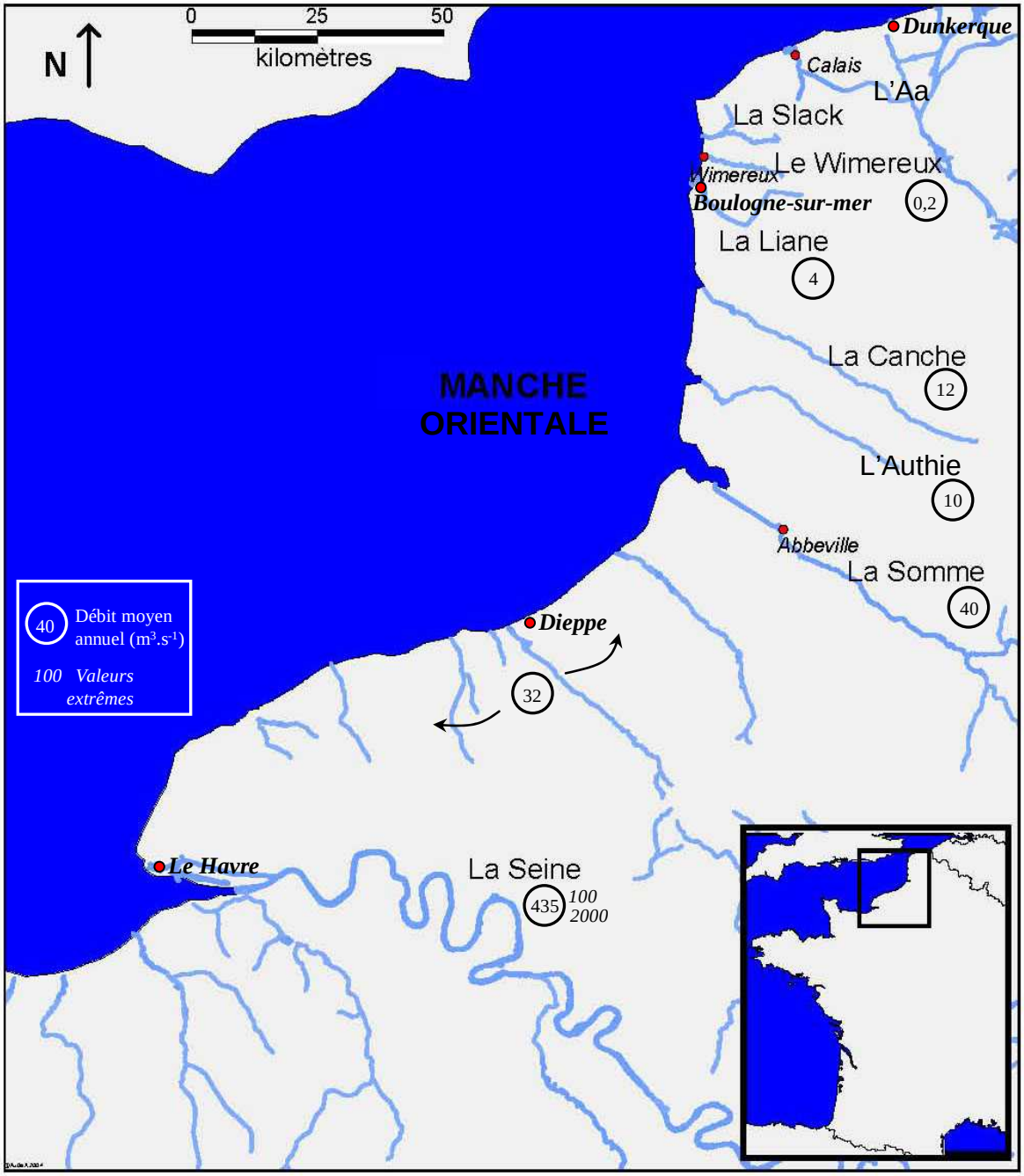


Figure I.3 : Site d'étude Manche orientale – Situation géographique.

Les débits moyens annuels des principaux apports fluviaux sont indiqués (données Agence de l'Eau Artois-Picardie).

CHAPITRE II
Site d'étude : l'écosystème Manche orientale

Dans le cadre d'une approche globale des écosystèmes côtiers planctoniques et du compartiment bactérien, le site de la Manche orientale a constitué le site d'étude de l'ensemble de mon travail. Il s'agit d'un site privilégié en raison de ses particularités hydrologique et biologique (cf. § II.1). Du point de vue biologique, ce site est le siège de poussées phytoplanctoniques récurrentes de *P. globosa* (Brylinski *et al.,* 1984 ; Brunet *et al.,* 1992 ; Brunet *et al.,* 1996 ; Hoch et Garreau, 1998 ; Breton *et al.,* 2000), connus pour permettre le développement d'une boucle microbienne particulièrement active (Becquevort *et al.,* 1998 ; Stelfox-Widdicombe *et al.,* 2004 ; Brussaard *et al.,* 2005b ; Lamy *et al., in press*), illustrant ainsi l'existence potentielle d'un réseau trophique multivore (Legendre et Rassoulzadégan, 1995).

I. Caractéristiques générales

La Manche orientale (Figure I.3) est une mer épicontinentale, qui s'étend de la Baie de Seine jusqu'au détroit du Pas-de-Calais (49°62N-1°E – 51°N-1°90E). Sa physionomie en « entonnoir » (goulet d'étranglement) présente une largeur de plus de 100 km sur sa limite ouest jusqu'à 35 km au niveau du détroit.

La région côtière bénéficie d'un climat océanique tempéré. De manière générale, la température de l'air varie de façon sinusoïdale, avec un maximum au mois de juillet (jusqu'à 28,5°C), un minimum en période hivernale (-5°C). Les amplitudes thermiques hebdomadaires sont parfois importantes. Les précipitations présentent généralement un maximum saisonnier en automne (précipitations totales moyennes de 80 mm par mois), et des niveaux à peu près équivalents en hiver et en été (entre 40 et 50 mm de précipitations totales par mois). Ces précipitations, réparties tout au long de l'année, influencent fortement les apports fluviatiles.

La répartition des vents se caractérise par une nette dominance des directions de secteur Sud-Ouest, avec la présence marquée au printemps de vents de Nord-Est. Leur régime est constant à l'échelle pluriannuelle.

Le littoral français de la Manche orientale, qui s'étend sur un linéaire de 150 km, est le site de nombreuses agglomérations, dont certaines à fortes activités industrialo-portuaires (Le Havre, Boulogne-sur-mer, Calais, Dunkerque) et/ou agricoles.

Avec un débit moyen annuel de 435 $m^3.s^{-1}$, la baie de Seine représente le principal apport fluvial au littoral de la Manche orientale (Figure I.3). Le Marquenterre rassemble les rivières Canche, Authie et Somme. Le Boulonnais regroupe les rivières Liane, Wimereux et Slack. Finalement, la Flandre Maritime comprend essentiellement la rivière Aa. L'ensemble de ces exutoires multiplie les influences anthropiques sur l'écosystème.

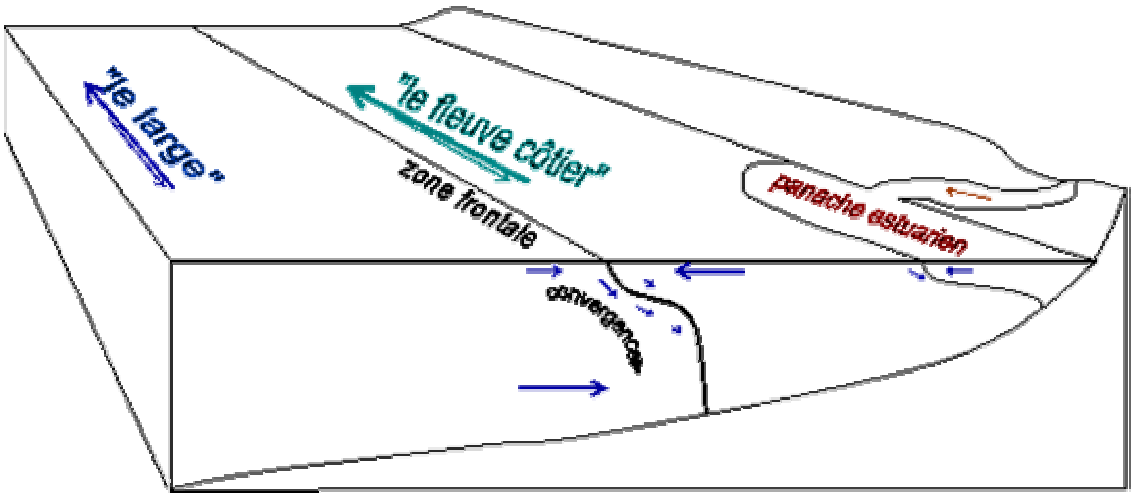


Figure I.4 : Mise en évidence du fleuve côtier et de la zone frontale du site atelier Manche Orientale (dessin de Jean-Michel Brylinski, d'après Brylinski *et al.*, 1991)

II. Caractéristiques physiques

II.1. Régime marégraphique et circulation des masses d'eau

La Manche orientale est soumise à un fort hydrodynamisme et à un régime marégraphique de type mégatidal[2] (Anonyme, 1988), avec un marnage pouvant atteindre 8 m en vives-eaux, pour des fonds côtiers ne dépassant pas 50 m. Les courants instantanés induits par la marée y sont alors très forts, de l'ordre de 120 à 150 cm s^{-1} en vives-eaux. Ces courants sont par ailleurs alternatifs (courant de flot portant vers le NE, et courant de jusant vers le SO) et parallèles à la côte (cf. Brylinski, 1993 pour revue sur le sujet). Il en résulte une dérive résiduelle vers la Mer du Nord de vitesse 2,7 milles par jour (Salomon et Breton, 1993). Concrètement, il faut 2 à 4 mois à une masse d'eau passant au centre de la Manche pour arriver dans le détroit du Pas-de-Calais (Guéguéniat *et al.,* 1993).

Ce contexte marégraphique favorise la création d'une masse d'eau côtière permanente bien individualisée, appelée « le fleuve côtier » (Figure I.4 ; Brylinski *et al.,* 1991). Cette masse d'eau est sans cesse entretenue par les apports fluviatiles depuis la baie de Seine jusqu'au détroit du Pas-de-Calais. Sa circulation est régie par le courant résiduel de marée dirigé vers la Mer du Nord. Ce courant résiduel est principalement défini par des processus de correction côtiers dus aux effets du vent, orienté préférentiellement de SO (Salomon et Breton, 1991). Sa richesse en éléments transportés (Matières En Suspension : MES, Guéguéniat *et al.,* 1995 ; Lafite *et al.,* 2000 *;* cellules algales, Huault *et al.,* 1994 ; sels nutritifs, Bentley *et al.,* 1993) pourrait le rendre responsable d'une partie non négligeable des flux de matière vers la Mer du Nord (Brylinski *et al.,* 1991 ; Salomon et Breton, 1993).
La Manche apparaît donc comme une zone de transition pour les matières en suspension entre la Manche occidentale et la partie sud de la Mer du Nord (Velegrakis *et al.,* 1999), et plus globalement, comme une zone de transfert entre les eaux atlantiques et celles de la Mer du Nord (Salomon et Breton, 1993).

[2] Le terme *mégatidal* désigne un régime de marée dont le marnage (différence de hauteur entre la pleine mer et la basse mer) est supérieur à 5m en période de vive-eau.

II.2. La zone frontale

La transition eaux côtières – eaux du large peut prendre l'aspect d'une interface à caractère frontal et instable (Brylinski et Lagadeuc, 1990). Cette limite extérieure aux eaux côtières peut en réalité être constituée, au moins en mortes-eaux, d'une succession de fronts plus ou moins marqués qui signalent l'intégration progressive des différents apports fluviatiles au domaine marin (Brylinski *et al.*, 1991). La marée, principale source de mélanges verticaux, rythme l'alternance de stratifications / déstratifications du front, selon les cycles de pleine mer – basse mer et mortes-eaux – vives-eaux (Figure I.5). Cette structure hydrologique particulière est également fortement influencée par les conditions météorologiques (pluviosité, force et direction des vents). La déstratification a toujours lieu à basse mer, quand la vitesse du courant est maximale et la profondeur la plus faible (Lagadeuc *et al.*, 1997). En période de vives-eaux, le front vertical et non stratifié, agit comme une barrière au passage transversal des particules des eaux côtières vers le large (Brylinski et Lagadeuc, 1990). En revanche, en période de mortes-eaux, le front présente une structure oblique et ascendante vers le large, rendant la surface de contact entre les eaux du large et les eaux côtières plus importante et facilitant ainsi les échanges transversaux entre les deux masses d'eau (Brylinski *et al.*, 1991).

Le contexte marégraphique en Manche orientale régit donc la structuration hydrologique nord-sud de la zone, mais régit également la structuration depuis la côte vers le large *via* les cycles de pleine mer – basse mer et mortes-eaux – vives-eaux.

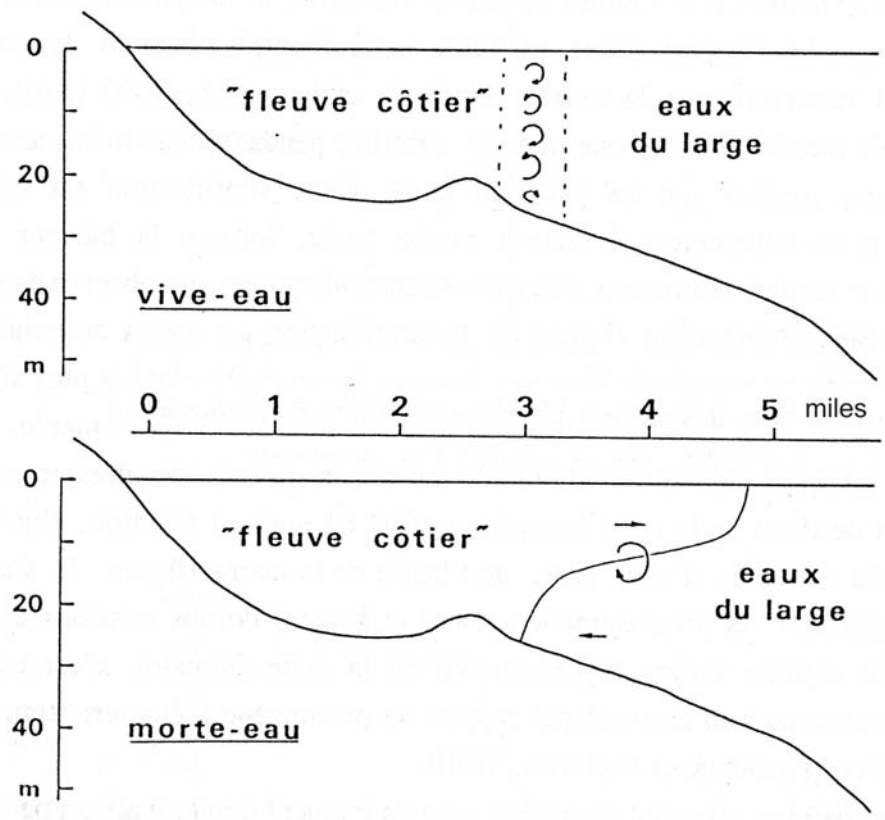


Figure I.5 : Structure théorique du système eaux côtières / eaux du large dans le secteur sud Pas-de-Calais (Brylinski *et al.*, 1991).

II.3. Interface mer / cours d'eau

Plusieurs fleuves, depuis la baie de Seine jusqu'au Pas-de-Calais, entretiennent par leurs apports (eau douce, charges en nutriments, matières en suspension et matières organiques) l'individualité du fleuve côtier (Brylinski *et al.*, 1991). Ces apports sont maintenus en zone côtière par le front qui freine la dispersion des apports continentaux vers le large (Brylinski *et al.*, 1991). L'importance de ces apports fluviatiles a permis de qualifier la masse d'eau côtière de système ROFI dans la nomenclature anglaise (« Region Of Freshwater Influence », région soumise aux influences d'eau douce, Lagadeuc *et al.*, 1997).

Les forts débits de la Seine (moyenne annuelle de 435 $m^3.s^{-1}$) font de ce fleuve une des sources majoritaires de nitrates, phosphates et MES notamment, contribuant à 91%, 95% et 93% (pourcentages relatifs moyens annuels, estimés sur la période 1980 – 1999 ; Prygiel *et*

al., 2000) des apports totaux, respectivement. Si la Seine participe largement par ses apports à l'individualité de la masse d'eau côtière (Brylinski *et al.*, 1991), elle ne peut être considérée comme seule initiatrice du fleuve côtier (Brylinski *et al.*, 1996).

La baie de Somme constitue le second plus grand système côtier du nord-ouest de la France, après l'estuaire de la Seine. Elle s'intègre dans le système côtier à la transition entre les deux provinces biologiques en Manche orientale identifiées par Brunet (1994). Avec un débit moyen annuel de l'ordre de 40 $m^3.s^{-1}$, la baie de Somme contribue aux apports en nitrates (4,5%), phosphates (1,7%) et MES (2,6%) sur le littoral Manche, et représente le principal apport à l'échelle du littoral du Bassin Artois-Picardie (Prygiel *et al.*, 2000). Un bilan annuel fait état d'apports continentaux en phosphore (380 t), silicium (5400 t), azote (9000 t) et MES (67 800 t ; Loquet *et al.*, 2000). Ces apports contribueraient de façon importante à la formation du fleuve côtier (Brylinski *et al.*, 1996) et au bilan global de sels nutritifs en zone côtière jusqu'au détroit du Pas-de-Calais (Loquet *et al.*, 2000). En particulier, en période hivernale, 25% des apports fluviaux annuels d'azote inorganique dissous (NID) en baie de Somme sont cédés au milieu marin, presque exclusivement sous forme de nitrates (Loquet *et al.*, 2000). Les fortes biomasses phytoplanctoniques (> 10 mg Chl-*a*. m^{-3}) observées au printemps aux abords de la baie de Somme et jusqu'au détroit du Pas-de-Calais (Brylinski *et al.*, 1996 ; Hoch et Garreau, 1998 ; Breton *et al.*, 2000 ; Cotonnec, 2001 ; Vantrepotte, 2003) sont liées à l'utilisation de ce stock hivernal de nutriments (Loquet *et al.*, 2000).

Les autres principaux cours d'eau sont représentés du sud au nord par l'Authie, la Canche, la Liane et le Wimereux (Figure I.3). Les débits moyens annuels de ces cours d'eau varient de 0,2 à 12 $m^3.s^{-1}$. L'ensemble de ces cours d'eau contribue aux apports en nitrates (4,2%), phosphates (3,5 %) et MES (4,7 %) sur le littoral Manche.

Ces apports fluviatiles s'avèrent déterminants dans l'évolution de l'enrichissement des eaux côtières en matières organiques et inorganiques, et celle des processus biologiques du système. Si la baie de Seine peut apparaître comme étant à l'origine du système hydrologique de la zone d'étude (Brylinski *et al.*, 1991), le système biologique du fleuve côtier semble, pour sa part, être déterminé par la Somme (Brunet *et al.*, 1996 ; Brylinski *et al.*, 1996). En effet, aucune continuité biologique n'a été mise en évidence entre les deux baies (Pingree *et al.*, 1986 ; Brunet *et al.*, 1996), dès lors que l'influence de la Seine sur la structure écologique du fleuve côtier, en particulier sur la croissance du phytoplancton, s'estompe rapidement (Brylinski *et al.*, 1996). En face de la baie de Somme, la zone frontale semble agir comme une zone de rétention de particules inertes et organiques (Loquet *et al.*, 2000), en raison

probablement de courants plus faibles et d'une circulation tourbillonnaire (Grioche *et al.*, 1999 ; Cotonnec *et al.*, 2001). La production biologique y est ainsi favorisée et présente une amorce plus précoce du développement phytoplanctonique (Pingree *et al.*, 1986 ; Brylinski *et al.*, 1996 ; Brunet *et al.*, 1996 ; Vantrepotte, 2003).

III. Caractéristiques biologiques
Le réseau trophique en Manche orientale : composantes biologiques principales

Dans ce contexte hydrodynamique et hydrologique particulier, il existe un gradient prononcé de la côte vers le large pour de nombreux paramètres hydrobiologiques, tels que la salinité, la masse volumique, la turbidité (Brylinski *et al.*, 1984 ; Bentley, 1985 ; Dupont *et al.*, 1991), la concentration en sels nutritifs (Gentilhomme et Lizon, 1998), l'abondance phytoplanctonique (Brunet *et al.*, 1996 ; Hoch et Garreau, 1998 ; Lizon *et al.*, 1998 ; Breton *et al.*, 2000), zooplanctonique (Brylinski *et al.*, 1988 ; Breton, 2000) et bactérienne (Maillard-Quisthoudt, 1988). De plus, les études antérieures ont montré que la zone de front agit comme une zone de convergence du phytoplancton (Brunet *et al.*, 1992) accentuant ainsi le contraste côte/large. Des différences côte/large ont également été observées quant à la composition taxonomique du phytoplancton (Brunet, 1994 ; Breton *et al.*, 2000 ; Schapira, 2005) et du zooplancton (Brylinski et Lagadeuc, 1988 ; Breton, 2000 ; Cotonnec, 2001).

III.1. Phytoplancton

La Manche orientale apparaît fortement productive (Brylinski *et al.*, 1996), avec des productivités photosynthétiques pouvant atteindre de 5 mg $C.m^{-3}.h^{-1}$ au large à 40 mg $C.m^{-3}.h^{-1}$ à la côte (Brunet, 1994). Les stocks phytoplanctoniques maximum se situent entre 20 et 50 µg Chl-*a*.L^{-1} (Brunet *et al.*, 1996 ; Gentilhomme et Lizon, 1998 ; Vantrepotte, 2003 ; Seuront *et al.*, 2005), valeurs proches de celles des milieux estuariens. Les abondances en phytoflagellés varient annuellement de 11 jusqu'à 98% des abondances totales du phytoplancton (57% en moyenne annuelle). Les diatomées dominent le plus souvent le compartiment phytoplanctonique en termes de biomasse carbonée, du fait de leur grande taille (Breton, 2000).

La Manche orientale est par ailleurs le site de proliférations récurrentes de *P. globosa* (Brylinski *et al.*, 1984 ; Brunet *et al.*, 1992 ; Brunet *et al.*, 1996 ; Hoch et Garreau, 1998 ;

Breton *et al.*, 2000), encadrées par deux blooms de diatomées (Hedin-Bougart, 1980 ; Seuront *et al.*, 2006). Cette Prymnésiophycée de petite taille (3 à 5 µm ; Peperzak, 1998) est connue pour avoir un cycle de vie polymorphe présentant un stade de vie colonial (van Boekel, 1992; Rousseau *et al.*, 1994 ; Whipple *et al.*, 2005). La forme gélatineuse coloniale correspond à des milliers de cellules incorporées dans une matrice muqueuse polysaccharidique (Lancelot et Rousseau, 1994; Thingstad et Billen, 1994). *P. globosa* en Manche orientale peut représenter jusqu'à plus de 90% de l'abondance cellulaire totale du microphytoplancton, et environ 50% de sa biomasse (Breton *et al.*, 1999 ; Seuront *et al.*, 2006). Sa large répartition au sein des océans mondiaux (Schoeman *et al.*, 2005) et ses réponses aux apports en éléments nutritifs (Lancelot *et al.*, 2005 ; Schapira, 2005) lui confère un rôle particulier dans l'étude des flux des écosystèmes pélagiques côtiers.

III.2. Zooplancton

En Manche orientale, la biomasse du zooplancton hétérotrophe (ciliés, nano- et dinoflagellés hétérotrophes, et copépodes) est significative puisqu'elle représente 20% (moyenne annuelle) de la biomasse de carbone total nano- et microplanctonique (Breton, 2000). Parmi les copépodes pélagiques, *Temora longicornis*, *Acartia clausi* et *Pseudocalanus elongatus* sont les trois espèces dominantes sur la majeure partie de l'année (Brylinski *et al.*, 1988 ; Breton *et al.*, 1999, Cotonnec, 2001). Néanmoins, les abondances relatives de ces trois espèces varient au cours du développement du bloom phytoplanctonique de *P. globosa* qui semble altérer considérablement la nutrition de ces copépodes de petite taille (< 1,5 mm ; Joiris *et al.*, 1982 ; Weisse *et al.*, 1994 ; Gasparini *et al.*, 2000 ; Cotonnec *et al.*, 2001 ; Cotonnec *et al.*, 2003), et par conséquent leur reproduction (Devreker *et al.*, 2005).

III.3. Bactérioplancton

Les premières études du bactérioplancton en Manche orientale concernent le site du détroit du Pas-de-Calais (Maillard-Quisthoudt, 1988). Elles révèlent une période favorable au développement bactérien entre avril et juin (entre 4,30 et 6,36 x 10^5 cell.mL^{-1}, et jusqu'à 62,18 x 10^5 cell.mL^{-1} à l'embouchure de l'Aa, prélèvements en sub-surface). Le développement de cette biomasse est fonction de la température, des conditions hydrologiques mais surtout de la qualité et de la quantité en matière organique dissoute (MOD), en particulier celle provenant du bloom phytoplanctonique sénescent. Les densités bactériennes restent élevées pendant la période estivale (jusqu'à 3 x 10^5 cell.mL^{-1}), décroissent en automne et sont minimales en hiver (< 1 x 10^5 cell.mL^{-1}). Les bactéries libres dans la colonne d'eau

sont numériquement plus importantes que les bactéries fixées aux particules organiques, sur toute la période considérée, mais seule la fraction fixée augmente lors du processus de décomposition du bloom phytoplanctonique. Des mesures d'activité hétérotrophe par incorporation de glucose radioactif montrent que les vitesses d'assimilation du substrat co-varient avec les densités bactériennes, et avec les concentrations en MES et MOD dans la colonne d'eau (Maillard-Quisthoudt, 1988).

Des études plus récentes concernant le compartiment bactérien en Manche orientale se sont intéressées à la zone comprise entre la baie d'Authie et Boulogne sur mer (Artigas et Rondel, comm. pers.). Les numérations bactériennes révèlent également un développement bactérien entre avril et mai, avec des valeurs comprises entre 5 et 7,5 x 10^6 cell.mL^{-1} en surface. Ce maximum d'abondance bactérienne correspond à un maximum de biomasse chlorophyllienne, suggérant une croissance simultanée des deux groupes planctoniques (Artigas et Rondel, comm. pers.). Ainsi, il existerait un couplage étroit entre productions autotrophe et hétérotrophe en période de bloom, où le phytoplancton serait à l'origine d'abondantes excrétions de MOD rapidement exploitable par les bactéries. Les bactéries joueraient alors un rôle prépondérant dans la dégradation de la matière organique dissoute et particulaire issues des floraisons printanières en Manche orientale.

A la lumière de ces différentes caractéristiques de l'écosystème planctonique côtier de la Manche orientale, il apparaît nécessaire d'affiner l'étude des biomasses bactériennes et de connaître et quantifier les processus bactériens au sein de ce réseau trophique planctonique côtier. Une étude du compartiment bactérien se justifie (i) d'autant plus en milieux côtiers, soumis à divers apports en nutriments et matières organiques qui transitent vers les régions océaniques, et (ii) davantage encore dans le contexte de la Manche orientale, zone frontale et de gradients (Brylinski *et al.,* 1991), caractérisée par une série de proliférations phytoplanctoniques récurrentes au printemps (Brunet *et al.,* 1992 ; Hoch et Garreau, 1998 ; Breton *et al.,* 2000). L'évaluation de la dynamique des stocks, des productions et des activités bactériens constitue alors une approche essentielle à la compréhension (i) du devenir de la matière organique, en particulier celle provenant des poussées phytoplanctoniques, et (ii) de la dynamique de l'écosystème planctonique côtier Manche orientale.

Partie II

DE L'APPROCHE ECOSYSTEMIQUE…

Réponses du bactérioplancton à la variabilité spatio-temporelle de l'écosystème :
approche multi-échelle en Manche Orientale

INTRODUCTION

I. Problématique – Contexte scientifique

Les communautés bactériennes jouent un rôle important dans les réseaux trophiques des écosystèmes pélagiques côtiers. Elles influencent le cycle du carbone (Cho et Azam, 1988 ; Sherry *et al.*, 1999 ; del Giorgio et Cole, 2000 ; La Ferla *et al.*, 2005), en particulier les flux de CO_2 par la respiration (Carlson *et al.*, 1994 ; Sherr et Sherr, 1996 ; Hansell et Carlson, 1998) et représentent le principal consommateur du carbone organique dissous (COD) et particulaire non vivant (COP ; Cole *et al.*, 1988). Au sein du réseau trophique microbien, les bactéries sont les proies principales des protistes bactérivores permettant ainsi le transfert de matière vers les échelons trophiques supérieurs (Sherr et Sherr, 1994). Leur rôle apparaît donc central au sein des écosystèmes côtiers, où les flux de matière et d'énergie sont particulièrement variables à la fois dans le temps et dans l'espace.

Pour survivre et croître dans les conditions océaniques naturelles en général, et celles extrêmement variables des systèmes côtiers en particulier (Alongi, 1998), les bactéries disposent de grandes capacités d'ajustement et d'une flexibilité remarquable de leur structure cellulaire et de leurs fonctions métaboliques (Dawes, 1985). Elles sont capables de répondre rapidement à la disponibilité en substrat organique ou en sels nutritifs, en modifiant leur efficacité de croissance ou BGE (« Bacterial Growth Efficiency »; del Giorgio et Cole, 1998 ; Gonzalès *et al.*, 2003) ou en modulant leur physiologie pour utiliser une plus large variété de substrats (del Giorgio et Cole, 2000). Par conséquent, sur de petites échelles d'observation (micro[1]- et méso-échelles spatiales et temporelles), la distribution des cellules bactériennes, la structure de leurs communautés et les caractéristiques de leur métabolisme sont étroitement liées à l'origine, la nature et la disponibilité en matière organique du milieu (Billen *et al.*, 1990a ; Long et Azam, 2001). Sur ces mêmes échelles d'observation, la dynamique bactérienne est contrôlée par différents facteurs (voir revues de Ducklow et Carlson, 1992 ; Fuhrman, 1992), dont la pression de broutage (Jürgens *et al.*, 1999, 2000), la lyse virale (Proctor et Fuhrman, 1990 ; Fuhrman, 2000), la disponibilité en substrat organique et sels nutritifs (Azam *et al.*, 1993), la température (Kirchman, *et al.*, 1995 ; Shiah *et al.*, 1999, 2000b) et les forçages physiques (*e.g.* courants, turbulence ; Lochte *et al.*, 1997 ; Casotti *et*

[1] *sensu* Seuront *et al.*, 2002

al., 2000). Dans les eaux oligotrophes s'ajoute la compétition avec le phytoplancton pour les sels nutritifs limitants (ammonium et phosphate ; Wheeler et Kirchman, 1998 ; Kirchman, et Wheeler, 1998). Les variations de la distribution et de l'activité métabolique (production, respiration, reminéralisation) des populations bactériennes sont donc fonction de nombreux facteurs biotiques et abiotiques. Or, ces facteurs sont eux même très variables dans le temps (variations journalières, saisonnières et inter-annuelles) et l'espace.

Avant de développer des modèles fonctionnels définissant le rôle des processus biologiques sur le cycle du carbone, il est donc important d'appréhender la variabilité des stocks et des processus biologiques et de définir clairement les facteurs susceptibles de contrôler cette variabilité (Sherry *et al.,* 1999). A cet égard, les études les plus récentes en écologie microbienne aquatique sont orientées vers la comparaison des relations qui lient taux de production et biomasses bactériennes à divers paramètres de contrôle comme la production primaire et/ou les biomasses phytoplanctoniques (Ducklow *et al.,* 2001 ; Shiah *et al.,* 2001 ; Van Wambeke *et al.,* 2002 ; Delille, 2003 ; La Ferla *et al.,* 2005), la température (Shiah *et al.,* 2000b ; McManus *et al.,* 2004 ; La Ferla *et al.,* 2005), le stock de COD et/ou COP (Sempéré *et al.,* 2000 ; Biddanda *et al.,* 2001 ; Rivkin et Legendre, 2001 ; Van Wambeke et *al.,* 2001 ; Kirchman *et al.,* 2004).

Les conséquences de la variabilité spatio-temporelle des populations bactériennes sur les écosystèmes marins sont capitales. L'équilibre entre la production primaire brute (PP) et la respiration, principalement bactérienne dans la zone euphotique (del Giorgio et Cole, 2000 ; Rivkin et Legendre, 2001 et références citées ; Robinson *et al.,* 2002), donne une interprétation directe du statut trophique de l'écosystème (Serret *et al.,* 1999). Or, connaître le régime trophique d'un écosystème marin permet de déterminer (i) si celui-ci est une source significative de carbone vers l'atmosphère (cas d'un régime hétérotrophe net ; Hoppe *et al.,* 2002), ou au contraire (ii) s'il est un puits de carbone significatif (cas d'un régime autotrophe net). Il s'avère que le ratio respiration bactérienne / production primaire (RB/PP) représente une estimation pertinente de l'état trophique du milieu, bien que cette variable soit actuellement sujette à débat dans la communauté scientifique des microbiologistes marins (Duarte *et al.,* 2001 ; del Giorgio et Duarte, 2002 ; Karl *et al.,* 2003 ; La Ferla *et al.,* 2005 ; Maixandeau *et al.,* 2005). Les différentes études concluent que le statut trophique d'un écosystème (i) évolue au cours d'un cycle saisonnier de l'autotrophie à l'hétérotrophie (Cotner et Biddanda, 2002) et (ii) peut être très variable d'une province océanique à une autre (Hoppe *et al.,* 2002). Par opposition à la vision traditionnelle d'un système océanique « en équilibre », González *et al.* (2002) confirment l'existence de fort « déséquilibre » organique

des océans, et concluent que de relativement faibles variations temporelles de la dynamique de la colonne d'eau peuvent avoir un impact important sur le fonctionnement global des écosystèmes aquatiques. Ainsi, afin de définir les processus trophiques dominants des écosystèmes marins côtiers, il apparaît indispensable de mener des études microbiennes régionales (del Giorgio et Duarte, 2002) en considérant de petites échelles temporelles (Maixandeau *et al.,* 2005 et références citées ci-dessus).

Malgré les nombreuses études en écologie microbienne développées depuis maintenant une trentaine d'années, peu d'éléments sont connus sur la respiration bactérienne (RB), essentiellement en raison de limites méthodologiques (del Giorgio et Cole, 1998). Dans la plupart des études de flux de carbone dans les écosystèmes aquatiques, la respiration (RB) est estimée à partir de mesures de la production bactérienne (PB) et de valeurs empiriques (Rousseau *et al.,* 2000) ou de modèles d'estimation de l'efficacité de croissance bactérienne (del Giorgio et Cole, 1998 ; Cajal-Medrano et Maske, 1999 ; Roland et Cole, 1999). Par ailleurs, comme l'ont montré de nombreuses études, le rapport BP/PP peut être un indicateur représentatif de l'état trophique d'un milieu aquatique (Ducklow et Carlson, 1992 ; Conan *et al.,* 1999 ; Artigas *et al.,* 2000 ; Shiah *et al.,* 2001, 2003 ; Ducklow *et al.,* 2002 ; Hoppe *et al.,* 2002 ; Van Wambeke *et al.,* 2002).

Ainsi, comprendre la dynamique globale d'un écosystème côtier et son fonctionnement trophique passe inévitablement par l'étude de l'hétérogénéité spatiale et de la variabilité temporelle de ses compartiments constitutifs (dans cette étude, le compartiment bactérien) aux échelles d'observation les plus pertinentes, et ceci, en fonction des paramètres biologiques et physico-chimiques forçants. Pour répondre à cette problématique, le site de la Manche orientale a été choisi comme site atelier pour une étude de la dynamique bactérienne entre février 2003 et octobre 2004. Cet écosystème est soumis à une forte hétérogénéité spatiale liée à son régime marégraphique mégatidal et à la présence d'interfaces avec le continent (par le biais d'effluents) et avec les eaux du large au niveau de la zone frontale (Brylinski et Lagadeuc, 1990). A l'échelle temporelle, cette zone est caractérisée par l'importante variabilité saisonnière de ses paramètres hydrologiques (Brylinski *et al.,* 1996 ; Lagadeuc *et al.,* 1997 ; Gentilhomme et Lizon, 1998), ayant un impact important sur la biologie. La variabilité biologique est ainsi liée aux successions de blooms phytoplanctoniques (Brylinski *et al.,* 1984 ; Brunet *et al.,* 1992 ; Brunet *et al.,* 1996 ; Hoch et Garreau, 1998 ; Breton *et al.,* 2000), à l'évolution des communautés zooplanctoniques (Breton, 2000 ; Cotonnec, 2001 ;

Devreker *et al.,* 2005) et à la dynamique bactérienne (Lamy *et al., sous presse* ; voir Partie III, Chapitre I).

II. Objectifs de l'étude et description des échelles spatio-temporelles d'observation

Cette étude a pour objectif principal de caractériser l'hétérogénéité spatiale et la variabilité temporelle du compartiment bactérien en Manche orientale, sur différentes échelles d'observation. Cette caractérisation permettra de mettre en évidence les variations de distribution et d'activité des populations bactériennes, et de les expliquer au regard des changements des paramètres biotiques et abiotiques. Il sera alors possible d'émettre des hypothèses sur les facteurs de régulation des populations bactériennes, et d'étudier leur variabilité sur les différentes échelles spatiales et temporelles choisies.

Trois échelles spatio-temporelles d'observation ont été choisies pour caractériser la variabilité des populations bactériennes et répondre à notre problématique (Figure II.1).

- **Echelle inter annuelle sur l'ensemble de l'écosystème (échelle 1)** : 2 sites d'étude, celui de Wimereux et de la baie de Somme, respectivement situés aux limites Nord et Sud de la Manche orientale, en 2003 et 2004,

- **Echelle saisonnière sur le site de Wimereux (échelle 2)** : radiale Wimereux suivie depuis la côte vers le large, entre février et octobre 2004,

- **Echelle journalière (échelle 3)** : site de Wimereux, selon un suivi lagrangien.

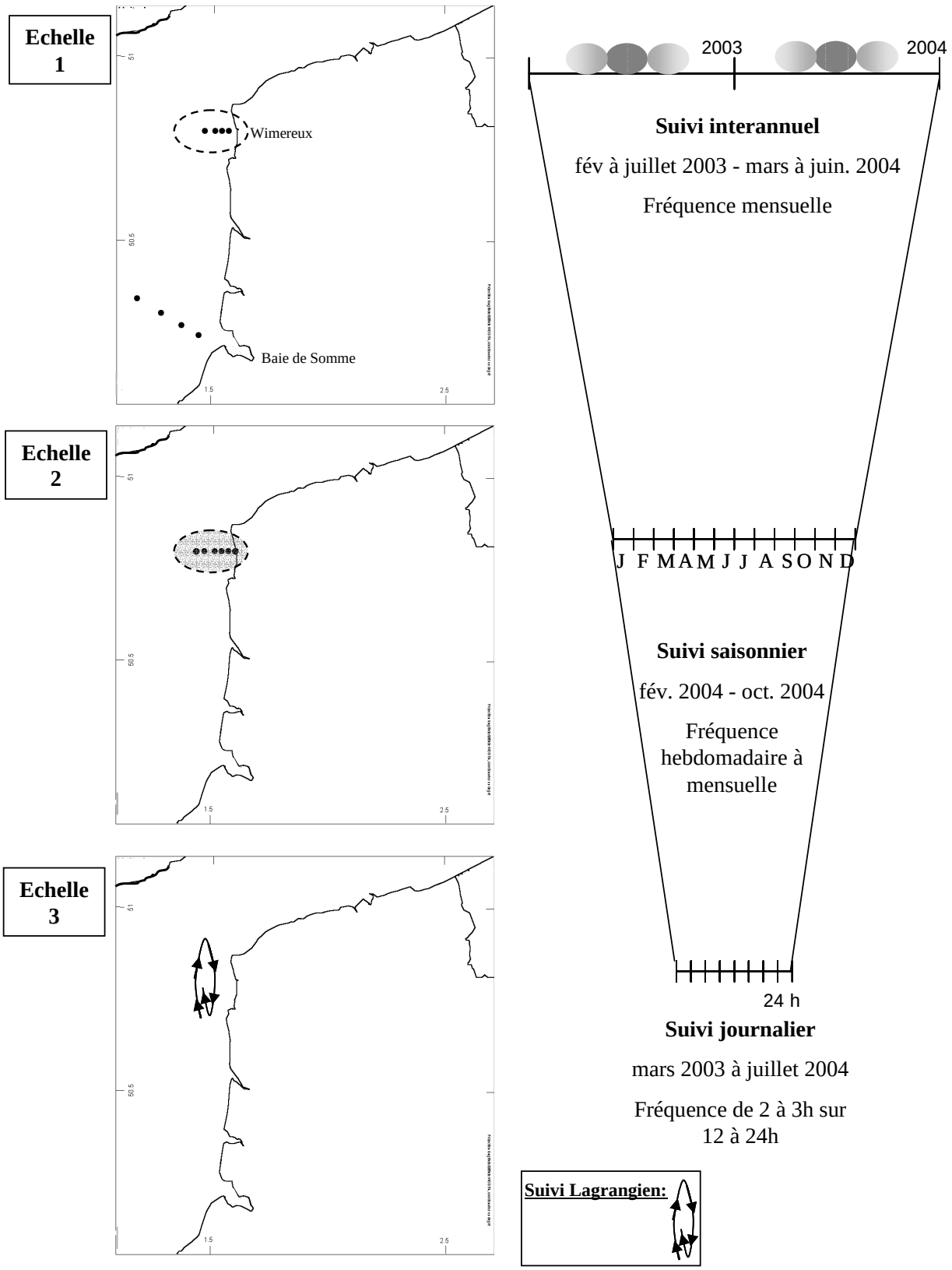
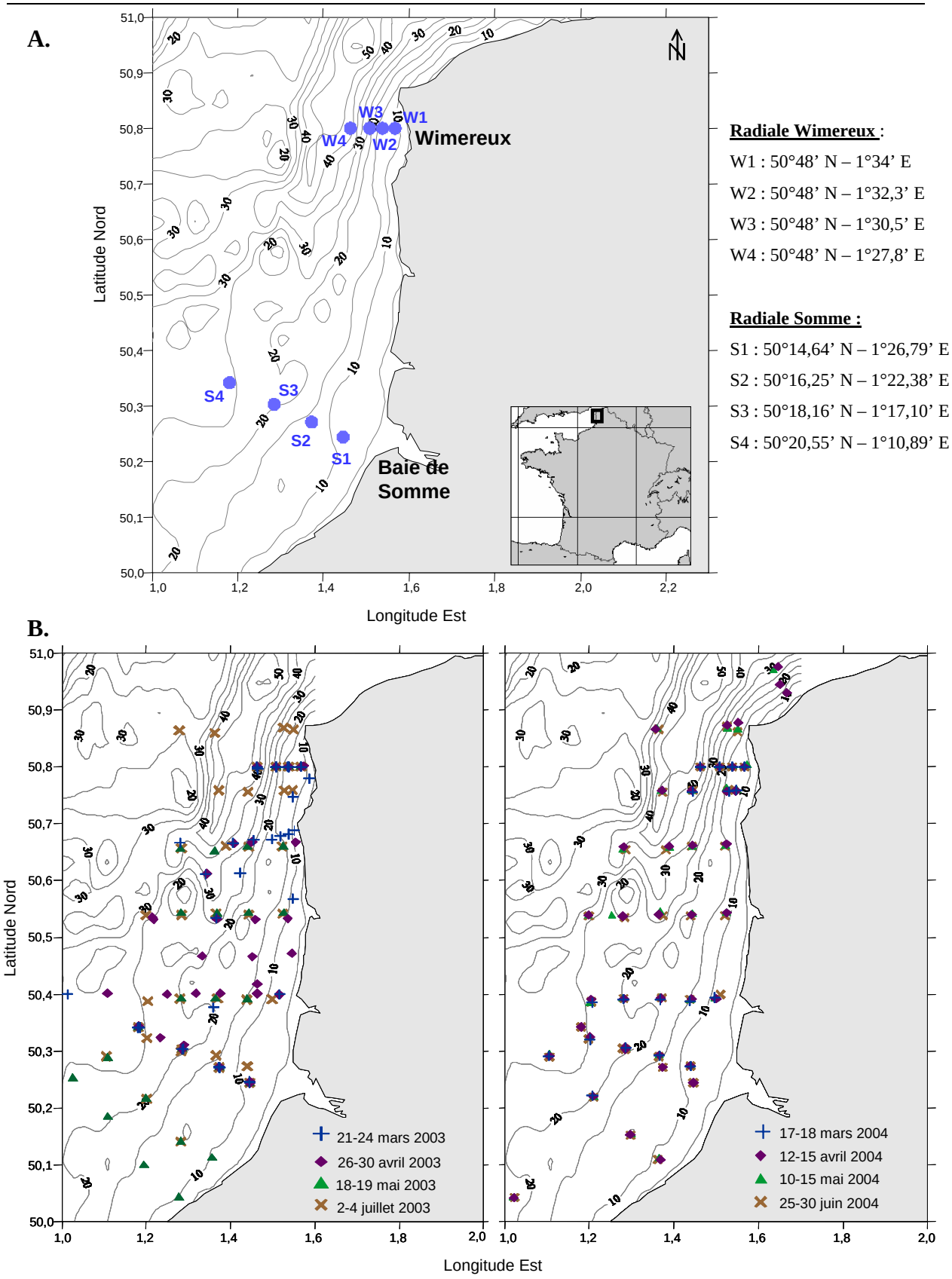


Figure II.1 : Site d'étude Manche orientale – Présentation des échelles spatio-temporelles d'observation (Echelles 1 à 3) : localisation des points de prélèvement pour chaque échelle spatiale et chaque échelle temporelle associée.



Radiale Wimereux :

W1 : 50°48' N – 1°34' E

W2 : 50°48' N – 1°32,3' E

W3 : 50°48' N – 1°30,5' E

W4 : 50°48' N – 1°27,8' E

Radiale Somme :

S1 : 50°14,64' N – 1°26,79' E

S2 : 50°16,25' N – 1°22,38' E

S3 : 50°18,16' N – 1°17,10' E

S4 : 50°20,55' N – 1°10,89' E

Figure II.2 : Localisation des stations d'échantillonnage correspondant à l'échelle 1 (inter annuelle et inter site) d'observation.

A. Stations échantillonnées au cours des transects côte/large sur les sites de Wimereux et baie de Somme.
B. Stations d'échantillonnage complémentaires réalisées sur l'ensemble de la zone d'étude en 2003 et 2004 (campagnes de mesures bio-optique « PHABMO II » et « PHABOP »).

Les paragraphes suivants (II.1 à II.3) permettent de replacer dans une approche hiérarchisée de l'écosystème Manche orientale, les différentes stratégies d'échantillonnage développées. Le choix des échelles, la problématique et les objectifs propres à chaque échelle d'étude y sont expliqués.

II.1. Echelle 1 : Approche globale de l'écosystème à l'échelle inter annuelle[2]

Le premier objectif de ce travail est de développer une première approche du compartiment bactérien à l'échelle inter annuelle sur l'ensemble de l'écosystème Manche orientale. Plus précisément, il s'agit de connaître la variabilité à méso-échelle des conditions hydrologiques, chimiques (concentrations en sels nutritifs) et biologiques (concentrations en chlorophylle *a*) susceptibles d'avoir une influence sur la dynamique bactérienne. Dans ce contexte, il sera alors possible d'appréhender la variabilité des stocks (abondances) et des processus (productions) bactériens, et de cibler les sites et les périodes caractéristiques d'un type de fonctionnement microbien (périodes de fortes productions bactériennes hétérotrophes, par exemple). Afin de répondre à ce premier objectif, deux sites d'étude, Wimereux et baie de Somme, ont été choisis pour leur situation géographique (Figure II.2.A) et leurs caractéristiques hydrodynamiques particulières. Ils se situent respectivement aux limites nord et sud de la Manche orientale et constituent deux zones stratégiques du "fleuve côtier" (Brylinski *et al.,* 1991) :

a. la baie de Somme (50°15' N – 1°33' E) s'intègre dans le système côtier à la transition entre deux provinces biologiques en Manche orientale préalablement identifiées par Brunet (1994). Cette zone côtière, située à l'embouchure d'un estuaire, est soumise à d'importants apports continentaux en Matières en Suspension (MES) et nutriments (Prygiel *et al.,* 2000), en particulier sous forme de nitrates (Loquet *et al.,* 2000). Cette zone s'étend amplement vers le large (isobathe 20 m ; Brylinski et Lagadeuc, 1990) et peut être soumise à des phénomènes de rétention de matière en raison d'une dérive résiduelle des masses d'eau limitée. Elle est initiatrice d'une production biologique, en particulier de fortes biomasses phytoplanctoniques, qui dérive progressivement vers le nord jusqu'au détroit du Pas-de-Calais (Brylinski *et al.,* 1996 ; Hoch et Garreau, 1998 ; Breton *et al.,* 2000 ; Vantrepotte, 2003).

[2] Le terme « échelle inter annuelle » fait référence, dans l'ensemble de la partie II, à l'étude des conditions hydrologiques, chimiques et biologiques, et de la dynamique bactérienne sur deux années consécutives (2003 et 2004), même si, d'un point de vue terminologique, il désigne plutôt des études réalisées sur 5 à 10 ans (*e.g.* Beaugrand et Reid, 2003 ; Beaugrand, 2005).

Tableau II.1 :

A. Calendrier des campagnes de prélèvements suivies sur les différentes stations des deux sites d'étude (W pour les stations du site de Wimereux et S pour celles de la baie de Somme) entre mars 2003 et juin 2004 (Echelle 1).

Absence de prélèvement

B. Conditions de marée lors des différentes campagnes relatives à l'échelle 1. MM : marée moyenne ; ME : mortes eaux ; VE : vives eaux ; F : flot ; J : jusant (d'après les données du SHOM[3])

A.		**STATIONS**							
		W1	**W2**	**W3**	**W4**	**S1**	**S2**	**S3**	**S4**
2	**Mars**	x	x	x	x	x	x	x	x
0	**Avril**	x	x	x	x	x	x	x	x
0	**Mai**	x	x	x	x	x	x	x	x
3	**Juillet**	x	x	x	x	x	x	x	x
2	**Fév.**	x	x	x	x	x	x	x	x
0	**Avril**	x	x	x	x	x	x	x	x
0	**Mai**	x	x	x	x				
4	**Juin**	x	x	x	x	x	x	x	x

B.	**Période**	**Site**	**Date**	**Marée**	**F/J**
2 0 0 3	**Mars**	W	16.03	MM	F
		S	18.03	VE	F
	Avril	W	22.04	ME	F
		S	23.04	ME	J
	Mai	W	12.05	VE	F
		S	13.05	MM	F
	Juillet	W	06.07	ME	J
		S	10.07	ME	F
2 0 0 4	**Février**	W	15.02	ME	F
		S	19.02	MM	F
	Avril	W	21.04	MM	F
		S	23.04	MM	F
	Mai	W	07.05	VE	F
	Juin	W	18.06	MM	F
		S	22.06	MM	F

[3] SHOM : Service Hydrographique et Océanographique de la Marine

b. le site de Wimereux (50° 48'N – 1° 35'E) est situé à la limite entre la Manche orientale et le détroit du Pas de Calais. Situé au nord de la zone d'étude, il est le récepteur de la dérive des masses d'eau dont la production biologique a été initiée au large de la baie de Somme. Les conditions hydrodynamiques resserrent les eaux côtières le long du littoral. De ce fait, les eaux du large sont plus proches de la côte (Brylinski *et al.*, 1981).

Ces deux sites d'étude présentent des caractéristiques communes de par leur localisation côtière, l'influence continentale qu'ils subissent (apports en eau douce, en nutriments). Cependant, si l'effet des forçages hydrodynamiques est le même dans les deux zones, son intensité est différente. Ainsi l'impact différentiel de l'hydrodynamisme sur l'hydrobiologie des masses d'eau permet de définir deux sous-écosystèmes bien contrastés au Nord et au Sud présentant chacun des gradients côte/large marqués. Les stratégies d'échantillonnage développées par la suite tiennent compte des caractéristiques propres à chaque sous-écosystème.

Sur chacun de ces deux sites, une radiale côte/large a été suivie (Figure II.2.A) au cours des périodes précédant, accompagnant et suivant les phases clefs du développement de *P. globosa*, en 2003 et 2004 (Tableau II.1).

Une étude des propriétés optiques des masses d'eau a été réalisée parallèlement à notre échantillonnage sur les radiales Wimereux et Somme, et au cours des mêmes périodes clés du printemps (équipes LOCL-ELICO, Wimereux et LOV, Villefranche-sur-mer ; Figure II.2.B). Un échantillonnage des eaux de surface a permis d'établir une couverture hydrologique complète de l'écosystème Manche orientale, et de définir le contexte hydrologique (température et salinité), chimique (teneurs en sels nutritifs) et biologique (concentrations en chlorophylle *a*) de notre suivi inter annuel du compartiment bactérien. Quatre campagnes[4] océanographiques ont été réalisées entre mars et juillet 2003 (campagnes « PHAMO II »), et quatre autres campagnes entre mars et juin 2004 (« PHABOP »). Les dates et les conditions de marée des différents prélèvements sont présentées en annexes (Annexe A1).

Cette première échelle d'observation constitue une approche exploratoire de l'écosystème Manche orientale, permettant de cibler des zones et/ou périodes caractéristiques d'un fonctionnement particulier du compartiment bactérien. Il s'est avéré par la suite nécessaire de travailler sur une échelle plus fine (échelle saisonnière) et à plus haute fréquence (bi-hebdomadaire à hebdomadaire), et de centrer l'étude sur un site particulier (Wimereux).

[4] Ces campagnes seront citées dans la suite du manuscrit par le terme «campagnes bio-optiques ».

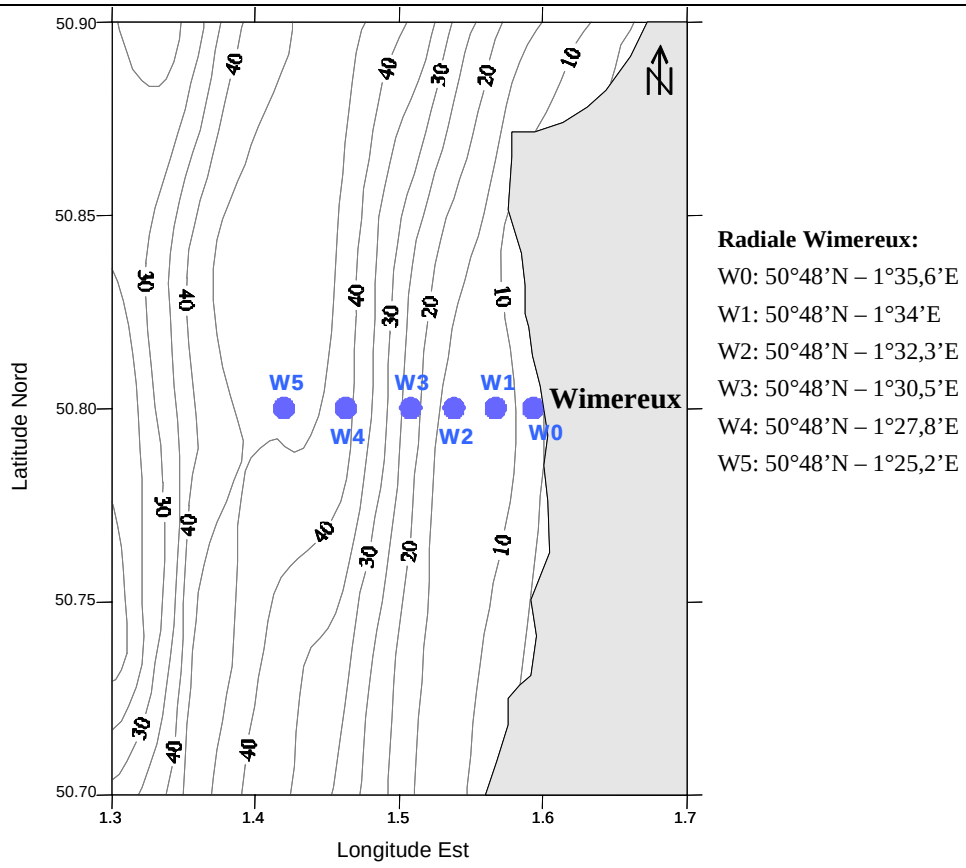


Figure II.3 : Localisation des stations d'échantillonnage relatives à l'échelle 2 (échelle saisonnière) d'observation.

Tableau II.2 : Calendrier des campagnes d'échantillonnage suivies depuis la côte vers le large sur le site de Wimereux en 2004 (Echelle 2). MM : marée moyenne ; ME : mortes-eaux ; VE : vives-eaux ; F : flot ; J : jusant.

Absence de prélèvement, en raison de mauvaises conditions météorologiques

	STATIONS							
2004	**W0**	**W1**	**W2**	**W3**	**W4**	**W5**	**Marée**	**F/J**
15.02	x	x	x	x	x	x	ME	F
09.03	x	x	x	x	x		VE	F
26.03	x	x	x	x	x	x	MM	F
08.04	x	x	x	x			VE	F
21.04	x	x	x	x	x	x	MM	F
07.05	x	x	x	x	x	x	VE	F
24.05	x	x	x	x	x	x	MM	F
04.06	x	x	x	x	x	x	VE	F
18.06	x	x	x	x	x	x	MM	F
05.07	x	x	x	x	x	x	VE	F
28.09	x	x	x	x			VE	F
15.10	x	x	x				VE	F

II.2. Echelle 2 : Site de Wimereux à l'échelle saisonnière

Le second objectif de cette étude est de caractériser la variabilité spatio-temporelle des populations bactériennes sur une échelle saisonnière (à plus grande résolution que lors de l'étude inter annuelle, Echelle 1) au cours d'une année d'étude (2004). Il s'agit alors de déterminer (i) la répartition et la dynamique bactérienne à cette échelle d'observation, (ii) les facteurs conditionnant cette répartition et cette dynamique et (iii) si ces facteurs de contrôle varient au cours des phases clefs du développement des blooms phytoplanctoniques (*P. globosa*).

Pour répondre à cet objectif, notre étude a été ciblée sur les différentes masses d'eau du site de Wimereux (Figure II.3). Ce site a été choisi pour une étude à l'échelle saisonnière (i) du fait de son accessibilité permettant un grand nombre de prospections (en comparaison à la Baie de Somme), (ii) en raison d'un gradient côte/large moins prononcé qu'en baie de Somme (*i.e.* influence fluviatile moins forte), permettant potentiellement d'obtenir un signal saisonnier plus clair et plus marqué, et (iii) parce qu'il intègre l'ensemble des apports (MES, Lafite *et al.*, 2000 ; sels nutritifs, Loquet *et al.*, 2000 en particulier) en provenance du sud, assurant le maintien du bloom phytoplanctonique entre février et mai (5 à 30 µg Chl-*a*.L^{-1} ; Brunet, 1994).

Une radiale de 6 stations a été suivie entre février et octobre 2004, à chaque fois dans les mêmes conditions de marée (Tableau II.2). Ce suivi a été réalisé à (i) fréquence bi-hebdomadaire et/ou hebdomadaire pendant les périodes précédant (hiver), accompagnant (printemps) et suivant (été et automne) les blooms de diatomées et *P. globosa* et (ii) à fréquence mensuelle pour les périodes hors blooms (Tableau II.2).

Si cette échelle d'observation saisonnière fait état d'une forte variabilité temporelle du compartiment bactérien, cette variabilité est susceptible de s'exprimer à échelle plus fine (échelle journalière, horaire), en accord avec des travaux antérieurs révélant des temps de génération bactérienne de l'ordre de 14 à 35h (*e.g.* Ferrier-Pagès et Rassoulzadégan, 1994). De plus, du fait d'un régime marégraphique prononcé (mégatidal) induisant des changements de masses d'eau, le site de Wimereux est caractérisé par une variabilité spatiale marquée (*i.e.* gradient côte/large, zone frontale). On a alors cherché à s'en affranchir dans l'échelle suivante d'observation, par des suivis lagrangiens de masse d'eau.

II.3. Echelle 3 : Site de Wimereux à l'échelle journalière

Le troisième objectif consiste à caractériser la variabilité journalière des populations bactériennes sur une échelle spatiale et temporelle réduite, à différents moments de la succession phytoplanctonique définie aux échelles 1 et 2 sur les années 2003 et 2004.

Certaines études ont mis l'accent sur l'existence d'une variabilité journalière importante de la production bactérienne et ont avancé l'existence d'un cycle diurne et nocturne comparable à celui des productions primaires phytoplanctoniques (Hagström et Larrson, 1984 ; Turley et Lochte, 1986). D'autre études ont au contraire mis en évidence des variations journalières de la production bactérienne comprises entre 15 et 30% de la moyenne journalière sans cycle journalier apparent (Riemann et Søndergaard, 1984 ; Van Wambeke *et al.,* 2002), avec des variations de moindre importance dans certaines conditions hydrologiques (eaux du large ; (Barbosa *et al.,* 2001). Cette variabilité a aussi été observée en Manche orientale. Les productions matinales bactériennes peuvent en effet représenter de 50% à plus de la totalité de la production journalière (suivi eulérien en point fixe), sans que puisse être établi un cycle d'évolution particulier (Lamy et Artigas, Annexe B1). L'étude des variations des processus bactériens à court terme s'avère d'autant plus importante dans le cadre du couplage/découplage entre phytoplancton et bactéries (Van Wambeke *et al.,* 2002). En effet, étant donné que les producteurs primaires autotrophes doivent répondre au cycle journalier de la disponibilité en lumière, l'existence d'un cycle journalier pour le compartiment bactérien, avec des activités plus intenses pendant la journée solaire, indiquerait un étroit couplage phytoplancton / bactéries (Fuhrman *et al.,* 1985). Au contraire, l'absence de cycle journalier significatif des activités et des abondances bactériennes pourrait être un indice de (i) l'absence de couplage direct entre ces deux maillons trophiques et (ii) la dépendance de la croissance bactérienne vis-à-vis d'autres ressources trophiques (Gasol *et al.,* 1998).

Pour répondre à ce troisième objectif, le site de Wimereux a fait l'objet d'un suivi à l'échelle journalière (Tableau II.3). Un suivi lagrangien des masses d'eau a été réalisé, grâce à un système dérivant conçu par Alexeï Sentchev de l'UMR 8013 ELICO, et fabriqué avec notre collaboration (Figure II.4), couplé à une bouée dérivante de type ARGOS. Les suivis ont été effectués entre mars 2003 et juin 2004, avant, après et à différents moments du bloom phytoplanctonique de *P. globosa*. Les échantillons ont été collectés à proximité de la bouée (de 10 à 20 m) à une fréquence de 2h (en 2003) ou 3h (2004) sur 12 à 24h de dérive.

Tableau II.3 : Calendrier des campagnes de prélèvements suivies sur le site de Wimereux sur une échelle d'observation journalière (Echelle 3). Les temps indiqués correspondent à : durée des campagnes journalières / fréquence d'échantillonnage. MM : marées moyennes ; ME : mortes eaux ; VE : vives eaux.

	Dates	Dérive	Marée
2003	17 mars	12h / 2h	MM
	11 – 12 mai	24h / 2-3h	ME
	07 – 08 juillet	24h / 2h	ME
2004	16 – 17 février	24h / 3h	ME
	20 – 21 avril	24h / 3h	VE
	19 juin	15h / 3h	MM

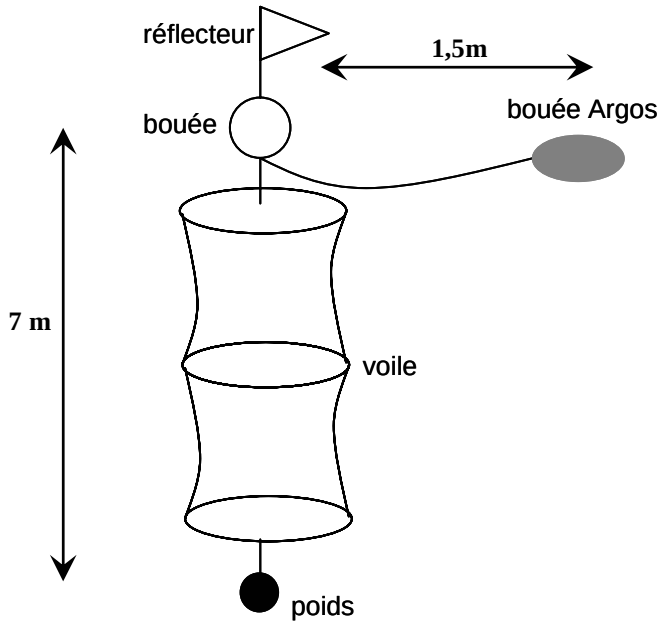


Figure II.4 : Structure schématique du système dérivant utilisé lors des suivis lagrangiens. Système mis au point par A. Sentchev (UMR 8013 ELICO).

CHAPITRE I
Méthodes d'études

I. Acquisition des données

I.1. Paramètres physico-chimiques

I.1.1. Température et salinité

Des profils verticaux de température (°C) et de salinité (p.s.u.) *in situ* ont été réalisés à l'aide d'une sonde CTD (Seabird 25 ; pas de mesure = 0,1 m). Les données correspondant aux prélèvements de surface ont été moyennées sur le premier mètre de la colonne d'eau.

I.1.2. Sels nutritifs[1]

Les prélèvements d'eau de mer ont été effectués à la bouteille NISKIN (5L) en surface (1 m sous la surface). Pour chaque prélèvement, des échantillons d'eau ont été conservés :

- dans des flacons en verre (100 mL) pour le dosage des ions ammonium (NH_4^+), puis stockés à l'obscurité après ajout des réactifs,
- dans des tubes à hémolyse en polyéthylène (10 mL), stockés à bord à -18°C dans l'attente de l'analyse des ions nitrates (NO_3^-), silicates $[Si(OH)_4]$[2], et phosphates (HPO_4^{2-})[3].

Les ions ammonium sont dosés manuellement selon la méthode de Koroleff (1969) en raison de la grande instabilité de cet ion en solution et de la cinétique de réaction qui nécessite au moins 6 à 8h pour être totale (Koroleff, 1969).

Le dosage des sels nutritifs nitrates, silicates et phosphates est réalisé au laboratoire à l'aide de la chaîne semi-automatique Alliance® Integral Futura, selon les protocoles de Tréguer et Le Corre (1974). Ceux-ci sont basés sur la spectrométrie d'absorption (colorimétrie) :

[1] Tous les dosages de sels nutritifs ont été réalisés sous la coordination de V. Gentilhomme de l'équipe 3P de l'UMR 8013 ELICO à la Station Marine de Wimereux.
[2] Au pH habituel de l'eau de mer (~ 8.2), le silicium dissous se trouve majoritairement (95%) sous la forme d'acide orthosilicique $[Si(OH)_4]$, le reste étant sous la forme ionisée $[Si(OH)_3^-$: 5%].
[3] La forme majoritaire du phosphore inorganique est l'orthophosphate. Dans l'eau de mer, les orthophosphates sont présents sous deux formes : PO_4^{3-} (10%) et HPO_4^{2-} (90%).
Par la suite les expressions « ions silicates » et « ions phosphates » se réfèrent à leur forme prédominante dans l'eau de mer.

l'absorbance des complexes colorés formés après réaction est mesurée par un colorimètre, à la longueur d'onde correspondant à chaque ion dosé.

Le dosage des ions NO_3^- utilise la méthode de Woods *et al.* (1967). La méthode de dosage des ions $Si(OH)_4$ appliquée est celle proposée par Mullin et Riley (1962), et le dosage des ions HPO_4^{2-} suit la méthode développée par Murphy et Riley (1962).

Pour la majorité des données, les échantillons ont été traités au retour de campagne en mer. Cependant, certains échantillons acquis en 2004 ont été dosés tardivement (à l'exception des ions ammonium), après plusieurs mois de congélation. Les résultats issus des échantillons du 18 juin au 28 octobre 2004, sur la radiale de Wimereux, ont donc été traités dans la suite du manuscrit avec précaution. Les précautions prises ont été de ne mettre en évidence que le cycle saisonnier des ions nitrates et silicates, puisque les ions phosphates sont apparus particulièrement sensibles à la congélation excessive (Aminot et Chaussepied, 1983). Les tendances saisonnières obtenues ont été comparées pour validation à un point de référence SOMLIT[4] situé en zone côtière au sud du site de Wimereux (Point C, de coordonnées 50°40'75N – 1°31'17E). Par ailleurs, ces données acquises tardivement n'ont pas été utilisées dans les traitements statistiques du manuscrit.

I.1.3. Carbone organique dissous (COD[5])

Le contenu en carbone organique de chaque échantillon est mesuré à l'aide d'un analyseur de carbone organique total (TOC 5000 A, Shimadzu), fonctionnant selon le principe de l'oxydation catalytique à haute température (HTCO, Sugimura et Suzuki, 1988 ; revu par Cauwet, 1994).

Préalablement à toute manipulation ou mesure, tout le matériel utilisé est décontaminé par des lavages successifs à l'acide chlorhydrique (HCl, 10%) suivis de rinçages à l'eau ultrapure (MilliQ). Pour toute analyse sur la fraction dissoute, les échantillons d'eau de mer sont filtrés sous faible pression (< 100 mm Hg) sur des filtres en fibre de verre (GF/F Whatman ; porosité 0,7 µm) préalablement calcinés (450 °C, pendant 4-5h). Le filtrat est ensuite congelé jusqu'à l'analyse, empêchant une potentielle dégradation bactérienne des MOD.

Le carbone inorganique dissous (CID) est préalablement éliminé par acidification de chaque échantillon (10 mL) à l'acide (HCl 6N, pH final 2-3) et décarbonatation par un bullage sous flux d'oxygène ultrapur pendant 10 min.

[4] Service d'Observation en Milieu Littoral.
[5] Les analyses des concentrations en COD ont été effectuées au N.O.C. de Southampton, sous la coordination de D. Purdie.

L'échantillon ainsi traité est injecté (100 µL) dans un tube à combustion vertical porté à 680 °C et rempli de catalyseur (alumine Al_2O_3 imprégné de platine ; Cauwet, 1994). Le gaz échantillon produit est conduit jusqu'à une cellule infrarouge non dispersive (NIDR), où a lieu la mesure de CO_2 (µM). La concentration en CO_2 est quantifiée graphiquement sous forme de pics dont la valeur de la surface est ramenée à une courbe de calibrage (gamme étalon de solutions de caféine $C_8H_{10}N_4O_2$, MM 194,2 $g.mol^{-1}$, de concentrations en carbone de 10 à 200 µM). L'exactitude des mesures est testée fréquemment à l'aide de matériel de référence normalisé en laboratoire, constitué d'eau de mer de faible (0,0 ± 1,5 µM C) et moyenne (44 ± 1,5 µM C) concentrations.

Chaque échantillon d'eau de mer, de référence et de la gamme de calibrage, subit au minimum 3 injections successives. Le coefficient de variation résultant est inférieur à 3 % et correspond au seuil de précision analytique de la méthode.

I.2. Paramètres biologiques

I.2.1. Biomasse phytoplanctonique

Selon les échelles, et en raison du nombre important de collaborations au sein du projet, différentes méthodes de dosage des concentrations en chlorophylle *a* ont été utilisées et inter-calibrées au préalable.

Echelle 1 d'observation (écosystème Manche orientale à l'échelle inter annuelle).

Les données de concentrations en chlorophylle *a* analysées à cette échelle d'observation sont celles issues des missions bio-optiques[6], afin d'obtenir une plus grande couverture spatiale de la zone d'étude (voir carte des stations d'échantillonnage II.2.B). La mesure de la concentration en chlorophylle *a* est réalisée selon la méthode trichromatique et les concentrations déterminées à partir des équations recommandées par l'UNESCO (1966). Après filtration sur des filtres en fibre de verre, et congélation (-20°C), l'extraction des pigments photosynthétiques a lieu dans l'acétone à 90% (12h, 4°C) et les mesures d'absorbance d'extraits chlorophylliens sont réalisées à l'aide d'un spectromètre UVIKON 940 (Kontron instruments®).

[6] Ces mesures ont été réalisées à la Station Marine de Wimereux, sous la coordination de V. Gentilhomme.

Echelles 2 (saisonnière) et 3 (journalière) d'observation

La méthode employée ici est celle d'estimation fluorimétrique par acidification (Yentsch et Menzel, 1963). Les concentrations en chlorophylle *a* (Chl-*a*, $\mu g.L^{-1}$) dans l'eau du milieu sont déterminées d'après les équations de Lorenzen (1966).

Pour chaque station prospectée, les échantillons (0,5 à 1 L) sont filtrés sur filtres en fibre de verre (Whatman GF/F ; porosité 0,7 µm), puis les filtres sont congelés à -20°C à l'obscurité dans l'attente de leur analyse. L'extraction des pigments photosynthétiques a lieu dans l'acétone à 90% (8 mL, 4°C, pendant 12h) après dilacération des filtres. Les filtres sont ensuite tassés au fond des tubes d'extraction par centrifugation (3000 rpm à 4°C pendant 15 min.) et le surnageant (5 mL) est récupéré pour lecture de la fluorescence. La lecture au fluorimètre (Tuner Designs model 10-AU) s'effectue avant (F_O) et après acidification (F_A ; HCl 0,3N) des extraits chlorophylliens.

I.2.2. Abondance bactérienne totale

Des sous-échantillons d'eau de mer de 40 mL sont fixés avec du formol 30% (concentration finale de l'échantillon de 3%) saturé au borate de sodium afin d'ajuster le pH de la solution à celui de l'eau de mer. Ils sont alors conservés (entre 1 à 5 jours) à 4°C à l'obscurité dans l'attente de leur analyse au laboratoire. La méthode de dénombrement utilisée est celle décrite par Porter et Feig (1980) et depuis largement appliquée dans les études les plus récentes et dans des environnements variés (Artigas, 1998 ; Servais *et al.,* 1999; Jochem, 2001; Posch *et al.,* 2001 ; La Ferla *et al.,* 2005). Elle consiste à estimer les abondances bactériennes par comptages directs en microscopie à épifluorescence, après coloration par le DAPI (4-6-diamidino-2-phényl-indole). Le DAPI est ajouté à l'échantillon (2 mL) pour une concentration finale de 4 $\mu g.mL^{-1}$, concentration la mieux adaptée au site d'étude (Lamy *et al., sous presse*).

La formule suivante est ensuite appliquée:

$$AB = X \times \frac{A}{a} \times \frac{1}{D} \times \frac{1}{Vf} \qquad (1)$$

Où :

AB = Abondance bactérienne en $cell.mL^{-1}$; X = nombre moyen de cellules; A = aire du filtre effectivement employée (mm^2) ; a = aire du champ du microscope (μm^2); D = dilution effectuée ; Vf = volume d'échantillon filtré (mL).

Des triplicats d'échantillon ont été prélevés le long d'un gradient trophique côte / large (W1 à W4) de février à octobre 2003. Les comptages réalisés à partir de ces triplicats ont permis d'estimer une faible variabilité intrinsèque (CV compris entre 0,16% et 31% ; moyenne ~ 11%) des abondances bactériennes.

L'estimation stricte de la biomasse bactérienne par microscopie à épifluorescence requiert la détermination à la fois du biovolume des cellules bactériennes et d'un facteur de conversion de biovolume en biomasse. Dans mon travail, un facteur de conversion basé sur un modèle de biomasse constante a été choisi (Lee et Fuhrman, 1987). Ce facteur, de 20 fgC.cell^{-1}, fournit des valeurs de biomasses bactériennes pertinentes et est actuellement largement appliqué en écologie microbienne marine (Lovejoy *et al.,* 2000; Van Wambeke *et al.,* 2000, 2002 ; La Ferla *et al.,* 2005).

I.2.3. Production bactérienne

Cette technique fait appel à l'incorporation d'un traceur radioactif dans les cellules; pour notre étude, deux marqueurs radioactifs [thymidine et leucine tritiées (^{3}H)] sont utilisés en parallèle selon les protocoles établis de Kirchman et Hoch (1998), Ducklow *et al* (2002) et Cotrell et Kirchman (2003).

La thymidine tritiée est un précurseur de la synthèse d'ADN ; une mesure de la vitesse d'incorporation de ^{3}H-Thymidine donne donc une estimation fiable du taux de synthèse d'ADN. Par ailleurs, dès lors qu'une augmentation de matériel nucléique est inhérente à toute multiplication cellulaire, cette mesure d'incorporation donne aussi une estimation directe de la production de cellules bactériennes (Fuhrman et Azam, 1980 ; Servais, 1995; Servais et Lavandier, 1995). Le taux d'incorporation de leucine marquée dans les protéines permet d'estimer le taux de synthèse protéique. Comme les protéines représentent une fraction élevée et relativement constante de la biomasse bactérienne (approximativement 60%, Kirchman *et al.,* 1985 ; Simon et Azam, 1989), la production de biomasse bactérienne peut être calculée à partir de ce taux de synthèse protéique. Les voies de synthèse endogènes de l'ADN et des protéines, celles par utilisation de thymidine et leucine extracellulaires, respectivement, sont représentées schématiquement en Annexe A2.

I.2.3.1. Saturation en marqueur radioactif

Il est nécessaire dans un premier temps de s'affranchir au maximum du problème lié à la "dilution isotopique[7]" du marqueur radioactif à l'intérieur du pool bactérien intracellulaire. En effet, la radioactivité spécifique du marqueur exogène peut être diluée pendant l'incorporation dans les macromolécules (ADN pour ^{3}H-Thymidine, et protéines pour ^{3}H-Leucine) par d'autres sources de nucléotides synthétisées à l'intérieur de la cellule. Néanmoins, le rendement d'utilisation de marqueur exogène en milieu pélagique atteint 100% à condition que la concentration saturante du marqueur soir respectée (Bell, 1986 ; Moriarty, 1986).

Nous avons déterminé que la saturation des bactéries en ^{3}H-Thymidine est atteinte pour des concentrations de 20 nM (Figure II.5.A). Cette concentration est d'ailleurs recommandée (Bell, 1993) et préconisée par de nombreux auteurs dans les études les plus récentes sur ce sujet (Becquevort *et al.,* 1998; Tuomi *et al.,* 1999 ; Shiah *et al.,* 2003). La concentration saturante en ^{3}H-Leucine obtenue à 20 nM (Figure II.5.B) correspond aussi à une concentration utilisée dans d'autres systèmes pélagiques côtiers (Van Wambeke *et al.,* 2004).

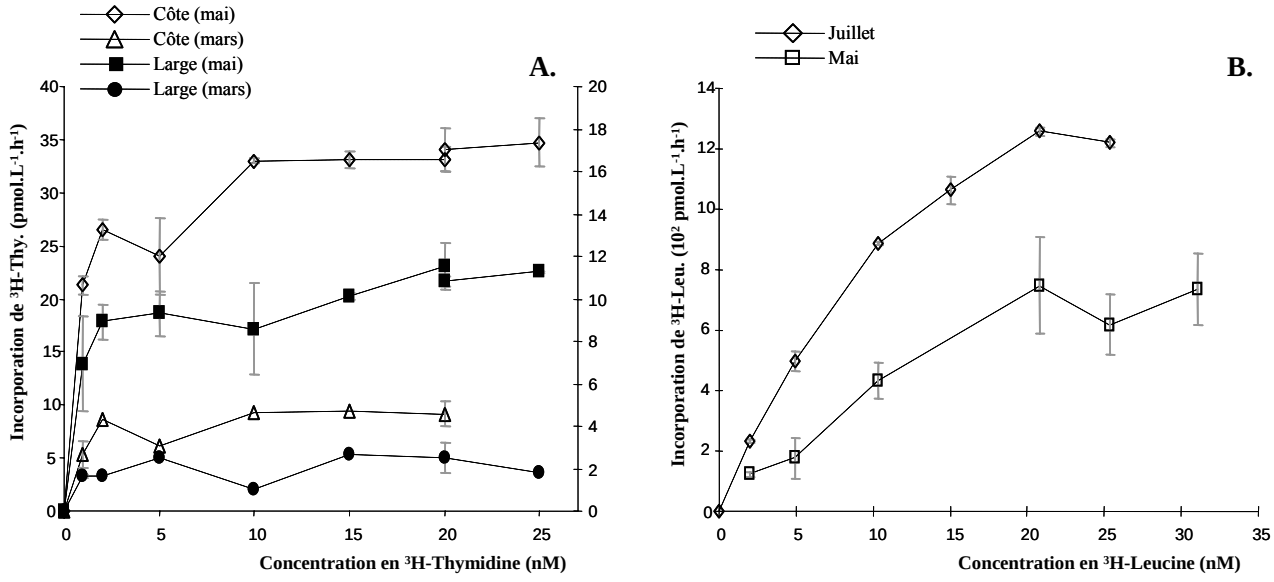


Figure II.5 : Courbes de saturation : cinétique d'incorporation du traceur radioactif (en pmol.L^{-1}.h^{-1}) en fonction de la concentration en traceur ajoutée. Données acquises sur le site de Wimereux. **A.** ^{3}H-Thymidine ; **B.** ^{3}H-Leucine.

[7] Le terme *dilution isotopique* désigne la dilution de la radioactivité de la molécule marquée au niveau du pool (non radioactif) de cette même molécule, déjà présente dans l'échantillon ou au sein de la cellule (Moriarty, 1986 ; Servais et Lavandier, 1995).

I.2.3.2. Spécificité du marquage

D'autres macromolécules que l'ADN, ou les protéines, peuvent en effet être marquées par les traceurs radioactifs. De ce fait, la fraction du traceur incorporée à l'intérieur des macromolécules pourrait n'être qu'une faible proportion de celui incorporé de façon exogène dans la cellule. Dans ce cas, le temps d'incubation doit être suffisamment court pour que l'ADN dans le cas de la thymidine, et les protéines dans le cas de la leucine, soient les macromolécules majoritairement marquées par le tritium. De nombreux auteurs recommandent une durée d'incubation comprise entre 30 min. et 10h suivant le type de milieu étudié (Bell, 1993; Kirchman, 1993 ; Servais et Lavandier, 1995). Cette durée est déterminée expérimentalement par un suivi de l'évolution de l'incorporation du marqueur radioactif en fonction du temps d'incubation : elle doit alors être comprise dans la période correspondant à la linéarité de l'incorporation du marqueur en fonction du temps. Les durées d'incubation choisies, d'1h30 pour la mesure par incorporation de ^{3}H-Thymidine (Figure II.6.A) et d'1h00 pour celle par incorporation de ^{3}H-Leucine (Figure II.6.B) répondent à cette condition.

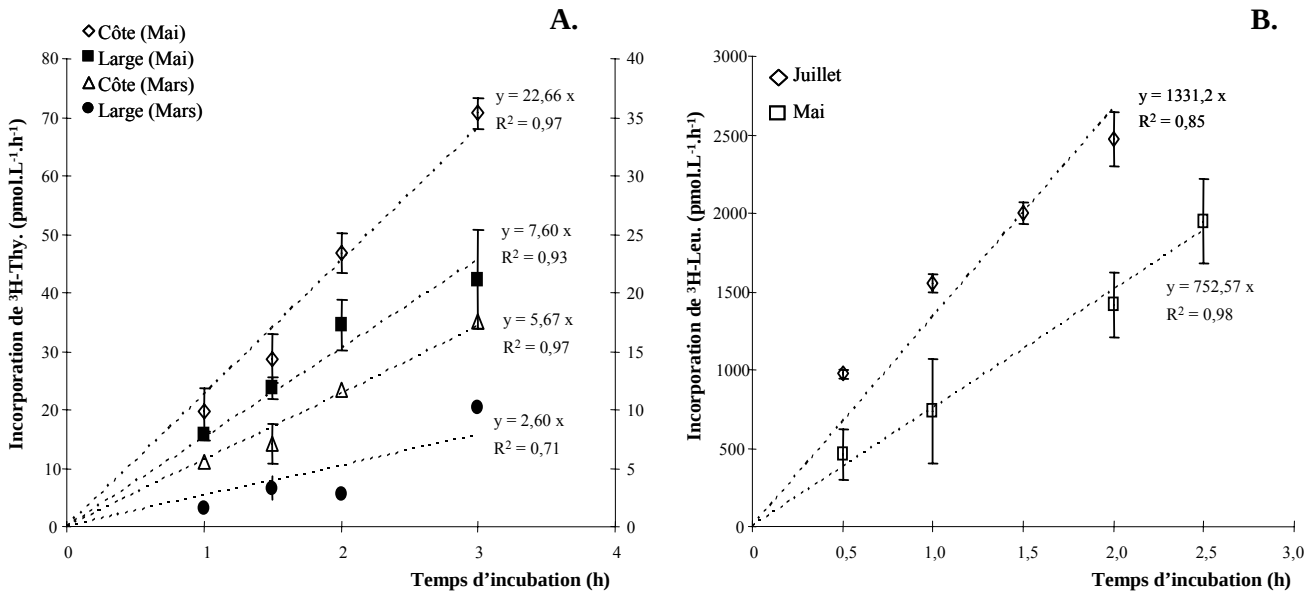


Figure II.6 : Cinétique d'incorporation du traceur radioactif (en pmol.L^{-1}.h^{-1}) en fonction du temps d'incubation (concentration finale pour chaque traceur de 20nM). **A.** ^{3}H-Thymidine; **B.** ^{3}H-Leucine.

I.2.3.3. Protocole de mesure

Le protocole employé pour la thymidine tritiée est celui décrit par Fuhrman et Azam (1980) et Bell (1993). Pour la leucine tritiée, les protocoles développés sont ceux décrit par Kirchman *et al.* (1985), Simon et Azam (1989) et Kirchman (1993, 2000). L'incorporation des deux traceurs est faite au cours de deux incubations distinctes (Kirchman et Hoch, 1998 ; Ducklow *et al.,* 2002 ; Cottrell et Kirchman, 2003). Un schéma récapitulatif du protocole employé est présenté en Annexe A3.

Des sous-échantillons d'eau de surface (10 mL en triplicats pour chaque mesure) sont prélevés à l'aide d'une pipette stérile. Le traceur radioactif est ensuite immédiatement ajouté aux échantillons à raison d'une concentration finale:

- de 20 nM pour la ^{3}H-Thymidine
- de 20 nM pour la ^{3}H-Leucine. Dans ce cas, les incubations sont réalisées en ajoutant à une solution de Leucine marquée (concentration finale de 1 nM), une solution de L-Leucine non marquée (Kirchman, 1993 ; concentration finale à 19nM).

Pour chaque point de prélèvement et pour chaque marqueur radioactif sont réalisés des blancs (10 mL en duplicats). Les échantillons d'eau de mer sont alors fixés avec du formol saturé au borate de sodium (concentration finale de 2 à 3%) avant l'incorporation des réactifs. Les échantillons d'eau marqués sont incubés, à l'obscurité et à température *in situ* dans un bac placé sur le pont du bateau et au sein duquel est assuré une circulation d'eau pompée en surface. L'arrêt des incubations se fait par addition dans chaque tube de 10 mL de TCA (acide tri-chloracétique) froid à 10% (concentration finale ; Chin-Leo et Kirchman, 1988). Les tubes sont ensuite placés dans de la glace pendant 20 min. avant filtration.

Lors de la filtration le contenu de chacun des tubes (triplicats d'essais et duplicats de blancs) est filtré sur des membranes en Polycarbonate (Nucléopore, porosité : 0,22 µm). La récupération de la totalité du matériel bactérien marqué est assurée en rinçant les tubes d'incubation et les tourelles de filtration par 2mL de TCA froid à 5% (concentration finale). Les tourelles de filtration sont également rincées avec 2 x 1 mL d'éthanol à 80% (concentration finale) pour éliminer toute trace de thymidine ou de leucine non incorporée dans les macromolécules, et limiter les erreurs provenant de la filtration successive des répliquas (Wicks et Robarts, 1988 ; Hollibaugh et Wong, 1992). Les filtres sont alors déposés dans des flacons à scintillation avec 5 mL de liquide scintillant (ULTIMA GOLD, Packard),

qui sont préservés à température ambiante et à l'obscurité. La radioactivité associée au filtre est ensuite mesurée au laboratoire à l'aide d'un compteur à scintillation (Perkin Elmer).

I.2.3.4. Calcul de la production cellulaire par ^{3}H-Thymidine

Les données sont d'abord obtenues en moles de thymidine marquée incorporées par unité de volume et de temps (moles de thymidine $L^{-1}.h^{-1}$) puis converties en quantité de cellules bactériennes produites par litre et par heure, à l'aide d'un facteur de conversion TCF ("Thymidine Conversion Factor"). Le TCF correspond au nombre de cellules produites par mole de thymidine incorporée ; Bell, 1993), et est choisi parmi les plus employés dans la littérature :

$$PB = \frac{(DPMe - DPMb) \times 4{,}505.10^{-13} \times TCF}{AS \times V \times T} \qquad (2)$$

Où :

PB = production bactérienne en $cell.L^{-1}.h^{-1}$
DPM = désintégrations par minute ; DPM_e, moyenne des triplicats d'essais avec un coefficient de variation (C.V.). entre 5% et 20% ;DPM_b, moyenne des duplicats de blancs avec un C.V. entre 5% et 20%
$4{,}505 \times 10^{-13}$ = nombre de Curie (Ci) par DPM
AS = activité spécifique de la solution de ^{3}H-Thymidine, donnée par le fabricant = 50-51 Ci $(mmol\ thy)^{-1}$; le rapport $4{,}505 \times 10^{-13}$ / A.S. sert à convertir les DPM en moles de thymidine
TCF = $2{,}1 \times 10^{18}$ $cell.mol^{-1}$ de thymidine, facteur empirique correspondant à une moyenne sur 97 études en milieu marin (Ducklow et Carlson, 1992) et le plus largement utilisé (Becquevort *et al.,* 1998; Tuomi *et al.,* 1999; Lovejoy *et al.,* 2000; Rousseau *et al.,* 2000).
V = volume d'échantillon incubé en mL = 10 mL; T = temps d'incubation en heure = 1,5 h

La production est exprimée en unités de carbone par unité de volume et de temps ($gC.L^{-1}.h^{-1}$) grâce au facteur de conversion de 20 $fgC.cell^{-1}$ (Lee et Fuhrman, 1987 ; voir § I.2.2).
Les taux de croissance bactérienne Bμ ont été calculés à partir des abondances bactériennes AB (voir § I.2.2) et des productions bactériennes estimées après incorporation de ^{3}H-Thymidine (PB), d'après la formule suivante (Kirchman, 2002) :

$$B\mu = \frac{PB}{AB} \qquad (3)$$

I.2.3.5. Calcul de la production de biomasse par ^{3}H-Leucine

L'activité d'incorporation dans le TCA précipité est donnée d'abord en mole de leucine incorporée par unité de volume et par unité de temps.

$$IL_b = \frac{(DPM_e - DPM_b) \times 4{,}505.10^{-13}}{AS \times V \times T} \quad (4)$$

Où:

IL_b = incorporation brute de ^{3}H-Leucine en mol.L^{-1}.h^{-1}
DPM = désintégrations par minute ; DPM_e, moyenne des triplicats d'essai, avec un C.V. entre 5% et 20% ; DPM_b, moyenne des duplicats de blancs, avec un C.V. entre 5% et 20%
$4{,}505.10^{-13}$ = nombre de Curie (Ci) par DPM
AS = activité spécifique de la solution de ^{3}H-leucine, donnée par le fabricant = 170 Ci (mmol leu)$^{-1}$
le rapport $4.505.10^{-13}$ / A.S. sert à convertir les DPM en moles de leucine
V = volume d'échantillon incubé en mL = 10 mL; T = temps d'incubation en heure = 1 h

Un mélange de ^{3}H-Leucine et de L-Leucine non radioactive a été utilisé (Kirchman, 1993 ; § I.2.3.3) pour des raisons d'économie et de minimisation des déchets radioactifs. Le calcul de l'incorporation de leucine doit prendre en compte cette dilution isotopique :

$$IL = IL_b \times \frac{\left[L - Leu + {}^3H - Leu\right]}{\left[{}^3H - Leu\right]} \quad (5)$$

Où :

IL = incorporation de ^{3}H-Leucine en mol.L^{-1}.h^{-1}
IL_b = incorporation brute de ^{3}H-Leucine en mol.L^{-1}.h^{-1} - équation (4)
[L-Leu + ^{3}H-Leu] = concentration en L-Leucine froide + Leucine radioactive ; [^{3}H-Leu] = concentration en Leucine radioactive

Le calcul de la production de biomasse bactérienne en terme de carbone (PBB) à partir de la vitesse de synthèse protéique exprimée en mole de leucine incorporée dans les protéines par litre et par h (IL) nécessite l'utilisation de facteurs de conversion :

$$PBB = IL \times 131{,}2 \times (\%Leu)^{-1} \times (C/\mathrm{Pr}ot) \times DI \quad (6)$$

Où :

PBB = production de biomasse bactérienne en gC.L^{-1}.h^{-1} ;
IL = incorporation de ^{3}H-Leucine en mol.L^{-1}.h^{-1} – équation (5)
131,2 = poids moléculaire de la leucine en g.mol^{-1}
% Leu = pourcentage de Leucine dans les protéines = 0,073 (Kirchman *et al.,* 1985)
C/Prot = rapport carbone cellulaire / poids de protéines = 0,86 (Simon et Azam, 1989)
DI = dilution isotopique = 2 (Simon et Azam, 1989)

Ces 3 derniers rapports ont été largement appliqués dans les études les plus récentes (Van Wambeke *et al.,* 2004 ; La Ferla *et al.,* 2005 ; Maixandeau *et al.,* 2005).

II. Traitements et analyses des données

Le paragraphe suivant présente les différentes approches numériques développées au cours de l'approche multi-échelle de l'écosystème Manche orientale.

II.1. Analyses graphiques

II.1.1. Box-Plot

Le tracé en Box-Plot (ou Boîte de dispersion de Tukey, 1977) résume cinq informations sur un jeu de données : le minimum, le 1er quartile (Q1), le 2ème quartile (Q2 ou médiane), le 3ème quartile (Q3) et le maximum. Les extrémités d'une boîte de dispersion représentent Q1 (extrémité inférieure de la boîte) et Q3 (extrémité supérieure), qui correspondent respectivement à 25% et 75% des observations (Figure II.7). La médiane Q2 partage la série en deux groupes d'effectifs égaux (50% des observations) et est représentée par une ligne horizontale sur la boîte de dispersion (Figure II.7). De part et d'autre de la boîte sont représentées les valeurs adjacentes inférieures et supérieures (Figure II.7), déterminées à partir de l'écart interquartile (EIQ = Q3 – Q1). Ce dernier est d'ailleurs utilisé comme indicateur de dispersion : il correspond à 50% des effectifs situés dans la partie centrale de la distribution.

- la valeur adjacente inférieure est la valeur minimum du jeu de données qui est supérieure à la valeur frontière basse déterminée par la formule suivante : $Frontière \cdot basse = Q1 - 1{,}5 \times EIQ$
- la valeur adjacente supérieure est la valeur maximum du jeu de données qui est inférieure à la valeur frontière haute, déterminée par la formule suivante :

$Frontière \cdot haute = Q3 + 1{,}5 \times EIQ$

Les valeurs atypiques ou extrêmes (*outliers* dans la littérature anglo-saxonne) situées au-delà des valeurs frontières sont individualisées par un astérisque (* ; Figure II.7).

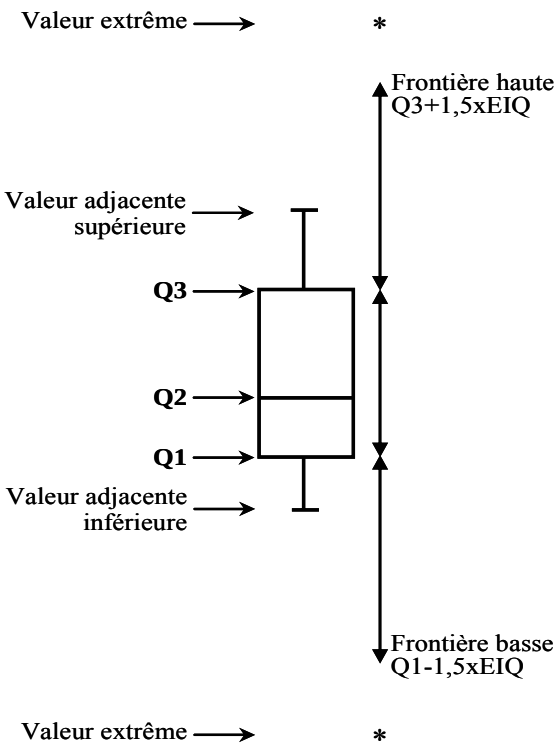


Figure II.7 : Représentation schématique d'une boîte de dispersion ou Box-Plot. Les différentes valeurs caractéristiques de ce type de tracé citées dans le texte y sont figurées. Q1 = 1er quartile ; Q2 = médiane ; Q3 = 3ème quartile.

La représentation des données en diagramme Box-Plot apporte une bonne représentation de la valeur centrale et de la dispersion d'une distribution. Le tracé en Box-Plot a été utilisé selon un regroupement sur différents moments de la journée (matin, midi, après-midi et nuit) des ratios des taux d'incorporation des traceurs bactériens (^{3}H-Thymidine et ^{3}H-Leucine), lors des suivis de dérives des masses d'eau en 2003 et 2004. Cette mise en forme a permis de mettre en évidence l'évolution journalière des rapports des taux d'incorporation (cf. Echelle 3, Chapitre III, § III.2.4).

II.1.2. Cartographie spatio-temporelle

L'objectif principal est ici de montrer l'évolution spatio-temporelle des différents paramètres hydro-biologiques sur l'ensemble de la zone d'étude (entre la baie de Somme et Wimereux), afin de définir le contexte hydro-biologique et de le relier à la dynamique bactérienne. Le logiciel SURFER 8 (Golden Software) a été utilisé afin de réaliser des grilles d'interpolation à partir de données irrégulièrement distribuées dans l'espace et/ou dans le temps. Les paramètres hydro-biologiques (température, salinité, sels nutritifs et concentration

en chlorophylle *a*) de surface recueillis au cours des différentes campagnes « bio-optiques » en 2003 et 2004 (cf. Echelle 1, Chapitre II, § II) ont été traités avec ce logiciel.
Afin de suivre l'évolution spatio-temporelle des paramètres hydro-biologiques et bactériens depuis la côte vers le large sur le site de Wimereux entre février et octobre 2004, l'ensemble des paramètres recueillis sur la radiale côte-large de Wimereux au cours de l'année 2004 (Echelle 2, Chapitre III, § I, II et III) ont également fait l'objet d'un traitement sous SURFER.
Pour chacune de ces analyses, la méthode choisie est celle de « point Kriging » (krigeage par point), qui permet l'estimation de la valeur d'un point à partir des nœuds de la grille.

II.2. Analyses univariées

II.2.1. Méthode des sommes cumulées

Cette méthode, développée par Ibanez *et al.* (1993), permet de mettre en évidence les tendances évolutives d'une série de données. Elle est dite des « sommes cumulées » ou « tendance locale », et se propose :

(i) de détecter les changements survenant dans le niveau moyen de la série
(ii) de déterminer la date d'apparition de ces changements
(iii) d'estimer la valeur moyenne d'intervalles homogènes (*i.e.* moyenne locale déduite de la valeur de la pente)

Cette méthode consiste à (i) soustraire de chaque estimation de la série une valeur de référence (le plus souvent, et dans notre étude, la moyenne) et (ii) cumuler les résidus. Cette somme cumulée est très sensible au changement par rapport à la valeur moyenne d'une série. Graphiquement, elle permet de mettre en évidence des changements de tendance d'une série, illustrés par des décrochements ponctuels dans la série des sommes cumulées. Une pente positive correspond à l'observation d'une série de valeurs supérieures à la valeur moyenne. Au contraire, lorsque la série de valeurs observées est inférieure à la valeur moyenne, cela se traduit graphiquement par une pente négative.
La méthode des sommes cumulées a été appliquée aux paramètres hydrologiques des suivis lagrangiens (échelle 3) afin de mettre en évidence d'éventuels changements dans les tendances évolutives de ces paramètres, qui laisseraient alors supposer d'éventuels changements de masse d'eau.

II.2.2. ANOVA

Une analyse de variance (ANOVA ; Sokal et Rohlf, 1995) à un critère de classification a été appliquée dans le cadre de la comparaison des moyennes de plusieurs échantillons indépendants constitués à partir d'un unique critère de classification. Elle permet de vérifier si les différences observées au niveau des moyennes d'un ensemble de k échantillons sont imputables aux fluctuations d'échantillonnage ou non. Contrairement à ce que son nom évoque, elle ne compare pas les variances proprement dites, mais elle analyse les sources de variation de l'ensemble des données. Ainsi, la *dispersion*[8] *totale* de l'ensemble des données est partagée en composantes de différentes sources, à savoir, la *dispersion intergroupe*, aussi appelée factorielle, et la *dispersion intragroupe*, aussi appelée résiduelle ou due aux erreurs.

Cette méthode a été appliquée sur les données chimiques et biologiques journalières (échelle 3), pour déterminer s'il existe ou non un cycle journalier caractéristique des paramètres mesurés, à savoir des différences entre les moyennes matinales, celles du midi, de l'après-midi et de la nuit (d'après Van Wambeke *et al.,* 2002).

II.3. Analyses multivariées

II.3.1. Analyse en composantes principales (ACP)

L'ACP (Cooley et Lohnes, 1971 ; Benzécri *et al.,* 1973) s'applique à des tableaux à deux dimensions croisant des individus et des variables quantitatives. L'objectif principal de l'ACP consiste, d'une part, à réaliser des bilans des ressemblances entre individus et, d'autre part, à réaliser un bilan des liaisons entre variables.

Une typologie des individus est réalisée en se basant sur le principe que deux individus se ressembleront d'autant plus qu'ils possèderont des valeurs proches pour l'ensemble des variables. Dans cette analyse, la distance entre deux individus utilise la métrique euclidienne.

L'ensemble des variables est résumé par un petit nombre de variables synthétiques appelées composantes principales. La liaison entre deux variables est mesurée par le coefficient de corrélation linéaire.

[8] Le terme *dispersion*, employé dans ce contexte, signifie la somme des carrés des écarts entre une série de valeurs et leur moyenne.

Les matrices utilisées comprennent :

1) des individus représentés par les stations de prélèvements à différentes dates,
2) des variables qui diffèrent en fonction des objectifs de l'étude et de la problématique posée (paramètres hydrologiques, biologiques, bactériens)

Une ACP a été appliquée uniquement sur les données hydrologiques et biologiques acquises sur les sites de Wimereux et de la baie de Somme en 2003 et 2004, afin de mettre en évidence la variabilité inter annuelle et inter site (Echelle 1 d'observation).

II.3.2. Méthode de régionalisation à différents niveaux hiérarchiques

Dans le cadre du suivi saisonnier, la variabilité temporelle et l'hétérogénéité spatiale des stocks et des processus bactériens ont été étudiées sur 6 stations depuis la côte vers le large sur le site de Wimereux (échelle 2 d'observation). Afin de caractériser cette zone d'étude en sous-zones homogènes d'un point de vue hydrobiologique et/ou bactérien, la méthode synthétique de régionalisation proposée par Souissi *et al.* (2000) a été appliquée. Cette méthode consiste à régionaliser la zone d'étude (ici les 6 stations de la radiale côte/large du site de Wimereux) en utilisant des classifications hiérarchiques successives. Ces dernières permettent d'étudier les changements de similarités apparaissant entre les stations au cours du temps. Cette méthode comprend plusieurs étapes :

II.3.2.1. Classification hiérarchique pour chaque date de prélèvement

Le choix (i) d'un indice de similarité entre les individus et (ii) d'un algorithme de groupements des individus en fonction de leur similarité a été réalisé d'après Legendre et Legendre (1984 ; 1988).

A partir des 12 dates de prélèvement du suivi saisonnier sur le site de Wimereux, 12 classifications (ou dendrogrammes) ont été créées pour les 6 stations échantillonnées.

a. Classification des variables environnementales[9]

Pour chaque date de prélèvement, une classification hiérarchique a été réalisée en utilisant (i) la matrice centrée réduite des paramètres environnementaux (variables hydro-biologiques) sur chaque station et (ii) la métrique euclidienne pour construire la matrice de distance. D'un point de vue écologique, l'utilisation de la métrique euclidienne se justifie par la volonté de représenter exactement les dissimilarités observées entre nos stations de prélèvement. D'un point de vue mathématique, l'utilisation de cette métrique sur des données « dimensionnellement homogènes » pose peu de problème (Legendre et Legendre, 1984).

Le groupement des individus (ici, les stations de prélèvement) a été réalisé selon la méthode de la moyenne non Pondérée des Groupes Associés (UPGMA[10] ; Sneath et Sokal, 1973). La distance entre deux classes est calculée comme la distance moyenne entre tous les individus deux à deux dans deux classes différentes. Cette méthode de groupement moyen a été choisie car (i) elle ne dépend pas du nombre de liens qui existent entre les groupes mais plutôt de la similarité ou de la position moyenne des individus, et (ii) tous les individus se voient attribuer le même poids (Legendre et Legendre, 1998).

b. Classification des variables bactériennes[11]

Dans le cas des variables bactériennes, la matrice de distance a également été construite en utilisant la distance euclidienne, après avoir centré et réduit la base de données brutes.

Le groupement des stations d'après la distance entre variables biologiques a été réalisé selon la méthode du groupement par lien moyen (UPGMA) présentée préalablement pour les variables hydrobiologiques.

II.3.2.2. Identification des similarités entre stations

Les similarités entre stations sont basées sur le critère suivant : deux stations vont appartenir au même groupe indépendamment de la date d'échantillonnage. Cependant, le nombre de groupes dépend de la valeur utilisée pour « couper » le dendrogramme. A ce stade de

[9] Le terme "variables environnementales" se réfère ici à l'ensemble des paramètres mesurés pouvant jouer un rôle dans l'environnement de la cellules bactérienne tels que l'hydrologie, mais aussi les teneurs en sels nutritifs (nitrates, silicates et phosphates), et les sources trophiques potentielles comme les concentrations en Chl-*a* et en COD. Ces variables environnementales seront aussi regroupées dans la suite du manuscrit sous le terme « variables hydro-biologiques ».

[10] Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages

[11] Le terme « variables bactériennes » regroupe ici les abondances bactériennes totales (déterminées après coloration au DAPI) et les productions de cellules bactériennes (déterminées par incorporation de ^{3}H-Thymidine).

l'analyse, le nombre de groupes de la zone d'étude (site de Wimereux) n'est pas encore identifié. Par conséquent, pour chaque niveau d'agrégation l (l = 2 ; l = 3 ; l = 4) et pour chaque paire de stations (i, j) un index de similarité est calculé selon l'équation (7) :

$$S_{i,j}^{1} = 100 \frac{\sum_{k=1}^{12} \left(\langle i, j \rangle_k \in C_l \right)}{\sum_{k=1}^{12} \langle i, j \rangle_k} \quad (7)$$

Dans cette équation, le numérateur représente la somme sur toutes les dates (k) du nombre de groupes de niveau l (C_l) contenant les deux stations i et j. Le dénominateur représente le nombre de dates où les deux stations (i et j) ont été échantillonnées en même temps. En d'autres termes, cet index de similarité représente le rapport entre le nombre de fois où les stations appartiennent au même groupe et le nombre de fois où elles ont été échantillonnées en même temps. L'index de similarité est calculé (i) sur la base des variables environnementales et (ii) sur la base des variables bactériennes.

A partir de cet index est déterminée une matrice finale de similarités entre les stations pour chaque niveau hiérarchique l. Ces matrices finales conduisent à une régionalisation de la zone d'étude à l = 2, l = 3 et l = 4 niveaux hiérarchiques. Après avoir identifié les zones homogènes, la moyenne et l'écart-type de chaque variable sont utilisés comme représentation synthétique de la zone.

Cette méthode de régionalisation à différents niveaux hiérarchiques a été appliquée de manière indépendante :

(i) aux paramètres environnementaux (variables hydro-biologiques)

(ii) aux variables bactériennes

L'étude des concordances entre ces deux régionalisations indépendantes nous permet d'appréhender l'importance des paramètres hydro-biologiques dans la distribution des communautés bactériennes. Deux cas de figure peuvent alors se présenter :

- la régionalisation sur la base des variables hydro-biologiques concorde avec celle des variables bactériennes. L'ensemble de ces paramètres environnementaux conditionnerait la distribution des communautés bactériennes sur le site de Wimereux ;
- la concordance entre les deux régionalisations est faible, ce qui laisserait supposer que les facteurs environnementaux n'expliquent pas à eux seuls la distribution et la structure des communautés bactériennes. D'autres facteurs seraient alors impliqués dans la structuration et la distribution des communautés.

II.3.3. Matrice de corrélation de rang de Spearman

Afin de déterminer de manière fine quelles variables environnementales et/ou biologiques covarient avec les différents paramètres bactériens (abondance totale, production par incorporation de ^{3}H-Thymidine et ^{3}H-Leucine), une matrice de corrélation a été calculée sur l'ensemble des données relatives aux échelles 2 et 3 d'observation. Le coefficient de corrélation choisi est le coefficient non paramétrique de Spearman (ρ) puisque :

- la normalité des données n'est pas vérifiée,
- l'homogénéité des variances n'est pas significative pour l'ensemble des données [$p > 0,05$, test de Fisher pour k (nombre d'échantillons) = 2 ; test de Bartlett pour $k > 2$]
- l'application de ce test ne demande aucune condition préalable.

Etant donné que les matrices calculées correspondent à un cas de comparaison multiple, les probabilités p ont été ajustées selon la procédure de Hochberg (1988), peu complexe à appliquer et puissante (Legendre et Legendre, 1998).

II.3.4. Régression linéaire multiple

La méthode de régression linéaire multiple a été appliquée à nos jeux de données relatifs à l'échelle saisonnière (Echelle 2, Chapitre III, § IV.2) d'observation afin d'estimer l'importance ou la contribution des variables environnementales sur l'explication de la variation des paramètres bactériens. Les abondance et production bactériennes constituent successivement la variable dépendante et l'ensemble des paramètres hydro-biologiques constitue les variables indépendantes. L'objectif étant de déterminer les variables explicatives décrivant le mieux la variation des variables dépendantes, la méthode appelée « régression multiple pas à pas ascendante » a été utilisée (« stepwise multiple regression with forward selection » dans la littérature anglo-saxone). Les variables les plus informatives (forte valeur du coefficient de détermination R^2) sont incluses au fur et à mesure dans le modèle, jusqu'à ce qu'aucune autre variable explicative n'induise une augmentation significative du R^2. La procédure « pas à pas » permet de tester à chaque étape la significativité de toutes les variables du modèle, et celles qui ne sont plus significatives sont éliminées du modèle de régression avant la prochaine étape (Legendre et Legendre, 1998). Afin de respecter la normalité des données requise par cette analyse, les données de chaque variable ont été transformées en log (x+1).

CHAPITRE II

Echelle 1 : Suivi interannuel de l'écosystème Manche orientale

Ce chapitre a pour objectif principal le suivi des variations d'abondance et d'activité bactériennes sur une échelle interannuelle (hiver – été 2003 et 2004) aux limites nord (Wimereux) et sud (baie de Somme) de la zone d'étude. Cette variabilité inhérente au compartiment bactérien sera étudiée à la lumière des variations des paramètres caractéristiques des conditions du milieu. En effet, une bonne connaissance du compartiment bactérien suppose une connaissance précise du milieu avec lequel il est en interaction (conditions hydrologiques, concentrations en sels nutritifs et en chlorophylle *a*).

Dans un premier temps, les résultats relatifs à la variabilité (i) des variables caractéristiques des conditions du milieu (§ I et II), et (ii) des paramètres bactériens (§ III) seront exposés. Ces résultats seront discutés (§ IV) au regard (i) des relations pouvant lier variables environnementales et biologiques, et (ii) des conséquences de ces relations sur le fonctionnement et la dynamique du compartiment bactérien en Manche orientale.

I. Contexte climatique 2003 - 2004

I.1. Températures atmosphériques (°C)

Les températures atmosphériques relevées sur les deux sites montrent une variation saisonnière typique sur les années 2003 et 2004 (Figure II.8). L'année 2003 est marquée par (i) des valeurs hivernales extrêmes (-4,6 – 11,4 °C et -4,2 – 11,1 °C) plus froides qu'en 2004 (-1,9 – 13,4 °C et -2,6 – 15,6 °C, à Wimereux et en Somme, respectivement ; Tableau II.4) et (ii) des températures estivales moyennes (18,1 ± 2,9 °C et 18,8 ± 2,4 °C) plus élevées qu'en 2004 (16,7 ± 2,4 °C et 17,4 ± 2,0 °C, à Wimereux et en Somme respectivement). L'amplitude thermique enregistrée au cours du suivi annuel de 2003 atteint alors 33,0°C à Wimereux et 30,9°C en Somme ; celle enregistrée au cours du suivi annuel de 2004 atteint 27,3°C à Wimereux et 27,1°C en Somme.

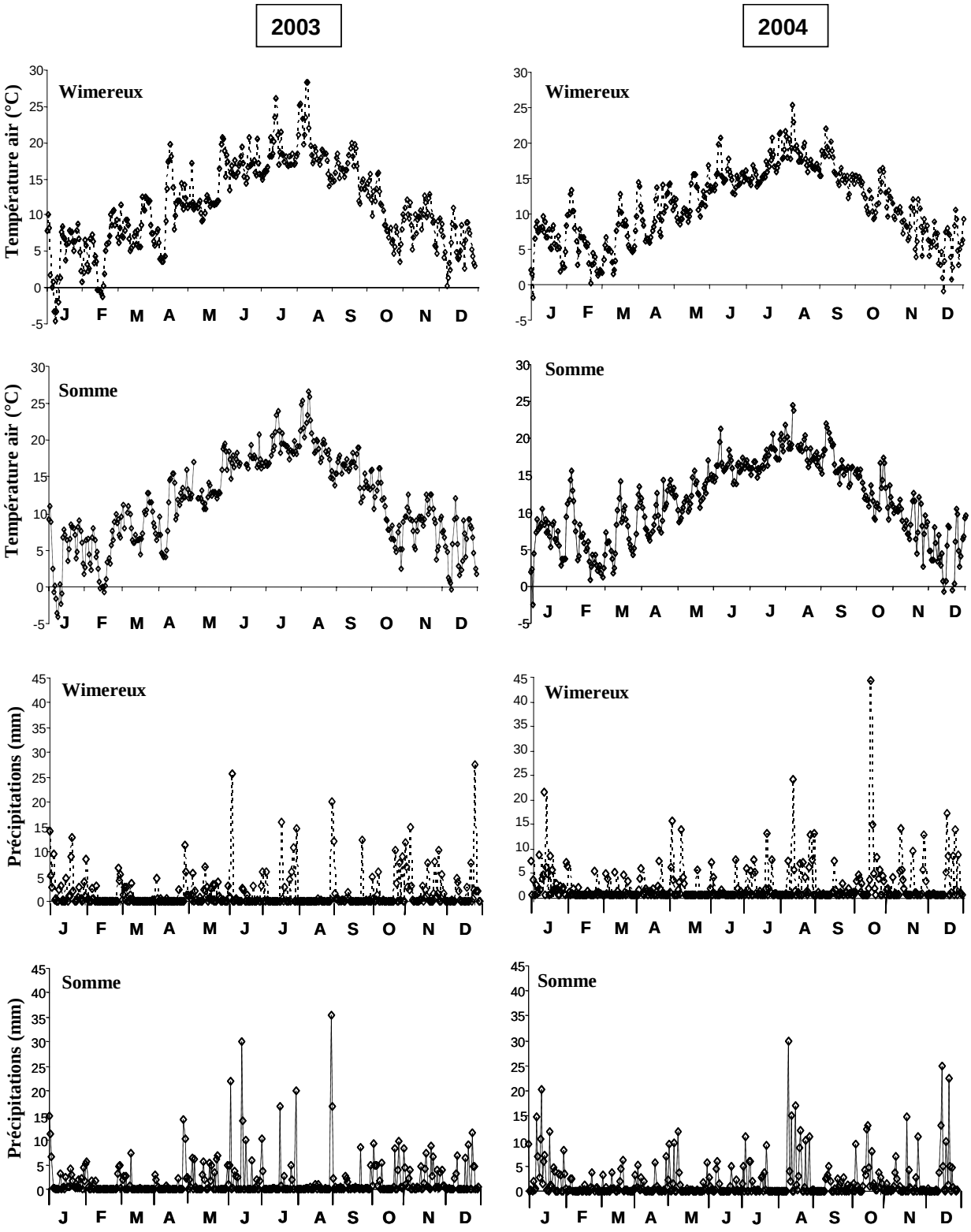


Figure II.8 : Températures atmosphériques (°C) et précipitations (mm) sur les sites de Wimereux et Somme entre janvier et décembre 2003 (gauche) et 2004 (droite ;. Données METEOFRANCE).

Tableau II.4 : Moyennes saisonnières[1] (correspondant aux différentes périodes de l'échantillonnage relatives à l'échelle 1), écart-type saisonniers et étendue [minimum – maximum] des températures atmosphériques (°C) et étendue des précipitations journalières ($mm.j^{-1}$) et précipitations totales (mm) sur les sites de Wimereux et de la baie de Somme en 2003 et 2004. (Données METEOFRANCE).

		Température de l'air (°C)		**Précipitations journalières ($mm.j^{-1}$)**		**Précipitations totales (mm)**	
		Wimereux[a]	**Somme[b]**	**Wimereux[a]**	**Somme[b]**	**Wimereux[a]**	**Somme[b]**
2003	**Hiver**	6,5 ± 3,6 [-4,6 – 11,4]	6,4 ± 3,7 [-4,2 – 11,1]	0 – 27,6	0 – 14,8	151,4	155,6
	Printemps	11,4 ± 4,0 [3,5 – 20,7]	11,8 ± 3,5 [4,0 – 17,0]	0 – 11,4	0 – 14,2	104,2	188,2
	Eté	18,1 ± 2,9 [13,5 – 28,4]	18,8 ± 2,4 [14,8 – 26,7]	0 – 25,6	0 – 35,4	112,6	138,2
2004	**Hiver**	6,4 ± 3,1 [-1,9 – 13,4]	6,6 ± 3,4 [-2,6 – 15,6]	0 – 21,0	0 – 25,0	179,4	190,4
	Printemps	10,8 ± 2,7 [6 – 16,9]	11,3 ± 2,5 [6,2 – 17,0]	0 – 15,2	0 – 11,8	90,8	95,0
	Eté	16,7 ± 2,4 [12,8 – 25,4]	17,4 ± 2,0 [13,9 – 24,5]	0 – 23,6	0 – 30,0	163,2	193,0

[a] station MétéoFrance de Boulogne-sur-mer
[b] station MétéoFrance de Cayeux-le-Hourdel

I.2. Pluviométrie

Les précipitations journalières totales (mm) ne montrent pas de saisonnalité marquée et se répartissent tout au long de l'année (Figure II.8) à Wimereux comme en baie de Somme.

Des évènements ponctuels caractérisés par de fortes pluviosités (> 20 $mm.j^{-1}$) ont toutefois été enregistrés. Ils apparaissent en été et en hiver 2003-2004 sur les deux sites (Figure II.8 et Tableau II.4). L'hiver 2004 est caractérisé par une pluviométrie plus importante que l'hiver 2003. En revanche, sur les deux années et les deux sites d'étude les débuts de printemps (entre mi-mars et avril) sont marqués par des épisodes pluvieux de faible amplitude dépassant rarement 15 mm de précipitations journalières totales (Tableau II.4). A l'exception du site de la Somme en 2003 (pluies printanières totales de 188,2 mm ; Tableau II.4), les périodes printanières révèlent des précipitations totales particulièrement faibles (104,2 et 90,8 mm à Wimereux en 2003 et 2004, respectivement et 95,0 mm en Somme en 2004), correspondant aux précipitations totales minimales sur l'année considérée. Au contraire, les étés 2003 et 2004 sont caractérisés par des pluviosités importantes avec des précipitations journalières

[1] Les saisons référées dans l'ensemble de ce chapitre sont basées sur le calendrier lunaire.

comparables aux valeurs hivernales (jusqu'à 35,4 $mm.j^{-1}$) et des précipitations totales de 112,6 mm à 193 mm (Tableau II.4).

II. Contexte hydro-biologique[2]

II.1. Contexte hydrologique

II.1.1. Evolution du gradient thermo-halin

Les températures de l'eau suivent l'évolution saisonnière des températures atmosphériques, avec un minimum hivernal et un maximum estival.

En mars 2003 et 2004, les conditions hydrologiques rencontrées sur le site d'étude sont caractéristiques de conditions hivernales (Figures II.9 et II.10). Il existe un gradient croissant des températures moyennes de surface entre les eaux côtières (7,4 ± 0,2°C et 6,9 ± 0,0°C, en 2003 et 2004, respectivement) et celles du large (7,6 ± 0,2°C et 7,1 ± 0,3°C, en 2003 et 2004, respectivement) sur l'ensemble du site d'étude (Figure II.9). Un gradient croissant est également observé en termes de salinité (Figure II.10). Il apparaît plus marqué en baie de Somme qu'à Wimereux sur les deux années d'étude, en raison d'eaux de surface plus dessalées à la côte en Somme (33,2 ± 0,3 et 33,3 ± 0,4 en 2003 et 2004, respectivement).

En avril 2003 et 2004, le gradient de température s'inverse (Figure II.9): les températures à la côte (moyennes sur 2003 et 2004 de 9,5 ± 0,3°C et 9,8 ± 0,2°C à Wimereux et en Somme, respectivement) sont supérieures à celles du large (moyennes sur 2003 et 2004 de 9,1 ± 0,2°C et 9,3 ± 0,2°C à Wimereux et en Somme, respectivement). Cette inversion du gradient est caractéristique des conditions printanières. Le gradient de salinité est plus prononcé en baie de Somme qu'à Wimereux sur les deux années d'étude (*i.e.* + 1 en Somme entre la côte et le large contre + 0,3 à Wimereux ; Figure II.10).

En mai 2003[3], les températures augmentent à la côte et au large sur les deux sites d'étude (Tableau II.5). Le gradient côte/large s'accentue à Wimereux (+ 1,2°C ; Tableau II.5) tandis qu'il reste égal à 1°C en baie de Somme. En mai 2004, cette différence côte/large reste prononcée sur les deux sites d'étude : les températures côtières sont relevées jusqu'à 11,5 °C contre 10,7 °C au large (Figure II.9).

[2] Les données des paramètres hydro-biologiques (température, salinité, concentrations en sels nutritifs et en chlorophylle *a*) de l'ensemble de ce chapitre sont celles issues des campagnes « bio-optiques ».
[3] Les données de température et de salinité en mai 2003 sont celles des suivis des radiales Wimereux (12 mai 2003) et Somme (13 mai 2003), en raison d'un problème lié à la sonde CTD au cours des campagnes bio-optiques ».

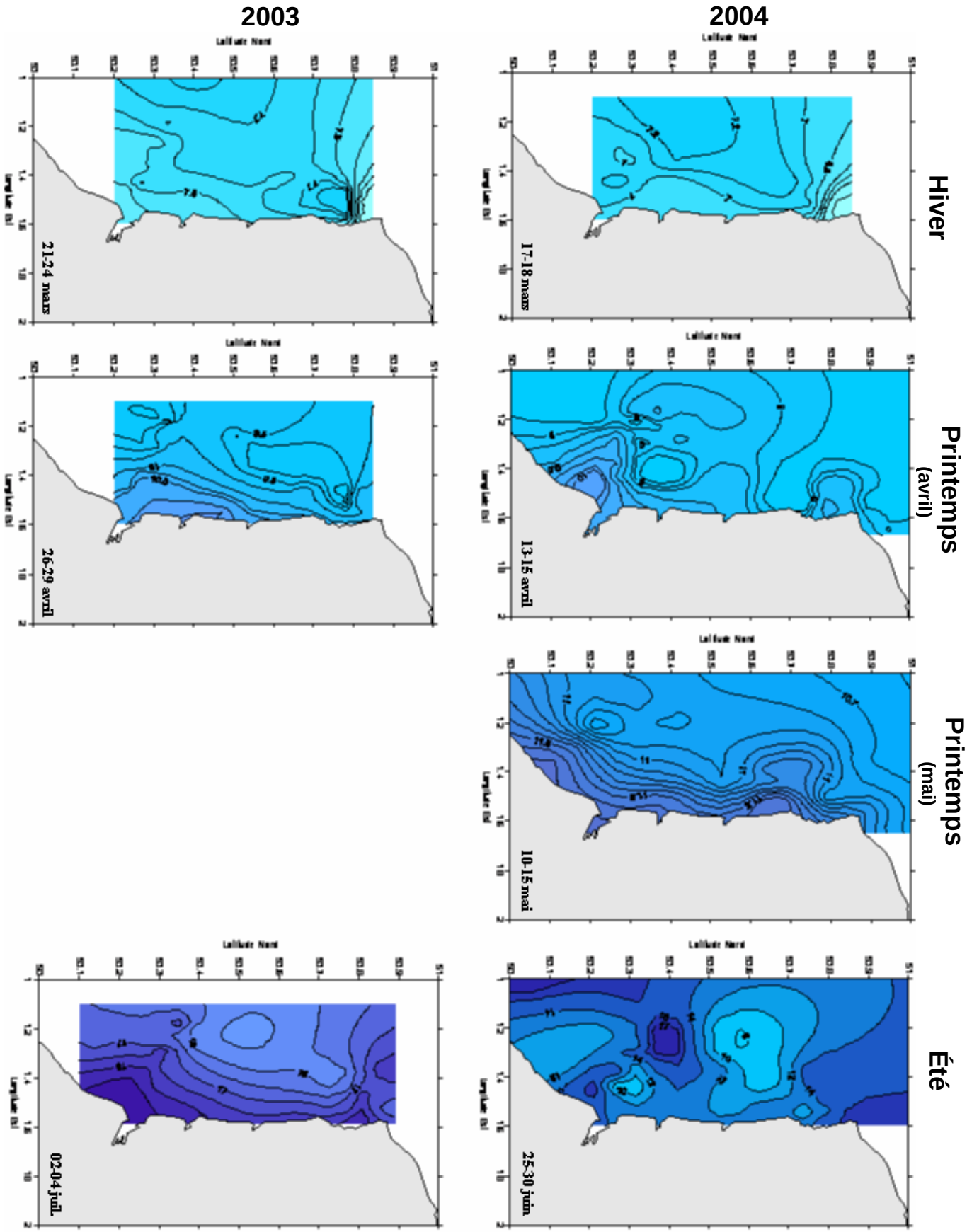


Figure II.9 : Distribution des températures de surface (°C, 1m de profondeur) en Manche orientale au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004. Les données sont manquantes en mai 2003 en raison d'un problème technique lié à la sonde CTD.

Tableau II.5 : Distribution des températures (°C) et des salinités des eaux de surface (sur le 1er mètre de profondeur) sur les radiales de Wimereux et de Somme au cours des campagnes des 12 et 13 mai 2003.

Site	Stations	Température (°C)	Salinité (p.s.u.)
Wimereux	**W1**	11,9	34,1
	W2	11,6	34,4
	W3	11,6	34,4
	W4	10,7	35,1
Somme	**S1**	12,2	33,9
	S2	11,7	34,1
	S3	11,5	34,3
	S4	11,2	34,5

En juillet 2003, les températures atteignent des valeurs maximales en baie de Somme avec 18,1 ± 0,5°C et 16,9 ± 0,6°C à la côte et au large respectivement, contre 17,4 ± 0,7°C et 17,1 ± 0,7°C à Wimereux (Figure II.9). Fin juin 2004, le gradient de température reste décroissant depuis la côte (16,5 ± 1,0°C et 15,2 ± 2,4°C à Wimereux et en Somme respectivement) vers le large (15,7 ± 1,18°C et 13,7 ± 3,4°C).

Ainsi, la différenciation haline côte/large observée en mai 2003 s'estompe en juillet 2003 sur le site de Wimereux (+ 0,1) alors qu'elle augmente légèrement en Somme (+ 0,7 ; Figure II.10). En juin 2004, les valeurs de salinité de surface enregistrées, comprises entre 33,1 et 34,7 (côte/large) en Somme et entre 34,3 et 34,7 (côte/large) à Wimereux révèlent là encore l'existence d'un gradient halin plus marqué en Somme qu'à Wimereux (Figure II.10).

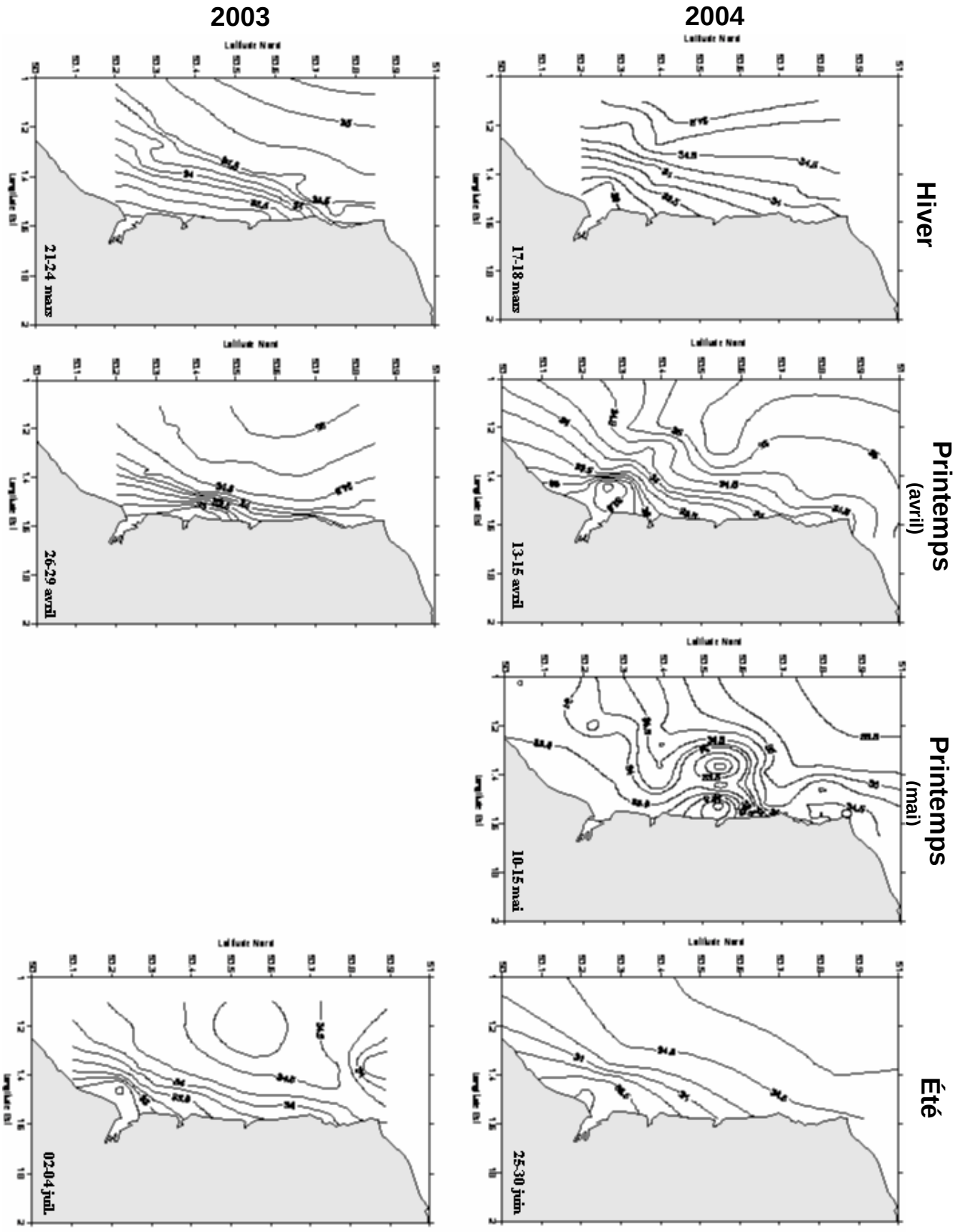


Figure II.10 : Distribution de la salinité de surface (p.s.u., 1m de profondeur) en Manche orientale au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004. De haut en bas : hiver (mars 2003 et février 2004), printemps (avril), printemps (mai 2004), été (juillet 2003 et juin 2004). Les données sont manquantes en mai 2003 en raison d'un problème technique lié à la sonde CTD.

II.1.2. Profils température et salinité

L'analyse des profils verticaux de température et de salinité (Annexes A4) permet de rendre compte des conditions de stratification et/ou d'homogénéité de la colonne d'eau sur les différentes stations des sites de Wimereux et de la baie de Somme, au cours des périodes hiver- été 2003 et 2004.

Les **périodes hivernales 2003 et 2004** sont marquées par une colonne d'eau homogène sur l'ensemble des stations, et sur les deux sites d'étude. Seul le site de Wimereux est caractérisé par une colonne d'eau stratifiée en février 2004 sur les points les plus au large (W3 et W4), certainement liée aux conditions marégraphiques de prélèvement (ME).

Les **situations printanières 2003 et 2004** sont caractérisées par l'apparition d'une stratification de la colonne d'eau, sur les deux sites d'étude. Les eaux de surface sont plus chaudes (comprises entre 9,4 et 11,6 °C entre avril et mai) et moins salées (33 – 34,4) que les eaux plus profondes (températures de 9,0 – 10,9 °C, et salinités de 33,5 – 34,8). Le site de la baie de Somme fait toutefois exception en mai 2003 (prélèvement en MM), où la colonne d'eau est homogène sur l'ensemble de la radiale. Cependant, l'absence de données au dessus de 5 m de profondeur sur le point situé directement à l'embouchure de la Somme (S1) ne nous permet pas de conclure quant à une éventuelle influence d'apports fluviatiles (les eaux de surface seraient alors moins salées).

La colonne d'eau apparaît à nouveau homogène en **été 2003 et été 2004**, sur l'ensemble des stations des deux sites d'étude, à l'exception du site de la baie de Somme en juillet 2003 où la colonne d'eau est stratifiée depuis la côte vers le large : les eaux de surface sont (i) plus chaudes (19°C) et moins salées (32) en S1 que les eaux plus profondes (température de 18,4°C et salinité de 33,7) et (ii) plus salées de S2 à S4 (salinité jusqu'à 35), mettant en évidence une influence hydrologique différentielle de la côte (influence fluviatile) au large (influence océanique).

L'étude des conditions hydrologiques a permis de visualiser le passage simultané des conditions hivernales (mars 2003 et février 2004) aux conditions printanières (avril 2003 et 2004) sur les deux sites d'étude (inversion concomitante du gradient thermique côte/large). Cependant, les caractéristiques hydrologiques évoluent de manière différente sur ces deux sites au cours des deux périodes hiver – été 2003 et 2004. En effet, la baie de Somme apparaît plus fortement influencée par les apports fluviatiles que le site de Wimereux. De plus, l'identification de différentes masses d'eau sur un gradient côte/large est plus nette sur le site de la baie de Somme que sur celui de Wimereux, où cette distinction est plus difficile à mettre en évidence.

La variabilité inter annuelle des conditions hydrologiques est caractérisée par (i) une différenciation côte/large moins nette au cours du printemps 2004 par rapport au printemps 2003 et (ii) des conditions de stratification légèrement différentes entre les deux années au cours de la même saison.

L'analyse des paramètres hydrologiques (cf. § II.1) a permis de scinder les périodes d'étude (2003 et 2004) en **trois situations caractéristiques** sur l'ensemble de la zone :

1) une **situation hivernale** (mars 2003 et 2004), caractérisée par un gradient de température croissant depuis la côte vers le large et, le plus souvent, une colonne d'eau homogène sur l'ensemble des stations,

2) une **situation printanière** (avril et mai, en 2003 et 2004), caractérisée par une inversion (en avril) du gradient thermique côte/large, et l'apparition de la stratification verticale (avril) sur la colonne d'eau (augmentation des températures de surface),

3) une **situation estivale** (juillet 2003 et juin 2004), caractérisée, le plus souvent, par la disparition de la stratification verticale sur la colonne d'eau, et des températures moyennes comprises entre 14°C et > 18°C.

Ces trois situations serviront de cadre temporel à l'étude de l'évolution inter annuelle des paramètres chimiques (concentrations en nitrates, ammonium, silicates et phosphates, § II.2 ; Figures II.11 à II.14), et biologiques (teneurs en Chl-*a*, § II.2, Figure II.15 ; abondances et productions bactériennes, § III ; Figures II.17 et II.18) des eaux de surface.

II.2. Typologie du développement phytoplanctonique en Manche orientale: 2003 et 2004

II.2.1. Situations hivernales (mars 2003, fin d'hiver ; 2004, hiver)

En **2003**, la **situation hivernale** est marquée par (i) de fortes concentrations en Chl-*a* en surface (jusqu'à 30 $\mu g.L^{-1}$) et (ii) un gradient côte/large décroissant très net, sur l'ensemble de la zone d'étude (Figure II.15). La situation apparaît différente entre les zones nord (Wimereux) et sud (baie de Somme) du site d'étude. En effet, les valeurs les plus élevées en Chl-*a* (entre 30 et 40 $\mu g.L^{-1}$) sont mesurées dans la partie sud côtière de la zone (embouchure de la Somme, en particulier), accompagnées de teneurs en éléments nutritifs deux [HPO_4^{2-} et $Si(OH)_4$] à huit (NO_3^-) fois plus élevées que dans les eaux du large (Figures II.11, II.13 et II.14). Le gradient de concentrations en NH_4^+ est inversé (Figure II.12) : les concentrations les plus élevées sont observées au large (> 5 µM) alors que les eaux côtières en sont moins riches (entre 1,3 et 4,4 µM). La partie nord est également soumise à de fortes concentrations en Chl-*a* (entre 20 et 30 $\mu g.L^{-1}$), mais le bloom apparaît moins étendu que dans la partie sud (Figure II.15). Les teneurs en éléments nutritifs mesurées sur cette zone côtière et au cours de cette période (10,1 µM, 0,5 µM, 1,5 µM en NO_3^-, HPO_4^{2-} et $Si(OH)_4$, respectivement) sont plus faibles que celles mesurées dans la partie sud (20,3 µM, 0,6 µM, 4,0 µM en NO_3^-, HPO_4^{2-} et $Si(OH)_4$, respectivement ; Figures II.11, II.13 et II.14). Seul NH_4^+ fait exception, avec une concentration moyenne de 8,7 µM en zone côtière nord contre 4,4 µM en zone côtière sud (Figure II.12).

Au cours de cette période, les eaux de surface de l'ensemble de la zone sont caractérisées par des rapports Si/N faibles (de 0,06 à 0,17), des rapports N/P particulièrement élevés (entre 28,59 et 71,43) et des rapports Si/P systématiquement < 16 (de 3,20 à 7,35). Par conséquent, et en comparaison aux rapports de Redfield *et al.,* (1963), le phosphate et le silicate apparaissent comme étant les sels nutritifs limitant potentiellement la croissance hivernale des communautés phytoplanctoniques de la zone d'étude. Les concentrations en azote sont susceptibles de répondre à la demande phytoplanctonique, en particulier en raison de fortes concentrations en ammonium (Figure II.12).

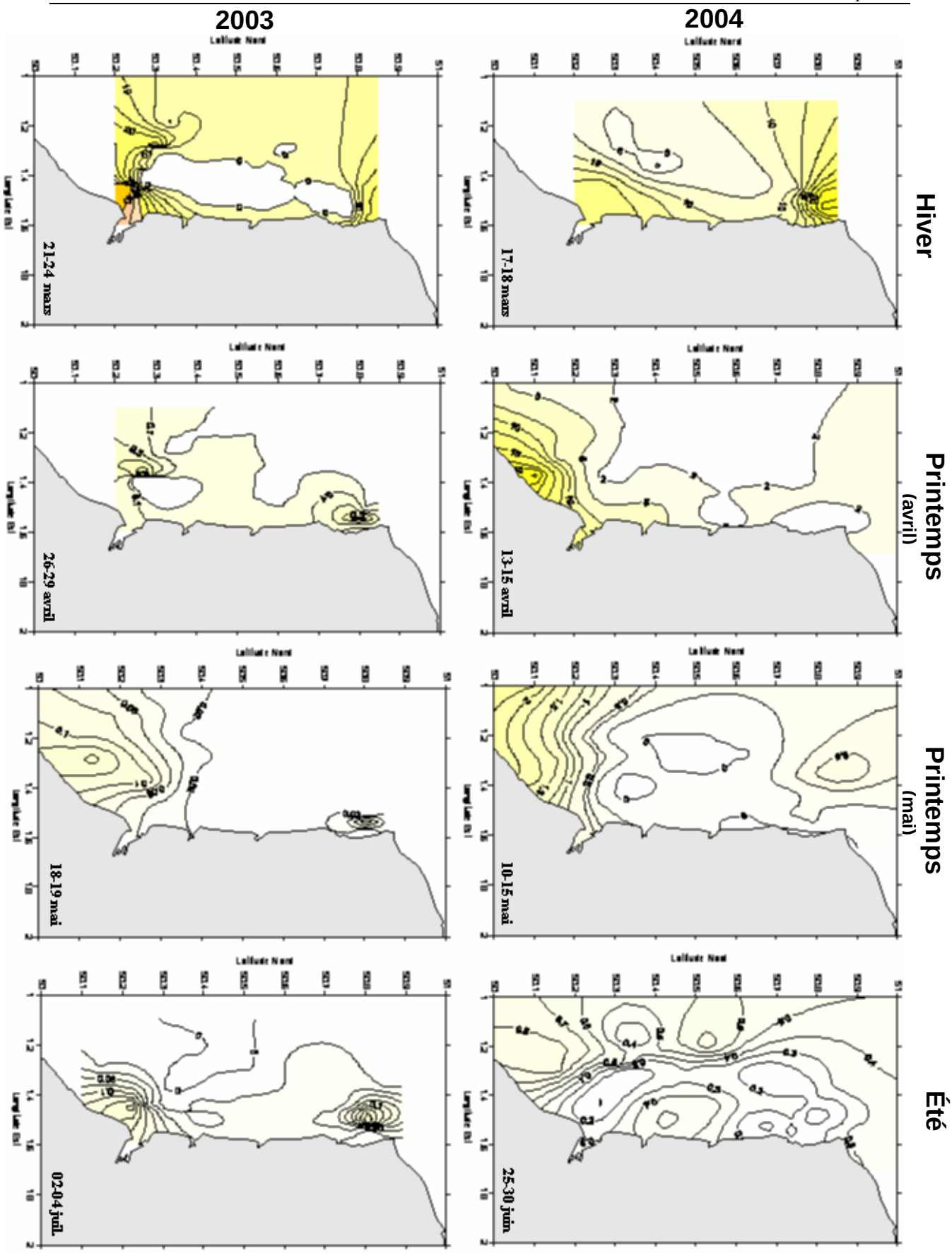


Figure II.11 : Distribution des concentrations en nitrate (NO_3^- ; µM) en Manche orientale au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004.

En 2004, les concentrations en Chl-*a* sont nettement plus faibles qu'en 2003 au cours de la **période hivernale** (Figure II.15): elles ne dépassent pas 11 $\mu g.L^{-1}$ dans la partie sud côtière (Somme) et 5 $\mu g.L^{-1}$ dans la partie nord côtière (Wimereux). De plus, le gradient côte/large décroissant en Chl-*a* et en éléments nutritifs est nettement moins marqué (Chl-*a* et NO_3^-) qu'en 2003, voire inversé [HPO_4^{2-} et $Si(OH)_4$]. En hiver 2004, la distinction des deux zones sur la base des teneurs en Chl-*a* persiste avec des concentrations plus élevées au sud qu'au nord.

Contrairement à 2003, l'hiver 2004 est marqué par des concentrations en NH_4^+ particulièrement faibles (entre 0,1 et 0,7 µM en zone côtière nord), voire nulles en zone sud et au large de l'ensemble du site d'étude (Figure II.12).

Les concentrations en sels nutritifs s'avèrent être plus importantes en zone côtière nord (20, 0,36, 0,5 et 3,5 µM en NO_3^-, NH_4^+ HPO_4^{2-} et $Si(OH)_4$, respectivement ; Figures II.11, II.13, II.14) qu'en zone côtière sud (embouchure de la Somme, 15, 0,0, 0,3 et 2,75 µM en NO_3^-, NH_4^+, HPO_4^{2-} et $Si(OH)_4$, respectivement ; Figures II.11 à II.14).

Comme observé en hiver 2003, les rapports Si/N < 1 (de 0,01 à 0,51), les rapports N/P élevés (entre 17,27 et 64,13) et les rapports Si/P < 16 (compris entre 0,53 et 11,14) relevés en hiver 2004 indiquent que le phosphate et le silicate sont susceptibles de limiter la croissance phytoplanctonique sur l'ensemble de la zone. Les fortes concentrations en nitrates relevées en zones nord et sud semblent couvrir la demande phytoplanctonique en azote, malgré de très faibles concentrations en ammonium.

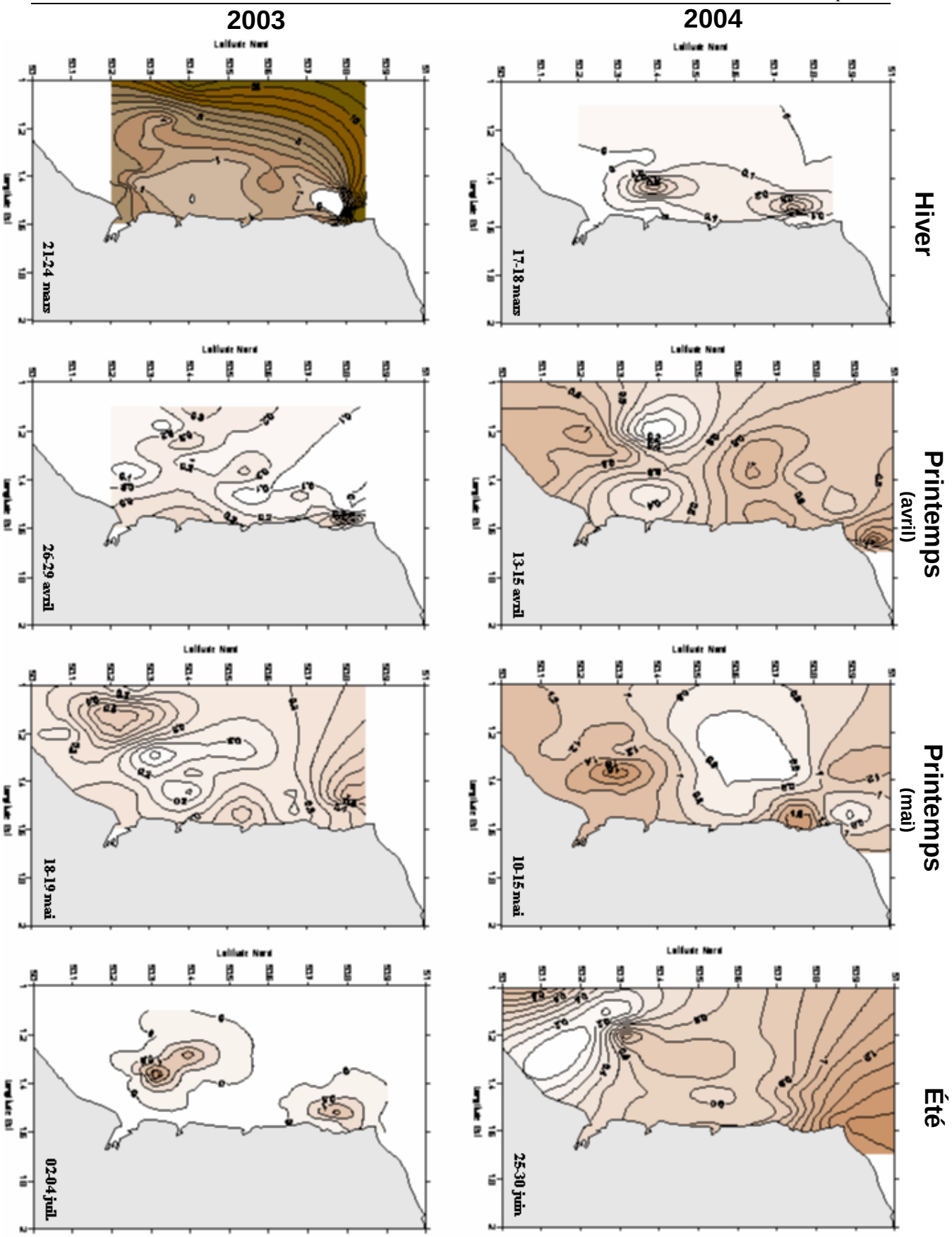


Figure II.12 : Distribution des concentrations en ammonium (NH_4^+ ; µM) en Manche orientale au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004.

II.2.2. Situations printanières (avril et mai 2003 et 2004)

Au cours des mois d'**avril et mai 2003**, une diminution des teneurs en sels nutritifs des eaux de surface est observée.

En avril, les concentrations en NO_3^- chutent à 0,5 et 0,1 µM en zones côtières nord et au sud respectivement, jusqu'à des valeurs proches de la limite de détection en mai (0,08 µM et 0,04 µM au nord et au sud respectivement ; Figure II.11).

De même, le passage des concentrations en NH_4^+ à 0,3 µM en zones côtières jusqu'à des valeurs en dessous des limites de détection (zone du large) indique une utilisation importante et/ou rapide de cette forme azotée par le phytoplancton et/ou les bactéries entre mars et avril (Figure II.12). Les stocks de NH_4^+ commencent à se reconstituer au mois de mai sur l'ensemble de la zone, avec des concentrations comprises entre 0,2 et 0,5 µM.

La diminution des teneurs en HPO_4^{2-} est plus progressive, puisque les concentrations atteignent 0,3 µM (nord) et 0,6 µM (sud) à proximité des côtes en avril puis 0,4 µM en moyenne sur les deux zones en mai 2003. Néanmoins, une forte concentration ponctuelle (0,6 µM) a été mesurée sur l'extrême nord côtier en mai 2003 (correspondant à la station d'échantillonnage W1 ; Figure II.13).

A l'instar des teneurs en NO_3^- et NH_4^+, les concentrations en $Si(OH)_4$ chutent de manière significative au printemps 2003 : en avril, des valeurs de 1,2 µM en moyenne sont enregistrées sur les deux zones côtières et décroissent jusqu'à des valeurs inférieures à la limite de détection en mai (Figure II.14). Sur l'ensemble de la période, le gradient côte/large décroissant en éléments nutritifs reste marqué.

Au cours du printemps 2003, les parties nord et sud de la zone présentent des rapports N/P faibles et systématiquement inférieurs à 16 (de 0,09 à 12,96) : l'azote peut donc limiter la croissance printanière phytoplanctonique. Les rapports Si/P sont calculés supérieurs à 16 en avril à Wimereux (jusqu'à 48,53), alors qu'ils sont, pour cette même période, inférieurs à 16 en Somme (entre 0,00 et 3,68). Au début du printemps, les communautés phytoplanctoniques au nord de la zone seraient alors limités secondairement par le phosphate, et celles au sud de la zone secondairement par le silicate.

La réduction des stocks en sels nutritifs des eaux de surface au printemps 2003 s'accompagne d'une réduction progressive de l'efflorescence printanière dès le mois d'avril (Figure II.15). Sur le site de la baie de Somme, la biomasse phytoplanctonique moyenne est comprise entre 10 $\mu g.L^{-1}$ au large et 20 $\mu g.L^{-1}$ à proximité des côtes, tandis qu'elle reste concentrée sur la

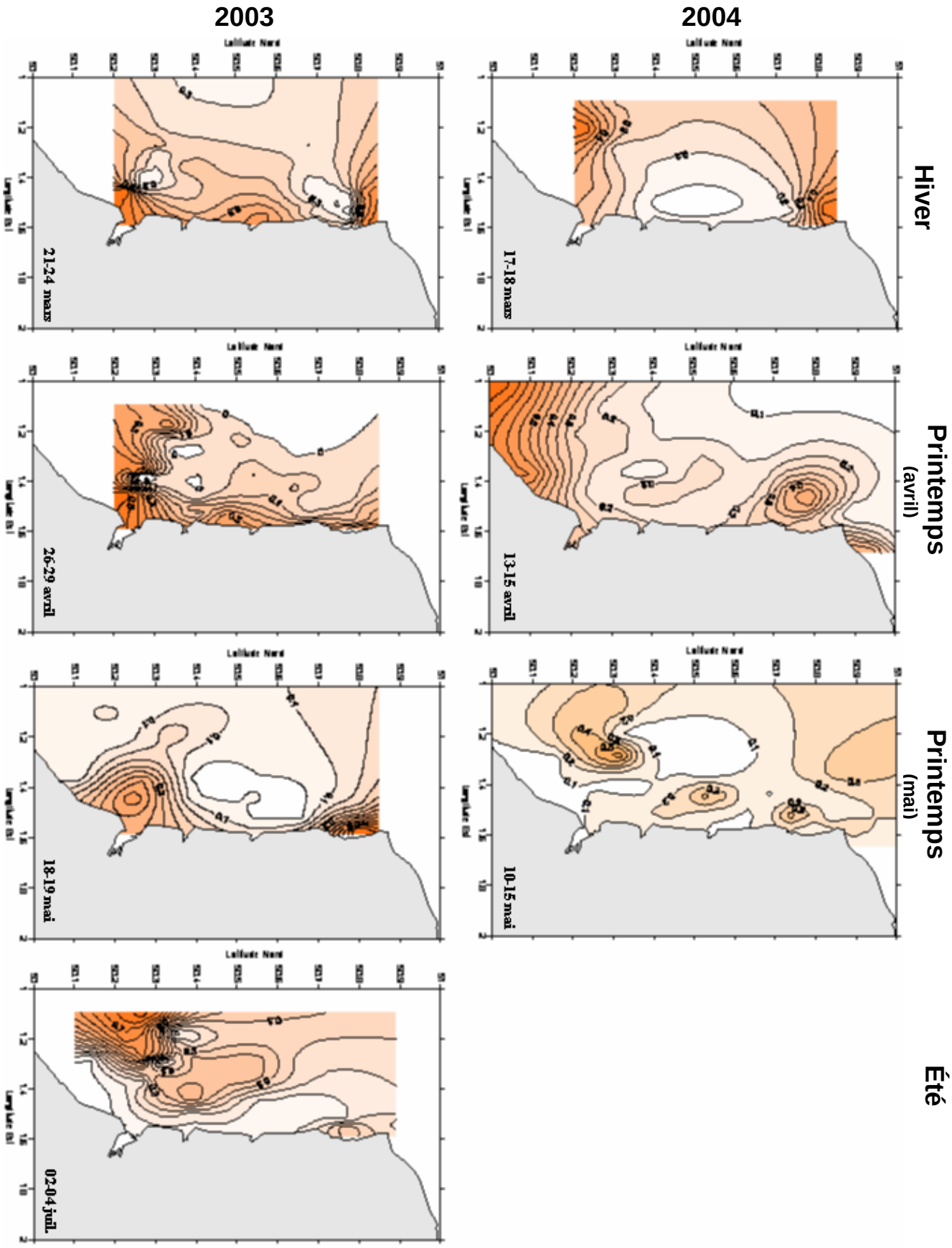


Figure II.13 : Distribution des concentrations en phosphates (HPO_4^{2-} ; µM) en Manche orientale au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004. Les données sont manquantes en juin 2004 en raison d'un problème technique lié à l'analyseur Alliance Technicon.

côte (10 $\mu g.L^{-1}$) dans la partie nord. En mai, l'efflorescence phytoplanctonique est fortement réduite quantitativement et spatialement. Des concentrations de 5 $\mu g.L^{-1}$ sont observées en zones côtières nord et sud ; seule la partie sud de l'embouchure de la Somme est marquée par une valeur moyenne de 7,5 $\mu g.L^{-1}$ au cours de cette période.

Les mois d'**avril et mai 2004** sont également marqués par une réduction des concentrations en sels nutritifs des eaux de surface sur l'ensemble de la zone d'étude (Figures II.11, II.13 et II.14), à l'exception de NH_4^+ (Figure II.12).

La chute des teneurs en NO_3^- est plus progressive sur la partie sud par rapport à 2003 au cours de la même période (Figure II.11) ; un palier de concentration moyenne de 8 µM est d'abord atteint à proximité des côtes en avril 2004, et chute à 0,5 µM en mai. La partie nord s'appauvrit rapidement en NO_3^- : les teneurs restent comprises entre 0,5 et 2 µM entre la côte et le large en avril 2004, et atteignent des valeurs proches, voire inférieures à la limite de détection en mai. Sur les deux zones d'étude, le stock en NO_3^- est pratiquement nul en mai. En revanche, les zones nord et sud voient leurs concentrations en NH_4^+ augmenter de façon significative dès le mois d'avril (multiplication par 2 et jusqu'à 6 au nord), pour atteindre des valeurs comprises entre 0,2 et 1,1 µM sur l'ensemble de la zone (Figure II.12).

L'épuisement printanier des stocks de HPO_4^{2-} est plus rapide en 2004 qu'en 2003 sur la partie sud (Figure II.13) puisque dès le mois d'avril, une valeur moyenne de 0,2 µM est relevée à l'embouchure de la Somme et atteint 0,1 µM en mai. Sur la partie nord, l'épuisement en HPO_4^{2-} au printemps 2004 est comparable à 2003: les valeurs passent de 0,4 µM (valeur maximale à proximité des côtes) en avril à 0,2 µM en mai.

Alors que les stocks en $Si(OH)_4$ sont pratiquement nuls sur l'ensemble de la zone au mois de mai 2003, ils sont compris entre 1 et 3 µM en mai 2004 (Figure II.14).

Au cours du printemps 2004, les rapports Si/N/P sont inférieurs aux rapports de Redfield *et al.* (1963). L'ensemble des sels nutritifs mesurés (azote, silicate, puis phosphate) limiterait alors potentiellement la croissance phytoplanctonique printanière Wimereux et en Somme.

L'épuisement modéré et progressif des stocks en NO_3^-, $Si(OH)_4$ et HPO_4^{2-}, et la hausse des stocks en NH_4^+ au cours du printemps 2004 s'accompagnent du développement du bloom phytoplanctonique, principalement en zone côtière (Figure II.15). Les concentrations en Chl-*a* atteignent 8 à 10 $\mu g.L^{-1}$ sur l'ensemble de la zone côtière en avril 2004, et jusqu'à 14 $\mu g.L^{-1}$ au sud de la baie de Somme. En mai 2004, le bloom s'amplifie quantitativement et spatialement, avec des valeurs en Chl-*a* comprises entre 10 $\mu g.L^{-1}$ au large et jusqu'à 30 $\mu g.L^{-1}$ en zone côtière (au centre de la zone d'étude).

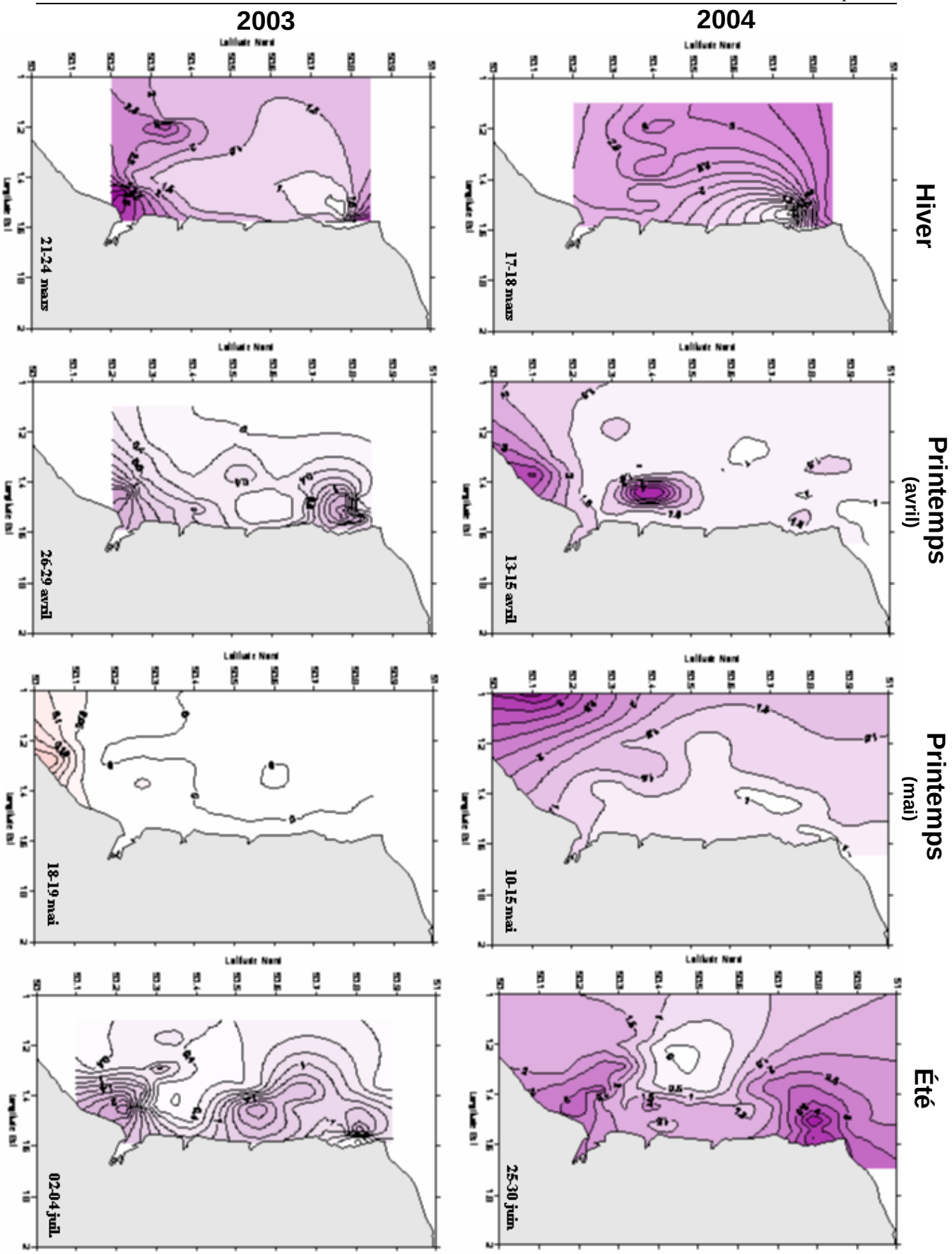


Figure II.14 : Distribution des concentrations en silicates ($Si(OH)_4$; µM) en Manche orientale au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004.

II.2.3. Situation estivale (juillet 2003 et juin 2004)

En **juillet 2003**, les concentrations en NO_3^- et $Si(OH)_4$ augmentent dans les eaux côtières de l'ensemble de la zone (Figures II.11 et II.14). Cependant, les teneurs en NO_3^- ne dépassent pas 0,1 µM sur les deux zones d'étude. Les stocks en NH_4^+ se maintiennent à des valeurs comprises entre 0,5 et 1 µM sur ces mêmes zones (Figure II.12).

En revanche, la reconstitution des stocks en $Si(OH)_4$ semble être plus importante, avec des valeurs de 1,4 et 1,7 µM en moyenne au nord et au sud, respectivement.

Les teneurs en HPO_4^{2-} diminuent en zone côtière (0,21 et 0,05 µM au nord et au sud, respectivement) au cours de cette période, alors qu'elles augmentent significativement (jusqu'à 0,7 µM) au large de la partie sud (Figure II.13).

Les deux sites d'étude sont caractérisés par des rapports Si/N > 1 (de 1,67 jusqu'à 28,70) et des rapports N/P et Si/P < 16 (0,63 – 7,04 et 0,21 – 15,30, respectivement). L'azote et le silicate apparaissent alors comme étant les sels nutritifs susceptibles de limiter la croissance phytoplanctonique estivale.

L'augmentation (NO_3^-, $Si(OH)_4$ et HPO_4^{2-}) ou le maintien (NH_4^+) des teneurs en éléments nutritifs au cours du mois de juillet 2003 s'accompagne d'une augmentation des biomasses phytoplanctoniques (Figure II.15) avec des valeurs de Chl-*a* variant entre 5 et 10 $\mu g.L^{-1}$ sur nos deux sites d'étude, et jusqu'à 15 $\mu g.L^{-1}$ au large de la partie sud.

En **juin 2004**, l'efflorescence phytoplanctonique est plus réduite qu'en 2003, aussi bien quantitativement que spatialement (Figure II.15). Les biomasses phytoplanctoniques sont en effet plus faibles qu'en situation printanière, mais les valeurs restent comprises entre 3 et 7 $\mu g.L^{-1}$ sur l'ensemble de la zone d'étude.

Les concentrations en NO_3^- restent faibles sur toute la zone d'étude, avec des valeurs comprises entre 0,1 et 0,3 µM (Figure II.11).

Les concentrations en NH_4^+ se maintiennent à une valeur moyenne de 1,1 µM dans la partie nord, alors qu'elles chutent à 0,4 µM dans la partie sud (Figure II.12). En revanche, les concentrations en $Si(OH)_4$ augmentent, et atteignent des valeurs moyennes de 3,6 µM au nord de la zone et de 2,2 µM au sud (Figure II.14).

L'absence de mesures de teneurs en HPO_4^{2-} ne nous permet pas (i) de comparer, sur 2003 et 2004, les conditions de cet élément nutritif dans les eaux de surface en période estivale, ni (ii) de relier les biomasses phytoplanctoniques observées aux conditions nutritives du milieu [*e.g.* rapports N/P/Si, en comparaison à ceux de Redfield *et al.* (1963)].

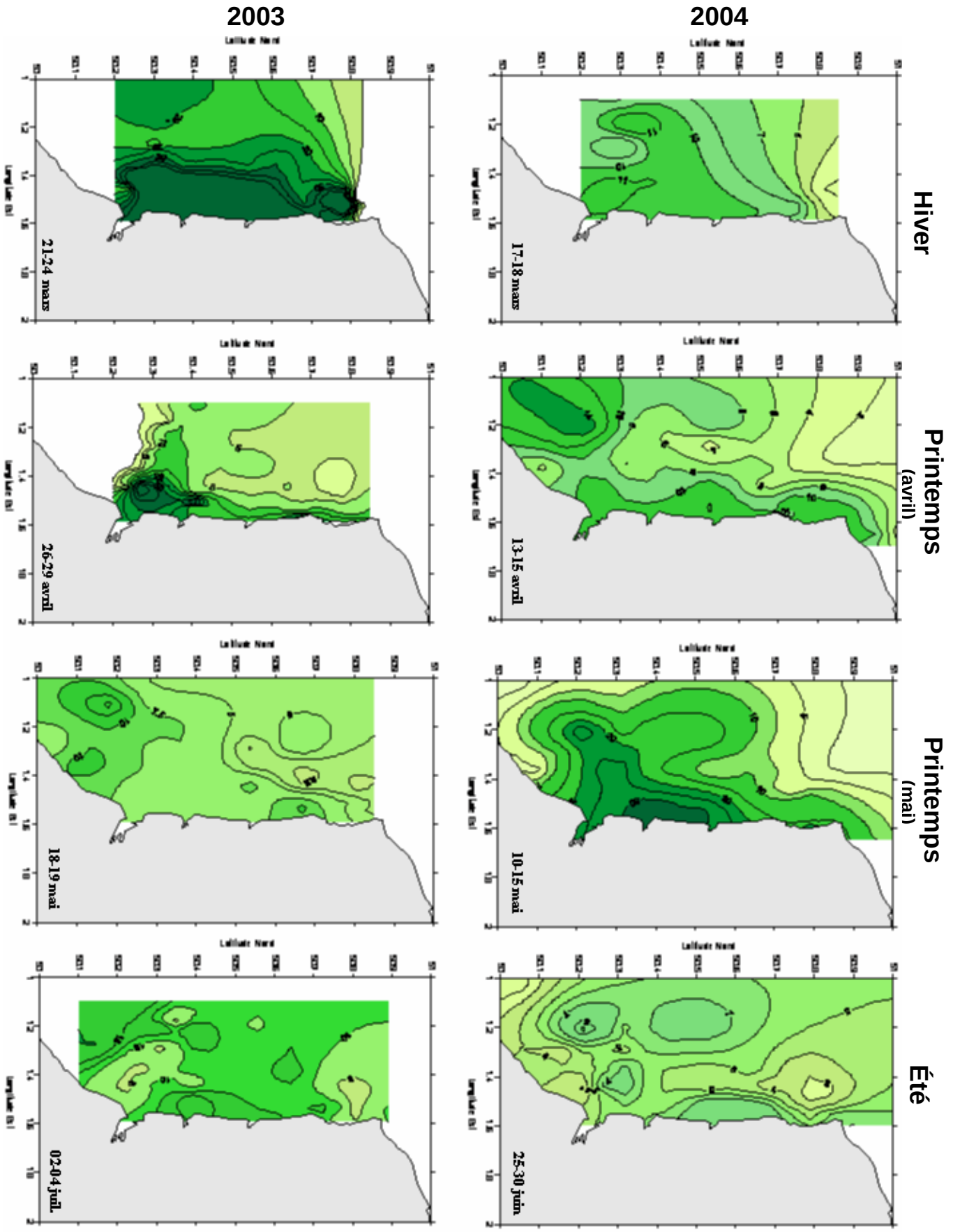


Figure II.15 : Distribution de la biomasse phytoplanctonique (teneurs en Chl-*a* ; µg.L^{-1}) en Manche orientale au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004.

L'analyse des paramètres hydro-biologiques (§ II) au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004 sur l'ensemble de la zone d'étude a mis en évidence une importante variabilité interannuelle et inter site (Wimereux / baie de Somme). Cette variabilité nous a permis de définir une typologie du développement phytoplanctonique pour ces deux années (Figure II.16) :

(i) la période de productivité maximale est plus précoce en 2003 (mars, période hivernale) qu'en 2004 (avril), avec des teneurs en Chl-*a* en général supérieures en 2003 (30 $\mu g.L^{-1}$) qu'en 2004 (15 $\mu g.L^{-1}$). La baie de Somme présente toujours les valeurs en Chl-*a* les plus élevées, quelle que soit l'année. Le bloom précoce en hiver 2003 sur les deux zones nord et sud est soutenu par des concentrations hivernales en NH_4^+ beaucoup plus importantes en 2003 qu'en 2004.

(ii) l'épuisement printanier en NO_3^- et $Si(OH)_4$, observé pour les deux années d'étude, est plus prononcé en 2003 qu'en 2004. Inversement, l'épuisement printanier en HPO_4^{2-} est plus rapide en 2004. Globalement, la baie de Somme, sous forte influence fluviatile directe, présente toujours les concentrations les plus fortes.

(iii) la diminution significative en sels nutritifs au printemps 2003 s'accompagne d'une réduction progressive de l'efflorescence phytoplanctonique, à la fois quantitative et spatiale. Les communautés phytoplanctoniques sont limitées par les sels azotés, rapidement consommés entre mars et avril. Au contraire, au printemps 2004, la chute progressive et modérée NO_3^-, $Si(OH)_4$ et HPO_4^{2-} et la hausse des stocks en NH_4^+ s'accompagne d'une progression quantitative et spatiale du bloom phytoplanctonique.

(iv) la situation estivale 2003 est marquée par l'existence d'une floraison secondaire, en particulier en baie de Somme. Cette dernière est soutenue par (i) la reconstitution des stocks de NH_4^+ dès le mois de mai et (ii) une augmentation des teneurs en NO_3^- et $Si(OH)_4$ à la côte, et de HPO_4^{2-} au large. La situation estivale 2004 est quant à elle caractérisée par une légère réduction quantitative et spatiale du bloom phytoplanctonique par rapport à l'été 2003, associée à de faibles concentrations en sels azotés et des stocks de silicates en reconstitution.

Par ailleurs, ces résultats montrent une faible variabilité interannuelle et une forte variabilité inter site des conditions hydrologiques (température et salinité). En effet, les paramètres hydrologiques évoluent différemment à Wimereux et en baie de Somme en 2003 et 2004, et les gradients côte/large de ces paramètres, observés sur les deux sites, sont plus marqués en baie de Somme.

Figure II.16 : Synthèse des résultats relatifs aux paramètres hydro-biologiques du suivi interannuel (hiver – été 2003 et 2004) sur les deux sites d'étude principaux nord et sud (Wimereux et baie de Somme).

C'est dans ce contexte qu'ont été mesurées les abondances et productions bactériennes afin :

(i) d'étudier la variabilité temporelle et l'hétérogénéité spatiale du compartiment bactérien en Manche orientale

(ii) de déterminer si cette variabilité peut-être expliquée par le développement du bloom phytoplanctonique, précoce en 2003 et printanier en 2004 et/ou par le rôle d'autres paramètres caractéristiques du milieu.

III. Réponses des communautés[4] bactériennes au bloom phytoplanctonique printanier. Etude de cas sur deux années : 2003 - 2004.

III.1. Abondances bactériennes

III.1.1. Evolution temporelle

Les abondances bactériennes montrent, au cours des deux années 2003 et 2004, et sur les deux sites d'étude, une saisonnalité marquée, caractérisée par (i) des valeurs minimales en hiver systématiquement < 1 x 10^6 cell.mL^{-1}, (ii) un développement printanier où les abondances maximales (> 2 x 10^6 cell.mL^{-1}) sont atteintes en mai et (iii) une stabilisation des stocks bactériens pendant la période estivale. Ces résultats suggèrent une faible variabilité inter annuelle et inter site des abondances bactériennes, pour cette échelle d'étude.

En **mars 2003**, les abondances bactériennes sont comprises, depuis le large vers la côte, entre 0,53 et 0,85 x 10^6 cell.mL^{-1}, et entre 0,21 et 0,74 x 10^6 cell.mL^{-1} à Wimereux et en baie de Somme, respectivement (Figure II.17 et Tableau II.6). En comparaison à l'hiver 2003, la **situation hivernale de 2004** (février) est caractérisée par des abondances 2 à 4 fois plus faibles : les abondances bactériennes varient depuis le large vers la côte, entre 0,13 et 0,22 x 10^6 cell.mL^{-1} à Wimereux, et entre 0,11 et 0,18 x 10^6 cell.mL^{-1} en baie de Somme (Figure II.17 et Tableau II.6).

[4] Le terme *communautés* désigne des ensembles plurispécifiques déterminés en fonction du problème étudié (Barbault, 1992). Il s'agit donc d'un ensemble d'espèces dont on désire analyser la dynamique.

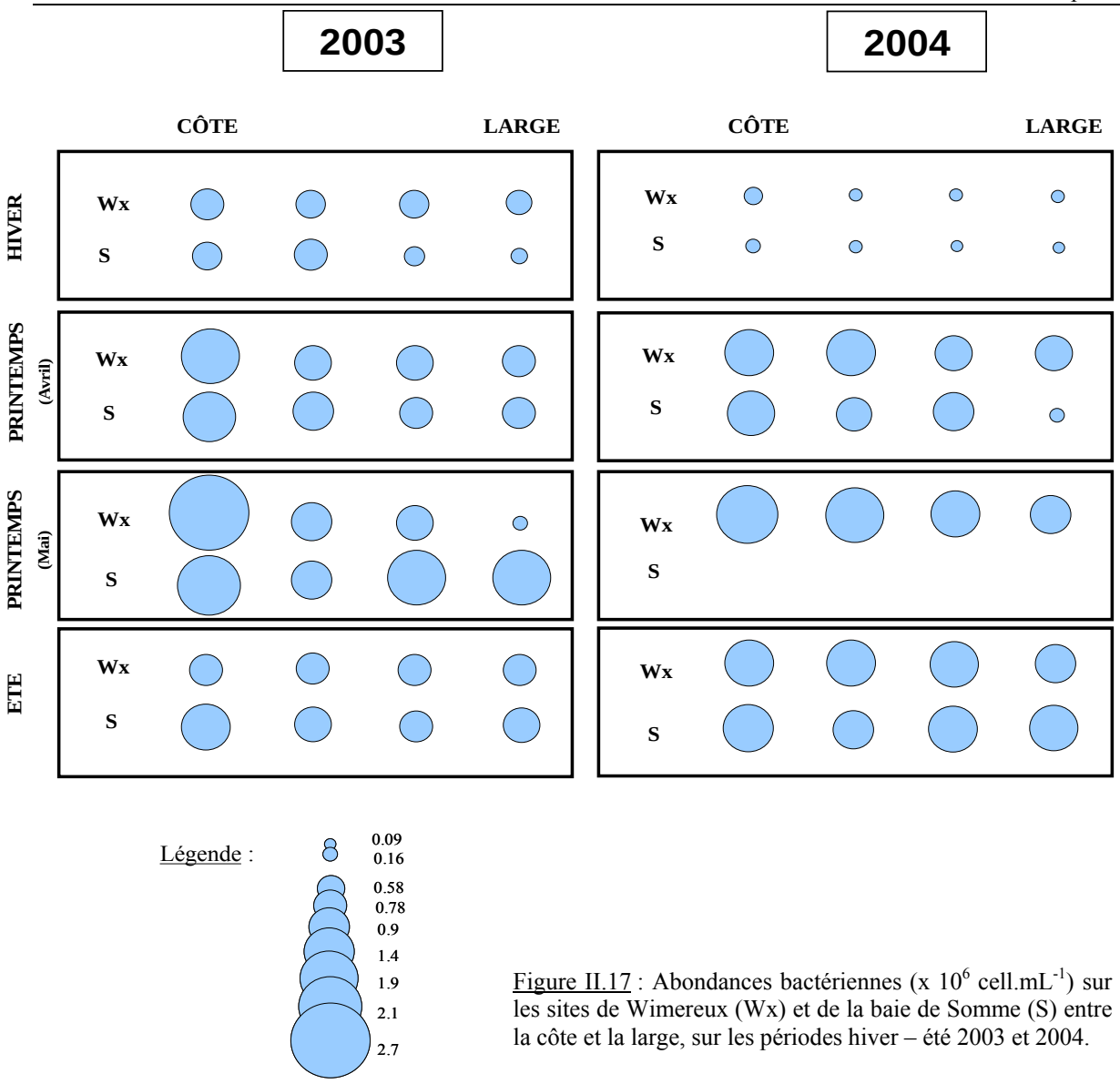


Figure II.17 : Abondances bactériennes (x 10^6 cell.mL^{-1}) sur les sites de Wimereux (Wx) et de la baie de Somme (S) entre la côte et la large, sur les périodes hiver – été 2003 et 2004.

Tableau II.6 : Abondances bactériennes (AB x 10^6 cell.mL^{-1}) observées depuis la côte vers le large sur les sites de Wimereux (Wx) et de la baie de Somme (S) en 2003 et 2004.

		2003				2004			
		Côte		Large		Côte		Large	
Stations[a]		**1**	**2**	**3**	**4**	**1**	**2**	**3**	**4**
Hiver	Wx	0,85	0,62	0,66	0,53	0,22	0,16	0,14	0,13
	S	0,63	0,74	0,34	0,21	0,17	0,15	0,11	0,11
Prtps	Wx	2,05	1,01	1,01	0,75	1,22	1,22	0,80	0,77
(Avril)	S	1,63	1,06	0,78	0,79	0,99	0,73	0,88	0,20
Prtps	Wx	2,66	1,18	0,94	0,17	2,01	1,60	1,27	0,94
(Mai)	S	2,30	1,04	1,86	1,91				
Eté	Wx	0,79	0,80	0,80	0,73	1,31	1,25	1,08	0,89
	S	1,23	0,99	0,79	0,95	1,44	0,91	1,31	1,16

[a] voir Figure II.2 pour la localisation des stations d'échantillonnage 1 à 4 sur les sites de Wimereux et de la baie de Somme.

Le printemps correspond à la période d'abondance bactérienne maximale (i) en 2003 et en 2004, et (ii) à Wimereux et en baie de Somme (Figure II.17). Au **printemps 2003** (avril et mai), les abondances observées sur les deux sites sont 1,4 à 9 fois plus fortes qu'en situation hivernale, exception faite de la station W4 qui connaît une réduction (division par 3) de ses abondances bactériennes. Le mois de mai présente les densités annuelles les plus fortes avec 0,94 – 2,66 x 10^6 cell.mL^{-1} à Wimereux et 1,04 – 2,30 x 10^6 cell.mL^{-1} en baie de Somme (Tableau II.6). La **situation printanière en 2004** (avril et mai) est également marquée par un développement bactérien intense, sur les deux sites d'étude, de même amplitude que celui observé en 2003. En effet, le printemps 2004 voit ses abondances augmenter d'un facteur 1,2 à 10 par rapport à la situation hivernale 2004 (Figure II.17). Les densités atteintes en 2004 sont du même ordre de grandeur qu'au printemps 2003 avec 0,77 – 2,01 x 10^6 cell.mL^{-1} à Wimereux et 0,20 – 0,99 x 10^6 cell.mL^{-1} en baie de Somme. A l'instar de 2003, les abondances maximales en 2004 sont atteintes en mai sur le site de Wimereux (0,94 et 2,01 x 10^6 cell.mL^{-1} depuis le large vers la côte ; Tableau II.6).

L'été (en 2003 et en 2004) voit une diminution des densités bactériennes, qui reste néanmoins très relative. Les stocks bactériens estivaux sont relevés 1,1 à 3 fois plus faibles qu'au printemps, sur les deux années et les deux sites d'étude, mais sont néanmoins supérieurs aux niveaux hivernaux (Figure II.17). En **juillet 2003**, les abondances observées sont comprises entre 0,73 et 0,80 x 10^6 cell.mL^{-1} à Wimereux et entre 0,79 et 1,23 x 10^6 cell.mL^{-1} en baie de Somme (Tableau II.6). Seule la station W4 connaît une hausse (multiplication par 4) des densités bactériennes estivales par rapport aux densités printanières. L'**été 2004** (juin) est caractérisé (i) par la même tendance d'évolution des stocks bactériens, et (ii) des abondances bactériennes du même ordre de grandeur, par rapport à l'été 2003. Le site de Wimereux voit ses stocks bactériens se maintenir à des niveaux d'abondance compris entre 0,89 et 1,31 x 10^6 cell.mL^{-1}, depuis le large vers la côte. En baie de Somme, les densités bactériennes estivales sont en légère augmentation par rapport à la situation d'avril 2004, avec des abondances de 0,91 à 1,44 x 10^6 cell.mL^{-1} (Tableau II.6).

III.1.2. Hétérogénéité spatiale

A l'exception des situations estivales 2003 et 2004, les abondances bactériennes sont généralement plus élevées sur le site de Wimereux que celui de la baie de Somme (Figure

II.17). En effet, les cellules bactériennes sont en moyenne 1,1 à 2 fois plus nombreuses à Wimereux qu'en Somme, toutes stations et toutes périodes confondues. Les situations estivales présentent en revanche des abondances presque équivalentes sur les deux sites.

De plus, un gradient côte/large décroissant des densités bactériennes est observé, de façon générale sur les deux sites d'étude, et au cours des différentes périodes de 2003 et 2004. Il évolue néanmoins au cours du temps, et apparaît plus marqué au cours des périodes printanières. Le site de la baie de Somme fait toutefois exception en mai 2003, où les abondances au large (S4) sont quasiment équivalentes au point le plus côtier (S1), et presque 2 fois plus fortes qu'au point S2.

En résumé, les abondances bactériennes montrent, sur les deux années, une même évolution saisonnière marquée, avec un minimum hivernal et un maximum printanier. Les stocks estivaux plus faibles restent néanmoins supérieurs aux minima hivernaux.

Le gradient côte/large est observé sur les deux années et sur les deux sites d'étude, mais apparaît plus marqué aux périodes printanières 2003/04. Néanmoins, les stations du large des deux sites d'étude (W4 et S4) font parfois exception, avec des abondances équivalentes et/ou plus fortes que celles côtières.

III.2. Productions bactériennes

Les productions bactériennes mesurées à Wimereux et en baie de Somme présentent de fortes variabilités inter site et interannuelle. Des schémas différents d'évolution générale sont en effet observés en 2003 et 2004, sur les deux sites.

III.2.1. Evolution temporelle

En **2003**, les productions bactériennes **hivernales (mars)** sont comprises entre 2,26 et 4,30 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1}, et entre 1,33 et 4,01 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1}, depuis le large vers la côte, sur les sites de Wimereux et de la baie de Somme, respectivement (Figure II.18 et Tableau II.7). L'**hiver 2004** (février) est caractérisé par des productions beaucoup plus faibles de 3 à 16 fois celles relevées en mars 2003 (Figure II.18), toutes stations et tous sites confondus, vraisemblablement liées à des températures de surface plus faibles en février 2004 qu'en mars

2003 (Figure II.9). Elles sont de 0,18 – 0,73 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} à Wimereux, et de 0,08 – 0,89 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} en baie de Somme (Tableau II.7).

Au **printemps 2003** (avril et mai), la période de production maximale est observée en mai, globalement sur les deux sites d'étude (Figure II.18). Sur le site de Wimereux, les productions maximales sont comprises, sur l'ensemble de la radiale, entre 5,10 et 17,78 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1}. Le site de la baie de Somme voit ses productions côtières (S1) et du large (S4) augmenter en avril (9,65 et 3,26 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1}, respectivement), et celles-ci se maintiennent au mois de mai à des niveaux élevés, de 6,41 (S1) et 1,36 (S4) x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1}. Les stations intermédiaires (S2 et S3) voient leurs productions augmenter d'un facteur 1,7 à 3,3 entre avril et mai, pour atteindre leurs valeurs maximales de 6,14 (S2) et 3,27 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} (S3).

Un schéma d'évolution différent est observé pour l'année 2004. La **situation printanière 2004** (avril et mai) est caractérisée par une augmentation significative (facteur 3 à presque 19) des productions bactériennes dès le mois d'avril, sur les deux sites d'étude. Les productions atteintes sont du même ordre de grandeur que celles de mai 2003 et varient entre 3,54 et 10,62 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} à Wimereux, et entre 0,95 et 5,66 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} en Somme. En mai 2004, sur le site de Wimereux, les productions se maintiennent globalement aux niveaux atteints en avril, et restent du même ordre de grandeur que les productions de mai 2003 (*i.e.* productions comprises entre 2,28 et 10,51 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} entre le large et la côte).

Les situations estivales apparaissent très différentes sur les deux années et les deux sites d'étude.

Les productions bactériennes diminuent significativement en **été 2003** (juillet), sur les deux sites d'étude (Figure II.18). Elles atteignent des valeurs bien plus faibles que les valeurs printanières (facteur 1,5 à 15) et même hivernales (facteur 1,6 à 5). Ces valeurs sont comprises entre 1,12 et 1,91 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} à Wimereux et entre 0,40 et 1,20 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} en baie de Somme. La **situation estivale 2004** (juin) est caractérisée par (i) un maintien des niveaux de production printaniers sur le site de Wimereux (*i.e.* valeurs comprises entre 7,73 et 9,1 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1}) et (ii) une augmentation des productions par 2 à 4 sur le site de la baie de Somme par rapport aux niveaux mesurés en avril. Plus particulièrement, la station S1 proche de l'embouchure de la Somme atteint un niveau estival exceptionnel de 21,01 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1}. Les niveaux de production bactérienne estivaux de 2004 sont 4 à 18 fois plus élevés que ceux relevés en été 2003.

Figure II.18 : Productions bactériennes (10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} ; par incorporation de ^{3}H-Thymidine) sur les sites de Wimereux (Wx) et de la baie de Somme (S) entre la côte et la large, sur les périodes hiver – été 2003 et 2004.

Tableau II.7 : Productions bactériennes (PB x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1}) observées depuis la côte vers le large sur les sites de Wimereux (Wx) et de la baie de Somme (S) en 2003 et 2004.

		2003				2004			
		Côte		Large		Côte		Large	
Stations[a]		**1**	**2**	**3**	**4**	**1**	**2**	**3**	**4**
Hiver	Wx	3,06	4,30	4,02	2,26	0,53	0,72	0,73	0,18
	S	4,01	2,03	2,20	1,33	0,89	0,33	0,14	0,08
Prtps	Wx	2,31	2,01	3,13	1,43	10,36	10,62	7,83	3,54
(Avril)	S	9,65	3,62	1,00	3,26	5,66	4,25	1,90	0,95
Prtps	Wx	8,83	17,78	5,10	1,70	10,51	10,37	10,45	2,83
(Mai)	S	6,41	6,14	3,27	1,36				
Eté	Wx	1,91	1,16	1,69	1,12	7,89	8,88	7,73	9,09
	S	1,18	0,39	0,84	0,61	21,01	4,25	4,18	3,91

[a] voir Figure II.2 pour la localisation des stations d'échantillonnage 1 à 4 sur les sites de Wimereux et de la baie de Somme.

III.2.2. Hétérogénéité spatiale

A l'exception du mois d'avril 2003 et de la situation particulière en S1 en été 2004, les productions bactériennes mesurées sur le site de Wimereux sont plus fortes d'un facteur 2 à 3 que celles mesurées sur le site de la baie de Somme (Figure II.18).

De plus, un gradient côte/large décroissant des productions bactériennes est observé presque systématiquement sur toutes les périodes en baie de Somme, alors qu'il n'est clairement défini qu'au printemps 2004 à Wimereux (Figure II.18). Le plus souvent, les stations W2 et/ou W3 apparaissent comme étant plus et/ou autant productives que la station la plus côtière W1.

En résumé, les productions bactériennes montrent un schéma d'évolution différent entre les deux années 2003/04 :

- les productions relevées sont faibles en hiver 2003, et minimales en hiver 2004,
- elles sont maximales aux périodes printanières 2003/04, mais ces maxima en 2003 sont relevés au mois de mai, alors qu'ils sont observés dès le mois d'avril en 2004,
- elles sont minimales en été 2003, alors qu'en été 2004 elles se maintiennent aux niveaux printaniers sur le site de Wimereux, et augmentent en Somme.

Les valeurs de productions bactériennes sont globalement plus élevées à Wimereux qu'en baie de Somme. Le gradient côte/large des productions bactériennes est plus marqué sur le site de la baie de Somme.

IV. Caractérisation de la variabilité interannuelle et inter site

La variabilité spatio-temporelle des variables hydro-biologiques (température, salinité et concentrations en chlorophylle *a*) et bactériennes (abondances et productions bactériennes) a été étudiée grâce à une ACP appliquée à l'ensemble de la matrice de données [5 variables x 60 observations] obtenue sur 2003 et 2004, sur les deux sites d'étude (Wimereux et baie de Somme).

IV.1. Codage des variables et des observations

Pour faciliter la représentation graphique des variables (paramètres mesurés) et des observations (stations échantillonnées), différentes abréviations ont été utilisées (Tableau II.8). Les différentes stations ont été codées suivant la zone d'étude (« S » pour le site de la baie de Somme et « W » pour le site de Wimereux). Sur chaque site, les stations côtières correspondent aux stations « 1 », jusqu'à « 4 » pour les stations du large. Les prélèvements de 2003 sont représentés par un triangle, et ceux de 2004 par un cercle. Les différentes périodes échantillonnées sur chaque année sont figurées par une couleur différente (bleu pour l'hiver, vert et rouge pour le printemps, jaune et orange pour l'été) sur chaque site d'étude (cf. légende).

Tableau II.8 : Liste des abréviations utilisées relatives aux variables hydro-biologiques et bactériennes présentées dans le cadre des graphiques de l'analyse en composantes principales.

Abréviation	**Variable**
T	Température de surface (°C)
S	Salinité de surface (p.s.u.)
Chl-*a*	Concentration en chlorophylle *a* ($\mu g.L^{-1}$)
AB	Abondance bactérienne (10^6 cell.mL^{-1})
PB	Production bactérienne (par incorporation de ^{3}H-Thymidine ; 10^4 cell.$mL^{-1}.h^{-1}$)

IV.2. Résultats de l'ACP appliquée à la matrice des variables hydro-biologiques et bactériennes.

Les résultats de cette analyse [5 variables x 60 observations] montrent que les trois premiers axes de l'ACP expliquent 80,8% de la variance totale du nuage de points : 34,8% pour l'axe F1, 27,3% pour l'axe F2 et 18,7% pour l'axe F3 (Annexes A5). Seuls ces trois axes seront analysés car le quatrième (10,5% de l'inertie totale) n'apporte pas d'information nouvelle interprétable sur le plan écologique. Par souci de clarté, les variables et les stations seront présentées sur des figures différentes. Le rôle des variables et des stations dans la structuration des axes 1 à 3 est déterminé par l'analyse de leurs contributions relatives à l'inertie totale des axes ; ces valeurs exprimées en pourcentage sont présentées entre parenthèses dans la description des résultats qui suit. Seules les variables et observations ayant une contribution relative $\geq$ 3% seront prises en compte (Annexes A5). La projection des variables et des observations dans les 3 plans de l'ACP permet de définir le contexte spatio-temporel (gradient côte/large, gradient saisonnier), et les variabilités inter annuelle et inter site de chaque groupe de stations.

IV.2.1. Projection sur le plan 1 – 2

La variabilité saisonnière en 2003 et 2004, et la variabilité inter annuelle apparaissent clairement dans le plan 1 – 2 de l'ACP (Figure II.19).

L'axe 1 est structuré essentiellement par les paramètres bactériens, abondance (39,4%) et production (34,7% ; Figure II.19). Il reflète l'évolution saisonnière et le gradient côte/large structurés par les paramètres bactériens, au sein de chaque année. Le long de cet axe s'opposent :

(i) les stations côtières échantillonnées en avril et mai 2003 (contributions des stations à l'axe 1 de 3,7 à 7,8% ; Figure II.19 et Annexes A5), ainsi que celles échantillonnées en mai et juin 2004 (4,0 et 14,3%, respectivement ; Annexes A5) dans la partie positive de l'axe et

(ii) les stations échantillonnées en hiver dans la partie négative de l'axe, en particulier l'hiver 2004 (3,3 à 5,5% ; Annexes A5), et les stations du large (W3-W4 et S3-S4) échantillonnées en hiver et au printemps.

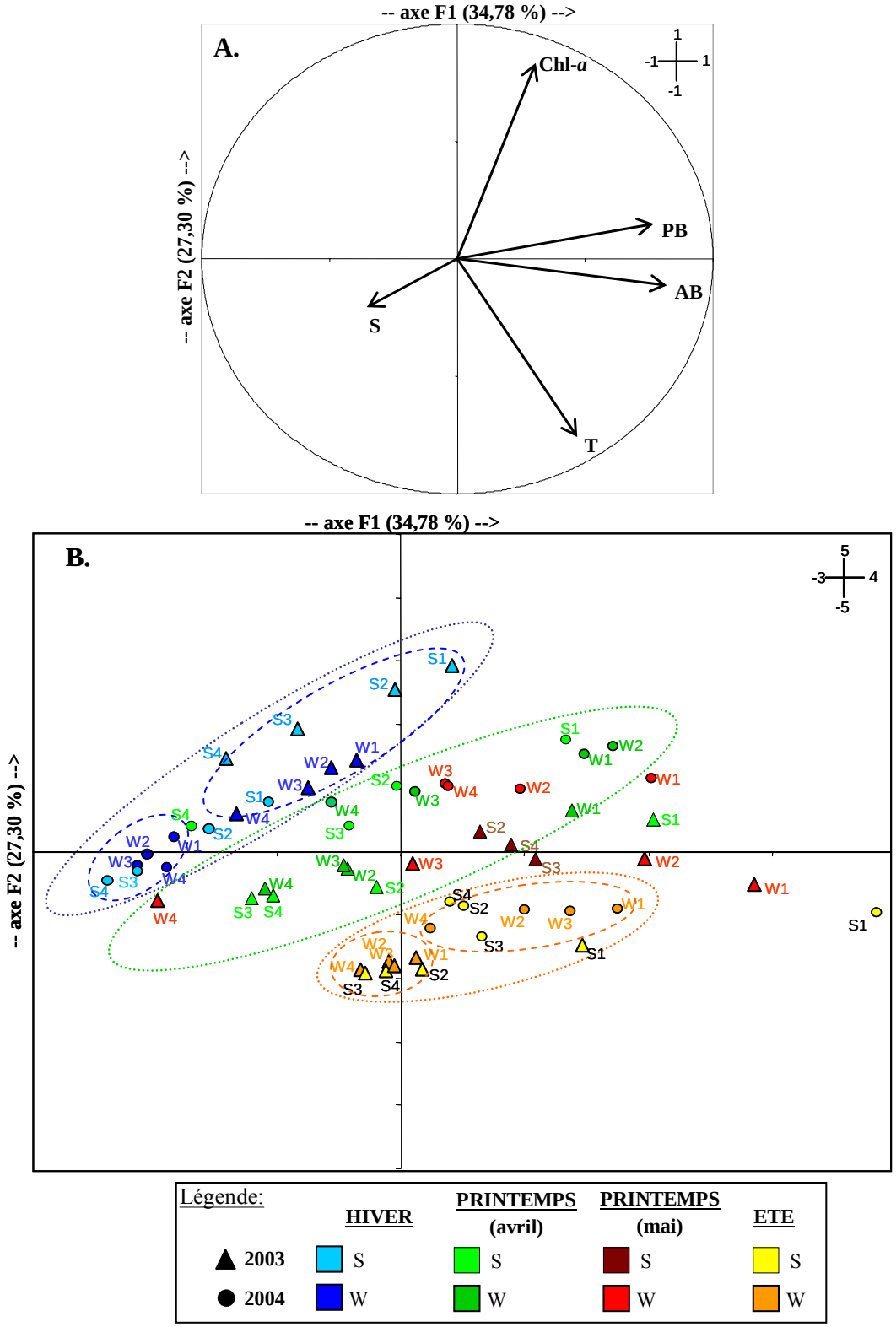


Figure II.19 : Analyse spatio-temporelle des observations hydro-biologiques (T, S, Chl-*a*) et bactériennes (AB, PB). Cercle des corrélations des variables (A.) et projections des observations (B.) sur le plan 1 – 2 issu de l'ACP réalisée sur les paramètres hydrologiques et bactériens [5 variables x 60 observations]. Les observations correspondant à l'année 2003 sont représentées par un triangle et celles correspondant à l'année 2004 par un cercle. Les différentes périodes échantillonnées au cours de ces deux années sont figurées par une couleur différente (bleu pour l'hiver, vert et rouge pour le printemps, jaune et orange pour l'été) sur les deux sites d'étude Wimereux (W) et baie de Somme (S ; cf. légende).

Il est intéressant de noter que cet axe reflète également la variabilité inter annuelle des paramètres bactériens, puisqu'en 2003, ce sont les observations d'avril et mai qui contribuent fortement à l'axe 1 (contributions des individus dans la partie négative de l'axe comprises entre 3,68 et 7,78% ; Annexes A5), tandis qu'en 2004, ce sont celles de mai et juin (contributions des individus dans la partie positive de l'axe de 3,97 et 14,34 %). Cette observation met en évidence le décalage temporel de la réponse bactérienne entre 2003 et 2004, présenté précédemment (§ III).

L'axe 2 reflète davantage l'évolution saisonnière de la biomasse phytoplanctonique, accentuée par le gradient saisonnier de température. En effet, cet axe est structuré par la concentration en chlorophylle *a* (51,6%) et la température des eaux de surface (42,6%), ces deux paramètres étant inversement corrélés (coefficient de corrélation de Pearson $r = -0,3$, $p < 0,05$; Annexes A5). L'axe 2 est structuré principalement par l'opposition

(i) des périodes hivernales de 2003 ainsi que celles printanières de 2004 et

(ii) de la période estivale de 2003.

Les stations échantillonnées en hiver 2003 en Somme (4,4 à 10,5%) et celles côtières échantillonnées en avril 2004 à Wimereux et en Somme (3,5 et 3,8% respectivement) sont localisées dans la partie positive de l'axe 2 (Figure II.19). Par opposition, les groupes échantillonnés en période estivale et caractérisés par les stations de Wimereux et Somme depuis la côte vers le large (3,7 à 10,5% ; Figure II.19) sont localisés dans la partie négative de l'axe 2.

L'axe 2 met également en évidence la variabilité inter annuelle de la biomasse phytoplanctonique puisque s'opposent de part et d'autre de cet axe les stations échantillonnées au printemps 2003 et celles échantillonnées au printemps 2004. En effet, 73,3% des observations du printemps 2003 sont situés dans la partie négative de l'axe 2, et 100% des observations du printemps 2004 sont situés dans sa partie positive (Figure II.19).

A la lumière de ces observations, 3 groupes de stations peuvent être individualisés sur le plan 1 – 2 (Figure II.19.B) :

(i) un groupe de stations hivernales, au sein duquel s'isolent les observations de 2004 (coordonnées comprises entre -0,4 et +0,4 sur l'axe 2) de celles de 2003 (+0,6 à +2,9 sur l'axe 2)

(ii) un groupe de stations printanières, au sein duquel les observations de 2003 (coordonnées positives sur l'axe 2) s'opposent à celles de 2004 (coordonnées négatives sur l'axe 2)

(iii) un groupe de stations estivales au sein duquel se regroupent les stations de 2003 (coordonnées presque toutes proches de zéro le long de l'axe 1) et celles de 2004 (+0,2 à +0,7 sur l'axe 1).

IV.2.2. Projection sur le plan 1 – 3

Le plan 1 – 3 de l'ACP met en évidence l'hétérogénéité spatiale des groupes d'observation, principalement marquée par un net gradient côte/large des observations en baie de Somme (Figure II.20). L'axe 3 est essentiellement structuré par la salinité (87,0% ; Figure II.20) et les groupes de stations côtières de la baie de Somme (4,0 à 22,5% ; Annexes A5), localisés dans la partie négative de l'axe 3. Ces groupes de stations s'opposent aux observations d'avril et mai 2004 sur la station W3 (3,1 et 3,2%, respectivement ; Annexes A5) situées dans la partie positive de l'axe 3, et caractérisées par des salinités de surface plus élevées par rapport au reste de la colonne d'eau (Annexe A5). Le long de cet axe s'opposent :

- les groupes de stations côtières (partie négative de l'axe 3 ; Figure II.20) portant les chiffres « 1 » et « 2 », et

- les groupes de stations du large (partie positive de l'axe 3) portant les chiffres « 3 » et « 4 ». Cette opposition n'est toutefois pas systématique pour les observations du site de Wimereux, où certains points côtiers sont localisés dans la partie positive de l'axe.

En outre, l'alignement des stations 1 à 4 le long de l'axe 1 confirme l'existence du gradient côte/large, largement structuré par les paramètres biologiques au printemps et en été. En hiver, la déviation de l'alignement des points montre que le gradient est fortement conditionné par la salinité, et par la dessalure particulièrement marquée sur la station côtière S1 en 2004. Cette déviation peut s'expliquer par des pluies hivernales plus fortes en 2004 qu'en 2003, accentuant alors la dessalure en baie de Somme.

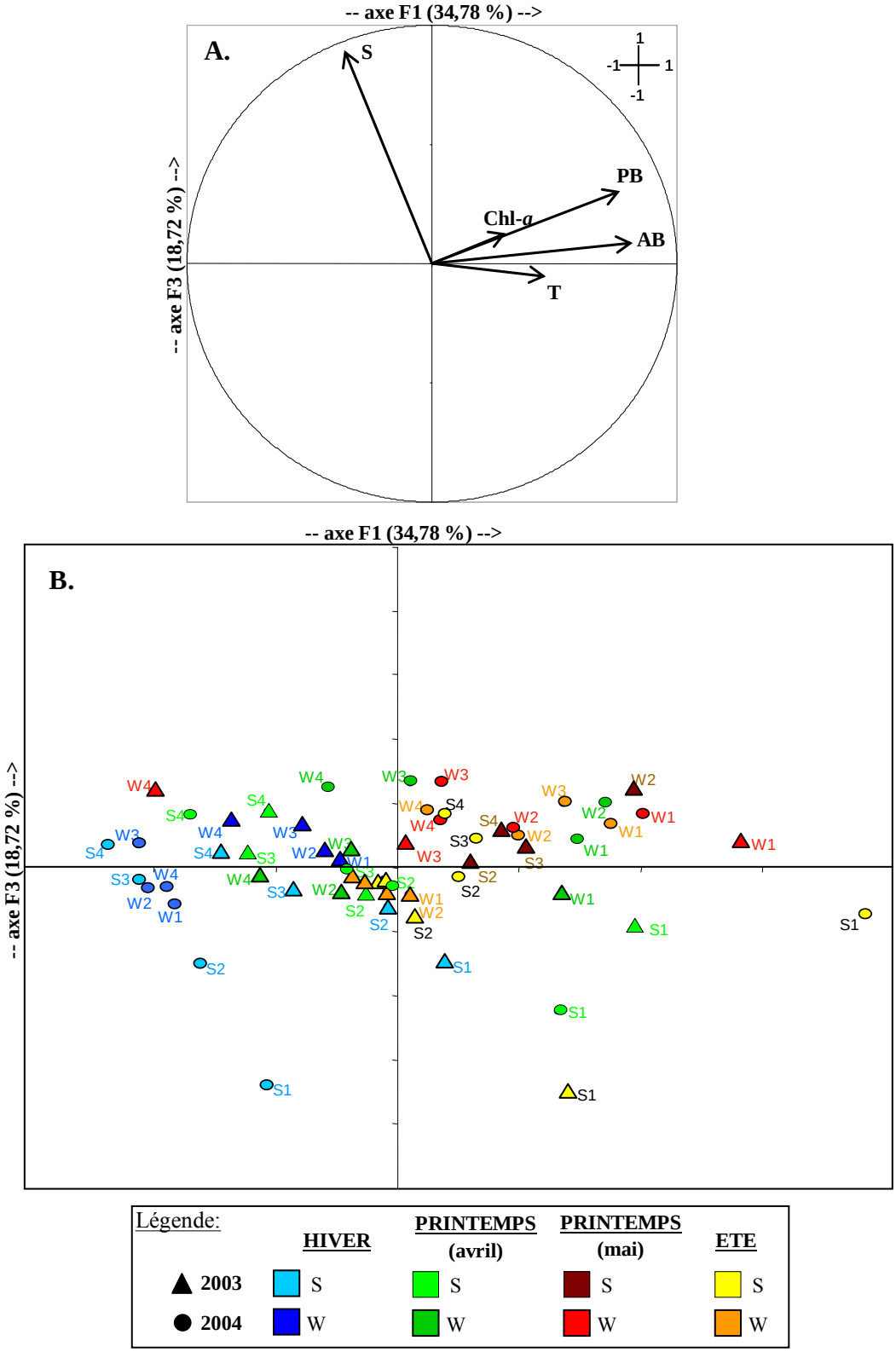


Figure II.20 : Analyse spatio-temporelle des observations hydro-biologiques (T, S, Chl-*a*) et bactériennes (AB, PB). Cercle des corrélations des variables (A.) et projections des observations (B.) sur le plan 1 – 3 issu de l'ACP réalisée sur les paramètres hydrologiques et bactériens [5 variables x 60 observations]. Les observations correspondant à l'année 2003 sont représentées par un triangle et celles correspondant à l'année 2004 par un cercle. Les différentes périodes échantillonnées au cours de ces deux années sont figurées par une couleur différente (bleu pour l'hiver, vert et rouge pour le printemps, jaune et orange pour l'été) sur les deux sites d'étude Wimereux (W) et baie de Somme (S ; cf. légende).

IV.2.3. Projection sur le plan 2 – 3

La projection sur le plan 2 – 3 (Figure II.21) de l'ACP permet de confirmer la signification des ces axes, à savoir :

– l'axe 2 représentatif (i) de l'évolution saisonnière des observations et (ii) de la variabilité inter annuelle des biomasses phytoplanctoniques, les observations hivernales de 2003 et celles printanières de 2004 étant généralement situées dans la partie positive de l'axe et les observations printanières de 2003 et celles estivales de 2003/04 dans la partie négative

– l'axe 3 illustrant le gradient côte/large conditionné par la salinité, avec les stations les plus côtières dans la partie négative de l'axe, et les stations du large dans la partie positive. Ce gradient apparaît nettement plus marqué sur le site de la baie de Somme (particulièrement dû à la station S1) que sur celui de Wimereux, où certaines stations côtières (1 et 2) se mélangent à celles du large (3 et 4).

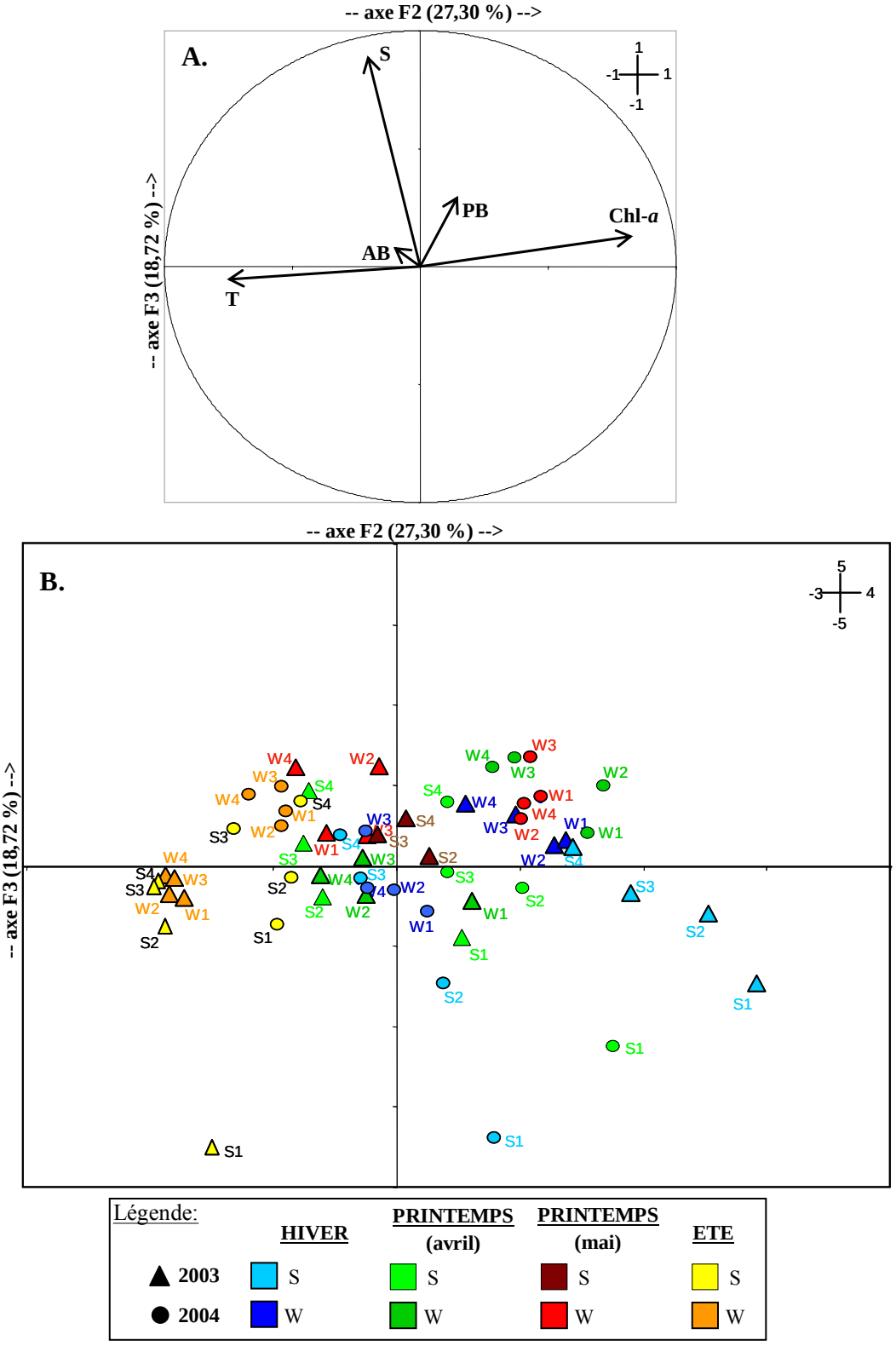


Figure II.21 : Analyse spatio-temporelle des observations hydro-biologiques (T, S, Chl-*a*) et bactériennes (AB, PB). Cercle des corrélations des variables (A.) et projections des observations (B.) sur le plan 2 – 3 issu de l'ACP réalisée sur les paramètres hydrologiques et bactériens [5 variables x 60 observations]. Les observations correspondant à l'année 2003 sont représentées par un triangle et celles correspondant à l'année 2004 par un cercle. Les différentes périodes échantillonnées au cours de ces deux années sont figurées par une couleur différente (bleu pour l'hiver, vert et rouge pour le printemps, jaune et orange pour l'été) sur les deux sites d'étude Wimereux (W) et baie de Somme (S ; cf. légende).

V. Discussion

V.1. Contexte climatique 2003 – 2004 : deux années atypiques

D'un point de vue climatique, les années 2003 et 2004 peuvent être considérées comme des années atypiques (Figure II.8 et Tableau II.4; voir aussi Annexes A6 pour les bulletins mensuels 2003/04 METEOFRANCE).

En effet, l'année 2003 a été caractérisée par (i) un ensoleillement exceptionnel jusqu'au mois de mars, (ii) des températures particulièrement douces dès le mois de mai et (iii) des précipitations déficitaires en hiver et au printemps, et un été qui a enregistré de nombreux épisodes pluvieux.

L'année 2004 a été caractérisée par (i) une insolation supérieure à la moyenne depuis mars jusqu'à juin mais inférieure à celle de 2003 pour la même période, (ii) des mois hivernaux plus frais et (iii) des pluies hivernales et printanières inférieures aux normes saisonnières, et des pluies estivales importantes.

Les forçages climatiques sont de plus en plus reconnus comme facteurs structurant la variabilité inter annuelle des micro-organismes dans les écosystèmes aquatiques (Seuront et Souissi, 2002 et références citées ; Peperzak, 2003). Plus spécifiquement, le forçage climatique sur les processus physico-chimiques et biologiques dans les océans est considéré comme un facteur important pour comprendre la dynamique complexe des écosystèmes marins (Dickson *et al.,* 1998). En ce qui nous concerne, l'impact des facteurs abiotiques sur la dynamique du phytoplancton et du bactérioplancton fera l'objet de cette discussion.

V.2. Conséquences sur la typologie phytoplanctonique en 2003 et en 2004

V.2.1. Variabilité inter annuelle phytoplanctonique

La principale caractéristique de la variabilité inter annuelle 2003/04 réside dans le décalage temporel des périodes de biomasses phytoplanctoniques maximales, clairement mis en évidence par l'analyse en composantes principales (ACP ; voir § IV.2.1 et Figures II.19 à II.21). En effet, les teneurs en Chl-*a* sont maximales (30 – 40 µg Chl-*a*.L^{-1}) en mars 2003 alors qu'un pic de concentration du même ordre de grandeur (teneurs maximales de 20 – 30 µg Chl-*a*.L^{-1}) est observé en avril 2004. L'apparition d'un bloom phytoplanctonique printanier est un phénomène récurrent dans les eaux côtières de la Manche orientale (Tableau

II.9 et références citées), conditionné par les fortes teneurs en sels nutritifs du milieu et lié à l'augmentation de l'irradiance. Nos résultats sont concordants avec ceux observés antérieurement en Manche orientale et en Mer du Nord, qui mettent en évidence (i) des concentrations en chlorophylle *a* du même ordre de grandeur, et (ii) l'étendue de la période fortement productive d'avril à mai (Tableau II.9). Le bloom relevé en mars 2003 sur notre site d'étude, bien que précoce par rapport aux conditions habituelles d'apparition (avril / mai), n'est pas surprenant étant donné les conditions d'ensoleillement exceptionnelles relevées fin mars sur notre site d'étude. Par ailleurs, il a été observé en Mer du Nord au cours de la même période, sur des stations côtières proches du détroit du Pas-de-Calais, sous influence directe des apports venant de la Manche orientale (Muylaert *et al.,* 2006 ; Tableau II.9).

Tableau II.9 : Comparaison des périodes de concentrations en chlorophylle *a* maximales observées en Manche orientale et en Mer du Nord, zones côtières soumises à des blooms récurrents de *P. globosa*.

Site	Année d'étude	Période	Chl-*a* ($\mu g.L^{-1}$)	Références
Manche orientale	2004	avril	30	Cette étude (baie de Somme / Wimereux)
Manche orientale	2004	avril	60	Seuront *et al.,* 2006 (point côtier SOMLIT[a])
Manche orientale	2003	mars	40	Cette étude (baie de Somme / Wimereux)
Manche orientale	2002	avril	30	Schapira, 2005 (baie de Somme / Wimereux)
Manche orientale	2000	mai	15	Vantrepotte, 2003 (Baie de Seine)
Manche orientale	1997	avril	21	Breton, 2000 (baie de Somme / Wimereux)
Manche orientale	1994	mai	30	Gentilhomme et Lizon, 1998 (Wimereux)
Manche orientale	1992	mai	30	Brylinski *et al.,* 1996 (baie de Seine / cap Gris-Nez)
Manche orientale	1990	mai	60	Brunet *et al.,* 1992 (radiale Wimereux)
Manche orientale	1982	avril	6	Lancelot et Billen, 1984 (cap Gris-nez)
Mer du Nord	2003	mars / avril	60	Muylaert *et al.,* 2006
Mer du Nord	1998	avril	20	Rousseau *et al.,* 2000
Mer du Nord	1997	avril	52	Tungaraza *et al.,* 2003
Mer du Nord	1996	avril	18	Tungaraza *et al.,* 2003
Mer du Nord	1990	avril	55	van Boekel *et al.,* 1992
Mer du Nord	1982	avril	14	Lancelot et Billen, 1984

[a] Ce point côtier a pour coordonnées géographiques 50°40'75N – 1°31'17E, et se situe en zone côtière au sud de notre site d'étude.

Les conditions climatiques et nutritives particulières rencontrées au cours des années 2003 et 2004 semblent avoir joué un rôle important sur la typologie phytoplanctonique en Manche orientale, et peuvent être à l'origine des différences inter annuelles observées. Cette variabilité inter annuelle est marquée par un fort décalage temporel du maximum d'abondance de *P. globosa* :

- L'**Hiver 2003** est caractérisé par le développement d'un bloom (15 – 30 µg Chl-*a*.L^{-1} ; Figure II.16) principalement dû à *P. globosa*, précoce par rapport à sa période habituelle d'apparition (mars ; Anonyme, 2004). Cette efflorescence précoce correspondrait à l'utilisation des stocks hivernaux de sels nutritifs, en particulier d'ammonium (Brunet *et al.,* 1992 ; Gentilhomme et Lizon, 1998) dont les concentrations sont particulièrement élevées en hiver 2003 (Figures II.12 et II.16). La comparaison des rapports N/P/Si de l'eau de mer avec ceux de Redfield (1963) indique que le phosphate (P) est le sel nutritif susceptible de limiter la croissance phytoplanctonique au cours de cette période, et qu'il n'y a pas de limitation majeure par l'azote (Figure II.16).

Par ailleurs, la dominance précoce de *P. globosa* (de l'ordre de 10^6 cell.L^{-1} ; Anonyme, 2004) par rapport aux diatomées (entre 10^3 et 10^5 cell.L^{-1} ; Anonyme, 2004) a pu également être favorisée par des conditions de lumière exceptionnelles en hiver 2003 (comme stipulé dans de précédentes études par Lancelot et Mathot, 1987 ; Seuront et Souissi, 2002). En effet, *P. globosa* serait plus compétitive que les diatomées dans des conditions de forte intensité lumineuse (Seuront et Souissi, 2002). De plus, les propriétés de flottabilité de *Phaeocystis* (Skreslet, 1988), en particulier celles liées à la forme coloniale de la micro-algue (Lancelot, 1995), suggèrent une seconde adaptation à la compétition pour la lumière ; les colonies pourraient alors rester à la surface, et bénéficier ainsi de conditions d'éclairement optimales pour réaliser la photosynthèse.

- L'**hiver 2004** est caractérisé par le développement d'un bloom hivernal de diatomées (5 – 10 µg Chl-*a*.L^{-1} ; Figure II.16), avec des abondances de l'ordre de 10^5 cell.L^{-1} (A. Sazhin, comm. pers. ; Anonyme, 2005). Ce bloom a certainement été soutenu par les concentrations hivernales en nitrates plus élevées qu'en 2003, notamment sur le site de Wimereux (Figures II.11 et II.16). Les diatomées, bénéficiant d'un avantage sélectif dans les environnements riches en azote (Lancelot et Billen, 1985), ont pu en effet être favorisées dans de telles conditions nutritives. Par ailleurs, l'insolation en hiver 2004 était supérieure à la moyenne annuelle mais est restée inférieure à celle de 2003, favorisant les espèces dotées du seuil

critique d'intensité lumineuse le plus bas, comme les diatomées (voir ***e.g.*** Hegarty et Villareal, 1998).

Les périodes hivernales 2003/04 sont donc caractérisées par des forçages climatiques et des conditions nutritives significativement différents, jouant un rôle prépondérant dans la compétition *P. globosa* / diatomées, et conduisant ainsi à des périodes d'apparition des deux algues différentes.

- Au **printemps 2003**, la présence dès le mois d'avril d'un assemblage phytoplanctonique (3 – 7,5 µg Chl-*a*.L^{-1} ; Figure II.16) caractérise une période de milieu/fin de bloom de *P. globosa* (Schapira, 2005), accompagnée d'un déficit des stocks en sels nutritifs (Figure II.16).
- Au **printemps 2004**, l'apparition de *P. globosa* a lieu à la fin du mois de mars 2004 et son maximum d'abondance est atteint à la fin du mois d'avril 2004 (moyennes printanières : 10 – 15 µg Chl-*a*.L^{-1} ; Figure II.16 ; maximum d'abondance de *P. globosa* de 5,5 x 10^6 cell.L^{-1} ; Seuront *et al.,* 2006). Cette efflorescence décline en fin de printemps, accompagnée d'une baisse des concentrations en sels nutritifs (Figure II.16).

La variabilité inter annuelle relève ici essentiellement d'une variabilité temporelle différentielle de *P. globosa*, puisque cette espèce domine les assemblages.

- En **été 2003**, la floraison secondaire estivale (5 – 10 µg Chl-*a*.L^{-1}) de diatomées (Anonyme, 2004 ; Schapira, 2005) est soutenue par des concentrations en sels nutritifs en augmentation (Figure II.16) vraisemblablement en raison de fortes pluies estivales (apports indirects par voies fluviales, et directs par voie atmosphérique ; Jickells, 1995) et à la minéralisation bactérienne pélagique et benthique. Cette période est marquée par l'observation d'espèces atypiques pour la saison (Schapira, 2005) comme *Asterionellopsis glacialis*, généralement caractéristique de la période automnale (Rousseau *et al.,* 2002 ; Schapira, 2005), illustrant ainsi un décalage temporel dans la succession des espèces phytoplanctoniques en 2003.
- L'**été 2004** est caractérisé par le développement d'un bloom estival (4 – 6 µg Chl-*a*.L^{-1}) de diatomées, avec des abondances jusqu'à 2,8 x 10^6 cell.L^{-1} (Seuront *et al.,* 2006), soutenu par le maintien des stocks en ammonium (Figure II.16). Les fortes pluies estivales en 2004 pourraient également être à l'origine de concentrations en sels nutritifs en augmentation, permettant de soutenir ce bloom secondaire.

La variabilité inter annuelle relève à la fois (i) d'un décalage temporel dans la succession des espèces algales, déjà évoqué précédemment, et (ii) d'une variabilité propre aux communautés

phytoplanctoniques (*e.g.* taux de croissance, capacité de colonisation des assemblages), dont la structure est différente d'une année à l'autre.

Cette forte variabilité inter annuelle des successions phytoplanctoniques a également été observée en Mer du Nord (Rousseau, 2000), mettant en évidence une variabilité d'amplitude des blooms pouvant atteindre un facteur 8. Récemment, Cadée et Hegeman (2002) ont souligné une baisse régulière de la durée des blooms de *Phaeocystis* depuis 1990 (150 jours en 1990 contre 70 jours en 2001), ainsi qu'une avancée du déclenchement du bloom à partir d'un suivi de 40 ans dans les eaux du sud de la Mer du Nord (la date de déclenchement est passée de mi avril à fin mars entre 1975 et 2000). Une explication possible de la forte variabilité inter annuelle observée en Manche orientale entre 2003 et 2004 pourrait être un forçage climatique différent, conduisant à des conditions hydrodynamiques différentes, en relation avec l'oscillation de la NAO[5] (Irigoien *et al.,* 2000 ; Seuront et Souissi, 2002).

L'écosystème Manche orientale, de par la dynamique inter annuelle de ses paramètres hydro-biologiques (*i.e.* conditions nutritives et biomasses phytoplanctoniques) et climatiques, montre de grandes similitudes avec d'autres écosystèmes côtiers soumis de manière récurrente à des blooms de *P. globosa*, comme la Mer du Nord (Tableau II.9 et références citées). Néanmoins, cet écosystème se distingue des autres écosystèmes par deux aspects fondamentaux :

- les stocks hivernaux en sels nutritifs observés en Manche orientale sont de moindre importance que ceux relevés dans les eaux côtières de la Mer du Nord (Tableau II.10). Ces dernières sont fortement influencées par d'importants apports fluviatiles (*i.e.* estuaire de l'Escault) très chargés en éléments nutritifs (notamment nitrates et silicates, Tableau II.10).
- les conditions hydrodynamiques semblent prépondérantes en Manche orientale dans la succession des assemblages phytoplanctoniques (Seuront et Souissi, 2002 ; Schapira, 2005 ; Schapira *et al., sous presse*), tandis que cette succession serait, en Mer du Nord, principalement contrôlée par la disponibilité en nutriments (Rousseau, 2000).

[5] Les initiales NAO désignent l'oscillation Nord-Atlantique (North Atlantic Oscillation). Il s'agit d'un forçage atmosphérique, variable inter annuellement (Hurrel, 1995), qui créé des différences de pression atmosphérique et agit sur les conditions climatiques (température de l'air, précipitations, couverture nuageuse, force du vent).

Tableau II.10 : Comparaison des concentrations en sels nutritifs (µM) en Manche orientale et Mer du Nord, mesurés avant et après l'efflorescence de *P. globosa*.

Site	Année d'étude	NO_3^-	NH_4^+	HPO_4^{2-}	$Si(OH)_4$	Références
Manche orientale Wimereux	2004	20 - < l.d.	1,1 – 0,2	0,5 – 0,2	3,5 – 1	Cette étude
Manche orientale Somme	2004	15 - 0	1,6 – 0,4	0,3 – 0,1	2,7 – 1,1	Cette étude
Manche orientale Wimereux	2003	10 - < l.d.	9 – 0	0,5 - < 0,1	1,5 - < l.d.	Cette étude
Manche orientale Somme	2003	20 - < l.d.	5 - 0	0,8 - < 0,1	4 - 0	Cette étude
Manche orientale	2002	23 - < l.d.	8 - 0	n.d.	8,8 – 1,3	Schapira, 2005
Manche orientale	2000	48,8 – 3,1	n.d.	1,7 – 0,4	18,2 – 0,5	Vantrepotte, 2003
Manche orientale	1994	20 - < l.d.	8 - 1	n.d.	n.d.	Gentilhomme et Lizon, 1998
Manche orientale	1982	6,6 - 0	4,4 - 0	n.d.	n.d.	Lancelot et Billen, 1984
Mer du Nord	2003	D.I.N. : 60 - 10		1,2 – 0,05	40 - 5	Muylaert *et al.,* 2006
Mer du Nord	2000	36 – 3,3	< 5	2,7 – 0,3	13 – 3,9	Rousseau *et al.,* 2002
Mer du Nord	1998	50 - < l.d.	3,7 – 0,7	1 – 0,09	15 – 3,6	Rousseau *et al.,* 2000
Mer du Nord	avril 98	14,7 ± 11,4	0,5 ± 0,3	0,1 ± 0,1	0,9 ± 1,2	Stelfox-Widdicombe *et al.,* 2004
Mer du Nord	1997	30 – 0,1	8 - 1	1,7 – 0,3	30 – 0,2	Tungaraza *et al.,* 2003
Mer du Nord	1996	40 – 0,1	8 – 0,2	3,4 – 0,1	30 - 3	Tungaraza *et al.,* 2003
Mer du Nord	1996	78,6 - 10	n.d.	1,52 – 0,2	7,7 – 1,6	Peperzak *et al.,* 1998
Mer du Nord	1990	80 – 1,8	6 - < l.d.	1,5 – 0,2	15 – 1,5	van Boeckel *et al.,* 1992
Mer du Nord	1982	36 – 2 17 - 0	1,5 – 0 3 – 0,3	n.d n.d..	n.d. n.d.	Lancelot et Billen, 1984

V.2.2. Variabilité spatiale des paramètres hydrologiques, chimiques et biologique (Chl-*a*)

A cette variabilité inter annuelle marquée s'ajoute une variabilité spatiale liée aux particularités hydrologiques, chimiques et biologiques identifiées sur nos échelles d'observation :

- variabilité spatiale inter site Wimereux / baie de Somme,
- variabilité côte / large au sein d'un même site.

et mise en évidence par l'analyse en composantes principales (ACP ; voir § IV et Figures II.19 à II.21).

Globalement, le site de la baie de Somme est caractérisé par (i) des conditions de stratification de la colonne d'eau plus prononcées qu'à Wimereux, (ii) un gradient hydrologique de la côte vers le large plus marqué, et (iii) des teneurs en Chl-*a* et en sels nutritifs plus fortes. Ces différences inter site sont essentiellement dues à (i) l'influence fluviatile directe et plus importante du site de la baie de Somme (Loquet *et al.,* 2000 ; Rybarczyk *et al.,* 2003) par rapport au site de Wimereux, et (ii) des conditions hydrodynamiques plus intenses à Wimereux qu'en Somme (Anonyme, 1988 ; Schapira, 2005). Cela suggère que la variabilité spatiale inter site des paramètres chimiques (teneurs en sels nutritifs) et biologiques (concentrations en chlorophylle *a*) est étroitement liée aux forçages physiques (hydrodynamisme) et hydrologiques qui prédominent sur chacun des sites.

En terme de variabilité spatiale côte / large intra site, les eaux côtières sont caractérisées par des biomasses phytoplanctoniques et des teneurs en éléments nutritifs plus élevées que dans les eaux du large, tout au long des deux années d'étude (exception faite des teneurs en ammonium particulièrement élevées au large en hiver 2003 ; Figure II.12). Ces observations sont conformes à celles réalisées précédemment en Manche orientale (Brylinski *et al.,* 1984 ; Brunet *et al.,* 1992 ; Gentilhomme et Lizon, 1998 ; Breton, 2000 ; Cotonnec, 2001 ; Schapira, 2005).

Le phytoplancton représente, par son activité de photosynthèse, l'acteur initial et fondamental de synthèse de matière organique dissoute et particulaire (Garnier et Barillier, 1991), lui conférant une place fondamentale à la base des réseaux trophiques planctoniques. Sa variabilité aura donc un impact significatif sur les composants du réseau trophique, parmi lesquels le bactérioplancton tient une place prépondérante. En effet, en tant que principal consommateur du carbone organique (COD ; Cole *et al.,* 1988), le bactérioplancton assure (i) la reminéralisation du COD et (ii) la transformation des matières organiques dissoutes et particulaires (dont celles issues de la production autotrophe) en biomasse carbonée, utilisables par les échelons trophiques supérieurs du réseau planctonique.

V.3. Conséquences sur les communautés bactériennes : une variabilité induite par celle du compartiment phytoplanctonique ?

V.3.1. Estimations des stocks et processus bactériens en Manche orientale : Comparaisons avec d'autres écosystèmes soumis à *P. globosa*

Nos estimations d'abondance bactérienne (AB) en Manche orientale sont conformes à celles réalisées dans d'autres écosystèmes côtiers de conditions trophiques similaires (*i.e.* concentrations en Chl-*a*) et au sein desquels *P. globosa* apparaît de manière récurrente (Tableau II.11). En effet, elles sont du même ordre de grandeur que celles d'études antérieures réalisées en Mer du Nord ou en Mer de Ross, aussi bien pour des estimations exprimées en cell.L^{-1} (Karlson *et al.,* 1996 ; Umani *et al.,* 2002) que pour celles exprimées en µgC.L^{-1} (Karlson *et al.,* 1996 ; Rousseau *et al.,* 2000 ; Umani *et al.,* 2002), malgré les différents facteurs de conversion en biomasse carbonée utilisés (Tableau II.11).

L'estimation stricte de la biomasse bactérienne par microscopie à épifluorescence requiert la détermination du biovolume des cellules bactériennes et l'utilisation d'un facteur de conversion de biovolume en biomasse. Le rapport biomasse / volume cellulaire bactérien a pu être déterminé à partir d'approches empiriques différentes (*e.g.* Simon et Azam, 1989 ; Fukuda *et al.,* 1998 ; Gundersen *et al.,* 2002), donnant lieu à des estimations très diversifiées. Cette variabilité peut avoir des implications dans l'étude de la répartition du carbone dans les populations bactériennes et de la disponibilité de ce carbone pour les prédateurs bactériens et donc les échelons supérieurs du réseau trophique planctonique. Le facteur utilisé ici est celui emprunté à Lee et Fuhrman (1987) et basé sur un modèle de biomasse constante. Il considère l'indépendance entre le volume bactérien et le contenu cellulaire pour des bactéries de tailles comprises entre 0,036 et 0,073 μm^3. Ce facteur, largement utilisé dans les études les plus récentes en écologie marine (Lovejoy *et al.,* 2000; Van Wambeke *et al.,* 2000, 2002 ; La Ferla *et al.,* 2005), permet des estimations de biomasse bactérienne pertinentes, conformes à celles d'études antérieures réalisées dans des écosystèmes côtiers (Tableau II.11).

D'autres études font état d'abondances bactériennes respectivement plus faibles [Becquevort et Smith, 2001 (5) ; Sherr *et al.,* 2003 (2)] et plus élevées [van Boekel *et al.,* 1992 (9) ; Brussaard *et al.,* 2005b (1)] que celles relevées en Manche orientale. Ces écarts par rapport à nos valeurs sont à mettre en liaison avec la ressource trophique disponible (concentrations en Chl-*a* plus faibles et plus élevées, respectivement (Tableau II.11).

Tableau II.11: Gamme de variation ou valeurs maximales (max.) (i) de l'abondance bactérienne (AB), (ii) de la production bactérienne (PB) et (iii) de la biomasse phytoplanctonique (Chl-*a*) dans différents écosystèmes soumis à des blooms de *Phaeocystis sp.* (données en eaux de surface).

Sites	Chl-*a*	AB		Méthode & facteurs de conversion	PB			Radio-isotope	Facteurs de conversion
		cell	µgC		cell	pmol	µgC		
1 - Mer du Nord (mésocosme)	20,0 - 60,0	1,0 - 12,0	x	SYBR Green I; FCM /	x	3 x 10^3 (max.)	> 9,2 (max.)	Leu	% Leu = 0,073 C / Prot = 0,86
2 - Océan Arctique	0,0 - 4,0	0,1 - 0,3	2,6 - 13,3	DAPI; EFM 20 fgC.cell^{-1}	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3 - Mer de Ross (1997 / 1998)	0,1 - 3,6	0,03 - 1,2	0,7 - 24,0	DAPI; EFM /	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4 - Mer de Ross (1994 / 1997)	0,03 - 4,4	0,07 - 5,0	x	AO / EFM 1,07 x 10^{-13} gC.µm^{-3}	x	0,03 - 4,2	x	Thy	8,6 x 10^{17} cell.mol^{-1} Thy 1,07 x 10^{-13} gC.µm^{-3}
5 - Mer de Ross (1997)	0,3 - 14,0	0,03 - 0,5	0,6 - 10,0	DAPI; EFM 20 fgC.cell^{-1}	0,1 - 3,1	0,1 - 3,6	0,0 - 0,1	Thy	8,6 x 10^{17} cell.mol^{-1} Thy 20 fgC.cell^{-1}
6 - Mer du Nord (1998)	1,0 - 20,0	x	20,0; 61,0 (max.)	DAPI; EFM C = 90 V$^{0.6}$	x	2,1 - 3,7 x 10^2 (max.)	0,8; 1,5 (max.)	Leu	3950 gC.mol^{-1} Leu
7 - Mer du Nord (1994)	n.d.	< 1,0 - 7,5	< 1,0 - 120,0	DAPI; EFM C = 90 V$^{0.6}$ 15 - 80 fgC.cell^{-1}	x	0,1 – 1,2 x 10^3	0,6 - 4,7	Leu	3950 gC.mol^{-1} Leu
8 - Skagerrak (Mer du Nord / Mer Baltique)	13,0 (max.)	0,1 - 3,5	1,2 - 35,0	DAPI; EFM 0,05 µm^3.cell^{-1} 2,0 x 10^{-7} µgC.µm^{-3}	1,0 - 45,0	0,5 - 22,5	0,01 - 0,4	Thy	2,0 x 10^{18} cell.mol^{-1} Thy 0,05 µm^3.cell^{-1} 2,0 x 10^{-7} µgC.µm^{-3}
9 - Mer du Nord (1990)	5,0 - 55,0	x	100,0 - 400,0	AO; EFM 0,22 x 10^{-12} gC.µm^{-3}	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
10 - Manche orientale (1982)	0,2 - 5,7	n.d.	n.d..	n.d.	x	< 1 - 9,2	x	Thy	/
11 - Mer du Nord (1982)	0,2 - 14,5	n.d.	n.d.	n.d.	x	< 1 - 10,7	x	Thy	/
12 - Manche orientale (W; 2003)	3,0 - 30,0	0,2 - 2,7	3,4 - 53,2	DAPI; EFM 20 fgC.cell^{-1}	11,2 - 177,8	5,3 - 84,6	0,2 - 3,5	Thy	2.1 x 10^{18} cell.mol^{-1} Thy 20 fgC.cell^{-1}
13 - Manche orientale (W; 2004)	3,0 - 15,0	0,1 - 1,3	2,4 - 26,1	DAPI; EFM 20 fgC.cell^{-1}	1,8 - 126,2	0,8 - 60,1	0,04 - 2,5	Thy	2.1 x 10^{18} cell.mol^{-1} Thy 20 fgC.cell^{-1}
14 - Manche orientale (S; 2003)	5,0 - 30,0	0,2 - 2,3	4,2 - 46,0	DAPI; EFM 20 fgC.cell^{-1}	3,9 - 96,5	1,9 - 45,9	0,08 - 1,9	Thy	2.1 x 10^{18} cell.mol^{-1} Thy 20 fgC.cell^{-1}
15 - Manche orientale (S; 2004)	4,0 - 30,0	0,1 - 1,4	2,1 - 28,9	DAPI; EFM 20 fgC.cell^{-1}	1,8 - 210,1	0,8 - 100,0	0,04 - 4,2	Thy	2.1 x 10^{18} cell.mol^{-1} Thy 20 fgC.cell^{-1}

Tableau II.11– *suite* :
Les estimations d'abondance bactérienne sont exprimées en 10^9 cell.L^{-1} (cell) et/ou en µgC.L^{-1} (µgC) ; La méthode d'estimation et les facteurs de conversion en biomasse carbonée sont précisés pour chaque étude ; DAPI = 4-6-diamidino-2-phényl-indole ; AO = Acridine Orange ; EFM = Microscopie en Epifluorescence ; FCM = Cytométrie en Flux ; C = contenu cellulaire en carbone (fgC.$cell^{-1}$) ; V = volume cellulaire (µm^3.$cell^{-1}$).
Les estimations de production bactérienne sont exprimées en 10^6 cell.L^{-1}.h^{-1} (cell), en pmol de radioisotope incorporé.L^{-1}.h^{-1} (pmol) et/ou en µgC.L^{-1}.h^{-1}(µgC); Le radioisotope utilisé est précisé pour chaque étude: Thy = Thymidine; Leu = Leucine.
Les estimations de biomasse phytoplanctonique sont exprimées en µg Chl-*a*.L^{-1}.
x = estimation non calculable; / = facteurs de conversions non précisés dans l'étude; n.d. = non déterminé

Références citées (les n° en gras inscrits devant chaque site d'étude correspondent aux références suivantes) :
1 – Brussaard *et al.,* 2005b
2 – Sherr *et al.,* 2003
3 – Umani *et al.,* 2002
4 – Ducklow *et al.,* 2001
5 – Becquevort et Smith, 2001
6 – Rousseau *et al.,* 2000
7 – Becquevort *et al.,* 1998
8 – Karlson *et al.,* 1996
9 – van Boekel *et al.,* 1992
10 – Lancelot et Billen, 1984
11 – Lancelot et Billen, 1984
12 – Cette étude (Wimereux 2003)
13 - Cette étude (Wimereux 2004)
14 - Cette étude (Somme 2003)
15 - Cette étude (Somme 2004)

Par ailleurs, Becquevort *et al.* (1998 ; référence 7 dans le tableau II.11) trouvent des abondances plus fortes et des biomasses carbonées plus élevées que sur notre site d'étude. Il en est de même en comparant leurs résultats à ceux réalisés en Mer du Nord sur le même site d'échantillonnage par Rousseau *et al.* (2000 ; référence 6 – tableau II.11). Cette différence peut être due (i) à la distinction, dans les estimations de Becquevort *et al.* (1998), des bactéries libres de celles attachées aux particules, notamment celles issues de *P. globosa*, et (ii) à l'application de facteurs de conversion en biomasse carbonée différents pour les deux fractions (fraction attachée se voyant affectée d'un facteur de conversion plus élevé que la fraction libre). Cela suggère que nos estimations d'AB ont pu être sous estimées, dès lors que l'importance relative de la fraction bactérienne attachée aux particules n'a pu être prise en compte dans sa totalité dans notre protocole de mesure. Or, cette fraction attachée est responsable d'une part importante de la production bactérienne et des activités de dégradation bactérienne de la matière, en particulier au moment du déclin du bloom de *P. globosa* (Becquevort *et al.,* 1998 ; Mari *et al.,* 2004). Néanmoins, nos résultats sont issus d'un compromis entre la méthode de comptages en microscopie à épifluorescence et le nombre d'échantillons à analyser. A la lumière de cette comparaison avec les résultats de Becquevort *et al.* (1998), si une sous-estimation des AB est envisageable, on peut considérer qu'elle a

affecté de la même manière les échantillons analysés en 2003 et 2004. De ce fait, nos estimations d'AB restent comparables aux valeurs publiées, et ne modifient en rien les tendances observées à l'échelle inter annuelle.

Pour des biomasses bactériennes équivalentes et des conditions trophiques similaires, nos valeurs de production bactérienne (PB) carbonée sont du même ordre de grandeur que celles de Rousseau *et al.* (2000 ; référence 6), malgré l'emploi de deux isotopes différents, et donc l'application de facteurs de conversion différents (Tableau II.11). Par ailleurs, elles sont également conformes à celles de Becquevort *et al.* (1998), malgré des estimations d'AB plus faibles, confirmant l'éventuelle sous estimation de l'importance de la fraction en bactéries attachées dans nos valeurs de AB, évoquée précédemment. En revanche, d'autres études en Manche orientale, Mer du Nord et Mer de Ross font état de PB respectivement plus faibles [Lancelot et Billen, 1984 (10 et 11) ; Karlson *et al.,* 1996 (8) ; Becquevort et Smith, 2001 (5) ; Ducklow *et al.,* 2001 (4)] et plus élevées [Brussaard *et al.,* 2005b (1)] que nos estimations relevées en Manche orientale en 2003 et 2004. Cette différence pourrait là encore s'expliquer par des concentrations en Chl-*a* plus faibles et plus élevées, respectivement (Tableau II.11), et s'interpréter en termes de relations « ressources/consommateurs ».

V.3.2. Conséquences de la variabilité inter annuelle phytoplanctonique sur la dynamique bactérienne et le fonctionnement de l'écosystème planctonique

Nos résultats relatifs aux paramètres bactériens estimés au cours de la période 2003/04 suggèrent (i) une faible variabilité inter annuelle de l'AB (Figure II.6) contre (ii) une importante variabilité inter annuelle de la PB (Figure II.7), mise en évidence par l'ACP (§ IV – Figures II.19 à II.21). En effet, un décalage temporel du bloom bactérien est observé entre les deux années d'étude, puisqu'il a lieu en mai au cours de l'année 2003, alors qu'il s'observe dès le mois d'avril en 2004 (Figure II.7).

En **2003**, par rapport au contexte phytoplanctonique décrit précédemment, blooms bactérien (mai) et phytoplanctonique (mars) seraient décalés dans le temps, suggérant un découplage temporel entre ces deux composantes microbiennes. Les voies de transfert de matière préférentielles entre phytoplancton et bactéries seraient ainsi indirectes, et s'effectueraient à travers la sénescence, la lyse et / ou le broutage du phytoplancton (Lochte *et al.,* 1997 ; Becquevort *et al.,* 1998 ; Van Wambeke *et al.,* 2002). Le transfert direct de matière organique dissoute excrétée par le phytoplancton (Fogg, 1977, 1983 ; Lancelot, 1984 ; Myklestad, 1995 ; Biersmith et Benner, 1998, Bronk et Ward, 1999) serait minimisé. Le maintien d'une

production de régénération bactérienne serait assuré à son maximum en situation de post-bloom de *P. globosa*. L'année 2003 serait donc caractérisée par une première période (mars) de fonctionnement du réseau trophique de type autotrophe, à laquelle succède rapidement une période de type hétérotrophe (printemps).

D'autres études font état d'un décalage temporel entre bactérioplancton et phytoplancton (Shiah *et al.,* 2001 ; Van Wambeke et al. 2002 ; Pugnetti *et al.,* 2005), et suggèrent que d'autres facteurs que la disponibilité en ressources d'origine phytoplanctonique, tels que la prédation (Sherr et Sherr, 1987 ; Vaqué *et al.,* 1994 ; Strom, 2000 et références citées ; Sherr *et al.,* 2002) et la lyse virale (Fuhrman, 1995, 1999, 2000 ; Marie *et al.,* 1999 ; Weinbauer, 2004) pourraient contrôler la variabilité de la dynamique bactérienne. del Giorgio et Duarte (2002) suggèrent également que les bactéries sont capables d'utiliser une diversité de sources de MO, notamment celles allochtones d'origine fluviatile (Cauwet, 2002 ; Hernes et Benner, 2003 ; Benner, 2004), et pas seulement la part issue directement de la production autotrophe autochtone.

L'hypothèse explicative au découplage bactéries / phytoplancton en 2003 pourrait être la limitation de la croissance phytoplanctonique par le phosphate en hiver 2003, conduisant à des exsudats phytoplanctonique (*i.e.* PER, pour « phytoplankton extracellular release ») moins efficacement utilisés par les bactéries. Plusieurs études ont mis en évidence des différences dans la composition biochimique des exsudats phytoplanctoniques produits sous différents régimes nutritifs (Sundh, 1992 ; Myklestad, 1995 ; Meon et Kirchman, 2001 ; Puddu *et al.,* 2003). Plus particulièrement, une limitation par le phosphate peut entraîner un largage par les espèces phytoplanctoniques de produits d'excrétion dont les propriétés (composition biochimique, biodégradabilité) ont pu réduire l'utilisation et l'assimilation par les bactéries et modifier la structure spécifique des communautés bactériennes (Obernoster et Herndl, 1995 ; Puddu *et al.,* 2003 ; Pugnetti *et al.,* 2005).

Par ailleurs, un fort ratio PAR (irradiance) / nutriments (cas hypothétique de la fin de l'hiver 2003) peut induire une fixation de carbone par photosynthèse excédentaire par rapport aux conditions de croissance cellulaire phytoplanctonique, conduisant à un découplage entre photosynthèse et croissance (Staats *et al.,* 2000) entraînant une augmentation conséquente de l'excrétion carbonée. Cette forte excrétion cellulaire, non efficacement utilisée par les bactéries, est considérée comme un élément déclencheur des forts épisodes de mousse observés en Mer Adriatique du Nord (Pugnetti *et al.,* 2005). Cette hypothèse pourrait alors être une des explications aux importants phénomènes de mousse observés en zone côtière de

la Manche orientale en 2003 (Anonyme, 2004), par rapport à ceux de moindre ampleur (en intensité) observés en 2004 (Anonyme, 2005).

En revanche, au cours de l'année **2004**, blooms bactérien et phytoplanctonique semblent concomitants, mettant en évidence un couplage plus étroit entre bactéries et phytoplancton, où les bactéries utiliseraient directement les sources de carbone d'origine phytoplanctonique au printemps. Le maintien des PB en été 2004 met également en évidence l'utilisation bactérienne des MO issues de la sénescence et la lyse des cellules algales (Ducklow *et al.,* 1995 ; Carlson *et al.,* 1996) en situation de post-bloom de *P. globosa*, en particulier les MO polysaccharidiques issues de sa matrice coloniale (Lancelot et Rousseau, 1994; Thingstad et Billen, 1994; Van Rijssel *et al.,* 2000). Néanmoins, seules des mesures d'activité glycolytique de dégradation de la matière permettront de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse (voir Partie III, Chapitre II).

V.3.3. Variabilité spatiale des paramètres bactériens

La variabilité spatiale est liée aux conditions hydrologiques locales, qui ont elles-mêmes un impact sur la ressource trophique des bactéries, et conditionne ainsi la répartition spatiale des abondances et des productions bactériennes.

Nos résultats font état d'une faible variabilité inter site des AB, contre une forte variabilité inter site des PB mise en évidence par l'ACP (voir § IV et Figures II.19 à II.21). Les PB sont relevées plus élevées sur le site de Wimereux (PB comprises entre 0,18 et 17,78 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} en 2003 et 2004) que sur le site de la baie de Somme (PB comprises entre 0,08 et 9,65 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} en 2003 et 2004). La station côtière S1, directement sous influence de l'estuaire de la Somme, fait toutefois exception en été 2004 (PB de 20,01 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1}), vraisemblablement soumise à d'importants apports fluviatiles en MO liés aux fortes pluies estivales, comme cela a été constaté dans d'autres sites d'étude (Cauwet, 2002 ; Hernes et Benner, 2003 ; Benner, 2004). De plus, les fortes valeurs ponctuelles en abondance et production relevées sur les stations du large des deux sites d'étude (W4 et S4) sont une réponse aux apports allochtones en MO.

Par ailleurs, le gradient côte/large en PB est plus marqué en Somme qu'à Wimereux, en relation avec le gradient hydrologique marqué de la côte vers le large en baie de Somme. Sur la radiale de Wimereux, les stations intermédiaires W2 et W3 apparaissent parfois aussi productives que la station la plus côtière W1. Ces fortes productions peuvent être liées aux

MO de la zone frontale (vraisemblablement située au niveau des stations W2 et W3), reconnue comme pouvant être une zone d'accumulation de particules inertes ou vivantes (*e.g.* cellules phytoplanctoniques, Brunet *et al.,* 1992 ; zooplancton, Brylinski *et al.,* 1991). Toutefois, cette zone n'a pas été à priori reconnue comme étant le siège d'une production spécifique (Brunet *et al.,* 1992 ; Brylinski, 1993).
Cela suggère que la variabilité spatiale inter site et côte/large des abondances et productions bactériennes est étroitement liée aux forçages physiques (hydrodynamisme, zone frontale) et hydrologiques (apports fluviatiles) qui prédominent sur chacun des sites.

Cette approche exploratoire en 2003 et 2004 en Manche orientale a permis de :

- caractériser les conditions climatiques, hydrologiques, chimiques et biologiques sur deux sites contrastés, susceptibles d'avoir une influence sur le compartiment bactérien,
- d'obtenir, dans ce contexte global, une image de la dynamique bactérienne.

Toutefois, si cette étude permet une approche globalisée de l'écosystème Manche orientale, il apparaît indispensable de travailler sur des échelles d'observation plus fines, adaptées à l'étude de la dynamique bactérienne :

- une étude à l'échelle saisonnière, sur le site de Wimereux, pour caractériser plus précisément le couplage bactéries/phytoplancton d'un point de vue spatio-temporel (échelle 2, chapitre III) ;

- une étude à l'échelle journalière, qui doit permettre s'affranchir de la variabilité spatiale du site de Wimereux pour ne travailler que sur la variabilité temporelle du compartiment bactérien (suivis lagrangiens ; échelle 3, chapitre IV).

CHAPITRE III
Echelle 2 : Suivi saisonnier sur le site de Wimereux

Le principal objectif de ce chapitre est de suivre la distribution et la structure des abondances et productions bactériennes sur une échelle saisonnière (février – octobre 2004) au niveau du site de Wimereux. Ce site a été choisi préférentiellement en raison de (i) sa plus grande accessibilité (par rapport au site de la baie de Somme) permettant un suivi plus régulier (mensuel à hebdomadaire) du compartiment bactérien, (ii) d'un gradient côte/large moins prononcé qu'en baie de Somme, et (iii) de sa situation particulière en limite nord du fleuve côtier, avant l'entrée en Mer du Nord par le détroit du Pas-de-Calais, permettant d'intégrer l'ensemble des apports (*e.g.* MES, Lafite *et al.,* 2000 ; sels nutritifs, Loquet *et al.,* 2000) en provenance du Sud.

Le site d'étude a été prospecté suivant une radiale côte/large de 6 points de prélèvement, depuis une station littorale (R0) à une station du large (R5), et traversant la zone frontale. La première étape de ce travail sera de définir différentes sous-zones homogènes sur la base des paramètres hydro-biologiques et bactériens, par régionalisation (Souissi *et al.,* 2000 ; cf. chapitre I - III.3.2). Les motivations sont (i) de sectoriser le site d'étude en zones caractéristiques dans une zone de gradients, et (ii) de comparer les patrons de régionalisation obtenus sur la base des variables hydro-biologiques et bactériennes, afin d'émettre des hypothèses quant au couplage environnement/bactéries.

Dans un premier temps, les résultats relatifs aux variables météorologiques sur la zone d'étude (§ I) seront décrits. La régionalisation par niveaux hiérarchiques permettra, dans un second temps, de définir les différents secteurs homogènes sur la radiale côte/large. Sur la base de cette sectorisation, seront exposées les distributions spatiale et temporelle (i) des variables environnementales permettant de définir les conditions hydro-biologiques du milieu (§ II), et (ii) des paramètres bactériens (§ III). La discussion de ces résultats (§ V) s'intéressera à l'importance du couplage environnement/bactéries et les conséquences de ce couplage sur la structure du réseau microbien.

I. Contexte climatique

Les températures atmosphériques moyennes mensuelles, relevées sur le site de Wimereux, montrent une évolution saisonnière caractéristique (Figure II.22). Elles sont caractéristiques de conditions hivernales en janvier (5,8 ± 2,7 °C), février (5,7 ± 3,5 °C) et mars 2004 (6,4 ± 3,1 °C). Elles augmentent de façon significative au mois d'avril (9,9 ± 2,8 °C). L'augmentation se poursuit ensuite, de 1,2 °C à 3,5 °C par mois, jusqu'au mois d'août, où les températures sont maximales (18,4 ± 2,2 °C). La situation automnale est marquée par une chute progressive des températures, de septembre (16,3 ± 2,3 °C) à novembre (8.5 ± 2,2 °C). Les conditions de température hivernales s'observent à nouveau au mois de décembre (5,5 ± 2,8 °C).

Les précipitations totales en hiver montrent un mois de janvier 2004 particulièrement pluvieux (90,8 mm) alors que les mois de février et mars 2004 sont significativement déficitaires en précipitations (17 et 21 mm, respectivement ; Figure II.22). Ce déficit se poursuit jusqu'en juin 2004, les précipitations totales en moyenne mensuelle restant inférieures à 35 ± 13 mm entre avril et juin 2004. Cependant, malgré une moyenne faible en précipitations totales entre avril et juin, les épisodes pluvieux au cours de ces 3 mois peuvent être ponctuellement importants. En effet, plus de 25% des précipitations totales du mois d'avril sont enregistrées entre le 1er et le 8 avril (données METEO FRANCE ; Figure II.22 ; voir aussi Figure II.8 - chapitre II). De même, jusqu'à 35 mm de précipitations sont relevées entre le 29 avril et le 7 mai sur le site d'étude, et les pluies observées entre le 31 mai et le 4 juin représentent 53% des précipitations totales du mois de juin (Figure II.22). La situation estivale est marquée par d'importantes précipitations, particulièrement élevées en août 2004 (93 mm). Un nouveau déficit pluvieux est observé au mois de septembre 2004 (15,6 mm), rapidement comblé dès le mois d'octobre (106,6 mm) jusqu'en décembre 2004 (61,6 mm).

L'année 2004 est marquée par des précipitations particulièrement irrégulières sur la région de Boulogne (incluant le site de Wimereux), avec de très faibles pluviosités au printemps contre des précipitations au dessus des normales saisonnières en été. Globalement, les températures enregistrées sur le site en 2004 sont conformes aux normales saisonnières.

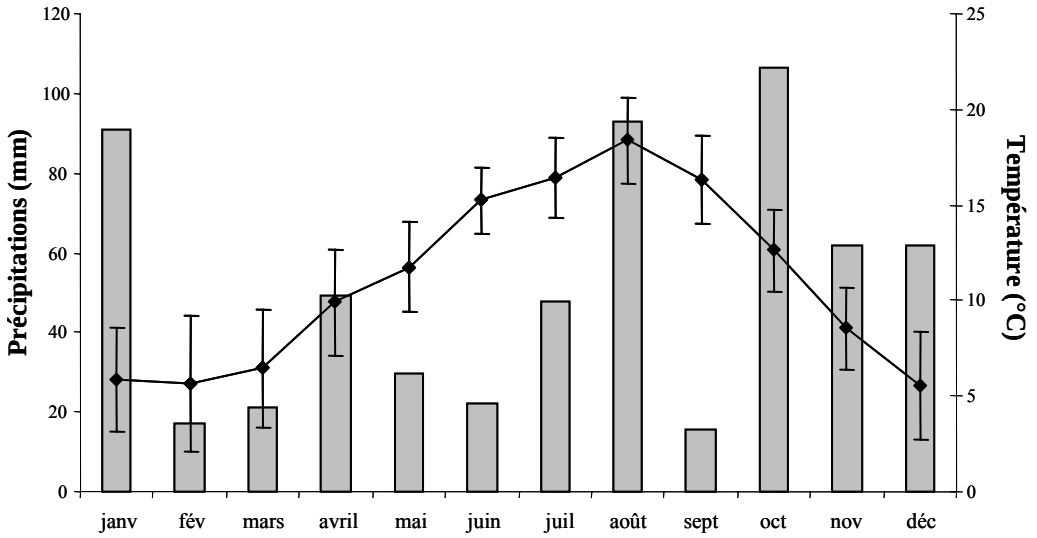


Figure II.22 : Températures atmosphériques moyennes mensuelles (°C ; courbe noire) et précipitations mensuelles totales (mm ; barres grises) au cours de l'année 2004 sur la zone de Boulogne-sur-mer (Données METEO FRANCE).

II. Contexte hydro-biologique

II.1. Régionalisation du site de Wimereux sur la base des paramètres hydro-biologiques

La régionalisation du site de Wimereux à deux niveaux d'agrégation (Figure II.23.A) permet d'isoler :

(i) la station R0, caractéristique de la zone littorale[1]

(ii) des autres stations de la radiale (R1 à R5)

La régionalisation à trois niveaux hiérarchiques (Figure II.23.B) permet de distinguer trois régions différentes :

(i) la station littorale R0, déjà isolée lors de la régionalisation à deux niveaux hiérarchiques,

(ii) un groupe composé des stations R1, R2 et R5,

(iii) un groupe composé des stations R3 et R4.

[1] Le terme « zone littorale » se réfère dans tout le chapitre III à la zone de contact entre la terre et la mer (< 10 m de profondeur dans notre étude).

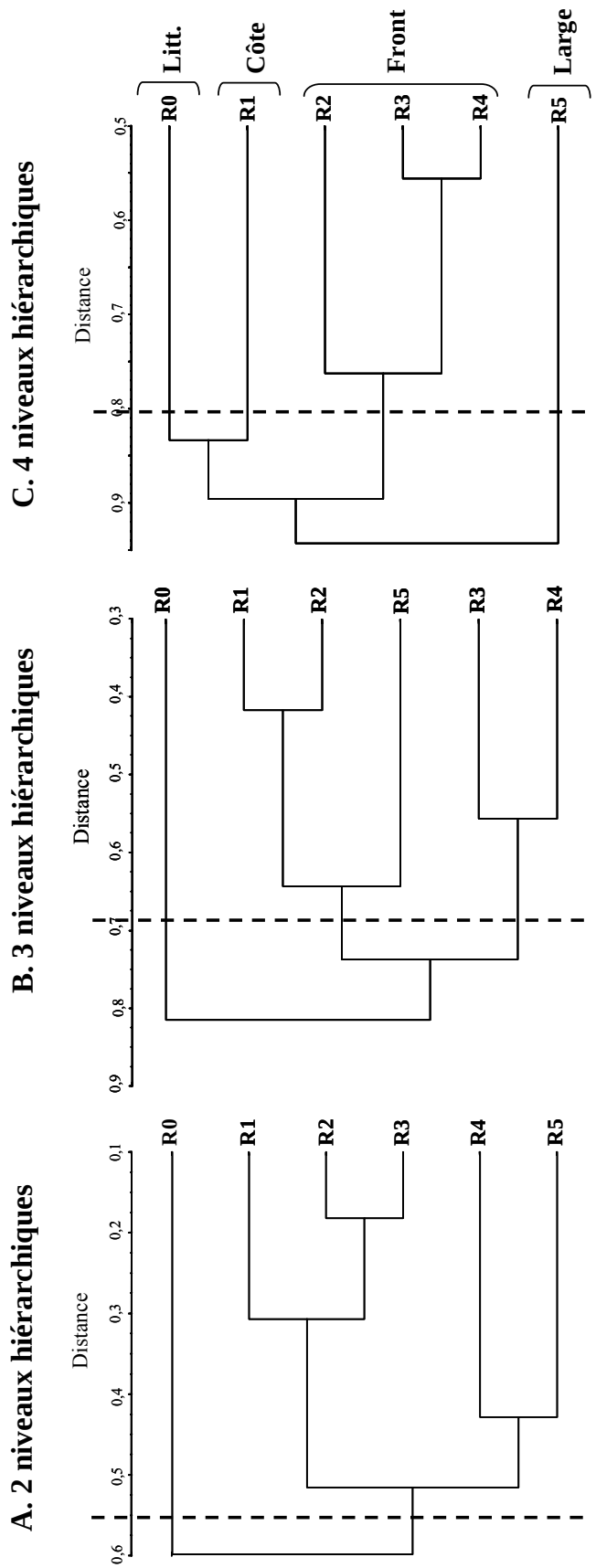


Figure II.23: Régionalisation du site d'étude de Wimereux sur la base des paramètres hydro-biologiques.

Méthode de régionalisation à 2, 3, et 4 niveaux hiérarchiques (Souissi *et al.*, 2000) appliquée à la matrice des paramètres hydro-biologiques du suivi saisonnier sur Wimereux (février – octobre 2004) [7 variables x 64 observations].

Litt. = zone littorale; Côte = zone côtière; Front = zone de transition comprenant la zone frontale; Large = zone du large

La régionalisation à quatre niveaux hiérarchiques (Figure II.23.C) permet de mettre en évidence quatre zones le long du gradient côte/large. Il s'agit de :

(i) la zone littorale, caractérisée par la station R0,

(ii) la zone côtière, marquée par la station R1,

(iii) une zone de transition, comprenant la zone frontale, caractérisée par les stations R2, R3 et R4,

(iv) la zone du large, définie par la station R5.

La régionalisation à quatre niveaux hiérarchiques, en comparaison des autres niveaux d'agrégations, permet de :

- ✓ tenir compte du gradient côte/large des paramètres hydro-biologiques caractéristique de la zone d'étude (Brylinski *et al.,* 1984 ; Gentilhomme et Lizon, 1998 ; Hoch et Gareau, 1998),
- ✓ isoler la station du large des autres stations,
- ✓ mettre en évidence une zone intermédiaire, comprenant la zone frontale, entre la côte et le large.

A ce titre, cette régionalisation de la zone d'étude à quatre niveaux hiérarchiques a servi de base à la description de la variabilité spatiale et temporelle des paramètres hydro-biologiques relative à l'échelle 2.

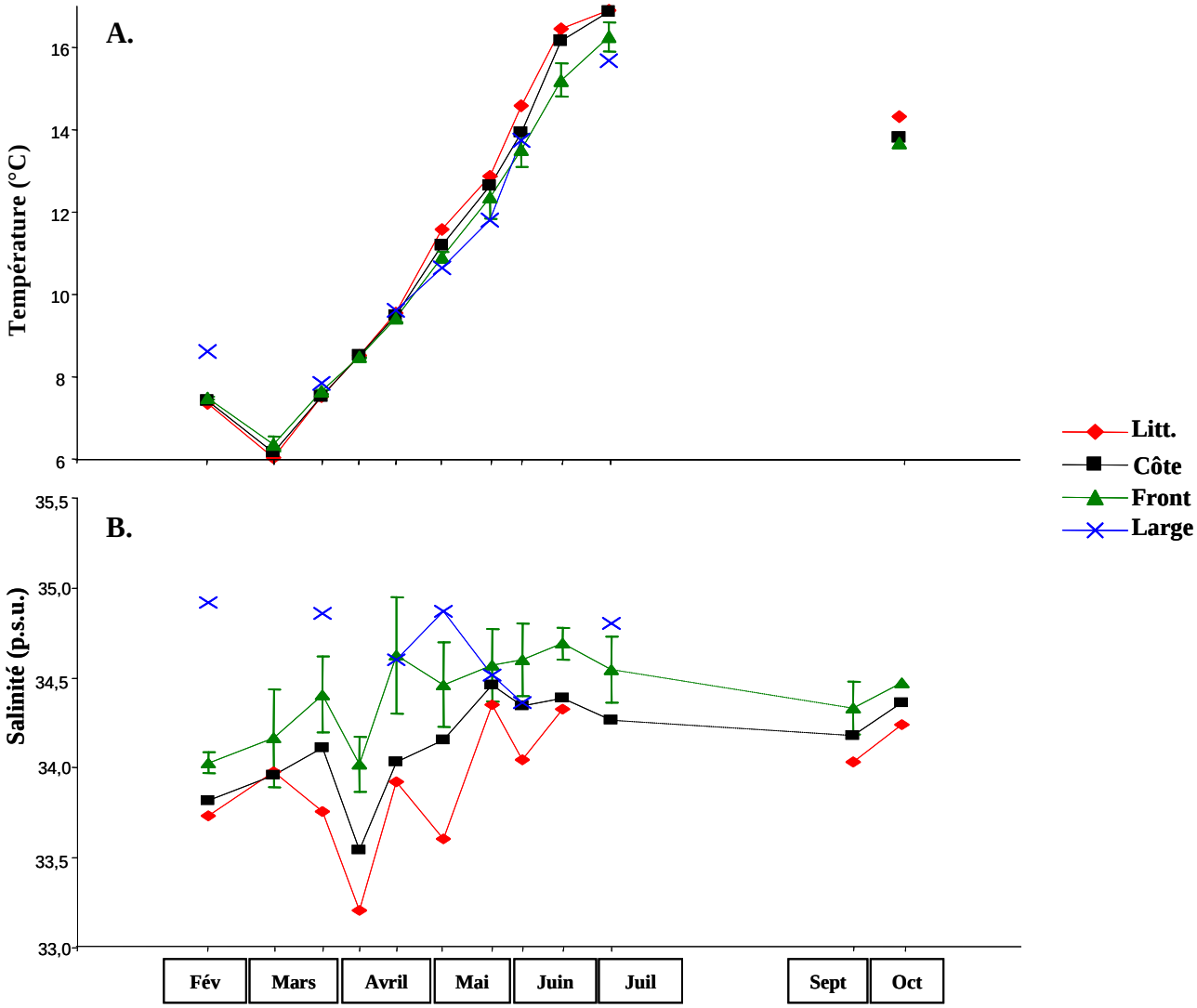


Figure II.24 : Evolution temporelle (février – octobre 2004) des paramètres hydrologiques sur les 4 zones caractéristiques du site de Wimereux. **A.** Température, °C ; **B.** Salinité
Les barres d'erreur en zone frontale (triangles verts) correspondent aux écart-types des valeurs acquises sur les stations R2, R3 et R4.

II.2. Variabilité des paramètres hydro-biologiques à l'échelle saisonnière[2]

II.2.1. Conditions hydrologiques : température et salinité

Les températures de surface relevées sur les 4 zones du site de Wimereux montrent une évolution saisonnière caractéristique entre mars et octobre 2004 (Figure II.24.A et Tableau II.12.A). La situation hivernale (15 février – 26 mars) est caractérisée par (i) des températures minimales (6,02°C sur la station littorale et 7,85 °C au large en mars 2004) et (ii) un gradient croissant côte/large. Le gradient de température s'inverse à partir du mois d'avril, et les valeurs printanières (8 avril – 04 juin) augmentent sur les 4 zones d'étude (de + 3,2 à + 5,2 °C sur les valeurs moyennes aux zones du large et du littoral, respectivement). La période 18 juin – 5 juillet est marquée par des températures maximales sur les 4 secteurs de la radiale (15,69 °C au large, jusqu'à 16,90 °C en zone littorale en juillet 2004). Les températures estivales sont comprises entre 15,69 (large) et 16,67 °C (littoral). Finalement les températures chutent légèrement en octobre à des valeurs comprises entre 13,69 °C (station R2 de la zone frontale) et 14,32 °C (station littorale).

La salinité des 4 groupes de stations du site de Wimereux montre une importante variabilité entre février et octobre 2004 (Figure II.24.B et Tableau II.12.A). L'amplitude des variations en salinité est d'autant plus importante que les stations sont situées près de la côte : l'amplitude maximale (entre deux points consécutifs) relevée en zone littorale est de 0,75 tandis qu'elle est 1,5 fois plus petite en zone du large (amplitude de 0,50). Les chutes ponctuelles et brutales de salinité observées sur le site les 8 avril, 7 mai et 4 juin, particulièrement en station littorale (Figure II.24.B), sont liées à des augmentations des apports en eau douce par les principaux exutoires du site de Wimereux (*e.g.* la Somme, le Wimereux et la Liane), et plus spécialement à la suite d'épisodes pluvieux ponctuellement importants (cf. § I).

Finalement, un gradient croissant classique de salinité est observé depuis le littoral vers le large entre février et octobre 2004.

[2] La délimitation des saisons se réfère au calendrier lunaire pour tout le chapitre III.

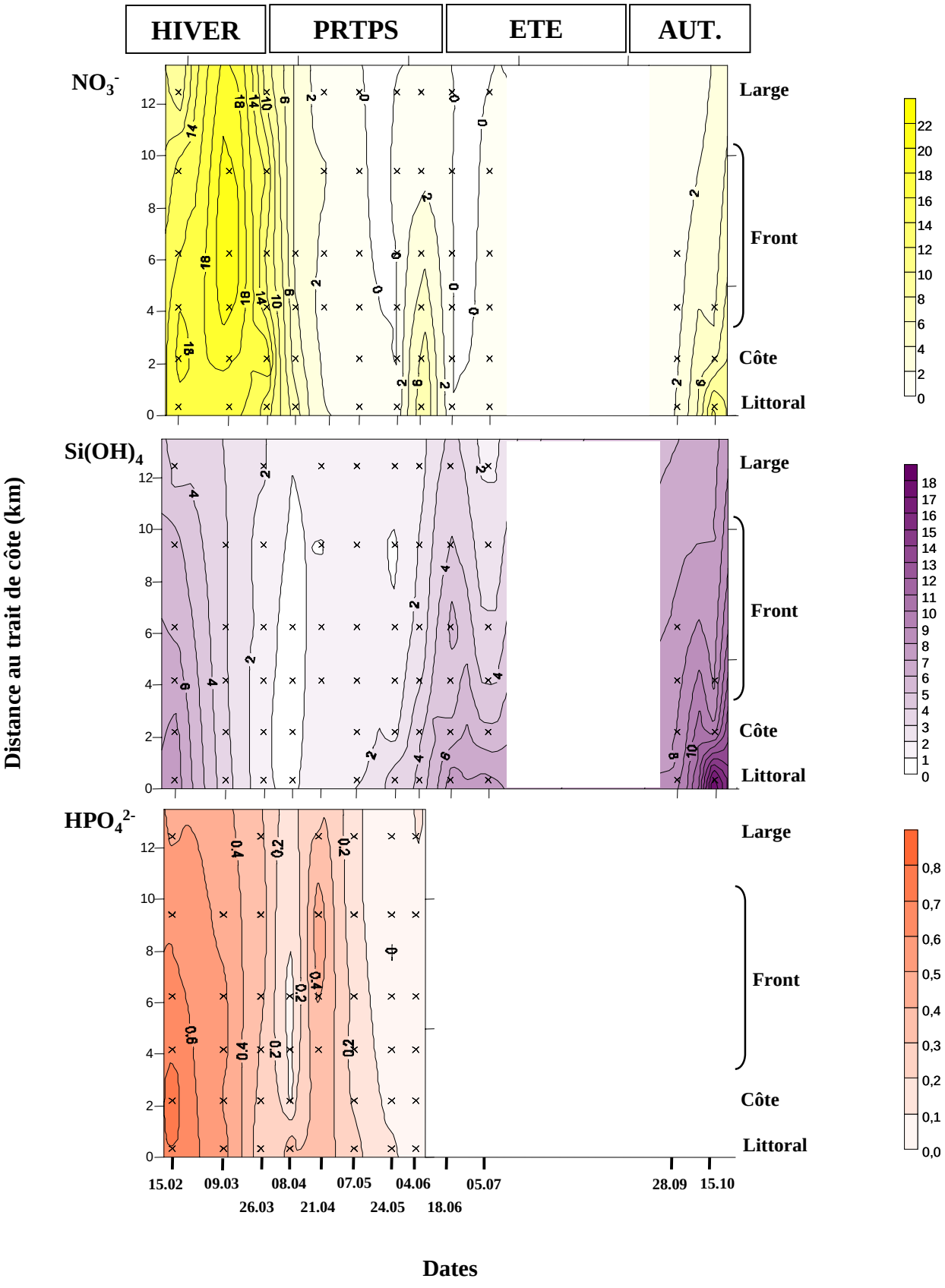


Figure II.25 : Evolution temporelle (février 2004 – octobre 2004) des paramètres chimiques sur les 4 zones caractéristiques du site de Wimereux (de haut en bas : Nitrates NO_3^-, µM ; Silicates $Si(OH)_4$, µM ; Phosphates, HPO_4^{2-}, µM). Prtps = printemps ; Aut. = automne.

II.2.2. Conditions chimiques : concentrations en sels nutritifs

La période hivernale (15 février – 26 mars) montre des concentrations moyennes en nitrates (NO_3^-) de 8,37 ± 0,65 µM (large) à 18,03 ± 1,13 µM (côte), en silicates [$Si(OH)_4$] de 2,82 ± 0,87 µM (large) à 4,04 ± 3,28 µM (littoral) et en phosphates (HPO_4^{2-}) de 0,39 ± 0,11 µM (large) à 0,54 ± 0,29 µM (côte ; Tableau II.12.B). D'un point de vue spatial, les stations frontales montrent des concentrations en NO_3^- supérieures à celles des autres stations (jusqu'à 1,5 fois plus élevées le 9 mars), tandis que les stations proches du trait de côte sont plus riches (concentrations jusqu'à 1,4 fois plus élevées, en février) en $Si(OH)_4$ (littoral) et en HPO_4^{2-} (côte). Progressivement, ces différences entre les zones du site s'estompent au cours du temps, jusqu'au début du printemps (avril) où elles sont négligeables (Figure II.25).

La situation printanière (8 avril – 04 juin) est caractérisée par un épuisement des stocks en éléments nutritifs (Figure II.25). Entre la fin du mois de mars (26 mars) et le début du mois d'avril (08 avril), les teneurs en NO_3^- sont divisées par 2 en zone littorale et jusqu'à 4 en zone côtière. Les concentrations en $Si(OH)_4$ diminuent également fortement dès le début du printemps, avec des valeurs divisées par 1,5 en zone littorale et jusqu'à 2,4 en zone frontale. De même, les teneurs en HPO_4^{2-} sont rapidement épuisées, avec des valeurs entre 0,5 (littoral) et jusqu'à 7 (front) fois plus faibles. Les stocks en sels nutritifs restent appauvris pendant la plus grande partie du printemps.

Les concentrations moyennes printanières (Tableau II.12.B) en NO_3^- sont relevées entre 0,11 ± 0,06 µM (large) et 4,43 ± 3,88 µM (littoral), celles en $Si(OH)_4$ sont de 1,23 ± 0,68 µM (front) à 2,70 ± 1,56 µM (littoral) et celles en phosphates restent comprises entre 0,06 ± 0,07 µM (front) et 0,31 ± 0,31 µM (littoral). En fin de printemps (04 juin), un pic ponctuel en NO_3^- est relevé, avec des concentrations de 3,21 µM en zone frontale et jusqu'à 8,50 µM en zones littorale et côtière (Figure II.25). Ce pic peut-être lié à une augmentation ponctuelle des apports en eau douce par les principaux apports fluviaux au site de Wimereux à la suite d'épisodes pluvieux ponctuellement importants (lessivage des sols, cf. § I). De même, les stocks en $Si(OH)_4$ commencent dès la fin du printemps à se reconstituer (Figure II.25) : les concentrations sont comprises entre 1,59 µM (large) et 4,20 µM (littoral). A l'instar de NO_3^- et de $Si(OH)_4$, les teneurs en HPO_4^{2-} restent faibles sur toute la zone d'étude en fin de printemps, avec des valeurs en dessous de la limite de détection (front) jusqu'à 0,10 µM (large).

Le début de la période estivale est marquée par une augmentation progressive des concentrations en silicates, alors que les teneurs en NO_3^- restent proches des valeurs nulles

(Figure II.25). Les concentrations moyennes estivales sont de 0,11 ± 0,02 µM (large) à 0,22 ± 0,17 µM (côte) en NO_3^-, et de 2,55 ± 1,41 µM (large) à 8,59 ± 0,93 µM (littoral) en $Si(OH)_4$ (Tableau II.12.B).

Les concentrations en NO_3^- augmentent en automne de façon significative, puisque les concentrations moyennes sont comprises entre 2,34 ± 1,54 µM en zone frontale et 7,30 ± 4,34 µM en zone littorale. Les teneurs moyennes en $Si(OH)_4$ sont relevées maximales, de 7,72 ± 0,13 µM (front) à 13,57 ± 7,32 µM (littoral).

Les concentrations en sels nutritifs montrent une saisonnalité marquée entre février et juin sur l'ensemble de la zone (Figure II.25 et Tableau II.12.B), caractérisée, de façon générale, par :

(i) une période hivernale riche en éléments nutritifs,

(ii) une période printanière d'épuisement des stocks en sels nutritifs,

(iii) une augmentation progressive des stocks en silicates au cours de l'été,

(iv) une période automnale marquée par une reconstitution des stocks en nitrates et silicates.

II.2.3. Ressources trophiques bactériennes : concentrations en chlorophylle *a* (Chl-*a*) et en carbone organique dissous (COD)

L'hiver 2004 (15 février – 26 mars) est caractérisé par de faibles teneurs en Chl-*a*, de moyennes comprises entre 0,71 ± 0,37 $\mu g.L^{-1}$ (large) et 3,04 ± 1,38 $\mu g.L^{-1}$ (côte ; Figure II.26 et Tableau II.12.C). Les concentrations en COD, relevées essentiellement le 15 février sont, à l'inverse, élevées, avec des valeurs de 147,55 µM (littoral) à 471,84 µM (large ; Figure II.26 et Tableau II.12.C). Ces fortes valeurs hivernales en COD peuvent être liées à d'importants apports en matière organique d'origine fluviatile. En effet, des débits relativement forts par rapport à leur moyenne inter annuelle du Wimereux et de la Liane ont été enregistrés entre le 10 janvier et le 15 février[3] (moyenne de 1,79 $m^3.s^{-1}$, avec une valeur journalière relevée jusqu'à 8,93 $m^3.s^{-1}$ pour le Wimereux, et moyenne de 3,77 $m^3.s^{-1}$, avec une valeur journalière jusqu'à 5,46 $m^3.s^{-1}$ pour la Liane).

[3] Données Agence de l'Eau Artois-Picardie : http://www.eau-artois-picardie.fr

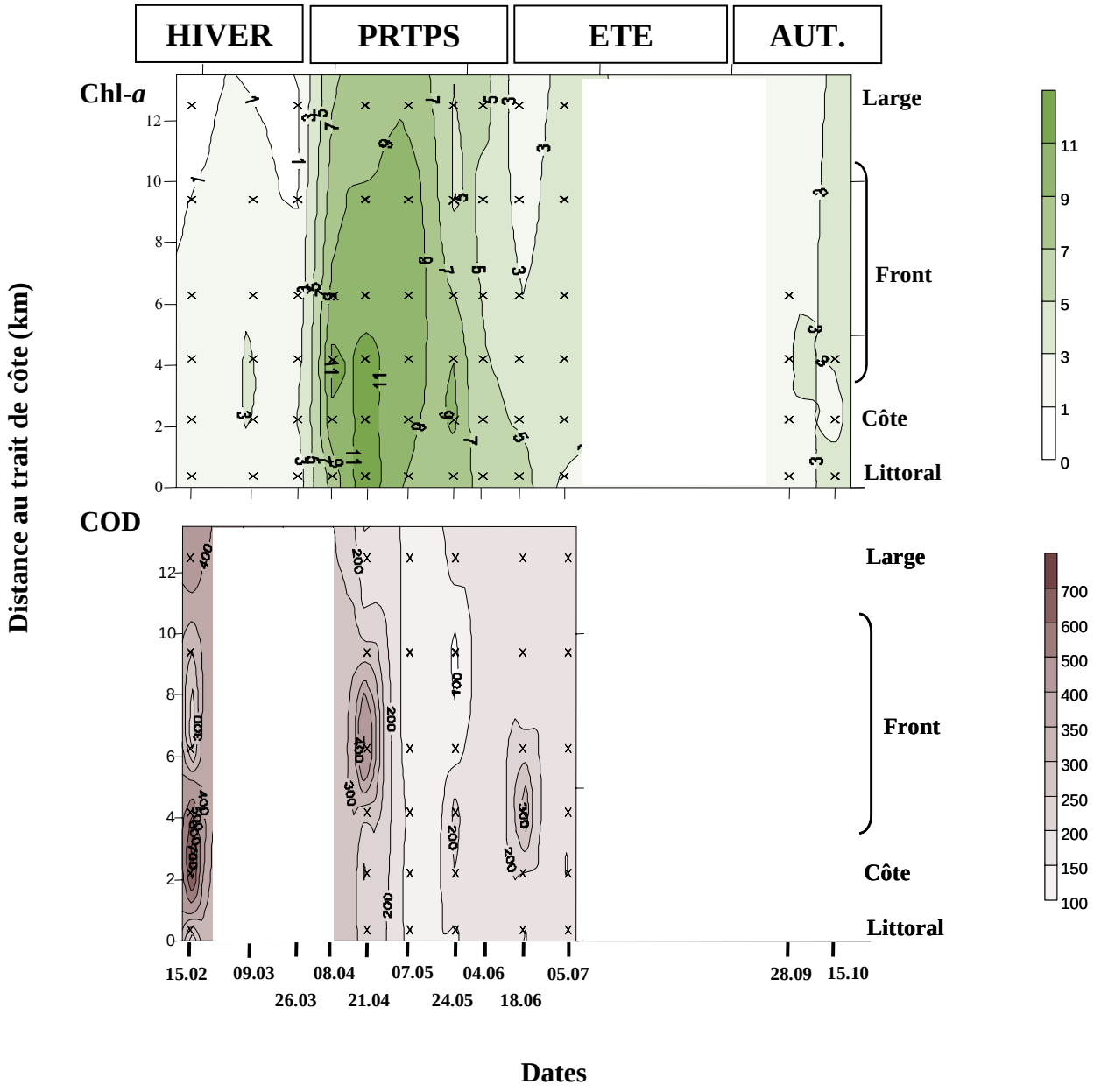


Figure II.26 : Evolution temporelle (février – octobre 2004) des concentrations en chlorophylle *a* (Chl-*a*, µg.L^{-1}) et en carbone organique dissous (COD, µM) sur les 4 zones caractéristiques du site de Wimereux. Prtps = printemps ; Aut. = automne.

Un bloom phytoplanctonique est observé au début du printemps (entre le 26 mars et le 8 avril), où les concentrations en chlorophylle *a* sont multipliées par 3,2 en zone côtière, par 4,2 en zone littorale, et jusqu'à 6,3 en zone frontale (Figure II.26). Cette floraison phytoplanctonique se prolonge pendant la plus grande partie du printemps, avec des moyennes comprises entre 6,75 ± 1,51 $\mu g.L^{-1}$ et 9,67 ± 2,30 $\mu g.L^{-1}$ depuis le large vers la côte (Tableau II.12.C).

Le printemps est caractérisé par de fortes concentrations en COD (entre 134,15 µM au large jusqu'à 359,07µM en zone frontale le 21 avril) qui diminuent rapidement au cours de la saison. Les concentrations moyennes printanières sont donc généralement en dessous des valeurs hivernales, comprises entre 151,77 ± 25,01 µM au large et 210,90 ± 128,42 µM en zone frontale (Tableau II.12.C).

Le début de l'été (18 juin) marque la disparition de l'efflorescence printanière (Figure II.26) : les concentrations estivales en Chl-*a* chutent à des valeurs moyennes ne dépassant pas 5,00 $\mu g.L^{-1}$ sur toute la zone d'étude (Tableau II.12.C). Les teneurs en COD sont maintenues au début de l'été à de faibles valeurs, ≤ 170 µM sur toute la zone d'étude, à l'exception de valeurs ponctuellement supérieures à 250 µM en zone frontale le 18 juin (Figure II.26 et Tableau II.12.C).

Une légère efflorescence phytoplanctonique est observée en fin de période automnale (28 septembre – 15 octobre ; Figure II.26), où les concentrations en Chl-*a* sont observées au dessus des moyennes hivernales (moyennes automnales comprises entre 2,79 ± 1,68 $\mu g.L^{-1}$ et 3,18 ± 0,05 $\mu g.L^{-1}$; Tableau II.12.C).

L'évolution saisonnière des concentrations en Chl-*a* et en COD est caractérisée, de façon générale, par (Figure II.26 et Tableau II.12.C) :

(i) une situation hivernale pauvre en biomasse phytoplanctonique, mais enrichie en COD au tout début de l'hiver,

(ii) une floraison phytoplanctonique printanière, accompagnée de fortes teneurs en COD rapidement utilisées au cours de la saison,

(iii) une période estivale appauvrie en ressources trophiques phytoplanctonique et carbonée dissoutes,

(iv) une légère efflorescence phytoplanctonique automnale.

Tableau II.12 : Moyennes saisonnières et écart-types des paramètres environnementaux mesurés au cours du suivi saisonnier (février – octobre 2004) dans les différentes zones du site de Wimereux.
A. Conditions hydrologiques (T, température ; S, Salinité) ; **B. Conditions chimiques** (NO_3^-, nitrates ; $Si(OH)_4$, silicates ; HPO_4^{2-}, phosphates) **C. Contexte biologique** (Chl-*a*, chlorophylle *a* ; COD, Carbone organique dissous).

Groupes de stations	Paramètres	Hiver	Printemps	Eté	Automne
A.					
LITTORAL	**T. (°C)[a]**	6,96 ± 0,82	12,15 ± 2,44	16,67 ± 0,31	14,32
	S	33,82 ± 0,13	33,98 ± 0,44	34,33[b]	34,14 ± 0,14
CÔTE	**T. (°C)[a]**	7,03 ± 0,76	11,81 ± 2,21	16,51 ± 0,49	13,80
	S	33,96 ± 0,15	34,25 ± 0,35	34,33 ± 0,08	34,27 ± 0,13
FRONT	**T. (°C)[a]**	7,16 ± 0,69	11,5 ± 2,1	15,74 ± 0,75	13,69
	S	34,20 ± 0,19	34,56 ± 0,25	34,62 ± 0,10	34,40 ± 0,09
LARGE	**T. (°C)[a]**	8,23 ± 0,53	11,44 ± 1,77	15,69[c]	x
	S	34,88 ± 0,04	34,58 ± 0,21	34,80[c]	x
B.					
	NO_3^- (µM)	14,79 ± 2,03	2,43 ± 3,05	0,20 ± 0,16	7,30 ± 4,34
LITTORAL	**$Si(OH)_4$ (µM)**	4,04 ± 3,28	2,50 ± 1,34	8,59 ± 0,93	13,57 ± 7,32
	HPO_4^{2-} (µM)	0,47 ± 0,23	0,27 ± 0,11	x	x
	NO_3^- (µM)	18,03 ± 1,13	1,30 ± 2,31	0,22 ± 0,17	3,19 ± 2,34
CÔTE	**$Si(OH)_4$ (µM)**	3,78 ± 3,22	1,27 ± 0,53	3,92 ± 1,38	7,77 ± 1,02
	HPO_4^{2-} (µM)	0,54 ± 0,29	0,19 ± 0,23	x	x
	NO_3^- (µM)	17,22 ± 5,17	1,17 ± 1,74	0,17 ± 0,19	2,34 ± 1,54
FRONT	**$Si(OH)_4$ (µM)**	3,50 ± 2,27	1,10 ± 0,46	3,62 ± 1,37	7,72 ± 0,13
	HPO_4^{2-} (µM)	0,48 ± 0,15	0,24 ± 0,33	x	x
	NO_3^- (µM)	8,37 ± 0,65	0,24 ± 0,21	0,11 ± 0,02	x
LARGE	**$Si(OH)_4$ (µM)**	2,82 ± 0,87	1,48 ± 0,38	2,55 ± 1,41	x
	HPO_4^{2-} (µM)	0,39 ± 0,11	0,34 ± 0,29	x	x
C.					
LITTORAL	**Chl-*a* (µg.L^{-1})**	1,85 ± 0,13	8,26 ± 2,24	3,82 ±3,65	2,79 ± 1,68
	COD (µM)[a]	147,55	176,09 ± 63,31	164,97 ± 34,47	x
CÔTE	**Chl-*a* (µg.L^{-1})**	3,04 ± 1,38	9,67 ± 2,30	4,67 ± 0,41	2,95 ± 0,87
	COD (µM)[a]	x	154,29 ± 44,26	136,87 ± 3,75	x
FRONT	**Chl-*a* (µg.L^{-1})**	1,88 ± 0,78	8,60 ± 2,73	3,89 ±1,41	3,18 ± 0,05
	COD (µM)[a]	354,54	210,90 ± 128,42	215,38 ± 66,84	x
LARGE	**Chl-*a* (µg.L^{-1})**	0,71 ± 0,37	6,75 ± 1,51	2,59 ± 1,16	x
	COD (µM)[a]	471,84	151,77 ± 25,01	159,14 ± 13,72	x

[a] Les valeurs automnales sont essentiellement celles mesurées le 15 octobre 2004 ; [b] valeur estivale mesurée le 18 juin 2004 ; [c] valeur estivale mesurée le 05 juillet 2004.

[a] Les valeurs hivernales sont essentiellement celles mesurées le 15 février 2004 ; pas de mesures le 04 juin 2004.

III. Contexte bactérien

III.1. Régionalisation du site de Wimereux sur la base des paramètres bactériens (abondance et production)

La régionalisation du site de Wimereux à deux niveaux d'agrégation (Figure II.27.A) permet d'isoler, comme lors de l'analyse des paramètres hydro-biologiques :

(iii) la station R0, caractéristique de la zone littorale

(iv) des autres stations de la radiale (R1 à R5).

La régionalisation à trois niveaux hiérarchiques (Figure II.27.B) permet de distinguer trois régions différentes :

(iv) la station littorale R0, déjà isolée lors de la régionalisation à deux niveaux hiérarchiques,

(v) un groupe composé des stations R1 et R2,

(vi) un groupe composé des stations R3, R4 et R5.

La régionalisation à quatre niveaux hiérarchiques (Figure II.27.C) permet de mettre en évidence quatre zones le long du gradient côte/large. Il s'agit de :

(v) la zone littorale, caractérisée par la station R0,

(vi) la zone côtière, marquée par la station R1,

(vii) une zone intermédiaire, comprenant la zone frontale, caractérisée par les stations R2, R3 et R4,

(viii) la zone du large, définie par la station R5.

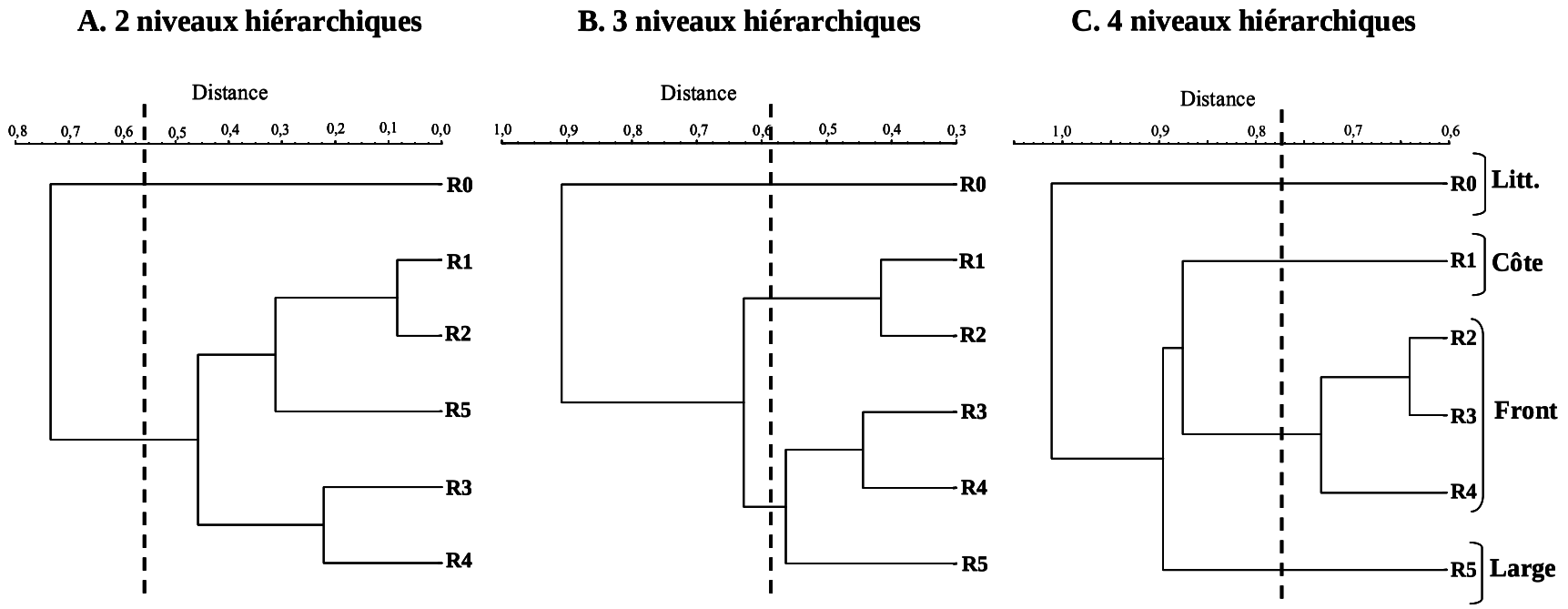


Figure II.27: Régionalisation du site d'étude de Wimereux sur la base des paramètres bactériens (abondance et production bactériennes).

Méthode de régionalisation à 2, 3, et 4 niveaux hiérarchiques (Souissi *et al.*, 2000) appliquée à la matrice des paramètres bactériens du suivi saisonnier sur Wimereux (février – octobre 2004) [2 variables x 64 observations].

Litt. = zone littorale; Côte = zone côtière; Front = zone de transition comprenant la zone frontale; Large = zone du large

La régionalisation à quatre niveaux hiérarchiques, en comparaison des autres niveaux d'agrégations, permet de :

- ✓ tenir compte du gradient côte/large des paramètres hydro-biologiques caractéristique de la zone d'étude (Brylinski *et al.,* 1984 ; Gentilhomme et Lizon, 1998 ; Hoch et Gareau, 1998),
- ✓ isoler la station du large des autres stations,
- ✓ mettre en évidence une zone de transition, comprenant la zone frontale, entre la côte et le large
- ✓ obtenir le même patron de régionalisation que celui sur la base des paramètres environnementaux (Figure II.23.C).

A ce titre, cette régionalisation de la zone d'étude à quatre niveaux hiérarchiques a servi de base à la description de la variabilité spatiale et temporelle des paramètres bactériens (abondance et production) relative à l'échelle 2.

III.2. Variabilité des paramètres bactériens à l'échelle saisonnière

La période hivernale (15 février – 26 mars) montre des niveaux minimums d'abondances bactériennes, $< 0,5 \times 10^6$ cell.mL^{-1}, sur l'ensemble de la zone d'étude (Figure II.28). Les moyennes hivernales sont comprises entre $0,14 \pm 0,03 \times 10^6$ cell.mL^{-1} au large et $0,31 \pm 0,25 \times 10^6$ cell.mL^{-1} au littoral (Tableau II.13). Les productions bactériennes sont également minimales, et restent $< 1,5 \times 10^4$ cell.mL^{-1}.h^{-1} pendant toute la période hivernale et sur l'ensemble de la zone (Figure II.28). Des moyennes de $0,33 \pm 0,25 \times 10^4$ cell.mL^{-1}.h^{-1} à $0,90 \pm 0,50 \times 10^4$ cell.mL^{-1}.h^{-1} sont relevées au large et à la côte, respectivement. Ainsi, les taux de croissance (Bμ) restent, en hiver, $\leq 0,05$ h^{-1} sur l'ensemble de la zone d'étude (Tableau II.13).

Les moyennes printanières sont enregistrées (Tableau II.13) :

(i) de $4,35 \pm 1,92 \times 10^4$ cell.mL^{-1}.h^{-1} (large) à $16,83 \pm 4,55 \times 10^4$ cell.mL^{-1}.h^{-1} (littoral),

(ii) de $0,97 \pm 0,22 \times 10^6$ cell.mL^{-1} (front) à $1,48 \pm 0,41 \times 10^6$ cell.mL^{-1} (littoral),

en production et en abondance, respectivement.

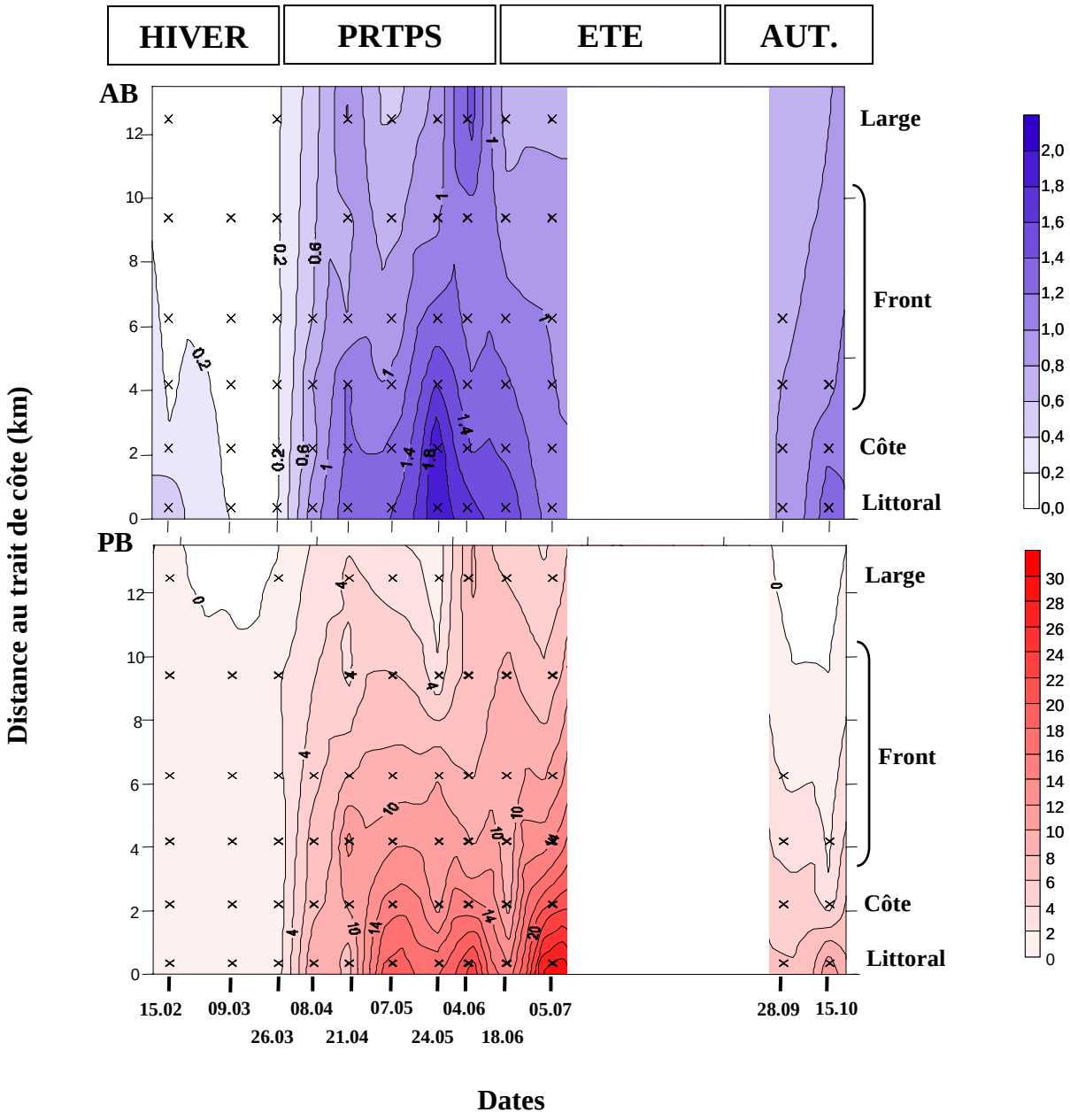


Figure II.28 : Evolution temporelle (février 2004 – juin 2004) des paramètres bactériens sur les 4 zones caractéristiques du site de Wimereux (de haut en bas : AB = abondance bactérienne, 10^6 cell.mL^{-1} ; PB = production bactérienne, 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1}). Prtps = printemps ; Aut. = automne.

Une hausse significative à la fois des abondances et des productions bactériennes est observée au début du printemps (8 avril), concomitante à l'essor du bloom phytoplanctonique (Figure II.28). Les productions en zone littorale représentent alors jusqu'à 12 fois celles relevées en fin d'hiver, celles côtières plus de 10, et celles frontales presque 5 fois. Les abondances littorales et côtières sont dans le même temps multipliées par plus de 2 (Figure II.28). Ce bloom bactérien se prolonge pendant le printemps et le bloom phytoplanctonique, avec des productions et des abondances en hausse jusqu'au 7 mai (Figure II.28).
En fin de saison printanière, abondances et productions bactériennes apparaissent toutefois découplées au niveau temporel : les productions chutent de 1,3 à presque 3 fois par rapports aux maximums printaniers, tandis que les abondances bactériennes atteignent leurs valeurs maximales ($\geq 2{,}00 \times 10^6$ cell.mL^{-1} en zones littorale et côtière).
Les taux de croissance augmentent au printemps, et atteignent des valeurs moyennes (Tableau II.13) de $0{,}04 \pm 0{,}02$ h^{-1} (large) jusqu'à $0{,}11 \pm 0{,}04$ h^{-1} (littoral).

La période estivale (18 juin – 5 juillet) est marquée par un maintien des niveaux d'abondance sur l'ensemble de la zone d'étude, alors que les productions bactériennes atteignent leurs valeurs maximales au cours de cette saison (Figure II.28 et Tableau II.13).
Les moyennes estivales d'AB (calculées entre le 4 juin et le 5 juillet) sont proches des niveaux printaniers (de $0{,}72 \pm 0{,}02 \times 10^6$ cell.mL^{-1} à $1{,}38 \pm 0{,}33 \times 10^6$ cell.mL^{-1} ; Tableau II.13). Un pic de production bactérienne est enregistré au cours de l'été (5 juillet), où les valeurs sont, en moyenne sur l'ensemble de la zone 1,5 fois supérieures au maximum printanier. Les valeurs moyennes estivales sont alors maximales pour la période considérée, et comprises entre $5{,}03 \pm 0{,}93 \times 10^4$ cell.mL^{-1}.h^{-1} (large) et $26{,}37 \pm 7{,}29\ 10^4$ cell.mL^{-1}.h^{-1} (littoral).
Les productions et les abondances bactériennes étant découplées lors de la période estivale, les taux de croissance sont maximaux, et $\geq 0{,}05$ h^{-1} sur l'ensemble de la zone d'étude. Ils sont relevés en moyenne à $0{,}07 \pm 0{,}01$ h^{-1} au large, à $0{,}08 \pm 0{,}00$ h^{-1} en zone frontale, à $0{,}10 \pm 0{,}05$ h^{-1} à la côte et jusqu'à $0{,}21 \pm 0{,}08$ h^{-1} en zone littorale (Tableau II.13).

Tableau II.13 : Moyennes saisonnières et écart-types des paramètres bactériens mesurés au cours du suivi saisonnier (février – octobre 2004) dans les différentes zones du site de Wimereux.
PB = production bactérienne, 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} ; AB = abondance bactérienne, 10^6 cell.mL^{-1} ; Bμ = taux de croissance, soit PB/AB, h^{-1}.

Groupes de stations	Paramètres	Hiver	Printemps	Eté	Automne
LITTORAL	AB	0,31 ± 0,25	1,48 ± 0,41	1,38 ± 0,33	1,05 ± 0,42
	PB	0,76 ± 0,26	16,83 ± 4,55	26,37 ± 7,29	8,95 ± 2,50
	Bμ	0,04 ± 0,03	0,11 ± 0,04	0,21 ± 0,08	0,08 ± 0,01
CÔTE	AB	0,19 ± 0,02	1,30 ± 0,46	1,15 ± 0,22	1,00 ± 0,22
	PB	0,90 ± 0,50	10,49 ± 2,21	10,59 ± 3,82	3,87 ± 0,77
	Bμ	0,05 ± 0,03	0,08 ± 0,02	0,10 ± 0,05	0,04 ± 0,04
FRONT	AB	0,15 ± 0,01	0,97± 0,22	1,02 ± 0,08	0,85 ± 0,09
	PB	0,86 ± 0,38	7,45 ± 0,84	8,50 ± 0,09	1,79 ± 0,16
	Bμ	0,05 ± 0,02	0,08 ± 0,02	0,08 ± 0,00	0,02 ± 0,003
LARGE	AB	0,14 ± 0,03	1,00 ± 0,50	0,72 ± 0,02	x
	PB	0,33 ± 0,25	4,35 ± 1,92	5,03 ± 0,93	x
	Bμ	0,02 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,07 ± 0,01	x

Les niveaux automnaux de production bactérienne (28 septembre – 15 octobre) sont relevés à des valeurs > 4 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} en zones littorale et côtière, et > 1,50 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} en zone frontale (Figure II.28 et Tableau II.13). Ces productions automnales, supérieures aux minimums hivernaux, sont accompagnées d'AB relativement élevées (Figure II.28), de valeurs moyennes (Tableau II.13) comprises entre 0,85 ± 0,09 (front) et 1,05 ± 0,42 x 10^6 cell.mL^{-1} (littoral). Les taux de croissance mesurés en automne sont inférieurs aux taux hivernaux, en zones côtière (0,04 ± 0,04 h^{-1}) et frontale (0,02 ± 0,003 h^{-1}).

Sur l'ensemble de la zone d'étude, les paramètres bactériens montrent une évolution saisonnière marquée entre février et octobre 2004 (Figure II.28 et Tableau II.13), et caractérisée, de façon générale, par :

(i) des productions (PB) et des abondances bactériennes (AB) hivernales de faibles niveaux,

(ii) une situation printanière de bloom bactérien succédant rapidement à la floraison phytoplanctonique printanière, où les AB atteignent des valeurs maximales accompagnées de fortes PB, et où AB et PB sont découplées en fin de période,

(iii) un maintien relatif des AB et des activités de PB maximales en été, où les deux paramètres bactériens sont découplés,

(iv) l'affaiblissement des productions bactériennes en automne, toutefois maintenues en fin de saison à des niveaux non négligeables (> 1,50 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1}, toutes zones considérées), et accompagnées d'abondances en hausse.

D'un point de vue spatial, un gradient décroissant des abondances et productions bactériennes est observé depuis le littoral jusqu'au large, sur l'ensemble de la période considérée, excepté en période hivernale (Figure II.28).

III.3. Relation entre abondance et production bactériennes

L'importance relative du contrôle des stocks bactériens par la ressource (« bottom-up control » dans la littérature anglo-saxonne) ou par la prédation (« top-down control ») est estimée d'après l'approche suggérée par Billen *et al.* (1990b). La méthode utilise la production bactérienne comme un indice du flux de matière organique dissoute (MOD) qui transite par le compartiment bactérien. Il s'agit alors de procéder à la régression linéaire entre les valeurs d'abondance bactérienne (variable dépendante) et celles de production bactérienne (variable indépendante) et d'en étudier les paramètres. Les coefficients de détermination (R^2) et de régression (pente de la droite) donnent une indication sur le degré de contrôle des stocks bactériens : une forte corrélation et une forte valeur de pente seraient les indices d'un fort contrôle par la ressource, tandis que l'absence totale de corrélation signifierait un contrôle par le broutage.

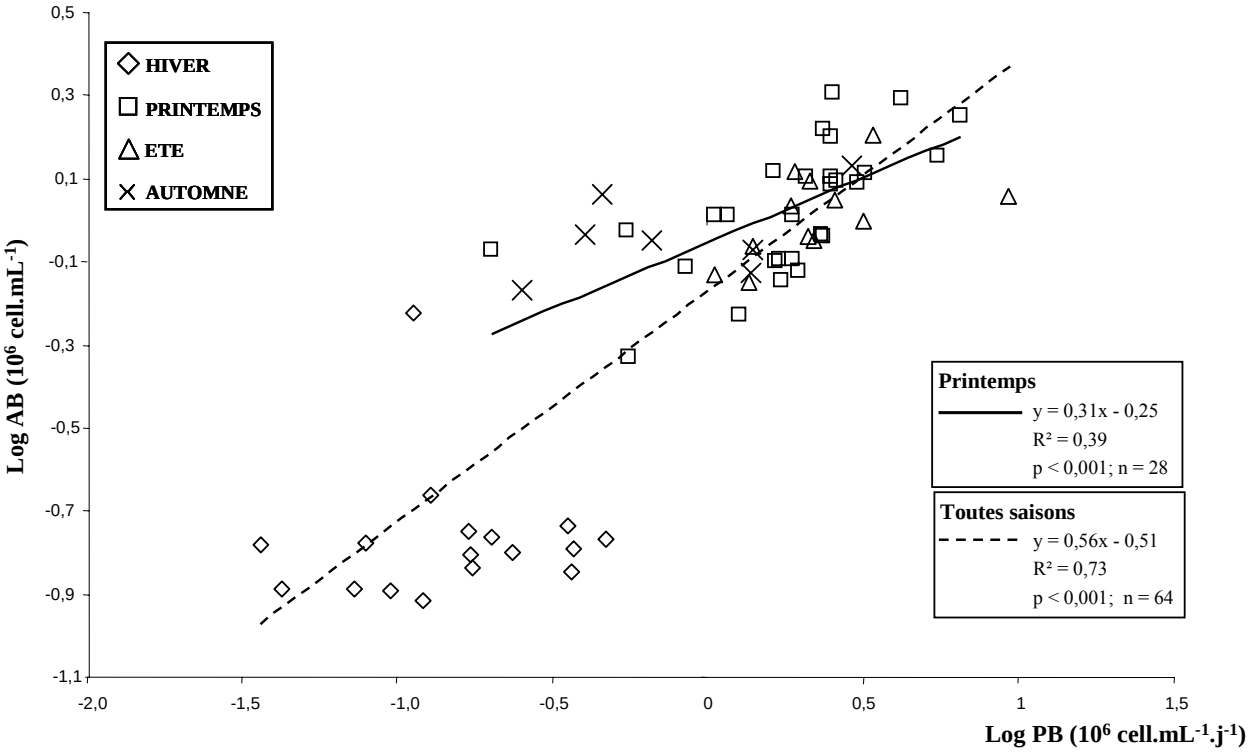


Figure II.29 : Régression linéaire entre abondance (variable dépendante, AB) et production bactériennes (variable indépendante, PB). Pour chaque régression (toutes saisons confondues, trait pointillé ; printemps, trait plein) sont indiqués : (i) l'équation de la droite de régression, (ii) le coefficient de détermination (R^2) , (iii) la probabilité p et (iv) le nombre de données (n) impliquées dans la régression.

La régression linéaire entre les variables bactériennes à partir de l'ensemble du jeu de données (toutes saisons ; Figure II.29) est hautement significative. Les variations de la production bactérienne expliquent 73% ($R^2 = 0,73$) des variations de l'abondance bactérienne, et le coefficient de régression est de 0,56. En revanche, en considérant séparément chaque saison, seules les valeurs acquises en situation printanière conduisent à une régression significative. Au cours de cette période, 39% des variations en abondance bactérienne sont expliquées par les variations en production bactérienne, et le coefficient de régression est de 0,31 (Figure II.29).

IV. Détermination des facteurs de contrôle de l'évolution bactérienne saisonnière

IV.1. Inter-dépendance entre variables

L'étude descriptive de l'évolution des paramètres hydro-biologiques et bactériens laisse supposer l'existence d'un cycle saisonnier très marqué sur le site de Wimereux au cours de l'année 2004. Cependant, une analyse descriptive ne peut à elle seule expliquer la variabilité des réponses observées. De plus, la régression linéaire entre les variables bactériennes (cf. § III.3) ne donne qu'une indication sur un éventuel contrôle des stocks bactériens par la ressource ou la prédation, alors que d'autres facteurs, tels que la température, peuvent avoir une influence prépondérante sur la dynamique bactérienne. Afin de déterminer le rôle des paramètres environnementaux sur la variabilité bactérienne, une matrice de corrélation a été réalisée à partir de l'ensemble des données hydrologiques et biologiques, susceptibles d'exercer un contrôle sur les stocks et les processus bactériens (Tableau II.14).

Tableau II.14 : Coefficients de corrélation de Spearman (ρ) entre les paramètres bactériens et hydro-biologiques sur l'ensemble des données acquises en 2004.
Les abréviations utilisées ici se réfèrent à celles utilisées dans le chapitre.
Le nombre d'échantillons n varie, suivant les relations considérées, entre 21 et 64.

	AB	**PB**	**Chl-*a***	**T**	**S**	**COD**	**NO_3^-**	**$Si(OH)_4$**	**HPO_4^{2-}**
AB	1								
PB	**0,85****	1							
Chl-*a*	**0,58****	**0,61****	1						
T	**0,74****	**0,69****	**n.s.**	1					
S	n.s.	n.s.	**n.s.**	**0,45***	1				
COD	**n.s.**	**n.s.**	n.s.	n.s.	n.s.	1			
NO_3^-	-0,73**	-0,67**	**-0,69****	-0,78**	-0,49*	n.s.	1		
$Si(OH)_4$	n.s.	n.s.	**-0,63****	n.s.	n.s.	n.s.	0,51**	1	
HPO_4^{2-}	-0,69**	-0,63**	**-0,53****	-0,80**	n.s.	n.s.	0,69**	0,50*	1

Seuils de signification [après corrections des probabilités p selon Hochberg (1988)] : ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$
n.s. = non significatif

Concernant les paramètres hydrologiques, la température semble jouer un rôle sur la variabilité saisonnière des paramètres bactériens ($\rho = 0,74$ et $\rho = 0,69$ pour AB et PB respectivement, $p < 0,01$), alors que la salinité, caractéristique du gradient côte-large, ne semble pas l'influencer significativement (Tableau II.14).

Les stocks phytoplanctoniques ne semblent pas liés aux paramètres hydrologiques (température et salinité). Par contre, des concentrations en Chl-*a* élevées sont liées à de faibles teneurs en éléments nutritifs, nitrates, silicates et phosphates (ρ = - 0,69 ; ρ = -0,63 ; ρ = -0,53, respectivement ; $p < 0,01$; Tableau II.14), traduisant la consommation des nutriments pour la production de biomasse phytoplanctonique.

Comme observé précédemment (cf. § III.3), en considérant l'ensemble du jeu de données toutes saisons confondues, stocks (AB) et productions (PB) bactériennes sont fortement corrélés (ρ = 0,85, $p < 0,01$; Tableau II.14). Les deux variables bactériennes montrent une même réponse aux sources de matière potentiellement utilisables par les bactéries (*i.e.* COD et Chl-*a*) : elles sont significativement liées aux concentrations en Chl-*a* (ρ = 0,58 et ρ = 0,61 pour AB et PB respectivement, $p < 0,01$), alors qu'aucune relation significative n'est mise en évidence avec les concentrations en COD.

IV.2. Relations entre paramètres hydro-biologiques et bactériens

Les résultats issus de l'analyse par régression multiple pas-à-pas ascendante (voir Chapitre I, § II.3.4) indiquent qu'une forte proportion de la variabilité de l'abondance bactérienne (AB) est d'abord expliquée par les variations en température (78%), puis par celles en Chl-*a* (87%) et enfin celles en salinité (89% ; Tableau II.15). Toutefois, une forte proportion (87%) de la variation des abondances bactériennes est expliquée par les variations en température et en Chl-*a* ; la variable salinité en tant que variable explicative n'apporte que 2% d'information supplémentaire (Tableau II.15).

Tableau II.15 : Analyse par régression multiple pas-à-pas ascendante des paramètres bactériens (AB, 10^6 cell.mL^{-1} ; PB, 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} ; variables dépendantes) et hydro-biologiques (Chl-*a*, µg.L^{-1} ; COD, µM ; T, °C ; S ; NO_3^-, µM ; $Si(OH)_4$, µM ; HPO_4^{2-}, µM). Seules les variables explicatives de la variable dépendante sont présentées, avec leur ordre d'insertion dans la régression pas-à-pas, et le R^2 intermédiaire associé à chaque nouvelle insertion.
Les coefficients de détermination R^2 sont les coefficients ajustés.

Variable dépendante	Variables explicatives	n	R^2
AB	1. T (R^2 = 0,78)	42	0,89***
	2. Chl-*a* (R^2 = 0,87)		
	3. S (R^2 = 0,89)		
PB	1. Chl-*a* (R^2 = 0,69)	42	0,85***
	2. T (R^2 = 0,82)		
	3. S (R^2 = 0,85)		

Seuils de signification : *** $p < 0,0001$

Les variations en production bactérienne (PB) sont significativement expliquées par 3 variables parmi l'ensemble des variables hydro-biologiques inclues dans l'analyse :

- en premier lieu par les variations en Chl-*a* (69%),
- puis par celles de température (82%),
- par celles de salinité (85%).

Toutefois, une forte proportion (82%) de la variabilité de PB est expliquée par les variations en Chl-*a* et en température ; la variable salinité en tant que variable explicative n'apporte que 3% d'information supplémentaire (Tableau II.15).

Dans les deux cas de régression, il apparaît que la variable salinité n'apporte que peu d'information supplémentaire à l'explication de la variabilité de AB et PB (2% et 3% pour AB et PB, respectivement). De plus, salinité et température sont significativement corrélées ($\rho = 0,45$; $p < 0,05$; Tableau II.15). Ainsi, l'insertion de la variable salinité dans les équations de régression des paramètres bactériens pourrait alors être due essentiellement à la colinéarité entre les deux variables hydrologiques. Pour ces différentes raisons, la salinité n'apparaît pas comme une variable informative dans la variabilité saisonnière des paramètres bactériens.

V. Discussion

V.1. Régionalisation du site atelier de Wimereux : hétérogénéité spatiale côte/large.

Les résultats relatifs à la régionalisation du site de Wimereux sur la base des valeurs des paramètres hydro-biologiques ont permis de :

(i) définir statistiquement 4 zones selon un gradient côte/large correspondant aux conditions hydro-biologiques locales du milieu précédemment observées (Brylinski et *al.,* 1991; Brunet *et al.,* 1996; Brylinski *et al.,* 1996 ; Hoch et Garreau, 1998),

(ii) (ii) préciser l'hétérogénéité spatiale sur la radiale échantillonnée, toutes saisons confondues. Cette variabilité spatiale des conditions hydro-biologiques est étroitement liée aux forçages physiques du milieu (climat, hydrodynamisme, profondeur de la colonne d'eau).

Dans notre étude, la station caractéristique des eaux littorales (R0) se distingue systématiquement du reste de la radiale, quel que soit le niveau hiérarchique considéré dans la méthode de régionalisation (Figures II.23 et II.27). Elle correspond à la station la plus proche de l'interface eau – continent, sous influence directe des apports anthropiques et telluriques, liée à sa proximité des cours d'eau (Liane, Wimereux, Slack). Cette station peu profonde (située avant l'isobathe des 10 m ; voir Partie II – Introduction - § II.2 – Figure II.3) multiplie les interfaces d'échanges de matière et de nutriments, puisqu'elle bénéficie (i) d'apports côtiers, entretenus par la circulation du « fleuve côtier » (Brylinski *et al.,* 1991) riche en éléments transportés (Matières En Suspension MES, Guéguéniat *et al.,* 1995 ; Lafite *et al.,* 2000 *;* cellules algales, Huault *et al.,* 1994 ; sels nutritifs, Bentley *et al.,* 1993), mais également (ii) d'apports benthiques. En effet, des phénomènes de remise en suspension et de réminéralisation des sels nutritifs liés à l'activité biologique benthique constituent des sources nutritives non négligeables pour les eaux de surface peu profondes (Graf, 1992 ; Brylinski, 1993 ; Alongi, 1998), soutenant les activités pélagiques, et permettant l'établissement d'un gradient décroissant côte/large des conditions chimiques (sels nutritifs) et biologiques (Chl-*a*, COD, abondances bactériennes). Il a d'ailleurs été établi que l'influence des processus benthiques sur les activités microhétérotrophes pélagiques (*e.g.* production bactérienne, PB,

Figure II.28) est inversement proportionnelle à la profondeur de la colonne d'eau (Karner *et al.,* 1992; Hoppe et Ullrich, 1999).

Cependant, les biomasses phytoplanctoniques n'y sont pas toujours les plus élevées, tout comme les concentrations en COD et en sels nutritifs (Figures II.25 et II.26 ; Tableaux II.9.B et II.9.C). Nos observations suggèrent qu'il existe en zone littorale (i) une sédimentation non négligeable du phytoplancton (Josefson et Hansen, 2003 ; Ehrenhauss *et al.,* 2004) malgré l'importante énergie cinétique (vagues, houle, courants de marée) que subit cette zone, facilitée par la formation d'agrégats et TEP (« Transparent Expolymer Particle ») issus de *P. globosa* (Desroy et Denis, 2004 ; Brussaard *et al.,* 2005b), et (ii) une régénération importante et une recirculation rapide des éléments nutritifs à partir du fond proche (Brylinski, 1993).

La zone côtière, caractérisée par la station R1, correspond au « fleuve côtier » (Brylinski *et al.,* 1991) et représente une zone intermédiaire entre la zone littorale et la zone frontale. Située également à proximité de l'isobathe 10 m (Partie II – Introduction - § II.2 – Figure II.3), ses caractéristiques sont proches des caractéristiques littorales, présentant des conditions chimiques et biologiques plus riches que celles du large. Ce gradient prononcé de la côte vers le large a largement été observé en Manche orientale pour de nombreux paramètres hydro-biologiques, tels que la salinité, la densité, la turbidité (Brylinski *et al.,* 1984 ; Bentley, 1985 ; Dupont *et al.,* 1991), la concentration en sels nutritifs (Gentilhomme et Lizon, 1998), l'abondance phytoplanctonique (Brunet *et al.,* 1996 ; Hoch et Garreau, 1998 ; Lizon *et al.,* 1998 ; Breton *et al.,* 2000) zooplanctonique (Brylinski *et al.,* 1988 ; Breton, 2000) et bactérienne (Maillard-Quisthoudt, 1988).

La zone frontale est représentée par les stations R2 à R4, et concentre, à certains moments de l'année, de fortes teneurs en sels nutritifs (Figure II.25), en Chl-*a* et COD (Figure II.26). Cette zone de transition entre eaux côtières et eaux du large (Brylinski et Lagadeuc, 1990 ; Sournia *et al.,* 1990), dont la dynamique est essentiellement contrôlée par la marée, a en effet été qualifiée de (i) barrière plus ou moins étanche au passage des particules, permettant des échanges côte/large sporadiques ou ponctuels suivant le cycle de marée (Brylinski et Lagadeuc, 1990), et (ii) zone d'accumulation de particules inertes ou vivantes (*e.g.* cellules phytoplanctoniques, Brunet *et al.,* 1992 ; zooplancton, Brylinski *et al.,* 1991), sans pour autant être à priori le siège d'une production bactérienne ou phytoplanctonique (Brunet *et al.,* 1992 ; Brylinski, 1993) spécifique.

Finalement, la station R5, caractéristique des eaux du large, est le site de développements bactérien et phytoplanctonique plus limités, en raison d'apports réduits en sels nutritifs. Cependant, certaines espèces phytoplanctoniques (Brunet, 1994 ; Breton *et al.,* 2000 ; Schapira, 2005) et zooplanctoniques (Brylinski et Lagadeuc, 1988 ; Breton, 2000 ; Cotonnec, 2001) semblent être inféodées spécifiquement au large. Elles sont en effet probablement adaptées aux transferts pulsatifs de particules et de substances dissoutes *via* la zone frontale, et bénéficient de conditions hydrodynamiques moins turbulentes qu'en zone côtière.

La saisonnalité des paramètres hydro-biologiques dans ces différentes eaux-types identifiées suit donc en partie celle du régime des cours d'eau (en particulier les sels nutritifs, Gentilhomme et Lizon, 1998), mais aussi celle des processus physiques (remise en suspension et sédimentation) et biologiques (activité photosynthétique des producteurs primaires, excrétion et lyse cellulaire algales, processus de minéralisation) majeurs caractéristiques de tout écosystème côtier.

La régionalisation sur la base des variables environnementales (paramètres hydro-biologiques) concorde avec celle des variables bactériennes (Figures II.27). L'ensemble des paramètres hydro-biologiques semble alors conditionner la distribution et la variabilité temporelle des populations bactériennes sur le site de Wimereux.

V.2. Contexte phytoplanctonique saisonnier et conséquences sur la dynamique bactérienne

L'étude sur une échelle fine du contexte phytoplanctonique, en relation avec l'évolution saisonnière des stocks en sels nutritifs permet de caractériser la variabilité temporelle de la ressource nutritive bactérienne du milieu, qui aura des conséquences directes sur la dynamique bactérienne.

V.2.1. Contexte phytoplanctonique

L'**hiver 2004** est caractérisé par de faibles biomasses phytoplanctoniques (< 3,00 µg Chl-*a*.L^{-1} ; Figure II.26 et Tableau II.12.C) dominées par des assemblages de Diatomées (A.

Sazhin et N. Guiselin, comm. pers.[4]). Seuront *et al.* (2006) confirment ces observations par une étude réalisée entre février et juillet 2004 sur un site voisin du site de Wimereux (Point côtier[5] SOMLIT). La diminution progressive des taux de silicates [$Si(OH)_4$] au cours de l'hiver 2004 (Figure II.25) atteste de la présence des Diatomées puisqu'elles représentent la classe phytoplanctonique majoritaire utilisant la silice pour son développement (Martin-Jézéquel *et al.,* 2000). La présence de Diatomées en hiver constitue un phénomène saisonnier récurrent en Manche orientale (Hedin-Bougart, 1980 ; Brunet *et al.,* 1996 ; Breton, 2000) et en Mer du Nord (Reid *et al.,* 1990 ; Rousseau *et al.,* 2000).

Le **printemps** correspond à la période pendant laquelle les teneurs maximales en Chl-*a* sont observées (6 – 9 µg Chl-*a*.L^{-1} ; Figure II.26 et Tableau II.12.C). L'apparition d'un bloom phytoplanctonique printanier est caractéristique des eaux côtières de la Manche orientale (Brunet *et al.,* 1992 ; Brunet *et al.,* 1996 ; Gentilhomme et Lizon, 1998 ; Hoch et Garreau, 1998 ; Breton *et al.,* 2000 ; Schapira, 2005) et est conditionnée par les fortes teneurs en éléments nutritifs du milieu (Figure II.25 et Tableau II.12.B). Cette floraison printanière, identifiée entre fin mars et début juin 2004, correspond à une utilisation des stocks hivernaux de sels nutritifs, et ses assemblages phytoplanctoniques sont essentiellement dominés (en termes d'abondance cellulaire) par *P. globosa* (5,5 x 10^6 cell.mL^{-1} ; Seuront *et al.,* 2006). L'apparition de la Prymnésiophycée *P. globosa* au sein des assemblages phytoplanctoniques printaniers est un phénomène rapporté depuis plusieurs années (Grossel *et al.,* 1988), lié à l'affinité très forte de cette espèce pour les sels nutritifs azotés (NO_3^- ; Schapira, 2005). Cette espèce peut représenter jusqu'à 90 % de l'abondance phytoplanctonique printanière (Lancelot et Mathot, 1985 ; Breton *et al.,* 1999 ; Seuront *et al.,* 2006).

A la fin du printemps (mai), le déficit en sels nutritifs perdure (Figure II.25) et entraîne une diminution des biomasses phytoplanctoniques (5 – 7 µg Chl-*a*.L^{-1} ; Figure II.26 et Tableau II.12.C), liée vraisemblablement à l'épuisement des nitrates. La composition des assemblages phytoplanctoniques est modifiée à cette période : *P. globosa* commence à décliner (mi-mai, Seuront *et al.,* 2006) et laisse apparaître des diatomées de plus petites tailles (20-30 µm) adaptées aux plus faibles concentrations en sels nutritifs (Schapira, 2005 et références citées). L'installation de ces assemblages est soutenue par des apports ponctuels et importants en NO_3^- relevés sur le site d'étude au mois de juin et surtout par des stocks en $Si(OH)_4$ en

[4] Les informations relatives au calendrier du contexte phytoplanctonique se réfèrent aux travaux de A. Sazhin (MCF) et N. Guiselin (doctorante ULCO) réalisés sur le site de Wimereux entre février et octobre 2004.
[5] Ce point côtier a pour coordonnées géographiques 50°40'75N – 1°31'17E, et se situe en zone côtière au sud de notre site d'étude.

reconstitution (Figure II.25). Ces deux phénomènes résultent (i) d'épisodes pluvieux ponctuels et importants sur cette période (***i.e.*** lessivage des sols ; retombées atmosphériques, Jickells, 1995) et (ii) d'une reminéralisation de la matière organique suite au déclin de *P. globosa* (voir § V.2.2).

La **période estivale** est caractérisée par des biomasses phytoplanctoniques inférieures à 5 µg Chl-*a*.L^{-1} (Figure II.26 et Tableau II.12C) et par des assemblages phytoplanctoniques identiques à ceux observés en fin de printemps (dominance des Diatomées ; Seuront ***et al.,*** 2006). Ces derniers sont soutenus par des stocks croissants de $Si(OH)_4$, résultant vraisemblablement des fortes pluies enregistrées en été sur le site d'étude (Figure II.22) et du processus de reminéralisation (silice, Del-Amo ***et al.,*** 1997 ; Phosphate, Auby ***et al.,*** 1999 ; Azote, Riou, 1999).

Finalement, une floraison secondaire apparaît en **automne**, caractérisée par des assemblages phytoplanctoniques dominés par les diatomées. Ce bloom secondaire a préalablement été observé en zone côtière de la Manche orientale (Gentilhomme et Lizon, 1998 ; Hoch et Garreau, 1998), et son extension temporelle est limitée par les conditions d'éclairement et de température à cette période. Cette floraison secondaire apparaît suite à la restauration partielle des stocks de sels nutritifs consécutive à la déstratification de la colonne d'eau. Ces nutriments sont sous influence des apports liés aux fortes pluies automnales (maximum des pluies totales annuelles enregistrées en octobre, Figure II.22) et transitent par le biais des principaux fleuves de cette zone côtière (Liane, Wimereux, Slack).

La variabilité spatiale et temporelle du phytoplancton reflète en partie la variabilité de la ressource nutritive du milieu, et conditionnent ainsi la variabilité de la dynamique bactérienne. Ces contrastes significatifs des variables physiques, chimiques et biologiques, à la fois sur une échelle spatiale (§ V.1) et saisonnière (§ V.2.1), font du site de Wimereux un site atelier idéal pour examiner les relations entre les facteurs environnementaux et les paramètres bactériens (abondances, AB ; production, PB ; et taux de croissance, Bµ).

V.2.2. Conséquences sur la dynamique bactérienne.

Les valeurs d'abondance et de production bactériennes relevées sur le site de Wimereux entre février et octobre 2004 sont conformes à celles relevées sur d'autres sites marins soumis à l'efflorescence de *P. globosa* (voir Chapitre II, § V.3.1 et Tableau II.11).

Quels facteurs possibles de contrôle ? Les populations bactériennes répondent aux modifications des conditions physiques de leur milieu (en particulier la température, Shiah *et al.,* 1999, 2000b, 2003) et de leurs conditions nutritives comme les sels nutritifs (Kirchman, 2000 ; Caron *et al.,* 2000 ; Tanaka *et al.,* 2004 ; Arrigo, 2005), les matières organiques dissoutes (MOD) et particulaires (MOP ; Raymond et Bauer, 2000 ; Becquevort *et al.,* 2002 ; Puddu *et al.,* 2003 ; Carlson *et al.,* 2004 ; Kirchman *et al.,* 2004). Les bactéries répondent aussi en fonction de leurs caractéristiques propres (efficacité et taux de croissance, capacité de stockage). Elles sont également contrôlées par (i) la pression de prédation (Sherr et Sherr, 1987 ; Vaqué *et al.,* 1994 ; Strom, 2000 et références citées ; Sherr *et al.,* 2002) et (ii) la lyse virale (Fuhrman, 1995, 1999, 2000 ; Marie *et al.,* 1999 ; Weinbauer, 2004).

Contrôle hivernal des populations bactériennes par les températures de surface. La situation hivernale sur le site de Wimereux est caractérisée par de faibles densités bactériennes sur l'ensemble du site d'étude, et de faibles niveaux de PB associés (Figure II.28 et Tableau II.13). Les ressources trophiques d'origine phytoplanctonique sont limitées entre février et mars 2004 (entre 0,71 ± 0,37 et 1,85 ± 0,13 µg Chl-*a*.L^{-1} ; Tableau II.12) et les fortes concentrations en COD relevées en février (150 – 450 µM ; Figure II.26 et Tableau II.12.C) sur l'ensemble du site d'étude semblent insuffisantes pour stimuler la croissance bactérienne (Berman *et al.,* 1994 ; Shiah *et al.,* 2000b). Toutefois, les valeurs hivernales en COD ont pu être surestimées si on les compare à celles relevées dans d'autres sites côtiers soumis à *P. globosa*, comme celui de la Mer du Nord (valeurs comprises entre 150 et 340 µM, Déliat, 2001 ; Rousseau *et al.,* 2000).

En fait, le contrôle des stocks bactériens par la ressource ne pourrait se faire que lorsque la température n'est pas limitante (Shiah *et al.,* 2003). Or, cela est probablement le cas en hiver 2004 sur le site de Wimereux puisque les faibles températures de surface (< 8.5°C sur l'ensemble de la zone) pourraient être limitantes. De plus fortes températures facilitent le métabolisme des cellules bactériennes, et donc leur croissance, en diminuant le niveau d'énergie d'activation requis pour les réactions biochimiques, notamment pour les réactions enzymatiques de dégradation des MOD et MOP. Sans température optimale, les cellules bactériennes ne peuvent croître et utiliser les ressources disponibles, même en présence de fortes concentrations en substrats (Kirchman *et al.,* 1993 ; Berman *et al.,* 1994 ; Shiah *et al.,* 2000b). Les fortes corrélations de AB et PB avec la température (Tableau II.14) et l'analyse par régression multiple plaçant la température en premier et principal facteur explicatif de AB (78% de variance expliquée ; Tableau II.15) suggèrent que, pendant la saison hivernale, la

température, plutôt que la ressource, est le facteur majeur de contrôle de la croissance des populations bactériennes. Par ailleurs, plusieurs études *in situ* montrent que les valeurs Q_{10}[6] pour la croissance bactérienne varient sur une gamme étroite (3,13 – 3,42 ; Shiah *et al.,* 2000b), et ce même sur des échelles temporelles (Shiah et Ducklow, 1995), spatiales intra-site (Shiah *et al.,* 1999, 2000b) et inter-sites (White *et al.,* 1991) différentes. Cela suggère que cette dépendance de la croissance bactérienne à la température du milieu est comparable sur ces mêmes échelles, comme cela a été démontré dans de nombreux sites côtiers (Mer de Chine, Shiah *et al.,* 1999, 2000a,b, 2003 ; Mer du Groenland, Middelboe et Lundsgaard, 2003 ; Mer de Wadden, Poremba *et al.,* 1999 ; Mer Méditerranée, Tanaka et Rassoulzadegan, 2004 ; Baie de Narragansett, Staroscik et Smith, 2004 ; Baie du Golfe de Mexico, Mc Manus *et al.,* 2004).

Réponse bactérienne au bloom phytoplanctonique printanier de *P. globosa* : couplage bactéries / phytoplancton. La dynamique bactérienne établie au printemps révèle un bloom bactérien printanier, caractérisé par une hausse des AB et PB (Figure II.28 et Tableau II.13), en réponse au bloom phytoplanctonique de *P. globosa* (Figure II.26). Nos résultats suggèrent que (i) les bactéries utilisent les MOP et principalement les MOD issues du phytoplancton pendant sa croissance exponentielle (Azam *et al.,* 1992 ; Ducklow et Carlson, 1992), et que (ii) les développements bactérien et phytoplanctonique sont couplés au printemps 2004 sur le site de Wimereux. L'analyse par régression multiple révèle en effet qu'une grande part des variations de PB (69 %) est expliquée en premier lieu par les variations des biomasses phytoplanctoniques (Tableau II.15). De plus, un contrôle dominant des stocks bactériens par la ressource, vraisemblablement d'origine phytoplanctonique dans ce contexte d'efflorescence printanière, est vérifié dans notre étude (Figure II.29 et § III.3). L'étroite corrélation des paramètres bactériens avec les concentrations en Chl-*a*, qui s'oppose à l'absence de corrélation avec les concentrations en COD (Tableau II.14), suggèrent que l'activité bactérienne serait principalement stimulée par du COD labile d'origine phytoplanctonique, issu de l'excrétion des cellules algales ou des interactions au sein du réseau trophique microbien (Legrand, 1993 ; Delmas *et al.,* 1994 ; Sherr *et al.,* 2001 ; Wetz et Wheeler, 2004), en particulier *via* les brouteurs microzooplanctoniques (Strom *et al.,* 1997). La décroissance rapide des concentrations en COD sur le site d'étude au cours du printemps (Figure II.26 et

[6] La valeur Q_{10} correspond à la variation du taux de croissance (μ_{t1} / μ_{t2}) bactérienne pour chaque augmentation de température de 10°C.

Tableau II.12.C) atteste également d'une stimulation rapide de la croissance bactérienne par une fraction relativement labile des MOD.

La part de la production primaire (PP) phytoplanctonique pouvant soutenir la production bactérienne, et assurer leur croissance cellulaire, varie entre 10 et 100% (moyenne : 30-40% ; Cole *et al.,* 1988 ; Ducklow et Carlson, 1992 ; Turley *et al.,* 2000). Le couplage entre la PP et l'utilisation bactérienne des exsudats phytoplanctoniques produits par excrétion (PER, pour « phytoplankton extracellular release ») a été montré comme étant un processus clé dans le cycle du carbone des systèmes aquatiques (Cole *et al.,* 1988 ; Bjørnsen, 1988 ; Baines et Pace, 1991). Ces PER peuvent représenter une fraction importante de la PP (Myklestad, 2000) et contribuent significativement à la formation du pool de COD (Nagata, 2000 ; Puddu *et al.,* 2003 ; Marañón *et al.,* 2004). Si la plus grande partie des MOD des systèmes aquatiques marins est considérée comme réfractaire à l'utilisation bactérienne, la partie labile, confinée principalement aux eaux de surface, ne représente que 5% du total (Carlson et Ducklow, 1995), et les exsudats algaux en sont le principal composant (Norrman *et al.,* 1995). Toutefois, leur quantité, leur biodégradabilité et leur composition moléculaire sont variables suivant les assemblages phytoplanctoniques et l'état physiologique des cellules algales (Puddu *et al.,* 2003 et références citées), mais également suivant le statut nutritif du milieu (Myklestad, 1995). L'excrétion algale serait en effet plus importante en condition de faibles concentrations en sels nutritifs, car la fixation de carbone excèderait son incorporation dans les cellules algales (Fogg, 1983). Cela expliquerait alors les AB maximales accompagnées des fortes PB observées en fin de printemps (Figure II.28), simultanément à l'épuisement des sels nutritifs sur le site de Wimereux (Figure II.25). Les conditions printanières en sels nutritifs ne semblent pas être limitantes en phosphates (P ; cf. Partie II, Chapitre II, Echelle 1), rendant possible l'assimilation bactérienne des substrats organiques dissous (C. Jauzein, comm. pers. ; Thingstad et Rassoulzadegan, 1995 ; Puddu *et al.,* 2003).

Par ailleurs, au déclin de *P. globosa* (mi-mai, Seuront *et al.,* 2006), d'autres sources de MO d'origine phytoplanctonique soutiendraient la croissance bactérienne, comprenant des MOD et MOP issues de l'hydrolyse des cellules sénescentes (Carlson *et al.,* 1996) et de la lyse cellulaire algale (Ducklow *et al.,* 1995) incluant la lyse virale (Baines et Pace, 1991 ; Brussaard *et al.,* 2005a,b).

Une part importante des MO d'origine phytoplanctonique, issues directement par excrétion phytoplanctonique ou indirectement par lyse des cellules algales, serait utilisée par les bactéries simultanément à l'efflorescence algale de *P. globosa*, au cours du printemps 2004 en Manche orientale. Toutefois, seules des mesures d'activité exo-enzymatiques de dégradation

de matière, en particulier les matières protéique et polysaccharidique issue de *P. globosa*, permettront de préciser davantage cette hypothèse (voir Partie III Chapitre II). L'examen des activités exo-enzymatiques bactériennes, notamment celles de dégradation glycolytique, nous permettront en effet de préciser si la croissance bactérienne est étroitement liée au développement de *P. globosa* (Becquevort *et al.,* 1998 ; Rousseau *et al.,* 2000), du fait de la nature principalement polysaccharidique de la matrice coloniale (Lancelot et Rousseau, 1994; Thingstad et Billen, 1994; Van Rijssel *et al.,* 2000).

Découplage printano-estival de AB et PB : explication possible par un contrôle dominant des stocks bactériens par les prédateurs (« top-down control »). La fin du printemps, et plus particulièrement la situation estivale (post-bloom de *P. globosa*) sont marquées par un découplage temporel entre abondances et productions bactériennes. En effet, les valeurs d'AB se maintiennent à des niveaux proches de ceux observés au printemps tandis que les PB atteignent leurs valeurs maximales annuelles (Figure II.28 et Tableau II.13). Ce découplage entre AB et PB a pour conséquence des valeurs de taux de croissance (Bμ) maximales (Tableau II.13) et suggèrent, en cette période printano-estivale, un contrôle dominant des stocks bactériens par la pression de prédation (protistes flagellés et ciliés et certains métazoaires bactérivores, Strom, 2000 et références citées ; voir aussi Partie I - Etat de l'art - Chapitre I). Cette hypothèse est confirmée par notre analyse de régression linéaire (Figure II.29 et § III.3) log AB = f(log PB) non significative en été. En outre, un développement de ciliés et flagellés hétérotrophes et de nanoflagellés mixotrophes (Seuront *et al.,* 2006), prédateurs potentiels des bactéries (Strom, 2000 et références citées), a été relevé sur notre site d'étude à cette période. Ce développement estival en ciliés et flagellés correspond par ailleurs à un phénomène typique des écosystèmes côtiers tempérés (Sanders, 1995 ; Dupuy *et al.,* 2000 ; Vincent, 2002). Les bactérivores sélectionneraient préférentiellement les cellules bactériennes les plus larges (Jürgens et Güde, 1994) et les plus actives (Jürgens *et al.,* 1999; Sherr *et al.,* 2002). Ainsi, la première hypothèse est qu'une moindre proportion de cellules, car activement broutées, maintiendrait des niveaux de production et de productivité particulièrement élevés (del Giorgio *et al.,* 1997; Créach *et al.,* 2003) et ainsi utiliserait les MO disponibles dans le milieu. Par ailleurs, les prédateurs bactériens et phytoplanctoniques peuvent être une source significative de MO et de sels nutritifs pour les bactéries (Nagata et Kirchman, 1991 ; Strom *et al.,* 1997 ; Thingstad, 1998 ; Møller et Nielsen, 2001). Néanmoins, seules des estimations de viabilité bactérienne permettront de quantifier les fractions

cellulaires vivantes et actives réellement responsables de l'activité globale mesurée (voir Partie III – Chapitre I – § I Lamy *et al., in press* et § II).
La seconde hypothèse est que ces bactéries plus productives seraient des cellules attachées, notamment aux agrégats de MO issus de *P. globosa* en sénescence (comprenant les TEP, pour « transparent exopolymer particles »), constituant des micro-environnements particulièrement favorables pour les bactéries (Brussaard *et al.,* 2005b). Ces bactéries attachées aux TEP et aux agrégats dérivés de *P. globosa* peuvent représenter jusqu'à 40 % (Mari *et al.,* 2004) et 66 % (Becquevort *et al.,* 1998) des abondances totales en post-bloom, et assureraient plus de la moitié de la minéralisation bactérienne totale des MO disponibles, devant les bactéries libres sujettes à la prédation (Tuomi *et al.,* 1999).

Situation automnale : stimulation bactérienne par des apports autochtones et allochtones. Les niveaux de production bactérienne relevés en automne sont supérieurs aux minima hivernaux et du début du printemps, et sont accompagnés d'abondances bactériennes relativement élevées, proches des niveaux estivaux (Figure II.28 et Tableau II.13). Les populations bactériennes seraient soutenues par un bloom phytoplanctonique secondaire (Figure II.26), mais également par des apports allochtones d'origine fluviatile (Cauwet, 2002 ; Hernes et Benner, 2003 ; Benner, 2004), conditionnés par de fortes pluies en octobre (Figure II.22).

Conclusion : diversification de facteurs de contrôle « saison-dépendants ». L'analyse par régression multiple (Tableau II.15) sur l'ensemble des données 2004 sur le site de Wimereux fait état d'abondances bactériennes davantage contrôlées par les températures de l'eau contre des productions bactériennes davantage contrôlées par la ressource phytoplanctonique. Ces résultats soulignent que PB et AB seraient régulées indépendamment, comme cela a été observé dans d'autres études (Ducklow, 1999 ; Hyun et Kim, 2003 ; Shiah *et al.,* 2003).
Par ailleurs, notre étude montre l'influence de plusieurs facteurs de contrôle des populations bactériennes (Ducklow et Carlson, 1992 ; Fuhrman, 1992 pour une revue du sujet), mais la température et la ressource, notamment phytoplanctonique, semblent être les plus importants. Shiah *et al.* (2000b, 2003) ont montré que l'importance relative de l'effet de la ressource et de la température sur la croissance bactérienne peut être site- et/ou saison-dépendante. Nos résultats mettent en évidence une évolution des facteurs de contrôle, depuis un contrôle par la température en hiver, *via* un contrôle par la ressource au printemps pendant le développement du bloom phytoplanctonique, puis par les prédateurs bactériens en période printano-estivale.

Cette progression saisonnière a été observée par de nombreuses études *in situ* en systèmes côtiers (White *et al.,* 1991 ; Ducklow, 1992 ; Lochte *et al.,* 1997 ; Shiah *et al.,* 1999, 2000a et références citées ; Artigas *et al.,* 2000 ; Van Wambeke *et al.,* 2000 ; Hubas *et al., sous presse*, voir Annexe C1). Nos résultats attestent d'une forte variabilité saisonnière des facteurs contrôlant la dynamique bactérienne en Manche orientale, et soulignent l'importance d'une étude sur un cycle saisonnier pour comprendre le fonctionnement et la structure du réseau trophique planctonique de l'écosystème Manche orientale.

Toutefois, cette variabilité est susceptible de s'exprimer à plus court terme (*e.g.* échelle journalière, horaire) étant donné les taux de croissance bactérienne relevés au cours de cette étude (compris entre 0,02 - 0,21 h^{-1}, soit des temps de génération de ~ 5 - 50h). De plus, nos observations attestent d'une variabilité spatiale marquée, dont on a cherché à s'affranchir par l'étude de suivis lagrangiens (voir Chapitre IV).

CHAPITRE IV
Echelle 3 : variabilité à court terme

I. Introduction

Nous avons vu dans les chapitres précédents que des évènements biologiques tels que les blooms phytoplanctoniques peuvent profondément affecter la dynamique bactérienne. La dynamique de ces blooms est par ailleurs fortement conditionnée par les facteurs physiques (hydrodynamisme), climatiques (intensité lumineuse) ou hydrologiques (gradient thermo-halin côte/ large, disponibilité en sels nutritifs). L'étude réalisée à l'échelle inter annuelle a clairement montré que les compartiments phytoplanctonique et bactérioplanctonique peuvent être étroitement couplés ou, au contraire, découplés d'un point de vue temporel (par exemple au printemps 2003 sur notre site d'étude, voir Chapitre II). De plus, l'étude réalisée à l'échelle saisonnière a mis en évidence l'existence d'une forte variabilité spatio-temporelle, susceptible de s'exprimer à échelle plus fine. Ce dernier point est en parfait accord avec les travaux développés sur la dynamique bactérienne (*e.g.* Gasol *et al.,* 1998 et références citées) révélant des temps de génération de l'ordre de 14 à 35 h (*e.g.* Ferrier-Pagès et Rassoulzadégan, 1994).

L'approche complète du compartiment bactérien ne peut donc être complètement envisagée sans une étude développée à court terme (échelle journalière ; fréquence d'échantillonnage de 2 à 3h). Les objectifs de cette partie du manuscrit ont été orientés dans ce sens et visent en particulier à appréhender à court terme le couplage phytoplancton-bactérioplancton. La production phytoplanctonique présente en effet une variabilité diurne très marquée (Sournia, 1974) en raison de la variabilité de la disponibilité en lumière. Savoir si cette variabilité des protistes autotrophes a ou non un impact immédiat sur celle du compartiment bactérien (*i.e.* Fuhrman *et al.,* 1985) permettra d'envisager deux types de situations :

- en l'absence de couplage phytoplancton – bactérioplancton, le transfert direct de carbone autotrophe vers les bactéries n'est pas déterminant pour les processus bactériens. Comme le couplage entre la production phytoplanctonique de COD et son utilisation par les bactéries dépend de l'efficacité et la vitesse de réaction des bactéries aux changements de leur environnement (Gasol *et al.,* 1998 ; Van Wambeke *et al.,* 2002), l'absence de couplage immédiat révèlerait une réponse lente des bactéries et/ou l'utilisation indirecte des ressources trophiques phytoplanctoniques (*e.g.* issues de la lyse algale et/ou du « sloppy-feeding », *sensu* Lampert, 1978), et/ou une utilisation prépondérante des ressources allochtones. Dans ce

contexte, les bactéries dépendraient du pool de carbone organique particulaire (COP) issu des apports allochtones, et la dynamique bactérienne apparaîtrait, à cette échelle, indépendante de la production primaire et de sa variabilité.

- si les bactéries répondent rapidement à la variabilité phytoplanctonique, elles sont donc étroitement couplées aux producteurs primaires. Dans ce contexte, un cycle journalier des processus bactériens pourrait être observable.

Pour répondre à ces objectifs, un suivi à court terme des processus bactériens pendant les phases clefs du bloom phytoplanctonique printanier (avant, pendant et après) a été mis en œuvre. Il consiste en un suivi lagrangien (suivi d'une même masse d'eau) permettant (i) d'appréhender en temps réel les processus à court terme du bactérioplancton et (ii) de s'affranchir de la forte variabilité spatiale observée sur le site de Wimereux sur les échelles d'observation précédentes. Un suivi des caractéristiques hydro-biologiques réalisé simultanément a permis (i) de définir le contexte physico-chimique et biologique de notre étude et (ii) de déterminer s'il existe un impact des facteurs hydro-biologiques sur la variabilité journalière des productions bactériennes.

II. Variabilité journalière des facteurs environnementaux : contexte climatique

II.1. Trajectoires de la bouée dérivante

Au cours des différents suivis lagrangiens, la bouée dérivante a globalement décrit une trajectoire elliptique de grand axe approximativement parallèle à la côte et se dirigeant vers le nord (Figure II.30). Les changements de direction à l'origine de ces ellipses sont liés à chaque début de flot et de jusant. Par conséquent, la direction et la force des courants de marée peuvent être considérées comme étant les principaux paramètres opérant sur le trajet de la bouée dérivante.

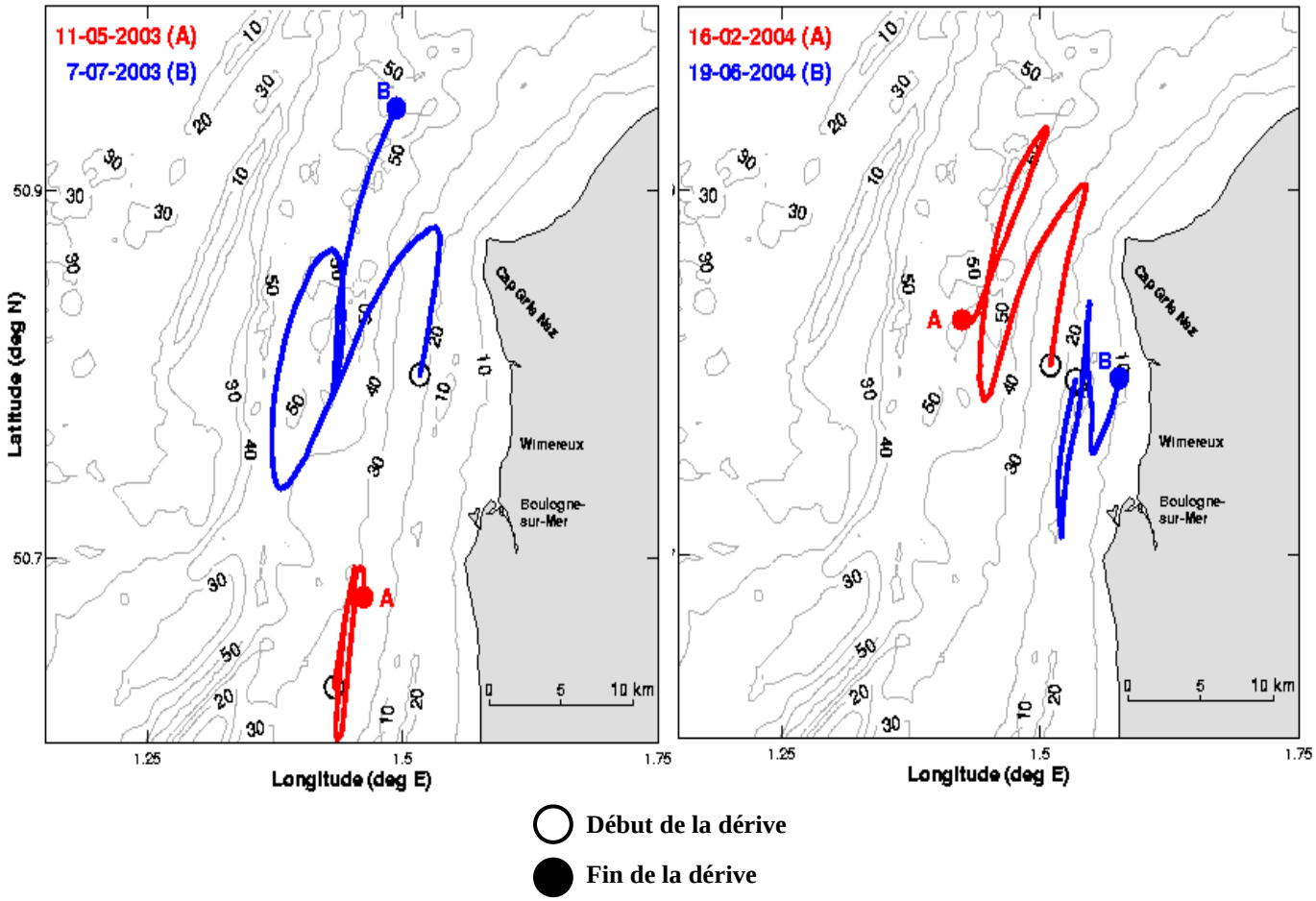


Figure II.30 : Trajectoires de la bouée dérivante au cours des suivis lagrangiens des 11 mai et 07 juillet 2003 (gauche), et des 16 février et 19 juin 2004 (droite). Les trajectoires et les cartes ont été réalisées par A. Sentchev. Les autres suivis n'ont pas pu faire l'objet de tracé de trajectoires en raison de problèmes dans l'acquisition des coordonnées de la bouée liés à un disfonctionnement émetteur-récepteur de la bouée Argos.

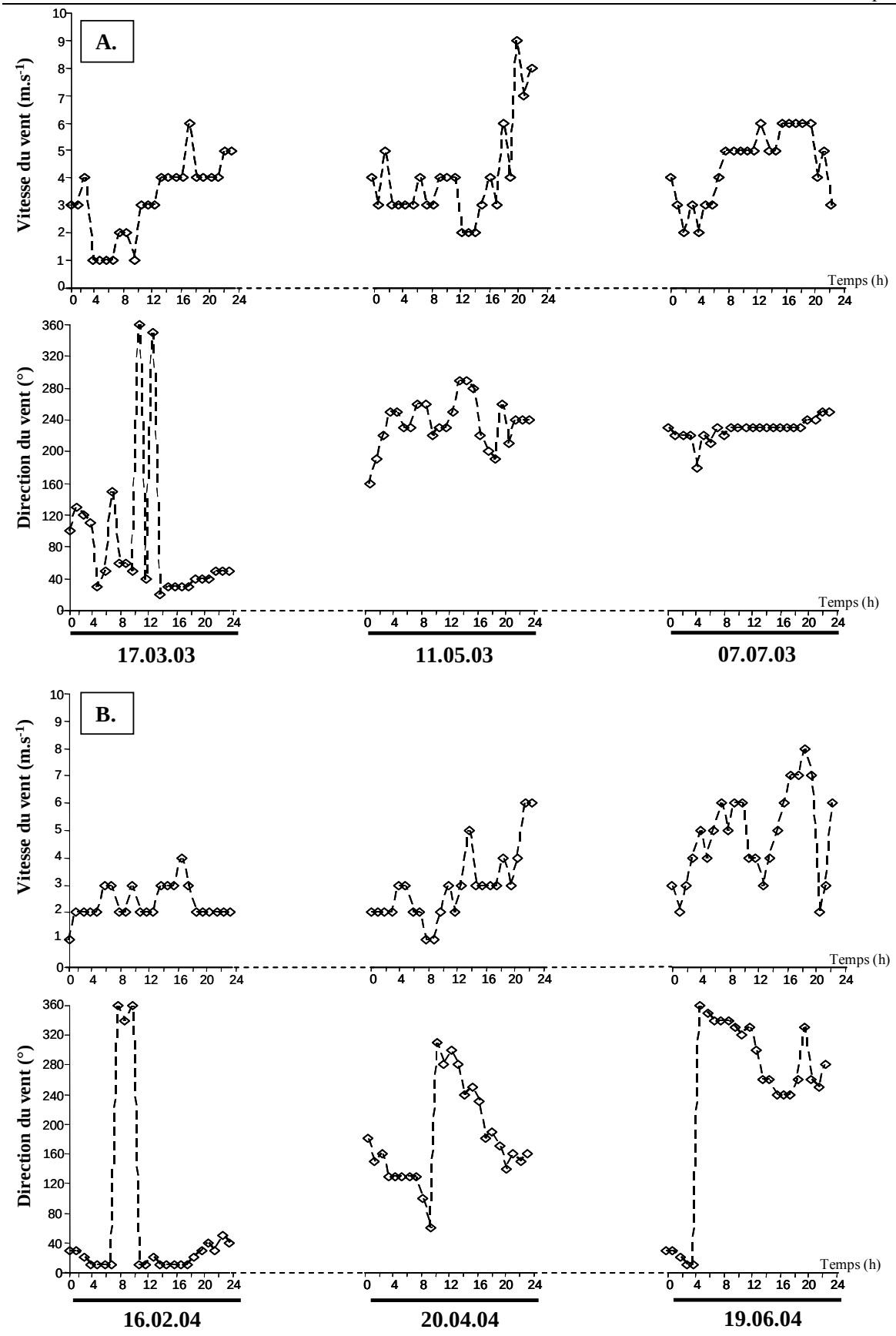


Figure II.31 : Vitesse (m.s^{-1}) et direction horaires du vent (° / 360°) au cours des suivis lagrangiens. **A.** 2003 ; **B.** 2004

II.2. Contexte climatique

Les trois suivis réalisés en 2003 sont caractérisés par une augmentation progressive de la vitesse du vent au cours de la journée (Figure II.31.A) et des moyennes journalières très comparables (3,17 ± 1,43 $m.s^{-1}$ en mars, 4,00 ± 1,80 $m.s^{-1}$ en mai et 4,46 ± 1,31 $m.s^{-1}$ en juillet ; Tableau II.16). En mars la vitesse minimale des vents en matinée (moyenne de 1,90 ± 1, 00 $m.s^{-1}$) augmente par paliers jusqu'à 17h où elle atteint son maximum (6 $m.s^{-1}$; Figure II.31.A). Des vents de même amplitude sont enregistrés en juillet, alors qu'en mai, la vitesse du vent chute au cours de la matinée (-3 $m.s^{-1}$) puis augmente progressivement jusqu'à un maximum de 9 $m.s^{-1}$ en fin de journée. Des vents de NO caractérisent le suivi de mars (moyenne de 37,3°) alors qu'en mai et juillet se sont les vents de SE qui dominent (moyenne journalière de 235 et 227,5°, respectivement). Aucun des suivis réalisés n'a connu d'épisode pluvieux important. L'éclairement solaire journalier maximal atteint 830 µmol $photon.m^{-2}.s^{-1}$ en mars et 1287 µmol $photon.m^{-2}.s^{-1}$ en mai.

Tableau II.16 : Moyennes journalières et valeurs extrêmes (minimum – maximum) des principaux paramètres climatiques (hauteur des précipitations, mm ; vitesse du vent, $m.s^{-1}$; rayonnement solaire, µmol $photon.m^{-2}.s^{-1}$) mesurés au cours des suivis lagrangiens.

		Précipitations[a] (mm)	**Vitesse du vent[a] ($m.s^{-1}$)**	**Rayonnement solaire[b] (µmol $photon.m^{-2}.s^{-1}$)**
2003	**17.03**	0	3,17 ± 1,43 (1 - 6)	280 (1 – 830)
	11.05	0,10 ± 0,4 (0 - 2)	4,00 ± 1,80 (2 - 9)	276 (1 – 1287)
	07.07	0	4,46 ± 1,31 (2 - 6)	x
2004	**16.02**	0	2,33 ± 0,64 (1 - 4)	x
	20.04	0	2,92 ± 1,30 (1 - 6)	310 (1 – 1015)
	19.06	0	4,79 ± 1,66 (2 - 8)	395 (1 – 988)

[a] Données METEOFRANCE
[b] Données de F. Lizon, MCF - SMW

Aucune précipitation n'a été relevée au cours des suivis lagrangiens de l'année 2004 (Tableau II.16). Les vitesses de vent enregistrées sur les mois de février et avril sont du même ordre de grandeur (2,33 ± 0,64 – 2,92 ± 1,30 $m.s^{-1}$ en moyenne journalière ; Tableau II.16), toutefois plus constantes au cours de la journée le 16 février que le 20 avril (Figure II.31.B). Des coups de vent plus forts sont observés en juin (4,79 ± 1,66 $m.s^{-1}$ en moyenne) avec des valeurs maximales jusqu'à 8 $m.s^{-1}$ en fin de journée (Figure II.31.B). La direction des vents est constante en février (NNO), très variable en avril (SO à SE), puis à nouveau constante en juin (NNO). Le rayonnement solaire est minimal en février (3,48 µmol $photon.m^{-2}.s^{-1}$),

intermédiaire en avril (309,65 µmol photon.m^{-2}.s^{-1}) et maximal en juin (394,75 µmol photon.m^{-2}.s^{-1} ; Tableau II.16).

III. Variabilité journalière des paramètres hydro-biologiques

III.1. Conditions hydrologiques

Les caractéristiques des masses d'eau de surface relevées au cours des suivis lagrangiens sont typiques de celles observées usuellement en Manche orientale, pour les différentes périodes d'échantillonnage étudiées (voir Chapitres II et II). En effet, les valeurs de température de surface (Figure II.32) :

- hivernales (17 mars 2003) sont de 7,3 ± 0,1°C en moyenne journalière,
- printanières sont comprises entre 9,2 et 9,5°C le 20 avril 2004 et, en moyenne de 11,5 ± 0,2°C le 11 mai 2003,
- estivales (19 juin 2004) sont de 16,2 ± 0,2°C en moyenne.

Les valeurs de salinité relevées au cours des suivis journaliers sont comprises (Figure II.32) :

- entre 34,3 et 34,6 en mars 2003
- entre 34,0 et 35,1, et entre 34,5 et 34,7 en avril 2004 et mai 2003, respectivement
- entre 34,2 et 34,5 en juin 2004.

L'étude des relations trophiques planctoniques suppose une bonne connaissance de l'écosystème et plus particulièrement du milieu. Pour étudier ces relations, il est important de vérifier que les suivis journaliers ont été effectués au sein d'une même masse d'eau. En effet, chaque masse d'eau peut être caractérisée par un pool nutritif et une population bactérienne spécifiques a priori différents de ceux des masses d'eau contiguës. Le diagramme T/S (Figure II.32) permet dans un premier temps de vérifier si des changements significatifs dans les propriétés de la masse d'eau échantillonnée ont eu lieu au cours des suivis lagrangiens. Le graphique des sommes cumulées des paramètres hydrologiques permet de confirmer ou d'infirmer d'éventuels changements de masse d'eau. Seules les inversions de pente correspondant à une variation supérieure à 0,3 unité du paramètre (température et salinité) seront considérées.

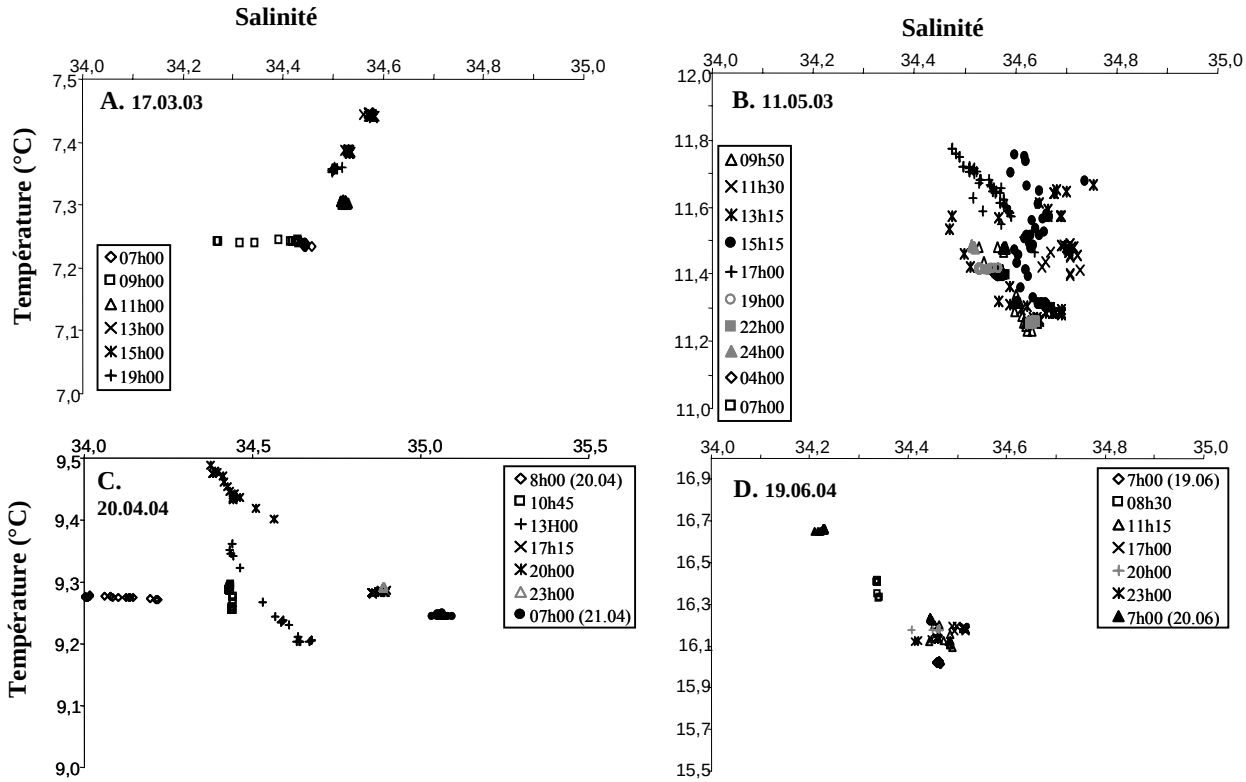


Figure II.32 : Diagrammes Température – Salinité à partir des données mesurées sur le premier mètre de profondeur de la colonne d'eau, obtenus au cours des différents suivis lagrangiens en 2003 et 2004. **A.** 17.03.03 ; **B.** 11.05.03; **C.** 20.04.04; **D.** 19.06.04. (Certains suivis sont manquants ici en raison de problèmes techniques liés à la sonde CTD).

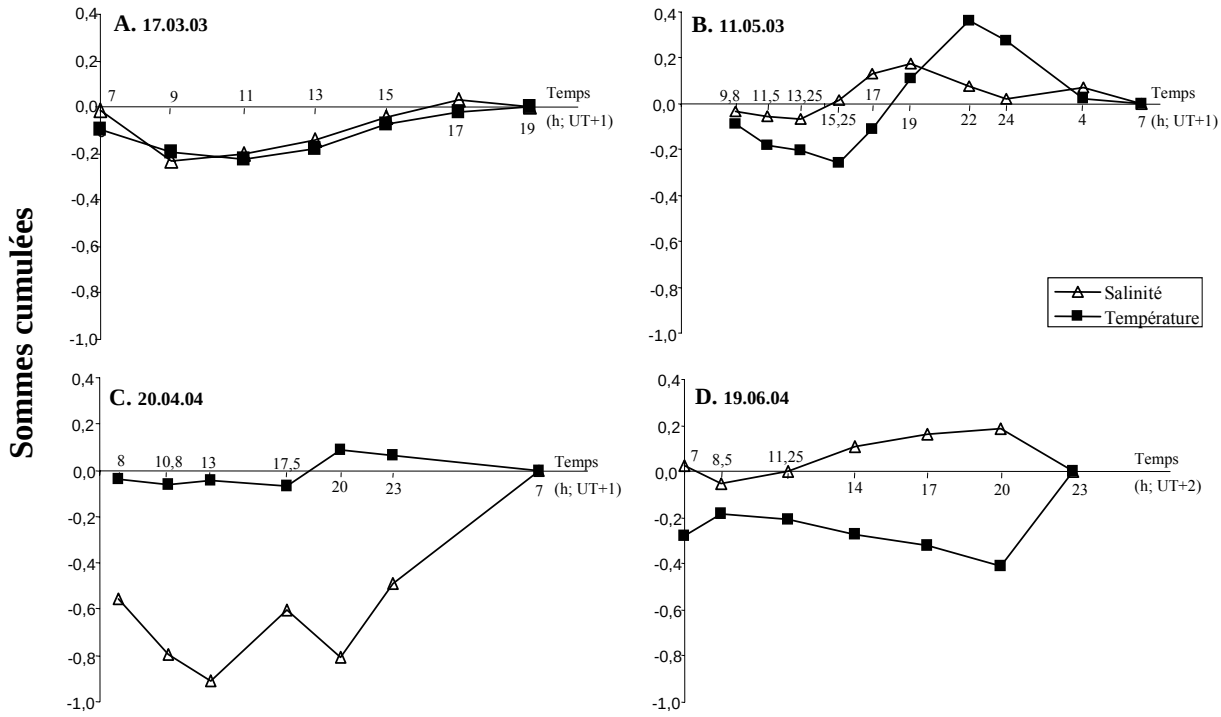


Figure II.33 : Représentation des sommes cumulées relatives aux paramètres hydrologiques (température, °C ; salinité) pour les différents suivis de masse d'eau. **A.** 17.03.03 ; **B.** 11.05.03; **C.** 20.04.04; **D.** 19.06.04.

La variabilité de salinité est en général très faible (< 0,4%) confirmant que notre suivi journalier s'effectue bien dans la même masse d'eau. Cependant, le 20 avril 2004, la variabilité plus importante (> 1%) peut être imputée à un changement de masse d'eau au cours de l'échantillonnage (dû à un phénomène d'advection), malgré l'emploi du même système dérivant au cours des différents suivis.

Ces observations sont confirmées par les courbes des sommes cumulées (Figure II.33). En effet, au cours du suivi du 20 avril 2004 (Figure II.33.C), même si la température de l'eau ne semble pas beaucoup fluctuer autour de la valeur moyenne journalière, plusieurs inversions de pente successives en salinité sont observées.

D'aussi fortes variations en salinité n'ont pas été observées au cours des autres suivis (Figures II.33A, B et D), confirmant qu'il n'y a pas eu de changement de masse d'eau.

Toutefois, le suivi du 11 mai 2003 est caractérisé par 3 tendances différentes en température (Figure II.33.B) correspondant à différentes périodes de la journée (entre 10 et 15h, pente négative ; de 15 à 22h, pente positive ; de 22h au matin suivant, pente négative). Puisque la tendance évolutive en salinité laisse supposer qu'il n'y a pas eu changement de masse d'eau significatif, ces variations en température peuvent être liées aux variations de rayonnement solaire qui est resté à des valeurs supérieures à 1000 µmol photon.m^{-2}.s^{-1} entre 12 et 16h00 au cours de ce suivi (F. Lizon, comm. pers.; cf. Tableau II.16).

Deux tendances différentes en température peuvent également être distinguées au cours du suivi du 19 juin 2004 (Figure II.33.D), correspondant respectivement aux périodes de 8 à 20h00 (pente négative révélant une succession de valeurs inférieures à la moyenne) et de 20 à 23h00 (pente positive). D'après la position très côtière de la bouée en fin de suivi (Figure II.30), il est possible que la même masse d'eau ait dérivé près de la côte provoquant ainsi une augmentation notable des températures.

III.2. Conditions chimiques et biologiques

III.2.1. Evolution journalière des concentrations en sels nutritifs

Les concentrations journalières en nitrates sont comprises entre 6,24 et 22,13 µM au cours des suivis des 17 mars 2003 et 16 février 2004. Elles restent inférieures à 0,42 µM en mai 2003 puis inférieures à la limite de détection en été 2003 (Tableau II.17). Sur une journée, elles montrent beaucoup moins de variabilité en hiver (17.03.03 et 16.02.04, CV = 12 et 20 %, respectivement) qu'au printemps (11.05.03, CV = 115% ; Tableau II.17), où elles peuvent représenter jusqu'à ~ 4 fois la moyenne journalière (Figure II.34). Le manque de données nocturnes le 17 mars 2003 ne nous permet pas de conclure à l'existence ou non d'un cycle journalier. Seules les données acquises le 11 mai 2003 mettent en évidence un cycle journalier, avec, d'une part, une augmentation significative des concentrations en NO_3^- jusqu'au début de la nuit (*i.e.* multiplication des concentrations par 4, pour atteindre 0,24 µM ; ANOVA[1], p = 0,025), et d'autre part, un déclin des concentrations jusqu'à la limite de détection au matin suivant (Figure II.34).

Tableau II.17 : Valeurs minimales (Min.) et maximales (Max.) et coefficient de variation journalier associé (CV, %) aux concentrations en nitrates (NO_3^-, µM), silicates [$Si(OH)_4$, µM) et phosphates (HPO_4^{2-}, µM) sur les différents suivis lagrangiens de 2003 et 2004 réalisés sur le site de Wimereux. *Remarques : le nombre d'échantillons varie entre 7 et 11 ; Les valeurs manquantes ne correspondent pas à une absence de prélèvements, mais à un problème technique.*

		NO_3^-		$Si(OH)_4$		HPO_4^{2-}	
		Min – Max	**CV (%)**	**Min – Max**	**CV (%)**	**Min – Max**	**CV (%)**
2003	**17.03**	6,24 – 8,55	12	0,83 – 3,84	65	0,24 – 0,72	43
	11.05	0 – 0,42	115	0 – 0,72	41	0 – 0,50	128
	07.07	0	x	0,81 – 1,70	22	0,49 – 0,50	0,70
2004	**16.02**	13,6 – 22,13	20	4,06 – 7,24	20	0,52 – 1,20	32

Les concentrations en silicates relevées lors des suivis lagrangiens sont comprises entre 0,83 et 7,24 µM au cours des suivis hivernaux (mars 2003 et février 2004), varient entre 0 et 0,72 µM le 11 mai 2003, et entre 0,75 et 1,56 µM lors du suivi estival (07 juillet 2003). Sur une journée, la variabilité des teneurs en $Si(OH)_4$ autour de la moyenne est faible aux périodes hivernale (CV = 20%) et estivale de 2004 (CV = 22%) comparée aux périodes hivernale et printanière de 2003 (CV = 65% et 41%, respectivement ; Tableau II.17 et Figure II.34). Aucun cycle journalier (ANOVA, p > 0,05) n'a pu être mis en évidence, et ceci quelle que soit la période échantillonnée (Figure II.34).

[1] Analyses statistique réalisée sur les suivis journaliers d'après Van Wambeke *et al.,* (2002).

Les concentrations en phosphates varient de 0,24 à 1,20 µM au cours des suivis hivernaux (mars 2003 et février 2004), de 0 à 0,50 µM lors du suivi printanier (11 mai 2003) et de 0,49 et 0,50 µM lors du suivi estival. La variabilité journalière la plus importante a été observée le 11 mai 2003 (CV = 128% ; Tableau II.17), où les teneurs en HPO_4^{2-} peuvent représenter jusqu'à ~ 4 fois la moyenne journalière (Figure II.34). Sur ce suivi, les concentrations en HPO_4^{2-} suivent le même cycle d'évolution journalier que les nitrates avec (i) des concentrations 4 fois plus importantes que la moyenne journalière (0,12 µM) au début de la nuit et une diminution d'un facteur 4 au matin suivant. (ANOVA, p = 0,02).

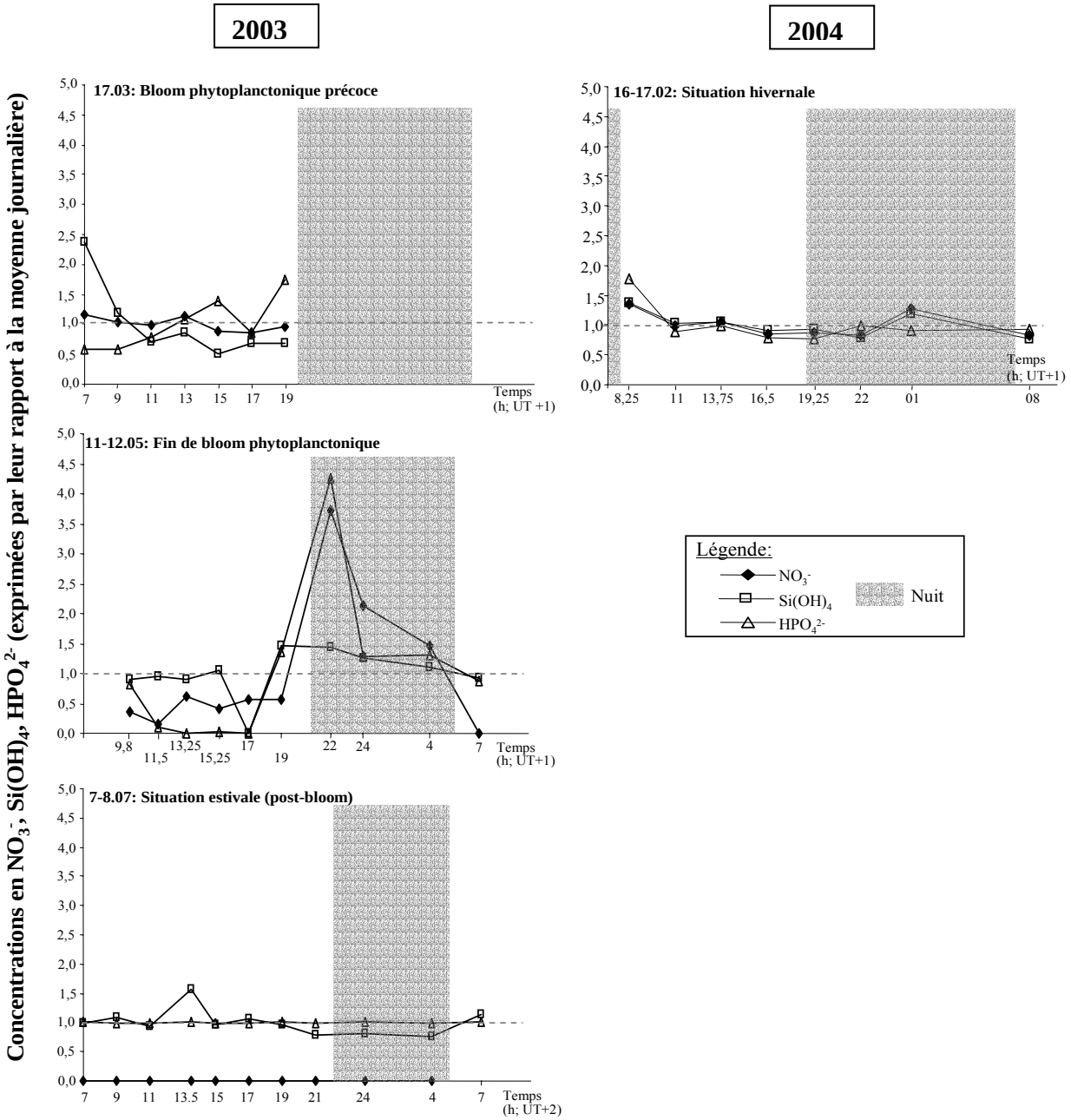


Figure II.34 : Suivi journalier des concentrations en sels nutritifs (Nitrates, NO_3^-, µM ; Silicates, $Si(OH)_4$, µM ; Phosphates, HPO_4^{2-}) exprimées par rapport à leur moyenne journalière, à différentes situations caractéristiques du bloom printanier en 2003 (gauche) et en hiver 2004 (droite).

III.2.2. Evolution journalière des concentrations en Chl-*a*

Les concentrations journalières en chlorophylle *a* relevées au cours des différents suivis lagrangiens (Tableau II.18) mettent en évidence les différentes périodes caractéristiques du bloom phytoplanctonique au cours des périodes hiver – été 2003 et 2004, décrites précédemment au chapitre II (§ II.2). Ces situations sont résumées en Figure II.35, accompagnées des valeurs mesurées au cours des différents suivis.

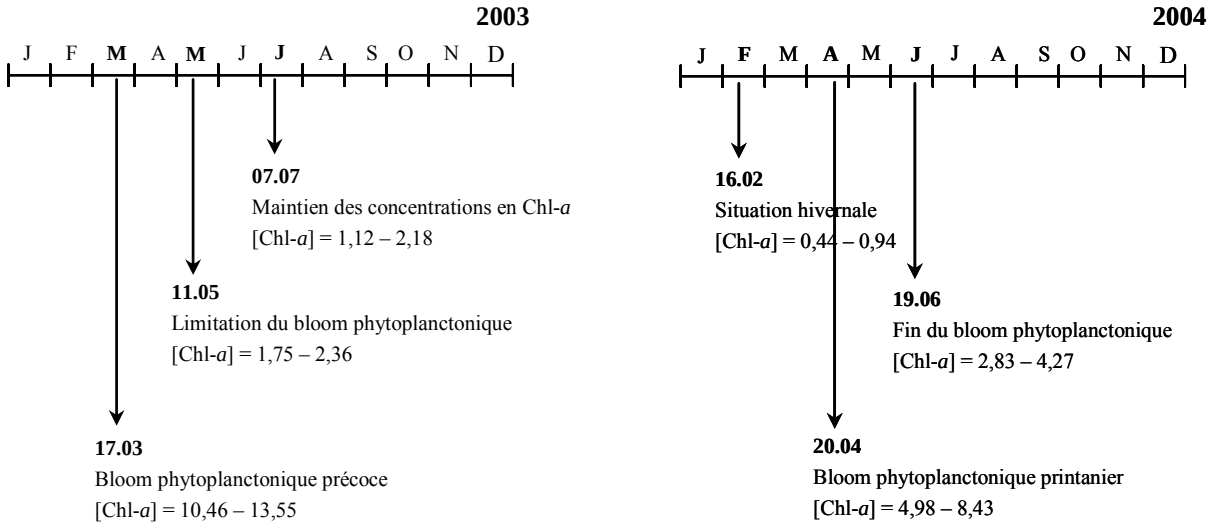


Figure II.35 : Concentrations en chlorophylle *a* (Chl-*a*, µg.L^{-1}) et dynamique du bloom phytoplanctonique associée au cours des suivis lagrangiens en 2003 et 2004.

Pour chaque période échantillonnée, l'évolution au cours de la journée du rapport de ces concentrations sur leur moyenne journalière est représentée (Figure II.36) afin de (i) montrer comment varient les concentrations en Chl-*a* au cours des différents suivis lagrangiens, et (ii) s'affranchir des différences d'unités entre les paramètres mesurés.

De plus, la représentation des périodes nocturnes (parties grisées) met en évidence des photopériodes de plus en plus longues entre le suivi de mars (12h, à l'échelle de l'ensemble de la journée) et celui de juillet (16h) 2003, et entre le suivi de février (11h) et juin 2004 (16h ; Figure II.36).

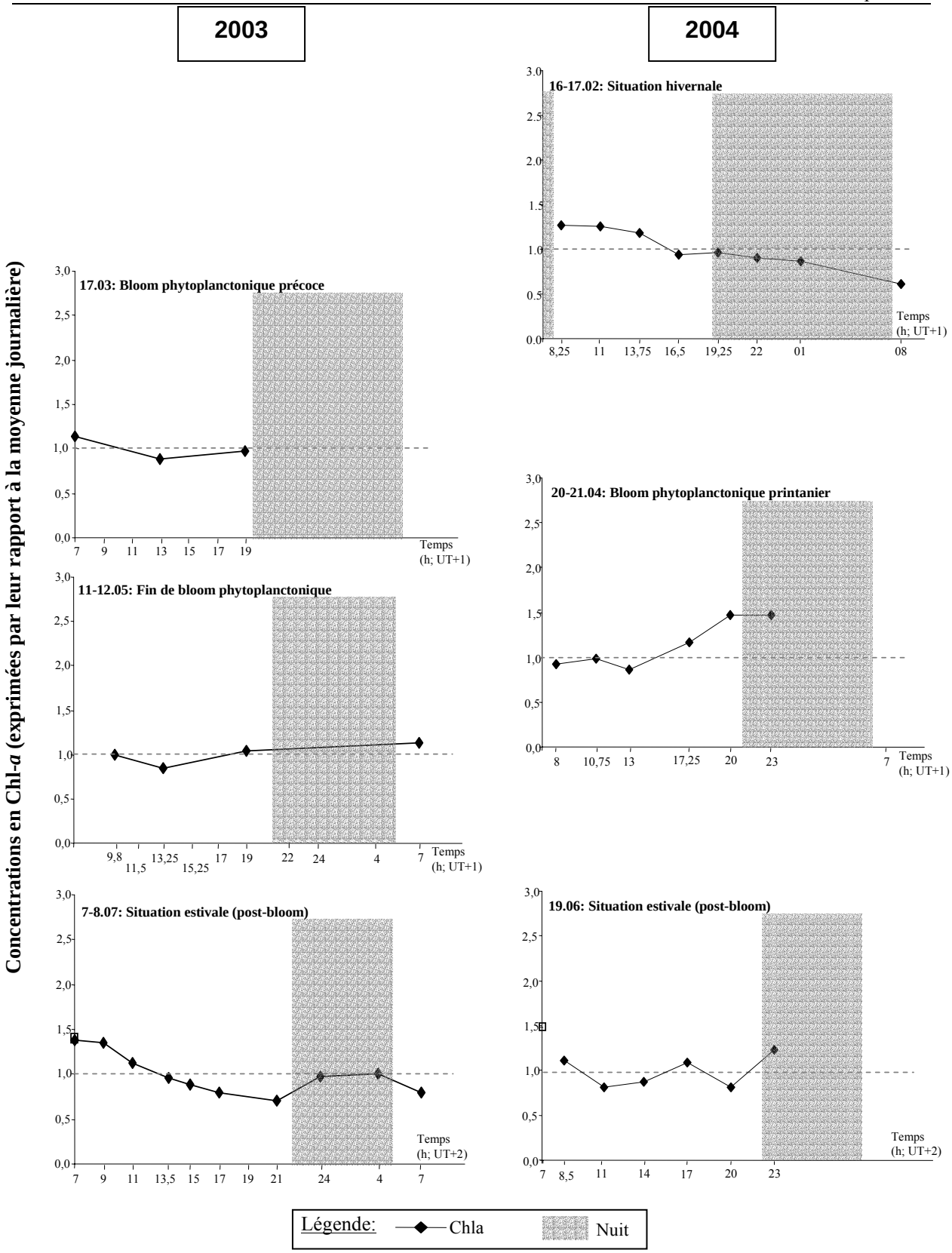


Figure II.36 : Suivi journalier des concentrations en Chl-*a* ($\mu g.L^{-1}$), exprimées par rapport à leur moyenne journalière, au cours des différentes situations caractéristiques du bloom printanier en 2003 (gauche) et 2004 (droite).

Les teneurs en chlorophylle *a* montrent de faibles variations intra journalières, avec une variabilité de l'ordre de 0,2 (les 17.03.03, 11.05.03 et 19.06.04) à 1,5 (les 07.07.03) fois la moyenne sur une journée (Figure II.36). L'analyse des coefficients de variation journaliers associés fait également état de cette faible variabilité des stocks phytoplanctoniques à l'échelle de la journée (CV = 12% le 11 mai 2003 ; 27% le 20 avril 2004 ; Tableau II.18).

Aucun cycle journalier d'évolution des concentrations en Chl-*a* n'a pu être mis en évidence (ANOVA, $p > 0,05$). Toutefois, les valeurs observées en mars et mai 2003 ne concernent que 3 et 4 points de la journée, respectivement, ce qui rend difficile l'interprétation de cette variabilité.

Tableau II.18 : Valeurs minimales (Min.) et maximales (Max.) et coefficients de variation journaliers associés (CV, %) des concentrations en chlorophylle *a* (Chl-*a*, µg.L^{-1}) sur les différents suivis lagrangiens en 2003 et 2004 sur le site de Wimereux. *Remarque : le nombre d'échantillons varie entre 3 et 11.*

		Chl-*a*	
		Min - Max	**CV (%)**
2003	**17.03**	10,46 – 13,55	13
	11.05	1,75 – 2,36	12
	07.07	1,12 – 2,18	23
2004	**16.02**	0,44 – 0,94	23
	20.04	4,98 – 8,43	27
	19.06	2,83 – 4,27	18

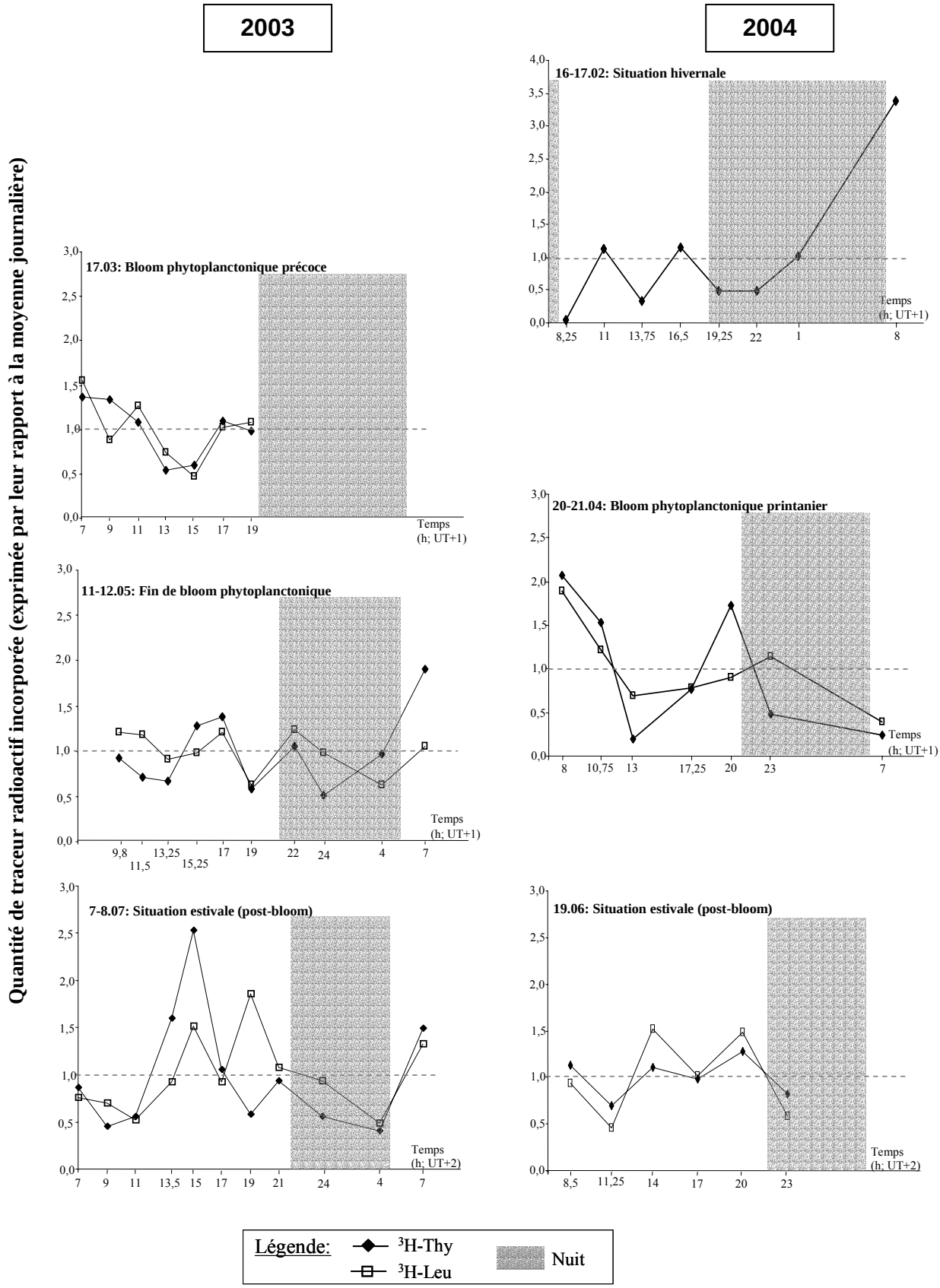


Figure II.37 : Suivi journalier de la production bactérienne (en quantité de traceur radioactif incorporé, ^{3}H-Thymidine, pmol ^{3}H-Thy .L^{-1}.h^{-1}, et ^{3}H-Leucine, pmol ^{3}H-Leu .L^{-1}.h^{-1}) exprimée par rapport à la moyenne journalière au cours des différentes situations caractéristiques du bloom printanier en 2003 (gauche) et en 2004 (droite). La production par incorporation de ^{3}H-Leucine n'a pas été estimée le 16.02.04 en raison de problèmes techniques.

III.2.3. Variabilité journalière de l'activité bactérienne

Les valeurs de production bactérienne exprimées en quantité de traceur incorporée (IT et IL pour ^{3}H-Thymidine et ^{3}H-Leucine, respectivement) montrent de fortes variations à l'échelle de la journée (Tableau II.19).

Tableau II.19 : Valeurs minimales (Min.) et maximales (Max.) des productions bactériennes exprimées en quantité de traceur incorporée (IT, pmol ^{3}H-Thy.L^{-1}.h^{-1} ; IL, pmol ^{3}H-Leu L^{-1}.h^{-1}) et coefficients de variation journaliers associés (CV, %) sur les différents suivis lagrangiens en 2003 et 2004 sur le site de Wimereux.

		Thymidine		Leucine	
		IT Min - Max	**CV (%)**	**IL Min - Max**	**CV (%)**
2003	**17.03**	11.63 – 29.05	33	371 – 1235	35
	11.05	6.34 – 23.44	43	256 – 500	22
	07.07	4.28 – 26.82	65	248 – 956	42
2004	**16.02**	0.10 – 8.99	104	x	x
	20.04	4.77 – 39.88	77	19 – 89	48
	19.06	27.52 – 50.80	21	101 – 334	44

Les mesures de production estimées par incorporation de ^{3}H-Thymidine (^{3}H-Thy) varient entre 0,10 et 9,00 pmol ^{3}H-Thy.L^{-1}.h^{-1} en période hivernale (CV = 104%, février 2004 ; Tableau II.19), et de 6,34 à 40,00 pmol ^{3}H-Thy.L^{-1}.h^{-1} en périodes de bloom phytoplanctonique (CV = 33 à 43% en mars et mai 2003, respectivement ; CV = 77% en avril 2004).

Les mesures de production estimées après incorporation de ^{3}H-Leucine (^{3}H-Leu) montrent des variations journalières globalement plus faibles que celles par incorporation de ^{3}H-Thy. Elles varient entre 19 (avril 2004, CV = 48%) et 500 (mai 2003, CV = 22%), voire 1235 pmol ^{3}H-Leu.L^{-1}.h^{-1} (mars 2003, CV = 35%) en périodes de bloom phytoplanctonique (Tableau II.19). En situation estivale, les taux d'incorporation en ^{3}H-Leu sont compris entre 248 et 956 pmol ^{3}H-Leu.L^{-1}.h^{-1} (juillet 2003, CV = 42%), et entre 101 et 334 pmol ^{3}H-Leu.L^{-1}.h^{-1} (juin 2004, CV = 44%).

L'évolution au cours de la journée du rapport des productions bactériennes (par ^{3}H-Thy et ^{3}H-Leu) sur leur moyenne journalière est représentée (Figure II.37) afin de (i) montrer comment varient les productions bactériennes au cours des différents suivis lagrangiens, et (ii) s'affranchir des différences de valeurs entre les deux productions mesurées.

De fortes variations autour de la moyenne journalière (comprise entre 10,6 pmol ^{3}H-Thy.L^{-1}.h^{-1} le 07.07.03 et 39,9 pmol ^{3}H-Thy.L^{-1}.h^{-1} le 19.06.04) sont observées pour les mesures de production bactérienne obtenues par incorporation en ^{3}H-Thy (Figure II.37). Pour les mesures obtenues après incorporation de ^{3}H-Leu, la même tendance journalière est observée (Figure II.37), pour des moyennes comprises entre 47 pmol ^{3}H-Thy.L^{-1}.h^{-1} (20.04.04) et 797 pmol ^{3}H-Thy.L^{-1}.h^{-1} (17.03.03). Le coefficient de variation journalier s'étend de 21 à 104% pour les mesures par incorporation de ^{3}H-Thy, et reste compris entre 22 et 48% pour celles par ^{3}H-Leu (Tableau II.19).

L'analyse statistique[2] révèle que les variations de production bactérienne (exprimées en µg.C.L^{-1}.h^{-1}) ne montrent pas de cycle journalier clair ou des différences jour / nuit significatives au cours des suivis réalisés en mai 2003, février 2004 et avril 2004 (ANOVA, $p > 0,05$).

Néanmoins, les productions matinales du 17 mars 2003 (moyennes de 1,2 µgC.L^{-1}.h^{-1} pour ^{3}H-Thy et 3,0 µgC.L^{-1}.h^{-1} pour ^{3}H-Leu) sont significativement plus importantes que celles estimées le reste de la journée (moyennes de 0,6 et 1,8 µg.C.L^{-1}.h^{-1}, respectivement ; ANOVA, $p < 0,001$; test *a posteriori*, $p < 0,005$).

Lors des deux suivis estivaux, les valeurs obtenues au maximum d'ensoleillement (moyennes de 0,6 et 2,3 µg.C.L^{-1}.h^{-1} en 2003, et de 1,8 et 1,0 µg.C.L^{-1}.h^{-1} en 2004, par ^{3}H-Thy et ^{3}H-Leu, respectivement) sont significativement supérieures aux valeurs nocturnes et matinales (0,4 et 1,2 µg.C.L^{-1}.h^{-1} en 2003 ; 0,6 et 0,3 µg.C.L^{-1}.h^{-1} en 2004, par ^{3}H-Thy et ^{3}H-Leu, respectivement ; ANOVA, $p < 0,005$; test *a posteriori*, $p < 0,05$).

[2] Les résultats des ANOVA et des tests *a posteriori* de recherche de moyenne singulière sont ceux obtenus sur les mesures estimées à la fois par incorporation de ^{3}H-Thymidine et par incorporation de ^{3}H-Leucine et exprimées en µgC.L^{-1}.h^{-1}).

III.2.4. Evolution journalière comparée des quantités de traceurs (^{3}H-Thy et ^{3}H-Leu) incorporées

Les quantités de traceur (^{3}H-Thy et ^{3}H-Leu) incorporées sur l'échelle journalière ne sont pas systématiquement corrélées. En effet, la corrélation (Spearman, ρ) entre les deux traceurs n'est significative qu'au cours des suivis de juillet 2003 ($\rho = 0,60$, $p < 0,05$) et avril 2004 ($\rho = 0,76$, $p < 0,05$). Toutefois, le schéma d'évolution général de l'activité bactérienne au cours des différentes journées échantillonnées est similaire pour les deux traceurs (Figure II.37). La variabilité journalière de l'incorporation de ^{3}H-Leu (CV journaliers compris entre 22 et 48%) est inférieure à celle de ^{3}H-Thy (21% < CV journaliers < 104%).

La variation journalière du rapport entre les quantités de traceur incorporées (exprimées en pmol.L^{-1}.h^{-1}) de ^{3}H-Leu et ^{3}H-Thy (^{3}H-Leu / ^{3}H-Thy), observée en 2003 et 2004 toutes saisons confondues (Figure II.38), met en évidence deux schémas d'évolution clairement différents d'une année à l'autre. En effet, les plus forts rapports sont observés au cours des suivis de 2003, avec une faible dispersion autour de la médiane quel que soit le moment de la journée ce qui traduit une faible variabilité (Figure II.38.A). Au contraire, en 2004, de faibles ratios sont observés, avec les plus fortes valeurs relevées à midi (médiane de 12,46), et une forte dispersion autour de la médiane (Figure II.38.B). Quelle que soit la période de la journée considérée, les ratios sont significativement plus élevés en 2003 qu'en 2004 (d'un facteur 3 à 10 ; Figure II.38).

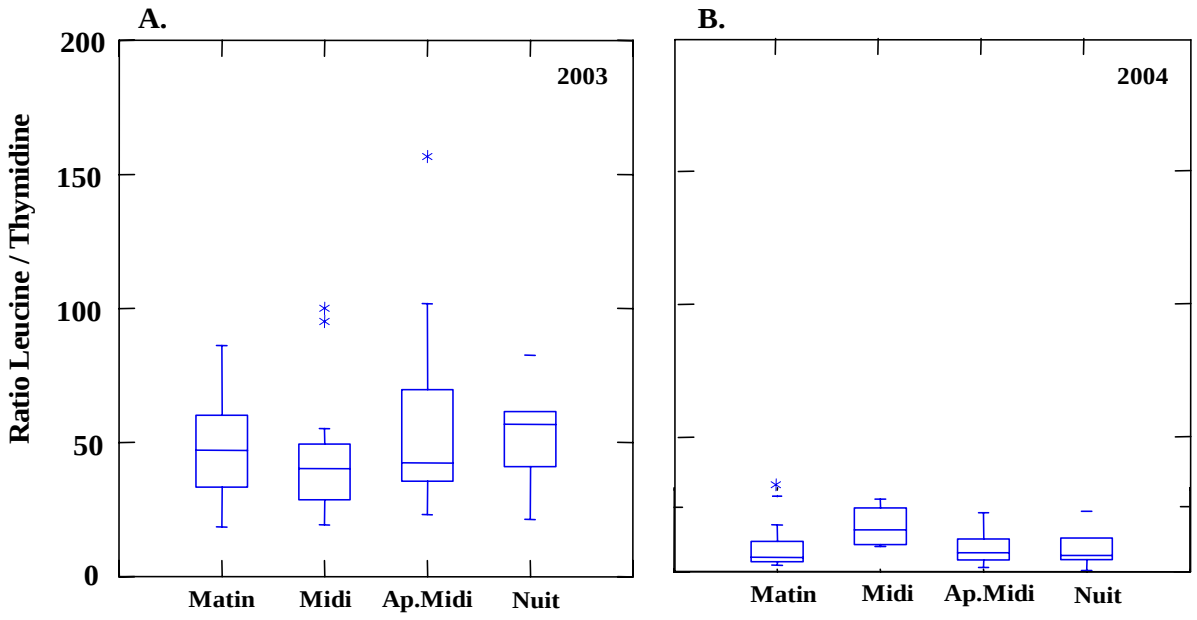


Figure II.38 : Box-Plot du ratio Leucine / Thymidine à différents moments de la journée (d'après Gasol *et al.*, 1998); données acquises en 2003 (**A**) et 2004 (**B**); sites de Wimereux et baie de Somme confondus.

IV. Relations entre les processus bactériens et les conditions hydro-biologiques

L'étude couplée de la variabilité journalière des paramètres hydro-biologiques et des processus bactériens sur la zone d'étude au cours de différentes situations caractéristiques des années 2003 et 2004 laisse supposer l'existence, non systématique, de cycles journaliers particuliers (§ I et II). Cependant, les cycles observés et vérifiés statistiquement par l'ANOVA ne peuvent expliquer à eux seuls la variabilité des réponses observées. Afin de déterminer de manière plus précise le rôle des paramètres environnementaux sur la variabilité journalière des processus bactériens, le coefficient de corrélation de Spearman (ρ) a été calculé pour chaque suivi, sur les données hydrologiques, biologiques et environnementales (intensité lumineuse essentiellement), susceptibles d'intervenir sur les activités bactériennes.

Différentes situations de couplage entre les deux mesures de production bactérienne (^{3}H-Thy et ^{3}H-Leu) sont mises en évidence. En effet, la corrélation est significative :

(i) en 2003 en été ($\rho = 0,60$; $p < 0,05$) et

(ii) en 2004 en période de bloom phytoplanctonique (21 avril 2004, $\rho = 0,79$; $p < 0,05$).

Au cours des périodes de bloom phytoplanctonique en 2003 (17 mars et 11 mai), et, en 2004, des périodes hivernales (16 février) et estivales (19 juin), les deux mesures de production bactérienne ne covarient pas ($p > 0,5$).

Par ailleurs, aucune corrélation positive et significative n'a été observée entre les mesures de production et les concentrations en Chl-*a*, d'une part, et les concentrations en sels nutritifs, d'autre part.

Malgré l'observation de productions bactériennes significativement supérieures au reste de la journée au moment du maximum d'ensoleillement (suivis estivaux ; Figure II.37 et § III.2.3), aucune corrélation significative n'est relevée entre les quantité de traceur incorporées (^{3}H-Thy et ^{3}H-Leu) et l'intensité lumineuse (PAR). La même observation est faite pour la corrélation Chl-*a* / PAR.

V. Discussion

Les fortes variabilités intra et inter journalières des paramètres hydro-biologiques et bactériens observées au cours des suivis lagrangiens ne peuvent être strictement imputées à la variabilité inter journalière des paramètres climatiques. En effet, peu de différences des conditions climatiques (vent, précipitations) ont été observées entre les différents suivis. Le contexte climatique de nos suivis journaliers peut alors être résumé de la façon suivante :

- des précipitations très faibles voire nulles,
- des vitesses moyennes de vent comparables sur tous les suivis et de faibles intensités,
- des photopériodes de plus en plus longues et des maxima d'intensité lumineuse de plus en plus élevés entre le suivi de mars et celui de juillet 2003, et entre le suivi de février et celui de juin 2004 (Tableau II.16, et Figures II.34 à II.37).

L'étude des relations trophiques planctoniques au cours d'un suivi lagrangien suppose un suivi d'une seule et même masse d'eau (*e.g.* Fuhrman *et al.*, 1985), caractérisée par un pool nutritif et une population bactérienne spécifiques *à priori* différents de ceux des masses d'eau contiguës. L'analyse des diagrammes T/S (Figure II. 32) et de la représentation en sommes cumulées des paramètres hydrologiques (température et salinité ; Figure II.33) nous permet de conclure qu'il n'y a pas eu de changement significatif de masse d'eau au cours des suivis lagrangiens, exception faite du 20 avril 2004. Ce changement de masse d'eau pourrait alors expliquer (i) les fortes variations journalières observées au cours de ce suivi (CV journalier compris entre 27 et 77% ; tous paramètres confondus) et (ii) l'absence d'un signal cyclique significatif, quel que soit le paramètre chimique ou biologique mesuré.

Par ailleurs, l'analyse des sommes cumulées (§ III.1) a permis d'évoquer une influence possible d'apports côtiers sur le suivi du 19 juin 2004, pouvant être à l'origine des maxima de production bactérienne enregistrés jusqu'à 1,5 fois la moyenne journalière (Figure II.37).

V.1. Production bactérienne par incorporation de ^{3}H-Thymidine et ^{3}H-Leucine : considérations méthodologiques et implications écologiques

S'il est clair que chacune des deux méthodes utilisées dans cette étude (incorporation de ^{3}H-Thy et ^{3}H-Leu) présente à la fois des avantages et des inconvénients dans leur application (Servais et Lavandier ; Kirchman, 2001), qu'en est-il au niveau de leur utilisation couplée ? Si la finalité des deux méthodes est identique, à savoir estimer la production bactérienne, elles diffèrent néanmoins dans leur définition *sensu stricto*. L'incorporation de leucine dans les protéines mesure directement un accroissement de matière protéique, soit une production de biomasse bactérienne (PBB, en $gC.L^{-1}.h^{-1}$), tandis que l'incorporation de thymidine est une estimation du taux de division cellulaire, soit d'une production de cellules bactériennes (PB, en $cell.L^{-1}.h^{-1}$; Kirchman, 2001). L'application des deux méthodes au cours de notre étude offre donc une approche complémentaire, plus précise et plus fine de l'estimation de la production bactérienne, à la fois qualitativement et quantitativement (Kirchman et Hoch, 1988). L'acquisition des deux estimations en parallèle se révèle d'autant plus riche en information dans le cas de croissance déséquilibrée des bactéries (stress environnemental, lié à une insuffisance en ressources nutritives ou au contraire lié à un apport massif en matière organique dans le milieu, comme par exemple à la suite d'un bloom phytoplanctonique). Les taux d'incorporation dans les différentes macromolécules (ADN, protéines) sont alors découplés, liés à des taux de synthèse d'ADN et de protéines découplés, donnant lieu à des taux de croissance différents et non covariants (Chin-Leo et Kirchman, 1988; Kirchman et Hoch, 1988). De même, de forts ratios ^{3}H-Leu / ^{3}H-Thy sont un indice d'une augmentation de biomasse bactérienne, sans synthèse concomitante d'ADN et donc sans production de cellules. L'étude des corrélations entre traceurs et des rapports ^{3}H-Leu / ^{3}H-Thy au cours des suivis journaliers permet alors de repérer les périodes de changement des conditions de croissance des bactéries en relation avec les conditions environnementales (Gasol *et al.,* 1998), à une échelle temporelle adaptée au compartiment bactérien.

Même si le patron général de l'activité bactérienne au cours des différentes journées échantillonnées est similaire pour les deux traceurs (Figure II.37), les taux d'incorporation de ^{3}H-Thy et ^{3}H-Leu ne sont pas systématiquement corrélés sur une échelle journalière. En effet, la corrélation (Spearman, ρ) entre les deux traceurs n'est significative qu'au cours des suivis de juillet 2003 ($\rho = 0,60$; $p < 0,05$) et avril 2004 ($\rho = 0,76$; $p < 0,05$). Par ailleurs, comme

précisé précédemment, la variabilité journalière de l'incorporation de ^{3}H-Leu (CV journaliers compris entre 22 et 48%) est inférieure à celle de ^{3}H-Thy (21% < CV journaliers < 104%). Certaines études antérieures font état d'une bonne corrélation entre traceurs (Kirchman et Hoch, 1988 ; Kirchman, 1992), mais de grandes différences entre les taux d'incorporation sont généralement observées (Chin-Leo et Kirchman, 1988, 1990 ; Torréton et Dufour, 1996 ; Gasol *et al.,* 1998 ; Ducklow *et al.,* 2002). Ce découplage journalier entre les taux d'incorporation de traceurs, et les forts ratios ^{3}H-Leu / ^{3}H-Thy observés au cours des suivis de 2003 (Figure II.38.A) suggèrent (i) des conditions journalières de croissance déséquilibrée des bactéries, vraisemblablement liées à des changements journaliers d'apports en MO (*i.e.* issus de l'excrétion et de la lyse phytoplanctoniques, broutage zooplanctonique) et (ii) une synthèse de protéines (production de biomasse) prédominante dans la croissance bactérienne en 2003. Chin-Leo et Kirchman (1990) associent en effet la croissance déséquilibrée des assemblages bactériens aux variations journalières de la production primaire phytoplanctonique et du broutage zooplanctonique. A l'inverse, les plus faibles ratios ^{3}H-Leu / ^{3}H-Thy observés toutes saisons confondues en 2004 (Figure II.38.B) font état de synthèses protéiques et d'ADN concomitantes pour les populations bactériennes, qui montrent alors des conditions de croissance davantage équilibrées qu'en 2003.

V.2. Dynamique journalière de l'activité bactérienne

Les productions bactériennes mesurées au cours des suivis à court terme sont conformes aux résultats des échelles précédentes, pour des périodes similaires. Ces données ont été comparées à des données de la littérature, et les différences observées ont été discutées dans le Chapitre II, section Discussion, § V.3.1.

Certains auteurs ont mis l'accent sur l'existence d'une variabilité importante de la production bactérienne au sein de la journée, et ont avancé l'existence d'un cycle diurne et nocturne comparable à celui des productions primaires phytoplanctoniques (Hagström et Larsson, 1984 ; Gasol *et al.,* 1998, 2005). Nos mesures, répétées toutes les 2 à 3h en suivi lagrangien, montrent effectivement une variabilité intra journalière de l'activité bactérienne, mais sans que puisse être établi systématiquement un cycle quelconque. Aucun cycle journalier caractéristique n'a été observé les 11 mai 2003, 16 février et 20 avril 2004, vraisemblablement en raison d'une durée de suivi (de 12 à 24h) trop courte pour pouvoir

mettre en évidence un cycle particulier. Néanmoins, nos résultats font état de productions matinales pouvant parfois représenter la moitié à plus du double de la moyenne journalière (suivi du 17 mars 2003). De plus, certains suivis montrent des productions en milieu de journée (au maximum d'ensoleillement) significativement supérieures aux valeurs nocturnes et matinales (Figure II.37).

Nos résultats ne sont pas surprenants, puisque plusieurs études en systèmes marins côtiers font état de tels maxima journaliers en production bactérienne, mesurée par incorporation de thymidine et/ou leucine (Fuhrman *et al.,* 1985 ; Zweifel *et al.,* 1993 ; Christaki *et al.,* 1998 ; Gasol *et al.,* 1998 ; Barbosa *et al.,* 2001). Riemann et Søndergaard (1984), à partir de mesures horaires de production bactérienne dans les lacs et fjords danois, ont constaté que les estimations à un moment donné de la journée pouvaient représenter entre 23 et 194% de la moyenne journalière, ce qui correspond à la variabilité que nous avons observée. Christaki *et al.* (1998), en Mer Méditerranée, n'ont pas non plus mis en évidence des cycles journaliers marqués ou de grandes différences jour / nuit, et font état de productions bactériennes (par incorporation de ^{3}H-Thymidine) matinales ~ 2 fois plus élevées que la moyenne journalière. Sur le même site, Gasol *et al.* (1998) ont observé également des valeurs matinales maximales en production bactérienne (par incorporation de ^{3}H-Thymidine et ^{3}H-Leucine) par rapport au reste de la journée, et des valeurs ponctuellement fortes, représentant plus de 4 fois la moyenne journalière. De même, Van Wambeke *et al.* (2002) font état, sur la même zone d'étude, de variations journalières en production bactérienne (par incorporation de ^{3}H-Leucine) comprises entre 15 et 35% de la moyenne journalière. Barbosa *et al.* (2001) ont relevé, en système côtier au niveau de la péninsule ibérique, des variations journalières d'un facteur 3,5 en production bactérienne (par incorporation de ^{14}C-Leucine).

Ces résultats impliquent des changements très rapides du fonctionnement journalier du réseau trophique planctonique, et permet d'observer des situations de « transitions trophiques » où deux types de systèmes successifs peuvent coexister au cours de la même journée. En effet, les moments ponctuels de fortes productions bactériennes suggèrent, pour ces périodes, un fonctionnement accru de la boucle microbienne, réduisant le rendement global du réseau trophique planctonique. Au contraire, les périodes de plus faibles productions bactériennes suggèrent un rendement plus important du réseau planctonique, où le fonctionnement de la boucle microbienne serait moins important. Toutefois, l'absence d'estimation des abondances bactériennes au cours des suivis journaliers, ainsi que la détermination du taux de broutage bactérien au cours de la journée ne nous permet pas de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse. Néanmoins, nos résultats suggèrent que coexistent au sein d'une même journée

une boucle microbienne et une chaîne trophique « plus classique » (phytoplancton – zooplancton).

Le chapitre III de cette étude a permis de souligner, qu'à une échelle saisonnière d'observation, la disponibilité en matière organique (MO), notamment celle d'origine phytoplanctonique, et la pression de prédation sur les bactéries peuvent exercer un contrôle sur les niveaux de production bactérienne. De même, les fortes variations intra journalières et les éventuels cycles journaliers sont à analyser en relation avec les couplages nutriments et MO / activité bactérienne / prédation (bactérienne et phytoplanctonique), même si ce dernier paramètre n'a pas été mesuré dans cette étude.

Les productions bactériennes matinales significativement supérieures à celles du reste de la journée observées au cour d'un de nos suivis journaliers (17 mars 2003) pourraient être expliquées par une excrétion phytoplanctonique importante de molécules de faible poids moléculaire (Riemann et Søndergaard, 1984 ; Gasol *et al.,* 2005) en fin de journée quand la production de carbohydrates accumulée par la photosynthèse peut dépasser les besoins cellulaires (pour la croissance) et les capacités de stockages des cellules phytoplanctoniques. Par ailleurs, cette évolution journalière peut être liée à l'activité de broutage nocturne du phytoplancton par le zooplancton (*i.e.* liée aux migrations nycthémérales des copépodes, voir Haney, 1988 pour une revue sur le sujet), les bactéries profitant du « sloppy-feeding » et d'apports ponctuels en nutriments (Lampert, 1978 ; Jumars *et al.,* 1989 ; Strom *et al.,* 1997 ; Christaki *et al.,* 1998). Le suivi journalier du 17 mars 2003, en période de bloom phytoplanctonique précoce de *P. globosa*, fait donc état de couplages direct (excrétion) et indirect (lié aux activités de broutage) entre bactéries et phytoplancton.

Au cours des deux suivis estivaux, qui bénéficient des plus longues photopériodes et des maxima journaliers de lumière les plus forts, les productions bactériennes relevées au maximum d'ensoleillement sont supérieures à celles relevées le matin et la nuit. Etant donné les faibles variations intra journalières observées pour les stocks phytoplanctoniques et les concentrations en nutriments au cours de ces suivis, la production primaire instantanée peut être directement liée aux quantités de lumière mesurées. Dans ce cas, les productions bactériennes des suivis estivaux suivraient alors le cycle jour / nuit des productions phytoplanctoniques (Sournia, 1974), suggérant un étroit couplage entre les deux composantes microplanctoniques.

L'analyse des autres suivis journaliers (11 mai 2003, 16 février et 20 avril 2004) ne met pas en évidence un cycle caractéristique des productions bactériennes. Dans ce cas, le transfert direct de carbone autotrophe vers les bactéries peut exister, mais il n'est pas clairement apparent, et ne serait pas déterminant pour l'activité bactérienne journalière. Ce transfert direct peut en effet être masqué par l'utilisation par les bactéries d'autres substrats provenant d'autres processus, comme la sénescence et la lyse algales (Ducklow *et al.,* 1995 ; Carlson et al., 1996), incluant la lyse virale (Baines et Pace, 1991) et/ou le broutage phytoplanctonique (Lampert, 1978 ; Jumars *et al.,* 1989 ; Strom *et al.,* 1997 ; Christaki *et al.,* 1998), évoqués précédemment. Par ailleurs, la variation intra journalière des productions bactériennes pourrait être la résultante d'une variation journalière de la pression de prédation sur les bactéries, due aux migrations verticales de certains bactérivores (*e.g.* dinoflagellés, Porter, 1988 ; Gasol *et al.,* 2005). Là encore, il faudrait estimer les abondances bactériennes au cours des suivis journaliers, tout comme les taux de broutage bactérien pour pouvoir confirmer ou infirmer cette hypothèse.

CONCLUSIONS

De par ses caractéristiques hydro-biologiques, la Manche orientale est un écosystème caractéristique des milieux côtiers tempérés. L'approche écosystémique développée ici a permis de caractériser l'hétérogénéité spatiale et la variabilité temporelle du compartiment bactérien en Manche orientale, sur différentes échelles d'observation, et de proposer une explication de cette hétérogénéité et cette variabilité au regard des changements des paramètres biotiques et abiotiques. Les trois échelles choisies étant imbriquées, elles font apparaître des éléments communs dans la dynamique bactérienne (*e.g.* tendance saisonnière caractérisée à la fois dans la comparaison inter - annuelle et dans l'analyse temporelle à plus haute fréquence en 2004). Cependant, un schéma d'évolution propre à chaque échelle d'observation a pu être mis en évidence.

L'**échelle d'observation inter annuelle**, bien que ne correspondant qu'à deux années successives (2003/04), a fait apparaître de fortes différences dans l'évolution des paramètres climatiques, hydrologiques et chimiques. Ces différences conditionnent à la fois l'évolution temporelle des biomasses phytoplanctoniques (concentrations en chlorophylle *a*) et par conséquent celle des abondances et des productions bactériennes.
Cette première étape de travail a permis :

(i) de caractériser et de définir les conditions hydrologiques, chimiques et biologiques (concentrations en chlorophylle *a*) susceptibles de contrôler la dynamique bactérienne, sur deux années et deux sites en Manche orientale (Wimereux et baie de Somme),

(ii) d'identifier et de caractériser les périodes-clé du bloom de *P. globosa*, sur deux années très différentes, et

(iii) d'appréhender, dans ce contexte global, l'importance (abondance, biomasse) et la dynamique (production) bactériennes.

Les conditions climatiques et nutritives particulières rencontrées au cours des années 2003 et 2004 sont apparues responsables de la variabilité inter annuelle observée.
Les périodes hivernales 2003 et 2004 sont caractérisées par des forçages climatiques (*i.e.* ensoleillement, pluviométrie) et des conditions nutritives significativement différents, jouant un rôle prépondérant dans la compétition *P. globosa* / diatomées, et conduisant ainsi à des

fenêtres temporelles d'apparition des deux algues différentes. L'année 2003 est en effet caractérisée par un bloom précoce de *P. globosa* (mars/avril 2003) par rapport à sa période habituelle d'apparition, tandis que les Diatomées dominent les communautés phytoplanctoniques en hiver 2004, avant le bloom printanier (avril/mai 2004) de *P. globosa*. Au cours des périodes printanières et estivales 2003 et 2004, les différences inter annuelles relèvent (i) d'un décalage temporel dans la succession des espèces algales, et (ii) d'une variabilité propre aux communautés phytoplanctoniques, dont la structure est différente d'une année à l'autre.

L'analyse du contexte phytoplanctonique en 2003 et 2004, en relation avec les conditions hydrologiques et chimiques, a permis de définir un cadre spatio-temporel à chaque période étudiée pour l'étude de la dynamique bactérienne.
Ces deux années d'étude sont caractérisées par une période de bloom bactérien, mais dont la période d'apparition, fonction de la dynamique phytoplanctonique, varie d'une année à l'autre et traduit ainsi un fonctionnement différent du réseau trophique microplanctonique.

- l'année **2003** fait état d'un décalage des blooms phytoplanctonique (mars) et bactérien (mai), suggérant le passage de l'écosystème microplanctonique d'un statut autotrophe à hétérotrophe. Dans ce contexte, le transfert de carbone autotrophe vers les bactéries se fait de manière indirecte, *i.e.* à travers la sénescence, la lyse et/ou le broutage du phytoplancton. Le maintien d'une production de régénération bactérienne serait ainsi assuré à son maximum en situation de post-bloom de *P. globosa*.
- au cours de l'année **2004**, blooms bactérien et phytoplanctonique semblent simultanés (avril) et traduisent un transfert direct des ressources phytoplanctoniques vers le compartiment bactérien. Le fonctionnement du réseau trophique microplanctonique serait donc à forte production autotrophe et hétérotrophe soutenant à la fois les réseaux trophiques microbien et herbivore (phytoplancton – zooplancton). Néanmoins, cela n'exclut pas une utilisation indirecte des matières organiques d'origine phytoplanctonique en situation de post-bloom de *P. globosa*.

Par ailleurs, cette étude menée principalement sur deux sites contrastés de la Manche orientale a souligné le lien étroit qui existe d'un point de vue spatial entre les paramètres biologiques et les conditions hydrologiques (apports fluviatiles) et nutritives du milieu.

Toutefois, si l'approche globalisée réalisée a permis d'extraire des fonctionnements types du réseau trophique microplanctonique sur deux sites contrastés et à des périodes clefs du développement phytoplanctonique, il s'est avéré nécessaire de compléter notre approche du compartiment bactérien en étudiant la dynamique bactérienne sur une échelle (saisonnière) et à une fréquence d'échantillonnage (bi-hebdomadaire à hebdomadaire) plus fines. Ceci a été réalisé sur le site de Wimereux au sein duquel les gradients hydrologiques moins marqués qu'en baie de Somme ont permis l'acquisition d'un signal saisonnier plus clair. De plus, un échantillonnage de la période automnale, non réalisé à l'échelle 1, a permis de prendre en compte la floraison phytoplanctonique secondaire de *P. globosa*.

L'étude selon l'**échelle d'observation saisonnière** a nécessité au préalable de définir les conditions hydro-biologiques de la zone, afin d'effectuer notre suivi dans des sous-zones hydrologiquement bien définies :

- la zone littorale, représentant une interface entre la côte et la Manche orientale, et où se concentrent les apports de matières organiques et d'éléments nutritifs. En effet, cette zone peu profonde (< 10 m), subit directement les apports fluviatiles maintenus dans le « fleuve côtier », qui sont augmentés d'apports d'origine benthique (remise en suspension et reminéralisation d'éléments nutritifs). Ils permettent ainsi l'établissement d'un gradient côte/large des conditions chimiques et biologiques ;
- la zone côtière, correspondant au « fleuve côtier », représente une zone intermédiaire entre les zones littorale et frontale, et est caractérisée par des paramètres chimiques et biologiques dont les niveaux sont plus élevés qu'au large ;
- la zone frontale, qui concentre, à certaines périodes de l'année, de fortes teneurs en sels nutritifs, chlorophylle *a* et COD ;
- la zone du large, où le développement phytoplanctonique et par conséquent le développement bactérien sont plus limités.

Cette étude saisonnière a également permis de mettre en évidence une évolution saisonnière des paramètres de contrôle potentiels de la dynamique bactérienne, pouvant alors expliquer la forte saisonnalité observée des abondances et des productions. En effet, cette étude nous a permis d'émettre des hypothèses quant à une diversification de facteurs de contrôle bactérien « saisons-dépendants ».

(i) La période hivernale fait état de faibles niveaux d'abondance et de production bactériennes, principalement contrôlées par la température.

(ii) La période printanière est caractérisée par un bloom bactérien concomitant au bloom phytoplanctonique. La dynamique bactérienne serait alors essentiellement régulée par la disponibilité de la ressource (« bottom-up » control). Ainsi, simultanément à l'efflorescence algale de *P. globosa*, au cours du printemps 2004, une part importante des matières organiques d'origine phytoplanctonique, issues directement de l'excrétion ou indirectement de la lyse des cellules algales, serait utilisée par les bactéries.

(iii) La période printano-estivale est caractérisée par des productions bactériennes maximales, et des abondances bactériennes élevées, essentiellement contrôlées par la sélection de prédation (« top-down » control).

(iv) La période automnale montre des abondances et des productions bactériennes élevées, stimulées à la fois par des apports autochtones (floraison automnale) et allochtones (*e.g.* apports fluviatiles conditionnés par les fortes pluies).

Cette forte variabilité temporelle du compartiment, observée sur une échelle saisonnière, nous est apparue susceptible de s'exprimer sur une échelle à plus court terme, en accord avec les temps de génération bactérienne (*e.g.* échelle journalière, horaire). De plus, le site de Wimereux est apparu comme représentatif d'un gradient côte/large marqué, dont nous avons cherché à nous affranchir.

Au cours de l'étude à **l'échelle d'observation journalière**, l'application de deux méthodes de mesure de la production bactérienne (par incorporations indépendantes de ^{3}H-Thymidine et ^{3}H-Leucine) nous a permis une approche complémentaire, plus précise et plus fine de l'estimation des processus bactériens, à la fois qualitativement et quantitativement.

L'étude réalisée à l'échelle journalière a également permis de vérifier, en s'affranchissant du gradient côte/large par un suivi de masse d'eau en stratégie lagrangienne, que la variabilité des processus bactériens n'était pas seulement le fait des facteurs hydrologiques (gradient thermo-halin). D'autres facteurs, principalement liés à la ressource trophique des bactéries, sont aussi susceptibles d'expliquer à eux seuls la variabilité à court terme des processus

bactériens. De plus, l'implication de ressources nutritives de diverses origines, autres que celles issues de la production phytoplanctonique locale (*e.g.* origines fluviatile, allochtone, « sloppy-feeding »), (i) est apparue comme prépondérante pour expliquer la variabilité journalière des productions bactériennes et (ii) a pu masquer d'éventuels cycles journaliers bactériens en relation directe avec le cycle jour/nuit phytoplanctonique.

Par ailleurs, les fortes variations des processus bactériens à l'échelle de la journée et au sein d'une même masse d'eau de surface, impliquent des changements du fonctionnement du réseau trophique microplanctonique sur ces mêmes échelles. En effet, des situations de « transitions trophiques » au sein d'une même journée ont été identifiées. Nos résultats suggèrent en effet que coexistent, sur cette échelle d'observation, une boucle microbienne et une chaîne trophique plus « classique » (phytoplancton – zooplancton).

Si cette approche hiérarchisée de l'écosystème Manche orientale a permis de mettre clairement en évidence que l'environnement agit sur le compartiment bactérien, celui-ci agit en retour et participe pleinement au fonctionnement de l'écosystème. Il apparaît alors nécessaire d'étudier en détails le rôle du compartiment bactérien au sein de l'écosystème planctonique en se focalisant sur la relation trophique qui peut lier les producteurs primaires aux bactéries.

Le travail de suivi a souligné la difficulté d'attribuer un signal de fortes production et productivité à un stock total de cellules bactériennes, comprenant à la fois des cellules mortes, dormantes et actives. De plus, si les cellules bactériennes semblent utiliser, directement ou indirectement, les ressources trophiques issues du bloom de *P. globosa*, il est difficile, à la lumière de nos premiers résultats, de préciser si la croissance bactérienne est étroitement liée au développement de cette micro-algue.

Les résultats obtenus et les hypothèses émises à partir de cette approche à multi-échelle de l'écosystème Manche orientale doivent donc être complétés et/ou confirmés par l'application d'outils microbiens spécifiques, permettant :

- d'estimer la fraction cellulaire bactérienne participant réellement aux processus bactériens mesurés ;

- de mesurer l'importance du couplage phytoplancton/bactérioplancton pendant les phases clefs du calendrier phytoplanctonique.

Ces deux éléments font l'objet de la troisième partie du manuscrit.

Partie III

… A L'APPLICATION D'OUTILS MICROBIENS SPECIFIQUES

Couplage bactéries / phytoplancton (*P. globosa)* :
Evolution de la viabilité bactérienne
et des activités exo-enzymatiques.

INTRODUCTION

I. Problématique

La seconde partie de cette étude a souligné l'importante variabilité spatio-temporelle du compartiment bactérien en réponse aux forçages environnementaux et précisé les facteurs possibles de contrôle de cette variabilité. Parmi ces facteurs, la température mais aussi la disponibilité en matière organique d'origine phytoplanctonique (bloom de *P. globosa*) sont apparues comme déterminantes dans l'évolution de la dynamique bactérienne sur les sites étudiés en Manche orientale.

Dans le cadre d'une étude intégrée des écosystèmes côtiers, connaître les réponses des compartiments biologiques à des perturbations environnementales (naturelles et/ou anthropiques) revêt une importance toute particulière, dès lors que ces réponses biologiques permettent d'anticiper les réactions d'un milieu donné à des stress environnementaux, comme par exemple l'augmentation des concentrations en matière organique (MO) due à un enrichissement du milieu par des apports directs ou via la stimulation de la production autochtone. En effet, de par leur localisation à l'interface continent/océan/atmosphère, les écosystèmes côtiers sont le siège de grandes fluctuations de concentrations en MO qu'elle soit autochtone ou allochtone. Le cycle de la MO dans ce type d'environnement est complexe du fait de la variété des formes sous laquelle elle peut exister. Ainsi, si la MO allochtone correspond essentiellement aux composés organiques et inorganiques issus des apports telluriques (incluant les apports anthropiques), la MO autochtone rassemble majoritairement les matières organiques dissoutes (MOD) provenant de l'excrétion photosynthétique. A ce titre, près de 50% de la production photosynthétique journalière sont apportés au système sous forme de MOD (Ducklow et Carlson, 1992), et jusqu'à 80% en période de prolifération phytoplanctonique (Larsson et Hagström, 1982 ; Myklestad *et al.,* 1995 ; Biddanda et Benner, 1997). S'y ajoutent les matières organiques dissoutes et particulaires (MOP) issues des processus (i) de lyses cellulaires et/ou virales, (ii) de broutage par les protozoaires et les métazoaires et (iii) métaboliques de ces organismes (excrétion, égestion ; Nagata, 2000).

L'ensemble de ce matériel organique et inorganique sera alors soit exporté vers le système benthique et/ou l'océan ouvert, soit intégré dans les voies hétérotrophes de dégradation et/ou de minéralisation. En tant que principaux décomposeurs et utilisateurs du pool de MOD et de MOP, les bactéries contrôlent l'essentiel des transformations de MO et jouent un rôle déterminant dans son devenir. Elles peuvent, à ce titre, être considérées comme facteur de contrôle du cycle de la matière et de l'énergie (Cho et Azam, 1988 ; Azam, 1998).

Afin de mieux comprendre les flux de matière et d'énergie au sein du compartiment microbien de l'écosystème côtier Manche orientale, il s'est avéré nécessaire d'articuler une action de recherche ciblée sur le compartiment bactérien en deux étapes :

(i) déterminer la dynamique propre de la fraction des stocks bactériens réellement responsable de l'activité totale de la communauté, par le biais de techniques de marquages spécifiques,

(ii) estimer cette activité, en termes de dégradation bactérienne de la MO, par le biais de mesures exo-enzymatiques.

II. Viabilité bactérienne

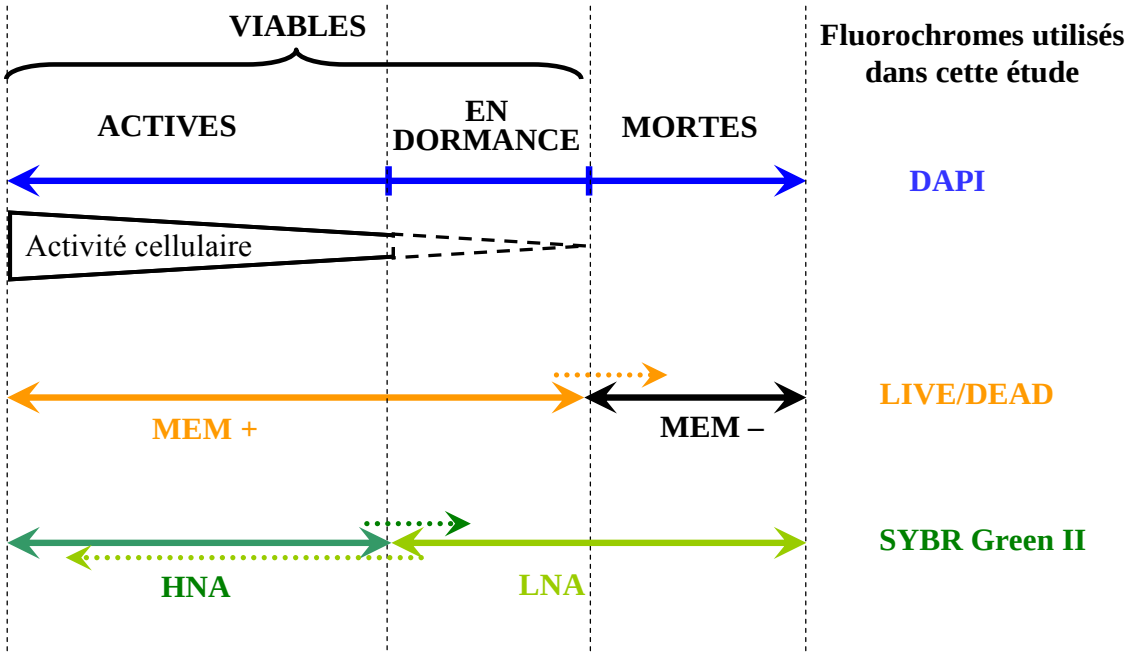
II.1. Etat de l'art

Durant plusieurs décennies, la plupart des méthodes développées par les écologistes microbiens pour évaluer biomasse et activité bactériennes ne permettaient pas une différenciation rapide et précise des différents niveaux d'activité métabolique au sein d'une communauté bactérienne, et se référaient alors à un ensemble de cellules bactériennes d'activité moyenne participant à l'activité globale de la communauté. Plus récemment, le développement de nouvelles technologies a permis de faire la distinction, au sein de cette population totale, entre les cellules actives et potentiellement actives (cellules viables), et les cellules mortes (Zweifel et Hagström, 1995), en dormance et/ou en état de survie (Choi *et al.,* 1996). Ainsi, une des préoccupations actuelles en écologie microbienne aquatique est de discriminer et quantifier les fractions cellulaires active et inactive du pool bactérien, c'est-à-dire quantifier la part bactérienne qui participe réellement à l'activité de la boucle microbienne (Barer et Harwood, 1999 ; Nebe-von Caron *et al.,* 2000 ; Servais *et al.,* 2001 ; Grégori *et al.,* 2001, 2003 ; Schumann *et al.,* 2003 ; Biggerstaff *et al.,* 2006).

Déterminer si une cellule bactérienne est active ou inactive a été un vaste sujet de débat au cours des dix dernières années (Karner et Fuhrman, 1997 ; Lebaron *et al.,* 1998 ; Choi *et al.,* 1999 ; Ullrich *et al.,* 1999 ; Créach *et al.,* 2003 ; Smith et del Giorgio, 2003). Cette controverse est principalement liée aux nombreuses méthodes depuis développées, et destinées à déterminer et quantifier la fraction cellulaire active (Barer et Harwood, 1999 ; Joux et Lebaron, 2000 ; Vives-Rego *et al.,* 2000 ; Keer et Birch, 2003 : Gruden *et al.,* 2004).

Au sein d'une population donnée, il existe au moins 3 catégories de cellules susceptibles de jouer un rôle écologique (Figure III.1) :

- les cellules actives en croissance qui participent à la production de biomasse bactérienne,
- les cellules viables mais inactives (en dormance) qui ne participent pas à la production bactérienne au moment du prélèvement mais qui ont une activité potentielle,
- les cellules mortes donc inactives qui peuvent être considérées comme de simples particules organiques.



Légendes:

MEM + = cellules dont la membrane est intacte

MEM - = cellules qui ont perdu leur intégrité membranaire

HNA = cellules à haut contenu en acides nucléiques

LNA = cellules à faible contenu en acides nucléiques

⋯➤ Nuances dans la discrimination des différentes fractions selon les fluorochromes utilisés (explications et références dans le texte)

Figure III.1 : Représentation schématique des différentes fractions cellulaires mesurées en fonction des méthodes de marquage utilisées. Les proportions représentées ici pour chaque fraction n'est qu'indicative, et peut varier dans le temps et l'espace.

Bien qu'il n'existe aucune méthode universelle ni aucun critère unique de discrimination entre ces trois catégories de cellules (Gasol *et al.,* 1999 ; Joux et Lebaron, 2000 ; Créach *et al.,* 2003), deux méthodes (LIVE/DEAD® et SybrGreen II®) ont été choisies au cours de notre étude afin de déterminer les fractions de cellules viables et actives au sein des assemblages bactériens en Manche orientale (Figure III.1).

II.2. Méthode LIVE/DEAD

La méthode de coloration LIVE/DEAD® (Molecular Probes) est l'une des méthodes utilisée en microbiologie aquatique, et son application a été testée dans des environnements les plus variés, tels que les écosystèmes marins côtiers (Choi *et al.,* 1996 ; Naganuma et Miura, 1997 ; Decamp et Rajendran, 1998 ; Gasol *et al.,* 1999 ; Schuman *et al.,* 2003), les systèmes estuariens (Schumann *et al.,* 2003) et d'eaux douces (Berman *et al.,* 2001 ; Schumann *et al.,* 2003) mais également les systèmes sédimentaires lacustres (Haglund *et al.,* 2003) et marins (Quéric *et al.,* 2004). Cette méthode permet de distinguer les cellules viables (MEM+) des mortes (MEM-) sur la base de leur intégrité membranaire, reconnue comme l'un des principaux critères de viabilité (Joux and Lebaron, 2000; Grégori *et al.,* 2001, 2003). En effet, en isolant le contenu cellulaire du milieu extérieur, les membranes permettent non seulement de réguler les échanges ioniques et moléculaires, mais surtout elles sont indispensables à l'établissement de la force proton-motrice qui contrôle la synthèse d'ATP[1] suivant la théorie chimiosmotique de Mitchell (1961 ; Nicholls, 1982). Les cellules alors observées comme ayant leur membrane intacte (MEM+) sont considérées comme des cellules viables, actives ou potentiellement actives, comprenant donc les cellules en dormance (Decamp et Rajendran, 1998 ; Grégori *et al.,* 2003 ; Figure III.1). Barer et Harwood (1999) précisent qu'il existe une faible proportion de cellules non viables dont la membrane est restée intègre, et qui continuent à apporter certains avantages à la communauté bactérienne (voir Figure III.1, flèche pointillée orange). Ces avantages seraient, entre autres, une participation au recyclage des sels nutritifs et/ou à la production de métabolites secondaires qui inhibent les prédateurs.

[1] Adénosine Tri-Phosphate

II.3. Méthode SYBR Green II

La méthode de détermination du contenu en acides nucléiques par coloration au SybrGreen II® (Molecular Probes) est également largement appliquée en écologie microbienne aquatique (Gasol *et al.,* 1999 ; Grégori *et al.,* 2001, 2003 ; Lebaron *et al.,* 1998 ; 2001, 2002 ; Thyssen *et al.,* 2005), en particulier depuis le développement de la cytométrie en flux (Gasol et del Giorgio, 2000 ; Veal *et al.,* 2000 ; Vives-Rego *et al.,* 2000 ; Gruden *et al.,* 2004). Cette méthode semble conduire à la meilleure discrimination des sous-populations en présence (Lebaron *et al.,* 2001). Ces sous-groupes présentent de grandes différences dans leurs caractéristiques de fluorescence, et donc dans leur contenu en acides nucléiques. Différents auteurs ont suggéré que les cellules ayant un haut contenu en acides nucléiques (cellules HNA pour « High Nucleic Acid content ») seraient plus actives que celles disposant d'un plus faible contenu (cellules LNA pour « Low Nucleic Acid content » ; Li *et al.,* 1995 ; Jellett *et al.,* 1996). Les bactéries HNA pourraient alors être considérées, au moins dans les environnements côtiers en eaux de surface (Sherr *et al.,* 2006), comme les membres actifs et en croissance de la communauté (Gasol *et al.,* 1999; Servais *et al.,* 1999, 2003 ; Gasol et del Giorgio, 2000 ; Lebaron *et al.,* 2001, 2002 ; Seymour *et al.,* 2004 ; Wetz et Wheeler, 2004), alors que les bactéries LNA compteraient les cellules inactives et mortes (Gasol *et al.,* 1999 ; Figure III.1) ou celles de moindre activité métabolique spécifique (Smith et del Giorgio, 2003 ; Zubkov *et al.,* 2001). Cette séparation dichotomique est néanmoins nuancée dans certaines études (voir aussi Figure III.1), considérant, d'une part, que les cellules HNA pourraient correspondre à des cellules intactes avec un génome et des niveaux d'activité variables, depuis la dormance jusqu'à une croissance active (Lebaron *et al.,* 2001). D'autre part, les cellules LNA peuvent se montrer particulièrement adaptées à un milieu moins riche en sels nutritifs et en biomasse phytoplanctonique, comme les eaux profondes (Thyssen *et al.,* 2005) ou oligotrophes (Longnecker *et al.,* 2005 ; Sherr *et al.,* 2006), et seraient alors capables, dans ce type de milieu, de se diviser deux fois plus vite que les cellules HNA (Zubkov *et al.,* 2001).

III. Activités de dégradation exo-enzymatiques

Dans l'objectif de mieux comprendre les cycles de matière et d'énergie au sein de l'écosystème côtier Manche orientale, la seconde étape de mon travail a été d'estimer l'activité bactérienne en termes de dégradation des MOD et MOP. A ce titre, cette partie du

travail s'est plus particulièrement intéressée à la MO d'origine phytoplanctonique issue du bloom de *P. globosa* et aux activités bactériennes exoenzymatiques. En effet, près de 80%-90% de la MOD (Crottereau et Delmas, 1999) et 95% de la fraction organique totale (Chròst, 1991) est de nature polymérique, c'est-à-dire sous formes de macromolécules non directement assimilables par les microorganismes hétérotrophes. Ces derniers ne peuvent utiliser que les formes facilement assimilables de la MOD (monomères tels que les acides aminés, monosaccharides, acides organiques,…) pour concourir à leurs activités organotrophes (production de biomasse, respiration ; Hoppe *et al.,* 1993 ; Figure III.2). Ainsi, les composés organiques de haut poids moléculaire doivent subir au préalable des hydrolyses enzymatiques pour devenir assimilables et contribuer au métabolisme cellulaire bactérien et à la fabrication de leur propre biomasse (Bianchi et *al.,* 1989). Cette étape enzymatique est un processus majeur dans la boucle microbienne et limitant dans la dégradation des MO. Les activités enzymatiques extracellulaires du compartiment microbien sont donc prépondérantes dans la transformation des composés organiques, qu'il s'agisse de leur dégradation, de leur minéralisation ou de leur assimilation (Hoppe *et al.,* 1993). Elles sont le résultat de l'action d'enzymes dites extracellulaires, regroupant les enzymes libres dans l'eau ou liées à des surfaces (*e.g.* détritus particulaires) autres que celles des producteurs provenant de l'excrétion (Bronk et Ward, 1999), de la lyse cellulaire et/ou de pertes pendant le broutage (sloppy-feeding, Lampert, 1978 ; Chròst, 1991). Les ectoenzymes sont celles strictement liées à la membrane de leur producteur (Chròst, 1991 ; Martinez et Azam, 1993 ; voir aussi Figure III.2).

Les proliférations phytoplanctoniques printanières en Manche orientale, dominées en termes d'abondance par la micro-algue *P. globosa* (Lizon *et al.,* 1998 ; Breton *et al.,* 2000 ; Seuront *et al.,* 2006), alimentent préférentiellement le pool de MO pendant et après le stade de vie colonial de l'algue (van Boekel *et al.,* 1992 ; Rousseau *et al.,* 1994). En effet, ce stade du cycle de vie de *P. globosa* est caractérisé par des millions de cellules incorporées dans une matrice polysaccharidique (Lancelot et Rousseau, 1994; Thingstad et Billen, 1994; Van Rijssel *et al.,* 2000), constituant alors d'importantes sources de matière potentiellement hydrolysables et utilisables par les bactéries *via* leurs activités de dégradation enzymatique (Becquevort *et al.,* 1998).

Cette étude se propose donc d'estimer l'activité bactérienne de dégradation des MOD et MOP principalement issues des proliférations phytoplanctoniques, en termes d'activités exo-

enzymatiques[2] protéolytique (EPA pour « exo-proteolytic activity ») et glycolytique (EGA pour « exo-glycolytic activity » ; Figure III.2) afin d'établir (i) quelles sont les relations trophiques entre bactérioplancton et *P. globosa* et (ii) si les bactéries participent significativement à la restauration de l'écosystème après ces blooms phytoplanctoniques massifs par dégradation des MO accumulées.

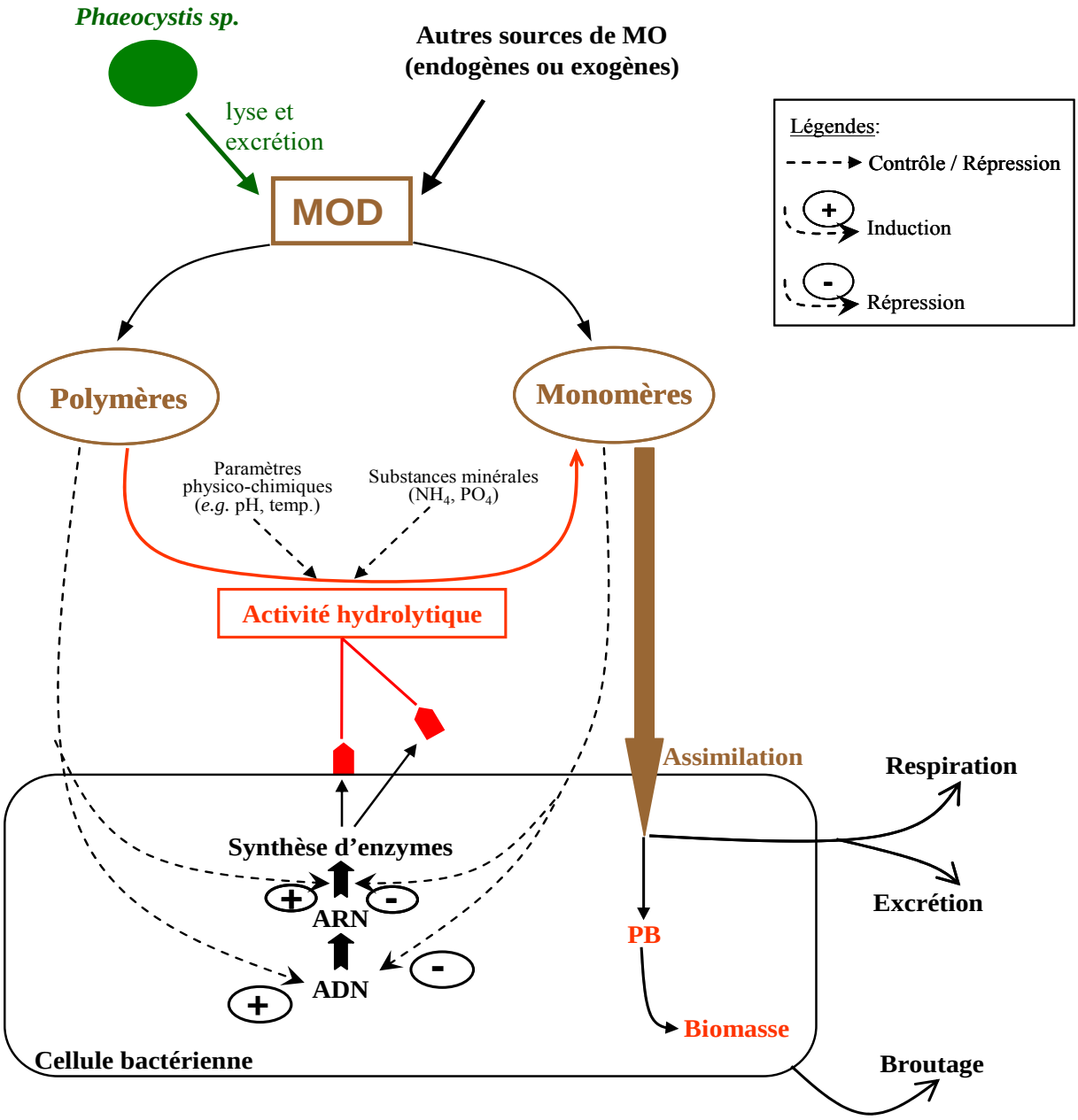


Figure III.2 : Modèle conceptuel des processus d'utilisation de la matière organique par une cellule bactérienne (d'après Billen *et al.*, 1990a) et régulations de la synthèse d'enzymes et de leur activité hydrolytique (d'après Chròst, 1991). Les textes en rouge concernent les analyses biologiques réalisées dans cette étude (PB, Production Bactérienne).

[2] Nous regrouperons dans cette étude les enzymes extracellulaires et les ectoenzymes sous le terme d'exo-enzymes (Chròst, 1991), responsables de l'activité exo-enzymatique (EEA pour « exo-enzymatic activity »).

IV. Synthèse des principaux objectifs scientifiques

La partie III du manuscrit se propose donc de répondre aux deux questions suivantes :

- Quelle est la fraction des stocks bactériens réellement responsable des processus bactériens mesurés ?
- Quelles sont les relations trophiques entre bactérioplancton et phytoplancton, et plus particulièrement entre bactérioplancton et *P. globosa* ? Les bactéries participent-elles activement à la restauration de l'écosystème après ces blooms massifs, par dégradation de la matière organique accumulée ?

Cette partie s'articule autour de deux chapitres qui répondront successivement à ces deux problématiques.

Le **chapitre I** présente les résultats relatifs à l'estimation des fractions viables et actives au sein des populations bactériennes en Manche orientale (sites de Wimereux et de la baie de Somme), en relation avec les poussées phytoplanctoniques de *P. globosa*. La première partie de ce chapitre est consacrée à l'application de la méthode LIVE/DEAD® suivie de comptages en microscopie à épifluorescence. Les résultats sont présentés sous forme d'un article accepté au *Journal of Sea Research*. La seconde partie porte sur l'utilisation d'un autre fluorochrome (SYBR Green II®) suivie d'une analyse en cytométrie, afin d'obtenir un second indice sur les fractions bactériennes participant à l'activité globale mesurée. Cette partie se propose également de comparer les deux approches, LIVE/DEAD® et SYBR Green II®, utilisées dans cette étude, afin de mieux comprendre la dynamique bactérienne en Manche orientale, en situation de post-bloom de *P. globosa.*

Le **chapitre II** présente, sous forme d'un article à soumettre au *Journal of Plankton Research*, les travaux relatifs aux mesures des activités exo-enzymatiques (site de Wimereux, depuis la côte vers le large, à différents moments du bloom printanier).

Enfin, une **conclusion** à cette partie III apporte une synthèse des trois approches développées dans cette étude.

CHAPITRE I
Viabilité bactérienne

Ce chapitre portant sur la viabilité bactérienne permettra, dans un premier temps, d'estimer les fractions bactériennes viables (ici, celles dont les cellules ont leur membrane intacte), comprenant les cellules actives et potentiellement actives, afin :

(i) de déterminer si l'activité bactérienne globale mesurée en Manche orientale est assurée par la plus grande majorité des cellules au sein des populations bactériennes, ou au contraire, par une proportion plus restreinte mais plus spécifiquement active,

(ii) et ainsi apporter une information plus précise sur le couplage bactérioplancton / phytoplancton, en particulier pendant les blooms de *P. globosa*.

Dans un deuxième temps, cette étude s'intéressera plus particulièrement aux fractions considérées comme les plus actives au sein des populations bactériennes, représentées par les cellules au génome de plus grande taille. Parallèlement, les populations bactériennes totales ainsi que les sous-populations de cellules intactes et de cellules au génome de plus petite taille seront évaluées. Les objectifs principaux sont ici :

(i) d'estimer de manière précise les fractions bactériennes participant réellement à l'activité globale,

(ii) de comparer les estimations des différentes sous-populations mesurées,

(iii) et d'examiner la réponse de ces sous-populations au sein de l'écosystème Manche orientale en situation de post-bloom de *P. globosa* et de bloom de Diatomées

I. Viabilité et production bactériennes en zones côtières de la Manche orientale : étude de cas lors d'un bloom de *Phaeocystis globosa*.

Résumé de l'article :

Les abondances (cellules totales et viables) et productions bactériennes de surface ont été estimées en deux zones côtières de la Manche orientale. L'échantillonnage a été réalisé à différentes périodes-clé d'une succession phytoplanctonique marquée par l'apparition récurrente de *Phaeocystis globosa* au printemps. Les deux sites côtiers (Wimereux et baie de Somme) appartenant au « fleuve côtier », se situent aux extrémités Sud et Nord de l'extension de ces blooms en Manche orientale, et sont soumis à des apports fluviaux d'influence différente.

La proportion de cellules intactes (MEM+), estimée par la méthode LIVE/DEAD® BacLight™ (L/D), varie entre 15% et 94% sur les deux zones côtières étudiées (médiane de 46%). Les abondances totales (DAPI) et celles en cellules intactes sont significativement corrélées sur l'ensemble de la période étudiée ; toutefois, les plus fortes proportions en cellules MEM+ ne correspondent pas à de fortes productions bactériennes (BP). Au déclin du bloom de *P. globosa*, de faibles quantités de bactéries viables (potentiellement actives) correspondent à des niveaux élevés de productivité bactérienne. Sur chaque site, les rapports entre la production bactérienne carbonée et la production primaire (BCP/PP) sont très variables (7 à 111%). Ils évoluent entre des valeurs faibles (7 – 16%) au maximum de productivité du bloom phytoplanctonique, jusqu'à de plus fortes valeurs (61 – 111%) en fin de bloom. Ainsi, (i) les productions bactériennes et phytoplanctoniques seraient découplées dans le temps et (ii) les quantités de PP potentiellement transformées par les bactéries varieraient selon les différentes phases plus ou moins productives du bloom. L'augmentation de BCP après le déclin de *P. globosa* suggère que d'importantes quantités de matière organique d'origine phytoplanctonique sont reminéralisées *via* la production bactérienne hétérotrophe. Au regard des résultats L/D, cette forte production bactérienne est assurée par une faible fraction de cellules particulièrement actives.

Coastal bacterial viability and production in the eastern English Channel: a case study during a *Phaeocystis globosa* bloom

D. Lamy[a*], L.F. Artigas[a], C. Jauzein[b,c], F. Lizon[b], V. Cornille[a]

[a] *FORTEC - FRE 2816 ELICO - MREN - Université du Littoral Côte d'Opale (ULCO)*
32 av. Foch - 62930 Wimereux, France
[b] *3P - FRE 2816 ELICO - SMW - Université des Sciences et Technologies de Lille (USTL)*
28 av. Foch – 62930 Wimereux, France
[c] *Ecosystèmes lagunaires - UMR 5119 - Université de Montpellier II 34095*
Montpellier Cedex 5, France

Received 1 December 2005; accepted 11 April 2006

[*]Corresponding author: dominique.lamy@univ-littoral.fr

Abstract

Heterotrophic bacterial standing stocks (total and viable cells) and production were determined in the coastal surface waters of the eastern English Channel, during different stages of a phytoplankton succession. Two coastal zones of variable freshwater influence were surveyed within the 'coastal flow system' (Wimereux and Somme Bay) where massive and recurrent *Phaeocystis globosa* blooms take place in spring.

The proportion of intact (MEM+) cells, assessed by the LIVE/DEAD® BacLight™ (L/D) method, varied from 15 to 94% at the two coastal stations studied (median of 46%). MEM+ and total (DAPI) cell counts were significantly correlated over the study period, whereas the higher proportion of MEM+ cells did not correspond to an elevated bacterial cell production (BP). Low levels of living (potentially active) cells were nevertheless responsible for the high productivity levels within the bacterial community when the *P. globosa* bloom declined. Our study revealed that the bacterial carbon production/primary production ratios (BCP/PP) showed broad variations (7 to 111%) within each site, going from low values (7 - 16%) when the bloom was the most productive, to higher values (61 - 111%) at the end of the bloom. This suggested (i) a temporal uncoupling between bacteria and phytoplankton throughout the

bloom duration and (ii) a drastic change of the amount of PP potentially processed by the bacterial community among high and low productive periods. The BCP increase after the decline of the *P. globosa* bloom implies that, at this time, a large part of the phytoplankton-derived organic matter (OM) was remineralised via the bacterial heterotrophic production. With respect to the L/D results, this bacterial remineralisation was due to a small yet productive total cell fraction.

Keywords: Bacterioplankton; Bacterial viability; Bacterial production; Algal blooms; Coastal waters; Eastern English Channel

1. Introduction

In marine systems, the pelagic bacterial component is known to play an important role in regulation, export, re-mineralisation and transformation of the largest organic carbon pool (dissolved organic carbon; Pomeroy, 1974; Cole et al., 1988), making it available to higher trophic levels and sustaining the nutrient turnover, via the microbial loop (Azam et al., 1983). The coastal waters of the eastern English Channel were the subject of recent research on phytoplankton (Lizon et al., 1998; Breton et al., 2000) and zooplankton dynamics (Cotonnec et al., 2001; Devreker et al., 2005), but only few studies have dealt with bacterial dynamics (Maillard-Quisthoudt, 1988). This nutrient-enriched ecosystem (Gentilhomme and Lizon, 1998) is the location of recurrent and massive *Phaeocystis globosa* and diatom spring blooms reaching a biomass of over 1 mg C l^{-1} (Gentilhomme and Lizon, 1998; Breton et al., 2000). Moreover, in the *P. globosa*-dominated Belgian coastal waters (southern North Sea) it was shown that phytoplankton blooms stimulate the establishment of a very active microbial network (Becquevort et al., 1998).

The key role played by bacteria in matter and energy cycling in marine systems has largely been stimulated by methodological advances, especially those concerning direct microscopic counting methods, allowing a better assessment of bacterial abundance (Kepner and Pratt, 1994). However, the bacterial biomass can contain a large fraction of dead cells (Zweifel and Hagström, 1995) or cells in a dormant and/or starvation-survival state (Choi et al., 1996). As this fraction is not involved in bacterial productivity (Del Giorgio and Cole, 2000), the magnitude of cell-specific production and activity is easily underestimated. Recent research has focused on the development of molecular techniques allowing the estimation of both activities and physiological states of individual cells in marine samples (Joux and Lebaron, 2000; Howard-Jones et al., 2002; Keer and Birch, 2003). Most of these molecular methods are

based on the use of physiological probes and can address the presence of some active functions and/or the integrity of cell structures (e.g. respiratory activity, Rodriguez et al., 1992; Schumann et al., 2003; nucleic acid content heterogeneity, Gasol et al., 1999; Lebaron et al., 2002; membrane integrity, Williams et al., 1998; Grégori et al., 2001). Among available methods, the dual staining (PI and SYTO 9) LIVE/DEAD® BacLight™ (L/D) protocol appears to be a reliable technique (Haugland, 1996; Decamp and Warren, 2001).

The main objectives of this study were (1) to apply a specific technique (L/D stain) for estimating the viable fraction of the total bacterial cells of the eastern English Channel and (2) to provide information on the coupling between bacteria and phytoplankton, related to the *P. globosa* bloom.

2. Material and methods

2.1. Study area, sampling strategy

The study area is located along the French coast of the eastern English Channel at two sites, one in the Bay of Somme (Station B, 50°14.645N – 1°26.794'E) and the other along the coast near Wimereux (Station A, 50°48'N – 1°34'E; Fig. 1). Both sites are part of the coastal flow system ('fleuve côtier', Brylinski et al., 1991) in which coastal water masses drift nearshore from the southern to the north-eastern English Channel. These coastal water masses, separated from the open sea by a tidally controlled frontal area (Brylinski et al., 1996) are generally considered to be homogeneous with respect to temperature and salinity profiles (Brylinski et al., 1991). Field sampling was conducted for both stations (A and B) onboard the CNRS-INSU RV 'Côtes de la Manche' and 'Sepia II', from February to July 2003. All water samples were collected at 1 m depth and always in comparable tidal conditions (low tide) using 8-L Niskin bottles. Temperature and salinity measurements were performed using a conductivity-temperature profiling system (CTD Seabird® SBE 25).

2.2. Phytoplankton stocks and production

For chlorophyll-a (chl-a) analyses, 0.25 to 0.5 l surface water samples were filtered onto GF/F Whatman glass fiber filters which were immediately stored at –20°C in the dark until laboratory processing. There, filters were ground in 90% acetone and pigment extraction was performed overnight at 4°C (Strickland and Parsons, 1972). Chlorophyll-a concentrations were determined by the fluorescent method of Yentsch and Menzel (1963) using a 10-AU Turner Designs© fluorometer.

Surface primary production was estimated from the same water samples as bacterial production using the ^{14}C-tracer method (Steemann Nielsen, 1952). Two sub-samples of 50 ml from each sample were inoculated with 74 kBq $NaH^{14}CO_3$ (2 µCi) and incubated under in situ simulated (SIS) conditions during the daytime, in deck incubators with running surface seawater and surface incident irradiance. During incubation, light was continuously recorded with an Alec MDS Mark 5 sensor in order to avoid photoinhibition. So, when light exceeded an experimental threshold (Lizon et al., 1998), a neutral density screen was added to the surface incubator. In our tidally mixed waters, photoinhibition processes are also largely limited by vertical mixing (Lizon et al., 1998). At the end of the incubation period, samples were filtered onto GF/F Whatman glass fiber filters which were rinsed with non-radioactive filtered seawater (Harrison et al., 1985). Radioactivity associated with the filters was measured later with a Wallak 14 – Perkin Elmer© liquid scintillation counter using the scintillation cocktail Ultima Gold MV. The incorporated radioactivity was converted into primary production rates according to Parsons et al. (1984).

2.3. Bacterial parameters

Surface water samples for bacterial counts (total and viable) were collected in triplicate in sterile 40 ml polyethylene vials. They were immediately preserved in borate-buffered 0.2 µm pre-filtered formalin (3% final concentration), and stored at 4°C until laboratory processing.

2.3.1. Total bacterial abundance

Bacteria were enumerated by the epifluorescence direct counting method after DAPI staining (4 µg ml^{-1} final concentration) following the method of Porter and Feig (1980). Samples (2 ml) were stained for15 min in the dark at 4°C and immediately filtered (less than 10 mm Hg) onto 0.2 µm black polycarbonate membrane filters (Millipore© Isopore) previously mounted on GF/C Whatman glass fiber filters to optimise cell distribution. Polycarbonate filters were then mounted on slides with fluorescent oil (Olympus optical) and analysed using an epifluorescence microscope (Leica Leitz DMR; 365 nm, x 1000).

2.3.2. Viable bacterial abundance

Counts of viable bacteria were obtained using the LIVE/DEAD® (L/D) BacLight© Viability kit (kit L-7012, Molecular Probes©), according to Decamp and Rajendran (1998). The L/D staining mixture contains the fluorescent nucleic acid stains SYTO 9 as a viability marker and propidium iodide (PI) as a membrane-compromised cell-marker, competing with SYTO 9 for

DNA binding locations of bacteria with damaged cell membranes (Howard-Jones et al., 2002). Thus, with an appropriate mixture of the SYTO 9 and PI stains, bacteria with intact cell membranes stain fluorescent green (referred hereafter as MEM+ cells), whereas bacteria with damaged membranes stain fluorescent red. Samples (2 ml) were stained (5 µM SYTO 9 and 30 µM PI in final concentrations) for 15 min at room temperature in the dark, then filtered as described above and filters were mounted with non-fluorescent oil for direct counting (Leica Leitz DMR; 480-490 nm).

2.3.3. Total bacterial production

Total bacterial production was estimated from the rates of ^{3}H-Thymidine (^{3}H-Tdr) incorporation into bacterial DNA (Fuhrman and Azam, 1982; Bell, 1993). Surface water samples (3 replicates and 2 formalin-killed blanks) were incubated in the dark at in situ surface temperature for 1.5 h using 20 nM ^{3}H-Thymidine as a final concentration. Kinetics experiments were previously conducted (i) to prevent isotopic dilution (Moriarty, 1986) and (ii) to determine the relevant incubation time for the in situ level of activity. After incubation, samples were fixed with ice-cold TCA (5% final concentration), then stored at 4°C for 20 min and filtered onboard onto 0.2 µm polycarbonate filters (Nucleopore©). The radioactivity associated with the filters was measured with a liquid scintillation counter (Wallak 14 – Perkin Elmer©). Bacterial cell production (BP) was then obtained using a conversion factor of 2.1 x 10^{18} cells produced per mole of thymidine incorporated into the cold TCA insoluble material (Moriarty, 1986; Bell, 1993), and the bacterial carbon production (BCP) calculated assuming a bacterial carbon content of 20 fg C cell^{-1} (Lee and Fuhrman, 1987). Cell-specific bacterial activities (Bµ, h^{-1}) were calculated by dividing BP by either total cell number (DAPI counts) or intact cell numbers (MEM+ counts), and were referred to as $B\mu_{DAPI}$ and $B\mu_{MEM+}$, respectively.

The proportion of primary production cycling through the microbial loop via bacterial carbon production (BCP/PP ratio) was determined for all sampling dates and used as an indicator of the possible fate of phytoplankton-derived material (Cole et al., 1988) in the surface waters of the eastern English Channel.

2.4. Statistical analyses

Significant differences between the two sampling sites were assessed applying a Wilcoxon-Mann-Whitney test to the temperature and salinity data set, to the whole data set of bacterial abundances and to the BP data set. The significant differences between the two counting

methods (DAPI and L/D protocols) were tested within each site and for each sampling date through a Friedman two-way variance analysis. These data analyses were performed using the SYSTAT© 10 software package. Statistical comparisons between total and living bacterial cell number, bacterial viability obtained from %MEM+ to the corresponding BP, were analysed using a Pearson correlation coefficient. The same analysis was considered for testing of potential relationships between the phytoplankton stocks and production, as well as between bacterial abundances and phytoplankton parameters. The relative importance of bottom-up (resource supply) to top-down (grazing) control of bacterial intact biomass was examined using the approach of Billen et al. (1990). The value of the regression slope indicates the degree of bottom-up versus top-down control, going from extreme resource control (high correlation and high slope) to complete grazing control (no correlation). Finally, we measured phytoplankton-bacterioplankton coupling, during bloom (March to May) and post-bloom (June-July) conditions as the linear regressions between log transformed data of bacterial parameters (BCP, BCP/PP ratio, $B\mu_{DAPI}$ and $B\mu_{MEM+}$) and log transformed data of phytoplankton-related variables (chl-a and PP). In order to obtain a more representative regression, we included offshore water measurements performed under the same conditions as for coastal waters.

3. Results

3.1. Study area

During the study period (excluding winter due to a lack of data from CTD failure) for Station A (Wimereux) salinity ranged from 33.82 to 34.65 and temperature from 7.35 to 18.42°C. For Station B (Somme) salinity ranged from 32.85 to 33.90 and temperature from 7.32 to 18.97°C. Observed temperatures for the two sampling sites were not significantly different (Wilcoxon-Mann-Whitney test, $p>0.7$), whereas salinity values for station B were significantly lower than for station A (Wilcoxon-Mann-Whitney test, $p<0.05$). These differences could not be attributed to tides as samples were collected during comparable tidal conditions at both sites for each sampling date.

3.2. Bacterial stock variability

The bacterial stock measurements (total cell number as DAPI counts and intact cell number as MEM+ counts) are shown in Fig. 2. Sampling was performed at four (Somme station) and five (Wimereux station) key time periods related to the *P. globosa* bloom from February to July, so a seasonal trend cannot be discerned. However, differences were observed at both

sites for the two abundance types (Friedman 2-way analysis, $p<0.006$ for DAPI counts and $p<0.004$ for MEM+ counts). Indeed, a three-fold abundance increase was detected from winter to spring and a drastic decline in summer reaching only 0.8–1.2 x 10^6 total cells ml^{-1} and 0.7 x 10^6 intact cells ml^{-1}. Mean total bacterial abundances (by period) were not significantly different between stations A and B (Wilcoxon-Mann-Whitney test, $p>0.6$) even if there was a difference in the absolute range, with values ranging from 0.17 ± 0.007 to 2.66 ± 0.95 x 10^6 cell ml^{-1} in Station A and from 0.63 ± 0.02 x 10^6 to 2.30 ± 1.64 x 10^6 cell ml^{-1} in Station B (Fig. 2A and 2B respectively). The same observation holds when comparing MEM+ abundances (Wilcoxon-Mann-Whitney test, $p>0.3$), reaching maximum values of 0.90 ± 0.18 x 10^6 and 1.84 ± 1.79 x 10^6 cell ml^{-1} in Station A and Station B, respectively (Fig. 2A and B). These observations were emphasised by a significant correlation between total and living bacterial abundances (Pearson test, $r = 0.70$, slope = 0.42, $p<0.05$, $n = 9$). Statistical analysis also revealed that the two counting methods provided no significant difference within each site for all the periods considered, as well as for each sampling date by comparing both sites (Friedman 2-way analysis, $p>0.08$).

3.3. Cell activity and Bacterial cell Production (BP)

The proportion of intact cells varied from 15% to 92% for Station A and from 46% to 94% for Station B (Fig. 3A and B). The percentage of intact cells remained relatively constant during spring in A (33% in mean) while it corresponded to a minimal (46%) and a high value (80%) in B for the same period. The bacterial cell production (BP) measured with ^{3}H-Tdr ranged from 0.83 ± 0.22 to 8.83 ± 2.47 x 10^4 cell ml^{-1} h^{-1} in A and from 4.00 ± 1.33 to 9.65 ± 0.32 x 10^4 cell ml^{-1} h^{-1} in B (Fig. 3A and B), and was not significantly different between sites for each sampling date (Friedman 2-way analysis, $p>0.08$). BP followed the same trends for both stations, with a 2.5 to 4 fold increase from winter to spring, followed by a decrease in summer. The highest proportion of MEM+ cells did not correspond to an elevated bacterial cell production, but was associated with a decrease in total abundance. In fact, no significant correlation was found between %MEM+ and BP ($r = -0.13$, $n = 9$), neither between BP and total ($r = 0.66$, $n = 9$) nor intact bacterial cell numbers ($r = 0.48$, $n = 9$). Moreover, the log-log linear regression of our data set (MEM+ cell number – BP) was insignificant ($r = 0.56$, $n = 9$, regression slope =0.62).

DAPI-cell-specific activity ($B\mu_{DAPI}$) varied from 0.011 to 0.049 h^{-1} in A and from 0.010 to 0.063 h^{-1} in B (Fig. 3C and 3D). When the number of intact cells was used instead of the total

cell number, MEM+-cell-specific activity ($B\mu_{MEM+}$) appeared to be higher reaching 0.026 to 0.24 h^{-1} in A and 0.017 to 0.13 h^{-1} in B (Fig. 3C and D). The $B\mu_{MEM+}$ maxima corresponded to generation times of 4.12 to 57.30 h, i.e. seven times faster than generation times ascribed to total cell number (15.77 to 103.80 h).

3.4. Relationship between phytoplankton and bacteria

Chl-a concentrations reached values of 9.84 and 15.45 µg chl-a l^{-1} in A and B, respectively and were characterised by primary production (PP) values of 4.10 and 10.76 µg C l^{-1} h^{-1} (Fig. 4). The combined diatom-*Phaeocystis* spring bloom, with *Phaeocystis globosa* characterised by both free cells and colonies in spring 2003 (Artigas and Sazhin, unpubl. data), appeared to be the main biological feature of our study. In summer, the values decreased from 3.35 to 2.47 µg chl-a l^{-1} and from 2.97 to 1.70 µg C l^{-1} h^{-1} in A and B, respectively. Within the two sites, decrease in primary production was generally associated with a decrease in chlorophyll-a concentrations (Pearson test, $r = 0.86$, $p<0.01$, $n = 9$). Over the whole period, no strong correlation could be established between either the number of total and intact cells or between %MEM+ cells and phytoplankton parameters, in terms of stocks (chl-a) and processes (PP).

Highest bacterial carbon production (BCP) occurred after the phytoplankton maximum production in both sampling sites (Fig. 4A and B). BCP varied between 0.17 and 1.77 µg C l^{-1} h^{-1}, and between 0.24 to 1.93 µg C l^{-1} h^{-1} in A and B, respectively.

The analysis of the BCP/PP ratio revealed that bacterial production represented 15 and 7% of primary production during the early bloom (March), in station A and B, respectively. This ratio reached 69% (Station A) and 111% (Station B) when the phytoplankton bloom declined (May).

Further analysis showed that BCP was a positive function of PP (slope = 1.15) and chl-a (slope = 2.81) only in post-bloom conditions ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively; Table 1). Moreover, $B\mu_{DAPI}$ showed a strong positive relationship with chl-a (slope = 2.20; $p < 0.001$) essentially in post-bloom conditions. In MEM+ cell counts, the log $B\mu_{MEM+}$ − log chl-a regression was insignificant during the phytoplankton bloom ($p > 0.05$; $n = 14$), as found with $B\mu_{DAPI}$ (Table 1). Insufficient data for MEM+ cell counts in post-bloom conditions prevented further analysis for the relationship between log $B\mu_{MEM+}$ and log chl-a throughout this period.

4. Discussion

Avoiding the traditional debate about viability, it is clear that neither a universal probe nor a single criterion could characterise unequivocally the metabolic state of bacterial cells (Joux

and Lebaron, 2000; Créach et al., 2003). Nevertheless, the detection of membrane integrity can be considered an effective criterion (Joux and Lebaron, 2000; Grégori et al., 2003) in order to assess bacterial viability in our two coastal ecosystems. The present study constitutes the first assessment of the fraction of living bacterial cells in two coastal areas submitted to direct or indirect coastal inputs, where massive and recurrent spring phytoplankton blooms occur, mainly characterised by the colony-forming haptophyte *Phaeocystis globosa*. Therefore, we will discuss the ecological features that can be determined from viable cell abundances, which will better describe the bacterial response to a combined diatom-*P. globosa* bloom in the study area.

4.1. The ecological significance of MEM+ cells

Intact (MEM+) and total (DAPI) cell counts were significantly correlated following the same trends as previously reported for coastal systems (Naganuma and Miura, 1997; Decamp and Rajendran, 1998). This observation is not unusual and similar trends of LIVE/DEAD (L/D) and DAPI staining suggest that the L/D staining method is sufficient to quantify intact (potentially active) cells of bacterial community.

Our intact-to-total ratios ranged from 35 to 85% (mean of the two sites) and were comparable to published data (Table 2), lower ratios being recorded in lake waters (Berman et al., 2001). Previous comparative studies (Gasol et al., 1999; Berman et al., 2001) reported no clear differences between intact cells and those in different viability and/or activity states. Indeed, intact (MEM+) cells and the HDNA (high DNA content) cells (as determined with the SYTO 13 stain) would probably include similar fractions of the total bacterial community (Gasol et al., 1999), such as cells with visible nucleoids (%NuCC cells; Gasol et al., 1999; Berman et al., 2001).

Our intact-to-total ratios were quite variable between sampling sites and systematically higher at the Somme station during spring (Fig. 3). Regarding observed differences in salinity measurements between sites, the Somme station received more direct riverine inputs than the Wimereux station. Greater river flow was coming from the Somme estuary (mean of 47.07 ± 9.64 m^3 s^{-1}, data from Agence de l'Eau Artois Picardie[3]) compared to the very low flow from the Wimereux river (mean of 0.21 ± 0.09 m^3 s^{-1}), even when considering the remote influence of southern river inputs (through the 'coastal flow' system). As the intact-to-total ratios were generally related to the distribution and availability of organic matter (Naganuma, 1996;

[3] http://www.eau-artois-picardie.fr

Schumann et al., 2003; Quéric et al., 2004), the higher intact ratios at the Somme station were probably caused by additional and significant riverine DOC supply.

4.2. Disparity between total and viable bacterial abundance and specific production: possible role of bacterivores

A disparity between viable bacterial abundance and cell production existed as no significant correlation was found between log-transformed MEM+ cell number and log-transformed BP (data not shown). This suggests that intact bacteria were mainly controlled by predation rather than the resource supply, as reported by Billen et al. (1990). Bacterivores feed preferentially on large (Jürgens and Güde, 1994) and active cells (Jürgens et al., 1999; Sherr et al., 2002). A relatively small (< 50 %) fraction of bacterial cells was contributing to the highest bacterial production (Del Giorgio et al., 1997; Créach et al., 2003), probably as a result of an active top-down control of these cells during the decline of the bloom by grazing (Van Wambeke et al., 2000) and/or virally induced mortality (Brussaard et al., 2005).

Higher cell-specific production and seven-fold faster turnover rates were recorded when MEM+ cell numbers were used rather than total values (assuming that a significant part of MEM+ bacteria are responsible for bacterial productivity, Fig. 3C and D). These results agree with Sherr et al. (2002), who reported much faster turnover rates of highly active cells (CTC+ cells, that are supposed to be included in the MEM+ pool) compared to estimated turnover rates due to total bacterial stocks (0.4 – 5.4 d versus 1 – 37 d). The reduction of viable bacterial abundance by grazers could have increased the substrate flow per cell and enhanced the cell-specific growth rates (Jürgens et al., 1999). In these conditions, the predators simultaneously exert a role in bottom-up and top-down controls of intact cells in our study area, through nutrient regeneration, sloppy feeding (Lampert, 1978) and grazing (Thingstad, 1998). These time and space changes in the MEM+ proportion have consequences in the bacterial response and utilisation of organic matter during and after the bloom period.

4.3. Microbial network enhanced by the Phaeocystis bloom?

Although the proportion of organic matter originating from PP that could support BCP is nearly impossible to measure directly and accurate data are unknown (Conan et al., 1999), the BCP to PP ratio is frequently used to describe a potential flux between bacterial and phytoplankton components in oligo- to mesotrophic systems (Conan et al., 1999; Artigas et al., 2000; Shiah et al., 2001; Van Wambeke et al., 2002). Our values derived from massive *P. globosa* blooms (from 15 to 69% in the northern site and from 7 to 111% in the southern site)

confirmed the great variability of this ratio previously observed in marine environments (10% to over 100%, Cole et al., 1988; Ducklow and Carlson, 1992).

However, during the bloom period, only 7 to 15% of PP contributed to BCP, either through phytoplankton release or indirectly through herbivory losses (Jumars et al., 1989) and/or cell lysis including lysis by viral infection (Baines and Pace, 1991). This 7 to 15% range is in agreement with the estimate of 6 to 16% obtained by Conan et al. (1999) during a bloom period in the Mediterranean oligotrophic system despite clear differences in physical, nutrient and/or biological status between these two areas. No relevant regression was found between bacterial parameters and phytoplankton-related variables throughout the bloom stage. Based on these results, rapid short-term processes fuelled BCP from PP (Conan et al., 1999). In that case, less than 20% of PP could support BCP. Regulating processes other than substrate supply, such as bacterivory, were involved in bacterial growth during the bloom, as discussed above. At the end of the phytoplankton spring bloom when algal decomposition begins, zooplankton grazing pressure is still low, yet the protist population may reach high densities (Sorokin, 1999; Stelfox-Widdicombe et al., 2004). This leads to enhanced bacterial production and MEM+ cell-specific activity, and hence increased BCP/PP ratios (69 to over 100% in northern and southern sites, respectively).

In post-bloom conditions, linear regression revealed that the bacterial parameters were largely controlled by changes in PP and chl-a (Table 1). Since the slope of the regression curve between bacterial- and phytoplankton-related variables gives the magnitude of coupling (Shiah et al., 2001), bacterial growth seems sustained by new sources of phytoplankton-derived organic matter, such as POM and colloids deriving from algal cell lysis (Ducklow et al., 1995), labile DOC from hydrolysis of senescent phytoplankton (Carlson et al. 1996) and by-products from grazing (Jumars et al. 1989). Among the additional phytoplanktonic carbon sources for bacterial consumption after the algal bloom, *Phaeocystis*-derived organic matter originating from cell lysis and senescent colonies constitutes a biodegradable substrate for ambient bacteria (Becquevort et al., 1998; Brussaard et al., 2005) and stimulates the establishment of a very active microbial network that prevailed after the end of the bloom.

5. Conclusion

The present study constitutes the first assessment of the viable fraction of the bacterial community in two coastal areas subject to massive and recurrent *P. globosa* spring blooms. Our results obtained by L/D staining suggest a good coverage of the intact, i.e. viable and active bacterial community of the eastern English Channel, against the background of the

whole bacterial cell pool. A variable and limited (less than 50%) proportion of total cells was responsible for the highest levels of bacterial production, doubtlessly due to particularly high cell-specific activities and fast turnover times. The highest bacterial production levels occurred after the algal peak. This suggests (i) a temporal uncoupling between the phytoplankton and bacterial productions and (ii) a small yet highly productive fraction of bacterial cells accountable for the remineralisation of the phytoplankton-derived material, mainly during the post-bloom conditions. The identification of these active bacteria related to *Phaeocystis* bloom should be addressed in the future through the application of molecular methods on in situ populations. Moreover, to further explore phytoplankton/bacterial dynamics in our study area, a larger data set is required, as well as the assessment of potential bacterial degradation of senescent phytoplankton- and especially *Phaeocystis*-derived material, through exoenzymatic activities. This is the subject of ongoing studies performed in the eastern English Channel.

Acknowledgements

We would like to thank the crews of RVs 'Sepia II' and 'Côtes de la Manche' for their assistance. We also thank F. Gourlé and J. Bellegueulle for their technical support during the cruises and in the laboratory. We are grateful to Pr. U. Christaki, Dr. D. Vincent and Dr. A. Dalby for useful comments in improving the manuscript, as well as to three anonymous J. Sea Res. reviewers for valuable comments on an earlier version. This work was supported by both regional and national programmes: the 'Contrat Plan Etat-Région (CPER) - Ecosystèmes perturbés du littoral: Bloom de *Phaeocystis*' and the 'Programme National d'Environnement Côtier: Chantier PNEC - Manche Orientale - Sud Mer du Nord', also benefiting from European Union funding (FEDER). D. Lamy's Ph.D. research was supported by the region Nord - Pas de Calais and the 'Agence de l'Eau Artois-Picardie' (contract n° 03 13 00 70).

References

Artigas, L.F., Herbland, A., Laborde, P. 2000. Is the spring bacterioplankton production, on the Aquitanian shelf, a response to primary production? Ozeanografika 3, 185-202.

Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Gray, J.S., Meyer-Reil, L.A., Thingstad, F. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 10, 257-263.

Baines, S.B., Pace, M.L. 1991. The production of dissolved organic matter by phytoplankton and its importance to bacteria: patterns across marine and freshwater systems. Limnol. Oceanogr. 36, 1078-1090.

Becquevort, S., Rousseau, V., Lancelot, C. 1998. Major and comparable roles for free-living and attached bacteria in the degradation of *Phaeocystis*-derived organic matter in Belgian coastal waters of the North Sea. Aquat. Microb. Ecol. 14, 39-48.

Bell, R.T. 1993. Estimating production of heterotrophic bacterioplankton via incorporation of tritiated thymidine. In: P.F. Kemp, Sherr, B.F., Sherr, E.B., Cole, J.J., (Eds.), Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology. Lewis publishers, Boca Raton, pp. 495-503.

Berman, T., Kaplan, B., Chava, S., Viner, Y., Sherr, B.F., Sherr, E.B. 2001. Metabolically active bacteria in Lake Kinneret. Aquat. Microb. Ecol. 23, 213-224.

Billen, G., Servais, P., Becquevort, S. 1990. Dynamics of bacterioplankton in oligotrophic and eutrophic aquatic environments: bottom-up or top-down control? Hydrobiologia 27, 37-42.

Breton, E., Brunet, C., Sautour, B., Brylinski, J.-M. 2000. Annual variations of phytoplanktonic biomass in the Eastern English Channel: comparison by pigment signatures and microscopic counts. J. Plankton Res. 22, 1423-1440.

Brussaard, C.P.D., Mari, X., Van Bleijswijk, J.D.L., Veldhuis, M.J.W. 2005. A mesocosm study of *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) population dynamics. II. Significance for the microbial community. Harmful Algae 4, 875-893.

Brylinski, J.-M., Lagadeuc, Y., Gentilhomme, V., Dupont, J.-P., Lafite, R., Dupeuble, P.-A., Huault, M.-F., Auger, Y., Puskaric, E., Wartel, M., Cabioch, L. 1991. Le "fleuve Côtier": un phénomène hydrologique important en Manche Orientale. Exemple du Pas de Calais. Ocean. Acta 11, 197-203.

Brylinski, J.-M., Brunet, C., Bentley, D., Thoumelin, G., Hilde, D. 1996. Hydrography and phytoplankton biomass in the Eastern English Channel in spring 1992. Est. Coast Shelf Sci. 43, 507-519.

Carlson, C.A., Ducklow, H.W., Sleeter, T.D. 1996. Growth of bacterioplankton and consumption of dissolved organic carbon in the northwestern Sargasso Sea. Deep-Sea Res. 43, 491-515.

Choi, J.W., Sherr, E.B., Sherr, B.F. 1996. Relation between presence / absence of a visible nucleoid and metabolic activity in bacterioplankton cells. Limnol. Oceanogr. 41, 1161-1168.

Cole, J.J., Findlay, S., Pace, M.L. 1988. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross - system overview. Mar. Ecol. Prog. Ser. 43, 1-10.

Conan, P., Turley, C., Stutt, E., Pujo-Pay, M., Van Wambeke, F. 1999. Relationship between phytoplankton efficiency and the proportion of bacterial production to primary production in the Mediterranean Sea. Aquat. Microb. Ecol. 17, 131-144.

Cotonnec, G., Brunet C., Sautour, B., Thoumelin, G. 2001. Nutritive value and selection of food particles by copepods during a spring bloom of *Phaeocystis* sp. in the English Channel, as determined by pigment and fatty acid analysis. J. Plankton Res. 23, 693-703.

Créach, V., Baudoux, A-C., Bertru, G., Le Rouzic, B. 2003. Direct estimate of active bacteria: CTC use and limitations. J. Microbiol. Methods 52, 19-28.

Decamp, O., Rajendran, N. 1998. Assessment of bacterioplankton viability by membrane integrity. Mar. Poll. Bull. 36, 739-741.

Decamp, O., Warren, A. 2001. Abundance, biomass and viability of bacteria in wastewaters: impact of treatment in horizontal subsurface flow constructed wetlands. Wat. Res. 35, 3496-3501.

del Giorgio, P.A., Prairie, Y.T., Bird, D.F. 1997. Coupling between rates of bacterial production and the abundance of metabolically active bacteria in lakes, enumerated using CTC reduction and flow cytometry. Microb. Ecol. 34, 144-154.

del Giorgio, P.A., Cole, J.J. 2000. Bacterial energetics and growth efficiency. In: Kirchman, D.L. (Ed.), Microbial Ecology of the Oceans. Wiley-Liss, Inc., New York, pp. 289-325.

Devreker, D., Souissi, S., Seuront, L. 2005. Effects of chlorophyll concentration and temperature variation on the reproduction and survival of *Temora longicornis* (Copepoda, Calanoida) in the eastern English Channel. Jour. Exp. Mar. Biol. and Ecol. 318, 145-162.

Ducklow, H.W., Carlson, C.A. 1992. Oceanic bacterial production. In: Marshall, K.C. (Eds.), Advances in microbial ecology. Plenum Press, New York, pp. 113-181.

Ducklow, H.W., Quinby, H.L., Carlson, C.A. 1995. Bacterioplankton dynamics in the equatorial Pacific during the 1992 El Niño. Deep-Sea Res. 42, 621-638.

Fuhrman, J.A., Azam, F. 1982. Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: Evaluation and field results. Mar. Biol. 66, 109-120.

Gasol, J.M., Zweifel, U.L., Peters, F., Fuhrman, J.A., Hagström, A. 1999. Significance of size and nucleic acid content heterogeneity as measured by flow cytometry in natural planktonic bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 65, 4475-4483.

Gentilhomme, V., Lizon, F. 1998. Seasonal cycle of nitrogen and phytoplankton biomass in a well-mixed coastal system (Eastern English Channel). Hydrobiologia 361, 191-199.

Grégori, G., Citterio, S., Ghiani, A., Labra, M., Sgorbati, S., Brown, S., Denis, M. 2001. Resolution of viable and membrane-compromised bacteria in freshwater and marine waters based on analytical flow cytometry and nucleic acid double staining. Appl. Environ. Microbiol. 67, 4662-4670.

Grégori, G., Denis, M., Lefèvre, D., Romano, J.-C. 2003. Viabilité des bactéries hétérotrophes dans la baie de Marseille. C.R. Biologies 326, 739-750.

Harrison, W.G., Platt, T., Lewis, M.R. 1985. The utility of light saturation models for estimating marine primary productivity in the field: a comparison with conventional "simulated" *in situ* method. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 42, 864-872.

Haugland, R.P. 1996. Molecular Probes© - Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals. Molecular Probes©, Eugene, OR.

Howard-Jones, M.H., Ballard, V.D., Allen, A.E., Frischer, M.E., Verity, P.G. 2002. Distribution of bacterial biomass and activity in the marginal ice zone of the central Barents Sea during summer. J. Mar. Syst. 38, 77-91.

Joux, F., Lebaron, P. 2000. Use of fluorescent probes to assess physiological functions of bacteria at single-cell level. Microbes Infection 2, 1523-1535.

Jumars, P.A., Penry, D.L., Baross, J.A., Perry, M.J., Frost, B.W. 1989. Closing the microbial loop: dissolved organic carbon pathway to heterotrophic bacteria from incomplete ingestion, digestion and absorption in animals. Deep-Sea Res. 36, 483-495.

Jürgens, K., Güde, H. 1994. The potential importance of grazing-resistant bacteria in planktonic systems. Mar. Ecol. Prog. Ser. 112, 169-188.

Jürgens, K., Pernthaler, J., Schalla, S., Amann, R. 1999. Morphological and compositional changes in a planktonic bacterial community in response to enhances protozoan grazing. Appl. Environ. Microbiol. 65, 1241-1250.

Keer, J.T., Birch, L. 2003. Molecular methods of bacterial viability. J. Microbiol. Methods 53, 175-183.

Kepner, R.L., Pratt, J.R. 1994. Use of fluorochromes for direct enumeration of total bacteria in environmental samples: past and present. Microb. Rev. 58, 603-615.

Lampert, W. 1978. Released of dissolved organic carbon by grazing zooplankton. Limnol. Oceanogr. 23, 831-834.

Lebaron, P., Servais, P., Baudoux, A.C., Bourrain, M., Courties, C., Parthuisot, N. 2002. Variations of bacterial-specific activity with cell size and nucleic acid content assessed by flow cytometry. Aquat. Microb. Ecol. 28, 131-140.

Lee, S.H., Fuhrman, L. 1987. Relationship between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton. Appl. Environ.Microb. 53, 1298-1303.

Lizon, F., Seuront, L., Lagadeuc Y. 1998. Photoadaptation and primary production study in a tidally-mixed coastal waters using a lagrangian model. Mar. Ecol. Prog. Ser. 169, 43-54.

Maillard-Quisthoudt, C. 1988. Environnement physique et chimique, productivité primaire phytoplanctonique et bactérienne dans le détroit du Pas de Calais. Ph.D. Thesis, Univ. Lille Flandres Artois, France, unpublished.

Moriarty, D.J.W. 1986. Measurement of bacterial growth rates and production of biomass in aquatic environments. In: Grogorova, R., Norris, J.R. (Eds.), Methods in Microbiology. Academic press, Boca Raton, pp. 211-234.

Naganuma, T. 1996. Differential enumeration of intact and damaged marine planktonic bacteria based on cell membrane integrity. J. Aquat. Ecosyst. Health 5, 217-222.

Naganuma, T., Miura, S. 1997. Abundance, production and viability of bacterioplankton in the Seto Inland Sea, Japan. J. Oceanogr. 53, 435-442.

Parsons, T.R., Maita, Y., Lalli, C.M. 1984. Photosynthesis as measured by the uptake of radioactive carbon. In Parsons, T.R. (Ed.), A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, pp. 115-120.

Pomeroy, L.R. 1974. The ocean's food web, a changing paradigm. Bioscience 24, 499-504.

Porter, K.G., Feig, Y.S. 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. Limnol. Oceanogr. 25, 943-948.

Quéric, N.-V., Soltwedel, T., Arntz, W.E. 2004. Application of a direct viable count method to deep-sea sediment bacteria. J. Microbiol. Methods 57, 351-367.

Rodriguez, G.G., Phipps, D., Ishiguro, K., Ridgway, H.F. 1992. Use of fluorescent redox probe for direct visualization of actively respiring bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 58, 1801-1808.

Schumann, R., Schiewer, U., Karsten, U., Rieling, T. 2003. Viability of bacteria from different aquatic habitats. II. Cellular fluorescent markers for membrane integrity and metabolic activity. Aquat. Microb. Ecol. 32, 137-150.

Sherr, E.B., Sherr, B.F., Verity, P.G. 2002. Distribution and relation of total bacteria, active bacteria, bacterivory, and volume of organic detritus in Atlantic continental shelf waters off Cape Hatteras NC, USA. Deep-Sea Res. 49, 4571-4585.

Shiah, F.K., Chen, T.Y., Gong, G.C., Chen, C.C., Chiang, K.P., Hung, J.J. 2001. Differential coupling of bacterial and primary production in mesotrophic and ologotrophic systems of the East China Sea. Aquat. Microb. Ecol. 23, 273-282.

Sorokin, Y.I. 1999. Aquatic microbial ecology. Backhuys Publishers, Leiden, 248 pp.

Steemann Nielsen, E. 1952. The use of radioactive carbon (^{14}C) for measuring organic production in the sea. J. Cons. Int. Explor. Mer. 18, 117-140.

Stelfox-Widdicombe, C.E., Archer, S.D., Burkill, P.H., Stefels, J. 2004. Microzooplankton grazing in *Phaeocystis* and diatom-dominated waters in the southern North Sea in spring. J. Sea Res. 51, 37-51.

Strickland, J.D.H., Parsons, T.R. 1972. A practical hanbook of seawater analysis. Bull. Fish. Res. Bd. Can. 167, 311 pp.

Thingstad, T.F. 1998. A theorical approach to structuring mechanisms in the pelagic food web. Hydrobiologia 363, 59-72.

Van Wambeke, F., Christaki, U., Bianchi, M., Psarra, S., Tselepides, A. 2000. Heterotrophic bacterial production in the Cretan Sea (NE Mediterranean). Prog. in Ocean. 46, 205-216.

Van Wambeke, F., Heussner, S., Diaz, F., Raimbault, P., Conan, P. 2002. Small scale variability in the coupling/uncoupling of bacteria, phytoplankton and organic fluxes along the continental margin of the Gulf of Lions, Northwestern Mediterranean Sea. J. Mar. Syst. 33-34, 411-429.

Williams, S.C., Hong, Y., Danavall, D.C.A., Howard-Jones, M.H., Gibson, D., Frischer, M.E., Verity, P.G. 1998. Distinguishing between living and nonliving bacteria: Evaluation of the vital stain propidium iodide and its combined use with molecular probes in aquatic samples. J. Microb. Meth. 32, 225-236.

Yentz, C.S., Menzel, D.W. 1963. A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. Deep-Sea Res. 10, 221-231.

Zweifel, U.L., Hagström, A. 1995. Total counts of marine bacteria include a large fraction of non-nucleoid containing bacteria (ghosts). Appl. Environ. Microbiol. 61, 2180-2185.

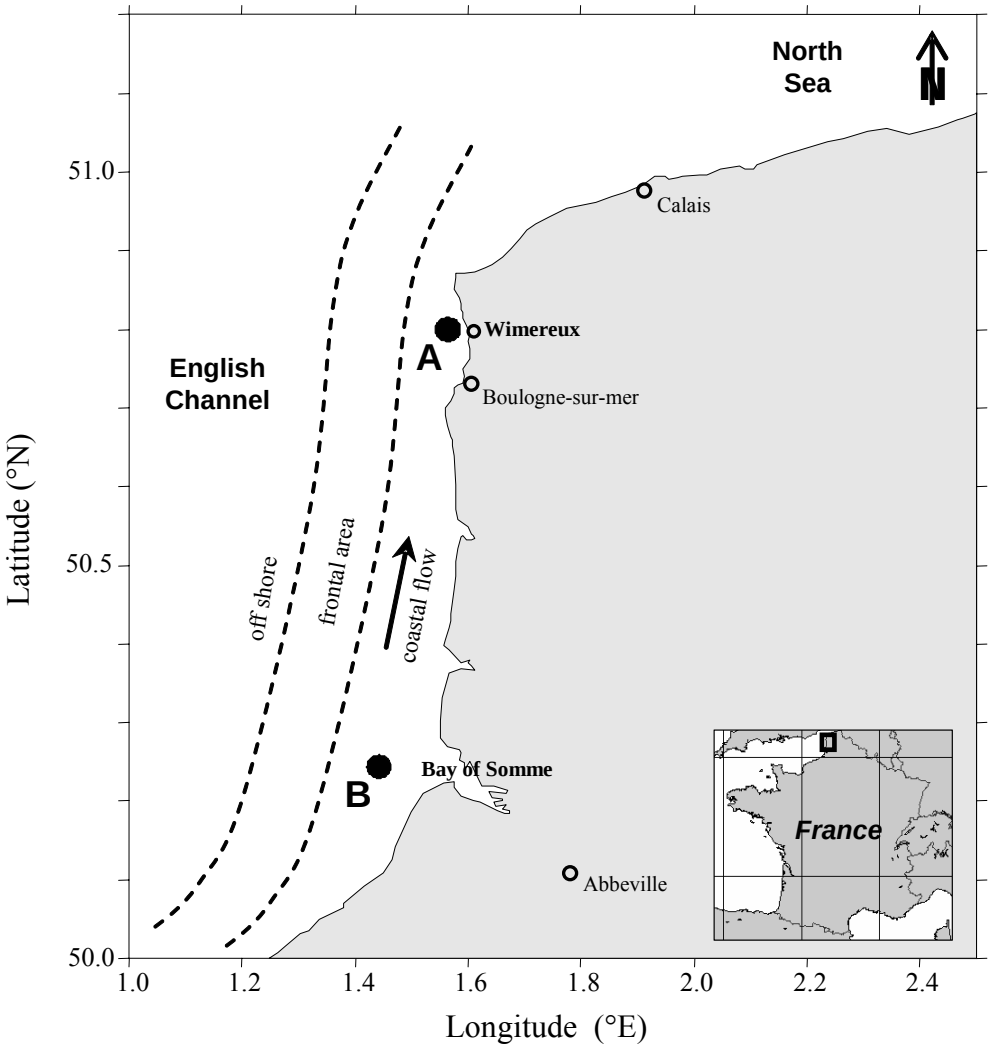


Figure 1 : Study area and locations of the two sampling sites; Station A (northern site) off Wimereux coast and Station B (southern site) in the Bay of Somme, eastern English Channel, France. The map shows the inshore and offshore waters of the eastern English Channel and the arrow represents the residual circulation of the coastal water masses.

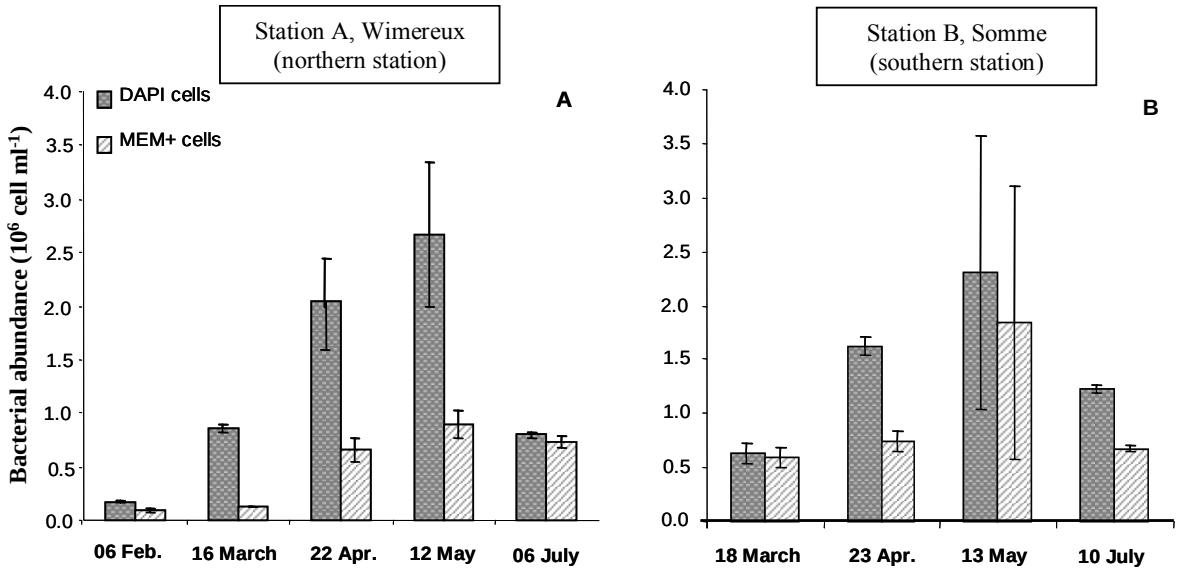


Figure 2 : Seasonal trends of mean bacterial abundances (10^6 cell ml^{-1}) for stations A (Fig. 3A) and B (Fig. 3B) from February to July 2003.
Dotted bars on figures A and B correspond to DAPI-cell number and dashed bars to MEM+-cell number. Error bars represent standard deviation for triplicates.

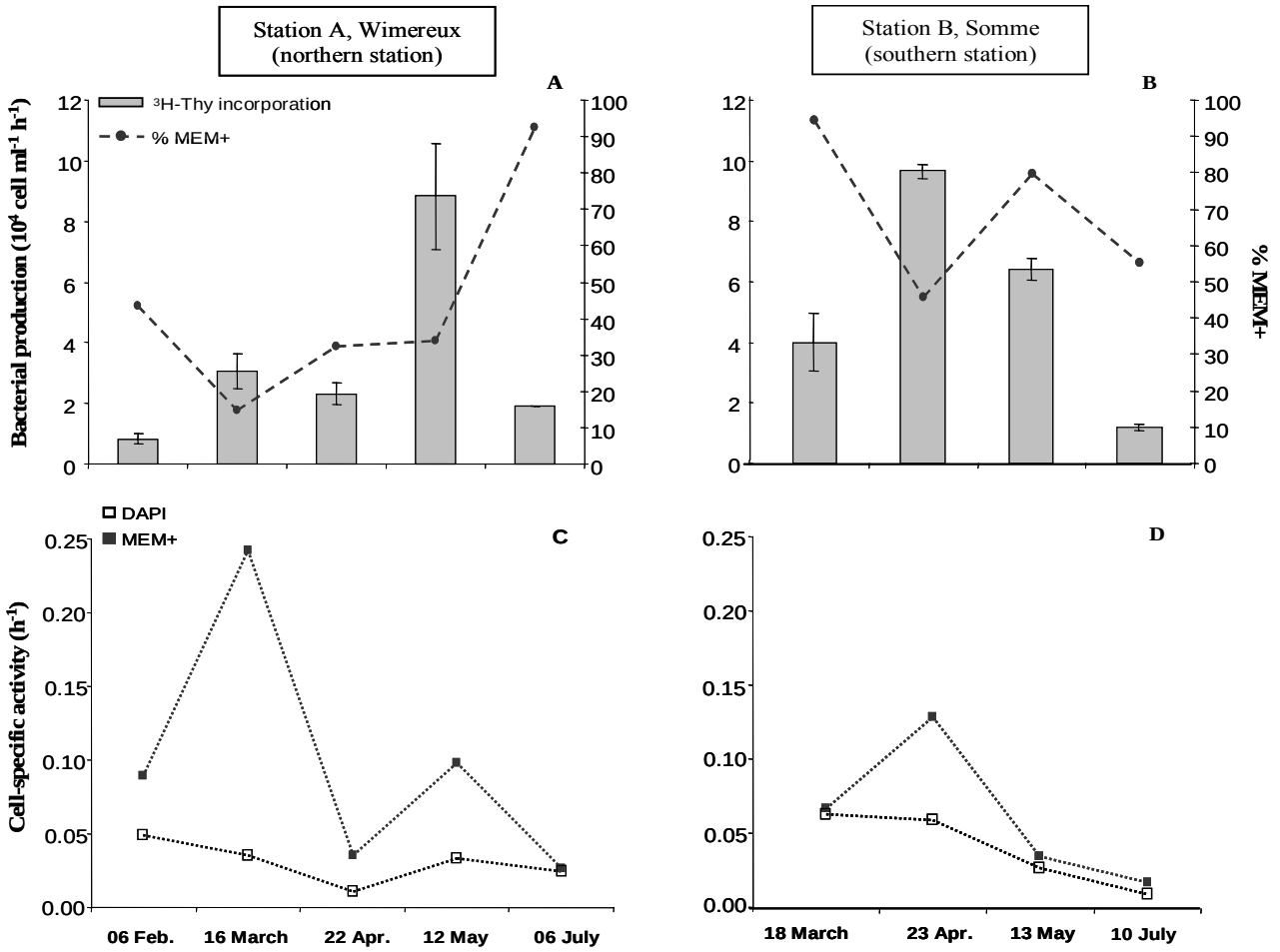


Figure 3 : Seasonal evolution of mean bacterial production (^{3}H-Thymidine incorporation, in 10^4 cell ml^{-1} h^{-1}, grey bars), percent of MEM+ cells (%, circles) and cell-specific activity (h^{-1}, squares) for sites A (Fig. 4A, 4C) and B (Fig. 4B, 4D) from February to July 2003. Empty squares on figures C and D correspond to DAPI-cell-specific activity and full squares to MEM+-cell-specific activity. Error bars represent standard deviation for triplicates.

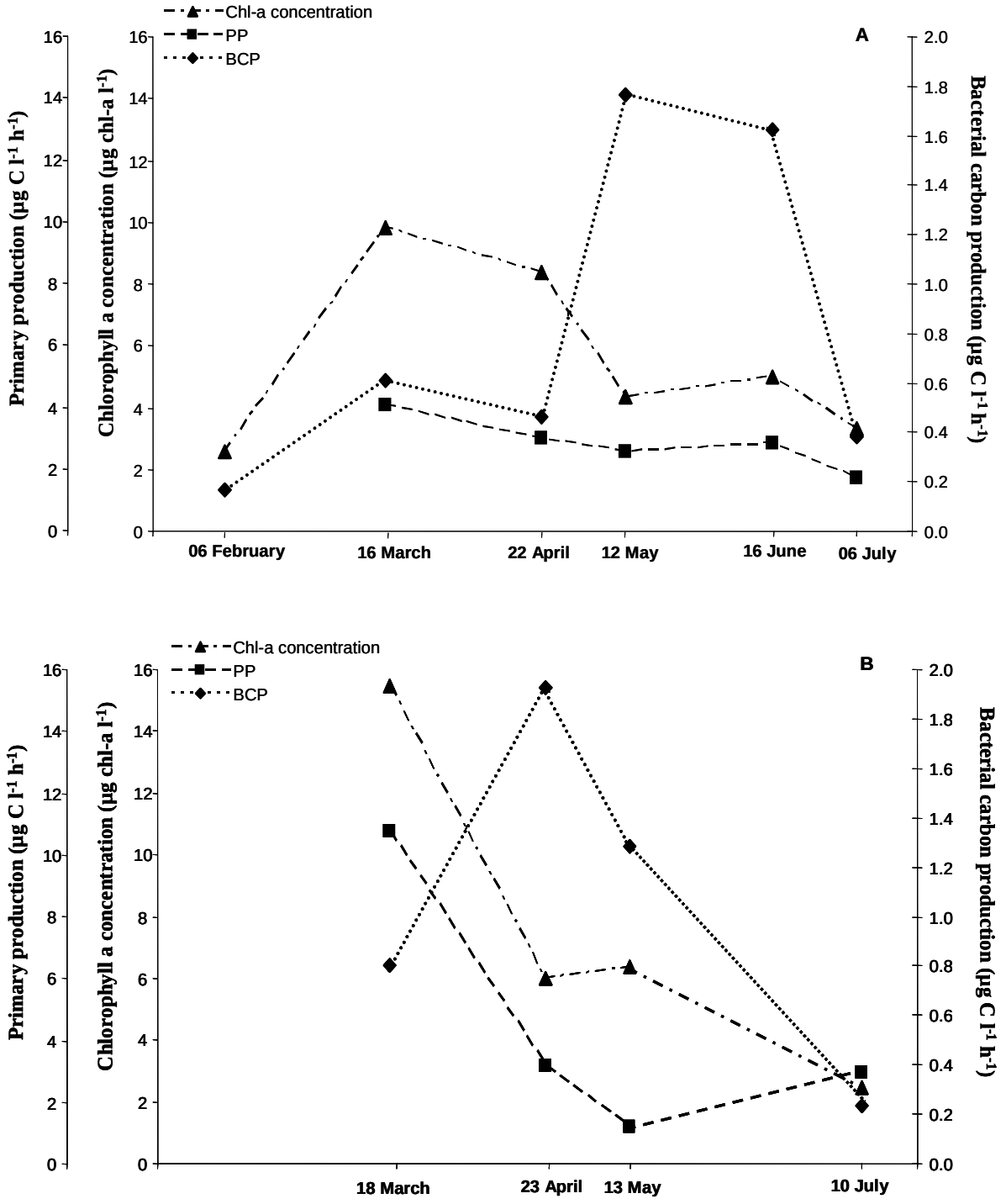


Figure 4 : Seasonal variation of primary production (µg C l^{-1} h^{-1}, squares), chlorophyll *a* concentrations (µg chl-*a* l^{-1}, triangles) and mean bacterial carbon production (µg C l^{-1} h^{-1}, rhombus) for sites A (Fig. 5A) and B (Fig. 5B) from February to July 2003.

Table 1. Linear regression analysis results (model 2) for bacterial parameters (dependent variables) and phytoplankton-related variables (independent variables). Intercept and slope represented the parameters of the linear regressions. R^2 represented the determination coefficient and n the number of values used for each regression.
BCP : Bacterial Carbon Production; PP : Primary Production; Chl-*a* : chlorophyll *a* concentrations; $B\mu_{DAPI}$: DAPI-cell-specific production; $B\mu_{MEM+}$: MEM+-cell-specific production.

Period[a]	**Intercept**	**Slope**	**R^2**	**n**[b]
log BCP *vs* log PP				
Bloom	ns	ns	ns	12
Post-Bloom	-0.56	1.15	0.49*	7
log BCP *vs* log Chl-*a*				
Bloom	ns	ns	ns	14
Post-Bloom	-1.78	2.81	0.86**	7
log $B\mu_{DAPI}$ *vs* log Chl-*a*				
Bloom	ns	ns	ns	12
Post-Bloom	-2.78	2.20	0.91***	7
log $B\mu_{MEM+}$ *vs* log Chl-*a*				
Bloom	ns	ns	ns	10
Post-Bloom	x	x	x	4

$^{*}p < 0.05$; $^{**}p < 0.01$; $^{***}p < 0.001$; ns = non-significant at p = 0.05 level
[a] As the linear regressions for log $B\mu_{DAPI}$ and log $B\mu_{MEM+}$ with PP are insignificant for both bloom and post-bloom conditions, they are not presented.
[b] An off-shore station within each site was taken into account for this analysis to increase the number of data points used for each regression.

Table 2. Literature review of total bacterial abundance (10^6 cell ml^{-1}) and percentage (%) of viable and intact cells determined via their membrane integrity in aquatic systems. EFM states for EpiFluorescence Microscopy and FCM for Flow CytoMetry.

Study location	**Bacterial abundance (10^6 cell ml^{-1})**	**Intact-to-total (%; range of values)**	**Markers applied**	**Method used**	**Source**
Coastal site, Oregon	0.1 - 1.3	9 - 34	PI / SYTO 9	EFM	Choi et al., 1996
Coastal site, Seto Inland Sea, Japan	0.56 - 2.8	49.3 - 65.2	PI / SYTO 9	EFM	Naganuma, 1996
Coastal site, Seto Inland Sea, Japan	0.4 - 2.2	61.8 - 75.1	PI / SYTO 9	EFM	Naganuma and Miura, 1997
Coastal site, W Seto Inland Sea of Japan	1.1 - 4.2	40.5 - 86.4	PI / SYTO 9	EFM	Decamp and Rajendran, 1998
Coastal site, Northwestern Mediterranean Sea	0.35 – 4.4	60 (mean)	PI / SYTO 9	EFM	Gasol et al., 1999
Lake waters, Kinneret, Israel	2.2 - 13.0	1.0 - 29.9	PI / SYTO 9	EFM	Berman et al., 2001
Coastal site, Northwestern Mediterranean Sea	494 - 887	41 - 62	PI / SYBR Green II	FCM	Grégori et al., 2001
Coastal site, Northwestern Mediterranean Sea	0.251 - 0.887	41.0 - 96.7	PI / SYBR Green II	FCM	Grégori et al., 2003
Freshwater systems, Germany	4.4 - 10.9	42 - 70	PI / SYTO 9	EFM	Schumann et al., 2003
Estuarine sites, Southern Baltic Sea	8.7 - 24.1	52 - 76	PI / SYTO 9	EFM	Schumann et al., 2003
Coastal sites, Southern Baltic Sea	1.2 - 2.8	22 -81	PI / SYTO 9	EFM	Schumann et al., 2003
Coastal site, eastern English Channel (Station A, North)	0.17 - 2.66	14.75 – 92.24	PI / SYTO 9	EFM	This study
Coastal site, eastern English Channel (Station B, South)	0.63 - 2.3	45.77 - 94.36	PI / SYTO 9	EFM	This study

II. Quelles proportions de cellules sont réellement actives ? Etude de cas lors d'une situation post- bloom de *P. globosa*

La première partie de ce chapitre suggère que d'importantes quantités de matière organique d'origine phytoplanctonique sont utilisées, après le déclin de *P. globosa*, *via* la production bactérienne hétérotrophe. Au regard des résultats LIVE/DEAD®, cette forte reminéralisation bactérienne est assurée par une faible fraction de cellules particulièrement productives. Cependant, les fractions bactériennes révélées par coloration au LIVE/DEAD® comprennent à la fois les cellules actives et potentiellement actives. Il s'est alors avéré indispensable :

- de déterminer quelles sont les proportions en cellules les plus actives, représentées par les cellules au génome de plus grande taille, et quelle est leur réponse au sein de l'écosystème en situation de post-bloom de *P. globosa*,
- et de comparer ces résultats à ceux révélés par le LIVE/DEAD®, afin de savoir si les deux fractions de cellules représentent les mêmes sous-populations bactériennes.

II.1. Matériels et Méthodes

II.1.1. Détermination des différentes fractions bactériennes

Les échantillons ont été prélevés en situation de post-bloom de *P. globosa* et bloom de Diatomées (juin 2004 ; voir Partie II Chapitre III) au cours des campagnes océanographiques de l'année 2004 décrites précédemment (Partie II – Introduction § II), selon :

- une radiale côte – large, à Wimereux (18 juin) et en baie de Somme (22 juin),
- un suivi de bouée dérivante, sur les sites de Wimereux et de la baie de Somme (le 19 juin sur 16h de suivi et le 21 juin sur 23h, respectivement).

Deux méthodes de coloration des cellules bactériennes, appliquées en microscopie à épifluorescence et en cytométrie en flux, ont été utilisées et comparées.

II.1.1.1. Méthode LIVE / DEAD

La méthode de coloration au LIVE/DEAD® (Decamp et Rajendran, 1998) a été mise en oeuvre afin de déterminer la fraction de cellules intactes[4] (*i.e.* viables) après comptage des cellules marquées en microscopie. Cette méthode utilise deux colorants fluorescents des

[4] Le terme « MEM+ » se référera dans la suite de la partie III aux abondances en cellules bactériennes intactes déterminées en microscopie.

acides nucléiques, le SYTO 9, et l'iodure de propidium (PI). Ces colorants sont différents dans leurs caractéristiques spectrales et dans leur capacité à pénétrer les cellules bactériennes intègres. Le SYTO 9 traverse toutes les membranes cellulaires, et colore à la fois ADN[5] et ARN[6]. Le PI s'intercale entre les molécules d'acides nucléiques (ADN et ARN) et colore principalement les acides nucléiques des cellules dont la membrane est endommagée. Il y a donc une compétition entre les deux colorants pour les sites de coloration des acides nucléiques (Howard-Jones *et al*., 2001). La présence de PI dans la cellule bactérienne cause un transfert d'énergie, par résonance, de la fluorescence déjà en place due au SYTO 9. Le protocole, appliqué sur des triplicats d'échantillons, est le même que celui décrit dans la section précédente (Partie III § I ; Lamy *et al.,* JSR, *sous presse*). Seules les cellules à membrane intacte (MEM+) ont été comptées, par souci de compromis entre le nombre important d'échantillons à analyser et la méthode de comptage par microscopie. Parallèlement, le protocole de coloration au DAPI, appliqué en routine dans la partie II (Chapitre I § I.2.2), est également utilisé ici afin d'obtenir les abondances bactériennes totales[7] par comptage en microscopie. Ainsi, il sera possible de déterminer les pourcentages de cellules viables (%MEM+) par rapport à la communauté bactérienne totale (DAPI), même si les deux méthodes de coloration sont indépendantes. Il est à préciser qu'il ne s'agit pas d'une double coloration d'un même échantillon, mais de deux colorations de deux aloquots d'un même échantillon.

II.1.1.2. Méthode SYBR Green II

A - Principe de la méthode

La méthode de coloration au SybrGreen® II a été appliquée en cytométrie sur les mêmes triplicats d'échantillons afin de déterminer les fractions cellulaires à haut et faible contenus en acides nucléiques, correspondant aux fractions de cellules plus et moins actives, respectivement (Li *et al.,* 1995 ; Jellett *et al.,* 1996 ; Gasol *et al.,* 1999 ; Lebaron *et al.,* 2001, 2002).

Les populations bactériennes sont discriminées par leurs caractéristiques de taille et de fluorescence. Pour chaque cellule bactérienne, cinq paramètres optiques sont enregistrés :

[5] ADN ou Acide Désoxyribonucléique
[6] ARN ou Acide Ribonucléique.
[7] Le terme « DAPI » se référera dans la suite de la partie III aux abondances totales déterminées en microscopie.

- deux paramètres de diffraction, l'un relié à la taille des cellules analysées (« Forward Angle Scatter », ou FW-SC) et l'autre lié à la structure cellulaire (« Right Angle Scatter », ou RT-SC),
- trois paramètres de fluorescence, mesurant les émissions dans les longueurs d'onde correspondant au rouge (> 620 nm), orange (565 – 592 nm) et vert (515 – 530 nm).

La reproductibilité de comptage (< 3% d'erreur) est testée régulièrement sur une large gamme de concentrations (Grégori *et al.*, 2001).

L'analyse en cytométrie en flux permet de discriminer deux principales sous-populations bactériennes sur la base de l'intensité de coloration de leurs acides nucléiques (fluorescence verte GR-FL), et du signal RT-SC (Figure III.3). Ces sous-populations sont nommées HNA (« High Nucleic Acid content ») et LNA (« Low Nucleic Acid content »), pour leur haut et faible contenu respectif en acides nucléiques. Les abondances en cellules totales[8] déterminées par cytométrie, correspondent à la somme des cellules HNA et LNA. L'analyse en cytométrie en flux ne permet pas d'identifier les espèces bactériennes présentes, et les sous-populations identifiées peuvent être composées de plusieurs espèces différentes (Zubkov *et al.*, 2001 ; Longnecker *et al.*, 2005).

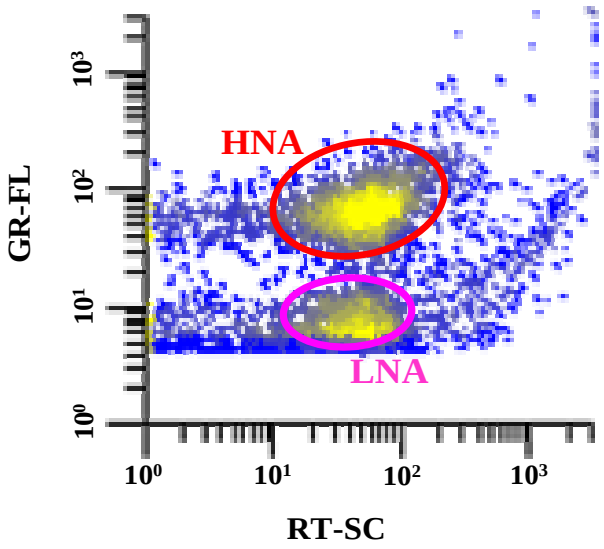


Figure III.3 **:** Cytogramme représentant la fluorescence verte (GR-FL) en fonction du signal RT-SC (diffusion à angle droit) et permettant la discrimination de deux sous-populations bactériennes, à haut contenu en acides nucléqiues (HNA) et à faible contenu en acides nucléiques (LNA).

[8] Le terme « totales » se référera dans la suite de la partie III aux abondances bactériennes totales déterminées en cytométrie (HNA + LNA).

B – Mise en oeuvre

Les échantillons (3 mL, triplicats pour chaque point de prélèvement) sont fixés avec du paraformaldéhyde (concentration finale de 2%, Troussellier *et al*., 1999), puis congelés à bord dans de l'azote liquide. Ils sont par la suite stockés à -80°C dans l'attente de leur analyse en cytométrie en flux (Cytoron Absolute, ORTHO Diagnostic Systems), au Centre d'Océanologie de Marseille[9]. La coloration des acides nucléiques bactériens s'effectue, à l'obscurité pendant 15 min, par ajout d'une solution de SybrGreen® II (Molecular Probes®, dilution au 1/5000 dans la solution finale) aux échantillons d'eau de mer (volume échantillon = 250 µL) dilués pour éviter la saturation du cytomètre. Une solution de billes de calibrage (15 billes.μL^{-1} ; ∅ = 1 µm) est systématiquement ajoutée à chaque échantillon analysé, et tous les paramètres cytométriques mesurés ont été normalisés par rapport à cette concentration en billes et à la fluorescence associée.

Les données sont collectées et traitées avec le logiciel Immunocount (Ortho Diagnostic System) qui permet d'obtenir directement la concentration cellulaire des différentes sous-populations bactériennes. La présentation des données cytométriques et la visualisation des sous-populations bactériennes sont réalisées grâce au logiciel WinMDI (voir Figure III.3).

II.1.2. Production bactérienne

La méthode de mesure de la production bactérienne (PB) utilisée est celle par incorporation de ^{3}H-Thymidine décrite par Fuhrman et Azam (1982) et Bell (1993). Le protocole est le même que celui précisé en partie II (chapitre I § I.2.3.3).

II.1.3. Concentration en chlorophylle *a*

La méthode employée met en œuvre la fluorimétrie avant et après acidification d'un extrait chlorophyllien (Yentsch et Menzel, 1963). Le protocole est le même que celui décrit en partie II (chapitre I § I.2.1).

[9] Analyses réalisées en collaboration avec Mélilotus Thyssen (doctorante) et Michel Denis (DR2) au centre d'Océanologie de Marseille – Université de la Méditerrannée.

II.1.4. Analyses statistiques

Dans un premier objectif de comparaisons inter-sites, le test de Wilcoxon-Mann-Withney (W-M-W) a été appliqué sur l'ensemble des mesures d'abondance (totales, HNA, LNA, DAPI, MEM+) et de production bactériennes et sur celles de concentration en chlorophylle *a*.

Le test de Friedman a été utilisé afin de comparer les niveaux d'abondance et de production bactériennes mesurés toutes les 3h au cours des suivis de masse d'eau, à Wimereux et en baie de Somme.

Les différences côte/large sur les estimations HNA, LNA et PB ont été mises en évidence par un test de Kruskall-Wallis (K-W).

Enfin, les relations entre les différentes fractions bactériennes mesurées, ainsi que la relation de chacune de ces fractions avec les concentrations en chlorophylle *a* ont été calculées par le coefficient de corrélation de Spearman (coefficient ρ ; voir Partie II chapitre I § II.3.3).

II.2. Résultats

II.2.1. Dynamique spatiale : gradient côte / large

Les abondances totales et HNA présentent un gradient côte/large décroissant significatif, sur les deux sites d'étude (K-W, $p < 0,05$; Figures III.4.A et III.4.B). Les densités bactériennes sont donc jusqu'à deux fois plus importantes à la côte qu'au large et cette différence est due à des concentrations côtières plus fortes en cellules HNA (*i.e.* actives). Elles atteignent en effet plus de 3,00 x 10^6 cell.mL^{-1} en zone côtière des deux sites d'étude, alors qu'elles sont estimées à 1,25 x 10^6 cell.mL^{-1} au large. En revanche, il n'existe pas, pour les cellules LNA (*i.e.* moins actives), de différence côte/large significative sur les deux sites d'étude (K-W, $p > 0,05$) : l'abondance moyenne est de 0,45 ± 0,11 x 10^6 cell.mL^{-1} à Wimereux et de 0,39 ± 0,07 10^6 cell.mL^{-1} en Somme (Figures III.4.A et III.4.B)

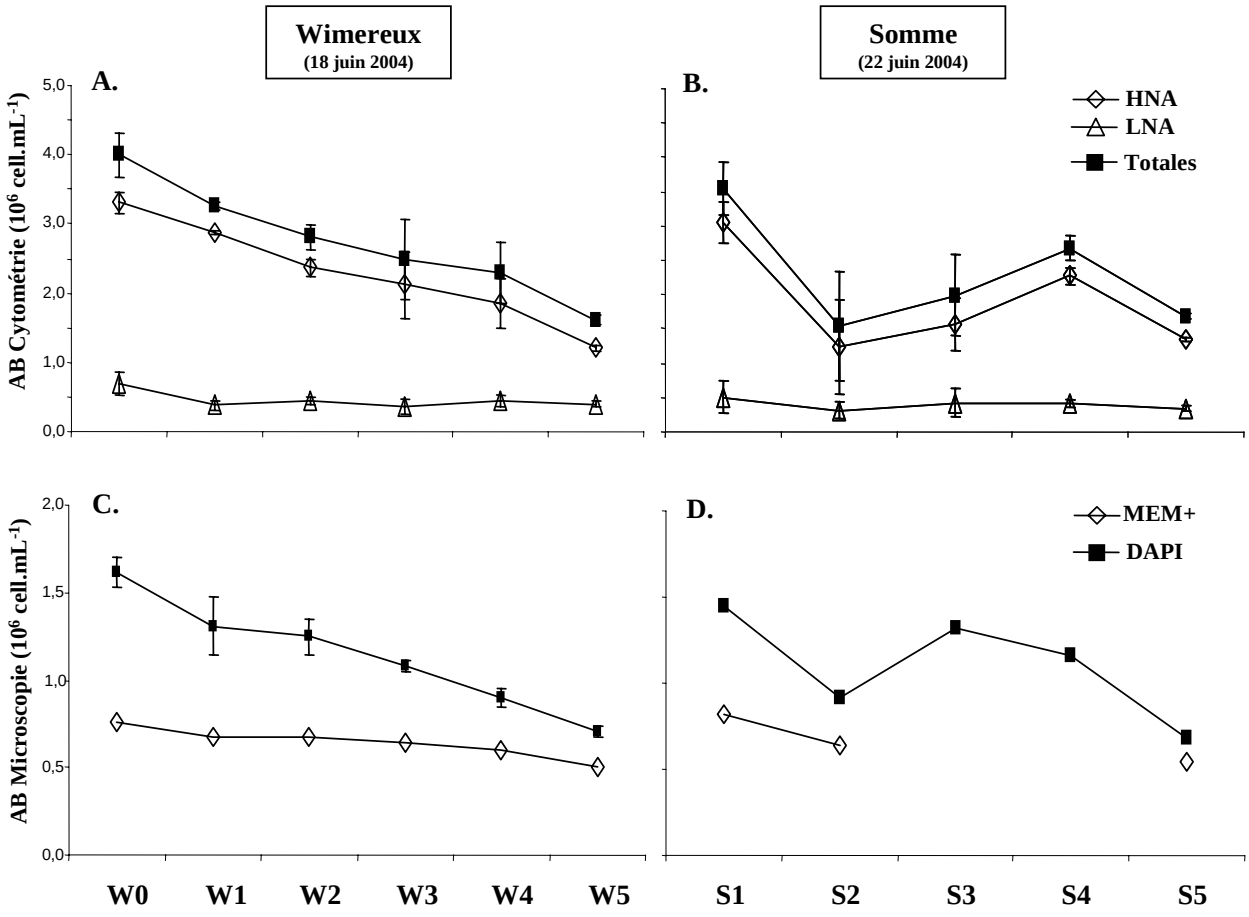


Figure III.4 : Evolution spatiale des différentes fractions bactériennes (abondance, AB) mesurées sur une radiale côte (R0 ou R1) /large (R5) à Wimereux et en baie de Somme. **A & B** : abondances en HNA, LNA, et totales en cytométrie en flux, à Wimereux (A) et en Somme (B) ; **C & D** : abondances en MEM+ et DAPI en microscopie à épifluorescence, à Wimereux (C) et en Somme (D). Notez la différence d'échelle entre les comptages faits en microscopie (C & D) et les estimations réalisées en cytométrie (A & B). Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types.

Les différences côte/large sont moins nettes sur les comptages en microscopie (Figures III.4.C et III.4.D) ; toutefois, les abondances DAPI sont plus fortes à la côte qu'au large, en raison de densités côtières en cellules viables (MEM+) plus élevées. Les abondances totales DAPI sont proches de 1,50 x 10^6 cell.mL^{-1} à la côte sur les deux sites, et comprennent jusqu'à plus de 0,75 10^6 cell.mL^{-1} de cellules MEM+ (Figures III.4.C et III.4.D). Au large, 0,70 x 10^6 cell.mL^{-1} en cellules DAPI comprennent jusqu'à 0,50 x 10^6 cell.mL^{-1} de cellules MEM+. En revanche, et malgré des abondances MEM+ plus élevées à la côte, les proportions en cellules MEM+ sont plus faibles à la côte qu'au large (Figures III.4.C et III.4.D).

A l'instar des abondances en cellules actives et viables, les productions bactériennes montrent un gradient décroissant côte / large significatif, sur les deux sites d'étude (K-W, $p < 0,05$; Figure III.5). Les valeurs sont comprises entre 5,69 (large) et 14,14 (côte) x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} sur le site de Wimereux, et entre 3,17 et 21,01 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} en baie de Somme. Les concentrations en chlorophylle *a* suivent la même variabilité spatiale sur le site de Wimereux, et sont de 6,40 µg Chl-*a*.L^{-1} à la côte et de 1,78 µg Chl-*a*.L^{-1} au large (Figure III.5). En revanche, le gradient côte/large est croissant sur le site de la baie de Somme, avec 2,72 µg Chl-*a*.L^{-1} en zone côtière et 5,74 µg Chl-*a*.L^{-1} au large (Figure III.5).

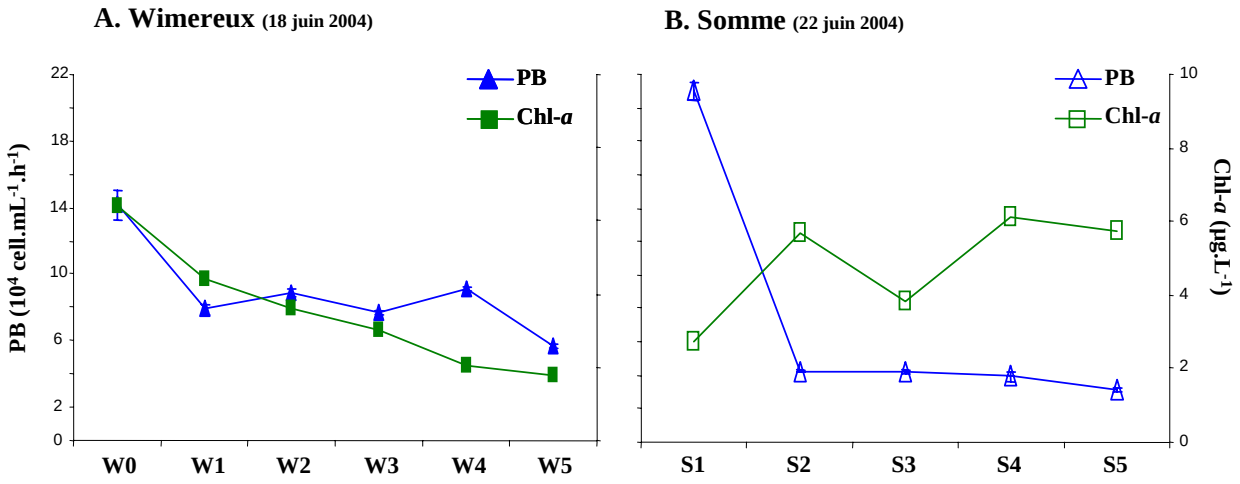


Figure III.5 : Evolution spatiale des productions bactériennes (PB) et des concentrations en chlorophylle *a* (Chl-*a*) mesurées sur une radiale côte (R0 ou R1) / large (R5). **A.** Wimereux ; **B.** baie de Somme. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types mesurés sur les productions bactériennes.

II.2.2. Evolution temporelle: suivi de la dérive lagrangienne d'une masse d'eau

Les suivis d'abondance bactérienne sur 16h (Wimereux) et 23h (Somme) de dérive de masse d'eau (Figure III.6) ne montrent pas de différences significatives entre les différents moments de la journée (Friedman, $p > 0,05$), quelle que soit la fraction bactérienne considérée (totales, HNA, LNA, MEM+ et DAPI). Les comparaisons inter-sites des valeurs moyennes d'abondance journalière de cellules LNA ($0,50 \pm 0,05 \times 10^6$ cell.mL^{-1}) ne révèlent aucune différence significative entre Wimereux et la Somme (W-M-W, $p > 0,05$; Figures III.6.A et III.6.B).

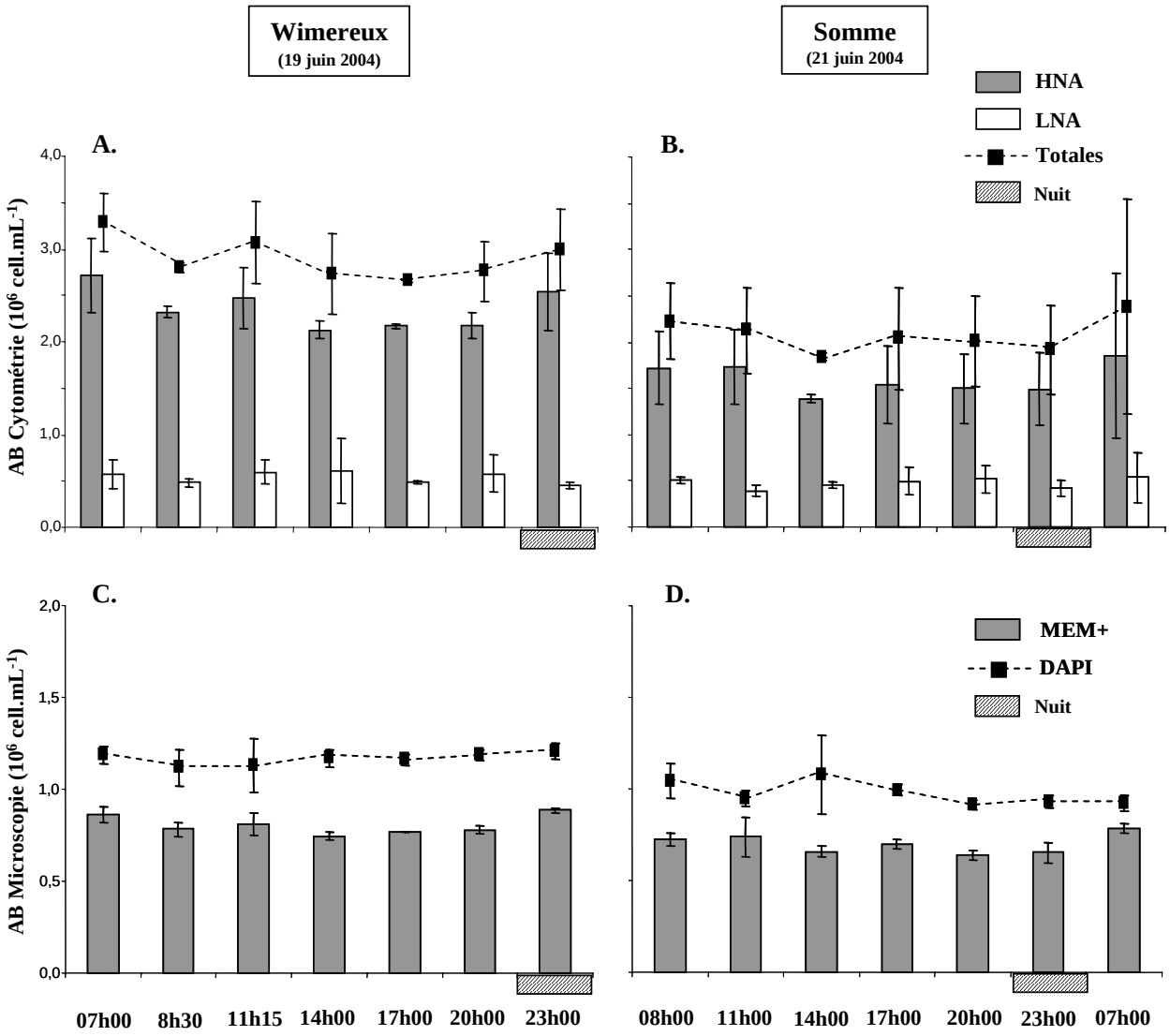


Figure III.6 : Evolution journalière des différentes fractions bactériennes (abondance, AB, 10^6 cell.mL^{-1}) mesurées au cours d'une dérive de masse d'eau à Wimereux et en baie de Somme. **A & B** : abondances en HNA, LNA, et totales en cytométrie en flux, à Wimereux (A) et en Somme (B) ; **C & D** : abondances en MEM+ et DAPI en microscopie à épifluorescence, à Wimereux (C) et en Somme (D). Notez la différence d'échelle entre les comptages faits en microscopie (C & D) et les estimations réalisées en cytométrie (A & B). Les barres d'erreur correspondent aux écart-types.

En revanche, pour les cellules HNA et MEM+ (*i.e.* cellules actives et viables, respectivement) les abondances mesurées sur Wimereux sont significativement supérieures à celles de la baie de Somme (W-M-W, $p < 0,05$). Les mesures de cytométrie indiquent que les abondances moyennes en cellules HNA atteignent 2,36 ± 0,22 et 1,60 ± 0,17 x 10^6 cell.mL^{-1} sur les sites de Wimereux et de la baie de Somme, respectivement (Figures III.6.A et III.6.B). Par comptages en microscopie à épifluorescence, des concentrations moyennes en cellules MEM+ de 0,80 ± 0,05 x 10^6 cell.mL^{-1} sont mesurées sur le site de Wimereux, contre 0,68 ± 0,05 x 10^6 cell.mL^{-1} en Somme (Figures III.6.C et III.6.D). Il est intéressant de noter que la variabilité de mesure sur nos triplicats d'échantillons est supérieure en cytométrie (CV = 0,5 – 56,0 %) par rapport à la microscopie (CV = 0,3 – 20,0 %).

A l'instar des abondances en cellules actives et en cellules viables, la production bactérienne moyenne mesurée à Wimereux est significativement supérieure à celle mesurée en baie de Somme (W-M-W, $p < 0,001$). En revanche, et inversement aux abondances bactériennes, les productions bactériennes sont significativement différentes au cours de la journée, sur les deux sites d'étude (comparaison intra site, Friedman, $p < 0,01$; voir aussi Partie II – Chapitre 3). Elles sont comprises entre 5,78 et 10,66 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} à Wimereux et entre 2,87 et 4,83 x 10^4 cell.mL^{-1}.h^{-1} en baie de Somme (Figure III.7).

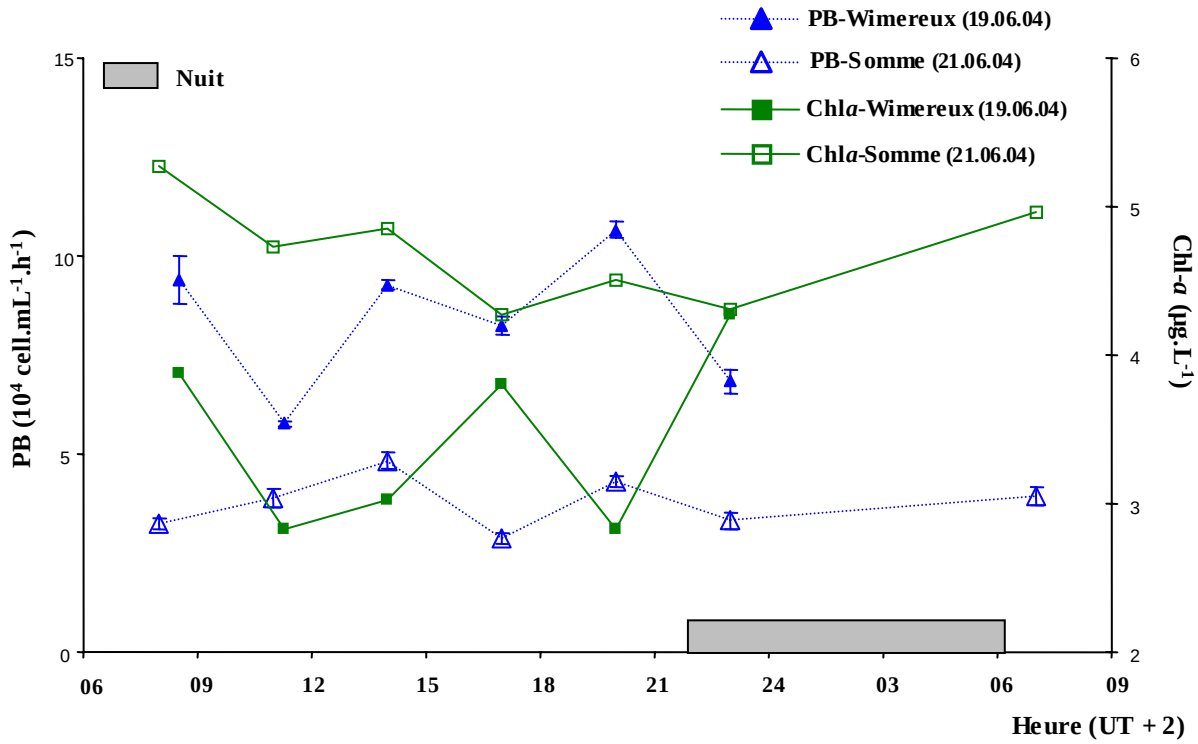


Figure III.7 **:** Evolution des productions bactériennes (PB) et des concentrations en chlorophylle *a* (Chl-*a*) au cours d'une dérive de masse d'eau à Wimereux (figurés pleins) et en baie de Somme (figurés vides). Les barres d'erreur correspondent aux écart-types mesurés sur les productions bactériennes.

Contrairement à l'ensemble des paramètres bactériens, les concentrations en chlorophylle *a* sont plus élevées en baie de Somme que sur le site de Wimereux (W-M-W, $p < 0,002$). Elles varient peu au cours de la journée (voir Partie II, Chapitre IV, § III.2.2), et sont comprises entre 2,83 et 4,27 $\mu g.L^{-1}$ à Wimereux et entre 4,27 et 5,28 $\mu g.L^{-1}$ en Somme (Figure III.7).

II.2.3. Comparaison des différentes fractions bactériennes

Une dominance de la fraction HNA par rapport à la fraction LNA est observée en juin 2004, que ce soit sur les suivis de dérive de masse d'eau ou sur les radiales côte/large, tous sites confondus (Tableau III.1). En effet, entre 53 et jusqu'à plus de 99% de la population bactérienne totale est représentée par la fraction HNA (*i.e.* active). En moyenne, les cellules HNA représentent entre 70 et 83% de la population totale. Des proportions similaires sont retrouvées en cellules MEM+ (*i.e.* viables), avec des pourcentages compris entre 47 et 85%, et des proportions moyennes de 58 à 72%, à peine inférieures à celles en cellules HNA (Tableau III.1).

En outre, les abondances en cellules MEM+ sont significativement corrélées avec celles en cellules HNA, aussi bien sur les dérives ($r = 0,92$; $n = 14$; $p < 0,001$) que sur les radiales ($r = 0,86$; $n = 9$; $p < 0,01$), tous sites confondus (Figure III.8.A), alors qu'aucune relation significative ne les lie avec les abondances en cellules LNA ($p > 0,1$; Figure III.8.B). Les abondances totales, déterminées d'une part en cytométrie et d'autre part en microscopie après coloration par le DAPI sont également corrélées significativement (Figure III.8.C), à la fois sur les dérives ($r = 0,87$; $n = 14$; $p < 0,001$) et sur les radiales ($r = 0,79$; $n = 11$; $p < 0,01$).

Les pentes des droites de corrélation ont été déterminées à partir des données log-transformées (Tableau III.2), afin d'être comparables avec celles de la littérature (*e.g.* Gasol *et al.,* 1999). Elles sont de 0,43 et 0,74 pour la corrélation DAPI / Totales, sur les dérives et les radiales, respectivement. Des valeurs de pente de 0,49 (radiales) et 0,42 (dérives) ont été obtenues à partir de la corrélation MEM+ / HNA.

Tableau III.1 **:** Moyennes et gammes de variation des proportions (% par rapport au total) des fractions HNA et MEM+ à Wimereux et en baie de Somme, en juin 2004, sur les dérives et les radiales côte / large.

	HNA[a]		**MEM+[b]**	
	Wimereux	**Somme**	**Wimereux**	**Somme**
Radiales	83 (75 – 88)	82 (80 – 86)	58 (47 – 71)	69 (57 – 80)
Dérives	81 (69 – 93)	70 (53 – 99)	69 (63 – 73)	72 (61 – 85)

[a] les proportions sont calculées sur les abondances totales déterminées en cytométrie.
[b] les proportions sont calculées sur les abondances totales déterminées par coloration au DAPI en microscopie.

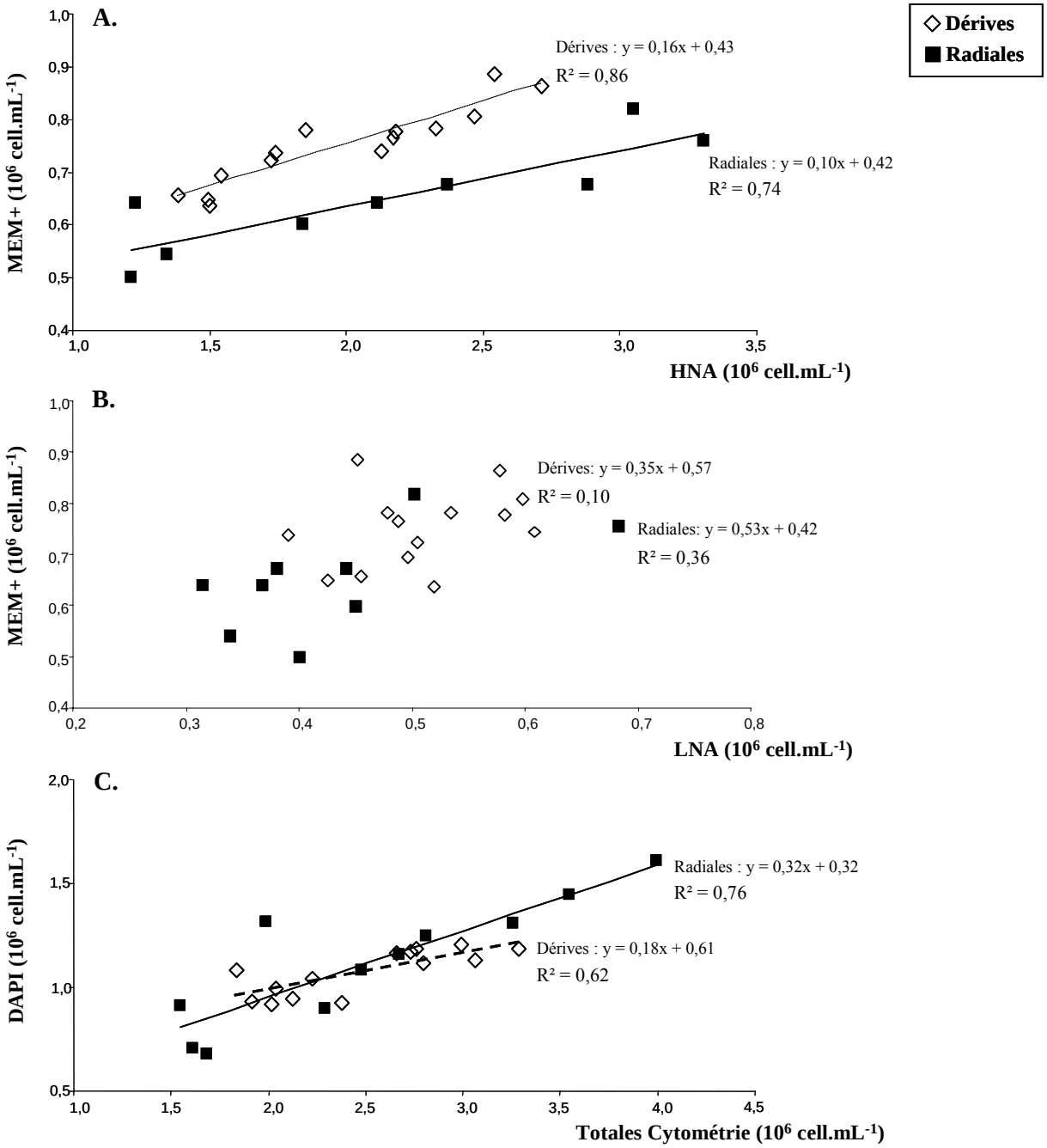


Figure III.8 **:** Corrélations entre les abondances des différentes sous-populations bactériennes, déterminées par microscopie et cytométrie, sur les dérives (losanges) et les radiales (carrés), sites de Wimereux et Somme confondus. **A.** MEM+ / HNA ; **B.** MEM+ / LNA ; **C.** DAPI / Totales déterminées par cytométrie (HNA + LNA). Les équations des droites de corrélation et les coefficients de corrélation sont indiquées sur chaque graphe.

Tableau III.2 : Pentes des droites de corrélation (MEM+/HNA ; MEM+/LNA ; DAPI/Totales) obtenues à partir des **données log-transformées** (d'après Gasol *et al.,* 1999) et coefficients de corrélation associés.

Corrélation	Dérives		Radiales	
	pente	R^2	pente	R^2
MEM+ / HNA	0,42	$0,87^{***}$	0,49	$0,71^{***}$
MEM+ / LNA	0,37	n.s.	0,24	n.s.
DAPI / Totales	0,43	$0,61^{***}$	0,74	$0,73^{***}$

*** $p < 0,001$; n.s. = non significatif.

L'importance relative du contrôle par la ressource (« bottom-up control » dans la littérature anglo-saxonne) ou par la prédation (« top-down control ») des différentes sous-populations bactériennes est estimée d'après l'approche suggérée par Billen *et al.* (1990b ; voir aussi Partie II Chapitre 3 § III.3) sur l'ensemble des données acquises sur les sites de Wimereux et de la baie de Somme, sur les radiales et les dérives, en juin 2004. Seules les régressions linéaires impliquant les abondances en cellules totales, HNA et DAPI sont significatives (Figures III.9). Les variations de la production bactérienne n'expliquent cependant que 54% des variations d'abondance des cellules totales (par cytométrie) et HNA et 38% seulement des variations d'abondance des cellules DAPI. Les pentes des droites de régression sont comprises entre 0,24 (DAPI) et 0,40 (HNA ; Figure III.9). Aucune corrélation significative ne semble exister entre les abondances en cellules LNA et MEM+ et la production bactérienne (Figure III.9).

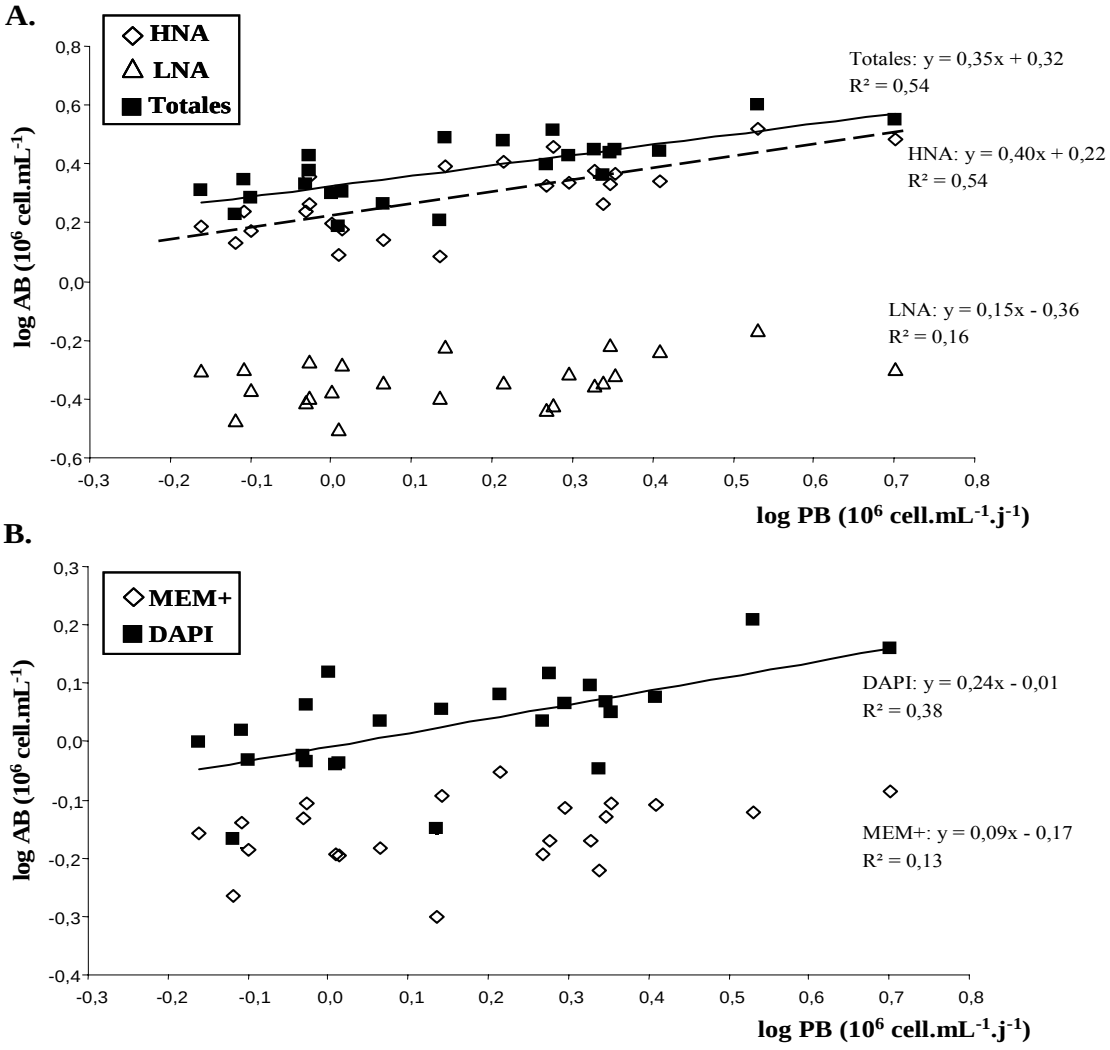


Figure III.9 : Régression linéaire entre l'abondance des différentes fractions bactériennes (variable dépendante, AB) et la production bactérienne (variable indépendante, PB). **A.** Cytométrie ; **B.** Microscopie. Les équations des droites de régression sont données sur le graphe.

En considérant la ressource phytoplanctonique, représentée essentiellement par les concentrations en chlorophylle *a*, aucune corrélation ne la lie de manière significative avec les abondances des différentes fractions bactériennes sur l'ensemble des données acquises en juin 2004 ($p > 0,5$).

II.3. Discussion

II.3.1. Considérations méthodologiques : comptages bactériens totaux.

Les comptages bactériens déterminés par microscopie et cytométrie en juin 2004 sur les sites de Wimereux et de la baie de Somme montrent une corrélation significative (Figure III.8.C), avec des valeurs de pentes comprises entre 0,43 et 0,74 (données log-transformées, Tableau III.2). Ces résultats confirment ceux de précédentes études, qui supportent une même corrélation entre ces deux méthodes, à partir de différents colorants d'acides nucléiques (Li *et al.,* 1995 ; Lebaron *et al.,* 1998 ; Trousselier *et al.,* 1999 ; Jochem, 2001). Les deux méthodes ont donné, sur les deux sites d'étude et lors des deux types de campagnes (radiales et dérives) des comptages totaux raisonnablement proches (ordre de grandeur identique, ~ 10^6 cell.mL^{-1}). Toutefois, nos valeurs de pentes inférieures à l'unité, également trouvées dans d'autres études comparatives (Lebaron *et al.,* 1998 ; Gasol *et al.,* 1999), peuvent être expliquées par une certaine sous-estimation de l'abondance bactérienne totale en microscopie. Les comptages en microscopie sont en outre connus pour être moins précis que ceux en cytométrie (Gasol *et al.,* 1999 ; Jochem, 2001) puisqu'un nombre relativement modeste de cellules peut être compté (Venrick, 1978). A l'inverse, la cytométrie permet la distinction des bactéries hétérotrophes, des virus (Marie *et al.,* 1997), des procaryotes photohétérotrophes (Kolber *et al.,* 2000), des cyanobactéries (Campbell *et al.,* 1994), de *Prochlorococcus* sp. (Sieracki *et al.,* 1995) et de *Synechococcus* sp. (Li *et al.,* 1995 ; voir Gasol et del Giorgio, 2000 pour revue). Si la microscopie a pu sous-estimer les abondances totales par rapport à la cytométrie, nos comptages totaux en cytométrie ont également pu être surestimés étant donné le peu de différenciation observée entre les cellules LNA et le bruit cytométrique (voir cytogramme Figure III.3 ; M. Thyssen, comm. pers.). De plus, les coefficients de variation (CV, %) observés sur les comptages en cytométrie peuvent être jusqu'à 2 fois plus élevés que ceux des comptages en microscopie, signe d'une plus grande variabilité dans les estimations

cytométriques certainement liée au faible volume d'échantillon (250µL en cytométrie contre 2 mL en microscopie) analysé.

Forts de ces constatations entre microscopie et cytométrie, nous pourrons comparer les proportions relatives des différentes fractions estimées au cours de cette étude, et discuterons de leur pertinence et rôle écologiques, dans un contexte de fin de bloom de *P. globosa* et de bloom de Diatomées (juin 2004).

II.3.2. Caractérisation des différentes sous-populations bactériennes identifiées

Bactéries HNA & LNA. L'analyse cytométrique associée à un fluorochrome d'acides nucléiques couramment utilisé (SYBR Green II, Gasol *et al.,* 1999 ; Grégori *et al.,* 2001, 2003 ; Lebaron *et al.,* 1998 ; 2001, 2002 ; Thyssen *et al.,* 2005) met ici en évidence deux sous-populations distinctes, sur la base de paramètres de diffraction de la lumière et de fluorescence différents (Figure III.3). Ces deux sous-populations, représentées par des cellules à fort contenu en acides nucléiques (HNA) et d'autres à plus faible contenu (LNA), sont généralement celles retenues et caractérisées dans les environnements aquatiques (Li *et al.,* 1995 ; Gasol *et al.,* 1999). Les proportions moyennes par site en cellules HNA sont comprises dans notre étude entre 70 et 83%, et peuvent représenter jusqu'à 99% de la population totale (Tableau III.1). Ces pourcentages se situent plutôt dans la marge supérieure des observations de précédentes études, qui comptent entre 40 et 80% de cellules HNA (Lebaron *et al.,* 2001 ; Gasol *et al.,* 1999 ; Seymour *et al.,* 2004, 2005), mais sont proches des estimations (62 – 90%) faites par Longnecker *et al.* (2005) dans une zone côtière eutrophe de l'Oregon (Newport). Nos résultats d'analyse cytométrique tendent donc à montrer que les populations bactériennes de la Manche orientale sont plutôt caractéristiques d'environnements côtiers particulièrement riches en matières et éléments nutritifs.

Les proportions moyennes en cellules LNA restent comprises entre 17 et 30% de la population totale, et la fraction LNA est celle qui présente le moins de variabilité le long du gradient trophique côte / large de nos deux sites d'étude (Figure III.4). Ces observations rejoignent celles de précédentes études, où les distributions des bactéries LNA restent relativement constantes, sur une même échelle spatiale que la nôtre (Li *et al.,* 1995 ; Button *et al.,* 1996, Jellett *et al.,* 1996 ; Yanada *et al.,* 2000 ; Jochem, 2001 ; Wetz et Wheeler, 2004 ; Sherr *et al.,* 2006) mais également à micro-échelle (Seymour *et al.,* 2004). Les cellules LNA,

disposant d'un génome plus petit, seraient davantage adaptées à des environnements pauvres en MO et en sels nutritifs (Zubkov *et al.,* 2004 et références citées), tels que l'océan ouvert (Longnecker *et al.,* 2005) ou les eaux plus profondes (au-delà de 100m de profondeur, Thyssen *et al.,* 2005), où elles peuvent jouer un rôle important au sein de la boucle microbienne (Zubkov *et al.,* 2001 ; Jochem, 2001 ; Thyssen *et al.,* 2005 ; Sherr *et al.,* 2006). Dans l'environnement côtier de la Manche orientale, elles ne semblent pas entrer en compétition avec les cellules HNA, dès lors que leurs proportions sont plus restreintes et constantes.

Fractions bactériennes HNA et MEM+. Un des objectifs de cette étude était de savoir si l'application de deux fluorochromes sensibles à différents états physiologiques bactériens donne les mêmes proportions de cellules bactériennes actives ou intactes, et donc si les fractions HNA et MEM+ représentent les mêmes sous-populations bactériennes. Comme des proportions similaires en cellules HNA et MEM+ sont observées au cours des suivis lagrangiens sur les deux sites d'étude, confirmant les observations de Gasol *et al.* (1999) en mésocosme sur des eaux côtières méditerranéennes, cela suggère que les deux fractions représentent les mêmes sous-populations. Les proportions en cellules MEM+ observées sur nos sites d'étude sont cohérentes avec celles observées sur d'autres sites côtiers (voir Partie III Chapitre I, Lamy *et al., sous presse*). En outre, la corrélation est hautement significative entre les fractions HNA et MEM+, à la fois sur les radiales et les dérives (Figure III.8.A), tous sites confondus, alors qu'aucune relation ne lie les cellules LNA et MEM+ (Figure III.8.B). Les fractions HNA et MEM+ incluraient alors les mêmes cellules, confirmant que les cellules HNA sont des cellules viables (Gasol *et al.,* 1999). Les pentes des droites de corrélation HNA/MEM+ inférieures à l'unité (0,49 et 0,42 sur les dérives et les radiales, respectivement ; données log-transformées, Tableau III.2), peuvent être expliquées par (i) une éventuelle sous-estimation des comptages bactériens par microscopie (Venrick, 1978 ; Gasol *et al.,* 1999 ; Jochem, 2001), déjà évoquée précédemment et (ii) le protocole de double coloration du LIVE/DEAD® qui implique une « absorption », par transfert d'énergie, de la fluorescence d'un fluorochrome (SYTO9) par l'autre (PI ; Gasol *et al.,* 1999 ; Howard-Jones *et al.,* 2001). Par ailleurs, une étude récente en milieu riche en matières particulaires (eaux usées, sédiments ; Biggerstaff *et al.,* 2006) souligne que ces deux fluorochromes pourraient adhérer aux particules et substrats organiques présents dans l'échantillon, et ainsi générer de l'auto fluorescence parasite ou au contraire diminuer, par absorption, l'intensité de coloration des cellules visualisées par microscopie. Toutefois, les méthodes diffèrent fondamentalement

dans ce qu'elles mesurent réellement, et aucun consensus n'a encore été trouvé pour savoir si les résultats peuvent être strictement comparables (Gasol *et al.,* 1999 ; Joux et Lebaron, 2000 ; Schumann *et al.,* 2003).

II.3.3. Quels sont les rôles écologiques des cellules HNA et MEM+ ? Réponse des bactéries HNA et MEM+ au sein de l'écosystème Manche orientale en situation de post-bloom de *P. globosa*

Les cellules HNA sont systématiquement les plus représentées au sein des populations totales bactériennes de la Manche orientale, en période de post-bloom, et ces fortes abondances sont associées aux plus fortes valeurs de production bactérienne. En effet, les plus forts niveaux de production observés sur le site de Wimereux par rapport au site de la baie de Somme (Figure III.7), et sur les sites côtiers par rapport à ceux du large (Figure III.5), peuvent être expliqués par de plus fortes abondances en cellules HNA et MEM+ (Figures III.6 et III.4, respectivement). De plus, abondances en cellules HNA et production bactérienne sont significativement corrélées sur les radiales et les dérives, tous sites confondus (Figure III.9.A). Ces résultats permettent de formuler l'hypothèse que les cellules HNA représenteraient, dans notre étude, les membres les plus actifs des communautés bactériennes en présence, et seraient responsables de la plus grande part de la production globale mesurée. De nombreuses études, réalisées à la fois en conditions expérimentales (mésocosmes) et *in situ*, suggèrent en effet que les différences observées dans les paramètres de diffraction et de fluorescence sont reliées à différentes activités cellulaires individuelles, où les cellules HNA constituent la fraction active des communautés bactériennes et celle responsable de la majeure partie de la production globale de ces communautés, tandis que les cellules LNA semblent représenter les cellules en dormance (Li *et al.,* 1995 ; Jellett *et al.,* 1996 ; Gasol *et al.,* 1999, 2002 ; Servais *et al.,* 1999, 2003 ; Yanada *et al.,* 2000 ; Lebaron *et al.,* 2001 ; Vaqué *et al.,* 2001 ; Longnecker *et al.,* 2005). Ces cellules HNA sont donc capables de répondre rapidement à d'importants apports en MO (Jürgens *et al.,* 2000 ; Thyssen *et al.,* 2005) de nature aussi bien labile que réfractaire (Zubkov *et al.,* 2004 ; Longnecker *et al.,* 2005).

Leur développement et leur croissance seraient alors favorisés sur nos sites côtiers, bénéficiant, en période de post-bloom de *P. globosa* et de bloom de Diatomées, de diverses sources de MO :

- sources directes, tels que les produits d'excrétion des cellules algales vivantes, de petit comme de plus gros poids moléculaire (Fogg, 1977, 1983 ; Lancelot, 1984 ; Bjørnsen, 1988 ; Myklestad, 1995 ; Biersmith et Benner, 1998, Slawyck *et al.,* 1998 ; Bronk et Ward, 1999) ;
- sources indirectes, incluant les produits issus du broutage zooplanctonique (Jumars *et al.,* 1989 ; Strom *et al.,* 1997), le carbone organique dissous (COD ; Møller *et al.,* 2004) labile issu de l'hydrolyse des cellules sénescentes (Carlson *et al.,* 1996), les matières organiques particulaires (MOP) et colloïdes issus de la lyse cellulaire (Ducklow *et al.,* 1995), incluant la lyse virale (Baines et Pace, 1991).

S'il est clair que le groupe HNA comprend les cellules participant à la production globale de la communauté bactérienne sur nos sites d'étude, l'absence de données couplant le marquage des cellules bactériennes au SYBR Green II par cytométrie et la mesure de l'activité individuelle de ces mêmes bactéries marquées (e.g. Servais *et al.,* 1999 ; Troussellier *et al.,* 1999 ; Bernard *et al.,* 2000 ; Lebaron *et al.,* 2002) ne nous permet pas de conclure que toutes les cellules HNA sont les plus actives. En effet, de 7 (Troussellier *et al.,* 1999) à 14 (Lebaron *et al.,* 2002) sous-populations d'activité spécifique différentes ont été identifiées parmi l'ensemble des cellules HNA, soulignant l'existence d'un *continuum* d'activités au sein du groupe HNA.

En moyenne journalière, jusqu'à 81% de cellules HNA et 72% de cellules MEM+ (Tableau III.1) sont retrouvées au sein d'une même masse d'eau, en période de post-bloom de *P. globosa*. Ainsi, la MO issue du bloom phytoplanctonique semble avoir stimulé spécifiquement les cellules viables et actives (Schumann *et al.,* 2003 ; Grégori *et al.,* 2003 ; Wetz et Wheeler, 2004 ; Longnecker *et al.,* 2005), et certainement celles capables de dégrader les substrats organiques et inorganiques disponibles (Schumann *et al.,* 2003). Néanmoins, en l'absence de corrélation entre les concentrations en chlorophylle *a* et les fractions HNA et MEM+, et également en l'absence de données de production primaire et d'excrétion phytoplanctonique, il est difficile d'évaluer si la cause principale de stimulation des populations bactériennes viables et actives en situation de post-bloom est l'apport direct de MO par excrétion et/ou lyse phytoplanctonique. D'autres sources de MO semblent en effet être impliquées dans la stimulation des populations bactériennes : les sources allochtones provenant des effluents expliquent aussi (i) pourquoi la production bactérienne est maximale à

la côte en baie de Somme, directement sous influence de l'estuaire, et (ii) pourquoi les abondances moyennes en cellules viables et actives sont plus importantes à Wimereux, site qui intègre, *via* le fleuve côtier, des apports fluviatiles en provenance du sud (Brylinski *et al.,* 1991). De plus, si les cellules actives et viables semblent être plus sujettes à la pression de prédation que les autres fractions cellulaires (Jürgens et Güde, 1994 ; Jürgens *et al.,* 1999 ; Sherr *et al.,* 2002), les prédateurs bactériens et phytoplanctoniques peuvent également être à l'origine d'apports significatifs de MO et de sels nutritifs (Nagata et Kirchman, 1991 ; Strom *et al.,* 1997 ; Thingstad, 1998 ; Møller *et al.,* 2004 ; Møller, 2005), et ainsi jouer un rôle dans le contrôle par la ressource (bottom-up control) des populations bactériennes HNA et MEM+. Le rôle important des prédateurs sur les communautés bactériennes a en effet été vérifié sur nos sites d'étude, en période de post-bloom : les variations en production bactérienne n'expliquent pas (absence de corrélation) ou peu (faibles pentes et R^2) les variations en abondances bactériennes, quelle que soit la fraction considérée (Figure III.9). Ceci implique que les fractions intactes, HNA, LNA et totales sont probablement davantage contrôlées par la pression de prédation que par la ressource (Billen *et al.,* 1990b). Des expériences complémentaires seront donc nécessaires pour quantifier les liens trophiques existant entre les flagellés et ciliés et les bactéries.

Si les proportions en cellules HNA et MEM+ sont similaires au sein d'une même masse d'eau, elles semblent différentes le long d'un gradient trophique (Tableau III.1), puisque les plus fortes proportions en cellules HNA sont retrouvées à la côte, alors que les pourcentages côtiers en cellules MEM+ sont plus faibles que ceux du large (Figure III.4), indiquant une proportion non négligeable, en zone côtière, de cellules dont la membrane est endommagée (MEM-). En effet, la somme des fractions cellulaires viables (MEM+) et non-viables (MEM-) doit correspondre aux abondances totales DAPI (Naganuma, 1996 ; Boulos *et al.,* 1998 ; Schumann *et al.,* 2003). Toutefois, les colorations DAPI et LIVE/DEAD ne correspondent pas à une double coloration d'un même échantillon, mais plutôt à deux colorations indépendantes d'un même réplicat d'échantillon, laissant supposer que la relation DAPI = MEM+ + MEM- n'est pas strictement vérifiée dans notre étude. Ces disparités observées dans les proportions HNA et MEM+ le long du gradient trophique côte/large ne peuvent pas a priori être expliquées si on considère que les deux fractions représentent les mêmes sous-populations bactériennes. Trouver à la fois une forte proportion de cellules dont la membrane est endommagée (MEM-) et de fortes proportions de cellules à fort contenu en matériel génétique (HNA) peut être néanmoins expliqué par une voie de transfert de matériel génétique *via* une

infection virale des cellules bactériennes (e.g. Fuhrman et Noble, 1995 ; Riemann *et al.,* 2000 ; Brussaard *et al.,* 2005a). En effet, les virus peuvent être des agents de transfert de matériel génétique entre micro-organismes (Chiura, 1997 ; Fuhrman, 2000), notamment par le processus de transformation. Ce processus consiste au largage dans le milieu d'ADN en provenance d'une cellule hôte lysée (perte de l'intégrité membranaire), qui pourra alors être récupéré et utilisé comme matériel génétique par une cellule intacte, augmentant ainsi le pool de cellules HNA.

Ainsi, la MO issue du bloom phytoplanctonique semble avoir stimulé spécifiquement les cellules viables et actives et certainement celles capables de dégrader les substrats organiques et inorganiques disponibles (Schumann *et al.,* 2003). Toutefois, seules des mesures d'activité exo-enzymatique de dégradation de la matière, en particulier celle protéique et polysaccharidique issue de *P. globosa*, nous permettront d'affirmer ou d'infirmer cette hypothèse (voir Chapitre II).

CHAPITRE II

Le chapitre précédent a montré que les bactéries des sites côtiers en Manche orientale ne sont pas toutes identiquement actives au sein des populations bactériennes. En effet, seule une proportion de ces populations serait responsable de l'activité globale mesurée. Cette proportion, représentée par les cellules HNA et MEM+, et par ailleurs variable dans le temps et dans l'espace, serait à l'origine de l'utilisation de la majeure partie des pools de MOD et MOP présentes dans le milieu.

Ayant alors précisé quelles fractions bactériennes pourraient être responsables de la production globale mesurée, et dans l'objectif de mieux comprendre l'utilisation bactérienne des différentes sources de MO du milieu, ce chapitre se propose d'estimer l'activité bactérienne de dégradation des MOD et MOP, principalement celles issues des proliférations phytoplanctoniques, en termes d'activités exo-enzymatiques protéolytique (EPA pour « exo-proteolytic activity ») et glytolytique (EGA pour « exo-glycolytic activity »).

Activités exoenzymatiques et production bactériennes au cours d'une succession phytoplanctonique en Manche orientale.

Résumé de l'article :

Une radiale côte – large a été échantillonnée en 2004 en Manche orientale, site d'un bloom printanier récurrent de *Phaeocystis globosa*, afin d'étudier (i) l'évolution de la dynamique bactérienne et (ii) le recyclage potentiel de la matière organique (OM), au cours d'une succession phytoplanctonique. La concentration en chlorophylle *a* (Chl-*a*), l'abondance (BA) et la production (BP) bactériennes, les activités exoprotéolytique (EPA) et exoglucosidique (EGA) ont été mesurées dans les eaux de surface entre février et juillet. La corrélation significative entre les deux activités exoenzymatiques (EEA) et les autres variables bactériennes met en évidence le rôle majeur des bactéries dans ces EEA mesurées au cours de notre étude. Les températures de surface, puis dans une moindre mesure le contenu en Chl-*a*, expliquent une forte proportion des variations en BP et BA. Inversement, les variations des EEA et EEA spécifiques sont d'abord, et principalement, expliquées par les variations en Chl-*a*. Ces résultats suggèrent une utilisation bactérienne de la matière organique d'origine phytoplanctonique de plus en plus efficace au cours du bloom algal printanier. De fait, les

niveaux d'activité et d'abondance bactériennes augmentent significativement, en réponse à une élévation de la température et à une augmentation des concentrations en biomasse phytoplanctonique. Cependant, une évolution significativement différente en EPA et EGA après la fin du bloom de *P. globosa* soutient les hypothèses (i) de changements de composition spécifique bactérienne et (ii) d'une forte adaptabilité des communautés bactériennes aux changements, à la fois quantitatifs et qualitatifs, de la matière organique disponible, au cours de la succession phytoplanctonique.

Exoenzymatic activities and bacterial production in the eastern English Channel during a phytoplankton bloom succession

D. Lamy [a *], V. Kowalski[a], L. F. Artigas[a], D. Delmas[b]

[a] UMR 8013 ELICO - M.R.E.N - Université du Littoral Côte d'Opale (ULCO)

32 av. Foch - 62230 Wimereux – France.

[b] CRELA L'HOUMEAU – CNRS / IFREMER – Case 5 – 17137 L'Houmeau – France

[*] Corresponding author: dominique.lamy@univ-littoral.fr

Keywords: Bacterial exoenzymatic activities / Bacterial production / Phytoplankton bloom succession / *Phaeocystis globosa* / Eastern English Channel.

ABSTRACT

To investigate the evolution of bacterial dynamics and potential organic matter (OM) recycling during a phytoplankton bloom succession, a transect from coastal to offshore surface waters was surveyed in the eastern English Channel, where recurring *Phaeocystis globosa* blooms occur in spring. Chlorophyll a concentration (Chl-*a*), bacterial abundance (BA), production (BP), exoproteolytic (EPA) and exoglucosidic activities (EGA) were measured from February to July 2004. Both exoenzymatic activities (EEA) significantly correlated with other bacterial variables suggesting the major contribution of bacteria to EEA in our study area. Temperature, followed by Chl-*a* content, was found to explain most of the variability of BP and BA. Conversely, variations of EEA and specific EEA were mainly explained by variations in Chl-*a* content, supporting an increase efficiency of phytoplankton-derived OM utilisation by bacteria over the course of the algal spring bloom. Levels of bacterial activities and abundance significantly increased during the *P. globosa* spring bloom, in response to increasing temperature and Chl-*a* content. Differential trends of EEA after the

bloom suggested (i) a shift in bacterial species dominance and (ii) a strong bacterial adaptability in response to changes in the OM supplies during the phytoplankton bloom succession.

INTRODUCTION

In aquatic systems, the organic fraction is mainly composed of dissolved organic matter (DOM) driven from primary production, cellular lysis and excretion (Münster and Chróst, 1990). OM undergoes different ways of transformation, degradation, mineralisation and uptake *via* heterotrophic microorganisms of the microbial food web, making it available to the higher trophic levels and sustaining the nutrient turnover, *via* the microbial loop (Azam et al., 1983). As 95 % of the total organic fraction is polymeric (Chróst, 1991), it must be hydrolysed by exoenzymes before uptake. Heterotrophic bacteria are known to significantly degrade OM through exoenzymatic activities and to use it for their organotrophic activities (secondary production, respiration; Azam et al., 1983; Somville and Billen, 1983; Hoppe, 1993; Bidle and Azam, 2001). Therefore they are responsible for the fate of most of the OM in aquatic systems.

The coastal waters of the eastern English Channel are the location of recurrent *Phaeocystis globosa* spring blooms, which usually occur after a silicate-controlled Diatom bloom (Lizon et al., 1998; Breton *et al.,* 2000). In this context, significant amounts of newly produced DOM accumulate during and after *Phaeocystis* blooms, especially during and after the gelatinous colonial phase of its life cycle (Van Boekel, 1992; Rousseau *et al.,* 1994) when thousands of cells are embedded in a polysaccharidic matrix (Lancelot and Rousseau, 1994; Thingstad and Billen, 1994; Van Rijssel et al., 2000). In this coastal ecosystem, the OM composition and the ecological processes are strongly modified, since *Phaeocystis*-derived organic matter constitutes new substrates able to support bacterial growth (Becquevort et al., 1998). Therefore, it can be hypothesised that these phytoplankton blooms stimulate the establishment of a very active microbial network in the coastal waters of the eastern English Channel, as stated by Becquevort et al. (1998) in the *Phaeocystis*-dominated Belgian coastal waters (Southern North Sea).

In order to test this hypothesis, we have measured *in situ* bacterial and environmental parameters in different water masses of the eastern English Channel from February to July 2004. The aims of the present study were (i) to investigate the evolution of bacterial parameters along a trophic gradient under different ecological conditions, (ii) to evaluate the contribution of bacteria to organic matter degradation, mainly before, during and after the

Phaeocystis globosa bloom period, in order to (iii) determine the processes controlling both bacterial productivity and bacterial exoenzymatic activities.

METHOD

Study area and sampling strategy

The study area was located in the eastern English Channel and corresponded to a transect of 6 stations (Fig. 1), situated off Wimereux coast (50°48'N 1°35'E – 50°48'N 1°24'E). This transect crossed a tidally controlled stratified frontal zone (Brylinski et al., 1996), which separated offshore from coastal water masses, each of them being generally considered to be homogeneous with respect to temperature and salinity profiles (Brylinski et al., 1991), and defined a trophic gradient (Gentilhomme and Lizon, 1998; Breton et al., 2000). Field sampling was conducted from February to July, at different periods corresponding to distinct ecological situations: before (February), during (April-May) and after (June-July) the period of the usual occurrence of *Phaeocystis* blooms (Gentilhomme and Lizon, 1998; Breton et al., 2000; Seuront et al., 2006). Sampling was always carried out in comparable tidal conditions (low tide). Surface water samples (1 m depth) were collected for *in situ* measurements of bacterial parameters (abundance, BA, production, BP, exoproteolytic and exoglucosidic activities, EPA, EGA), chlorophyll *a* (Chl-*a*) and major nutrients concentrations (NO_3^-, $Si(OH)_4$ and PO_4^{3-}). Measurements were realised at a semi-monthly frequency, from February to June for nutrients concentrations, and to July for hydrological conditions, Chl-*a*, BA and BP, whereas EGA and EPA measurements were performed 5 times throughout the survey at periods corresponding to the 3 bloom phases defined above.

Physico-chemical parameters

Hydrological conditions (temperature, T, and salinity, S) were obtained using a conductivity-temperature-depth profiling system (CTD Seabird® SBE 25). Nitrate (NO_3^-), silicate [$Si(OH)_4$] and phosphate (PO_4^{3-}) concentrations were determined from 100 mL samples with an Alliance® Integral Futura Autoanalyser II using the standard colorimetric methods of Grasshof et al. (1983).

Chlorophyll a concentrations and *P. globosa* bloom

For chlorophyll *a* (Chl-*a*) analyses, 0.5 to 1 L samples were filtered onto GF/F Whatman glass fibre filters which were immediately stored at –20 °C in the dark until processing in the laboratory. Filters were then grinded in 90% acetone and pigment extraction was performed

overnight at 4 °C (Strickland and Parsons, 1972). Chlorophyll *a* concentrations were determined by the fluorescent method of Yentsch and Menzel (1963) using a 10-AU Turner Designs© fluorometer. In our study Chl-*a* concentrations were used as a tracer of phytoplankton biomass and bloom intensity. During the same year, phytoplankton succession was shown to be composed of a major bloom of *P. globosa* (abundance of 0.8 to 5.5 x 10^6 cells; March 22 – June 02), preceded (February-March) and followed (June-July) by two distinct diatom assemblages (Seuront et al., 2006).

Bacterioplankton abundance and production

Subsamples for bacterial counts were immediately preserved in borate-buffered 0.2 µm pre-filtered formalin (3 % final concentration), and stored at 4 °C until return to laboratory. Bacteria were enumerated by the epifluorescence direct counting method (Leica Leitz DMR; 365 nm) after DAPI staining (4 µg mL^{-1} final concentration) following Porter and Feig (1980).

Total bacterial production was estimated from the rates of ^{3}H-Thymidine incorporation into bacterial DNA (Fuhrman and Azam, 1982). Natural water samples (3 replicates and 2 formalin-killed blank) were incubated in the dark at *in situ* surface temperature (in deck incubators) for 1.5 h using 20 nM ^{3}H-Thymidine as a final saturation concentration. Kinetic experiments were previously realised (i) to ensure that the concentration of added radiotracer was sufficient to prevent isotope dilution problems (Moriarty, 1986) and (ii) to determine relevant incubation time for the *in situ* level of activity. After incubation, samples were extracted with ice cold TCA (5 % final concentration) at 0 °C for 20 min. and filtered onboard onto 0.2 µm polycarbonate filters (Millipore Nucleopore, 25 mm diameter). The radioactivity associated to the filters was measured with a liquid scintillation counter (Wallak 14 – Perkin Elmer©). Bacterial cell production (BP) was obtained using a conversion factor of 2.1 x 10^{18} cells produced per mole of thymidine incorporated in the cold TCA insoluble material (Moriarty, 1986; Bell, 1993).

Exoenzymatic activities

Exoenzymatic activities (EEA) were measured in the unfiltered fraction. Thus, the enzymes considered are those located outside the cytoplasmic membrane (Chróst, 1989), are involved in polymer degradation and have been found to be dissolved in the water or adsorbed to dead or living particles (Chróst, 1989). EEA were measured using fluorogenic substrates analogs (Hoppe, 1993; Chróst, 1991; Delmas and Garet, 1995) for two exoenzymes: leucine

aminopeptidase (leu-Amp), representing general proteolytic activity (Hoppe et al., 1988), and β-glucosidase (βGlc,), reflecting hydrolysis of β-glycosidic bonds, which are characteristic of *Phaeocystis* polysaccharidic matrix (Lancelot and Rousseau, 1994; Thingstad and Billen, 1994). The L-leucine-4-methyl-coumarinylamide (leu-MCA, Sigma) was used to estimate the general potential exoproteolytic activity (EPA; Hoppe et al., 1988) of leu-Amp whereas the 4-methylumbelliferyl-β-D-glucopyranoside (MUF-G, Sigma) was used to estimate the potential βGlc activity (EGA). After substrates addition, 4 ml triplicates were incubated at *in situ* temperature in the dark during 5 h for EPA and 10 h for EGA to obtain a significant increase in the fluorescence yield. Controls in duplicates were run adding 0.4 ml of stopper solutions (Sodium Dodecyl Sulfate 10% and formaldehyde 37% for EPA and EGA, respectively, Delmas and Garet, 1995) before substrates addition. Each control sample was amended with fluorogenic analogs and was incubated in the same conditions as the living samples. The linearity of the reaction during the incubation periods was previously verified. The EPA and EGA were determined as the rate of hydrolysis of leu-MCA and MUF-G substrates by detecting the release of fluorescent products, *i.e.* 7-amino-4-methylcoumarin (AMC) and 4-methylumbelliferone (MUF), respectively. Then, fluorescence was measured with a fluoro-spectrometer (Hitachi F2500; excitation / emission of 380/440 nm for AMC and 364/460 nm for MUF) previously calibrated with standard solutions of MUF and MCA. Kinetic experiments were carried out to determine the saturating substrates concentration at each sampling period: 200 and 750 µM MUF-G final concentrations were used before the bloom and for the remaining periods, respectively, while 1250 µM leu-MCA final concentrations were used for all the cruises. Cell-specific exoenzymatic activities (EEAsp) were calculated by dividing each EEA by the bacterial cell number (BA), and were referred to as EGAsp (cell-specific exoglucosidic activity) and EPAsp (cell-specific exoproteolytic activity). Results are given as per-cell specific activities in amol MUF or MCA hydrolysed $cell^{-1}$ h^{-1}.

Statistical analyses

The method of regionalisation developed by Souissi et al. (2000) and based on multivariate cluster analysis was applied in order to obtain an optimal geographical division of the studied area. The complete time-series of hydro-biological variables (T, S, nutrients, Chl-*a*) were used in the analysis in order to identify the different zones along the studied transect.

Bacterial activities were compared before (02/15 – 03/12), during (03/26 – 05/24) and after (06/04 – 07/05) the *P. globosa* bloom applying a Kruskal-Wallis test (K-W) to the whole transect dataset of bacterial parameters (BP, BA, EEA and EEAsp). When differences were

significant, means were pair-tested using Wilcoxon-Mann Whithney tests (multiple comparison of mean ranks). Spearman correlations (ρ coefficient) were performed to identify statistically significant inter-relations among the different biological variables, and significant relations between biological and environmental parameters. The group-wide type-I error rate was evaluated using the sequential Hochberg test (Hochberg, 1988; Legendre and Legendre, 1998) and a table-wide significance level, α, of 0.05 (Rice, 1989). A multiple stepwise regression (with forward selection) was performed to identify major environmental or extrinsic factors controlling the variation of bacterial abundance (BA), production (BP), exoenzymatic activities (EGA and EPA) and cell-specific exoenzymatic activities (EGAsp and EPAsp). Temperature (T), salinity (S) and chlorophyll *a* concentrations (Chl-*a*) were used as independent variables. Collinearities in the independent variables were tested before running multiple stepwise regressions. The dependent and independent variables were log-transformed to meet the assumption of normality. These statistical analyses were achieved on the whole data set (*i.e.* including all stations of the transect), and were performed using the XLSTAT 7.5.3 package.

RESULTS

Regionalisation of the study transect

Four clusters of stations were identified after applying the regionalisation method of Souissi et al. (2000) to our data set (Fig. 2) and corresponded to four distinct zones: a littoral zone (R0), a coastal zone (R1), a central zone (including R2, R3 and R4) comprising the frontal area and an off-shore zone (R5). The coastal (R1) and off-shore (R5) stations located on both sides of the frontal zone were chosen to describe the temporal variability of the bacterial compartment in the eastern English Channel.

Physico-chemical conditions

Surface temperature followed a classical seasonal pattern characterised by minimum values in winter (6.1 and 7.8 °C at R1 and R5, respectively) and maximum values in summer (16.9 and 15.7 °C at R1 and R5, respectively; Fig. 3A and 3B). Surface coastal water salinity fluctuated between 33.8 in February and 34.3 in July (Fig. 3A). Off-shore surface salinity ranged from 34.4 (06/04) to 34.9 (02/15 and 05/07; Fig. 3B), and was always significantly higher than inshore (Wilcoxon-Mann Whitney, $p < 0.001$).

As a consequence of the strong river influence, less pronounced at the off-shore station, NO_3^- winter concentrations remained high values averaging 20 µM for R1 and 8 µM for R5. It

dropped under detection limit values in May, and increased again up to 8 µM inshore in early June (Fig. 3C and 3D). $Si(OH)_4$ concentrations decreased from winter to early spring (Fig. 3C and 3D), following a quite similar pattern than nitrate. Minimum $Si(OH)_4$ values were recorded in early April at the two stations before the complete NO_3^- exhaustion. These concentrations remained at an average level of 1.3 µM in April and May, and increased up to 4.1 µM in early June at R1. PO_4^{3-} concentrations decreased from a winter value of 0.87 µM to 0.04 µM in early April at R1, and from 0.47 µM to 0.13 µM in early May at R5. Concentrations then show low variability fluctuating between 0.05 and 0.20 µM (Fig. 3C and 3D).

Temporal coupling between bacteria and phytoplankton

The late winter diatom bloom, occurring from mid-February to the end of March, was characterised by a range of 1.5 - 6.1 µg Chl-*a* L^{-1}. Maximum Chl-*a* concentrations were recorded during the *P. globosa* bloom period in both sites, reaching values of 15.7 and 8.2 µg Chl-*a* L^{-1} inshore and offshore, respectively (Fig. 4A and 4B). Thereafter, during the early summer diatom bloom, Chl-*a* concentrations remained above the winter levels reaching mean values of 5.0 ± 0.6 and 3.8 ± 1.2 µg Chl-*a* L^{-1} at R1 and R5, respectively.

The seasonal evolutions of BA and BP showed increasing values from mid-March to May (R1) and June (R5) and reached maximal values in spring. In May, BA and BP were recorded at levels of 2.0 x 10^6 cell mL^{-1} and 13.5 x 10^4 cell mL^{-1} h^{-1}, respectively, in inshore waters (Fig. 4A). Offshore (Fig. 4B), BA and BP first peaked in mid-April, reaching 1.0 x 10^6 cell mL^{-1} and 4.4 x 10^4 cell mL^{-1} h^{-1}, respectively, and thereafter reached their maxima in June (1.7 x 10^6 cell mL^{-1} and 9.8 x 10^4 cell mL^{-1} h^{-1}).

Statistical analysis revealed significant differences of BP and BA between pre-bloom, bloom and post-bloom periods of *P. globosa* (K-W, $p < 0.0001$). Pre-bloom values of both BP and BA were significantly lower than those observed in bloom and post-bloom periods (Table I.A and I.C). However, no significant differences were highlighted between bloom and post-bloom values (Table I.B).

As EEA were measured during winter, *P. globosa* bloom and post-bloom situations, no seasonal pattern could be identified for these parameters (Fig. 5). However, our maximal values recorded inshore corresponded to the period of the *P. globosa* bloom and reached 18.3 ± 3.8 nmol L^{-1} h^{-1} and 0.47 ± 0.02 µmol L^{-1} h^{-1} for EGA and EPA, respectively. Thereafter and while EPA remained rather constant (0.39 ± 0.05 µmol L^{-1} h^{-1}), EGA decreased down to 10.5 ± 1.9 nmol L^{-1} h^{-1} concomitantly to the bloom decline. Offshore, a close and clear

relationship between the *P. globosa* bloom development and EEA trends could also be emphasised, and highlighted an increasing level of both activities during the *P. globosa* bloom (21st April, EGA: 13.7 nmol L^{-1} h^{-1}; EPA: 0.23 µmol L^{-1} h^{-1}), a decline in May (7th May, EGA: 7.57 nmol L^{-1} h^{-1}; EPA: 0.08 µmol L^{-1} h^{-1}) and still a concomitant drop of EGA during the decline of *P. globosa* bloom (18th June, EGA: 3.6 nmol L^{-1} h^{-1}). A summer raise was observed off-shore for both EEA (5th July for EGA: 12.2 nmol L^{-1} h^{-1}, Fig. 5A; 18th June and 5th July for EPA: mean of 0.20 µmol L^{-1} h^{-1}, Fig. 5B) corresponding to the development of the early summer diatom bloom period.

Strong increase of EEAsp was observed in April-May (Fig. 5C and 5D) inshore (mean of 15 ± 3 and 381 ± 35 amol $cell^{-1}$ h^{-1} for EGAsp and EPAsp, respectively) and offshore (mean of 15 ± 2 and 200 ± 39 amol $cell^{-1}$ h^{-1} for EGAsp and EPAsp, respectively) during the *P. globosa* bloom. In June-July, while EPAsp remained at high bloom levels, with post-bloom values ranging between 359 and 59 amol $cell^{-1}$ h^{-1} in both sites (Fig. 5C and 5D), EGAsp dropped down to 9 ± 0.1 amol $cell^{-1}$ h^{-1} inshore (June-July average) and to 5 amol $cell^{-1}$ h^{-1} offshore (June value).

Statistical analysis over the whole transect dataset revealed significant differences of EEA and EEAsp between the *P. globosa* pre-bloom, bloom and post-bloom periods (K-W, $p < 0.0001$ for EGA and EGAsp, $p < 0.001$ for EPA and EPAsp). As observed for BP and BA, pre-bloom values of EEA and EEAsp were significantly lower than those observed in bloom and post-blooms periods (Table I.A and I.C). No significant differences were found between bloom and post-bloom values of EPA and EPAsp (Table I.B), whereas EGA and EGAsp levels in post-bloom situation were significantly lower than those in bloom situation (Table I.B).

Interdependencies and regression of biological parameters

A strong correlation between BA and BP was observed over the entire period ($p < 0.01$, Table II). Both EEA and EPAsp were significantly correlated with BA and BP, but no significant correlation related EGAsp with BP and BA after the Hochberg correction. These relations indicated enhanced levels of both EEA and EPAsp with increasing BP and increasing BA, but the mean per cell expression of EGA did not co-vary with cell production and cell number. Both EEA varied concomitantly as reflected by the highly significant correlation observed between them ($p < 0.01$). Chl-*a* concentrations showed a significant ($p < 0.01$) positive correlation with all bacterial parameters; in addition, the strongest correlations were observed with EGA ($\rho = 0.81$, $p < 0.01$, $n = 27$) and EGAsp ($\rho = 0.80$, $p < 0.01$, $n = 27$).

Within bacterial variables, only BP and BA were linearly correlated with temperature ($p < 0.01$). No biotic parameter was significantly correlated with salinity.

Temperature as an independent variable appeared to be the main parameter controlling both BP and BA (Table III). Then both T and Chl-*a* explained a high proportion of the observed variability in BP and BA (73% and 82% for BP and BA, respectively). Salinity as an explanatory variable provided little additional information (6% for BP and 1% for BA) in the variability of both bacterial parameters (Table III). A high proportion of EEA and EEAsp variability was explained by Chl-*a* and then by T (55% for EPAsp to 86% for EGA; Table III). Salinity, as an index of the spatial trophic gradient from the coast to the open sea, appeared to be a significant explanatory variable for EPA (additional information of 17%; Table III). Finally, T and S significantly co-varied, as shown in Table II.

DISCUSSION

Regionalisation of the Wimereux site

Our analysis statistically defined four different water masses with respect to their hydro-biological characteristics, corresponding to a zone of littoral accumulation (R0), coastal waters (R1) including the "coastal flow" system described by Brylinski et al. (1991), a frontal area as an interface (R2 to R4) and offshore waters (R5). This division is in accordance with previous observations performed during hydrological survey (Brylinski et al., 1991; Brunet et al., 1996; Brylinski et al., 1996). Phytoplanktonic biomass and production essentially result from *P. globosa* in spring (Lizon et al., 1998; Breton et al., 2000; Seuront et al., 2006) and are higher inshore than offshore. A biomass increase has been observed at the frontal zone and probably resulted from hydrodynamic accumulation, and not to local growth potential (Brunet et al., 1992).

General control of the bacterial community

The relative importance of bottom-up (resource supply) to top-down (predation) control of bacterial abundances was estimated using the approach of Billen et al. (1990). Our results indicated that only the bloom and post-bloom dataset periods yielded a significant regression. In the case of the bloom period, the variation of log-transformed BP explained a large proportion (70%) of the variation of the log-transformed BA, and our regression slope, reaching 0.55, was rather high. The model established that the value of the regression slope indicates the degree of bottom-up *versus* top-down control of the bacteria, going from extreme resource control (high correlation and high slope) to a dominant grazing control (R^2 =

0.34, slope = 0.28). We could therefore conclude for a progression from a resource (bloom situation) to a predator control (post-bloom situation) of bacterial biomass, as previously observed in the study area (Lamy et al., *in press*). We therefore studied over the course of the *P. globosa* bloom the relationships linking bacterioplankton to phytoplankton resources (as the main OM producer during algal bloom).

Bacterial OM degradation during the P. globosa bloom development: comparison between EPA and EGA

The strong correlation between bacterial numbers and EGA and EPA highlighted the major role played by bacteria in EEA in our study, and allowed us to calculate EEAsp. Protozoans in culture (Karner et al., 1994), cyanobacteria (Martinez and Azam, 1993), heterotrophic nanoflagellates (Karner et al., 1994; Mohapatra and Fukami, 2004) and photosynthetic nanoflagellates (Stoecker and Gustaffson, 2003) can significantly contribute to the appearance of exoproteolytic and exoglucosidic activities for organic particles degradation, but the main responsible for EEA are usually considered to be bacteria (Somville and Billen, 1983; Vrba et al., 2004).

The tight coupling between bacterial parameters and Ch-*a* concentrations (Fig. 4 and Table II) clearly suggested a strong bacterial reactivity to phytoplankton blooms. The stepwise multiple regression showed that BP and BA were initially regulated by temperature then by substrate supplies (depending on Chl-*a* concentrations). On the contrary, EEA and EEAsp variability were primarily explained by Chl-*a* concentrations then by temperature (Table III). Enhanced EGA and EPA with increasing Chl-*a* reflected the cleavage and the bacterial utilisation of photosynthetic extracellular products (Chróst, 1989; Karner et al., 1992). EEA displayed also significant positive relations with BA and BP (Table II). Such coupling is expected to increase the efficiency of OM utilisation by bacteria in aquatic systems (Somville and Billen, 1983; Talbot et al., 1997), and mainly the phytoplankton-derived OM utilisation, in the present study.

P. globosa bloom situation

Despite the lack of data during the February-April transition, a clear enhancement of bacterial activities with the development of the *P. globosa* bloom can be highlighted (Fig. 4 and 5; Table I.A). Such responses of bacterial dynamics (BP and BA) to *P. globosa* blooms were previously reported in two contrasted sites of the eastern English Channel (Lamy et al., in press) and in the southern North Sea (Lancelot and Billen, 1984; Becquevort et al., 1998;

Rousseau et al., 2000). *Phaeocystis* blooms are characterised by successions of breakdown of colonies and newly colony-forming cells (Lancelot and Rousseau, 1994). Consequently, the release of polymeric compounds from excretion of growing algal cells (C. Jauzein, Montpellier, personal communication; Fogg, 1977, 1983; Biersmith and Benner, 1998) and/or lysis of colonies (Thingstad and Billen, 1994; Brussaard et al., 2005b) may have significantly enhanced EEA and EEAsp, and subsequently BP. In the case of the nutrients depletion observed in April – May in the study area (Fig. 3), the major products of photosynthetic excretion were likely extracellular carbohydrates, such as glucan (Myklestad, 1995), which could especially have sustained the β-glucosidase activities during the whole bloom period and induce β-glucosidase enzymatic equipment (*i.e.* EGAsp). Moreover, a recent mesocosm study (Alderkamp et al., 2006) highlighted that large quantities of glucan were produced during *Phaeocystis* spring blooms and could be subsequently channelled into the ecosystem *via* bacterial dynamics.

Post-bloom situation

Still high levels of bacterial activities (EPA and BP) and abundances were recorded in post-bloom situation (Table I.B), despite decreasing Chl-*a* content (Fig. 4). The additional supply of *Phaeocystis*-derived OM after the bloom decline might have enhanced the magnitude and extent of the bacterial activities up to July. Viruses were found to be significant lytic agents of *P. globosa*, especially during bloom decline (Brussaard et al., 2004, 2005a). As a result, viral lysis would have enhanced the fraction of OM flowing through the viral shunt of the microbial food web (Middelboe and Lyck, 2002; Brussaard et al., 2005b), leading to maintain bacterial activities after the bloom decay. The formed TEP (transparent exopolymer particles) and derived aggregates after the *Phaeocystis* bloom (Lancelot, 1995; Mari et al., 2004; Brussaard et al., 2005b) had profound effect on bacterial activities. On the one hand, adsorption of viruses to TEP is expected to have significant inhibitory effect on virally mediated mortality of micro-organisms (Brussaard et al., 2005b). Additionally, these aggregates may constitute favourable surface for micro-organisms colonisation. The attached-bacteria can represent 40% (Mari et al., 2004) and 66% (Becquevort et al., 1998) of the total abundance, and their specific exoenzymatic activities were estimated to be 5 times higher than those of free-living bacteria (Becquevort et al., 1998). On the other hand, N-rich organic compounds, released by lysed P-limited cells (Lancelot, 1984; Berdalet et al., 1994), associated easily to the C-rich TEP (Engel and Passow, 2001), and could consequently sustain EPA and EPAsp in our study area. Although predation and viral infection certainly

contributed to bacterial mortality in post-bloom situation, as aforementioned, the bacterial cell numbers did not significantly decrease (Table I.B). This could be ascribed to the predominance of particularly active bacteria in post-bloom situation, responsible for the bulk of bacterial activities (Brussaard et al., 2005b; Lamy et al., *in press*).

The significant decrease in EGA and EGAsp during the post-bloom situation (Table I.B), whereas EPA and BP still showed relatively high levels, supported the hypothesis that the polysaccharidic *Phaeocystis*-derived OM at the later stage was more refractory than the released OM during the active phase of the bloom. Indeed, the dominant source of TEP at the later stage is likely to be the decaying colonial matrix that is more resistant to bacterial degradation than the bioactive matter present at the active phase of growth (Osinga et al., 1997; Mari et al., 2004; Brussaard et al., 2005b). Moreover, the TEP-formation may have facilitated sedimentation and developed a layer of mucus-rich OM covering the benthic system of coastal areas and estuaries (Brussaard et al., 2005b). Consequently, a fraction of the particle-attached bacteria which likely dominated the consumption of carbohydrates may be lost from the pelagic microbial food web. A decrease in the carbohydrate exudates from the summer diatom bloom, provided the nutrients being not depleted at this time (Myklestad, 1995), may also explain the low levels of both EGA and EGAsp.

Different patterns of EPA and EGA

The different temporal patterns of EPA and EGA during the time course of the phytoplankton succession suggested different bacterial species or communities accountable for these two polymers hydrolysis. It has been shown that the extent to which specific enzymes were expressed, as well as the types of enzymes expressed, varied significantly between different bacterial isolates from seawater samples (Martinez et al., 1996; Keith and Arnosti, 2001). Likewise, Pinhassi et al. (1999) suggested that the changing levels of enzyme activity reflected a changing population composition, rather than being simply due to the induction or the repression of a suite of enzymes among a compositionally stable population. Changes in bacterial community composition and associated changes in potential enzyme activities were shown to be closely related to DOM pool changes (Kirchman et al., 2004), and more particularly to the decay of a phytoplankton bloom induced in a mesocosm (Riemann et al., 2000). Brussaard et al. (2005b) supported similar conclusion in the case of *Phaeocystis* bloom. They highlighted the repression of a member of the *Flexibacter* at the decline of the bloom, belonging to the Flavobacteria-Bacteroidetes group, of which members were known to dominate the consumption of large complex carbohydrates (Cottrell and Kirchman, 2000).

The different trends of bacterial EPA and EGA should be further evidence of the adaptability of the bacterial components to the input of potential energy and material supplies (Misic and Fabiano, 2006*)*. In our case, these adaptations were more related to both the quantity and the quality of the OM supply (collapse of the bloom) than by the nature of the phytoplankton growth-controlling nutrient per se.

CONCLUSION

A strong contribution of bacteria to the degradation of organic matter released during the phytoplankton blooms (and especially the *P. globosa* bloom) was highlighted in surface waters of the eastern English Channel. The bacterial adaptations to the exploitation of organic substrates by means of exoenzymatic activities, such as high per-cell values and significant differences between proteolysis and glycolysis may be related to both the quantity and the quality of the organic matter supply, reflecting the ability of the bacterial component to quickly react to environmental conditions. The biochemical composition of particulate and dissolved organic matter (in terms of proteins and carbohydrates), especially during the *P. globosa* bloom, need to be assessed. Further, it remains important to determine (i) if enhanced enzymatic activities result or not from a combined action of actively growing bacterial cells and enhanced specific metabolic activity, and (ii) if exo-enzymatic activities and bacterial dynamics (BA and PB) are carried out by the same active fraction of the bacterial community. To better understand such changes in bacterial activities in response to phytoplankton succession, experiments should be conducted studying the link between bacterial taxonomy and function.

ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are due to the crews of the R.V. "Sepia II" and "Côtes de la Manche" for their help in the field. We also want to thank V. Cornille, J. Lasalle, C. Dubus and C. Jauzein for their technical support during the cruises and at the laboratory, as well as D. Vincent, and 2 anonymous JPR reviewers for valuable comments on an earlier version of the manuscript. This work was part of both a regional and a national program: the « Contrat Plan Etat-Région (CPER) - Ecosystèmes perturbés du littoral: Bloom de *Phaeocystis* » and the « Programme National d'Environnement Côtier: Chantier PNEC - Manche Orientale - Sud Mer du Nord ». D. Lamy PhD was supported by the region Nord - Pas de Calais and the « Agence de l'Eau Artois-Picardie » (contract n° 03 13 00 70).

REFERENCES

Alderkamp, A.-C., Nejstgaard, J.C., Verity, P.G., Zirbel, M.J., Sazhin, A.F. and van Rijssel, M. (2006) Dynamics in carbohydrate composition of *Phaeocystis pouchetii* colonies during spring blooms in mesocosms. *J. Sea Res.,* **55**, 169-181.

Azam, F., Fenchel, T., Fiel, J.G., Gray, J.S., Meyer-Reil, L.A. and Thingstad, F. (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **10**, 257-263.

Becquevort, S., Rousseau, V. and Lancelot, C. (1998) Major and comparable role for free-living and attached bacteria in the degradation of *Phaeocystis*-derived organic matter in Belgian coastal waters of the North Sea. *Aquat. Microb. Ecol.*, **14**, 39-48.

Bell, R.T. (1993) Estimating production of heterotrophic bacterioplankton via incorporation of tritiated Thymidine. In Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B. and Cole, J.J. (eds.), *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*. Lewis publishers, London, Tokyo, pp. 495-503.

Berdalet, E., Latasa, M. and Estrada, M. (1994) Effects of nitrogen and phosphorous starvation on nucleic acid and protein content of *Heterocapsa sp. J. Plankton Res.,* **16**, 303-316.

Bidle, K.D. and Azam, F. (2001) Bacterial control of silicon regeneration from diatom detritus: significance of bacterial ectohydrolases and species identity. *Limnol. Oceanogr.*, **46**, 1606-1623.

Biersmith, A. and Benner, R. (1998). Carbohydrates in phytoplankton and freshly produced dissolved organic matter. *Mar. Chem.*, **63,** 131 – 144.

Billen, G., Servais, P. and Becquevort, S. (1990) Dynamics of bacterioplankton in oligotrophic and eutrophic aquatic environments: bottom-up or top-down control? *Hydrobiol.,* **27**, 37-42.

Breton, E., Brunet, C., Sautour, B. and Brylinski, J.M. (2000) Annual variations of phytoplancton biomass in the Eastern English channel: comparison by pigment signatures and microscopic counts. *J. Plank. Res.*, **22**, 1423-1440.

Brunet, C., Brylinski, J.M. and Frontier, S. (1992) Productivity, photosynthetic pigments and hydrology in the coastal front of the eastern English Channel. *J. Plank. Res.,* **14**, 1541-1552.

Brunet, C., Brylinski, J.M., Bodineau, L., Thoumelin, G., Bentley, D. and Hilde, D. (1996) Phytoplankton dynamics during the spring bloom in the South-eastern English Channel. *Est. Coast Shelf Sci*., **43**, 469-483.

Brussaard, C.P.D., Short, S.M., Frederickson, C.M. and Suttle, C.A. (2004) Isolation and phylogenetic analysis of novel viruses infecting the phytoplankter *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae). *Appl. Environ. Microbiol.,* **70**, 3700-3705.

Brussaard, C.P.D., Kuipers, R.S., Veldhuis, M.J.W. (2005a) A mesocosm study of *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) population dynamics. I. Regulatory role of viruses in bloom control. *Harmful Algae.,* **4**, 859-874.

Brussaard, C.P.D., Mari, X., Van Bleijswijk, J.D.L. and Veldhuis, M.J.W. (2005b) A mesocosm study of *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) population dynamics. II. Significance for the microbial community. *Harmful Algae.,* **4**, 875-893.

Brylinski, J.M., Lagadeuc, Y., Gentlhomme, V., Dupont, J.P., Lafite, R., Dupeuble, P.A., Huault, M.F., Auger, Y., Puskaric, E., Wartel, M. and Cabioch, L. (1991) Le "fleuve côtier" : un phénomène hydrologique important en Manche orientale. Exemple du Pas-de-Calais. *O. Acta*., **11**, 197-203.

Brylinski, J.M., Brunet, C., Bentley, D., Thoumelin, G. and Hilde, D. (1996) Hydrography and phytoplankton biomass in the eastern English Channel in spring 1992. *Est. Coast. Shelf Sci.,* **43**, 507-519.

Chróst, R.J. (1989) Characterization and significance of β-glucosidase activity in lake water. *Limnol. Oceanogr.,* **34**, 660-672.

Chróst, R.J. (1991) Environmental control of the synthesis and activity of aquatic microbial ectoenzymes. In Chróst, R.J. (ed.), *Microbial enzymes in aquatic environments*. Springer-Verlag, New York, pp. 29-59.

Cottrell, M.T. and Kirchman, D.L. (2000) Natural assemblages of marine proteobacteria and members of the *Cytophaga-Flavobacter* cluster consuming low- and high-molecular-weight dissolved organic matter. *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 1692-1697.

Delmas, D. and Garet, M.J. (1995) SDS-preservation for deferred measurement of exoproteolytic kinetics in marine samples. *J. Microbiol. Methods.*, **22**, 243-248.

Engel, A. and Passow, U. (2001) Carbon and nitrogen content of transparent exopolymer particles (TEP) in relation to their Alcian Blue adsorption. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **219**, 1-10.

Fogg, G.E. (1977). Excretion of organic matter by phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.,* **22**, 576-577.

Fogg, G.E. (1983). The ecological significance of extracellular products of phytoplankton photosynthesis. *Bot. marine,* **26**, 3-14.

Fuhrman, J.A. and Azam, F. (1982) Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: Evaluation and field results. *Mar. Biol.,* **66**, 109-120.

Gentilhomme, V. and Lizon, F. (1998) Seasonal cycle of nitrogen and phytoplankton biomass in a well-mixed coastal system (eastern English Channel). *Hydrobiol.,* **361**, 191-199.

Grasshoff, K. Ehrhardt, M. And Kremling, F. (1983) Methods of seawater analysis (2nd ed), Verlag Chemie, Weinheim.

Hochberg, Y. (1988) A sharper Bonferroni procedure for multiple tests of significance. *Biometrika,* **75**, 800-802.

Hoppe, H.G., Kim, S.J. and Gocke, K. (1988) Microbial decomposition in aquatic environments: combined process of extracellular enzyme activity and substrate uptake. *Appl. Environ. Microbiol.,* **54**, 784-790.

Hoppe H.G. (1993) Use of fluorogenic model substrates for extracellular enzyme activity, measurement of bacteria. In Kemp P.F., Sherr B.F., Sherr E.B. and Cole J. (eds.), *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*. Lewis publishers, London, Tokyo, pp. 423-431.

Karner, M., Fuks, D. and Herndl, G. (1992) Bacterial activity along a trophic gradient. *Microb. Ecol.,* **24**, 243-257.

Karner, M., Ferrier-Pagès, C. and Rassoulzadegan, F. (1994) Phagotrophic nanoflagellates contribute to occurence of alpha-glucosidase and aminopeptidase in marine environments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **114**, 237-244.

Keith, S.C. and Arnosti, C. (2001) Extracellular enzyme activity in a river-bay-shelf transect: variations in polysaccharide hydrolysis rates with substrate and size class. *Aquat. Microb. Ecol.*, **24**, 243-253.

Kirchman, D.L., Dittel, A.I., Findlay, S.E., Fischer, D. (2004) Changes in bacterial activity and community structure in response to dissolved organic matter in the Hudson River, New York. *Aquat. Microb. Ecol.,* **35**, 243-257.

Lamy, D., Artigas, L.F., Jauzein, C., Lizon, F. and Cornille, V. Coastal bacterial viability and production in the eastern English Channel: a case study during a *Phaeocystis globosa* bloom. *J. Sea. Res., in press.*

Lancelot, C. (1984) Metabolic changes in *Phaeocystis pouchetii* (Hariot) Lagerheim during the spring bloom in Belgian coastal waters. *Estuar. Coastal Shelf Sci.,* **18**, 593-600.

Lancelot, C. and Billen, G. (1984) Activity of heterotrophic bacteria and its coupling to primary production during the spring phytoplankton bloom in the southern bight of the North Sea. *Limnol. Oceanogr.* **29**, 721 – 730.

Lancelot, C. and Rousseau, V. (1994) Ecology of *Phaeocystis*-dominated ecosystems: the key role of colony forms. In Leadbeater, B.S.C. and Green, J.C. (eds.), *The Haptophyte algae. Systematics association.* Vol. 51. Clarendon Press, Oxford, pp. 229-245.

Lancelot, C. (1995) The mucilage phenomenon in the continental coastal waters of the North Sea. *Sci. Tot. Environ.,* **165**, 83-102.

Legendre, P. and Legendre, L. (eds.) (1998). *Developments in environmental modelling. Numerical ecology*.Vol. 20. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.

Lizon, F., Seuront, L. and Lagadeuc, Y. (1998) Photoadaptation and primary production study in a tidally-mixed coastal waters using a lagrangian model. *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* **169**, 43-54.

Mari, X., Rassoulzadegan, F. and Brussaard, C.P.D. (2004) Role of TEP on the microbial food web structure. II. Influence on the ciliate community structure. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **279**, 23-32.

Martinez, J. and Azam, F. (1993) Periplasmic aminopeptidase and alkaline phosphatase activities in a marine bacterium: implications for substrate processing in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* **92**, 89-97.

Martinez, J., Smith, D.C., Steward, G.F. and Azam, F. (1996) Variability in ectohydrolytic enzyme activities of pelagic marine bacteria and its significance for substrate processing in the sea. *Aquat. Microb. Ecol.,* **10**, 223-230.

Middelboe, M. and Lyck, P.G. (2002) Regeneration of dissolved organic matter by viral lysis in marine in marine microbial communities. *Aquat. Microb. Ecol.,* **27**, 187-194.

Misic, C. and Fabiano, M. (2006) Ectoenzymatic activity and its relationship to chlorophyll-*a* and bacteria in the Gulf of Genoa (Ligurian Sea, NW Mediterranean). *J. Mar. Syst.,* **60**, 193-206.

Mohapatra, B.R. and Fukami, K. (2004) Production of aminopeptidase by marine heterotrophic nanoflagellates. *Aquat. Microb. Ecol.,* **34**, 129-137.

Moriarty, D.J.W. (1986) Measurement of bacterial growth rates and production of biomass in aquatic environments. In Grogorova, R. and Norris, J.R. (eds.), *Methods in Microbiology.* Academic press, London, Tokyo, pp. 211-234.

Münster, U. and Chróst, R.J. (1990) Origin, composition and microbial utilization of dissolved organic matter. In Overbeck, J. and Chróst, R.J. (eds), *Aquatic Microbial Ecology: Biochemical and Molecular Approaches.* Springer-Verlag, New York, pp. 8-46.

Myklestad, S.M. (1995) Release of extracellular products by phytoplankton with special emphasis on polysaccharides. *Sci. Tot. Environ.,* **165**, 155-164.

Osinga, R. De Vries, K.A., Lewis, W.E., Van Raaphorst, W., Dijkhuizen, L. and Van Duyl, F.C. (1997) Aerobic degradation of phytoplankton debris dominated by *Phaeocystis sp.* in different physiological stages of growth. *Aquat. Microb. Ecol.*, **12**, 11-19.

Pinhassi, S., Azam, F., Hemphala, J., Long, R.A., Martinez, J., Zweifel, U.L. and Hagström, Å. (1999) Coupling between bacterioplankton species composition, population dynamics and organic matter degradation. *Aquat. Microb. Ecol.*, **17**, 13-26.

Porter, K.G. and Feig, Y. S. (1980) The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.*, **25**, 943-948.

Rice, W.R. (1989) Analysing tables of statistical tests. *Evolution,* **43**, 223-225.

Riemann, L., Steward, G.F. and Azam, F. (2000) Dynamics of bacterial community composition and activity during a mesocosm diatom bloom. *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 578-587.

Rousseau, V., Vaulot, D., Casotti, R., Carcou, V., Lenz, J., Gunkel, J. and Baumann, M. (1994) *Phaeocystis* (Primnesiophyceae) life cycle: evidences and hypotheses. In Lancelot, C. and Wassmann, P. (eds.), *Ecology of Phaeocystis-dominated ecosystems. J. Mar. Syst.,* **55**, 23-40.

Rousseau, V., Becquevort, S., Parent, J.-Y., Gasparini, S., Daro, M.-H., Tackx., M. and Lancelot, C. (2000) Trophic eficiency of the planktonic food web in a coastal ecosystem dominated by *Phaeocystis* colonies. *J. Sea Res.*, **43**, 357-372.

Seuront, L., Vincent, D. and Mitchell, J.G. Biologically-induced modification of seawater visocity in the Eastern English Channel during a *Phaeocystis globosa* spring bloom. *J. Mar. Sys., in press.*

Somville, M. and Billen, G. (1983) A method for determining exoproteolytic activity in natural waters. *Limnol. Oceanogr.,* **28**, 190-193.

Souissi, S., Daly Yahia-Kéfi, O. and Daly Yahia, M.N. (2000) Spatial characterization of nutrient dynamics in the Bay of Tunis (south-western Mediterranean) using multivariate analyses: consequences for phyto-and zooplankton distribution. *J. Plank. Res.,* **22**, 2039-2059.

Stoecker, D.K. and Gustafson, Jr.D.E. (2003) Cell-surface activity of photosynthetic dinoflagellates. *Aquat. Microb. Ecol.*, **30**, 175-183.

Strickland, J.D. H. and Parsons, T.R. (1972) A practical handbook of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. Bd. Can.,* **167**, 1-310.

Talbot, V., Giuliano, L., Bruni, V. and Bianchi, M. (1997) Bacterial abundance, production and ectoproteolytic activity in the Strait of Magellan. *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* **154**, 293-302.

Thingstad, F. and Billen, G. (1994) Microbial degradation of *Phaeocystis* material in the water column. In Lancelot, C. and Wassmann, P. (eds.), *Ecology of Phaeocystis-dominated ecosystems. J. Mar. Syst.,* **5**, 55-66.

Tréguer, P. and Le Corre, P. (1974) Manuel d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer (utilisation de l'autoanaliseur II Technicon®). University of Bretagne Occidentale, 59pp.

Van Boekel, W. H. M. (1992) *Phaeocystis* colony mucus components and the importance of calcium ions for colony stabilisation. *Mar. Ecol. Progr. Ser.,* **87**, 301-305.

Van Rijssel, M., Janse, I., Noordkamp, D.J.B. and Gieskes, W.W.C. (2000) An inventory of factors that affect polysaccharide production by *Phaeocystis globosa*. *J. Sea Res.*, **43**, 297-306.

Vrba, J., Callieri, C., Bittl, T., Šimek, K., Bertoni, R., Filandr, P., Hartman, P., Hejzlar, J., Macek, M. and Nedoma, J. (2004) Are Bacteria the major producers of extracellular glycolytic enzymes in aquatic environments ? *Internat. Rev. Hydrobiol*., **89**, 102-107.

Yentz, C.S. and Menzel, D.W. (1963) A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. *Deep Sea Res.,* **10**, 221-231.

Table I : Wilcoxon-Mann-Withney tests of bacterial variables between the pre-bloom and the bloom periods (A), the post-bloom and the bloom periods (B) and the pre-bloom and the post-bloom periods (C). In that case of multiple testing (3 independent tests), the p-values were compared to an adjusted level $\alpha' = \alpha/k$ (Legendre and Legendre, 1998), *i.e.* for $\alpha = 0.05$, $\alpha' = 0.017$. The p-values in bold characters indicate when H_0 was rejected. See in the text for the meaning of each abbreviation.

A		**Pre-bloom**						
		BP	**BA**	**Bμ**	**EPA**	**EGA**	**EPAsp**	**EGAsp**
Bloom	**BP**	**p < 0.0001**	x	x	x	x	x	x
	BA	x	**p < 0.0001**	x	x	x	x	x
	Bμ	x	x	**p < 0.01**	x	x	x	x
	EPA	x	x	x	**p < 0.001**	x	x	x
	EGA	x	x	x	x	**p < 0.001**	x	x
	EPAsp	x	x	x	x	x	**p < 0.001**	x
	EGAsp	x	x	x	x	x	x	**p < 0.001**

H_1 : pre-bloom < bloom

B		**Post-bloom**						
		BP	**BA**	**Bμ**	**EPA**	**EGA**	**EPAsp**	**EGAsp**
Bloom	**BP**	p = 0.023	x	x	x	x	x	x
	BA	x	p = 0.023	x	x	x	x	x
	Bμ	x	x	p = 0.26	x	x	x	x
	EPA	x	x	x	p = 0.24	x	x	x
	EGA	x	x	x	x	**p < 0.01**	x	x
	EPAsp	x	x	x	x	x	p = 0.051	x
	EGAsp	x	x	x	x	x	x	**p < 0.001**

H_1 : post-bloom < bloom

C		**Pre-bloom**						
		BP	**BA**	**Bμ**	**EPA**	**EGA**	**EPAsp**	**EGAsp**
Post-Bloom	**BP**	**p < 0.0001**	x	x	x	x	x	x
	BA	x	**p < 0.0001**	x	x	x	x	x
	Bμ	x	x	**p < 0.001**	x	x	x	x
	EPA	x	x	x	**p < 0.001**	x	x	x
	EGA	x	x	x	x	**p < 0.001**	x	x
	EPAsp	x	x	x	x	x	**p < 0.01**	x
	EGAsp	x	x	x	x	x	x	**p < 0.001**

H_1 : pre-bloom < post-bloom

Table II : Spearman correlations (ρ) for biological and environmental parameters (inshore – offshore transects from February to October 2004). See in the text for the meaning of each abbreviation.

	BP	**BA**	**EGA**	**EPA**	**Chl-*a***	**EGAsp**	**EPAsp**	**NO_3^-**	**$Si(OH)_4$**	**PO_4^{3-}**	**T**
BA	**0.86****										
EGA	**0.58***	**0.71****									
EPA	**0.84****	**0.92****	**0.81****								
Chl-*a*	**0.59****	**0.59****	**0.81****	**0.71****							
EGAsp	0.41	0.46	**0.90****	**0.62***	**0.80****						
EPAsp	**0.68****	**0.67****	**0.83****	**0.89****	**0.72****	**0.73****					
NO_3^-	**-0.68****	**-0.73****	-0.52	-0.66	**-0.69****	-0.56	-0.59				
$Si(OH)_4$	n.s.	n.s.	-0.57	-0.63	**-0.63****	-0.61	-0.59	**0.51****			
PO_4^{3-}	**-0.63****	**-0.69****	-0.50	-0.68	**-0.53****	-0.56	-0.62	**0.70****	**0.50***		
T	**0.73****	**0.75****	n.s.	0.58	0.26	n.s.	0.42	**-0.78****	n.s.	**-0.80****	
S	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**-0.49***	n.s.	n.s.	**0.44***

** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, n.s. = non significant.
The group-wide type-I error rate was evaluated using the Hochberg procedure (1988) and a table-wide significance level, α, of 0.05 (Rice, 1989).
Correlation coefficients shown, with n = 57 for BA, BP, and Chl-*a*; n = 27 for EGA, EPA and both cell-specific EEA; n = 56 for T and S, n = 43 for all nutrients; n = 16 for nutrients when correlated with EEA and cell-specific EEA.

Table III : Stepwise multiple regression (with forward selection) of bacterial parameters (dependent variables) on chlorophyll *a* concentrations and hydrological parameters (independent variables).

Dependent variables[(a)]	**n**[(b)]	**Independent variables**[(a)]	**$R^{2(b)}$**	**p-value**
PB	56	T	0.54	p < 0.0001
		Chl-*a*	0.73	
		S	0.79	
AB	56	T	0.61	p < 0.0001
		Chl-*a*	0.82	
		S	0.83	
EGA	26	Chl-*a*	0.73	p < 0.0001
		T	0.86	
EPA	26	Chl-*a*	0.48	p < 0.0001
		T	0.59	
		S	0.76	
EGAsp	26	Chl-*a*	0.74	p < 0.0001
		T	0.83	
EPAsp	26	Chl-*a*	0.41	p < 0.0001
		T	0.55	

[a] see in the text for the meaning of each abbreviation
[b] n, sampling size; R^2, adjusted coefficient of determination. Adjusted R^2 was given here at each step (insertion of a new informative variable) of the regression. The added information provided by the second or the third variable in the regression was therefore visible.

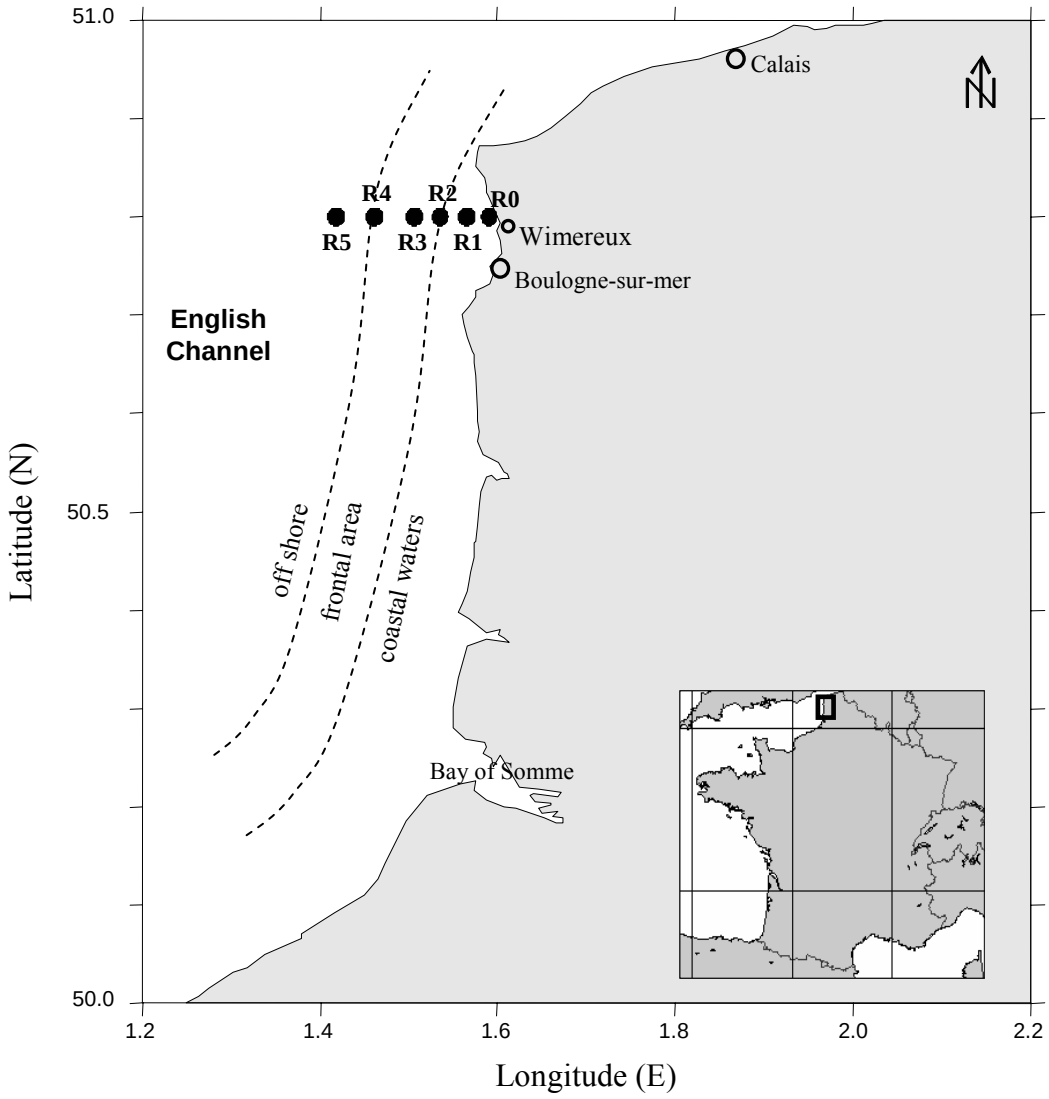


Fig. 1 : Study area and location of the sampling stations off Wimereux coast, eastern English Channel, France. 0 stands for station R0 until 5 for station R5. The map shows the inshore and offshore waters separated by a frontal area (Brylinski et al., 1991).

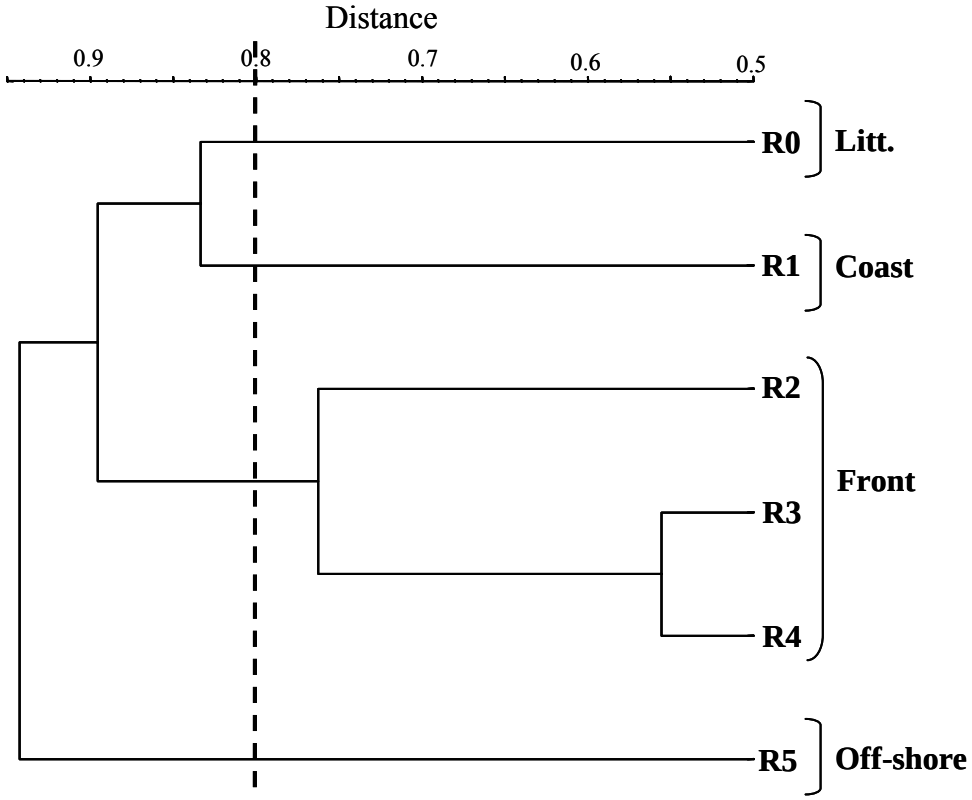


Fig. 2 : Classification of stations along the Wimereux transect using the method of regionalisation developed by Souissi et al. (2000) performed on hydro-biological parameters. The optimal level of cutting the tree is obtained for four groups of stations. The dotted line represents the threshold above which the different groups were considered different. Four zones are identified: littoral zone (litt., R0), coastal zone (R1), central zone comprising the frontal area (front, R2 to R4) and offshore zone (R5).

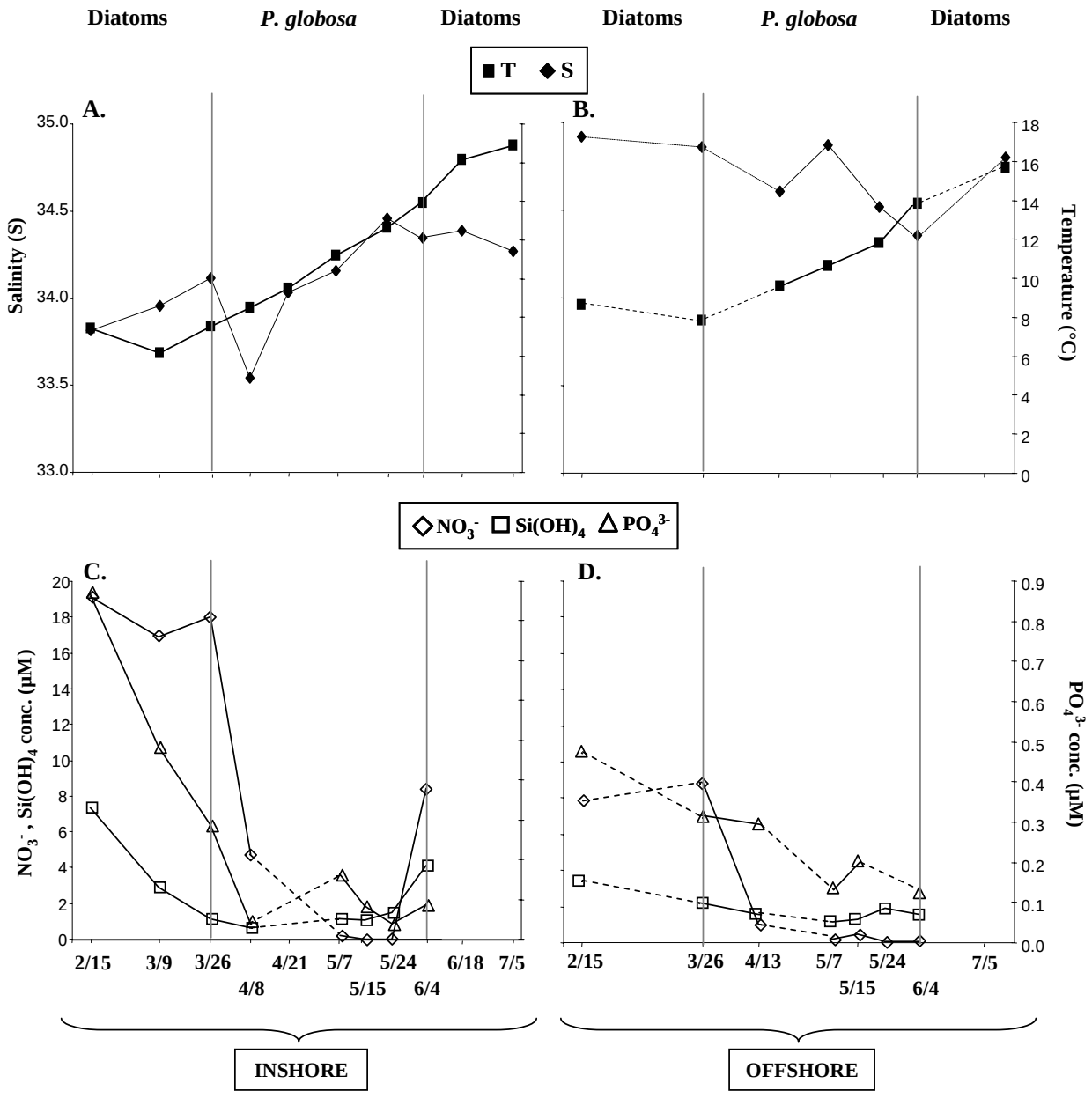


Fig. 3 : Seasonal evolution of the surface water temperature (°C) and salinity (Fig. 3A & 3B) and the nutrient concentrations (nitrates, NO_3^-, µM; silicates, $Si(OH)_4$, µM; phosphates, PO_4^{3-}, µM; Fig. 3C & 3D), from February to July. **A & C.** inshore station R1; **B & D.** offshore station R5.
The succession of phytoplankton blooms is given above the schemes.

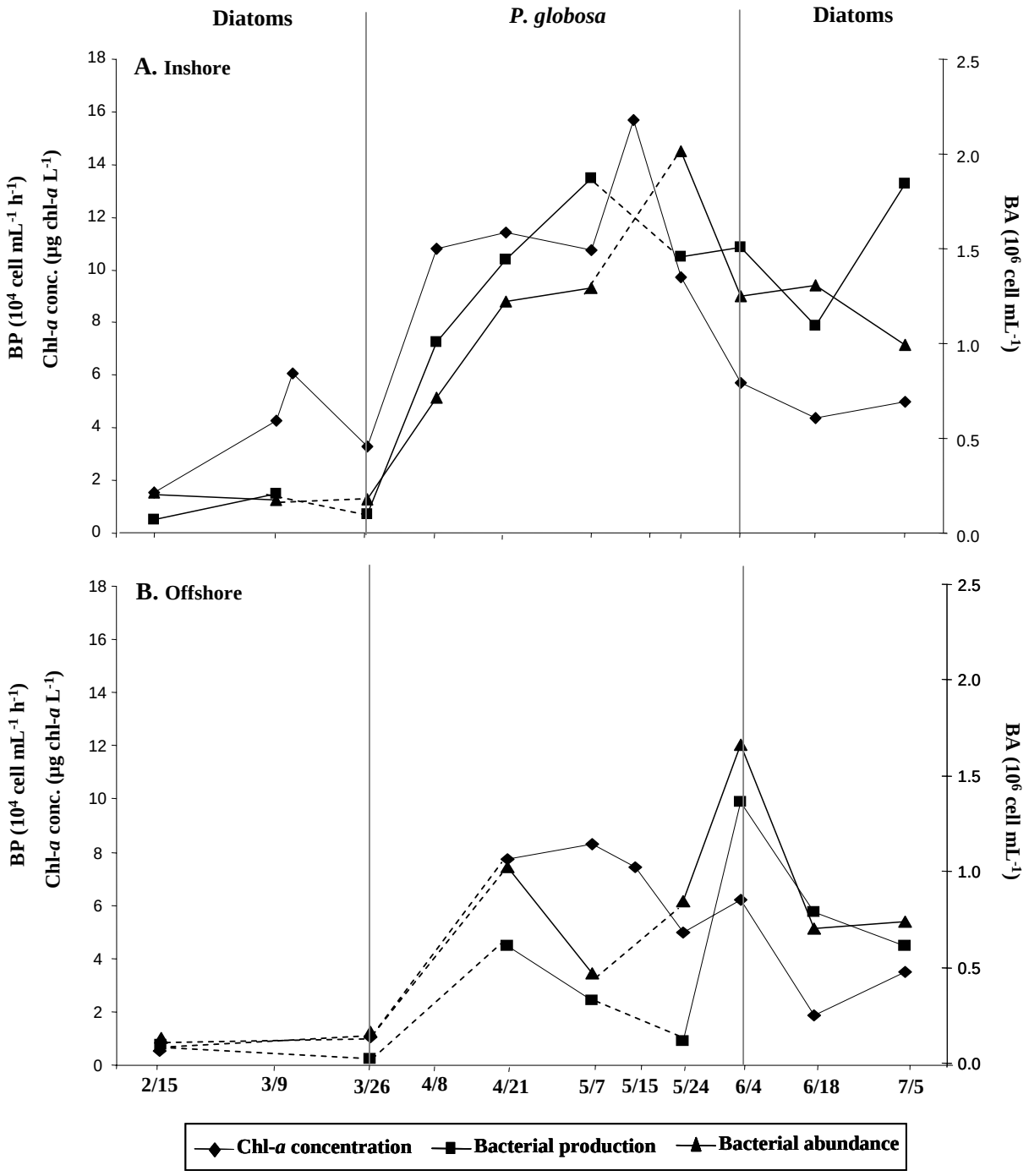


Fig. 4 : Seasonal evolution of the chlorophyll *a* concentrations (Chl-*a*, µg Chl-*a* L^{-1}), bacterial abundance (BA, 10^6 cell mL^{-1}) and mean bacterial production (BP, 10^4 cell mL^{-1} h^{-1}) from February to July 2004. **A.** inshore station R1; **B.** offshore station R5. The succession of phytoplankton blooms is given above the scheme.

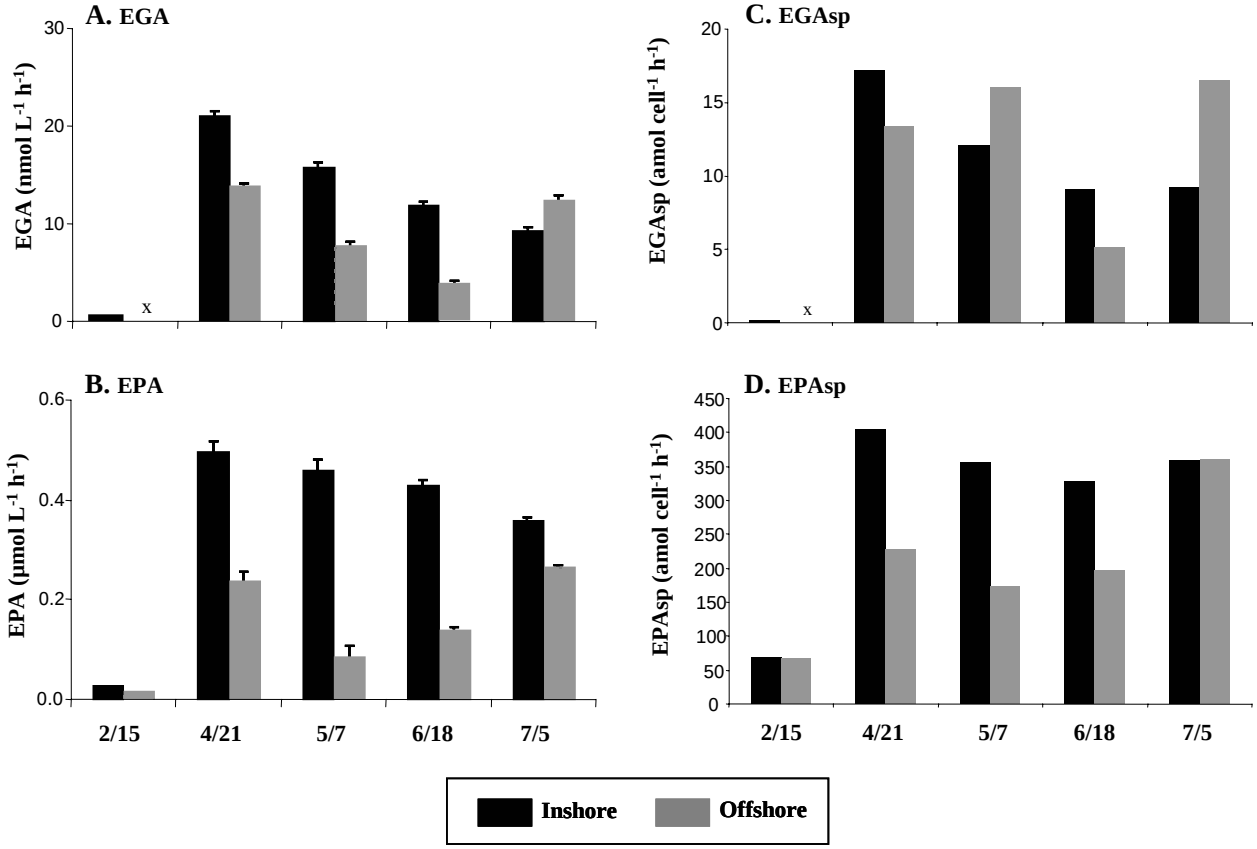


Fig. 5 : Temporal evolution of mean exoglucosidic activity (EGA, nmol L^{-1} h-1, Fig. 5A), mean exoproteolytic activity (EPA, µmol L^{-1} h^{-1}, Fig. 5B) and the associated cell-specific exo-enzymatic activities (EGAsp and EPAsp, amol $cell^{-1}$ h^{-1}, Fig. 5C and D) at the coastal (R1) and offshore (R5) stations for five dates between February and July 2004. Black bars correspond to the coastal station and grey bars to the off-shore station. Error bars for EGA and EPA stand for standard deviation on triplicates.

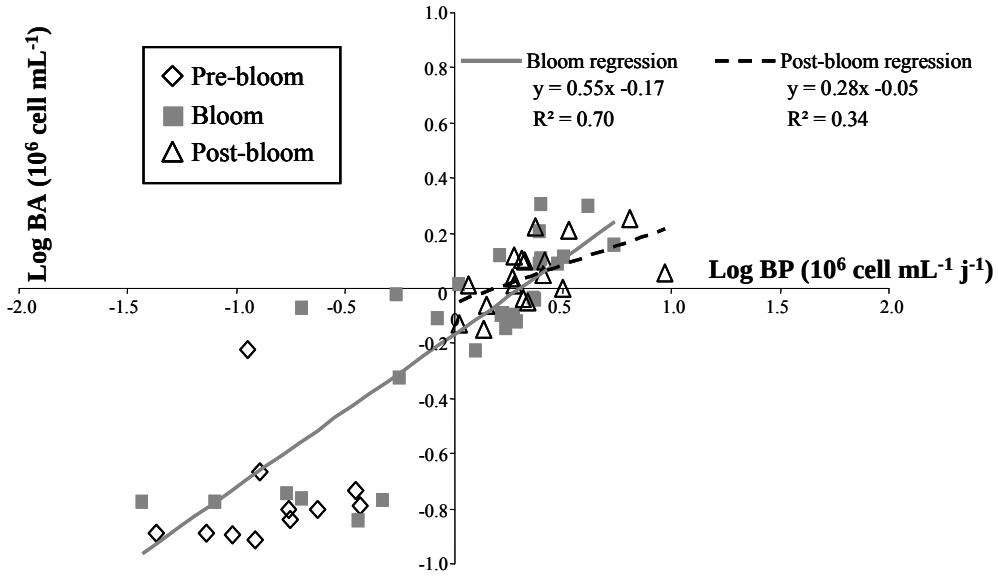


Fig. 6 : Linear regressions between log – transformed bacterial abundance and log – transformed bacterial production during the pre-bloom, the bloom and the post-bloom periods. For significant relations, the regression equations and the statistical parameters are given on the scheme.

CONCLUSIONS

Le premier chapitre de cette partie III a permis (i) d'identifier la fraction du pool de cellules bactériennes potentiellement responsable, au sein des communautés bactériennes, de l'activité mesurée, (ii) de quantifier ces cellules vivantes et actives en Manche orientale, et (iii) de mettre en évidence leur variabilité spatio-temporelle (*i.e.* échelle saisonnière ; Wimereux/baie de Somme, radiale côte/large). Il est apparu à la suite de cette étude que les cellules bactériennes des populations totales de l'écosystème Manche orientale ne sont pas toutes identiquement actives, mais qu'il existe plutôt un *continuum* d'activités au sein des assemblages bactériens.

Les expérimentations réalisées *in situ* au cours de cette étude permettent de répondre aux objectifs fixés en début de cette partie.

Quelle est la fraction des stocks bactériens réellement responsable de l'activité totale de la communauté ?

Une question centrale soulevée par ce type d'analyse était de savoir dans quelle mesure l'abondance bactérienne reflétait l'activité bactérienne potentielle. L'idée que les abondances des cellules intactes (intégrité membranaire, cellules MEM+) et des cellules disposant d'un haut contenu en acides nucléiques (cellules HNA) sont de meilleurs indices du niveau d'activité des assemblages bactériens par rapport à l'abondance totale (mesurée par coloration au DAPI) a été développée dans cette partie.

Une hausse significative des abondances en MEM+ a ainsi pu être mise en relation avec le développement du bloom de *P. globosa*. Après le déclin du bloom, il semble que de fortes activités cellulaires spécifiques permettent une utilisation rapide des matières organiques (MO) d'origine phytoplanctonique (*i.e.* issues de la lyse et de la sénescence algales, du broutage zooplanctonique). Par ailleurs, de fortes proportions en cellules HNA (*i.e.* comprenant les membres les plus actifs des communautés bactériennes) ont été observées en situation de post-bloom, en réponse à diverses sources de MO, de nature labile et réfractaire. De plus, la fraction bactérienne HNA est apparue particulièrement dominante en zone côtière

de la Manche orientale, en réponse principalement aux apports telluriques des principaux exutoires du site d'étude.
Ces résultats ont conduit à émettre des hypothèses précisant le rôle joué par les prédateurs bactériens et phytoplanctoniques (i) sur le contrôle sélectif des fractions bactériennes vivantes et actives et (ii) sur la reminéralisation de MO et de sels nutritifs.

Quelles sont les relations trophiques entre bactérioplancton et *P. globosa* ? Les bactéries participent-elles à la restauration de l'écosystème, après ces blooms massifs, par dégradation de la matière organique accumulée ?

Le deuxième chapitre de cette partie III a mis en évidence une forte adaptabilité des populations bactériennes aux apports quantitatifs et qualitatifs de MO.

(i) Une hausse significative des activités exo-enzymatiques bactériennes mesurées et des activités cellulaires spécifiques associées a ainsi été mise en relation avec le développement du bloom de *P. globosa* et les MO excrétées par cette micro-algue, et celles issues de sa lyse et/ou sa sénescence. Cette réponse bactérienne peut ainsi être liée à des modifications de la structure des populations directement, ou à une réponse d'ordre plus biochimique, par induction de la synthèse enzymatique.

(ii) La démonstration d'une réponse différentielle des EPA et EGA en situation de fin de bloom et de post-bloom de *P. globosa* (maintien des EPA et baisse significative des EGA), traduit une adaptation de l'équipement enzymatique bactérien aux MO présentes dans le milieu.

Nous avons pu émettre l'hypothèse que cette forte adaptabilité des bactéries impliquerait une modification de la structure spécifique des populations bactériennes.

Finalement, les réponses bactériennes étudiées dans l'ensemble de cette partie III, à la fois en termes de modifications des stocks et des activités de dégradation de matière, sont étroitement liées au bloom phytoplanctonique, en particulier au développement de *P. globosa*. Les bactéries participent ainsi de manière significative à la « restauration de l'écosystème »

après ces évènements de blooms massifs, en tant que principal consommateur des matières, dissoutes et particulaires, issues des blooms phytoplanctoniques.

L'application d'outils microbiens spécifiques mise en œuvre dans cette étude a permis une analyse plus fine du compartiment bactérien, en termes de stocks (détermination des fractions viables et actives) et de processus (couplage production bactérienne et activité exo-enzymatiques de dégradation), par rapport à la partie II. En effet, la variabilité spatio-temporelle des abondances et proportions en cellules bactériennes MEM+ et HNA mise en évidence dans cette étude permet de mieux expliquer les patrons d'évolution spatio-temporelle décrits dans la partie II.

Le découplage entre les abondances et les productions bactériennes, observé en situation de post-bloom (période printano-estivale ; voir Echelle 2), avait été expliqué par un contrôle dominant des stocks bactériens par leurs prédateurs (« top-down control »), qui pouvait également agir dans le contrôle par la ressource (« bottom-up control). Nous avons pu préciser dans cette étude que la pression de prédation, en réduisant les stocks de cellules, permettait non seulement d'augmenter le flux de substrat par cellule non broutée (cellules MEM+) mais aussi de stimuler l'activité cellulaire spécifique. Par ailleurs, le maintien d'une fraction bactérienne vivante particulièrement productive (fortes productions cellulaires spécifiques), et de proportions en cellules HNA élevées en situation de post-bloom permettent d'expliquer les niveaux maximaux de production observés.

La partie II a mis en évidence une réponse bactérienne significative (hausse des productions bactériennes) en période de bloom (2004) et de post-bloom (2003 & 2004), vraisemblablement en réponse aux MO d'origine phytoplanctonique. Les concentrations en Chl-*a* sont apparus comme étant un des principaux facteurs de contrôle de la production bactérienne (voir Echelle 2). Les mesures d'activité de dégradation exo-enzymatiques ont permis de préciser que ce sont les activités bactériennes exo-enzymatiques qui seraient contrôlées par les concentrations en Chl-*a*, les températures de surface étant par contre le facteur prépondérant de contrôle des abondances. De plus, la hausse significative des EPA et plus particulièrement des EGA en période de bloom de *P. globosa* confirme l'implication des bactéries dans la dégradation des MO d'origine phytoplanctonique, et principalement celles de *P. globosa*.

CONCLUSION GENERALE

La Manche orientale, zone d'interface très productive, se caractérise par un régime hydrodynamique particulier qui engendre, comme nous l'avons montré, l'existence de gradients hydrologiques (*e.g.* thermo-halin) et chimiques (concentration en sels nutritifs) prononcés, conditionnant eux-mêmes l'existence de gradients biologiques marqués (biomasse phytoplanctonique, abondance et production bactériennes). Ces derniers s'expriment à l'échelle de l'écosystème et sont plus particulièrement illustrés par les contrastes observés entre Wimereux et la baie de Somme et entre la côte et le large sur chacun des sites d'étude. L'existence de ces contrastes, l'hydrodynamisme et la richesse biologique du milieu font de la Manche orientale un écosystème de grand intérêt scientifique pour des études de processus physiques, chimiques et biologiques.

La caractérisation du compartiment bactérien (abondance, biomasse), de sa variabilité et de ses interactions trophiques potentielles avec le phytoplancton nous ont permis de répondre aux deux questions principales posées en début de ce manuscrit.

Certains des résultats acquis au cours de cette étude possèdent un caractère novateur concernant :

- une approche hiérarchisée de l'écosystème Manche orientale à différentes échelles spatio-temporelles d'observation imbriquées tenant compte des paramètres physiques, chimiques et biologiques susceptible d'exercer un forçage sur la variabilité spatio-temporelle du bactérioplancton.,

- une étude de processus trophiques *in situ* visant à estimer d'une part, la proportion en cellules bactériennes viables et actives participant réellement à l'activité globale mesurée et d'autre part, les activités bactériennes exo-enzymatiques et leur importance dans le processus de dégradation des matières organiques issues des blooms massifs de *P. globosa*.

Le travail présenté ici et développé autour du compartiment bactérien représente en outre une thématique scientifique de grand intérêt pour comprendre le fonctionnement des réseaux trophiques en Manche orientale, dès lors que les bactéries constituent un maillon fondamental dans les transferts de carbone océanique (dissous et particulaire), et que peu de travaux se sont jusqu'à présent consacrés à déterminer les stocks bactériens, leur variabilité à multi-échelle et à appréhender leur rôle dans le réseau trophique planctonique de cet écosystème.

■ Quelle est la réponse du bactérioplancton à la variabilité spatio-temporelle de l'écosystème Manche orientale ?

L'approche hiérarchisée de l'écosystème Manche orientale a mis en évidence, sur chaque échelle d'observation, l'impact des conditions climatiques, hydrologiques et chimiques sur le contexte phytoplanctonique, lui-même conditionnant la variabilité spatio-temporelle du compartiment bactérien.

- **Organisation à l'échelle inter annuelle**

La première approche représentait une approche globalisée à caractère exploratoire de l'écosystème Manche orientale. Elle nous a permis de définir le cadre spatial et temporel des conditions hydro-biologiques (contextes climatique, hydrologique, chimique et phytoplanctonique) du système Manche orientale susceptibles d'exercer un impact sur la variabilité spatio-temporelle du bactérioplancton. Basée sur la quantification des stocks et des processus bactériens (*i.e.* abondance, production), cette première phase de travail a permis de cibler les sites et les périodes caractéristiques d'un fonctionnement particulier du réseau microbien.
Cette étude menée sur deux sites contrastés de la Manche orientale a aussi souligné l'influence des conditions hydrologiques (dessalure plus ou moins importante) et nutritives du milieu sur la variabilité spatiale des stocks et des processus bactériens.

Les conditions environnementales particulières des années 2003 et 2004 ont joué un rôle important sur le calendrier phytoplanctonique observé pour chaque année. Si l'année 2003 fait état d'un bloom précoce de *P. globosa* (mars) par rapport à sa période habituelle d'apparition , suivi par une floraison estivale de diatomées, l'année 2004 montre une succession classique diatomées / *P. globosa* / diatomées (Hedin-Bougart, 1980 ; Brunet *et al.*, 1992, 1996 ; Breton, 2000 ; Seuront *et al.*, 2006).

L'impact de la ressource trophique sur la dynamique bactérienne est clairement apparu à l'échelle de l'écosystème et pour les deux années consécutives.
L'*année 2003* est caractérisée par un décalage temporel entre blooms bactérien et phytoplanctonique, suggérant le **passage de l'écosystème microplanctonique d'un fonctionnement de type autotrophe à hétérotrophe**. Cela implique la prépondérance d'un

transfert indirect de carbone autotrophe vers les bactéries, par des processus de sénescence, lyse et/ou broutage du phytoplancton.

L'*année 2004* révèle quant à elle un couplage plus étroit entre les deux composantes microbiennes, impliquant un **fonctionnement du réseau trophique microplanctonique à forte production autotrophe et hétérotrophe soutenant à la fois les réseaux trophiques microbien et herbivore au début du printemps 2004**. Les transferts directs de matière entre phytoplancton et bactéries seraient alors facilités, sans exclure pour autant la possibilité pour les bactéries d'utiliser la ressource phytoplanctonique de manière indirecte, en particulier en période de post-bloom de *P. globosa*.

- **Organisation à l'échelle saisonnière**

L'observation de la dynamique bactérienne sur une échelle saisonnière a nécessité une régionalisation du site d'étude de Wimereux, afin de travailler par la suite sur des sous-zones homogènes et hydrologiquement bien définies :

La **zone littorale** représente une zone de contact entre la côte et la Manche orientale et subit directement l'influence des apports fluviatiles (*i.e.* apports allochtones), maintenus par le « fleuve côtier » (Brylinski *et al.*, 1991). Du fait de sa faible profondeur (< 10 m), elle bénéficie également d'apports d'origine benthique issus de la remise en suspension et de la reminéralisation estivale d'éléments nutritifs. La concentration et le maintien de ces apports sur la zone littorale s'ajoutent aux apports autochtones liés à son activité biologique locale et favorise l'établissement d'un gradient côte/large marqué.
La **zone côtière**, intermédiaire entre les zones littorale et frontale, correspond au « fleuve côtier ». Cette zone bénéficie également d'apports allochtones et autochtones, conduisant à l'existence de forts contrastes de ses paramètres chimiques et biologiques avec ceux du large.
La **zone frontale** représente une zone de transition entre les eaux côtières et celles du large. Elle concentre à son niveau des éléments dissous et particulaires, sans pour autant être le siège d'une production bactérienne ou phytoplanctonique spécifique (Brunet *et al.*, 1992 ; Brylinski, 1993) et joue le rôle de barrière plus ou moins étanche au passage des particules, suivant le cycle de marée ((Brylinski et Lagadeuc, 1990).
La **zone du large** est le site de développements bactérien et phytoplanctonique plus limités, liés à des apports en éléments nutritifs réduits. Des apports allochtones océaniques peuvent

ponctuellement induire des abondances et des productions bactériennes élevées mais aussi diluer le signal de production et les communautés autochtones.

L'étude à l'échelle saisonnière a également permis de déterminer l'influence des paramètres hydrologiques (température) et biologiques (*i.e.* ressources trophiques) sur la saisonnalité des communautés bactériennes, et de mettre en évidence une évolution saisonnière des facteurs de contrôle du compartiment bactérien.

La *période microplanctonique hivernale* est caractérisée par une **faible activité biologique** au cours de laquelle le développement bactérien est essentiellement **contrôlé par la température de l'eau**.

La *période printanière* révèle des **activités microplanctoniques élevées**. En effet, cette période est caractérisée par l'apparition d'une floraison phytoplanctonique de *P. globosa*, conduisant à un bloom bactérien, dont les productions sont principalement contrôlées par la disponibilité de la ressource trophique algale (« **bottom-up control** »). Une part importante des matières organiques issues de l'efflorescence de *P. globosa* serait alors directement (excrétion) ou indirectement (lyse virale, broutage) utilisée par les bactéries.

La *période printano-estivale* est marquée par de **fortes productions bactériennes et des niveaux d'abondance élevés**, et correspond à une situation de **post-bloom de *P. globosa***. Les abondances bactériennes seraient contrôlées par une pression de prédation importante (« **top-down control** »).

La *période automnale* révèle une **stimulation bactérienne par des apports à la fois autochtones** (floraison automnale secondaire) **et allochtones** (influence importante des apports fluviatiles conditionnés par les fortes pluies automnales).

- **Organisation à l'échelle journalière**

L'application de deux méthodes de mesure de la production bactérienne (par incorporations indépendantes de ^{3}H-Thymidine et ^{3}H-Leucine) nous a permis d'acquérir des **estimations complémentaires, plus précises et plus fines des processus bactériens,** à une échelle de variation propre des temps de génération des communautés bactériennes.
L'étude de ces processus bactériens menée à l'échelle journalière a permis de s'affranchir du gradient côte/large marqué du site de Wimereux, et ainsi de vérifier que les paramètres hydrologiques (gradient thermo-halin) ne peuvent à eux seuls expliquer la variabilité des productions bactériennes. L'implication de ressources trophiques autres que celles issues de la production autotrophe locale (*e.g.* origines fluviatile, allochtone, « sloppy-feeding ») permet d'expliquer la variabilité bactérienne à court terme, et peut masquer un éventuel couplage journalier bactéries/phytoplancton.
Par ailleurs, la forte variabilité journalière des processus bactériens hétérotrophes favorise l'existence d'un *continuum* de **réseaux trophiques (*i.e.* « multivore »** *sensu* Legendre et Rassoulzadégan, 1995) au sein duquel coexistent une boucle microbienne et une chaîne trophique plus classique (phytoplancton – zooplancton).

Cette approche hiérarchisée de l'écosystème Manche orientale a clairement montré que l'environnement physique et biologique agit sur le compartiment bactérien. Or, celui-ci agit en retour, et participe pleinement au fonctionnement de l'écosystème A la suite de ces travaux, il nous est apparu essentiel de définir et préciser le rôle trophique des bactéries dans notre écosystème. Il s'est alors avéré essentiel (i) de déterminer, par le biais de techniques de marquages spécifiques, la dynamique propre de la fraction bactérienne réellement responsable de l'activité totale de la communauté, et (ii) d'estimer l'activité de dégradation de la matière organique par le biais de mesures exo-enzymatiques.

■ Quel est le rôle trophique du bactérioplancton au sein de l'écosystème Manche orientale ?

Lors des différents suivis réalisés au cours de l'approche multi-échelle de l'écosystème Manche orientale, il nous est parfois apparu difficile d'attribuer un signal de fortes production et productivité à un stock total de cellules bactériennes, dès lors que ce dernier comprend aussi bien des cellules mortes que des cellules actives. De plus, si les cellules bactériennes semblent utiliser, directement ou indirectement, les ressources trophiques issues du bloom de *P. globosa*, il est difficile, à la lumière de nos premiers résultats, de préciser si la croissance bactérienne est étroitement liée au développement de cette micro-algue.
Nous avons donc fait le choix de développer d'autres approches visant à caractériser :

(i) la fraction du pool bactérien réellement responsable de l'activité globale des communautés bactériennes ;

(ii) l'importance du couplage bactérioplancton/phytoplancton, et en particulier le couplage bactéries/*P. globosa*, par des mesures d'activité de dégradation exo-enzymatique.

- **Quelle est la fraction des stocks bactériens réellement responsable des processus bactériens mesurés ?**

La problématique centrale était de savoir dans quelle mesure l'abondance bactérienne reflète l'activité bactérienne potentielle. Nous avons alors testé l'idée que les abondances en cellules intactes (*i.e.* intégrité membranaire, cellules MEM+) et en cellules disposant d'un haut contenu en acides nucléiques (*i.e.* cellules HNA) représentent un **meilleur indice de l'activité potentielle bactérienne** que celui révélé par les abondances totales (*i.e.* par coloration par le DAPI).

L'application de deux colorants bactériens spécifiques a permis de mettre en évidence :

- une **hausse significative des cellules MEM+ en réponse au développement du bloom de *P. globosa*** et des productions cellulaires spécifiques accrues lors du déclin de l'efflorescence, indiquant une utilisation rapide par les bactéries des matières organiques dérivées directement et indirectement de la floraison phytoplanctonique ;
- des **proportions en cellules HNA particulièrement élevées (i) en situation de post-bloom de *P. globosa* et (ii) en zone côtière**, révélant une utilisation pour la croissance bactérienne de ressources trophiques issues directement ou indirectement de la production autotrophe locale et d'autres ressources issues d'apports allochtones.

Nous avons également pu montrer :

(i) que ces deux fractions du pool de cellules bactériennes semblent correspondre aux *mêmes sous-populations bactériennes*,

(ii) qu'elles sont *variables* à la fois dans le temps (*i.e.* échelle saisonnière) et dans l'espace (*i.e.* Wimereux/baie de Somme, côte/large), et

(iii) que les cellules bactériennes ne sont pas toutes identiquement actives, et donc qu'il existerait un *continuum d'activité* au sein des assemblages bactériens.

- **Quelles sont les relations trophiques entre bactérioplancton et phytoplancton, et plus précisément entre bactérioplancton et *P. globosa* ?**

Les mesures d'activité exo-enzymatiques bactériennes de dégradation de la matière ont permis de confirmer le **lien étroit existant entre le compartiment bactérien et le développement de *P. globosa***.

En réponse aux matières organiques (MO) accumulées pendant et après ces blooms massifs, les populations bactériennes semblent montrer une forte adaptabilité :

(i) à la *quantité* de MO présente dans le milieu, dès lors qu'elles semblent augmenter significativement leur équipement enzymatique de dégradation en relation avec le développement du bloom ;

(ii) à la *qualité* des MO du milieu, dès lors qu'elles semblent adapter leur équipement enzymatique de dégradation en fonction de la composition biochimique des substrats disponibles.

Cette forte adaptabilité des bactéries pourrait donc être liée à une réponse d'ordre biochimique, par **induction d'un équipement enzymatique adapté**, mais également être liée à une **modification de la structure spécifique des assemblages bactériens**.
Finalement, en tant que principal consommateur des matières organiques, dissoutes et particulaires, issues directement ou indirectement des blooms phytoplanctoniques, **les bactéries participent ainsi de manière significative à la « restauration de l'écosystème »** après les évènements de blooms massifs de *P. globosa*.

Perspectives de recherche

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'une gestion intégrée et du développement durable des zones côtières anthropisées, dont la connaissance et la compréhension sont aujourd'hui une nécessité absolue. Les résultats acquis au cours de cette étude apportent différents éléments concourant à cette gestion des écosystèmes côtiers et ont notamment permis :

- de préciser l'importance des échanges dans ces zones d'interface en particulier sous l'influence des apports fluviatiles et océaniques ;

- d'appréhender la réponse de l'écosystème à différentes sources de variabilité spatiales et temporelles, en structurant notre étude selon différentes échelles d'observation hiérarchisées ;

- de rendre compte des liens trophiques potentiels entre des compartiments clés (**ici** phytoplancton et bactérioplancton) du réseau trophique planctonique de la Manche orientale ;

- de définir différentes périodes caractéristiques d'un type de fonctionnement particulier du réseau trophique microbien, dont la connaissance est capitale pour appréhender à la fois l'importance des flux de matière et d'énergie au sein de l'écosystème et son rendement.

Ce travail permet en outre d'approfondir les connaissances acquises sur le compartiment planctonique, et constitue une contribution supplémentaire à l'étude du bactérioplancton, jusqu'alors peu étudié en Manche orientale.

Tout ce travail étant essentiellement basé sur le suivi des eaux de surface, il serait intéressant d'étudier les distributions verticales bactériennes. Si pour la zone littorale on peut envisager que la couche d'eau soit homogène (bien que la lumière et donc la production primaire ne le soient pas), pour les autres zones il est probable qu'il y ait de fortes variations spatio-temporelles le long de la colonne d'eau liées à la structuration physique et nutritionnelle des masses d'eau.

La suite de ce travail doit également tenir compte de l'évolution à plus long terme de ces écosystèmes côtiers, d'autant plus que pour les deux années de suivi réalisées dans notre travail la variabilité était très marquée. L'étude sur ces deux années consécutives a apporté des informations pertinentes en terme de fonctionnement du réseau trophique microbien et en terme de variabilité de l'écosystème. Poursuivre le suivi du compartiment bactérien dans l'écosystème Manche orientale s'avère indispensable puisqu'il permettra de dégager sur plusieurs années une typologie des périodes de faibles et fortes productions hétérotrophes, et d'identifier à plus long terme l'ensemble des facteurs écologiques responsables du couplage et du découplage entre bactérioplancton et phytoplancton. Cette approche pluriannuelle devra néanmoins tenir compte des résultats acquis sur le site et s'intégrer par exemple aux suivis à haute fréquence entrepris sur les stations SOMLIT (Station Marine de Wimereux) et SRN - REPHY (Ifremer) depuis plusieurs années.

Des approches complémentaires sont aussi nécessaires pour tenir compte du compartiment bactérien dans son intégralité, c'est-à-dire pour appréhender sa dynamique en liaison avec d'autres éléments biologiques :

- étudier plus précisément le couplage direct entre bactério- et phytoplancton permettra de caractériser de manière plus fine les interactions trophiques entre ces deux compartiments. Ce travail passe par une étude de terrain à échelle temporelle restreinte et au cours de laquelle seront quantifiés par exemple les processus d'excrétion photosynthétique de composés dissous et la production primaire. Ces processus propres aux communautés phytoplanctoniques sont en cours d'étude dans le cadre des projets développés en Manche orientale (PNEC, CPER) et permettront à terme d'acquérir une connaissance complète de la structure, du fonctionnement et de la variabilité du réseau trophique microbien ;

- préciser le rôle de la lyse virale du phytoplancton, qui serait impliquée dans le relargage de matières empruntant préférentiellement la voie de dégradation microbienne. Si des travaux concernant les interactions virioplancton/phytoplancton ont récemment été réalisés en mésocosmes à partir de cultures de *P. globosa* (Brussaard *et al.*, 2005a,b), aucun n'a à ma connaissance été développé sur le terrain ;

- préciser le rôle de la lyse virale du bactérioplancton, qui exercerait un contrôle sur les populations bactériennes au même titre que les nanoflagellés hétérotrophes. Il serait alors intéressant de déterminer quelle est leur part relative dans le contrôle des stocks bactériens ;

- inclure les compartiments nano- et microzooplanctoniques dans notre étude, permettrait de vérifier l'influence des prédateurs sur la dynamique bactérienne. L'étude de la nutrition des métazoaires et des protozoaires microplanctoniques est une thématique en plein essor dans de nombreux systèmes côtiers ayant pour objectifs :
    (i) d'étudier l'influence du régime alimentaire sur le recrutement larvaire (problématique Naissain, Ifremer) ou sur la démographie du zooplancton (UMR Mer et Santé, Roscoff),
    (ii) de caractériser le maintien des ressources trophiques malgré une pression de prédation forte et/ou une compétition trophique élevée entre protistes.

Cette problématique fait partie des préoccupations actuelles de projets développés en Manche orientale (CPER *Phaeocystis*) ainsi que dans d'autres milieux (Roscoff, Bassin d'Arcachon) et permettra d'aboutir à une approche complète de l'écosystème

planctonique dans sa structure et son fonctionnement en fournissant des informations nouvelles sur les processus impliqués dans ce cadre.

Enfin, à terme, il serait particulièrement intéressant de caractériser la structure spécifique (taxonomique) des communautés bactériennes et d'étudier leurs potentialités métaboliques respectives (voir DeLong et Karl, 2005 pour une revue sur le sujet). L'application par exemple de sondes oligonucléotidiques d'ARNr bactérien couplées à un marqueur fluorescent (FISH pour « Fluorescence *in situ* hybridization » ; Amann *et al.*, 1997) permettrait d'appréhender la diversité taxonomique bactérienne et de pouvoir relier cette diversité à l'activité des communautés. Cela permettrait en effet (i) de connaître la contribution des espèces bactériennes majeures dans l'activité mesurée (production bactérienne et activités de dégradation exo-enzymatique), et (ii) de savoir s'il existe une dynamique saisonnière de la structure spécifique des assemblages bactériens, en relation avec le bloom de *P. globosa*, comme cela a été étudié en Manche occidentale au large des côtes de Plymouth (Mary *et al.*, 2006).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Aelbrecht, D., Chabert D'Hières, G., Zhang, X. 1993. Generation of a residual current by interaction between the coastal boundary layer and the Ekman layer in a tidal motion. Oceanol. Acta, 16: 479-487.

Aldana Aranda, D., Lucas, A., Brulé, T., Andrade, M., Garcia, E., Maginot, N., Le Pennec, M. 1991. Observation on ingestion and digestion of unicellular algae by *Strombus gigas* larvae (Mollusca, Gastropoda) using epifluorescence microscopy. Aquaculture. 92: 359-366.

Alongi, D. 1998. The coastal ocean. I. The coastal zone. In: Kennish, M.J., Lutz, P.L. (Eds.), Coastal Ecosystem Processes. CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., pp. 183-247.

Amann, R., Gl¨ckner, F.O., Neef, A. 1997. Modern methods in subsurface microbiology: *in situ* identification of micro-organisms with nucleic acid probes. FEMS Microbiol. Rev. 20: 191-200.

Anderson, M.J., Underwood, A.J. 1997. Effects of gastropod grazers on recruitment and succession of an estuarine assemblage: a multivariate and univariate approach. Oecologia. 109: 442-453.

Anonyme. 1988. Courants de mare dans le Pas-de-Calais. Service Hydrographique et Océanographique de la Marine, Paris.

Anonyme. 2004. Résultats de la surveillance de la qualité du milieu marin littoral, Edition 2004. Ifremer/RST.DEL.BL/04.02/Laboratoire côtier de Boulogne-sur-mer, 54 pp.

Anonyme. 2005. résultats de la surveillance de la qualité du milieu marin littoral, Edition 2005. Ifremer/RST.LER.BL/05.03/Laboratoire côtier de Boulogne-sur-mer, 53 pp.

Antia, N.J., Berland, B.R., Bonin, D.J. 1980. Proposal for an abridged nitrogen turnover cycle in certain marine planktonic systems involoving hypoxanthine-guanine excretions by ciliates and their reutilisation by phytoplankton. Mar. Ecol. Prog. Ser. 2: 97-103.

Arrigo, K.R. 2005. Marine microorganisms and global nutrient cycles. Nature. 437: 349-355.

Artigas, L.F. 1998. Seasonal variability in microplanktonic biomasses in the Gironde dilution plume (Bay of Biscay): relative importance of bacteria. O.Acta. 21: 563-580.

Artigas, L.F., Herbland, A., Laborde, P. 2000. Is the spring bacterioplankton production, on the Aquitanian shelf, a response to primary production ? Ozeanografika 3: 185-202.

Auby, I., Trut, G., D'Amico, F., Belialeff, B. 1999. Réseau hydrologique du Bassin d'Arcachon. Synthèse des résultats 1988-1997. Rapport interne IFREMER/DEL, Arcachon, 85pp.

Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Gray, J.S., Meyer-Reil, L.A., Thingstad, F. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 10: 257-263.

Azam, F., Smith, D.C., Carlucci, A.F. 1992. Bacterial transformation and transport of organic matter int the Southern California Bight. Prog. Oceanog. 30: 151-166.

Azam, F., Smith, D.C., Steward, G.F., Hagström, A. 1993. Bacteria - organic matter coupling and its significance for oceanic carbon cycling. Microb. Ecol. 28: 167-179.

Azam, F. 1998. Microbial control of oceanic carbon flux: The plot thickens. Science. 280: 694-696.

B

Baines, S.B., Pace, M.L. 1991. The production of dissolved organic matter by phytoplankton and its importance to bacteria: patterns across marine and freshwater systems. Limnol. Oceanogr. 36: 1078-1090.

Barbault, R. 1992. Ecologie des peuplements. Masson (Ed.), Paris, 273pp.

Barbosa, A.B., Galvão, H.M., Mendes, P.A., Álvarez-Salgado, X.A., Figueiras, F.G., Joint, I.. 2001. Short-term variability of heterotophic bacterioplankton during upwelling off the NW Iberian margin. Prog. Oceanogr. 51: 339-359.

Barer, M.R., Harwood, C.R. 1999. Bacterial viability and culturability. Adv. Microb. Physiol. 41: 93-137.

Beaugrand, G. 2005. Monitoring pelagic ecosystems using plankton indicators. ICES J. Mar. Sci. 62: 333-338.

Beaugrand, G., Reid, P. C. 2003. Long-term changes in phytoplankton, zooplankton and salmon linked to climate change. Global Change Biology. 9: 801-817.

Becquevort, S., Rousseau, V., Lancelot, C. 1998. Major and comparable roles for free-living and attached bacteria in the degradation of *Phaeocystis* -derived organic matter in belgian coastal waters of the North Sea. Aquat.Microb.Ecol. 14: 39-48.

Becquevort, S., Smith, W.O. 2001. Aggregation, sedimentation and biodegradability of phytoplankton-derived material during spring in the Ross Sea, Antarctica. Deep-Sea Res. II. 48: 4155-4178.

Becquevort, S., Bouvier, T., Lancelot, C., Cauwet, G., Deliat, G., Egorov, V.N., Popovichev, V.N. 2002. The seasonal modulation of organic matter utilisation by bacteria in the Danube-black Sea mixing zone. Est. Coast Shelf. Sci. 54: 337-354.

Bell, R.T. 1993. Estimating Production of Heterotrophic Bacterioplankton via Incorporation of Tritiated Thymidine. In: P.F. Kemp, Sherr, B.F., Sherr, E.B., Cole, J.J., (Eds.), Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology. Lewis publishers, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, pp. 495-503.

Benner, R. 2004. What happens to terrestrial organic matter in the ocean? Mar. Chem. 92: 307-310.

Bentley, D. 1985. Caractéristiques physico-chimiques des eaux du détroit du pas de Calais. J. Rech. Oceanogr. 10: 69-71.

Bentley, D., Lafite, R., Morley, N.H., James, R., Staham, P.J., Guary, J. 1993. Flux de nutriments entre la Manche et la Mer du Nord. Situation actuelle et évolution depuis dix ans. Oceanol. Acta, 16: 599-606.

Benzécri, J.P. *et coll.* 1973. L'analyse des données. Tome II: *L'analyse des correspondances*. Dunod, Paris. 619 pp.

Berman, T., Hoppe, H., Gocke, K. 1994. Response of aquatic bacterial populations to substrate enrichment. Mar. Ecol. Prog. Ser. 104: 173-184.

Berman, T., Kaplan, B., Chava, S., Viner, Y., Sherr, B.F., Sherr, E.B. 2001. Metabolically active bacteria in Lake Kinneret. Aquat. Microb. Ecol. 23: 213-224.

Bernard, L., Courties, C., Servais, P., Trousellier, M., Petit, M., Lebaron, P. 2000. Relationships among bacterial cell size, productivity, and genetic diversity in aquatic environments using cell sorting and flow cytometry. Microb. Ecol. 40: 148-158.

Bianchi, M., Marty, D., Caumette, P., Bertrand, J.C., Gauthier, M. 1989. Micro-organismes dans les écosystèmes océaniques. 445pp. Masson.

Bianchi, M., Van Wambeke, F. 1995. Les réseaux planctoniques ou la base de la production océanique. In Masson and CNRS (Eds.), Micro-organismes dans les écosystèmes océaniques. Paris, Milan, Barcelone, Mexico, pp. 65-100.

Biddanda, B.A., Benner, R. 1997. Carbon, nitrogen and carbohydrate fluxes during the production of particulate and dissolved organic matter by marine phytoplankton. Limnol. Oceanogr. 42: 506-518.

Biddanda, B.A., Ogdahl, M., Cotner, J. 2001. Dominance of bacterial metabolism in oligotrophic relative to eutrophic waters. Limnol. Oceanogr. 46: 730-739.

Biersmith, A., Benner, R. 1998. Carbohydrates in phytoplankton and freshly produced dissolved organic matter. Mar. Chem. 63: 131-144.

Biggerstaff, J.P., Le Puil, M., Weidow, K., B.L., Prater, J., Glass, Radosevich, M., White, D.C. 2006. New methodology for viability testing in environmental samples. Mol. Cell. Probes. 20: 141-146.

Billen, G., Joiris, C., Meyer-Reil, L., Lindeboom, H. 1990a. Role of bacteria in the North Sea Ecosystem. Netherlands J. Sea Res. 26: 265-293.

Billen, G., Servais, P., Becquevort, S. 1990b. Dynamics of bacterioplankton in oligotrophic and eutrophic aquatic environments: bottom-up or top-down control? Hydrobiologia. 27: 37-42.

Bjørnsen, P.K. 1988. Phytoplankton exudation of organic matter: why do healthy cells do it ? Limnol. Oceanogr. 33: 151-154.

Blackburn, N., Fenchel, T., Mitchell, J. 1998. Microscale nutrient patches in planktonic habitats shown by chemotic bacteria. Science. 282: 2254-2256.

Bonin, D.J., Travers, M. 1993. Examen critique des méthodes d'estimation de la biomasse et de l'activité des microorganismes dans les systèmes aquatiques. Marine life. 2: 1-29.

Breton, E., Sautour, B., Brylinski, J.M. 1999. No feeding on *Phaeocystis sp.* As solitary cells (post-bloom) period by the copepod *Temora longicornis* in the coastal waters of the English Channel. Hydrobiol. 414: 13-23.

Breton, E. 2000. Qualité du pool nutritif et nutrition des copépodes pélagiques en Manche orientale. Thèse de doctorat, Université du Littoral Côte d'Opale, 282 pp.

Breton, E, Brunet, C., Sautour, B., Brylinski, J.M. 2000. Annual variations of phytoplanktonic biomass in the Eastern English Channel: comparison by pigment signatures and microscopic counts. J. Plankton Res. 22: 1423-1440.

Bronk, D.A., Ward, B.B. 1999. Gross and net nitrogen uptake and DON release in the euphotic zone of Monterey bay, California. Limnol. Oceanogr. 44: 573-585.

Brunet, C., Brylinski, J.M., Frontier, S. 1992. Productivity, photosynthetic pigments and hydrology in the coastal front of the eastern English Channel. J. Plankton Res. 14: 1541-1552.

Brunet, C. 1994. Analyse des pigments photosynthétiques par HPLC: commuanautés phytoplanctoniques et productivité primaire en Manche orientale. Thèse de doctorat, Université Paris VI, 364 pp.

Brunet, C, Brylinski, J.M., Bodineau, L., Thoumelin, G., Bentley, D., Hilde, D. 1996. Phytoplankton dynamics during the spring bloom in the South-eastern English Channel. Est. Coast. Shelf Sci. 43: 469-483.

Brunet, C., Lizon, F. 2003. Tidal and diel periodicities of size-fractionated phytoplankton pigment signatures at an offshore station in the southeastern English Channel. Est. Coast. Shelf Sci. 56: 833-843.

Brussaard, C.P.D., Short, S.M., Frederickson, C.M., Suttle, C.A. 2004. Isolation and phylogenetic analysis of novel viruses infecting the phytoplankter *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae). Appl. Environ. Microbiol. 70: 3700-3705.

Brussaard, C.P.D., Kuipers, R.S., Veldhuis, M.J.W. 2005a. A mesocosm study of *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) population dynamics. I. Regulatory role of viruses in bloom control. Harmful Algae, 4: 859-874.

Brussaard, C.P.D., Mari, X., Van Bleijswijk, J.D.L., Veldhuis, M.J.W. 2005b. A mesocosm study of *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) population dynamics. II. Significance for the microbial community. Harmful Algae 4: 875-893.

Brylinski, J.M., Dupont, J., Bentley, D. 1984. Conditions hydrologiques au large du cap Gris Nez (France): premiers resultants. Oceanol. Acta 7: 315-322.

Brylinski, J.M., Bentley, D., Quisthoudt, C. 1988. Discontinuité et zooplancton (Copépodes) en Manche orientale. J. Plankton Res. 10: 503-513.

Brylinski, J.M., Lagadeuc, Y. 1990. L'interface eaux côtières/eaux du large dans le Pas de Calais: une zone frontale. C.R. Acad. Sci. Paris. 311: 535-540.

Brylinski, J.M., Lagadeuc, Y., Gentilhomme, V., Dupont, J.-P., Lafite, R., Dupeuble, P.-A., Huault, M.-F., Auger, Y., Puskaric, E., Wartel, M., Cabioch, L. 1991. Le "fleuve Côtier": un phénomène hydrologique important en Manche Orientale. Exemple du Pas de Calais. O. Acta. 11: 197-203.

Brylinski, J.M. 1993. Ecohydrodynamique pélagique en Manche orientale. Habilitation à diriger des recherches, Université de Lille I, S.M.W., 270 pp.

Brylinski, J.M., Brunet, C., Bentley, D., Thoumelin, G., Hilde, D. 1996. Hydrography and Phytoplankton biomass in the Eastern English Channel in spring 1992. Est. Coast Shelf Sci. 43: 507-519.

Button, D.K., Robertson, B.R., Jüttner, F. 1996. Microflora of a subalpine lake: bacterial populations, size, and DNA distributions, and their dependence on phosphate. FEMS Microbiol. Ecol. 21: 87-101.

C

Cadée, G.C., Hegeman, J. 2002. Phytoplankton in the Marsdiep at the end of the 20th century; 30 years monitoring biomass, primary production and *Phaeocystis* bloom. J. Sea Res. 48: 97-110.

Cajal-Medrano, R., Maske, H. 1999. Growth efficiency, growth rate and the reminéralisation of organic substrate by bacterioplankton – revisiting the Pirt model. Aquat. Microb. Ecol. 19: 119-128.

Campbell, L., Nolla, H.A., Vaulot, D. 1994. The importance of *Prochlorococcus* to community structure in the central north Pacific Ocean. Limnol. Oceanogr. 39: 954-961.

Carlson, C.A., Ducklow, H.W., Michaels, A.F. 1994. Annual flux of dissolved organic carbon from the euphotic zone in the northwestern Sargasso Sea. Nature. 371: 405-408.

Carlson, C.A., Ducklow, H.W. 1995. Dissolved organic carbon in the upper ocean of the central equatorial Pacific Ocean, 1992: daily and finescale vertical variations. Deep-Sea Res. 42: 639-656.

Carlson, C.A., Ducklow, H.W., Sleeter, T.D. 1996. Growth of bacterioplankton and consumption of dissolved organic carbon in the northwestern Sargasso Sea. Deep-Sea Res. 43: 491-515.

Carlson, C.A., Giovanni, S.J., Hansell, D.A., Goldberg, S.J., Parsons, R., Vergin, K. 2004. Interactions among dissolved organic carbon, microbial processes, and community structure in the mesopelagic zone of the northwestern Sargasso Sea. Limnol. Oceanogr. 49: 1073-1083.

Caron, D.A. 2000. Symbiosis and mixotrophy among pelagic microorganisms. In: Kirchman, D.L. (Ed.) Microbial ecology of the oceans. John Wiley (Ed.), New York, pp. 495-523.

Caron, D.A., Lim, E.L., Sanders, R.W., Dennett, M.R., Berninger, U.G. 2000. Responses of bacterioplankton and phytoplankton to organic carbon and inorganic nutrient additions in contrasting oceanic ecosystems. Aquat. Microb. Ecol. 22: 175-184.

Casotti, R., Brunet, C., Aronne, B., Ribera d'Alcala, M. 2000. Mesoscale features of phytoplankton and planktonic bacteria in a coastal area as induced by external water masses. Mar. Ecol. Prog. Ser. 195: 15-27.

Cauwet, G. 1994. HTCO method for dissolved organic carbon analysis in sea water: influence of catalyst on blank estimation. Mar. Chem. 47: 55-64.

Cauwet, G. 2002. DOM in the coastal zone. In Hansell, D.A., Carlson, C.A. (Eds.), Biogeochemistry of marine dissolved organic matter. Academic Press, San Diego, DA, pp. 579-609.

Chin-Leo, G., Kirchman, D.L. 1988. Estimating bacterial production in marine waters from the simultaneous incorporation of thymidine and leucine. Appl. Environ. Microb. 54: 1934-1939.

Chin-Leo, G., Kirchman, D.L. 1990. Unbalanced growth in natural bacterial assemblages of marine bacterioplankton. Mar. Ecol. Prog. Ser. 63: 1-8.

Chiura, H.X. 1997. Generalized gene transfer by virus-like particles form marine bacteria. Aquat. Microb. Ecol. 13: 75 – 83.

Cho, B.C., Azam, F. 1988. Major role of bacteria in biogeochemical fluxes in the ocean's interior. Nature. 332: 441-443.

Choi, J.W., Sherr, E.B., Sherr, B.F. 1996. Relation between presence / absence of a visible nucleoid and metabolic activity in bacterioplankton cells. Limnol. Oceanogr. 41: 1161-1168.

Choi, J.W., Sherr, E.B., Sherr, B.F. 1999. Dead or alive ? A large fraction of ETS-inactive marine bacterioplankton cells, as assessed by reduction of CTC, can become ETS-active cells with incubation and substrate addition. Aquat. Microb. Ecol. 16: 27-35.

Christaki, U., Gaudy, R., Kerambrun, P. 1998. A study of the effects of migratory zooplankton on microbial populations in surface waters of the N.W. Mediterranean. JEMBE. 225: 173-183.

Chróst, R.J. 1991. Environmental control of the synthesis and activity of aquatic microbial ectoenzymes. In Chróst, R.J. (Ed.), Microbial enzymes in aquatic environments. Springer-Verlag, New York, pp. 29-59.

Cloern, J.E. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. Mar. Ecol. Prog. Ser. 210: 223-253.

Cole, J.J., Findlay, S., Pace, M.L. 1988. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross - system overview. Mar. Ecol. Prog. Ser. 43: 1-10.

Conley, D.J. 2000. Biogeochemical nutrient cycles and nutriment strategies. Hydrobiologia. 410: 87-96.

Cooley, W.W., Lohnes, P.R. 1971. Multivariate data analysis. John Wiley and Sons (Eds.), New York, 364 pp.

Cotner, J.B., Biddanda, B.A. 2002. Small players, large role: microbial influence on biogeochemical processes in pelagic aquatic ecosystems. Ecosystems. 5: 105-121.

Cotonnec, G. 2001. Les lipides, marqueurs des relations trophiques planctoniques dans les écosystèmes pélagiques côtiers. Thèse de doctorat, Université du Littoral Côte d'Opale, 324 pp.

Cotonnec, G., Brunet., Sautour, B., Thoumelin, G. 2001. Nutritive value and selection of food particles by copepods during a spring bloom of *Phaeocystis* sp. in the English Channel, as determined by pigment and fatty acid analysis. J. Plankton. Res. 23: 693-703.

Cotonnec, G., Seuront, L. Thoumelin, G., Fraga-Lago, L. 2003. Fatty acid composition of *Acartia clausi, Pseudocalanus elongatus* and *Temora longicornis* associated with their diet in the eastern English Channel during a spring bloom of *Phaeocystis sp.* La mer. 41: 37-50.

Cottrell, M.T., Kirchman, D.L. 2003. Contribution of major bacterial groups to bacterial biomass production (thymidine and leucine incorporation) in the Delaware estuary. Limnol. Oceanogr. 48: 168-178.

Créach, V., Baudoux, A-C., Bertru, G., Le Rouzic, B. 2003. Direct estimate of active bacteria: CTC use and limitations. J. Microbiol. Methods. 52: 19-28.

Crottereau, C., Delmas, D. 1998. Exoproteolytic activity in an Atlantic pond (France): estimates of *in situ* activity. Aquat. Microb. Ecol. 15: 214-224.

D

Daley, R.J., Hobbie, J.E. 1975. Direct counts of aquatic bacteria by modified epifluorescence technique. Limnol. Oceanogr. 21: 141-145.

Dawes, E.A. 1985. Starvation, survival and energy reserves. In: Fletcher, M. (Ed.), Bacteria in their natural environment. Academic Press, New York, pp. 43-79.

Day, Jr., J.W., Hall, C.A.S., Kemp, W.M., Yanez-Arancibia, A. 1989. Estuarine ecology, John Wiley and Sons (Eds.), New York, 558 pp.

Decamp, O., Rajendran, N. 1998. Assessment of bacterioplankton viability by membrane integrity. Mar. Poll. Bull. 36: 739-741.

Del-Amo, Y., Le Pape, O., Tréguer, P., Quéguiner, P., Ménesguen, A., Aminot, A. 1997. Impacts of high-nitrate freshwater inputs on macrotidal ecosystems. I. Seasonal evolution of nutrient limitation for the diatom-dominated phytoplankton in the Bay of Brest (France). Mar. Ecol. Prog. Ser. 161: 213-224.

del Giorgio, P.A., Cole, J.J., Cimblerist, A. 1997. Respiration rates in bacteria exceed phytoplankton production in unproductive aquatic systems. Nature, 385: 148-151.

del Giorgio, P.A., Prairie, Y.T., Bird, D.F. 1997. Coupling between rates of bacterial production and the abundance of metabolically active bacteria in Lakes, enumerated using CTC reduction and Flow Cytometry. FEMS Microb. Ecol. 34: 144-154.

del Giorgio, P.A., Cole, J.J. 1998. Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. Annu. Rev. Ecol. Syst. 29: 503-541.

del Giorgio, P.A., Cole, J.J. 2000. Bacterial energetics and growth efficiency. In: Kirchman, D.L. (Ed.), Microbial Ecology of the Oceans. Wiley-Liss, Inc., New York, pp. 289-325.

del Giorgio, P.A., Duarte, C.M. 2002. Respiration in the open ocean. Nature. 420: 379-384.

Déliat, G. 2001. La matière organique dissoute des zones côtières : sources, distribution et biodégradabilité. Thèse de Doctorat, Université de Paris VI, 222 pp.

Dellile, D. 2003. Seasonal and inter-annual variability of bacterioplankton biomass at station Kerfix, off Kerguelen Islands, Antarctica. Oceanol. Acta. 26: 225-229.

Delong, E.F., Karl, D.M. 2005. Genomic perspectives in microbial oceanography. Nature. 437: 36-342.

Desroy, N., Denis, L. 2004. Influence of spring phytodetritus sedimentation on intertidal macrozoobenthos in the eastern English Channel. Mar. Ecol. Prog. Ser. 270: 41-53.

Devreker, D., Souissi, S., Seuront, L. 2005. Effects of chlorophyll concentration and temperature variation on the reproduction and survival of *Temora longicornis* (Copepoda, Calanoida) in the eastern English Channel. Jour. Exp. Mar. Biol. and Ecol. 318: 145-162.

Dickson, R.R., Kelly, P.M., Colebrook, J.M., Wooster, W.S., Cushing, D.H. 1998. North winds and production in the eastern North Atlantic. J. Plankton Res. 10: 151-169.

Douillet, P.A. 1993a. Bacterivory in Pacific oyster *Crassostrea gigas* larvae. Mar. Ecol. Prog. Ser. 98: 123-134.

Douillet, P.A. 1993b. Carbon contribution through bacterivory in larvae of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 102: 303-314.

Duarte, C.M., Vaqué, D. 1992. Scale dependence of bacterioplankton patchiness. Mar. Ecol. Prog. Ser. 84: 95-100.

Duarte, C.M., Agustì, S., Arìstegui, J., Gonzalez, N., Anadòn, R. 2001. Evidence for a heterotrophic subtropical NE Atlantic. Limnol. Oceanogr. 46: 425-428.

Ducklow, H.W. 1992. Factors regulating bottom-up control of bacteria biomass in open ocean plankton communities. Archiv für Hydrobiologie Beiheft Ergebnisse der Limnologie. 37: 207-217.

Ducklow, H.W., Carlson, C.A. 1992. Oceanic bacterial production. In: Marshall, K.C. (Ed.), Advances in microbial ecology. Plenum Press, New York, pp. 113-181.

Ducklow, H.W., Quinby, H.L., Carlson, C.A. 1995. Bacterioplankton dynamics in the equatorial Pacific during the 1992 El Nino. Deep-Sea Res. II. 42: 621-638.

Ducklow, H.W. 1999. The bacterial content of the ocean euphotic zone. FEMS Microb. Ecol. 30: 1-10.

Ducklow, H.W., Carlson, C., Smith, W. 1999. Bacterial growth in experimental plankton assemblages and seawater cultures from the *Phaeocystis antartica* bloom in the Ross Sea, Antartica. Aquat. Microb. Ecol. 19: 215-227.

Ducklow, H.W., Carlson, C., Church, M., Kirchman, D., Smith, D., Steward, G. 2001. The seasonal development of the bacterioplankton bloom in the Ross Sea, Antarctica, 1994-1997. Deep-Sea Res. 48: 4199-4221.

Ducklow, H.W., Kirchman, D.L., Anderson, T.R. 2002. The magnitude of spring bacterial production in the North Atlantic Ocean. Limnol. Oceanogr. 47: 1684-1693.

Dupont, J.P., Lafite, R., Huault, M.F., Lamboy, M., Brylinski, J.M., Guéguéniat, P. 1991. La dynamique des masses d'eau et des matières en suspension en Manche orientale. Oceanol. Acta. 11: 177-186.

Dupuy, C., Vaquer, A., Lam-Hoai, T., Rougier, C., Mazouni, N., Lautier, J., Collos, Y., Le Gall, S. 2000. Feeding rate of the oyster *Crassostrea gigas* in a natural plankton community of the Mediterranean Thau lagoon. Mar. Ecol. Prog. Ser. 205: 171-184.

E

Ehrenhauss, S., Witte, U., Bühring, S.I., Huettel, M. 2004. Effect of advective pore water transport on distribution and degradation of diatoms in permeable North Sea sediments. Mar. Ecol. Prog. Ser. 271: 99-111.

Eyre, B. 1994. Nutrient biochemistry in the tropical Moresby River Estuary System North Queensland, Australia. Est. Coast. Shelf. Sci. 39: 15-31.

F

Ferrier-Pagès, C., Rassoulzadegan, F. 1994. Seasonal impact of the microzooplankton on pico- and nanoplankton growth rates in the northwest Mediterranean Sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 108: 283-294.

Fogg, G.E. 1977. Excretion of organic matter by phytoplankton. Limnol. Oceanogr. 22: 576-577.

Fogg, G.E. 1983. The ecological significance of extracellular products of phytoplankton photosynthesis. Bot. marine. 26: 3-14.

Fortier, L., Le Fèvre, J., Legendre, L. 1994. Export of biogenic carbon to fish and to the deep ocean: the role of large planktonic microphages. J. Plankton Res. 16: 809-839.

Francisco, D.E., Mah, R.A., Rabin, A.C. 1973. Acridine orange épifluorescence technique for counting bacteria. Trans. Am. Micros. Soc. 92: 416-421.

Frontier, S., Leprêtre, A. 1998. Développements récents en théorie des écosystèmes. Ann. Inst. Océanogr. 74: 43-87.

Fuhrman, J.A., Azam, F. 1980. Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia, Antarctica, and California. Appl. Environ. Microbiol. 39: 1085-1095.

Fuhrman, J.A., Azam, F. 1982. Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: Evaluation and field results. Mar. Biol. 66: 109-120.

Fuhrman, J.A., Eppley, R.W., Hagström, Å., Azam, F. 1985. Diel variations in bacterioplankton, phytoplankton, and related parameters in the Southern California Bight. Mar. Ecol. Prog. Ser. 27: 9-20.

Fuhrman, J.A. 1992. Bacterioplankton roles in cycling of organic matter: the microbial food web. In: Falkowski, P.G., Woodhead, A.D. (Eds.), Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea. Plenum press, New York, pp. 361-383.

Fuhrman, J.A., Noble, R.T. 1995. Viruses and protists cause similar bacterial mortality in coastal seawater. Limnol. Oceanogr. 40: 1236-1242.

Fuhrman, J.A. 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. Nature. 399: 541-548.

Fuhrman, J.A. 2000. Impact of viruses on bacterial production. In: Kirchman, D.L. (Ed.) Microbial ecology of the oceans. John Wiley, New York, pp. 327-350.

Fukuda, R. Ogawa, H., Nagata, T., Koike, I. 1998. Direct determination of carbon and nitrogen contents of natural bacterial assemblages in marine environments. Appl. Environ. Microbiol. 64 : 3352-3358.

G

Garnier, J; Barillier, A. 1991. Synthèse et dégradation de la matière organique dans les écosystèmes aquatiques: boucle microbienne et statut trophique. Oceanis. 17: 561-580.

Gasol, J.M., Doval, M.D., Pinhassi, J., Calderón-Paz, J.I., Guixa-Boixareu, N., Vaqué, D., Pedrós-Alió, C. 1998. Diel variations in bacterial heterotrophic activity and growth in the northwestern Mediterranean Sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 164: 107-124.

Gasol, J.M., Morán, X.A.G. 1999. Effects of filtration on bacterial activity and picoplankton community structure assessed by flow cytometry. Aquat. Microb. Ecol. 16: 251-264.

Gasol, J.M., Zweifel, U.L., Peters, F., Fuhrman, J.A., Hagström, A. 1999. Significance of size and nucleic acid content heterogeneity as measured by flow cytometry in natural planktonic bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 65: 4475-4483.

Gasol, J.M., del Giorgio, P.A. 2000. Using flow cytometry for counting natural planktonic bacteria and understanding the structure of planktonic bacterial communities. Sci. Mar. 64: 197-224.

Gasol, J.M., Garcès, E., Vila, M. 2005. Strong small-scale temporal bacterial changes associated with the migrations of bloom-forming dinoflagellates. Harmful Algae. 4: 771-781.

Gasparini, S., Daro, M.-H., Antajan, E., Tackx, M., Rousseau, V., Parent, J.-Y., Lancelot, C. 2000. Mesozooplankton grazing during the *Phaeocystis globosa* bloom in the southern bight of the North Sea. J. Sea. Res. 43: 345-356.

Gentilhomme, V., Lizon, F. 1998. Seasonal cycle of nitrogen and phytoplankton biomass in a well-mixed coastal system (Eastern English Channel). Hydrobiologia. 361: 191-199.

Gonzáles, H.E., Giesecke, R., Vargas, A., Pavez, M., Iriarte, J., Santibáñez, P., Castro, L, Escribano, R., Pagès, F. 2004. Carbon cycling throught the pelagic foodweb in the northern Humboldt current off Chile (23°S). ICES J. Mar. Sci. 61: 572-584.

Gonzalès, N., Anadòn, R., Viesca, L. 2003. Carbon flux through the microbial community in a temperate sea during summer: role of bacterial metabolism. Aquat. Microbiol. Ecol. 33: 117-126.

Graf, G. 1992. Benthic-pelagic coupling : a benthic view. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 30:149-154.

Grégori, G., Citterio, S., Ghiani, A., Labra, M., Sgorbati, S., Brown, S., Denis, M. 2001. Resolution of viable and membrane-compromised bacteria in freshwater and marine waters based on analytical flow cytometry and nucleic acid double staining. Appl. Environ. Microbiol. 67: 4662-4670.

Grégori, G., Denis, M., Lefèvre, D., Romano, J.-C. 2003. Viabilité des bactéries hétérotrophes dans la baie de Marseille. C.R. Biologies. 326: 739-750.

Grioche, A., Koubbi, P., Harlay, X. 1999. Spatial patterns of ichthyoplankton assemblages along the eastern English Channel French coast during spring 1995. Estuar. Coastal Shelf Sci. 49: 141-152.

Grioche, A., Harlay, X., Koubbi, P., Fraga-Lago, L. 2000. Vertical migrations of fish larvae: Eulerian and Lagrangian observations in the Eastern English Channel. J. Plankton Res. 22: 1813-1828.

Grossart, H.P., Riemann, L., Azam, F. 2001. Bacterial motility in the sea and its ecological implications. Aquat. Microb. Ecol. 25: 247-258.

Gruden, C., Skerlos, S., Adriaens, P. 2004. Flow cytometry for microbial sensing in environmental sustainability applications: current status and future prospects. FEMS Microb. Ecol. 49: 37-49.

Guéguéniat, P. Salomon, J.C., Wartel, M., Cabioch, L., Fraizier, A. 1993. Transfer pathways and transit time of dissolved matter in the English Channel indicated by space-time radiotracers measurement and hydrodynamic modelling. Estuar. Coastal Shelf Sci. 36: 477-494.

Guéguéniat, P., Dubois, P.B., Salomon, J.C., Masson, M., Cabioch, L. 1995. FLUXMANCHE radiotracer measurements : a contribution to the dynamics of the English Channel and North Sea. J. Mar. Sys. 6: 483-494.

Gundersen, K., Heldal, M., Norland, S., Puride, D., Knap, A.H. 2002. Elemental C, N and P cell content of individual bacteria collected at the Bermuda Atlantic Time-series Study (BATS) site. Limnol. Oceanogr. 47: 1525-1530.

H

Haglund, A.-L., Lantz, P., Törnblom, E., Tranvik, L. 2003. Depth distribution of active bacterial activity in lake sediment. Microb. Ecol. 46: 31-38.

Hagström, Å., Larsson, U., Horstedt, P., Normak, S. 1979. Frequency of dividing cells, a new approach to the determination of bacterial growth rates in aquatic environments. Appl. Environ. Microbiol. 37: 805-812.

Hagström, Å., Larsson, U. 1984. Diel and seasonal variations in growth rates of pelagic bacteria. In: Hobbie, J., Williams, P.J. le B. (Eds.). Heterotrophic activity in the sea. Plenum Press, New York, pp. 249-262.

Haney, J.F. 1988. Diel pattern of zooplankton behavior. Bull. Mar. Sci. 43: 583-603.

Hansell, D.A., Carlson, C.A. 1998. Net community production of dissolved organic carbon. Global Biogeochemical Cycles. 12: 443-453.

Hedges, J.I. 1992. Global biogeochemical cycles: Progress and problems. Mar. Chem. 39: 67-93.

Hedin-Bougart, M. 1980. Hydrologie littorale: phytoplancton (région de Dunkerque – Mer du Nord). Thèse de doctorat, Université des Sciences et Technologies de Lille I, 204 pp.

Hegarty, S.G., Villareal, T.A. 1998. Effects of light level and N:P supply ratio on the competition between *Phaeocystis* cf. *pouchetii* (Hariot) Lagerheim (Prymnesiophyceae) and five diatom species. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 226: 241-258.

Hernes, P.J., Benner, R. 2003. Photochemical and microbial degradation of dissolved lignin phenols: implications for the fate of terrigenous dissolved organic matter in marine environments. J. Geophys. Res. 108: 3291.

Hewson, I., O'Neil, J.M., Fuhrman, J.A., Dennison, W.C. 2001. Virus-like particle distribution and abundance in sediments and overlying waters along eutrophication gradients in two subtropical estuaries. Limnol. Oceanogr. 46: 1734-1746.

Hoch, T., Garreau, P. 1998. Phytoplankton dynamics in the English Channel: a simplified three-dimensional approach. J. Mar. Sys. 16: 133-150.

Hochberg, Y. 1988. A sharper Bonferroni procedure for multiple tests of significance. Biometrika. 75: 800-802.

Hollibaugh, J.T., Wong, P.S. 1992. Ethanol-extractable substrate pools and incorporation of thymidine, L-leucine and other substrates by bacterioplankton. Can. J. Microbiol. 38: 605-613.

Holligan, P.M., Reiners, W.A. 1992. Predicting the responses of the coastal zone to global change. Adv. Ecol. Res. 22: 211-219.

Hoppe H. G. 1993. Use of fluorogenic model substrates for extracellular enzyme activity, measurement of bacteria. In Kemp P. F., Sherr, B. F., Sherr, E. B., Cole, J. (Eds.), Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology. Lewis publishers, London, Tokyo, pp. 423-431.

Hoppe, H. G., Ullrich, S. 1999. Profiles of ectoenzymes in the Indian Ocean: phenomena of phosphatase activity in the mesopelagic zone. Aquat. Microb. Ecol. 19: 139-148.

Hoppe, H.G., Gocke, K., Koppe, R., Begler, C. 2002. Bacterial growth and primary production along a north-south transect of the Atlantic Ocean. Nature. 416: 168-171.

Howard-Jones, M.H., Frischer, M.E., Verity, P.G. 2001. Determination of the physiological status of individual bacterial cells. In: Paul, J.H. (Ed.), Methods in Microbiology, Vol. 30., pp. 176-206.

Huault, M.F., Lafite, R., Dupont, J.P. 1994. Diatoms as particulate tracers in the water column in the eastern English Channel. Netherlands J. Sea Res. 33: 47-56.

Hubas, C. Lamy, D., Artigas, L.F., Davoult, D. *Sous presse*. Seasonal variability of intertidal bacterial metabolism and growth efficiency in an exposed sandy beach during low tide. Mar. Biol. DOI 10.1007/s00227-006-0446-6.

Hyun, J.H., Kim, K.H. 2003. Bacterial abundance and production during the unique spring phytoplankton bloom in the central Yellow Sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 252: 77-88.

I

Ibanez, F., Fromentin, J.M., Castel, J. 1993. Application de la méthode des sommes cumulées à l'analyse des séries chronologiques en océanographie. CR. Acad. Sci., Paris, 316 : 745-748.

Irigoien, X., Harris, R.P., Head, R.N., Harbour, D. 2000. North Atlantic Oscillation: regional temperatures and precipitations. Science. 269: 676-679.

J

Jellett, J.F., Li, W.K.W., Dickie, P.M., Boraie, A., Keplay, P.E. 1996. Metabolic activity of bacterioplankton communities assessed by flow cytometry and single carbon substrate utilisation. Mar. Ecol. Prog. Ser. 136: 213-225.

Jickells, T.D. 1995. Atmospheric inputs of metals and nutrients to the oceans: their magnitude and effects. Mar. Chem. 48: 199-241.

Jochem, F.J. 2001. Morphology and DNA content of bacterioplankton in the northern Gulf of Mexico: analysis by epifluorescence microscopy and flow cytometry. Aquat. Microb. Ecol. 25: 179-194.

Joiris, C., Billen, G., Lancelot, C., Daro, M.-H., Mommaerts, J. P., Bertels, A., Bossicart, M., Nijs, J., 1982. A budget of carbon cycling in the Belgian coastal zone: relative roles of zooplankton, bacterio-plankton and benthos in the utilization of primary production. Neth. J. Sea. Res. 16: 290-275.

Josefson, A.B., Hansen, J.L.S. 2003. Quantifying plant pigments and live diatoms in aphotic sediments of Scandinavian coastal waters confirms a major route in the pelagic-benthic coupling. Mar. Biol. 142: 649-658.

Joux, F., Lebaron, P. 2000. Use of fluorescent probes to assess physiological functions of bacteria at single-cell level. Microbes and Infection. 2: 1523-1535.

Jumars P.A. 1993. Concept in biological oceanography. Oxford University Press, New York.

Jumars, P.A. Penry, D.L., Baross, J.A., Perry, M.J., Frost, B.W. 1989. Closing the microbial loop: dissolved carbon pathway to heterotrophic bacteria from incomplete ingestion, digestion and absorption in animals. Deep-Sea Res. 36:483-495.

Jürgens, K., Güde, H. 1994. The potential importance of grazing-resistant bacteria in planktonic systems. Mar. Ecol. Prog. Ser. 112: 169-188.

Jürgens, K., Pernthaler, J., Schalla, S. Amann, R. 1999. Morphological and compositional changes in a planktonic bacterial community in response to enhance protozoan grazing. Appl. Environ. Microbiol. 65: 1241-1250.

Jürgens, K., Gasol, J.M., Vaqué, D. 2000. Bacteria-flagellate coupling in microcosm experiments in the central Atlantic Ocean. J. Explor. Mar. Biol. Ecol. 245: 127-147.

K

Karl, D.M., Laws, E.A., Morris, P., Williams, P.J. le B., Emerson, S. 2003. Metabolic balance of the open sea. Nature. 426: 32-38.

Karlson, B., Edler, L., Granéli, W., Sahlsten, E., Kuylenstierna, M. 1996. Subsurface chlorophyll maxima in the Skagerrak – Processes and plankton community structure. J. Sea Res. 35: 139-158.

Karner, M., Fuks, D., Herndl, G. 1992. Bacterial activity along a trophic gradient. FEMS Microb. Ecol. 24: 243-257.

Karner, M., Fuhrman, J.A. 1997. Determination of active marine bacterioplankton: a comparison of universal 16S rRNA probes, autoradiography, and nucleoid staining. Appl. Environ. Microbiol. 63: 1208-1213.

Keer, J.T., Birch, L. 2003. Molecular methods of bacterial viability. J. Microbiol. Methods. 53: 175-183.

Kepner, R.L., Pratt, J.R. 1994. Use of fluorochromes for direct enumeration of total bacteria in environmental samples: past and present. Microb. Rev. 58: 603-615.

Kirchman, D.L., K'Nees, E., Hodson, R. 1985. Leucine incorporation and its potential as a mesure of protein synthesis and biomass by bacteria in natural aquatic systems. Mar. Ecol. prog. Ser. 32: 47-59.

Kirchman, D.L., Hoch, M.P. 1988. Bacterial production in the Delaware Bay estuary estimated form thymidine and leucine incorporation rates. Mar . Ecol. Prog. Ser. 45: 169-178.

Kirchman, D.L. 1992. Incorporation of thymidine and leucine in the subarctic Pacific; application to estimating bacterial production. Mar. Ecol. Prog. Ser. 82: 301-309.

Kirchman, D.L. 1993. Leucine incorporation as a mesure of biomass production by heterotrophic bacteria. In Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B., Cole, J.J. (Eds.) Handbook of methods in aquatic microbial ecology. Lewis Pyblishers, Boca raton, Fla., pp. 509-512

Kirchman, D.L., Keil, R.G., Simon, M., Welschmeyers, N.A. 1993. Biomass and production of heterotrophic bacterioplankton in the oceanic subarctic Pacific. Deep-Sea Res. 40: 967-988.

Kirchman, D.L., Rich, J.H., Barber, R.T. 1995. Biomass and biomass production of heterotrophic bacteria along 140 degree W in the Equatorial Pacific: effect of temperature on the microbial loop. Deep-Sea Res. 42: 603-619.

Kirchman, D.L., Wheeler, P.A. 1998. Uptake of ammonium and nitrate by heterotrophic bacteria and phytoplankton in the sub-Arctic Pacific. Deep-Sea Res. 45: 347-365.

Kirchman, D.L. 2000. Uptake and regeneration of inorganic nutrients by marine heterotrophic bacteria. In Kirchman, D.L. (Ed.), Microbial Ecology of the oceans, John Wiley, New York, pp. 261-288.

Kirchman, D.L. 2001. Measuring bacterial biomass production and growth rates from leucine Incorporation in natural aquatic environment. In: Paul, J.H. (Ed.), Methods in Microbiology. Vol. 30, pp. 227-237.

Kirchman, D.L. 2002. Calculating microbial growth rates from data on production and standing stocks. Mar. Ecol. Prog. Ser. 233: 203-306.

Kirchman, D.L., Dittel, A.I., Findlay, S.E.G. and Fischer, D. 2004. Changes in bacterial activity and community structure in response to dissolved organic matter in the Hudson River, New York. Aquat. Microb. Ecol. 35: 243-257.

Kolber, Z.S., Van Dover, C.L., Niederman, R.A., Falkowski, P.G. 2000. Bacterial photosynthesis in surface waters of the open ocean. Nature. 407: 117-179.

Koroleff, F. 1969. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. International Council for the exploration of the sea. C.M. 1969/C:9 Hydr. Comm.

L

Lamy, D., Artigas, L.F., Jauzein, C., Lizon, F., Cornille, V. *In press* Coastal bacterial viability and production in the eastern English Channel: a case study during a *Phaeocystis globosa* bloom. J. Sea Res. *in press.*

Lampert, W. 1978. Released of dissolved organic carbon by grazing zooplankton. Limnol. Oceanogr. 23 : 831-834.

Lancelot, C. 1984. Extracellular release of small and large molecules by phytoplankton in the Southern bight of the North Sea. Estuar. Coast. Shelf Sci. 18: 65 – 77.

Lancelot, C. Billen, G. 1984. Activity of heterotrophic bacteria and its coupling to primary production during the spring phytoplankton bloom in the southern bight of the North Sea. Limnol. Oceanogr. 29: 721 – 730.

Lancelot, C., Billen, G. 1985. Carbon-nitrogen relationship in nutrient metabolism of coastal marine ecosystems. In Jannash, H.W., Williams, P.J. (Eds.), Advances in aquatic microbiology, Vol.3. Academic Press, London, pp. 263-321.

Lancelot, C., Mathot, S. 1985. Biochemical fractionation of primary production by phytoplankton in Belgian coastal waters during short- and long-term incubations with ^{14}C-bicarbonate. II. *Phaeocystis pouchetti* colonial population. Mar. Biol. 86: 227-232.

Lancelot, C. Mathot, S. 1987. Dynamics of a *Phaeocystis* dominated spring bloom in Belgian coastal waters. I. Phytoplankton activities and related parameters. Mar. Ecol. Prog. Ser. 37: 239-249.

Lancelot, C., Rousseau, V. 1994. Ecology of Phaeocy*stis*-dominated ecosystems: the key role of colony forms. In Leadbeater, B. S. C. and Green, J. C. (Eds.), The Haptophyte algae. Systematics association. Vol. 51. Clarendon Press, Oxford, pp. 229-245.

Lancelot, C. 1995. The mucilage phenomenon in the continental coastal waters of the North Sea. The Science of The Total Environment/ 165: 83-102.

Lancelot, C., Spitz, Y., Gypens, N., Ruddick, K., Becquevort, S., Rousseau, V., Lacroix, G., Billen, G. 2005. Modelling diatom and *Phaeocystis* blooms and nutrient cycles in the Southern Bight of the North Sea: the MIRO model. Mar. Ecol. Prog. Ser. 289: 63-78.

La Ferla, R., Azzaro, F., Azzaro, M., Caruso, G., Decembrini, F., Leonardi, M., Maimone, G., Monticelli, L.S., Raffa, F., Santinelli, C., Zaccone, R., Ribera d'Alcala, M. 2005. Microbial contribution to carbon biogeochemistry in the Central Mediterranean Sea : variability of activities and biomass. J. Mar. Sys. 57: 146-166.

Lafite, R., Shimwell, S., Grochowski, N., Dupont, J.P., Nash, L., Salomon, J.C., Cabioch, L., Collins, M., Gao, S. 2000. Suspended particulate matter fluxes through the Straits of Dover, English Channel: observations and modelling. Oceanol. Acta, 23: 687-699.

Lagadeuc, Y., Brylinki, J.-M., Aelbrecht, D. 1997. Temporal variability of the vertical stratification of a front in a tidal Region Of Freshwater Influence (ROFI) system. J. Mar. Sys. 12: 147-155.

Laprise, R., Dodson, J.J. 1994. Environmental variability as a factor controlling spatial patterns in distribution and species diversity of zooplankton in the St. Lawrence estuary. Mar. Ecol. Prog. Ser. 107: 67-81.

Larsson, U. Hagström, A. 1982. Fractionated phytoplankton primary production exudates release and bacterial production in a Baltic eutrophication gradient. Mar.Biol. 67: 57-70.

Lebaron, P., Parthuisot, N., Catala, P. 1998. Comparison of blue nucleic acid dyes for the flow cytometric enumeration of bacteria in aquatic systems. Appl. Environ. Microbiol. 49: 599-607.

Lebaron, P., Servais, P., Agogué, H., Courties, C., Joux, F. 2001. Does the high nucleic acid content of individual bacterial cells allow us to discriminate between active cells and inactive cells in aquatic systems? Appl. Environ. Microbiol. 67: 1775-1782.

Lebaron, P. Servais, P. Baudoux, A.C., Bourrain, M., Courties, C., Parthuisot, N. 2002. Variations of bacterial-specific activity with cell size and nucleic acid content assessed by flow cytometry. Aquat. Microb. Ecol. 28: 131-140.

Le Borgne, R. 1986. The release of soluble end products of metabolism. In Corner, E.D.S., O'Hara, S.C. (Eds.), The biological chemistry of marine copepods, Oxford University Press, Oxford, pp. 109-164.

Lee, C., Wakeham, S.G. 1992. Organic matter in the water column: Future research challenges. Mar. Chem. 39: 95-118.

Lee, S.H., Fuhrman, J.A. 1987. Relationship between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton. Appl. Environ.Microb. 53(6), 1298-1303.

Lee, S.H., Fuhrman, J.A. 1991. Spatial and temporal variation of natural bacterioplankton assemblages studied by total genomic DNA cross-hybridization. Limnol. Oceanogr. 36: 1277-1287.

Lefebvre, A. 2004. Seasonal trends of the *Phaeocystis sp.* and nutrients dynamics in the eastern English Channel. J. Rech. Oceanogr. 28: 57-61.

Legendre, L., Rassoulzadegan, F. 1995. Plankton and nutrient dynamics in marine waters. Ophelia, 41: 153-172.

Legendre, P., Legendre, L. 1998. Numerical Ecology, Developments in environmental modelling. Elsevier, Amsterdam, vol. 20, 853 pp.

Legendre, L., Rivkin, R.B. 2002. Fluxes of carbon in the upper ocean : regulation by food-web control nodes. Mar. Ecol. Prog. Ser. 242: 95-109.

Legrand, C.M. 1993. Production primaire et bactérienne en marais maritimes: excrétion organique algale et utilisation par les bactéries. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse, 189 pp.

Lizon, F., Seuront, L., Lagadeuc Y. 1998. Photoadaptation and primary production study in a tidally-mixed coastal waters using a lagrangian model. Mar. Ecol. Prog. Ser. 169 : 43-54.

Lizon, F. 2002. Primary production rates in tidally mixed coastal waters: the eastern English Channel case stuy. La mer 40: 71-89.

Lochte, K., Bjonrsen, P.K., Giesenhagen, H., Weber, A. 1997. Bacterial standing stock and production and their relationship to phytoplankton in the Southern Ocean. Deep-Sea Research II 44 : 321-340.

Long, R.A., Azam, F. 2001. Microscale patchiness of bacterioplankton assemblage richness in seawater. Aquat. Microb. Ecol. 26 : 103-113.

Longnecker, K., Sherr, B.F., Sherr, E.B. 2005. Activity and phylogenetic diversity of bacterial cells with high and low nucleic acid content and electron transport system activity in an upwelling ecosystem. Appl. Environ. Microbiol. 71 : 7737-7749.

Loquet, N., Rybarczyck, H., Elkaim, B. 2000. Echanges de sels nutritifs entre la zone côtière et un système estuarien intertidal: la baie de Somme (Manche, France). O. Acta 23(1): 47-64.

Lorenzen, C. 1966. A method for the continuous measurement of in vivo chlorophyll concentration. Deep-Sea Res. 13: 223-227.

Lovejoy, C., Legendre, L., Therriault, J.C., Tremblay, J.E., Klein, B., Grant Ingram, R. 2000. Growth and distribution of marine bacteria in relation to nanoplankton community structure. Deep-Sea Res. 47: 461-487.

M

Maillard-Quisthoudt, C. 1988. Environnement physique et chimique, productivité primaire phytoplanctonique et bactérienne dans le Detroit du Pas de Calais. Thèse de doctorat, Université Lille Flandres Artois, France, 206pp.

Maillard-Quisthoudt, C., Janquin, M.A. 1988. Mise en évidence d'une relation entre teneur en matière organique dissoute et abondance bactérienne, sur un site côtier en Mer du Nord (Dunkerque) : résultats préliminaires. Communication au XIV^{e} colloque de l'U.O.F., Wimereux, 2-5 mars 1988.

Maixandeau, A., Lefèvre, D., Fernández, I.C., Sempéré, R., Sohrin, R., Ras, J., Van Wambeke, F., Caniaux, G., Quéguiner, B. 2005. Mesoscale and seasonal variability of community production and respiration in the surface waters of the N.E. Atlantic Ocean. Deep-Sea Res. 52: 1663-1676.

Mann, K.H. 1982. Ecology of coastal waters. University of California Press. 322 pp.

Mannino, M., Harvey, R. 2000. Biochemical composition of particles and dissolved organic matter along an estuarine gradient: sources and implications for DOM reactivity. Limnol. Oceanogr. 45: 775-788.

Marañón, E., Cermeño, P., Fernández, E., Rodríguez, J., Zabala, L. 2004. Significance and mechanisms of photosynthetic production of dissolved organic carbon in a coastal eutrophic system. Limnol. Oceanogr. 49: 1652-1666.

Mari, X., Rassoulzadegan, F., Brussaard, C.P.D. 2004. Role of TEP on the microbial food web structure. II. Influence on the ciliate community structure. Mar. Ecol. Prog. Ser. 279: 23-32.

Marie, D., Partensky, F., Jacquet, S., Vaulot, D. 1997. Enumeration and cell cycle analysis of natural populations of marine picoplankton by flow cytometry using the nucleic acid stain SYBR Green I. Appl. Environ. Microbiol. 63: 186-193.

Marie, D., Brussaard, C.P.D., Thyrhaug, R., Bratbak, G., Vaulot, D. 1999. Enumeration of marine viruses in culture and natural samples by flow cytometry. Appl. Environ. Microbiol. 65: 45-52.

Martin-Jézéquel, V., Hildebrand, M., Brzezinski, M.A. 2000. Silicon metabolism in diatoms: implications for growth. Jour. Phycol. 36: 821-840.

Martinez, J., Azam, F. 1993. periplasmic aminopeptidase and alkaline phosphatase activities in a marine bacterium: implications for substrate processing in the sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 92 : 89-97.

Mary, I., Cummings, D.G., Biegala, I.C., Burkill, P.H., Archer, S.D., Zubkov, M.V. 2006. Seasonal dynamics of bacterioplankton community structure at a coastal station in the western English Channel. Aquat. Microb. Ecol. 42: 119-126.

McLusky, D.S. 1989. The estuarine ecosystem, 2nd ed. Blackie, Glasgow. 215 pp.

McManus, G.B., Griffin, P.M., Pennock, J.R. 2004. Bacterioplankton abundance and growth in a river-dominated estuary: relationships with temperature and resources. Aquat. Microb. Ecol. 37: 23-32.

Meon, B., Kirchman, D.L. 2001. Dynamics and molecular composition of dissolved organic material during experimental phytoplankton blooms. Mar. Chem. 75: 185-199.

Merrel, J.R., Stoecker, D.K. 1998. Differential grazing on protozoan microplankton by development stages of the calanoid copepode *Eurytemora affinis*. J. Plankton Res. 20: 289-304.

Middelboe, M., Kroer, N., Jørgensen, N.O.G., Pakulski, D. 1998. Influence of sediment on pelagic carbon and nitrogen turnover in a shallow Danish Estuary. Aquat. Microb. Ecol. 14: 81-90.

Middelboe, M., Lyck, P.G. 2002. Regeneration of dissolved organic matter by viral lysis in marine microbial communities. Aquat. Microb. Ecol. 27: 187-194.

Mitchell, P. 1961. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by chemi-osmotic typeof mechanism. Nature. 191: 144-148.

Middelboe, M., Lundsgaard, C. 2003. Microbial activity in the Greenland Sea: role of DOC lability, mineral nutrients and temperature. Aquat. Microb. Ecol. 32: 151-163.

Møller, E.F., Nielsen, T.G. 2001. Production of bacterial substrate by marine copepods: effect of phytoplankton biomass and size. J. Plank. Res. 23: 527-536.

Møller, E.F. 2004. Sloppy feeding in marine copepods: prey size dependent production of dissolved organic carbon. J. Plank. Res. JPR Advance Access.

Moriarty, D.J.W. 1986. Measurement of bacterial growth rates and production of biomass in aquatic environments. In: Grogorova, R., Norris, J.R. (Eds.), Methods in Microbiology. Academic press, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, pp. 211-234.

Mullin, J.B., Riley, J.P. 1955. The colorimetric determination of silicate with special reference to sea and natural waters. Anal. Chim. Acta. 12: 162-176.

Murphy, J., Riley, J.P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Anal. Chim. Acta. 12: 31-36.

Muylaert, K. Gonzales, R., Frack, M., Lionard, M., Van der Zee, C., Cattrijsse, A., Sabbe, K., Chou, L., Vyverman, W. 2006. Spatial variation in phytoplankton biomass dynamics in the Belgian coastal zone of the North Sea studied by microscopy, HPLC-CHEMTAX and underway fluorescence recordings. J. Sea Res. i*n press.*

Myklestad, S.M. 1995. Release of extracellular products by phytoplankton with special emphasis en polysaccharides. Sci. Tot. Env. 165: 155-164.

Myklestad, S.M. 2000. Dissolved organic carbon from phytoplankton. In: Wangersky, P. (Ed.), The handbook of environmental chemistry. Marine Chemistry. Springer-Verlag, Berlin, pp. 111-148.

N

Naganuma, T. 1996. Differential enumeration of intact and damaged marine planktonic bacteria based on cell membrane integrity. J. Aquat. Ecosyst. Health. 5: 217-222.

Naganuma, T., Miura, S. 1997. Abundance, production and viability of bacterioplankton in the Seto Inland Sea, Japan. J. Oceanogr. 53: 435-442.

Nagata, T., Someya, T., Konda, T., Yamamoto, M., Morikawa, K., Fukui, M., Kuroda, N., Takahashi, T., Oh, S., Mori, M., Araki, S., Kato, K. 1989. Intercalibration of the acridine orange direct count method of aquatic bacteria. Bull. Jpn. Soc. Microb. Ecol. 4: 89-92.

Nagata, T., Kirchman, D.L. 1991. Release of dissolved and free and combined amino acids by bactivorous marine flagellates. Limnol. Oceanogr. 36: 433-443.

Nagata, T. 2000. Production mechanisms of dissolved organic matter. In Kirchman, D.L. (Ed.), Microbial Ecology of the oceans, John Wiley, New York, pp. 121-152.

Nebe-von-Caron, G., Stephens, P.J., Hewitt, C.J., Powell, J.R., Badley, R.A. 2000. Analysis of bacterial function by multi-colour fluorescence flox cytometry and single cell sorting. Jour. Microb. Meth. 42: 97-114.

Neuer, S., Cowles, T. J. 1995. Comparative size-specific grazing rates in field populations of ciliates and dinoflagellates. Mar. Ecol. Prog. Ser. 125: 259-267.

Nicholls, D.G. 1982. Bioenergetics. An introduction to the chemi-osmotic theory, Academic Press, London, New York.

Noble, R.T., Fuhrman, J.A. 1998. Use of SYBR Green I for rapid epifluorescence counts of marine viruses and bacteria. Aquat. Microb. Ecol. 14: 113-118.

Noble, R.T., Middelboe, M., Fuhrman, J.A. 1999. Effects of viral enrichment on the mortality and growth of heterotrophic bacterioplankton. Aquat. Microb. Ecol. 18: 1-13.

Norrman, B., Zweifel, U.L., Hopkinson Jr., C.S., Fry, B. 1995. Production and utilisation of dissolved organic carbon during an experimental diatom bloom. Limnol. Oceanogr. 40: 898-907.

O

Obernoster, I., Herndl, G.J. 1955. Phytoplankton extra cellular release and bacterial growth: dependence on the organic N:P ratio. Mar. Ecol. Prog. Ser. 116: 247-257.

P

Parsons, T.R., Strickland, J.D.H. 1962. Oceanic detritus. Science. 136: 313-314.

Peduzzi, P., Weinbauer, M.G. 1993. Effect of concentrating the virus-rich 2-200-nm size fraction of seawater on the formation of algal flocs (marine snow). Limnol. Oceanogr. 38: 1562-1565.

Peperzak, L. 1998. The wax and wane of *Phaeocystis globosa* blooms. Thèse de doctorat, Université de Groningen, 254 pp.

Peperzak, L. 2003. Climate change and harmful algal blooms in the North Sea. Acta Oecol. 24:139-144.

Pingree, R.D., Mardel, G.T., Reid, P.C., John, A.W.G. 1986. The influence of tidal mixing on the timing of the spring phytoplankton development in the southern bight of the North Sea, the English Channel and on the Northern Armorican Shelf. In: Bowman, J., Yentsch, M., Peterson, W.T. (Eds.), Tidal mixing and plankton dynamics, Lecture notes on coastal and estuarine studies, vol. 17. pp. 164-192.

Pinhassi, J., Azam, F., Hemphälä, J., Long, R.A., Martinez, J., Zweifel, U.L., Hagström, Å. 1999. Coupling between bacterioplankton species composition, population dynamics, and organic matter degradation. Aquat. Microb. Ecol. 17: 13-26.

Pomeroy, L.R. 1974. The ocean's food web, a changing paradigm. Bioscience. 24: 499-504.

Poremba, K., Dürselen, C.D., Stoeck, T. 1999. Succession of bacterial abundance, activity and temperature adaptation during winter 1996 in parts of the German Wadden Sea and adjacent coastal waters. J. Sea. Res. 42: 1-10.

Porter, K.G., Feig, Y.S. 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. Limnol. Oceanogr. 25: 943-948.

Porter, K.G. 1988. Phagotrophic phytoflagellates in microbial food webs. Hydrobiologia. 159: 89-97.

Posch, T., Lofere-Krößbacher, M., Gao, G., Alfreider, A., Pernthaler, J., Psenner, R. 2001. Precision of bacterioplankton biomass determination: a comparison of two fluorescent dyes, and of allometric and linear volume-to-volume conversion factors. Aquat. Microb. Ecol. 25: 55-63.

Proctor, L.M., Fuhrman, J.A. 1990. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria. Nature. 343: 60-62.

Prygiel, J., Caby, B., Carpentier, P., Leprêtre, A. 2000. Evaluation des flux en nutriments, matières en suspension et matières organiques, au littoral de la Manche du bassin Artois-Picardie pour la période 1980 – 2000. Actes de colloque, Qualité des eaux du littoral régional : objectifs atteints ?, Wimille.

Puddu, A., Zoppini, A., Fazi, S., Rosati, M., Amalfitano, S., Magaletti, E. 2003. Bacterial uptake of DOM released from P-limited phytoplankton. FEMS Microb. Ecol. 46: 257-268.

Pugnetti, A., Armeni, M., Camatti, E., Crevatin, E., Dell'Anno, A., Del Negro, P., Milandri, A., Socal, G., Umani, S.F., Danovaro, R. 2005. Imbalance between phytoplankton production and bacterial carbon demand in relation to mucilage formation in the Norhern Adriatic Sea. Sciance of the Total Environment. 353: 162-177.

Q

Quéric, N.-V., Soltwedel, T., Arntz, W.E. 2004. Application of a direct viable count method to deep-sea sediment bacteria. J. Microbiol. Methods. 57: 351-367.

R

Rassoulzadegan, F. 1993. Protozoan patterns in the Azam-Ammerman's bacteria–phytoplankton mutualism. In Trends in microbial ecology. Spanish Society for Microbiology, Barcelona, pp. 435-439.

Raymond, P.A., Bauer, J.E. 2000. Bacterial consumption of DOC during transport through a temperate estuary. Aquat. Microb. Ecol. 22: 1-12.

Reid, P.C., Lancelot, C., Gieskes, W.W.C., Hagmeier, E., Weichart, G. 1990. Phytoplankton of the North Sea and its dynamic: a review. Netherlands J. Sea Res. 26: 295-331.

Riemann, B., Søndergaard, M. 1984. Measurements of diel rates of bacterial secondary production in aquatic environments. Appl. Environ. Microbiol. 47: 632-638.

Riemann, L., Steward, G.F., Azam, F. 2000. Dynamics of bacterial community composition and activity during a mesocosm diatom bloom. Appl. Environ. Microbiol. 66: 578-587.

Rivkin, R., Legendre, L. 2001. Biogenic carbon cycling in the upper ocean: effects of microbial respiration. Science. 291: 2398-2400.

Robinson, C., Serret, P., Tilstone, G, Teira, E., Zubkov, M.V., Rees, A.P., Woodward, E.M.S. 2002. Plankton respiration in the eastern Atlantic Ocean. Deep-Sea Res. I 49: 787-813.

Roland, F., Cole, J.J. 1999. Regulation of bacterial growth efficiency in a large turbid estuary. Aquat. Microb. Ecol. 20: 2-38.

Roszak, D.B., Grimes, D.J., Colwell, R.R. 1984. Viable but non-recoverable stage of *Salmonella enteritidis* in aquatic system. Can. J. Microbiol. 30: 334-338.

Rousseau, V., Vaulot, D., Casotti, R., Carcou, V., Lenz, J., Gunkel, J. and Baumann, M. 1994. *Phaeocystis* (Primnesiophyceae) life cycle: evidences and hypotheses. In Lancelot, C. and Wassmann, P. (Eds.), Ecology of Phaeocystis-dominated ecosystems. J. Mar. Syst. 55: 23-40.

Rousseau, V. 2000. Dynamics of *Phaeocystis* and diatom blooms in the eutrophicated coastal waters of the Southern Bight of the North Sea. Thèse de doctorat, Université libre de Bruxelles, 140 pp.

Rousseau, V., Becquevort, S., Parent, J.-Y., Gasparini, S., Daro, M.-H., Tackx., M., Lancelot, C. 2000. Trophic efficiency of the planktonic food web in a coastal ecosystem dominated by *Phaeocystis* colonies. J. Sea Res. 43: 357-372.

Rousseau, V., Leynaert, A., Daoud, N., Lancelot, C. 2002. Diatom succession, silicification and availability in Belgian coastal waters (southern North Sea). Mar. Ecol. Prog. Ser. 236: 61-73.

Runge, J.A. 1988. Should we expect a relationship between primary production and fisheries? The role of copepod dynamics as a filter of trophic variability. Hydrobiol. 167/168: 61-71.

Rybarczyk, H., Elkaim, B., Ochs, L., Loquet, N. 2003. Analysis of the trophic network of a macrotidal ecosystem: the Bay of Somme (Eastern Channel). Est. Coastal Shelf Sci. 58: 405-421.

Ryther, J.H. 1969. Photosynthesis and fish production in the sea: the production of organic matter and its conversion to higher forms of life vary throughout the world ocean. Science. 166: 72-76.

S

Salomon, J.C., Breton, M. 1991. Courants de marée et courants résiduels dans la Manche. O. Acta. 11: 47-53.

Salomon, J.C., Breton, M. 1993. An atlas of long-term currents in the Channel. O. Acta. 16: 439-448.

Sanders, R.W., 1995. Seasonal distributions of the photosynthesizing ciliates *Laboea strobila* and *Myrionecta rubra* (=*Mesodinium rubrum*) in an estuary of the Gulf of Maine. Aquat. Microb. Fodd Webs. 7: 197-223.

Schapira, M. 2005. Dynamique spatio-temporelle de *Phaeocystis globosa* en Manche orientale : effets de la turbulence et des apports sporadiques en sels nutritifs. Thèse de doctorat, Université des Sciences et Techniques de Lille, 228 pp.

Schapira, M., Seuront, L., Gentilhomme, V. *Sous press.* Effects of small-scale turbulence on *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) growth and life cycle. JEMBE. *Sous press.*

Schoeman, V., Becquevort, S., Stefels, J., Rousseau, V., Lancelot, C. 2005. *Phaeocystis* blooms in the global ocean and their controlling mechanisms: a review. J. Sea Res. 53: 43-66.

Schumann, R., Schiewer, U., Karsten, U., Rieling, T. 2003. Viability of bacteria from different aquatic habitats. II. Cellular fluorescent markers for membrane integrity and metabolic activity. Aquat. Microb. Ecol. 32: 137-150.

Sempéré, R., Charrière, B., Van Wambeke, F., Cauwet, G. 2000. Carbon inputs of the Rhone River to the Mediterranean Sea : biogeochemical implications. Glob. Biogeochem. Cycles. 669-681.

Serret, P., Fernández, E., Sostrers, J.A., Anadón, R. 1999. Seasonal compensation of microbial production and respiration in a temperate sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 187: 43-57.

Servais, P. 1995. Estimation de la biomasse et de l'activité des bactéries en milieu aquatique. Océanis. 21: 141-160.

Servais, P., Lavandier, P. 1995. Mesures de production bactérienne par incorporation de thymidine et de leucine marquées : discussion des protocoles expérimentaux et exemples d'application. Océanis. 21 : 161-190.

Servais, P., Garnier, J., Demarteau, N., Brion, N., Billen, G. 1999. Supply of organic matter rand bacteria to aquatic systems through waste water effluents. Wat. Res. 33: 3521-3531.

Servais, P., Agogué, H., Courties, C., Joux, F., Lebaron, P. 2001. Are the respiring cells (CTC+) those responsible for bacterial production in aquatic environments? FEMS Microb. Ecol. 35: 171-179.

Servais, P., Casamayor, E.O., Courties, C., Catala, P., Parthuisot, N., Lebaron, P. 2003. Activity and diversity of bacterial cells with high and low nucleic acid content. Aquat. Microb. Ecol. 33: 41-51.

Seuront, L., Souissi, S. 2002. Climatic control of *Phaeocystis* spring bloom in the Eastern English Channel (1991-2000). La Mer 40: 41-51.

Seuront, L., Gentilhomme, V., Lagadeuc, Y. 2002. Small-scale nutrient patches in tidally mixed coastal waters. Mar. Ecol. Prog. Ser. 29-44.

Seuront, L., Vincent, D., Mitchell, J.G. 2006. Biologically-induced modification of seawater viscosity in the eastern English Channel during a *Phaeocystis globosa* bloom. J. Mar. Sys. *in press.*

Seymour, J.R., Mitchell, J.G., Pearson, L., Waters, R.L. 2000. Heterogeneity in bacterioplankton abundance from 4.5 millimetre resolution sampling. Aquat. Microb. Ecol. 22: 143-153.

Seymour, J.R., Mitchell, J.G., Seuront, L. 2004. Microscale heterogeneity in the activity of coastal bacterioplankton communities. Aquat. Microb. Ecol. 35: 1-16.

Seymour, J.R., Seuront, L. Mitchell, J.G. 2005. Microscale and small-scale temporal dynamics of a coastal planktonic microbial community. Mar. Ecol. Prog. Ser. 300: 21-37.

Sherr, E.B., Sherr, B.F. 1987. High rates of consumption of bacteria by pelagic ciliates. Nature. 325: 710-711.

Sherr, E.B. 1988. Direct use of high molecular weight polysaccharide by heterotrophic flagellates. Nature 335: 348-351.

Sherr, E.B., Sherr, B.F. 1994. Bacterivory and herbivory: Key roles of phagotrophic protists in pelagic food webs. FEMS Microb. Ecol. 28: 233-235.

Sherr, E.B., Sherr, B.F. 2000. Marine microbes: an overview. In: Kirchman, D.L. (Ed.) Microbial ecology of the oceans. John Wiley, New York, pp. 13-46.

Sherr, E.B., Sherr, B.F., Cowles, T.J. 2001. Mesoscale variability in bacterial activity in the Northeast Pacific Ocean off Oregon, USA. Aquat. Microb. Ecol. 25:21-30.

Sherr, E.B., Sherr, B.F., Verity, P.G. 2002. Distribution and relation of total bacteria, active bacteria, bacterivory, and volume of organic detritus in Atlantic continental shelf waters off Cape Hatteras NC, USA. Deep-Sea Res. 49: 4571-4585.

Sherr, E.B., Sherr, B.F., Wheeler, P.A., Thompson, K. 2003. Temporal and spatial variation in stocks of autotrophic and heterotrophic microbes in the upper water column of the central Arctic Ocean. Deep-Sea Res. I; 50: 557-571.

Sherr, E.B., Sherr, B.F., Longnecker, K. 2006. Distribution of bacterial abundance and cell-specific nucleic acid content in the Northeast Pacific Ocean. Deep-Sea Res. I. *in press.*

Sherry, N.D., Boyd, P.W., Sugimoto, K., Harrison, P.J. 1999. Seasonal and spatial patterns of heterotrophic bacterial production, respiration, and biomass in the subarctic NE Pacific. Deep-Sea Res. 46: 2557-2578.

Shiah, F.K., Ducklow, H.W. 1995. Multi-scale variability in bacterioplankton abundance, production and specific growth rate in a temperate salt marsh tidal creek. Limnol. Oceanogr. 40: 55-66.

Shiah, F.K., Gong, G.C., Liu, K.K. 1999. Temperature *vs.* substrate limitation of heterotrophic bacterioplankton production across trophic and temperature gradient in the East China Sea. Aquat. Microb. Ecol., 17: 247-254.

Shiah, F.K., Liu, K.K., Kao, S.J., Gon, G.C. 2000a. The coupling of bacterial production and hydrography in the southern East China Sea. Cont. Shelf Res. 20: 459-477.

Shiah, F.K., Gong, G.C., Chen, T.Y., Chen, C.C. 2000b. Temperature dependence of bacterial specific growth rates on the continental shelf of the East China Sea and its potential application in estimating bacterial production. Aquat. Microb. Ecol. 22: 155-162.

Shiah, F.K., Chen, T.Y., Gong, G.C., Chen, C.C., Chiang, K.-P., Hung, J;-J. 2001. Differential coupling of bacterial and primary production in mesotrophic and ologotrophic systems of the East China Sea. Aquat. Microb. Ecol. 23: 273-282.

Shiah, F.K., Gong, G.C., Chen, C.C. 2003. Seasonal and spatial variation of bacterial production in the continental shelf of the East China Sea: possible controlling mechanisms and potential roles in carbon cycling. Deep-Sea Res. II 50: 1295-1309.

Sieracki, M.E., Haugen, E.M., Cucci, T.L. 1995. Overestimation of heterotrophic bacteria in the Sargasso Sea ; direct evidence by flow and imaging cytometry. Deep-Sea Res. 42: 1399-1409.

Simon, M., Azam, F. 1989. Protein content and protein synthesis rates of planktonic marine bacteria. Mar. Ecol. Prog. Ser. 51: 201-213.

Siokou-Frangou, I., Papathanassiou, E., Lepretre, A., Frontier, S. 1998. Zooplankton assemblages and influence of environmental parameters on them in a Mediterranean coastal area. J. Plankton Res. 20: 847-870.

Skreslet, S. 1988. Buoyancy in *Phaeocystis pouchetii*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 119: 157-166.

Slawyk, G., Raimbault, P., Garcia, N. 1998. Measuring gross uptake of ^{15}N-labeled nitrogen by marine phytoplankton without particulate matter collection: Evidence of low ^{15}N losses to the dissolved organic nitrogen pool. Limnol. Oceanogr. 43: 1734-1739.

Smith, E.M., del Giorgio, P.A. 2003. Low fractions of active bacteria in aquatic communities ? Aquat. Microb. Ecol. 31: 203-208.

Sokal, R.R., Rohlf, F.J. 1995. Biometry – The principles and practice of statistics in biological research. Freeman, W.H. (Ed.), New York, 887 pp.

Sorokin, Yu.F. 1964. On the trophic role of chemosynthesis in water bodies. Int. Rev. Ges. Hydrobiol. 49: 307-324.

Souissi, S., Daly Yahia-Kéfi, O., Daly Yahia, M.N. 2000. Spatial characterization of nutrient dynamics in the Bay of Tunis (south-western Mediterranean) using multivariate analyses: consequences for phyto- and zooplankton distribution. Jour. Plankton Res. 22: 2039-2059.

Sournia, A. 1974. Circadian periodicities in natural populations of marine phytoplankton. Adv. Mar. Biol. 12: 325-389.

Sournia, A., Brylinski, J.M., Dallot, S., Le Corre, P., Leveau, M., Prieur, L., Frojet, C. 1990. Fronts hydrologiques au large des côtes françaises : les sites ateliers du programme Frontal. Oceanol. Acta. 13: 413-438.

Staats, N., Stal, L.J., Mur, L.R. 2000. Exopolysaccharide production by the epipelic diatom *Cylindrtheca closterium*: effecs of nutrients conditions. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 249: 1-12.

Staroscik, A.M., Smith, D.C. 2004. Seasonal patterns in bacterioplankton abundance and production in Narragansett Bay, Rhode Island, USA. Aquat. Microb. Ecol. 35: 275-282.

Steele, J.H. 1974. The structure of marine ecosystems. Harvard University of Cambridge, MA.

Stelfox-Widdicombe, C.E., Archer, S.D., Burkill, P.H., Stefels, J. 2004. Microzooplankton grazing in *Phaeocystis* and diatom-dominated waters in the southern North Sea in spring. J. Sea Res. 51: 37-51.

Stoecker, D.K., Capuzzo, J.McD. 1990. Predation on protzoa: Its importance to zooplankton. J. Plankton Res. 12: 891-988.

Strom, S.L., Benner, R. Ziegler, S., Dagg, M.J. 1997. Planktonic grazers are potentially important source of marine dissolved organic carbon. Limnol. Oceanogr. 42: 1364-1374.

Strom, S.L., Morello, T.A. 1998. Comparative growth rates and yields of ciliates and heterotrophic dinoflagellates. J. Plank. Res. 20: 571-584.

Strom, S.L. 2000. Bacterivory: interactions between bacteria and their grazers. In Kirchman, D.L. (Ed.), Microbial Ecology of the oceans, John Wiley, New York, pp. 351-386.

Sugimura, Y., Suzuki, Y. 1988. A high temperature catalytic oxidation method for the determination of non-volatile dissolved organic carbon in sea water by direct injection of a liquid sample. Mar. Chem. 24: 105-131.

Sundh, I. 1992. Biochemical composition of dissolved organic carbon derived from phytoplankton and used by heterotrophic bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 58: 2938-2947.

T

Tanaka, T., Rassoulzadegan, F. 2004. Vertical and seasonal variations of bacterial abundance and production in the mesopelagic layer of the NW Mediterranean Sea: bottom-up and top-down controls. Deep-Sea Res. I. 51: 531-544.

Tanaka, T., Rassoulzadegan, F., Thingstad, T.F. 2004. Orthophosphate uptake by heterotrophic bacteria, cyanobacteria, and autotrophic nanoflagellates in Villefranche Bay, northwestern Mediterranean: vertical, seasonal, and short-term variations of the competitive relationship for phosphorus. Limnol. Oceanogr. 49: 1063-1072.

Thingstad, T.F., Billen, G. 1994. Microbial degradation of *Phaeocystis* material in the water column. J. Mar. Syst. 5: 55-65.

Thingstad, T.F., Rassoulzadegan, F. 1995. Nutrient limitations, microbial food webs, and “biological C-pumps”: suggested interactions in a P-limited Mediterranean. Mar. Ecol. Prog. Ser. 117: 299-306.

Thingstad, T.F. 1998. A theorical approach to structuring mechanisms in the pelagic food web. Hydrobiologia. 363: 59-72.

Thyssen, M., Lefèvre, D., Caniaux, G., Ras, J., Fernández, C.I., Denis, M. 2005. Spatial and distribution of heterotrophic bacteria in the northeast Atlantic (POMME study area) during spring 2001. J. Geophys. Res. 110: C07S16.

Torréton, J.P., Dufour, P. 1996. Bacterioplankton production determined by DNA synthesis, protein synthesis, and frequency of dividing cells in Tuamotu Atoll lagoons and surrounding ocean. Microb. Ecol. 32: 185-202.

Tranvik, L.J., Sherr, E.B., Sherr, B.F. 1993. Uptake and utilization of "colloidal DOM" by heterotrophic flagellates in seawater. Mar. Ecol. Prog. Ser. 92: 301-309.

Tréguer, P., Le Corre, P. 1974. Manuel d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer (utilisation de l'autoanaliseur II Technicon®). Rapport de l'Université de Bretagne Ocidentale, 59pp.

Troussellier, M., Courties, C., Lebaron, P., Servais, P. 1999. Flow cytometric discrimination of bacterial populations in seawater based on SYTO 13 staining of nucleic acids. FEMS Microb. Ecol. 29: 319-330.

Tungaraza, C., Rousseau, V., Brion, N., Lancelot, C., Gichuki, J., Baeyens, W. Goeyens, L. 2003. Contrasting nitrogen uptake by diatom and *Phaeocystis*-dominated phytoplankton assemblages in the North Sea. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 292: 19-41.

Tuomi, P., Lundsgaard, C., Ekebom, J., Olli, K., Künnis, K. 1999. The production and loss mechanisms of bacterial biomass in the southern Gulf of Riga. J. Mar. Syst. 23: 185-196.

Turley, C.M., Lochte, K. 1986. Diel changes in the specific growth rate and mean cell volume of natural bacterial communities in two different water masses in the Irish Sea. Microb. Ecol. 12: 271-282.

Turley, C.M., Bianchi, M., Christaki, U., Conan, P., Harris, J.R., Psarra, S., Ruddy, G., Stutt, E., Tselepides, A., Van Wambeke, F. 2000. The relationship between primary producers and bacteria in an oligotrophic sea - the Mediterranean, biochemical implications. Mar. Ecol. Prog. Ser. 191: 11-18.

U

Ullrich, S., Karrasch, B. Hoppe, H., Jesulke, K., Mehrens, M. 1999. Is the CYC dye technic an adequate approach for estimating active bacterial cells? Aquat. Microb. Ecol. 29: 319-330.

Umani, S.F., Accornero, A., Budillon, G., Capello, M., Tucci, S., Cabrini, M., Del Negro, P., Monti, M., De Vittor, C. 2002. Particulate matter and plankton dynamics in the Ross Sea Polynya of Terra Nova Bay during the Austral Summer 1997/98. J. Mar. Sys. 26: 29-49.

V

van Boekel, W.H.M. 1992. *Phaeocystis* colony mucus components and the importance of calcium ions for colony stabilisation. Mar. Ecol. Prog. Ser. 87: 301-305.

van Boeckel, W.H.M., Hansen, F.C., Riegman, R., Bak, RPM. 1992. Lysis-induced decline of a *Phaeocystis* spring bloom and coupling with the microbial foodweb. Mar. Ecol. Prog. Ser. 81: 269-276.

Van Rijssel, M., Janse, I., Noordkamp, D.J.B., Gieskes, W.W.C. 2000. An inventory of factors that affect polysaccharide production by *Phaeocystis globosa*. J. Sea Res. 43: 297-306.

Vantrepotte, V. 2003. Caractérisation Bio-Optique des eaux côtières en Manche orientale pour l'estimation de la production primaire et le suivi des poussées phytoplanctoniques : application à la télédétection satellitaire « couleur de l'eau » en milieu côtier. Thèse de doctorat, Université du Littoral Côte d'Opale, 272 pp.

Van Wambeke, F., Christaki, U., Bianchi, M., Psarra, S., Tselepides, A. 2000. Heterotrophic bacterial production in the Cretan Sea (NE Mediterranean). Prog. in Ocean. 46: 205-216.

Van Wambeke, F., Goutx, M., Striby, L., Sempéré, R., Vidussi, F. 2001. Bacterial dynamics during the transition from spring bloom to oligotrophy in the northwestern Mediterranean Sea: relationships with particulate detritus and dissolved organic matter. Mar. Ecol. Prog. Ser. 212: 89-105.

Van Wambeke, F., Heussner, S., Diaz, F., Raimbault, P., Conan P. 2002. Small-scale variability in the coupling/uncoupling of bacteria, phytoplankton and organic fluxes along the continental margin of the Gulf of Lions, Northwestern Mediterranean Sea. J. Mar. Syst. 33-34: 411-429.

Van Wambeke, F., Lefèvre, D., Prieur, L., Sempéré, R., Bianchi, M., Oubelkheir, K, Bruyant, F. 2004. Distribution of microbial biomass, production, respiration, dissolved organic carbon and factors controlling bacterial production across a geostrophic front (Almeria-Oran, SW Mediterranean Sea). Mar. Ecol. Prog. Ser. 269: 1-15.

Vaqué, D., Gasol, J.M., Marrase, C. 1994. Grazing rates on bacteria : the significance of methodology and ecological factors. Mar. Ecol. Prog. Ser. 109: 263-274.

Vaqué, D., Casamayor, E.O., Gasol; J.M. 2001. Dynamics of whole community bacterial production and grazing losses in seawater incubations as related to the changes in the proportions of bacteria with different DNA content. Aquat. Microb. Ecol. 25: 163-177.

Veal, D.A., Deere, D., Ferrari, B., Piper, J., Attfield, P.V. 2000. Fluorescence staining and flow cytometry for monitoring microbial cells. J. Immuno. Meth. 243: 191-210.

Veldhuis, M.J.W., Wassman, P. 2005. Bloom dynamics and biological control of a high biomass HAB species in European coastal waters: A *Phaeocystis* case study. Harmful Algae. 4: 805-809.

Velegrakis, A.F., Michel, D., Collins, M.B., Lafite, R., Oikonomou, E.K., Dupont; J.P., Huault, M.F., Lecouturier, M., Salomon, J.C., Bishop, C. 1999. Sources, sinks an resuspension of suspended particulate matter in the eastern English Channel. Cont. Shelf Res. 19: 1933-1957.

Venrick, E.L. 1978. How many cells to count ? In Sournia, E. (Ed.) Phytoplancton manual. monographs on oceanographic methodology 6. UNESCO, Paris, pp. 167-180.

Verity, P.G. 2000. Grazing experiments and model simulations of the role of zooplankton in *Phaeocystis* food-webs. J. Sea Res. 43, 317-343.

Vincent, D., Hartmann, H.J. 2001. Contribution of ciliated microprotozoans and dinoflagellates to the diet of three copepods species in the Bay of Biscay. Hydrobiol. 443: 193-204.

Vincent, D. 2002. Dynamique et nutrition du zooplancton en milieu lagunaire macrotidal (Bassin d'Arcachon) : flux de carbone et d'azote associés - conséquences sur le pool nutritif et sur les organismes. Thèse de doctorat, Université de la Méditerranée, 393 pp.

Vincent, D., Luczak, C., Sautour, B. 2002. Effects of brief climatic event on zooplankton community structure and distribution in Arcachon Bay. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 82: 21-30.

Vives-Rego, J., Lebaron, P., Nebe-von Caron, G. 2000. Current and future applications of flow cytometry in aquatic microbiology. FEMS Microb. Rev. 24: 429-448.

W

Weisse, T., Tande, K., Verity, T., Hansen, F., Gieskes, W., 1994. The trophic signification of *Phaeocystis* blooms. J. Mar. Sys. 5: 67-80.

Wetz, M.S., Wheeler, P.A. 2004. Response of bacteria to stimulated upwelling phytoplankton blooms. Mar. Ecol. Prog. Ser. 272: 49-57.

Whipple, S.J., Patten, B.C., Verity, P.G. 2005. Life cycle of marine alga *Phaeocystis*: a conceptual model to summarize literature and guide research. J. Mar. Sys. 57: 83-110.

White, P.A., Kalff, J., Rasmussen, J.B., Gasol, J.M. 1991. The effects of temperature and algal biomass on bacterial production and specific growth rate in freshwater and marine habitats. FEMS Microb. Ecol. 21: 99-118.

Wheeler, P.A. Kirchamn, D.L. 1998. Utilization of inorganic and organic nitrogen by bacteria in marine systems. Limnol. Oceanogr. 31: 998-1009.

Weinbauer, M.G. 2004. Ecology of prokaryotic viruses. FEMS Microb. Rev. 28: 127-181.

Wicks, R.J., Robarts, R.D. 1988. Ethanol extraction requirement for purification of protein labelled with (^{3}H)-leucine in aquatic bacterial production studies. Appl. Environ. Microbiol. 54: 3191-3193.

Williams, P.J. le B. 1981. Incorporation of microheterotrophic processes into the classical paradigm of the planktonic food web. Kieler Meeresforsch 5: 1-28.

Woods, E.D., Amstrong, F.A.J, Richadrs, F.A. 1967. Determination of nitrate in sea water by cadmium-copper reduction to nitrite. J. Mar. Biol. Ass. UK. 47: 23-31.

Y

Yanada, M., Yokokawa, T., Lee, C.W., Tanaka, H., Kudo, I., Maita, Y. 2000. Seasonal variation of 2 different heterotrophic bacterial assemblages in subarctic coastal seawater. Mar. Ecol. Prog. Ser. 204: 289-292.

Yentz, C.S., Menzel, D.W. 1963. A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. Deep-Sea Res. 10: 221-231.

Z

Zobell, C.E. 1937. The influence of solid surface upon the physiological activities of bacteria in seawater. J. Bacteriol. 33: 86-93.

Zubkov, M.V., Fuchs, B.M., Burkill, P.H., Amann, R. 2001. Comparison of cellular and biomass specific activities of dominant bacterioplankton groups in stratified waters of the Celtic Sea. Appl. Environ. Microbiol. 67: 5210-5218.

Zubkov, M.V., Allen, J.I., Fuchs, B.M. 2004. Coexistence of dominant groups in marine bacterioplankton community – a combination of experimental and modelling approaches. J. Mar. Biol. Ass. UK. 84: 519-529.

Zweifel, U.L., Norrman, B., Hagström, Å. 1993. Consumption of dissolved organic carbon by marine bacteria and demand for inorganic nutrients. Mar. Ecol. Prog. Ser. 101: 23-32.

Zweifel, U.L., Hagström, A. 1995. Total counts of marine bacteria includee a large fraction of non-nucleoid containing bacteria (ghosts). Appl. Environ. Microbiol. 61: 2180-2185.

ANNEXES

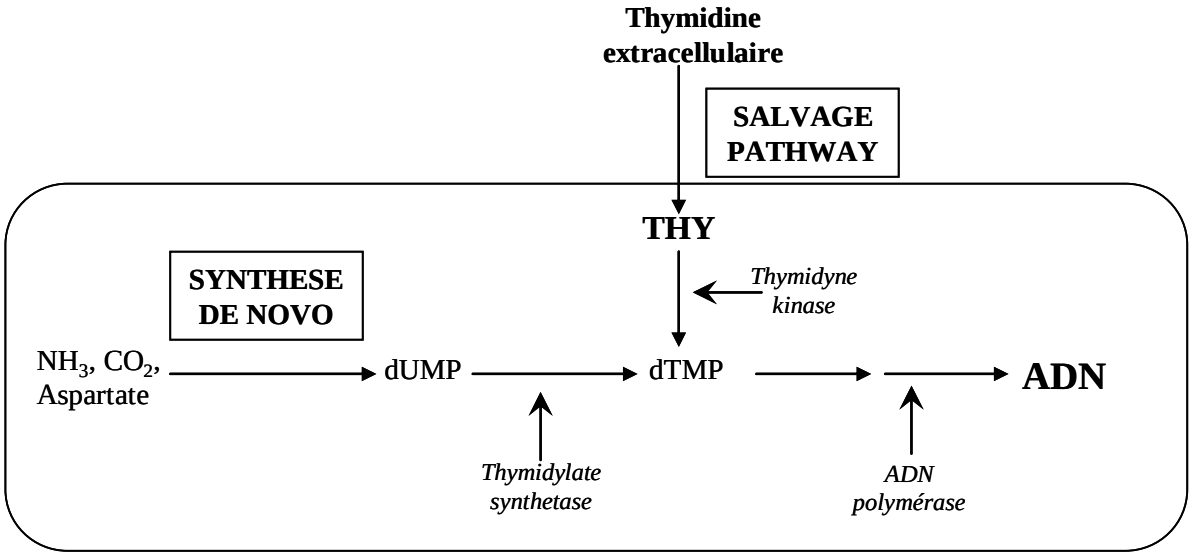
Calendrier d'échantillonnage et conditions marégraphiques[1] des campagnes « bio-optiques » en 2003 et 2004.

ME : marée de morte-eau ; MM : marée moyenne ; VE : marée de vive-eau

ANNEE	Périodes	Dates	Conditions marégraphiques	
			Coefficients	Marées
2003	Mars	21.03	113-111	VE
		22.03	107-101	VE
		23.03	94-85	VE
		24.03	76-66	MM
	Avril	26.04	46-51	ME
		28.04	67-71	MM
		30.04	80-81	MM
	Mai	18.05	105-102	VE
		19.05	98-92	VE
	Juillet	02.07	76	MM
		03.07-	75	MM
		04.07-	72	MM
2004	Mars	17.03	53-61	MM
		18.03	69-76	MM
	Avril	21.04	54-47	ME
		13.04	42-41	ME
		14.04	44-49	ME
		15.04	55-62	ME
	Mai	10.05	70-62	MM
		12.05	48-47	ME
		13.05	49-51	ME
		14.05	55-59	ME
		15.05	63-67	ME
	Juin	25.06	52-51	ME
		26.06	50-49	ME
		27.06	50-51	ME
		28.06	54-57	ME
		30.06	71-76	MM

[1] D'après les données du SHOM (Service Hydrographique et Océanographique de la Marine).

Schéma représentant la voie de synthèse de l'ADN dans une cellule bactérienne par voie de synthèse endogène (synthèse *de novo*) et par l'utilisation de thymidine extracellulaire (« salvage pathway ») d'après Servais et Lavandier (1995).



Légendes:

Synthèse de novo = synthèse endogène d'ADN

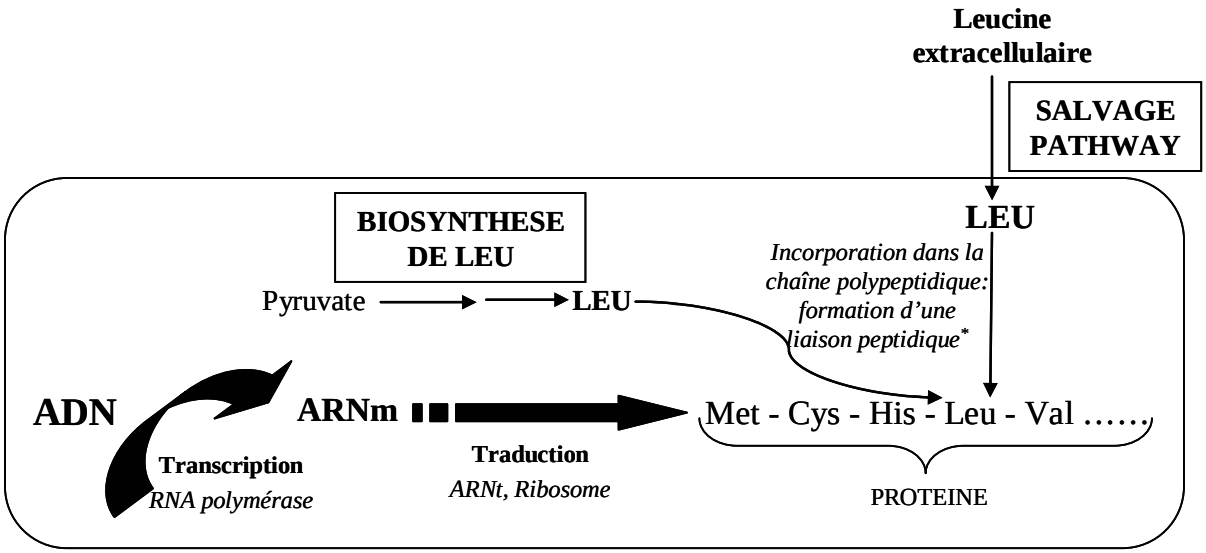
Salvage pathway = voie de récupération

dUMP = 2'-désoxyuridine 5'-monophosphate

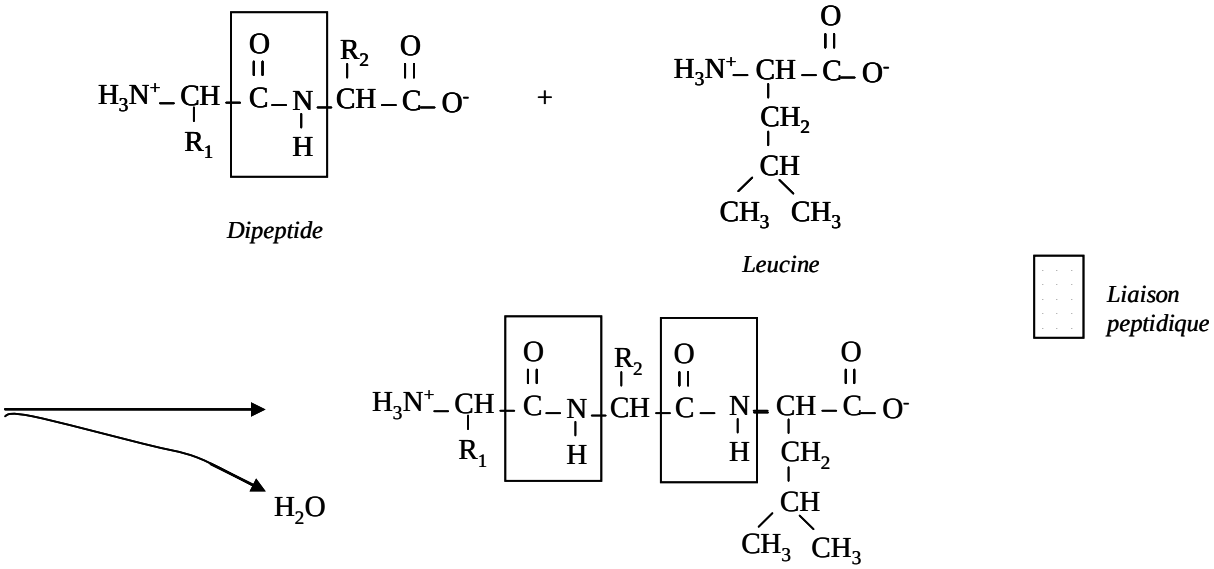
dTMP = 2'-désoxythymidine 5'-monophosphate, monomère de l'ADN

THY = Thymidine

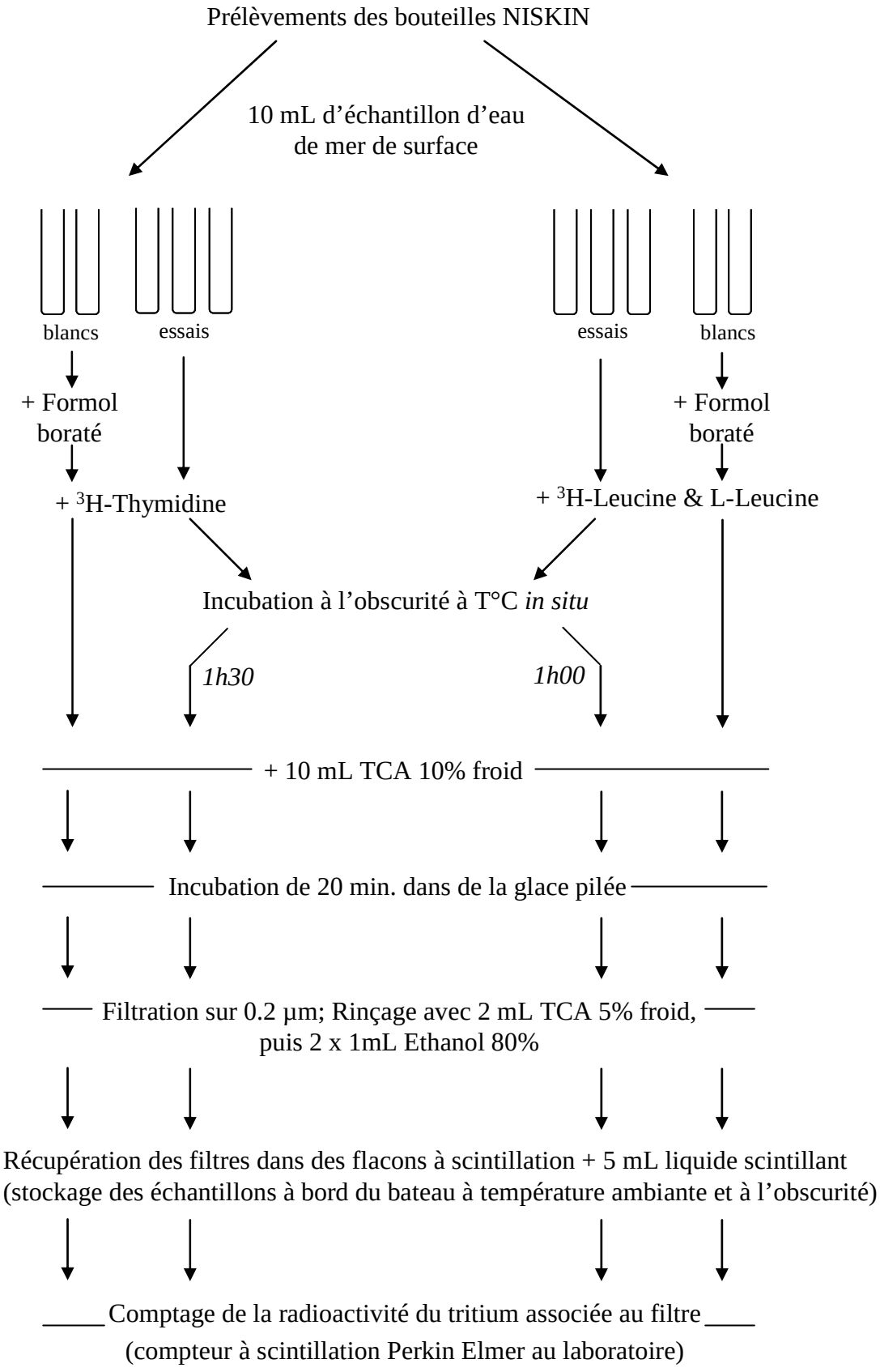
Schéma représentant la voie de synthèse des protéines dans une cellule bactérienne par voie endogène et par l'utilisation de leucine extracellulaire, d'après Delaunay (1998). La réaction chimique schématisée en dessous montre la formation d'une liaison peptidique entre un dipeptide et une molécule de leucine (marquée par radioactivité ou non).



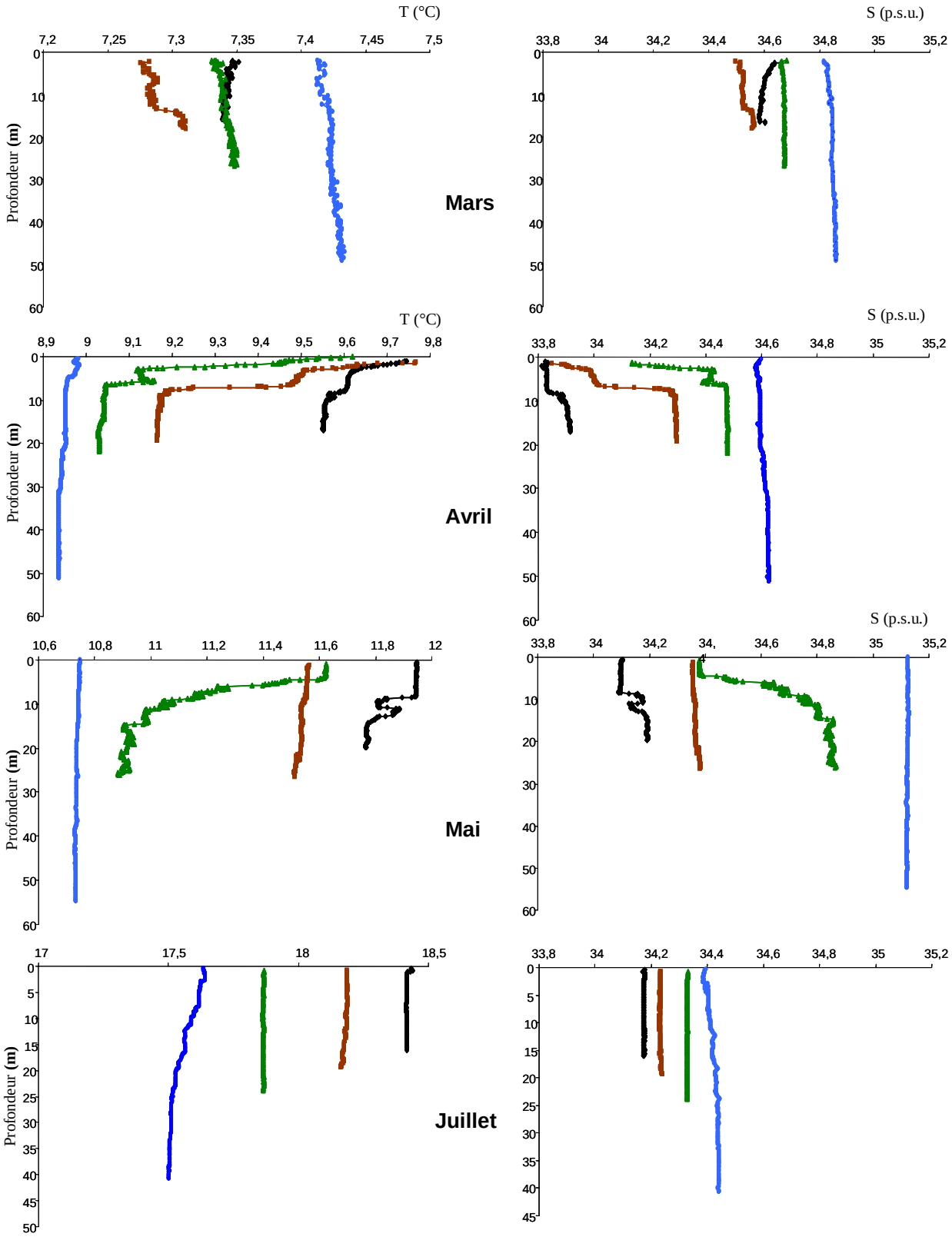
**liaison peptidique:* liaison covalente (mise en commun d'électrons des couches externes des atomes) entre un atome de C et un atome de N entre 2 acides aminés (déjà incorporés dans une chaîne peptidique, ou non). Cette liaison est formée à partir de la réaction de la fonction carboxyle (COOH) du premier acide aminé et de la fonction amine (NH_3) du deuxième acide aminé, avec comme produit secondaire H_2O:



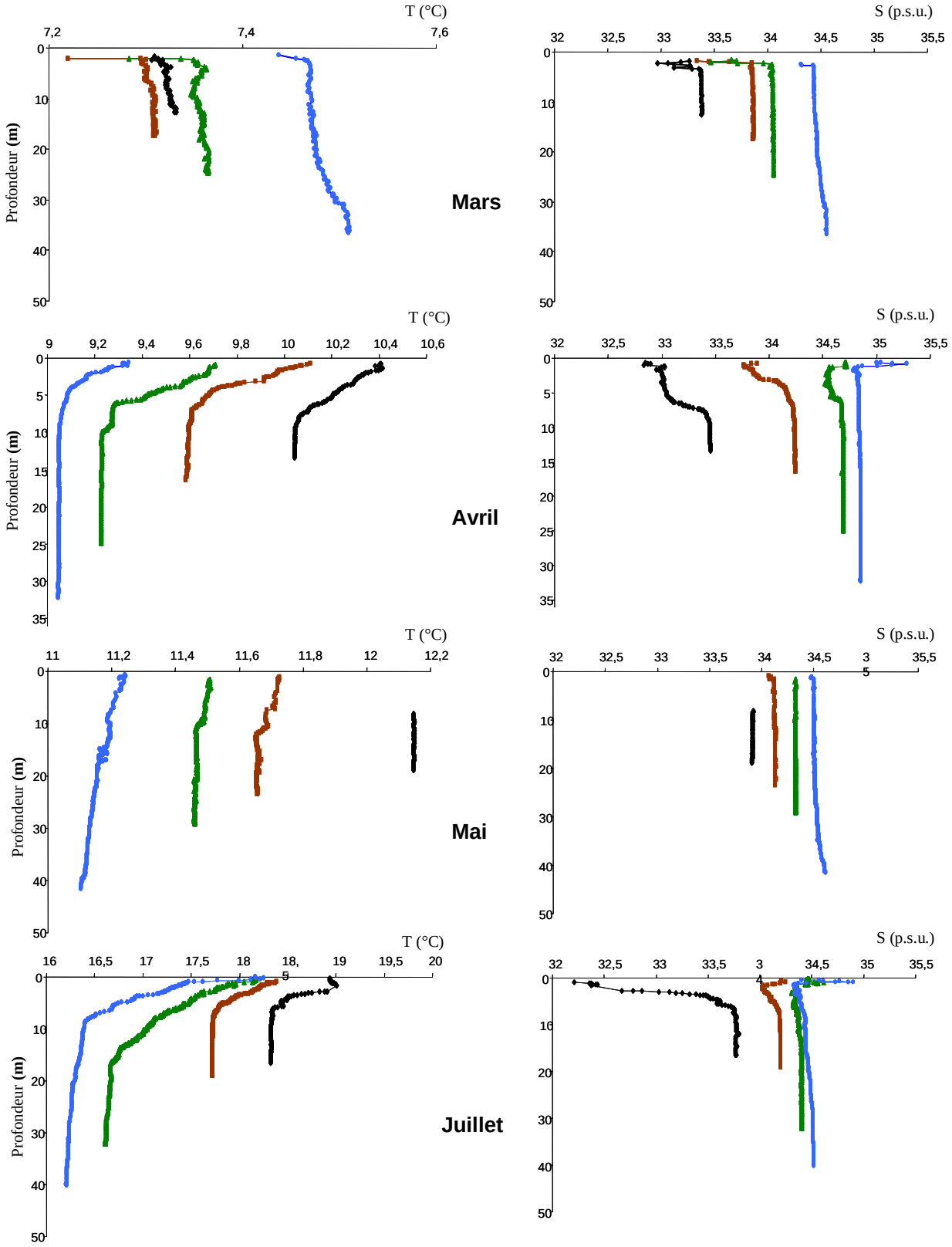
Protocole de mesure de la production bactérienne par incorporation de ^{3}H-Thymidine (Fuhrman et Azam, 1980) et de ^{3}H-Leucine (Kirchamn et al 1985) au cours de deux incubations distinctes.



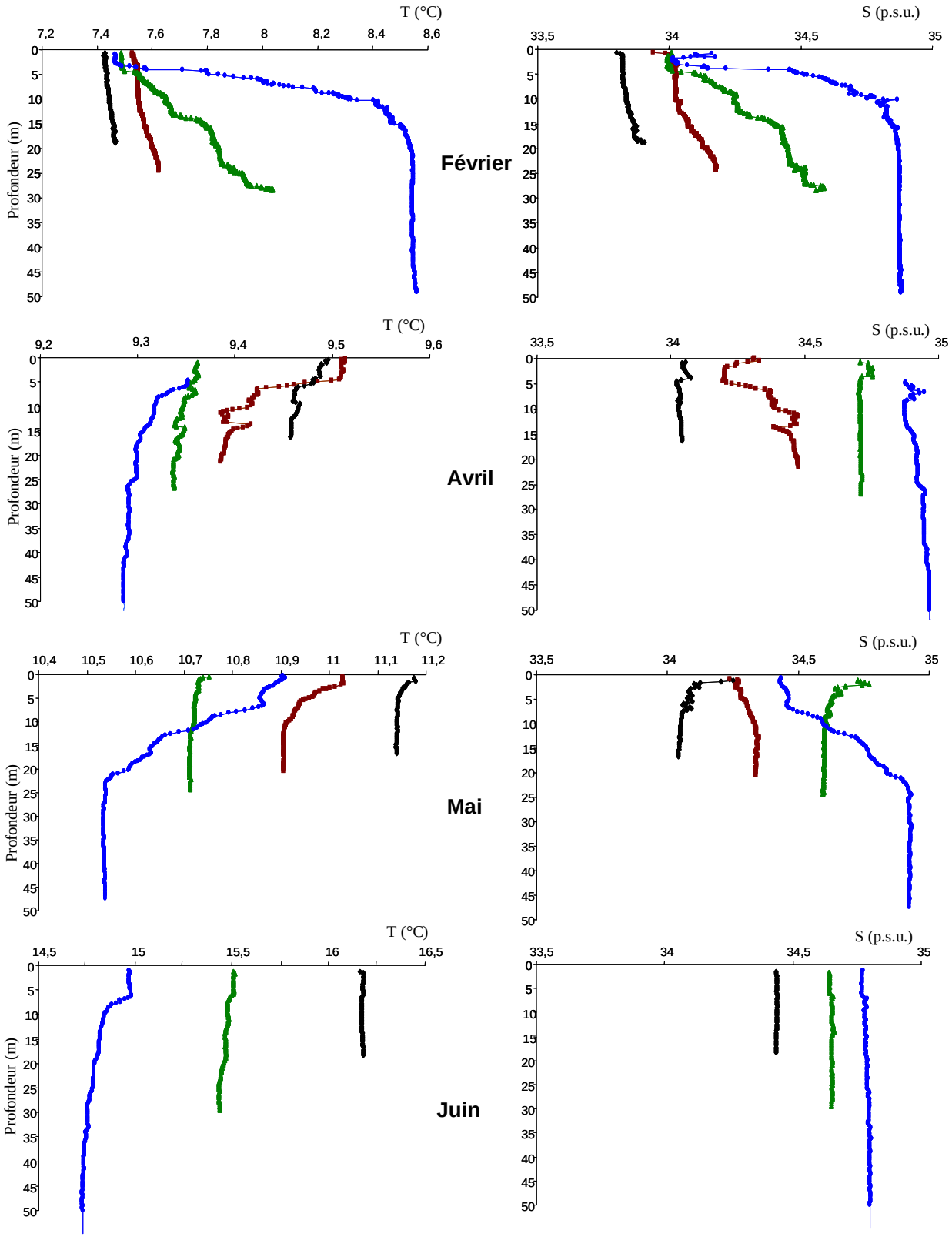
Profils des données de température (gauche ; °C) et salinité (p.s.u.) sur la radiale de Wimereux en 2003. De haut en bas : 16 mars, 22 avril, 12 mai, 06 juillet



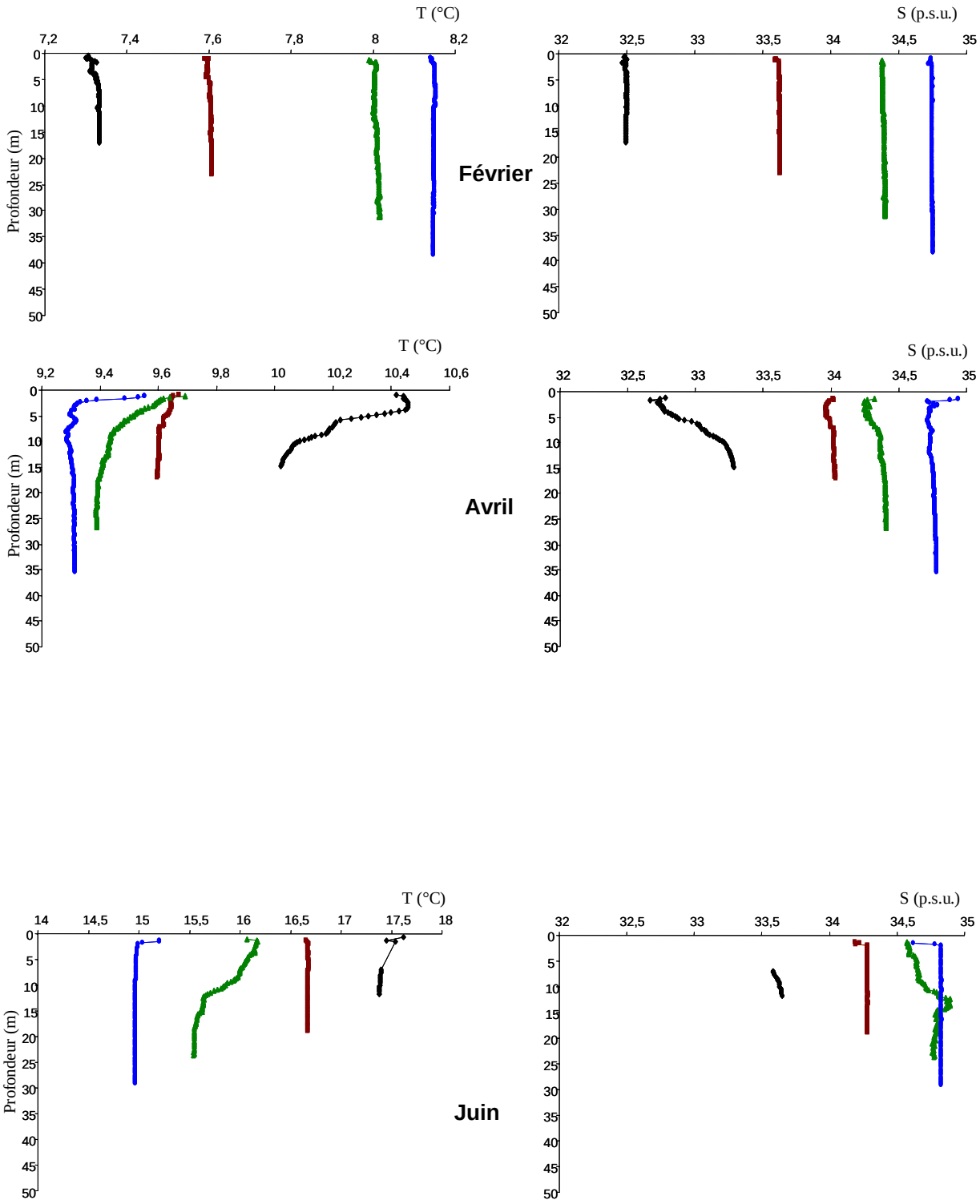
Profils des données de température (gauche ; °C) et salinité (p.s.u.) sur la radiale de la baie de Somme en 2003.
De haut en bas : 18 mars, 23 avril, 13 mai, 10 juillet



Profils des données de température (gauche ; °C) et salinité (droite ; p.s.u.) sur la radiale de Wimereux en 2004.
De haut en bas : 15 février, 21 avril, 07 mai, 18 juin



Profils des données de température (gauche ; °C) et salinité (droite ; p.s.u.) sur la radiale de la baie de Somme en 2004.
De haut en bas : 19 février, 23 avril, 22 juin



Résultats de l'ACP appliquée à la matrice des variables hydro-biologiques et bactériennes dans le cadre de l'analyse de la variabilité inter-annuelle (2003 – 2004) et inter-site (Wimereux et Somme) : [5 variables x 60 observations]

Echelle 1 d'observation (Partie II – Chapitre II - § IV.2)

XLSTAT 7.5.3

Matrice de corrélation des variables

Coefficient de corrélation de Pearson (ACP normée, variances en 1/n)

	PB	AB	Chla	T	S
PB	1	**0,443**	**0,274**	0,189	-0,093
AB	**0,443**	1	0,149	**0,349**	-0,158
Chla	**0,274**	0,149	1	**-0,331**	-0,137
T	0,189	**0,349**	**-0,331**	1	-0,045
S	-0,093	-0,158	-0,137	-0,045	1

En gras, valeurs significatives (hors diagonale) au seuil alpha=0,050 (test bilatéral)

Valeurs propres des axes (F1 : axe 1 ; F2 : axe 2 ; F3 : axe 3…)

Valeurs propres :

	F1	F2	F3	F4	F5
Valeur propre	1,739	1,365	0,936	0,527	0,433
% variance	34,779	27,304	18,722	10,533	8,662
% cumulé	34,779	62,083	80,805	91,338	100,000

Contributions relatives et cosinus carrés des variables hydro-biologiques et bactériennes.

PB : production bactérienne
AB : abondance bactérienne
Chla : concentrations en chlorophylle *a*
T : température
S : salinité

Contributions des variables (%) :

	F1	F2	F3	F4	F5
PB	34,735	1,694	10,051	50,200	3,320
AB	39,434	0,909	0,795	42,208	16,655
Chla	5,495	51,562	1,867	5,507	35,569
T	12,875	42,611	0,314	0,030	44,170
S	7,461	3,224	86,974	2,054	0,286

Cosinus carrés des variables :

	F1	F2	F3	F4	F5
PB	0,604	0,023	0,094	0,264	0,014
AB	0,686	0,012	0,007	0,222	0,072
Chla	0,096	0,704	0,017	0,029	0,154
T	0,224	0,582	0,003	0,000	0,191
S	0,130	0,044	0,814	0,011	0,001

Coordonnées des stations (individus) sur les différents axes.

Coordonnées des individus :

	F1	F2	F3	F4	F5
03mar-W1	-0,386	1,426	0,226	-0,509	-0,023
03mar-W2	-0,588	1,300	0,233	0,064	-0,052
03mar-W3	-0,774	0,975	0,644	-0,042	-0,229
03mar-W4	-1,357	0,563	0,728	-0,085	-0,276
03avr-W1	1,356	0,624	-0,427	-1,958	-0,815
03avr-W2	-0,454	-0,250	-0,404	-0,397	-0,814
03avr-W3	-0,456	-0,280	0,075	-0,274	-0,903
03avr-W4	-1,119	-0,621	-0,136	-0,099	-0,900
03mai-W1	2,825	-0,549	0,385	-1,519	-1,773
03mai-W2	1,944	-0,142	1,192	1,781	-1,068
03mai-W3	0,060	-0,227	0,337	-0,015	-0,135
03mai-W4	-1,986	-0,812	1,178	0,413	0,113
03juil-W1	0,092	-1,717	-0,433	-0,133	1,001
03juil-W2	-0,088	-1,841	-0,397	-0,241	0,886
03juil-W3	-0,113	-1,821	-0,193	-0,172	0,809
03juil-W4	-0,351	-1,874	-0,156	-0,163	0,794
03mar-S1	0,390	2,908	-1,494	-0,117	0,917
03mar-S2	-0,076	2,523	-0,625	-0,684	0,867
03mar-S3	-0,862	1,892	-0,396	-0,006	0,699
03mar-S4	-1,442	1,431	0,205	0,009	0,656
03avr-S1	1,948	0,535	-0,934	0,035	-1,093
03avr-S2	-0,218	-0,594	-0,425	-0,091	-1,121
03avr-S3	-1,233	-0,757	0,219	-0,262	-0,846
03avr-S4	-1,054	-0,729	0,864	-0,006	-0,907
03mai-S2	0,601	0,273	0,062	-0,047	0,081
03mai-S3	1,060	-0,159	0,328	-1,554	-0,616
03mai-S4	0,861	0,068	0,578	-2,076	-0,355
03juil-S1	1,436	-1,489	-3,528	-0,277	0,461
03juil-S2	0,142	-1,876	-0,772	-0,546	0,720
03juil-S3	-0,267	-1,938	-0,248	-0,258	0,780
03juil-S4	-0,148	-1,917	-0,224	-0,513	0,570
04fév-W1	-1,833	0,239	-0,573	0,441	-0,360
04fév-W2	-2,047	-0,030	-0,304	0,406	-0,452
04fév-W3	-2,121	-0,231	0,350	0,568	-0,522
04fév-W4	-1,894	-0,233	-0,303	0,757	-0,746
04avr-W1	1,469	1,547	0,421	0,152	0,013
04avr-W2	1,704	1,676	1,000	0,398	0,060
04avr-W3	0,115	0,956	1,317	0,230	0,186
04avr-W4	-0,566	0,780	1,248	-0,441	0,385
04mai-W1	2,017	1,165	0,819	0,568	0,031
04mai-W2	0,957	0,990	0,616	0,470	0,352
04mai-W3	0,351	1,070	1,331	0,257	0,718
04mai-W4	0,377	1,027	0,751	0,097	0,672
04juin-W1	1,742	-0,882	0,654	1,279	0,367
04juin-W2	0,994	-0,922	0,489	0,613	0,640
04juin-W3	1,367	-0,937	1,004	0,629	0,331
04juin-W4	0,231	-1,211	0,886	0,194	0,534
04fév-S1	-1,063	0,781	-3,399	0,856	-0,576
04fév-S2	-1,606	0,371	-1,490	0,630	-0,410
04fév-S3	-2,126	-0,304	-0,199	0,584	-0,517
04fév-S4	-2,371	-0,460	0,353	0,418	-0,432
04avr-S1	1,328	1,762	-2,247	0,049	0,443
04avr-S2	-0,041	1,029	-0,277	-0,029	0,343
04avr-S3	-0,423	0,400	-0,051	-0,527	-0,004
04avr-S4	-1,693	0,416	0,800	0,022	0,670
04juin-S1	3,836	-0,960	-0,747	2,362	-0,610
04juin-S2	0,499	-0,859	-0,152	-0,066	0,810
04juin-S3	0,656	-1,328	0,440	-0,571	0,138
04juin-S4	0,397	-0,776	0,799	-0,607	0,509

Contributions relatives des stations (individus) sur les différents axes.

Contributions des individus (%) :

	F1	F2	F3	F4	F5
03mar-W1	0,145	2,523	0,093	0,832	0,002
03mar-W2	0,337	2,097	0,098	0,013	0,011
03mar-W3	0,583	1,179	0,751	0,006	0,205
03mar-W4	1,795	0,394	0,960	0,023	0,299
03avr-W1	1,792	0,483	0,330	12,334	2,600
03avr-W2	0,201	0,077	0,295	0,506	2,591
03avr-W3	0,202	0,097	0,010	0,241	3,190
03avr-W4	1,221	0,479	0,033	0,032	3,172
03mai-W1	7,781	0,374	0,269	7,421	12,304
03mai-W2	3,683	0,025	2,571	10,214	4,464
03mai-W3	0,003	0,064	0,205	0,001	0,071
03mai-W4	3,846	0,818	2,511	0,550	0,050
03juil-W1	0,008	3,661	0,340	0,057	3,918
03juil-W2	0,008	4,210	0,286	0,188	3,075
03juil-W3	0,012	4,115	0,067	0,095	2,563
03juil-W4	0,120	4,361	0,044	0,086	2,468
03mar-S1	0,148	10,497	4,041	0,044	3,288
03mar-S2	0,006	7,906	0,706	1,507	2,942
03mar-S3	0,725	4,445	0,285	0,000	1,914
03mar-S4	2,028	2,542	0,076	0,000	1,686
03avr-S1	3,697	0,356	1,580	0,004	4,673
03avr-S2	0,047	0,438	0,327	0,027	4,920
03avr-S3	1,483	0,712	0,087	0,221	2,799
03avr-S4	1,083	0,660	1,353	0,000	3,219
03mai-S2	0,352	0,093	0,007	0,007	0,026
03mai-S3	1,095	0,031	0,194	7,768	1,484
03mai-S4	0,723	0,006	0,605	13,867	0,494
03juil-S1	2,010	2,754	22,533	0,247	0,833
03juil-S2	0,020	4,371	1,079	0,959	2,028
03juil-S3	0,069	4,663	0,112	0,214	2,380
03juil-S4	0,021	4,561	0,091	0,847	1,271
04fév-W1	3,274	0,071	0,595	0,627	0,506
04fév-W2	4,083	0,001	0,167	0,531	0,800
04fév-W3	4,385	0,067	0,221	1,039	1,068
04fév-W4	3,496	0,067	0,166	1,846	2,180
04avr-W1	2,103	2,971	0,320	0,074	0,001
04avr-W2	2,829	3,487	1,811	0,510	0,014
04avr-W3	0,013	1,134	3,143	0,170	0,135
04avr-W4	0,312	0,755	2,820	0,625	0,581
04mai-W1	3,967	1,684	1,215	1,037	0,004
04mai-W2	0,892	1,216	0,687	0,711	0,486
04mai-W3	0,120	1,421	3,207	0,212	2,015
04mai-W4	0,139	1,310	1,021	0,030	1,765
04juin-W1	2,959	0,965	0,775	5,267	0,527
04juin-W2	0,963	1,056	0,434	1,208	1,604
04juin-W3	1,821	1,089	1,826	1,274	0,428
04juin-W4	0,052	1,820	1,421	0,121	1,117
04fév-S1	1,101	0,758	20,916	2,357	1,296
04fév-S2	2,514	0,171	4,021	1,276	0,659
04fév-S3	4,404	0,115	0,072	1,097	1,046
04fév-S4	5,480	0,263	0,226	0,562	0,730
04avr-S1	1,718	3,856	9,140	0,008	0,767
04avr-S2	0,002	1,316	0,139	0,003	0,461
04avr-S3	0,174	0,199	0,005	0,893	0,000
04avr-S4	2,795	0,215	1,157	0,002	1,758
04juin-S1	14,345	1,145	1,009	17,961	1,455
04juin-S2	0,243	0,917	0,042	0,014	2,571
04juin-S3	0,420	2,190	0,351	1,049	0,074
04juin-S4	0,154	0,749	1,155	1,187	1,013

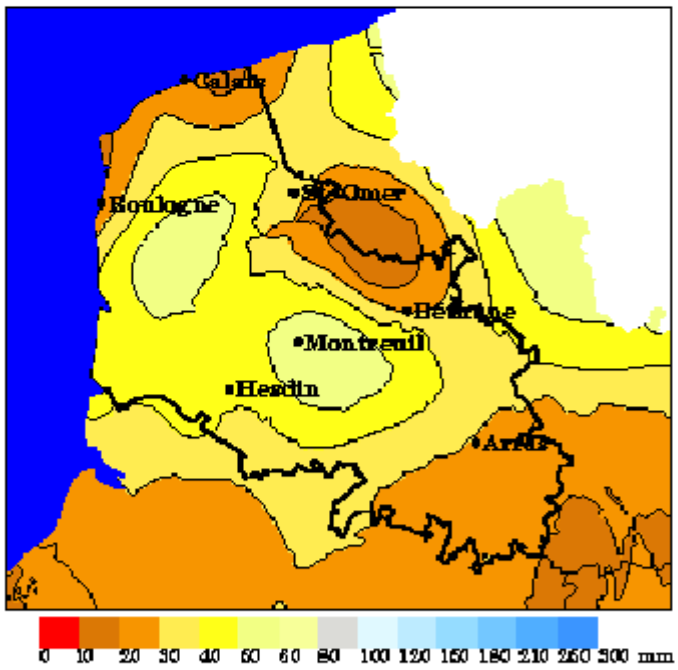
Temps du Mois

62 Pas-de-Calais

MARS 2003

Caractère dominant du mois

A nouveau un mois très doux, exceptionnellement bien ensoleillé et peu pluvieux. Des records de douceur ont été battus principalement durant la dernière décade du mois de mars.



Précipitations

Les précipitations sont déficitaires sur le mois dans la plupart des régions de 20 à 60% des valeurs moyennes habituelles en cette saison.

Températures

Ce mois de mars a été très doux avec une température moyenne de 8,9 degrés contre 6,5 habituellement. Les gelées ont été faibles et se sont produites entre le 14 et 22 mars selon les endroits. La dernière semaine a été particulièrement exceptionnelle avec des températures maximales souvent comprises entre 17 et 20 degrés alors que la moyenne des températures maximales est normalement de 9 à 10 degrés.

Elles sont concentrées essentiellement durant les 10 premiers jours et du 28 au 30 mars.

Insolation

C'est le mois de mars le plus ensoleillé depuis le début des mesures au Touquet en 1978 avec 173 heures d'ensoleillement. Le précédent record datait de 1982 avec 168 heures d'insolation, la moyenne pour un mois de mars étant de 115 heures.

Faits marquants

Records de douceur :
Le 23 mars avec 20,1°C de maxi au Touquet et 19,1°C à Boulogne, le 24 mars à Epinoy avec 21,7°C et le 28 mars à Richebourg avec 21,5°C.

Record d'insolation au Touquet avec 173 heures d'ensoleillement.

METEO FRANCE

Temps du Mois

62 Pas-de-Calais

AVRIL 2003

Caractère dominant du mois

Mois plus doux que la moyenne mais tout de même très contrasté avec des périodes très fraîches, voire froides, alternant avec des périodes exceptionnellement douces. Pour le troisième consécutif depuis le début de l'année, on enregistre un déficit de précipitations compensé toutefois par 2 jours très pluvieux les 25 et 26 avril.

Précipitations

Peu ou pas de précipitations jusqu'au 24 avril inclus. Par contre, il faut noter un bon arrosage les 25 et 26, entre 20 et 40 mm selon les secteurs.

Températures

Le thermomètre a joué au yoyo. L'atmosphère reste bien fraîche jusqu'au 12 inclus avec de fortes gelées entre le 7 et le 12. On frise des records de froid le 8.

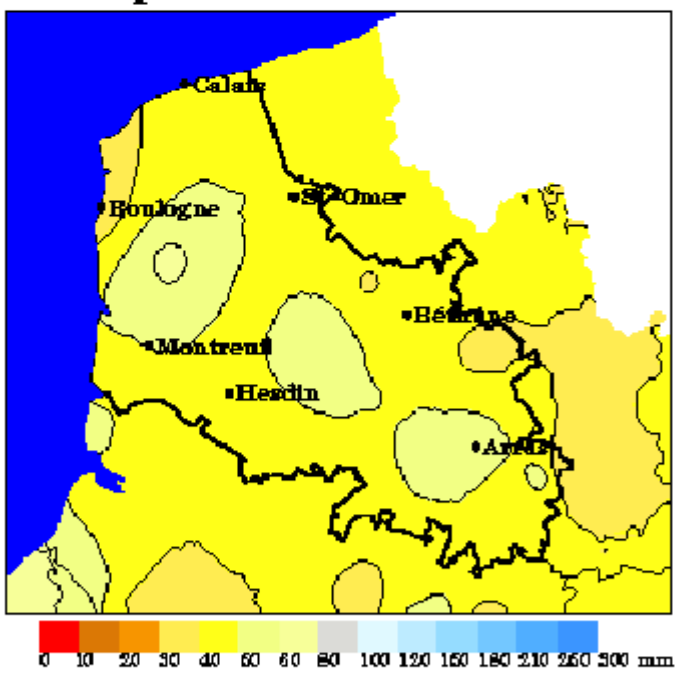
Ensuite, le temps retrouve une douceur exceptionnelle avec des records de chaleur entre le 13 et le 18.

Le mois se termine avec une alternance de douceur et de fraîcheur au gré de passages pluvieux.

Insolation

L'ensoleillement mesuré au Touquet, seul point de mesure disponible sur le Pas-de-Calais, a été bon avec 30% de plus que la moyenne.

Précipitations d'avril 2003



Faits marquants

8 avril : -5,4°C à Lillers.
Records de chaleur le 15 : 27°C à Richebourg, 26.9°C à Loison/Lens, 25.1°C à Lillers et 25°C à Epinoy.
Record absolu de chaleur pour la journée du 16 au Touquet avec 24.8°C de maxi, le précédent record datait du 24/4/1987 avec 24.6°C.

METEO FRANCE

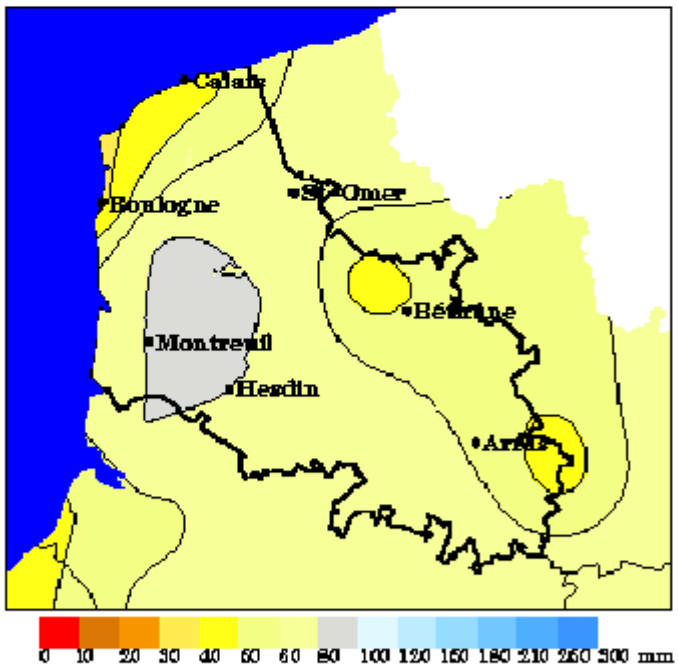
Temps du Mois

62 Pas-de-Calais

MAI 2003

Caractère dominant du mois

Mois assez proche des valeurs normales pour les précipitations grâce à des passages de perturbation parfois orageuses.



Précipitations

On enregistre un léger déficit sur le Boulonnais et sur l'Est de l'Arrageois. Sinon, sur le reste du département les précipitations sont excédentaires, de l'ordre de 10 à 20 % en général. Les pluies se sont produites essentiellement du 1er au 5 mai puis du 11 au 24 avec des orages donnant parfois des valeurs entre 15 et 20 mm en 24 heures.

Températures

Les températures restent assez fraîches une bonne partie du mois du 1er au 27 inclus, sauf un coup de chaud le 4 mai. Du 28 au 31, on retrouve des conditions estivales.

Insolation

On a relevé 211 heures au Touquet, valeur tout à fait conforme à la normale.

Faits marquants

97 km/h de secteur Sud à Boulogne sur Mer le 2 mai

METEO FRANCE

Temps du Mois

62 Pas-de-Calais

JUIN 2003

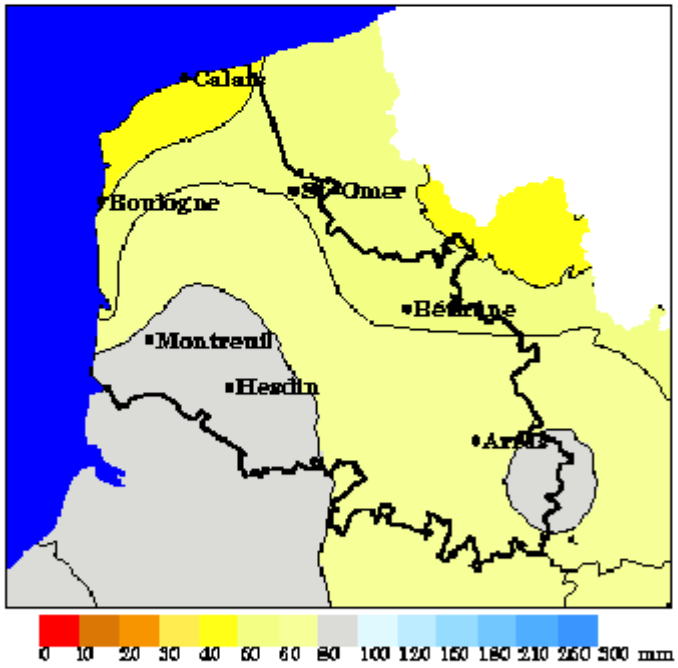
Caractère dominant du mois

Un mois exceptionnellement doux.

Globalement, +3°C aux-dessus des valeurs habituelles.

Précipitations

Les précipitations sont proches des valeurs normales avec même localement un léger excédent dû à des pluies orageuses alternant avec des périodes de temps plus sec.



Températures

Les températures sont restées douces tout au long du mois, sans hausse ni chute brutales.

A Boulogne, avec 17.1° au lieu de 14.5° relevé en temps normal, on égale le record établi en juin 1976.

A Epinoy, avec 18.3° au lieu de 15.5°, on est près de 3° au-dessus des valeurs habituelles mais on est loin du record établi en 1976 avec 19°.

Insolation

Le mois est bien ensoleillé avec 231 heures au lieu de 216 heures en moyenne

Faits marquants

Le 4 juin:
Orage et inondations dans le centre ville de Boulogne sur Mer occasionnant de nombreux dégâts. Plus de la moitié des précipitations du mois sont tombées en 2 heures.

METEO FRANCE

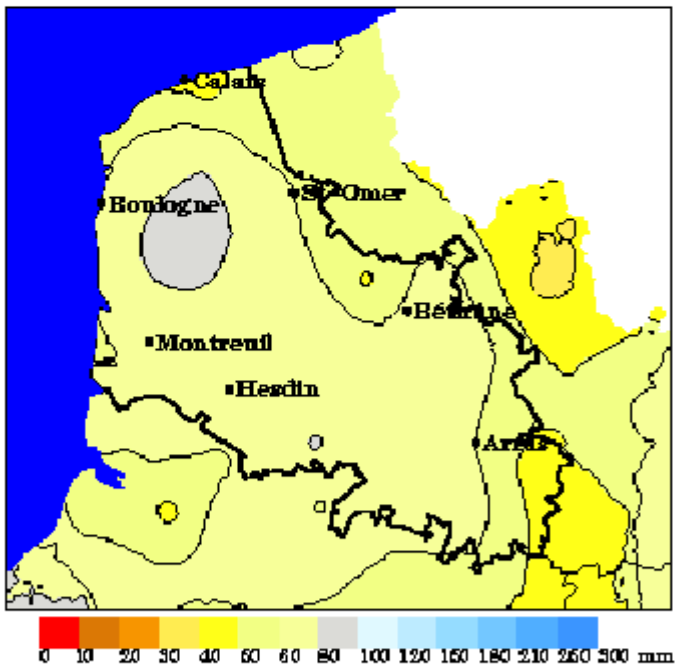
Temps du Mois

62 Pas-de-Calais

JUILLET 2003

Caractère dominant du mois

Mois nettement plus doux que la normale avec des températures qui affichent 1,5 à 2 degrés de plus que les valeurs habituelles aussi bien pour les minimales, que pour les maximales. Les précipitations sont tout à fait conformes aux normales grâce à quelques pluies orageuses.



Précipitations

Le temps est à la pluie du 1er au 3 suivi de 12 jours secs avant de retrouver des pluies orageuses assez marquées le 16.

A nouveau peu ou pas de pluie, puis du 23 au 26 et le 29, nous avons droit à des pluies parfois orageuses.

Températures

Après un début de mois un peu frais, le mercure commence à grimper à partir du 9 et se maintient à un bon niveau jusqu'au 22 avec un pic de chaleur autour du 15 juillet où les températures dépassent alors un peu partout les 30°.

Le mois se termine avec des températures juste de saison.

Insolation

Elle est largement supérieure à la normale. Ce mois de juillet 2003 se classe en 4ème position des mois les plus ensoleillés depuis le début des mesures en 1978 avec 268 heures relevés au Touquet au lieu de 216 heures habituellement.

Faits marquants

Forts orages le 16 juillet avec 25 à 40 mm relevés des Bas Champs picards aux hauteurs du Boulonnais.

Et des inondations dans le secteur d'Attin avec 50 mm.

Le 26, 25 mm sous des pluies orageuses cette fois dans l'Arrageois.

METEO FRANCE

Temps du Mois

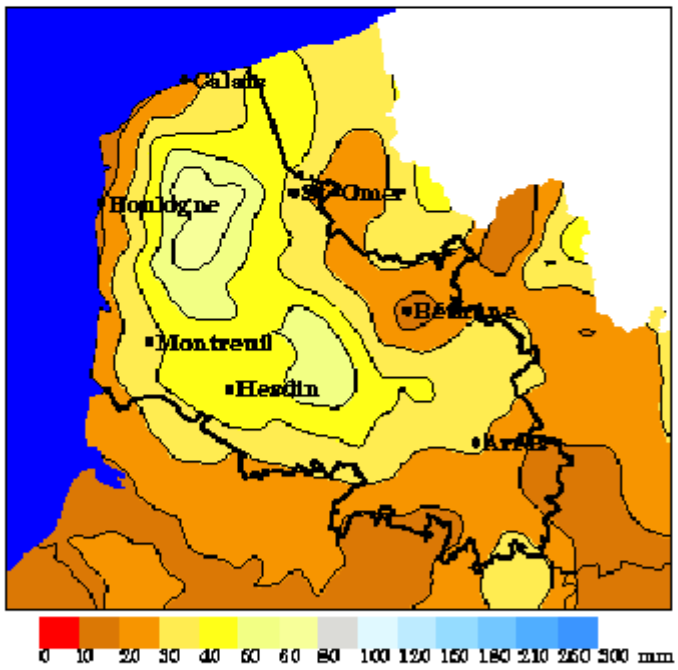
62 Pas-de-Calais

FEVRIER 2004

Caractère dominant du mois

Mois plus doux que la moyenne mais un peu moins ensoleillé.

Février 2004 est surtout marqué par un déficit important des précipitations.



Précipitations

Largement déficitaire. On ne relève que 3 ou 4 jours de pluies significatives selon les régions, le 1er, le 24, le 27 et 28. Le déficit est particulièrement important sur l'Est de l'Arrageois avec seulement 1/3 des quantités habituelles : il n'est tombé que 15 mm à Marquion au lieu des 41 habituellement. 19 mm à Achiet au lieu des 55. Sur le reste du département, le déficit approche bien souvent aussi les 50%.

Températures

Douceur exceptionnelle du 1er au 6 avec des maximales souvent supérieures à 15°. Jusqu'au 18, les températures retrouvent des valeurs proches des normales. Le froid s'installe ensuite jusqu'à la fin du mois avec le retour des gelées même près du littoral.

Insolation

Moins de soleil que d'habitude avec 74 heures au lieu de 88.

Faits marquants

Températures maximales :
18,6° à Calais-Marck le 4.
18,1° à Lillers.

17,8° à Licques.

Température minimale :
-5,4° au Touquet le 27.

METEO FRANCE

Temps du Mois

62 Pas-de-Calais

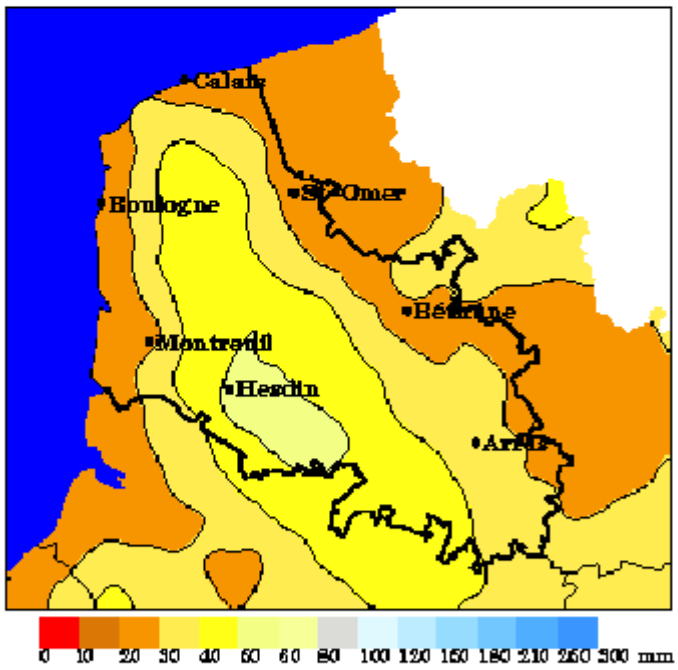
MARS 2004

Caractère dominant du mois

Mois peu pluvieux, un peu plus frais que d'habitude mais beaucoup plus ensoleillé.

Précipitations

Pour le deuxième mois consécutif depuis le début de l'année, les précipitations sont largement déficitaires sur l'ensemble du département.



Globalement, il n'est tombé que la moitié des précipitations habituelles. Le Ternois et l'Arrageois sont un peu moins touchés avec 2/3 de la quantité normale alors que le littoral du Gris-Nez à Berck n'a reçu qu'un peu plus du tiers de la normale. Le plus gros des précipitations s'est produit la deuxième décade et particulièrement la journée du 19 mars qui a vu un bon arrosage entre 10 et 15 mm sur une bonne partie du département. Le reste du temps, peu ou pas de pluie!

Températures

Mois un peu plus frais que la moyenne. Surtout du à des températures froides présentes en début de mois. On enregistre durant cette période des gelées entre –2 et –5 degrés. On retrouve un peu de douceur entre le 15 et le 18 mars où localement on dépasse les 20 degrés en journée puis à nouveau la fraîcheur avant de retrouver des températures très contrastées en fin de mois avec des gelées le matin jusqu'à –2 ou –3 degrés dans l'intérieur et une grandeur douceur l'après-midi avec des maximales dépassant à nouveau les 20 degrés.

Insolation

Avec 157 heures au lieu de 117 heures habituellement, ce mois de mars 2004 est le troisième mois le plus ensoleillé depuis le début des mesures au Touquet, surtout grâce aux 10 derniers jours où le soleil s'est montré près de 85 heures.

Faits marquants

Le 17 mars à Arras :
20,3°C de température maxi à Arras

Le 30 mars à Richebourg :
-2,5°C de mini et 18,5°C de maxi

Le 31 mars, Températures maxi de : 20,4°C à Lillers, 21,5°C à Richebourg, 19,8°C au Touquet

METEO FRANCE

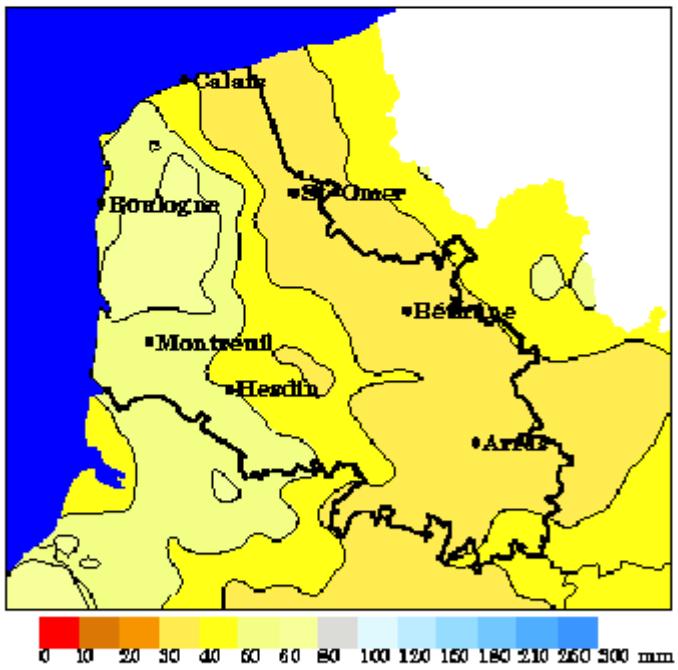
Temps du Mois

62 Pas-de-Calais

AVRIL 2004

Caractère dominant du mois

Mois plus doux que la moyenne mais la pluviométrie est à nouveau déficitaire pour le troisième mois consécutif sur une bonne partie du département.



Précipitations

Déficit sur une bonne partie du département. Le Ternois, l'Arrageois et le Bassin minier sont particulièrement touchés et n'ont reçu que 60% des valeurs habituelles. Seul le littoral a reçu une quantité normale voire légèrement excédentaire. On a enregistré un peu de pluie presque tous les jours de la première décade.

Le 18 est une journée bien arrosée entre 10 et 15 mm sur la plupart des régions. Ensuite , il faut attendre le 27 et surtout la journée du 29 près du littoral pour retrouver des pluies significatives.

Températures

Comme bien souvent au mois d'Avril, le thermomètre a fait du yo-yo. Le 1er Avril, on a souvent dépassé les 20° l'après-midi puis dès le lendemain, on retrouve une certaine fraîcheur et ce jusqu'au 14 avec même quelques gelées autour du 10. La journée du 16 est très douce puis petit coup de froid du 18 au 20 avec même un réveil sous la neige pour certains puis le printemps s'installe pour de bon malgré des matinées parfois fraîches.

Insolation

Malgré une première décade bien nuageuse, ce mois d'Avril est un peu plus ensoleillé que la moyenne avec 182 heures au lieu de 170 habituellement.

Faits marquants

Le 1er Avril: 20,2° à Lillers.
Le 10: -1,2° au Touquet, -2° à Richebourg.

Le 26: à Licques, 3,2° le matin, 21,6° l'après-midi.
Le 19: Neige au petit matin dans le secteur de Desvres, phénomènes glissants également du côté de Condette Hesdin l'Abbé.

METEO FRANCE

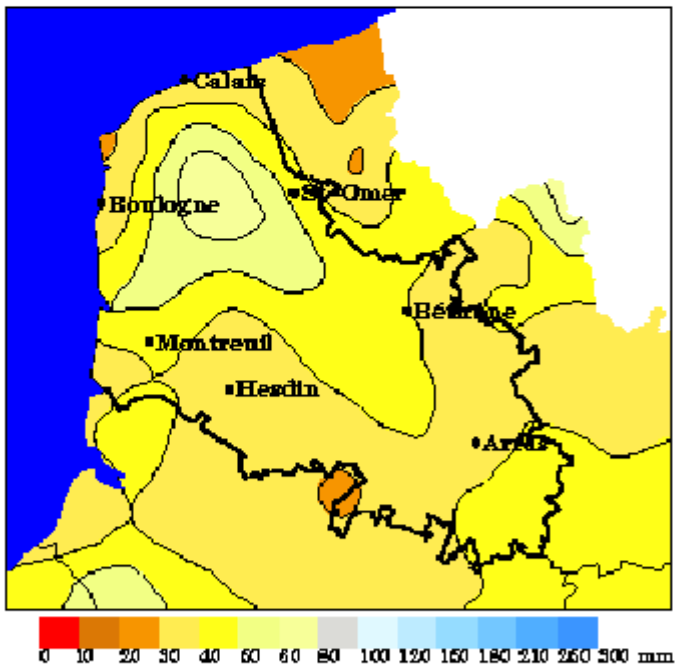
Temps du Mois

62 Pas-de-Calais

MAI 2004

Caractère dominant du mois

Mois conforme aux normales concernant l'ensoleillement et les températures mais à nouveau déficitaire pour les précipitations pour le 4ème mois consécutif.



Précipitations

On n'a recueilli que 50 à 80% des valeurs habituelles, le sud du Ternois et l'Arrageois étant les secteurs les moins arrosés. Le temps est à la pluie entre le 3 et le 10, suivi d'une longue période de sec entre le 11 et le 28, hormis la journée du 20 où une bonne moitié Ouest a reçu entre 5 et 10 mm. On retrouve de faibles pluies en toute fin de mois. Une seule journée avec un arrosage vraiment significatif : le 7 où des pluies orageuses ont amené 10 à 30 mm selon les régions.

Températures

Le mois débute dans la douceur mais on retrouve rapidement une grande fraîcheur du 4 au 13. Grande douceur du 14 au 20. La dernière décade, les matinées sont très fraîches voire froides mais on repasse au-dessus des 20° les après-midi. Malgré tout, les températures restent conformes aux normales saisonnières, la 1ère décade très fraîche étant compensée par le retour de la douceur à partir du milieu du mois.

Insolation

Un peu plus ensoleillé que la moyenne même si le soleil n'a pas été très généreux jusqu'au 13.

Faits marquants

Le 7 : orage avec grêle à Boulogne, 29 mm à Lillers, 27 à Epinoy.

Le 28 : à Calais, 2°7 le matin, 20° l'après-midi, à Lillers, 1°7 le matin, 21° l'après-midi.

METEO FRANCE

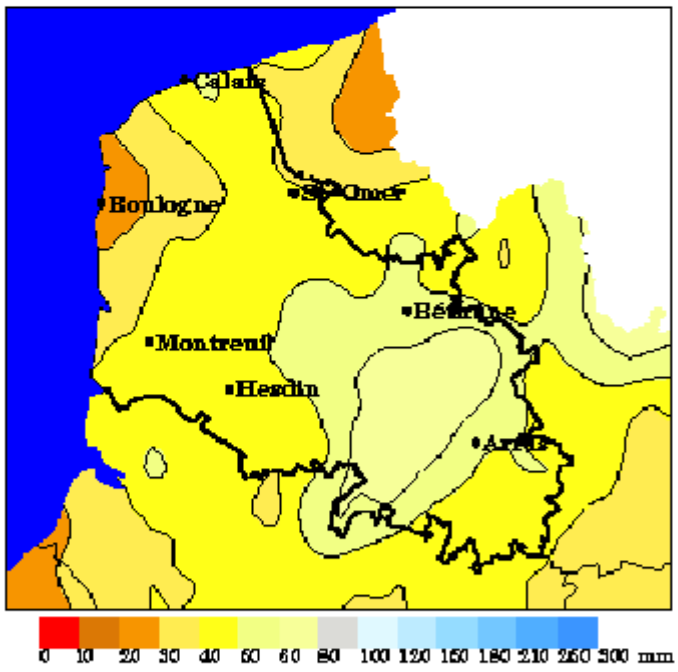
Temps du Mois

62 Pas-de-Calais

JUIN 2004

Caractère dominant du mois

Mois plus doux et plus ensoleillé que la moyenne mais qui a tout de même laissé une impression de temps très changeant avec de la chaleur en début de mois et une véritable tempête d'automne le 23.



Précipitations

L'arrosage n'a pas été uniforme sur l'ensemble du département. Certains secteurs ont vu la sécheresse s'aggraver et ce pour le 5ème mois consécutif, notamment la bande côtière allant du Gris-Nez à Berck, le Pays de Desvres, le Montreuillois, le Ternois et l'ouest Arrageois avec un déficit qui atteint parfois 50 %.

En revanche, du Calaisis au Béthunois, les pluies sont souvent excédentaires grâce à quelques journées bien pluvieuses, les 10 et 11 ainsi que les 22 et 23 Juin.

En dehors de ces quelques journées bien arrosées, peu ou pas de pluie significative.

Températures

Hormis, un bon coup de chaud autour du 8 juin et quelques belles journées du 14 au 16 et en fin de mois, le reste du temps on a plutôt connu des températures un peu justes pour la saison avec des maximales qui n'ont pas dépassé 16 à 19 degrés donnant une impression quasi automnale.

Insolation

Grâce à quelques journées bien ensoleillées notamment en 2ème décade, ce mois de juin est plus ensoleillé que la moyenne avec 241 heures au lieu de 204 habituellement.

Faits marquants

Le 8: Au Touquet: 31,7°(précédent record 31° le 7/6/96) 31,3° à Calais et Lillers.

C'est surtout **la tempête du 23** assez inhabituelle en cette saison qui a marqué les esprits. Nombreux dégâts et foyers privés d'électricité avec un maximum de 119 km/h à Boulogne.

METEO FRANCE

Temps du Mois

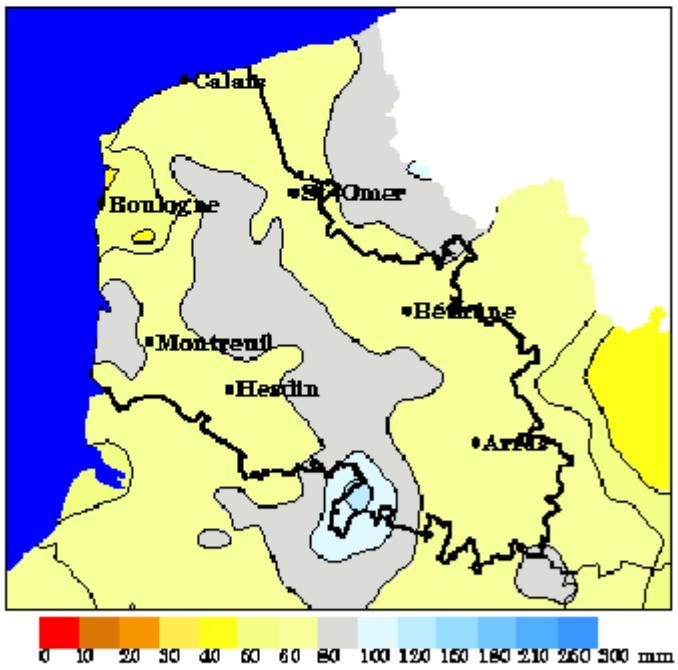
62 Pas-de-Calais

JUILLET 2004

Caractère dominant du mois

Mois pluvieux, marqué par des épisodes orageux.

Par contre, malgré une impression mitigée, les températures et l'ensoleillement sont juste conformes aux moyennes saisonnières.



Précipitations

Après un printemps peu arrosé, juillet 2004 retrouve des pluies conséquentes sur une grande partie du département suite à de nombreuses situations orageuses. Les secteurs les plus arrosés ont reçu 30 à 50% de plus que d'habitude. Les orages les plus violents ont été enregistrés le 22 juillet notamment sur l'Est de l'Arrageois et le secteur de Lens. Ensuite, on retrouve un temps beaucoup plus sec jusqu'à la fin du mois.

Températures

Grande fraîcheur jusqu'au 15 inclus avec des maximales qui ont bien du mal à dépasser 18 à 20 degrés. Globalement, durant cette période, on se retrouve souvent 2 à 3 degrés en dessous des valeurs habituelles. La deuxième quinzaine du mois, on retrouve enfin des valeurs estivales mais sans chaleur excessive.

Insolation

Juillet 2004 est juste dans la moyenne grâce à une dernière décade particulièrement bien ensoleillée. On enregistre 223 heures au lieu de 218 habituellement On est bien sûr très loin des 268 heures relevés en juillet 2003.

Faits marquants

Température maximale à Desvres le 4 juillet : 13°9.
Les orages parfois violents ont occasionné quelques dégâts. Le 17, sous un orage, une forte rafale de vent : 108 km/h à Radinghem.
Le 22, à Cambrai-Epinoy, également sous un orage : 40 mm relevés en 1 heure!

METEO FRANCE

POSTERS ET COMMUNICATIONS ORALES

- ANNEXE B1 -

Bacterial dynamics during a phytoplankton bloom succession in the French English Channel.

Lamy D. & Artigas L.F.

LABEL -UMR 8013 ELICO - M.R.E.N - Université du Littoral Côte d'Opale - 32 av. Foch - 62930 Wimereux - France

ABSTRACT

The dynamics of heterotrophic bacteria was studied in the coastal and offshore waters of the French Eastern English Channel, from March to June 2002. Our aim was to determinate **spatial, daily** and **seasonal variabilities of bacterioplankton biomasses and productivities, at both micro- and mesoscales, in relation to phytoplankton dynamics**.

An important daily variability in bacterial standing stocks and productivities was pointed out. Bacterial production ranged mainly, during the same day, in May, in the inshore point, from 0.586 to 1.11 $\mu gC.L^{-1}.h^{-1}$, for corresponding bacterial abundance from 1.15 to 3.40 10^6 cell.mL^{-1}. These features indicated ***pronounced short-lived events***, ascribed partially to the movement of the water masses during a tidal cycle and to the hydrodynamic influence of the "river flow".

Despite a high daily variability, ***the seasonal variability remained clear-cut***: bacterial production ranged from 0.058 $\mu gC\ L^{-1}\ h^{-1}$ in winter (early March) to 1.84 $\mu gC.L^{-1}.h^{-1}$ in late spring (June), whereas bacterial abundances ranged from 0.25 10^6 cell.mL^{-1} to 4.38 10^6 cell.mL^{-1}, respectively. ***A temporal uncoupling between phytoplankton and bacteria*** was highlighted during this whole spring period. The photosynthetic carbon was therefore probably indirectly recycled during the post-bloom situation, possibly due to an enhanced "microbial loop" activity. Relationships between bacterial biomass and production indicated seasonal differences, likely reflecting ressource limitation of bacterial biomass during the bloom and predator regulation in the post-bloom.

INTRODUCTION

The spatial and temporal dynamics of heterotrophic bacteria was studied in the coastal and offshore waters of the French Eastern English Channel, from March to June 2002. If within the trophic foodwebs the autotrophic phytoplankton represents the fundamental responsible for organic matter synthesis, heterotrophic bacteria would ensure an additionnal and significant provisioning of the higher trophic levels and an important nutrients recycling pathway, via the "microbial loop" (Azam *et al.*, 1983).

The main objective of this study was **to follow bacterial dynamics in terms of both biomass and production and to determine its spatial, daily and seasonal variabilities**, during the differents stages of a particular phytoplankton bloom succession.

MATERIALS AND METHODS

1.Sampling stategy : A transect carried out off the coastal zone 2 to 3 times successively over the day time (locations R1 to R4, Figure 1) and mooring carried out in both coastal and offshore stations (locations PC and PL, Figure 1) were performed from March to June 2002.

2.Phytoplankton stocks : Concentrations of chlorophyll *a* and degraded pigments (phaeopigments) were determined by extractive fluorometric analysis (Yentsch & Menzel, 1963). Phytoplankton biomass was estimated by assuming an empiric factor (50 $\mu gC.\mu g^{-1}$ chl*a* ; phyto-C equivalents, Redalje, 1983) and size-classes were individualized..

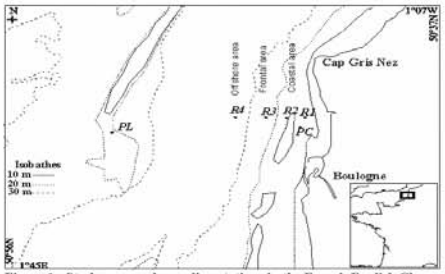


Figure 1 : Study area and sampling stations in the French English Channel.

3.Bacterial biomass : Bacteria were enumerated by epifluorescence microscopy after DAPI staining (Porter & Feig, 1980). An empiric factor was employed to calculate biomass (20 $fgC.cell^{-1}$, Lee & Fuhrman, 1987) and the main morphotypes were distinguished.

4.Bacterial production : It was estimated from the rates of ^{3}H-Thymidine incorporation into the bacterial DNA (Fuhrman & Azam, 1982). For each station, triplicates and two controls (corresponding to abiotic incorporation) were incubated during 1h30 with 1 nM ^{3}H-Thymidine.

DAILY VARIABILITY OF THE BACTERIAL DYNAMICS

The measurements carried out at mooring points highlighted an **important variability of the bacterial compartment among locations within a day time period**, by considering both the abundance and production values (Figure 2). Variations in productivities should be ascribed partially to the movement of the water masses during a tidal cycle (general upward trend under ebb conditions and general trend to the fall under flood conditions) and to the hydrodynamic influence of the "river flow". (Brylinski *et al.*, 1991).

These features **indicated small-scale rapid events in the studied surroundings**, underlined by a high bacterial production out of the range of variability (value measured at 18h00 in May).

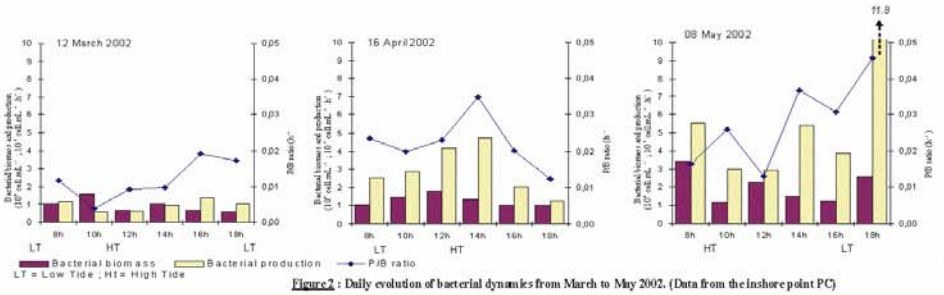


Figure 2 : Daily evolution of bacterial dynamics from March to May 2002. (Data from the Inshore point PC)

SEASONAL TRENDS OF THE BACTERIAL DYNAMICS

Despite a high variability within the day, **the seasonal variability of the bacterial compartment remained globally high**, by considering waters sampled during the same tidal and light conditions across the seasons (Figure 3).

A first phytoplankton bloom majoritarily due to planktonic Diatoms (whose size range between 10 and 100 µm, Breton, 2000) was detected in early March, while bacterial stocks, dominated by coccal cells (Figure 4), were both little abundant and little productive.

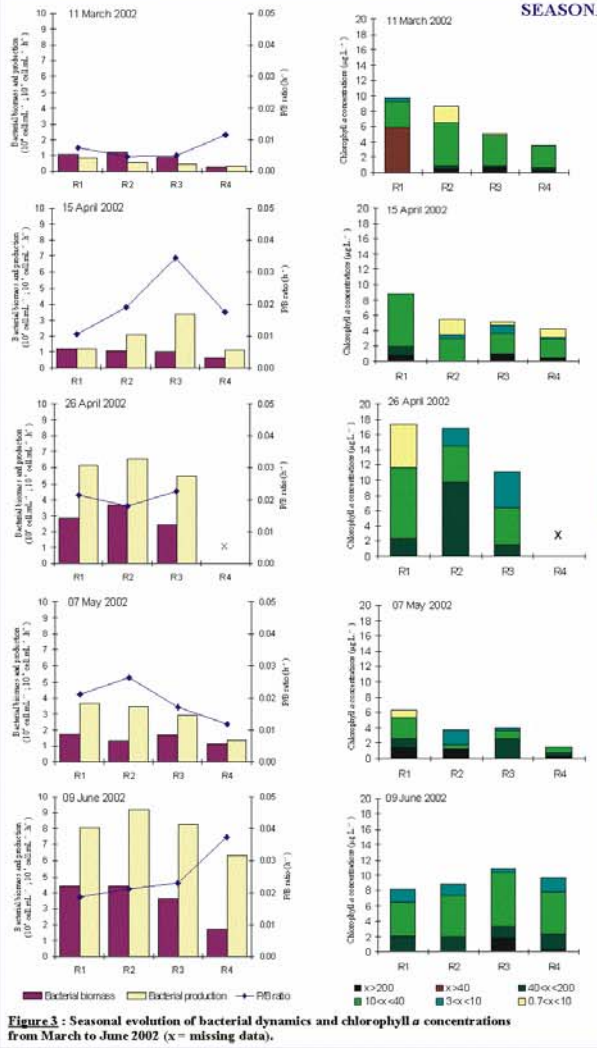


Figure 3 : Seasonal evolution of bacterial dynamics and chlorophyll *a* concentrations from March to June 2002 (x = missing data).

At mid-April, the decay of the Diatoms bloom was associated to a rise of bacterial productivities, without an increase in total biomass, possibly due to an increasing importance of more active cells (dividing and vibrioïds cells). This pattern suggested that bacteria took advantage of the phytoplankton-derived detritus, rather than of the photosynthetically active release of DOM (Artigas *et al.*, 2000).

A more important bloom was detected in late April and attributed to *Phaeocystis sp.* (colony-sizes up to 2 mm, Breton, 2000). It was followed by an important bacterial development, holded up by a high P/B ratio and responsible for a high bacterial/phytoplankton biomass ratio (Figure 5) possibly traducing an intense bacterial recycling.

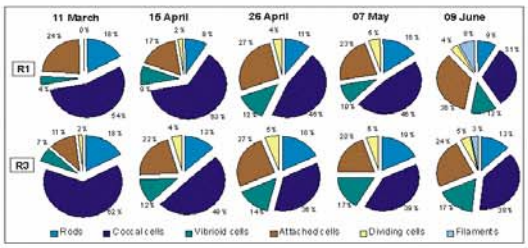


Figure 4 : Seasonal evolution of the main bacterial morphotypes from March to June 2002.

Locations	11 March	15 April	26 April	07 May	09 June
R1	4.42	5.7	10.71	13.33	21.44
R2	8.48	7.82	13.68	15.37	24.03
R3	6.75	7.71	8.1	17	15.61
R4	3.14	8.82	x	25.33	8.05

Figure 5 : Bacterial biomass expressed as a percentage of phytoplancton biomass (%Bact-C/Phyto-C)
x = missing data

At the post-bloom situation in May, the bacterial compartment remained very active: high P/B and microbial biomasses ratios, increasing importance of rods (Artigas *et al.*, 2000). Statistic analysis showed that bacterial biomass and production were no longer coupled (Figure 6). It may indicated a seasonal progression from a possible ressource limitation ("down-up") of bacteria during the bloom and a supposed predator regulation ("top-down") in the post-bloom (Van Wambeke *et al.*, 2000).

At the spring-summer transition (June 2002) relatively high phytoplankton biomasses supported high bacterial biomasses and more particularly high bacterial production. Bacterial-C / phytoplankton-C ratio showed elevated values indicating still a high importance of bacteria in the carbon pool. The photosynthetic carbon was therefore probably indirectly recycled during the post-bloom situation, possibly due to an increasing role of the "microbial loop" (Rousseau *et al.*, 2000; Van Wambeke *et al.*, 2002).

	Bacterial production	Bacterial abundance	Chl.*a*	Phaeo.
Bacterial production	1	-0,000273 (n.s.)	0,697933 (p < 0,01)	0,65882 (p < 0,01)
Bacterial abundance	-0,000273 (n.s.)	1	0,321735 (n.s.)	0,213125 (n.s.)
Chl.*a*	0,697933 (p < 0,01)	0,321735 (n.s.)	1	0,8525 (p < 0,001)
Phaeo.	0,65882 (p < 0,01)	0,213125 (n.s.)	0,8525 (p < 0,001)	1

Figure 6: Correlation matrix from an analysis in principal components. Data from May 2002.

CONCLUSION

The analysis of the variabilities within a day-time underlined the interest of **a temporal-high frequency survey of both bacterial stocks and productions**. The instability of the water masses, characterized by an along-shore northward water mass seaward limited by a coastal front, additional to the tidal currents, seemed to be important to consider for the surveys of the bacterial dynamics at microscale (Eulerian vs. Lagrangian strategies).

Seasonal trends of the heterotrophic bacterial compartment could be released, in relation with seasonal changes in autotrophic phytoplankton compartment. A temporal uncoupling between this two microbial dynamics was highlighted during the whole spring period, where bacterial growth maxima followed with a lag time the phytoplankton outbursts.

BIBLIOGRAPHY

Artigas, L.F., Herbland, A. & Laborde, P. (2000). Is the spring bacterioplankton production, on the Aquitain shelf, a response to primary production ? Oceanologica. 2 183-202.
Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Gray, J.S., Meyer-Reil, L.A. & Thingstad, F. (1983). The ecological role of water-column microbes in the sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 10 :257-263.
Breton, E. (2000). Qualité du pool azoté et nutrition des copépodes pélagiques en Manche Orientale. Thesis of University, "Université du Littoral-Côte d'Opale". 201p.
Brylinski, J.-M., Lagadeuc, Y., Gentilhomme, V., Dupont, J.-P., Lafite, R., Dupeuble, P.-A., Huault, M.-F., Auger, Y., Puskaric, E., Wartel, M. & Cahiech, L. (1991). Le " fleuve côtier " : un phénomène hydrologique important en Manche Orientale. Exemple du Pas-de-Calais. O. Acta. 11 :197-203.
Fuhrman, J.A. & Azam, F. (1982). Thymidine incorporation as a measure of the heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: evaluation and field results. Mar. Biol. 66 :201-207.
Lee, S.H. & Fuhrman, L. (1987). Relationship between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton. Appl. Environ. Microb. 53(6): 1298-1303.
Porter, K.G. & Feig, Y.S. (1980). The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. Limnol. Oceanogr. 25(5): 943-948.
Redalje, D.G. (1983). Phytoplankton carbon biomass and specific growth rates determined with the labeled chlorophyll *a* technique. Mar. Ecol. Prog. Ser. 11 :217-225.
Rousseau, V., Becquevort, S., Parent, J.-Y., Gasparini, S., Daro, M.-H., Tackx, M. & Lancelot, C. (2000). Trophic efficiency of the planktonic food web in a coastal ecosystem dominated by *Phaeocystis* colonies. J. Sea Res. 43 : 357-372.
Van Wambeke, F., Christaki, U., Blanchi, M., Pearra, S. & Tedlepiec, A. (2000). Heterotrophic bacterial production in the Crete Sea (NE Mediterranean). Prog. In Ocean. 46 : 205-216.
Van Wambeke, F., Heussner, S., Diaz, F., Raimbault, P. & Conan, P. (2002). Small-scale variability in the coupling/uncoupling of bacteria, phytoplankton and organic fluxes along the continental margin of the Gulf of Lions, Northwestern Mediterranean Sea. J. Mar. Syst. 33-34 : 411-429.
Yentsch, C.S. & Menzel, D.W. (1963). A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. Deep-Sea Res. 10 : 221-231.

AKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Eric Lecuyer and Xavier Ménaux for their logistic and technical assistance, and the crews of "Côtes de la manche" and "Côtes d'Aquitaine". We thank also Pr Jean-Michel Brylinski, director of the M.R.E.N. This study was part of the Master " Interfaces et Dynamiques en Environnement" (Mrs Dominique Lamy).

Communication orale présentée au congrès international *Plankton Symposium II*

Vigo, Espagne, 16 – 19 octobre 2003

SEASONAL PATTERNS OF HETEROTROPHIC BACTERIAL PRODUCTION DURING A SPRING BLOOM SUCCESSION IN TWO AREAS OF THE EASTERN ENGLISH CHANNEL.

D. Lamy*[a], L.F. Artigas[a], C. Jauzein[b], F. Lizon[b]

[a] FORTEC - UMR 8013 ELICO - M.R.E.N - Université du Littoral Côte d'Opale (ULCO)
32 av. Foch - 62230 Wimereux – France.

[b] PPPG - UMR 8013 ELICO - SMW - Université des Sciences et Technologies de Lille
28. av. Foch – 62230 Wimereux - France

Heterotrophic bacterial production was estimated in coastal and offshore surface waters of the eastern English Channel during different stages of a vernal phytoplankton succession, in two zones where recurrent *Phaeocystis globosa* blooms occur in spring. Samples were collected from March to July 2003 following two strategies : along a transect from coastal waters to the open sea and during daily surveys of water masses, were carried out in two different sites of a more or less direct influence of estuarine inputs. ^{3}H-Thymidine and ^{3}H-Leucine incorporation was used to obtain independent estimates of bacterial production (cell production related to DNA synthesis and biomass production related to protein synthesis, respectively). These two methods provided both a qualitative and quantitative assessment of bacterial heterotrophic production. Moreover, the use of both radioisotopes highlighted conditions of balanced or unbalanced growth.

Bacterial standing stocks and biomasses were assessed simultaneously, according to two different and complementary staining procedures for epifluorescence counts. Total bacterial standing stocks were calculated from direct cell counts after DAPI staining. In addition, the use of two fluorescent dyes revealed the physiological state of cells in order to make more accurate estimates of the bacterial biomass responsible for the bacterial heterotrophic production. Thus, the combined use of SYTO 9 and propidium iodide stains, mixed in the LIVE/DEAD BacLight© probe, lead us to make an estimate of the bacterial viability, assessed by membrane integrity. These two different approaches of estimating bacterial biomass (total, physiological state and activity) allowed us to estimate the proportion of intact cells and to have more accurate estimate of both bacterial growth rates and turn-over times.

This survey of the bacterial dynamics provided insights into the phytoplankton-bacteria coupling, and allowed us to gain a better understanding of the *in situ* bacterial mechanisms in the specific context of important *Phaeocystis globosa* bloom.

Communication orale présentée au congrès international *Plankton Symposium III*

Figueira da Foz, Portugal, 17 – 19 mars 2005

EXOENZYMATIC ACTIVITY AND BACTERIAL DYNAMICS IN THE EASTERN ENGLISH CHANNEL

D. Lamy[*a], V. Kowalski[a], L.F. Artigas[a] and D. Delmas[b]

[a] FORTEC - UMR 8013 ELICO - M.R.E.N - Université du Littoral Côte d'Opale (ULCO)

32 av. Foch - 62230 Wimereux – France.

[b] CREMA L'HOUMEAU – CNRS / IFREMER – Case 5 – 17137 L'Houmeau

The dynamics of heterotrophic bacterioplankton was studied in coastal and offshore waters of the French eastern English Channel, from February to July 2004. Measurements of bacterial abundance, production and exoproteolytic (EPA) and exoglucosidic activities (EGA) were carried out in two contrasted sites. The aims of the study were (1) to apprehend the spatial and seasonal variabilities of the bacterial compartment, and (2) to estimate the contribution of bacteria to organic matter degradation *via* enzymatic hydrolysis, mainly during the spring period characterised by Diatoms and *Phaeocystis globosa* outbursts.

From February to July 2004, both productivities and activities increased from offshore to coastal waters in both sites. By considering the whole sampling area, bacterial production ranged from 0.02 µgC L^{-1} h^{-1} in winter to 5.41 µgC L^{-1} h^{-1} in spring and followed the same seasonal trend than EPA (4.94 to 860 nmol L^{-1} h^{-1}) and EGA (0.015 to 45.356 nmol L^{-1} h^{-1}). The corresponding bacterial abundances were comprised between 0.10 10^6 cell.mL^{-1} and more than 10^6 cell.mL^{-1} and would have been regulated successively by bottom-up to top-down controls. Results showed concomitant evolution of both types of exoenzymatic activities, suggesting that the transient accumulation of *Phaeocystis*-derived matter was not due to a lag time required for the induction of these two enzymes.

This study highlighted (1) the potential role played by bacterioplankton in enhancing the microbial loop functioning and (2) the large contribution of heterotrophic bacteria to potential organic matter degradation, during bloom periods.

Keywords: Bacterial exoenzymatic activities / Bacterial dynamics / Phytoplankton spring bloom / Microbial loop / Eastern English Channel.

Article sous presse

Marine Biology

SEASONAL VARIABILITY OF INTERTIDAL BACTERIAL METABOLISM AND GROWTH EFFICIENCY IN AN EXPOSED SANDY BEACH DURING LOW TIDE.

Cédric Hubas, Dominique Lamy, Luis Felipe Artigas, Dominique Davoult

Mar Biol
DOI 10.1007/s00227-006-0446-6

RESEARCH ARTICLE

Seasonal variability of intertidal bacterial metabolism and growth efficiency in an exposed sandy beach during low tide

Cédric Hubas · Dominique Lamy · Luis Felipe Artigas · Dominique Davoult

Received: 12 April 2006 / Accepted: 4 August 2006
© Springer-Verlag 2006

Abstract Benthic gross primary production (GPP) and community respiration (BCR) were regularly measured on sandy beach sediment during low tide in a megatidal ecosystem. These measurements were assessed during 2 years in situ within a benthic chamber simultaneously with bacterial production (BP). Results suggested that community respiration in Wimereux sandy beach sediments was probably dominated by bacterial respiration and that the estimated benthic bacterial growth efficiency (BGE) was highly variable. Although temperature significantly controlled both BP and BCR during low tide at the annual scale, the temperature effect on BGE was not significant. The instability and sediment erosion caused by the wave action and the tidal cycle were thus thought to influence the BGE. Since the sampling site is regularly affected by *Phaeocystis* foam deposit (enhancing the BCR and decreasing the BGE), and since GPP rates were highly variable and supported by high assimilation numbers (i.e., >1 mgC mgChla^{-1} h^{-1}), phytoplankton organic matter deposit following the immersion of the study site was thought to explain the BGE variability.

Communicated by S. A. Poulet, Roscoff.

C. Hubas · D. Lamy · L. F. Artigas
FRE 2816, Université du Littoral Côte d'Opale,
Maison de la Recherche en Environnement Naturel,
Wimereux, 32 av. Foch, Dunkerque Cedex 62930, France

D. Davoult · C. Hubas (✉)
UMR 7144 AD2M,
Université Pierre et Marie Curie-Paris6,
Station Biologique de Roscoff, RoscoffBP 74,
29680, France
e-mail: hubas@sb-roscoff.fr

Introduction

In aquatic ecosystems, organic carbon is mainly processed by bacterial communities (Cole 1999) and can either be re-mineralized (bacterial respiration, BR) or transformed into particulate carbon (bacterial biomass production, BP). The relative magnitudes of BR and BP are controlled by bacterial growth efficiency (BGE = BP/[BP + BR]), which represents the fraction of assimilated organic carbon that supports bacterial growth and therefore that is available for higher trophic levels (del Giorgio and Cole 1998). While it is widely recognized that bacterial re-mineralization dominates bacterial metabolism, there is still no consensus on what primarily drives the great BGE variability (Roland and Cole 1999). Indeed, BR and BP are most of the time not coupled and may be controlled by different factors. Consequently, over the past decades simultaneous BR and BP measurements have presented an increasing interest improving our understanding of the carbon cycle in aquatic ecosystems (Jahnke and Craven 1995; del Giorgio and Williams 2005).

This is particularly true in pelagic ecosystems. Indeed, since BR is mostly constrained by the input of organic carbon, some recent studies have focused on the role of both quality and quantity of dissolved organic carbon (Cherrier and Bauer 2004; Kormas and Papaspyrou 2004) and the origin of extracellular organic carbon (Kormas 2005) in the regulation of

BGE. However, although some microbial processes such as BP (Hogan and Ward 1998; dos Santos Furtado and Casper 2000; Hamels et al. 2001; Caffrey et al. 2003), exo-enzymatic activities (van Duyl et al. 1999, 2000; Manini et al. 2003) and BR (Accornero et al. 2002) were studied in sediments, there is still a real need to study the BGE regulation in benthic ecosystems and particularly in intertidal ecosystems which play an important role in the production and remineralization of organic matter.

In aquatic ecosystems, BP and re-mineralization generally represent the main fate of primary production (Ducklow 1999; Middelburg et al. 2000). Moreover, in many coastal systems such as the coastal waters of the eastern English Channel, *Phaeocystis* sp. outbursts are common events (Lizon et al. 1998; Breton et al. 2000). Intertidal sediments are then generally affected during low tide by transient accumulation of mucilaginous aggregates. These deposits, occurring under specific windy conditions, are one of the most spectacular ecological consequences of the spring *Phaeocystis* bloom. The *Phaeocystis* life cycle is characterized by phase alternation between free-living solitary cells of 3–9 μm in diameter and gelatinous colonies occurring in coastal waters (Lancelot 1995). Comparable mucous aggregates generally slightly influence the soft-bottoms macrobenthic communities (Cornello et al. 2005; Occhipinti-Ambrogi et al. 2005). However, *Phaeocystis*-derivated foam sedimentation can significantly affect the macrobenthic communities in intertidal ecosystems (Desroy and Denis 2004).

Moreover, it was shown that in subtidal sandy sediments, phytoplankton sedimentation can potentially contribute to the benthic chlorophyll *a* (Chl *a*) biomass (Josefson and Hansen 2003; Ehrenhauss et al. 2004) and to its incorporation into the benthic food web via macrofauna (Josefson et al. 2002). However, although permeable sediments effectively represent expansive filters that trap the phytoplanktonic cells, the major part of the trapped material would be remineralized by bacterial communities making it, for a large part, not available for higher trophic levels (Ehrenhauss et al. 2004). These deposits also occurred in intertidal sandy sediments and could modify the benthic primary production rates both during high (Sundbäck et al. 1996), and low tide (Spilmont et al. 2005).

In the present study, benthic gross primary production (GPP) and benthic community respiration (BCR) were measured in situ on emersed sediment, within a benthic chamber, in a megatidal sandy beach exposed to wave action and affected by phytoplankton deposits (Spilmont et al. 2005). These measurements were simultaneously assessed with benthic BP and bacterial biomass (BB) and Chl *a* concentration. Moreover, Chl *a*, BP and BB were also measured in coastal waters (2.2 km off). The aim of this study was to assess the temporal variability of the benthic BGE in an emersed intertidal ecosystem affected by the sedimentation of both transient mucilaginous aggregates and active phytoplankton cells from adjacent coastal waters.

Materials and methods

Sampling area

The sites were located in the English Channel (France, Fig. 1) and were sampled from February 2004 to

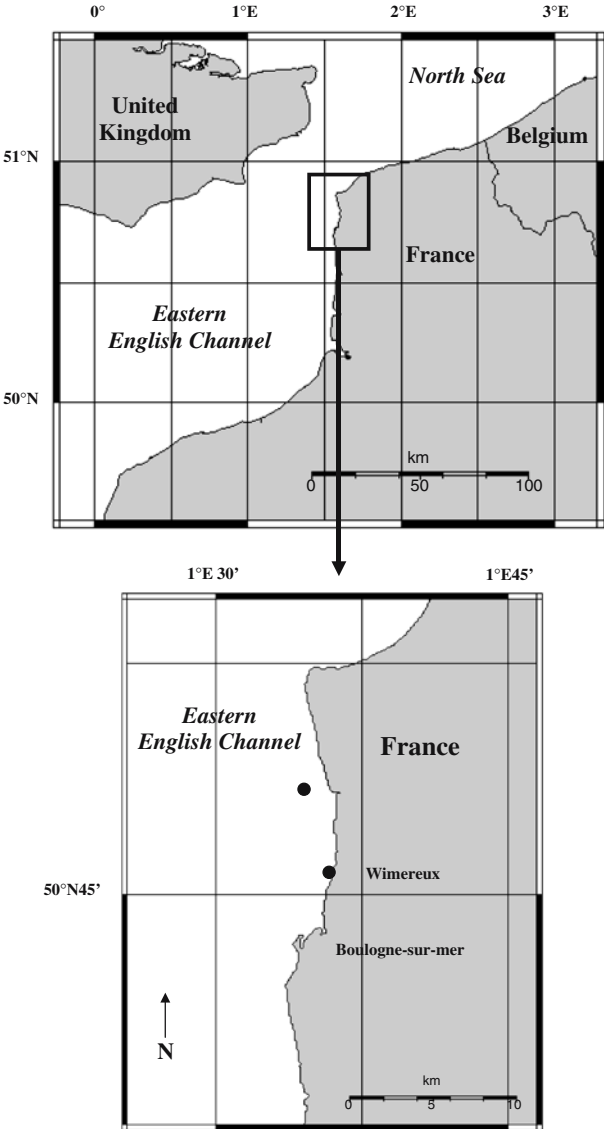


Fig. 1 Location of the two sampling sites in the Eastern English Channel (France)

August 2005. The sediment site was located in the Wimereux beach which consisted in a megatidal (spring tidal range > 8 m) sandy beach exposed to wave action. The beach is submitted to a semi-diurnal regime and sediment is characterized by medium size sand (median = 200 μm). The sampling site is generally affected by spring *Phaeocystis*-derived foam deposits (Gentilhomme and Lizon 1998; Spilmont et al. 2005) resulting from the aggregation of *Phaeocystis* sp. cells in coastal waters (Lancelot 1995). The foam is generally deposited at the sediment surface by the tide. The pelagic site was located at 2.2 km off Wimereux coast.

Benthic primary production and community respiration

Benthic metabolism was regularly measured in situ on emersed sediment, within a benthic chamber (Migné et al. 2002) functioning with a closed circuit of CO_2 analysis. Briefly, a 0.071-m^2 sediment area (10 cm depth) was enclosed and changes in CO_2 concentration (ppm) in air upon sediment were measured with an infrared CO_2 gas analyzer (LiCor Li 800). Incident photosynthetically active radiation (400–700 nm, PAR in μmol quanta m^{-2} s^{-1}) was also measured inside the benthic chamber with a LiCor quantum sensor. Data were recorded with a data logger (LiCor Li-1400) with a 30 s logging frequency. CO_2 fluxes were then calculated from recorded data of both light and dark incubation using the slope of CO_2 concentration (ppm) against time (min). Results were then expressed in carbon units for the bulk benthic community (mgC m^{-2} h^{-1}). Benthic GPP was then calculated from benthic net primary production (NPP) and BCR measurements (GPP = NPP + BCR).

Chlorophyll *a* concentration

For sediment samples, the top 2 mm of sediment was sampled during emersion inside the benthic chamber area (triplicates with a 1.6 cm inner diameter cut-off syringe), after the incubation period. Samples were then stored in a cool box until return to laboratory and stored at –20°C until analysis. For pelagic samples, 0.5–1 l of surface water samples were filtered onto GF/F Whatman glass fiber filters which were immediately stored at –20°C in the dark until processing in the laboratory.

Sediment cores and filters were thus defrosted in dark and Chl *a* extraction was performed with 90% acetone (Strickland and Parsons 1972). All samples were centrifuged (3,000 rpm, 3 min). Supernatants were removed and Chl *a* concentration was measured by fluorimetry (Yentsch and Menzel 1963) using a 10-AU Turner Designs© fluorometer, Chl *a* concentration was then calculated according to Lorenzen (1966).

Bacterial production

Bacterial carbon production was estimated by [*methyl*-^{3}H] thymidine (SA, 48–50 Ci $mmol^{-1}$) incorporation rate (Fuhrman and Azam 1982). For sediment samples, cores (triplicates with a 1.6 cm inner diameter cut-off syringe, 1 cm depth) were sampled during emersion at the end of the benthic chamber incubation period. Sediment slurries were incubated with [*methyl*-^{3}H] thymidine (final concentration 40 nM, 20 min), filtered (0.2 μm) and rinsed with ethanol 80% and TCA 5%. The filters were mixed with 5 ml of 0.5 M HCl and incubated at 95°C for 16 h (Garet and Moriarty 1996). The supernatant was cooled and mixed with 2 ml of the scintillation cocktail Ultima Gold MV. The radioactivity was measured with a liquid scintillation counter (Wallak 14—Perkin Elmer©). For pelagic samples, surface water was incubated with [*methyl*-^{3}H] thymidine in the dark at in situ surface temperature (final concentration 20 nM, 1.5 h). Samples were filtered (0.2 μm) and the radioactivity measured as described above. BP was calculated assuming 2×10^{18} cells mol thymidine^{-1} incorporated (Moriarty 1986; Bell 1993), and 20 fg C $cell^{-1}$ (Lee and Fuhrman 1987; Cho and Azam 1990; Delmas et al. 1992; Raghukumar et al. 2001). The appropriate concentration (Moriarty 1986) and the linearity of the incorporation over time were estimated in preliminary experiments for each type of sample.

Bacteria biomass

For sediment samples, bacteria biomass was estimated from 1.6 cm inner diameter (1 cm depth) cores collected with a cut-off alcohol cleaned syringe (triplicates), inside the benthic chamber area during low tide. Samples were immediately fixed in 20 ml borate-buffered 0.2 μm pre-filtered formalin (3% final concentration). Bacterial communities were then extracted from sediment by addition of 150 μl of Tween 80 (Chevaldonné and Godfroy 1997) followed by sonication (35 kHz, 5 min) and centrifugation (1,750 g, 10 min, 4°C). Samples were stained with DAPI (2 μg ml^{-1}) for 15 min (Porter and Feig 1980) and counted by epifluorescence microscopy. Carbon biomass was estimated as described above. Water samples

were directly stained with DAPI following the same protocol as described above.

Benthic bacterial growth efficiency

Benthic BGE was calculated as BGE = BP/BCD, with BCD representing the benthic bacterial carbon demand (BCD = BP + BCR). Indeed, since BCR was mostly supported by bacteria in Wimereux sandy beach sediments (Spilmont et al. 2005), the bulk BCR was supposed to represent, in the present study, a good estimation of benthic BR. Moreover, the benthic BGE was also estimated at all sampling occasion according to del Giorgio and Cole (1998) as BGE = (0.037 + 0.65 BP)/(1.8 + BP).

Statistics

In situ temperature (air temperature near the sampling site during the incubation period, Meteo France©) was recorded and its influence on benthic bacterial metabolism and growth efficiency was tested with an exponential curve (Arrhenius plot) according to Hancke and Glud (2004) using the SPSS Inc. Systat 9© software:

$$r = A_i \exp(-E_{ai}/RT), \quad (1)$$

where r represented BP and BCD in mgC m^{-2} h^{-1}, A_i is a pre-exponential factor, E_{ai} is the community response of BP and BCD to temperature (apparent activation energy in J mol^{-1}), R is the gas constant (8.3144 J K^{-1} mol^{-1}) and T is the absolute air temperature (K).

Q_{10} values (corresponding to the metabolism response to 10°C rise of temperature) were calculated from the nonlinear regressions of Eq. 1 using a temperature interval from 10 to 20°C:

$$Q_{10}(r) = r_{20°C}/r_{10°C}. \quad (2)$$

Results

Benthic gross primary production and community respiration

Benthic GPP was regularly measured from February 2004 to August 2005. Moreover, during the *Phaeocystis* foam deposits period (Fig. 2), benthic GPP was measured simultaneously on bare sediment and on foam deposit. Benthic GPP, on bare sediments, was low and highly variable: 10.6 ± 11.1 mgC m^{-2} h^{-1} (Fig. 3a) and showed maximum occurring in spring and summer 2004 and in summer 2005. Moreover, benthic GPP on *Phaeocystis* foam deposits was also highly variable being lower (May 2004) or higher (June 2004) than GPP on bare sediments. In 2005, no *Phaeocystis* foam deposit was observed. BCR was also highly variable with a maximum occurring in summer (end of June–beginning of July, Fig. 3b). Moreover, BCR increased significantly when *Phaeocystis* foam deposits occurred at the sediment surface.

Fig. 2 Example of simultaneous measurement of benthic metabolism on bare sediment (*middle ground*) and a small *Phaeocystis* foam deposit (*foreground*)

Bacterial production

Benthic BP was highly variable over the sampling period (0.18 ± 0.11 mgC m^{-2} h^{-1}, Fig. 4a) and was maximum in summer (end of August). Unfortunately, the benthic BP was not measured in *Phaeocystis* foam deposits in May 2004 when the foam was detected for the first time. However, in June 2004 benthic BP on *Phaeocystis* foam deposits was higher than on bare sediment. The BP of coastal waters was also highly variable (1.05 ± 0.91 mgC m^{-3} h^{-1}, Fig. 4b) and showed a maximum occurring in late spring and in early summer.

Chlorophyll *a* concentration and bacterial biomass

Maximum benthic Chl *a* concentration (Fig. 5a) occurred in spring and summer 2004 and in summer 2005. Benthic Chl *a* on *Phaeocystis* foam deposits was also highly variable being lower (May 2004) or higher (June 2004) than Chl *a* on bare sediments. In spring 2004, Chl *a* concentration in coastal waters increased

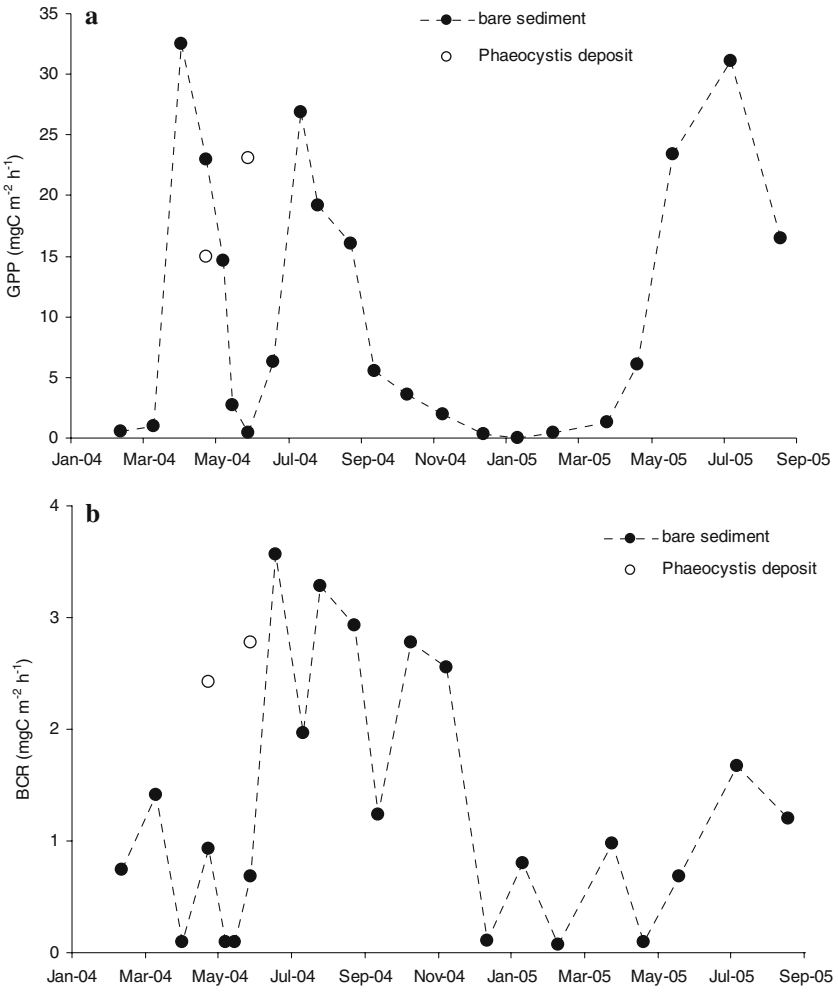


Fig. 3 Temporal variability of **a** benthic gross primary production (*GPP*, in mgC m^{-2} h^{-1}) and **b** benthic community respiration (*BCR*, in mgC m^{-2} h^{-1}) on bare sediment and *Phaeocystis* foam deposit

during the *Phaeocystis* bloom (Fig. 5c). However, in 2005 no important bloom, and consequently, no important increase in Chl *a* was observed in coastal waters in spring.

Benthic BB showed a maximum occurring in summer (Fig. 5b, beginning of August in 2004 and mid-July in 2005). Moreover, benthic BB on foam deposits was also highly variable being slightly lower (May 2004) or higher (June 2004) than on bare sediments. In coastal waters, maximum offshore BB (Fig. 5d) occurred in late spring (end of May–beginning of June) both in 2004 and 2005.

Temperature

Air temperature ranged from 1.3°C in February 2005 to 25.1°C in August 2004 and showed a classical seasonal curve with a maximum occurring in summer (Fig. 6). Temperature influence on bacterial metabolism was tested; results were reported in Table 1. Temperature effect was more important (i.e., higher Q_{10} and apparent activation energy) for BCR than for BP.

Assimilation number

Assimilation number (in mgC mgChla^{-1} h^{-1}) was reported in Fig. 7. The dashed line represented the maximum empirical assimilation number for benthic microalgae (approximately 1 mgC mgChla^{-1} h^{-1}, Migné et al. 2004, and references therein). In 2004 and 2005, the assimilation number was generally > 1 mgC mgChla^{-1} h^{-1}, except for some occasions in winter and spring 2004 and in winter 2005. The assimilation number recorded in *Phaeocystis* foam deposits was always above the threshold value. Moreover, it was always higher on the deposits than on bare sediments.

Benthic bacterial growth efficiency

Benthic BGE was calculated for each sampling occasion, from BP and BCR (Fig. 8). BGE calculated from BCR was low and highly variable (24.8 ± 24.5%) and showed sporadic spectacular increases in May and December 2004 and in February and April 2005, explaining the majority of the BGE variability. The

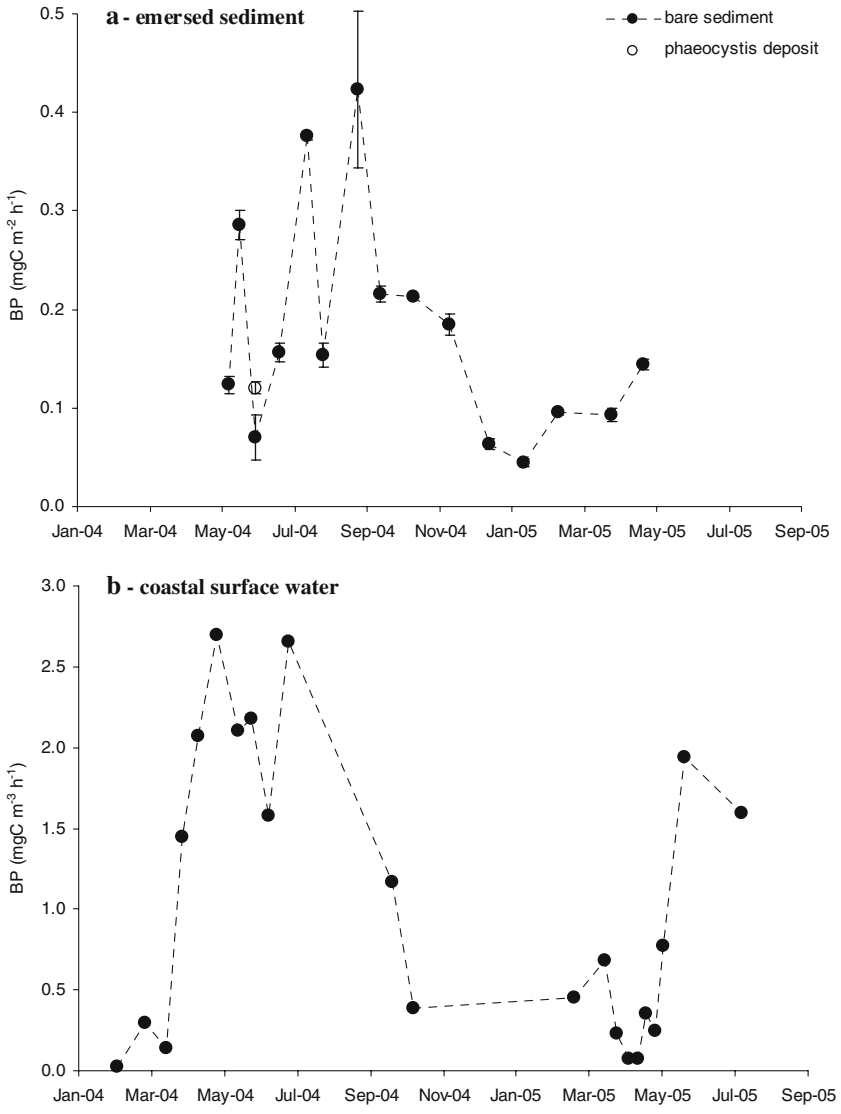


Fig. 4 Temporal variability of **a** bacterial production (*BP*, in mgC m^{-2} h^{-1}) in emersed sediment and **b** bacterial production in coastal waters located 2.2 km off Wimereux coast

BGE calculated from BP according to del Giorgio and Cole (1998) was lower and much less variable (7.3 ± 3.1%) and showed a seasonal pattern with a summer maximum. During *Phaeocystis* foam deposit, BGE recorded on foam was lower (4%) than BGE recorded on bare sediment (9%).

Discussion and conclusions

The role of bacterial communities in BCR

In the present study, BCR was well correlated to benthic bacterial biomass (Fig. 9, BB: $r = 0.64$, $n = 22$, $P < 0.01$). This was supposed to represent more than a simple co-variation with temperature. Indeed, in autumn BCR rates were relatively high (from 1.24 to 2.93 mgC m^{-2} h^{-1}) and closer to the summer values (1.96 to 3.56 mgC m^{-2} h^{-1}) than the spring ones (from 0.0 to 1.41 mgC m^{-2} h^{-1}) indicating that BCR was probably not stimulated in autumn by the temperature only. Moreover, the contribution of BR to the bulk BCR is generally considered to be important compared to their relative low biomass (Dye 1981; van Es 1982; Schwinghamer et al. 1986; Piepenburg et al. 1995). The Wimereux sandy sediments are characterized by a very low macrofauna biomass. According to Spilmont (2004), macrofauna biomass represented in average 0.2 ± 0.5 gAFDW m^{-2} (with AFDW represented the ash-free dry weight). This author showed that BCR was also well correlated to bacterial biomass but neither with macrofauna nor meiofauna biomass. Indeed, regarding macrofauna and meiofauna biomass, bacteria appeared to mostly contribute to BCR in similar intertidal sediments (Hubas et al. 2006). According to these authors, in the

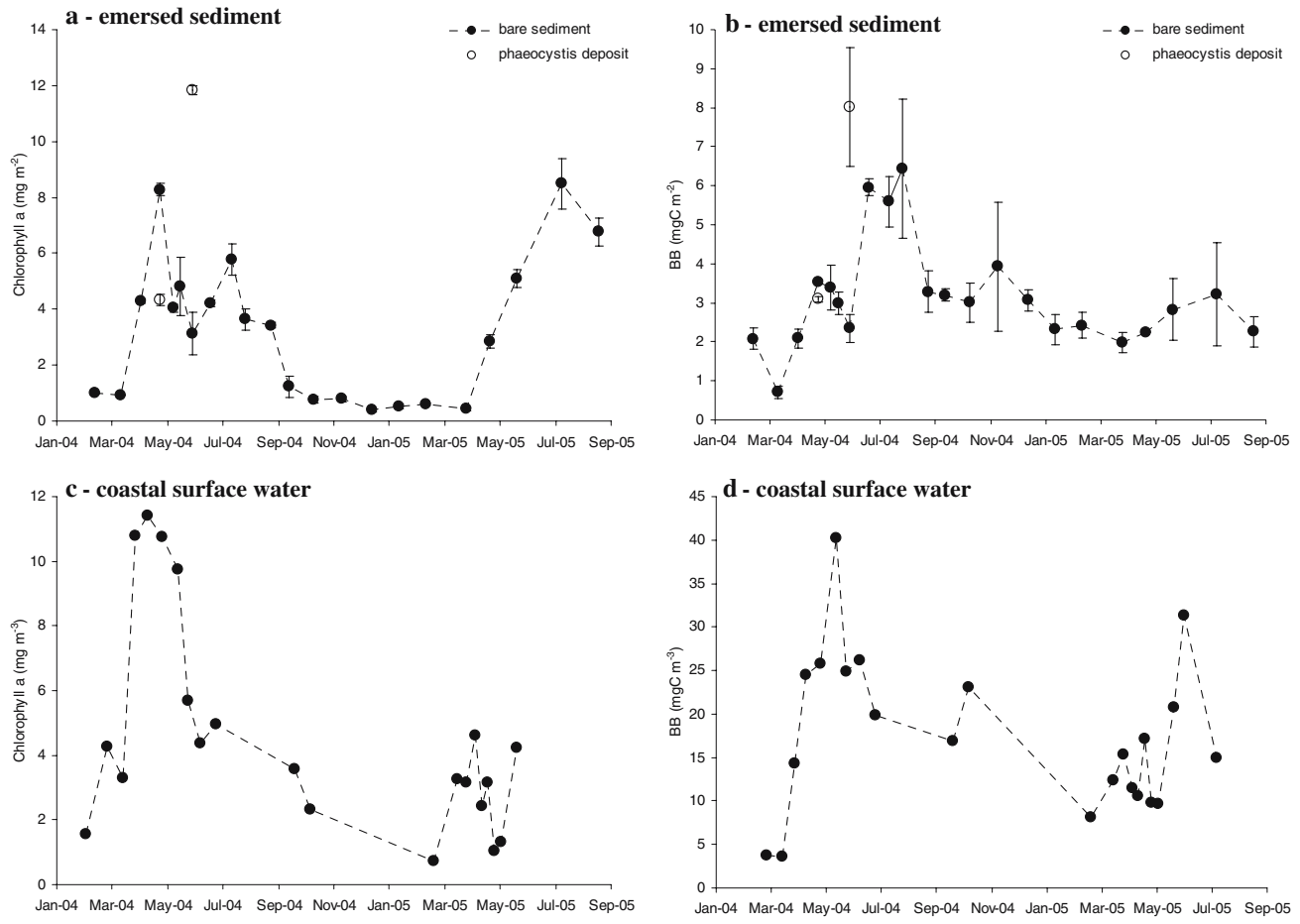


Fig. 5 Temporal variability of **a** chlorophyll *a* concentration (Chl *a*, in mg m^{-2}) and **b** bacterial biomass (*BB*, in mgC m^{-2}) in emersed sediment. The temporal variability of **c** chlorophyll *a* concentration (Chl *a*) and **d** bacterial biomass (*BB*) in coastal waters located 2.2 km off Wimereux coast was also reported

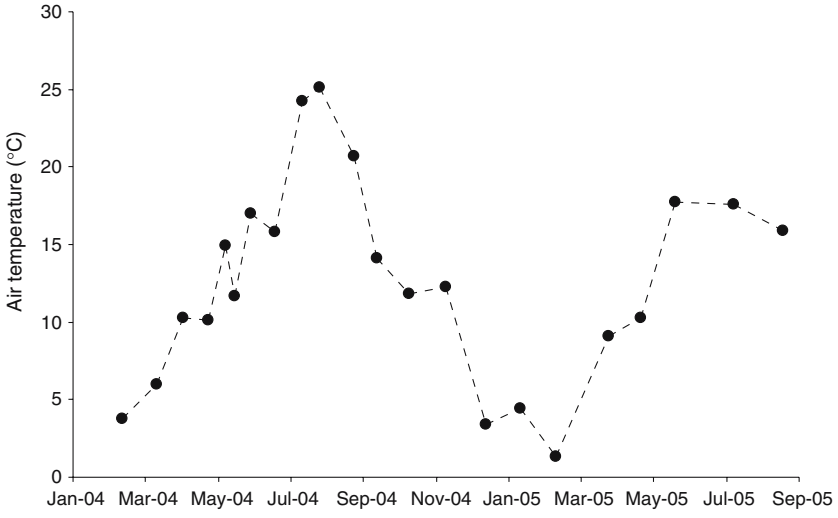


Fig. 6 Temporal variability of air temperature measured near the study site

Roscoff Aber Bay (Western English Channel) the macrofauna biomass represented 4.5 ± 2.7 gAFDW m^{-2}. Moreover, in the present study, the magnitude of BR can be roughly estimated from BP measurements (del Giogio and Cole 1998, $R = 3.42\ BP^{0.61}$). BR estimated with this relationship was not statistically

Table 1 Influence of temperature on the bacterial metabolism

	A_i	E_{ai} (kJ mol^{-1})	R^2	n	Q_{10}
BP	3.6×10^5	34.70	0.82***	15	1.7
BCR	2.7×10^9	51.25	0.72***	22	2.1

The table indicated the bacterial production (BP) and benthic community respiration (BCR) temperature response curve parameters calculated from nonlinear regression using the Arrhenius plot. Pre-exponential factor (A_i), apparent activation energy (E_{ai}, kJ mol^{-1}), R^2 , number of couple values (n) and metabolism response to 10°C rise of temperature (Q_{10}) were reported

*** $P < 0.001$

different from the BCR measured in bare sediments (Kruskal-Wallis, $P > 0.05$). According to this estimation mean annual BR would be 1.1 ± 0.4 mgC m^{-2} h^{-1} and represented in average 80% of BCR. This suggests that the community respiration in Wimereux sandy beach sediments was probably dominated by BR and that the relation between BCR and BB represented the influence of bacterial communities on the BCR. However, although the bacterial community mainly contributes to BCR, the benthic BGE calculated from the bulk BCR would be probably slightly underestimated since a fraction of BCR is probably due to the autotrophic community. The BCR was nevertheless considered to be suitable for the calculation of the benthic BGE and for the study of the temporal variability.

Temporal variability of bacterial metabolism and growth efficiency: is temperature a controlling factor at the annual scale?

The mechanisms (organic matter supply, bacterivory, temperature influence) regulating temporal variability

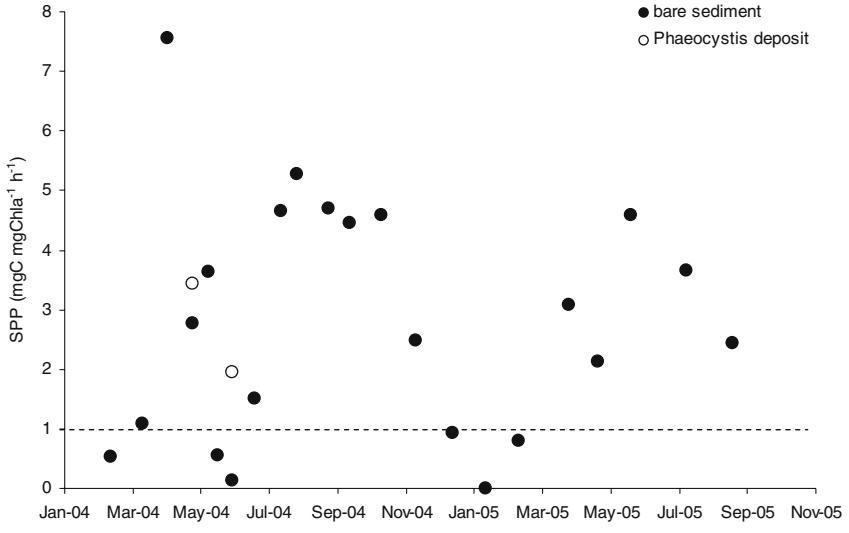


Fig. 7 Temporal variability of the assimilation number (in mgC mgChla^{-1} h^{-1}) in Wimereux sandy beach sediment. The *dashed line* indicated the empirical maximum assimilation number for benthic microalgae

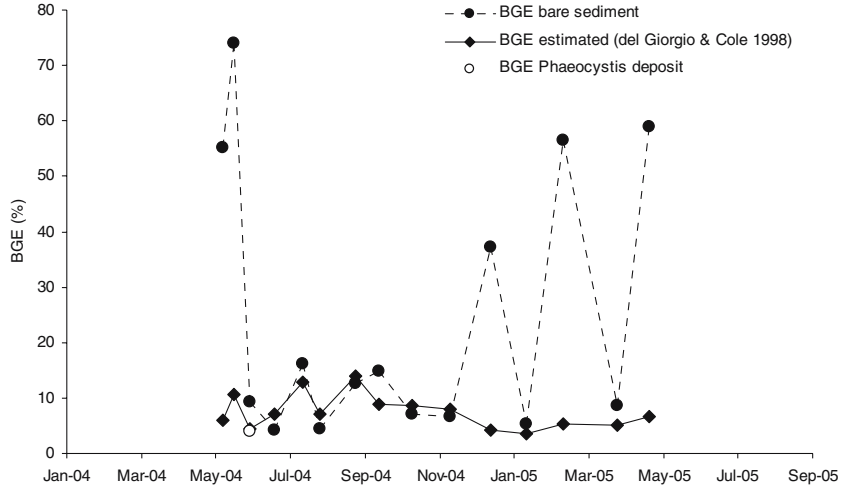


Fig. 8 Temporal variability of bacterial growth efficiency (*BGE*, in%). The *black line* indicated the temporal variability of the *BGE* estimated from del Giogio and Cole (1998) as $BGE = (0.037 + 0.65\ BP)/(1.8 + BP)$

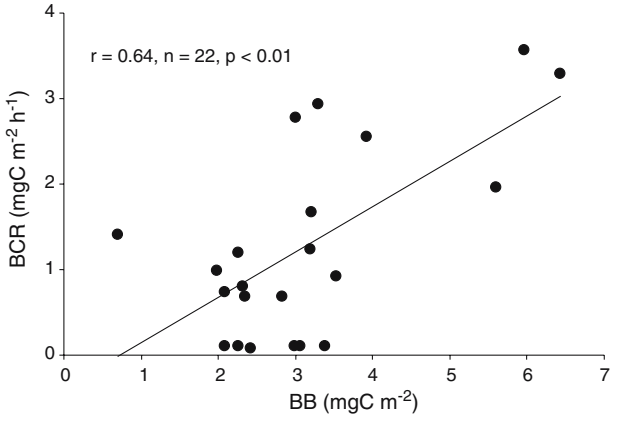


Fig. 9 Simple linear regression between benthic community respiration (*BCR*, in mgC m^{-2} h^{-1}) and bacterial biomass (*BB*, in mgC m^{-2}). The correlation coefficient (*r*), the number of couple values (*n*) and the probability (*P*) were reported

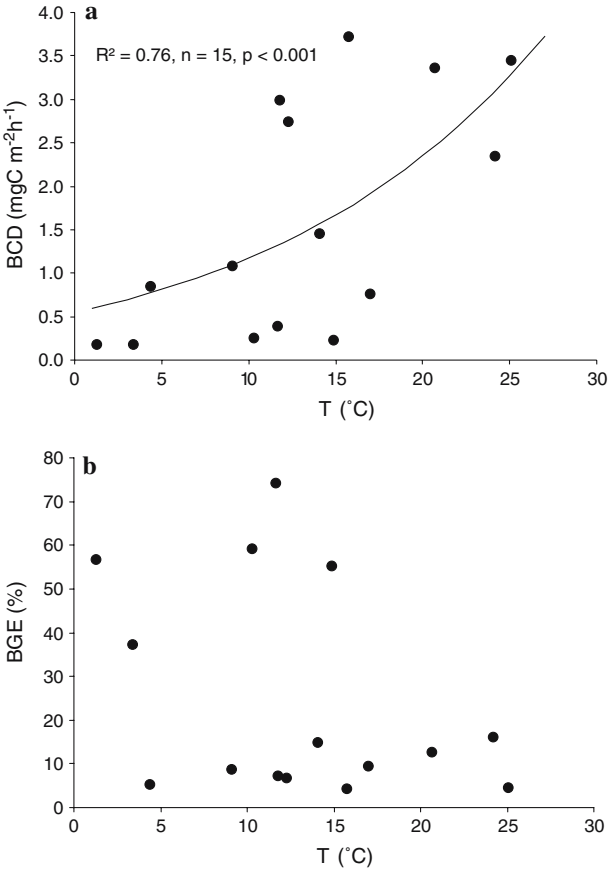


Fig. 10 Nonlinear regression **a** between bacterial carbon demand (*BCD*, in mgC m^{-2} h^{-1}) and temperature (°C), the R^2, number of couple values (*n*) and probability (*P*) were reported, and **b** between bacterial growth efficiency (*BGE*, in%) and temperature (°C), no correlation was observed

of BP have been widely investigated in oceans (Shiah et al. 2003) over the past decades since the proposal of the microbial loop concept (Azam et al. 1983). It is now recognized that dominant controlling mechanisms change within systems but also within seasons. In the present study, BP and BB were measured both in the Wimereux sandy beach during low tide and in coastal waters 2.2 km off Wimereux. Since these measurements were not assessed at the same time at the two sampling sites, direct comparison was limited. However, the general patterns showed that BP and BB were not primarily controlled by the same factors at the two sampling sites. In coastal waters BP and BB were most probably constrained by the *Phaeocystis* phytoplankton bloom occurring in spring (Becquevort et al. 1998). In the sandy beach, BP ($R^2 = 0.82$, $n = 15$, $P < 0.001$) and BB ($R^2 = 0.72$, $n = 22$, $P < 0.001$) were significantly correlated to temperature (Table 1) indicating that they were partly controlled by seasonal temperature changes. The effect of temperature on BCD was also evidenced in the present study. BCD and temperature were correlated (Fig. 10a) and a 10°C rise in temperature would increase twofold the carbon demand ($Q_{10} = 2.0$). However, the BGE was not correlated with temperature (Fig. 10b). The Q_{10} calculated were within the range of published Q_{10} values for metabolism temperature response curves (Davison 1991; Hubas et al. 2006). This suggests that the temperature significantly controlled bacterial metabolism during low tide at the annual scale but not the capacity of bacterial communities to re-distribute the fixed C toward upper trophic levels (i.e., the benthic BGE).

Influence of *Phaeocystis* foam deposit on benthic metabolism during low tide

BCR, BP and biomass (BB) were measured simultaneously on foam deposit and bare sediment in spring 2004 (Fig. 2). *Phaeocystis* foam deposits increased the BCR from 2 to 4 times. Indeed, the effect of the foam deposit on the benthic metabolism was studied before and always consisted in an increase of BCR (Spilmont et al. 2005). In the present study, the presence of foam increased the BCR from 0.9 to 2.4 mgC m^{-2} h^{-1} in May 2004 and from 0.7 to 2.8 mgC m^{-2} h^{-1} in June 2004. Benthic BP did not increase significantly on foam deposits. This suggested that when foam deposits occurred at the sediment surface, re-mineralization was preferred over the production of particulate (bacterial) carbon. However, since this conclusion is based on a relatively small sample size (only two *Phaeocystis* foam deposit sampling events) it was not possible to test the relative repeatability of the effect of foam on BP.

Nevertheless, even if the BGE is variable, the respiration is generally higher than the production in all aquatic environments (i.e., most of the time, average BGE is relatively low; for more details, see del Giorgio and Cole 1998). This study suggested that the response of the sediment bacterial community to an input of a detrital allochthonous source of carbon corresponded to a decrease of the BGE (from 9 to 4%, respectively in bare sediment and *Phaeocystis* foam deposit). However, it was not possible to determine if the measured rates were rather modified after the *Phaeocystis* foam deposit than influenced by rates associated to bacterial community deposited along with the foam.

BGE variability in bare sediment: a response to an input of allochthonous organic matter

Even if the decrease of BGE observed on foam deposits was not in the same range than the variability observed in bare sediments (BGE ranged from 4 to 74%), it indicates that the input of an allochthonous source of carbon could also probably explain the variability observed for BCR and subsequently for the BGE in bare sediments. Indeed, in subtidal sandy sediments, phytoplankton sedimentation can potentially contribute to the benthic Chl *a* biomass (Josefson and Hansen 2003; Ehrenhauss et al. 2004). This sedimentation also occurred in intertidal sandy sediments. In exposed sandy beaches, diatom populations move in a cycle between the sediment and the water surface and their productivity can be very high (Talbot et al. 1990; Little 2000). In the present study, high primary production rates recorded at air–sediment interface were characterized by high assimilation numbers (max: 7.6 mgC mgChla^{-1} h^{-1} on 14 April 2004, Fig. 7) whereas maximum assimilation numbers for benthic microalgae (i.e., microphytobenthos) were generally expected to be ≤1 mgC mgChla^{-1} h^{-1} (Migné et al. 2004, and references therein). Thus, during high tide, phytoplanktonic active cells were probably deposited into the sediment surface and partly degraded. During low tide, the phytoplankton cells trapped at the sediment surface were probably growing sub-optimally supporting the high primary production rates in bare sediment. This could explain the great BGE variability observed on bare sediments. In summer and autumn 2004, the mean BGE was very low and the variability was less important (from June to October, BGE was 9.8 ± 4.8%). During this period, the microalgae community was characterized by high assimilation numbers and the bacterial community showed high respiration rates (i.e., high BCR). This suggested that, when the phytoplankton cells are trapped at the sediment surface during emersion, the bacterial re-mineralization increase. It was thus supposed that the Wimereux sandy beach is naturally not productive during low tide but affected by the deposit of phytoplankton cells (both alive and detrital) increasing the primary production and the community respiration and decreasing the BGE. Consequently, little of the deposited C processed by bacterial communities would be available for higher trophic levels. When the beach is not supplied by these deposits and the bacterial communities affected by a relative scarcity of organic sources, the organic C would be mainly utilized for bacterial growth. However, when organic C was transported into the sediment, the re-mineralization was privileged by bacterial communities. Paradoxically, the trophic ecology of the system is probably rather supported by the autochthonous (i.e., microphytobenthos characterized by low assimilation numbers) primary production than by the allochthonous (i.e., phytoplankton cells trapped at the sediment surface characterized by high assimilation numbers) primary production. These results are thought to be extrapolated to any apparently ''unproductive'' megatidal permeable sediment submitted to the wave action and the input of pelagic deposits.

Acknowledgments The authors thank anonymous reviewers for improving the manuscript. This work was part of both a regional and a national program: the Contrat Plan Etat-Région (CPER) - Bloom de Phaeocystis supported by the Regional (Nord-Pas de Calais) Research Council and the FEDER, and the Programme National d'Environnement Côtier: Chantier PNEC - Manche Orientale - Sud Mer du Nord. C. Hubas benefited of a Ministry of Research and Technology (MRT) PhD grant and D. Lamy was supported by a Regional (Nord - Pas de Calais) Ph.D grant and the Agence de l'Eau Artois-Picardie (contract n° 03 13 00 70).

References

Accornero A, Picon P, de Bovée F (2002) Biogeochemical transformations of dissolved organic matter at the sediment–water interface: results from in situ incubations within benthic chambers. Oceanol Acta 25:171–178

Azam F, Fenchel T, Field JG, Gray JS, Meyer-Reil LA, Thingstad F (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. Mar Ecol Prog Ser 10:257–263

Becquevort S, Rousseau V, Lancelot C (1998) Major and comparable roles for free-living and attached bacteria in the degradation of Phaeocystis-derived organic matter in Belgian coastal waters of the North Sea. Aquat Microb Ecol 14:39–48

Bell RT (1993) Estimating production of peterotrophic bacterioplankton via incorporation of tritiated thymidine In: Kemp PF, Sherr BF, Sherr EB, Cole JJ (eds) Handbook of methods in aquatic microbial ecology. Lewis Publishers, Boca Raton, pp 495–503

Breton E, Brunet C, Sautour B, Brylinski J-M (2000) Annual variations of phytoplankton biomass in the eastern English channel: comparison by pigment signatures and microscopic counts. J Plankton Res 22:1423–1440

Caffrey JM, Harrington N, Solem I, Ward BB (2003) Biogeochemical processes in a small California estuary. 2. Nitrification activity, community and structure and role in nitrogen budgets. Mar Ecol Prog Ser 248:27–40

Cherrier J, Bauer JE (2004) Bacterial utilization of transient plankton-derived dissolved organic carbon and nitrogen inputs in surface ocean waters. Aquat Microb Ecol 35:229–241

Chevaldonné P, Godfroy A (1997) Enumeration of microorganisms from deep-sea hydrothermal chimney samples. FEMS Microbiol Lett 146:211–216

Cho CB, Azam F (1990) Biogeochemical significance of bacterial biomass in the ocean's eutrophic zone. Mar Ecol Prog Ser 63:253–259

Cole JJ (1999) Aquatic microbiology for ecosystem scientists: new and recycled paradigms in ecological microbiology. Ecosystems 2:215–225

Cornello M, Boscolo R, Giovanardi O (2005) Do mucous aggregates affect macro-zoobenthic community and mussel culture? A study in a coastal area of the Northwestern Adriatic Sea. Sci Total Environ 353:329–339

Davison IR (1991) Environmental effects on alga photosynthesis: temperature. J Phycol 27:2–8

del Giorgio PA, Cole JJ (1998) Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. Annu Rev Ecol Syst 29:503–541

del Giorgio PA, Williams PJ (2005) Respiration in aquatic ecosystems. Oxford University Press, Oxford

Delmas D, Frikha MG, Reymond H, Linley EAS, Collos Y (1992) Long term microbial community dynamics in a coastal marine pond. Mar Microb Food Webs 6:39–54

Desroy N, Denis L (2004) Influence of spring phytodetritus sedimentation on intertidal macrozoobenthos in the eastern English Channel. Mar Ecol Prog Ser 270:41–53

dos Santos Furtado AL, Casper P (2000) Different methods for extracting bacteria from freshwater sediment and a simple method to measure bacterial production in sediment samples. J Microbiol Methods 41:249–257

Ducklow HW (1999) The bacterial content of the ocean euphotic zone. FEMS Microbiol Ecol 30:1–10

Dye AH (1981) A study of benthic oxygen consumption on exposed sandy beaches. Estuar Coastal Shelf Sci 13:671–680

Ehrenhauss S, Witte U, Bühring SI, Huettel M (2004) Effect of advective pore water transport on distribution and degradation of diatoms in permeable North Sea sediments. Mar Ecol Prog Ser 271:99–111

Fuhrman JA, Azam F (1982) Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: evaluation and field results. Mar Biol 66:109–120

Garet MJ, Moriarty DJW (1996) Acid extraction of tritium label from bacterial DNA in clay sediment. J Microbiol Methods 25:1–4

Gentilhomme V, Lizon F (1998) Seasonal cycle of nitrogen and phytoplankton biomass in a well-mixed coastal system (Eastern English Channel). Hydrobiologia 361:191–199

Hamels I, Muylaert K, Casteleyn G, Vyverman W (2001) Uncoupling of bacterial production and flagellate grazing in aquatic sediments: a case study from an intertidal flat. Aquat Microb Ecol 25:31–42

Hancke K, Glud RN (2004) Temperature effects on respiration and photosynthesis in three diatom-dominated benthic communities. Aquat Microb Ecol 37:265–281

Hogan ME, Ward BB (1998) Response of a marine sediment microbial community exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Microb Ecol 35:72–82

Hubas C, Davoult D, Cariou T, Artigas LF (2006) Factors controlling benthic metabolism during low tide along a granulometric gradient in an intertidal bay (Roscoff Aber Bay, France). Mar Ecol Prog Ser 316:53–68

Jahnke RA, Craven DB (1995) Quantifying the role of heterotrophic bacteria in the carbon cycle: a need for respiration rate measurements. Limnol Oceanogr 40:436–441

Josefson AB, Forbes TL, Rosenberg R (2002) Fate of phytodetritus in marine sediments: functional importance of macrofaunal community. Mar Ecol Prog Ser 230:71–85

Josefson AB, Hansen JLS (2003) Quantifying plant pigments and live diatoms in aphotic sediments of Scandinavian coastal waters confirms a major route in the pelagic–benthic coupling. Mar Biol 142:649–658

Kormas KA (2005) Bacterioplankton growth on extracellular organic carbon from marine microalgal cultures. Cah Biol Mar 46:241–251

Kormas KA, Papaspyrou S (2004) Growth of marine bacterioplankton on river and seawater dissolver organic carbon in a Mediterranean coastal system. Cah Biol Mar 45:55–64

Lancelot C (1995) The mucilage phenomenon in the continental coastal waters of the North Sea. Sc Total Environ 165:83–102

Lee SH, Fuhrman L (1987) Relationship between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton. Appl Environ Microbiol 53:1298–1303

Little C (2000) The biology of soft shores and estuaries. Oxford University Press, Oxford, p 252

Lizon F, Seuront L, Lagadeuc Y (1998) Photoadaptation and primary production study in a tidally-mixed coastal waters using a lagrangian model. Mar Ecol Prog Ser 169:43–54

Lorenzen CJ (1966) A method for the continuous measurment of *in vivo* chlorophyll concentration. Deep Sea Res 13:223–227

Manini E, Fiordelmondo C, Gambi C, Pusceddu A, Danovaro R (2003) Benthic microbial loop functioning in coastal lagoons: a comparative approach. Oceanol Acta 26:27–38

Middelburg JJ, Barranguet C, Boschker HTS, Herman PMJ, Moens T, Heip CHR (2000) The fate of intertidal microphytobenthos carbon: an in situ ^{13}C-labeling study. Limnol Oceanogr 45:1224–1234

Migné A, Davoult D, Spilmont N, Menu D, Boucher G, Gattuso J-P, Rybarczyk H (2002) A closed-chamber CO_2-flux method for estimating intertidal primary production and respiration under emersed conditions. Mar Biol 140:865–869

Migné A, Spilmont N, Davoult D (2004) In situ measurements of benthic primary production during emersion: seasonal variations and annual production in the Bay of Somme (eastern English Channel, France). Cont Shelf Res 24:1437–1449

Moriarty DJW (1986) Measurement of bacterial growth rates and production of biomass in aquatic environments. In: Grogorova R, Norris JR (eds) Methods in microbiology. Academic, Boca Raton pp 211–234

Occhipinti-Ambrogi A, Savini D, Forni G (2005) Macrobenthos community structural changes off Cesenatico coast (Emilia Romagna, Northern Adriatic), a six-year monitoring programme. Sci Total Environ 353:317–328

Piepenburg D, Blackburn TH, von Dorrien CF, Gutt J, Hall POJ, Hulth S, Kendall MA, Opalinski KW, Rachor E, Schmid MK (1995) Partitioning of benthic community respiration in the Arctic (northwestern Barents Sea). Mar Ecol Prog Ser 118:199–213

Porter KG, Feig YS (1980) The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. Limnol Oceanogr 25:943–948

Raghukumar C, Loka Bharathi PA, Ansari ZA, Nair S, Ingole B, Sheelu G, Mohandass C, Nagender Nath B, Rodrigues N (2001) Bacterial standing stock, meiofauna and sediment-nutrient characteristics: indicators of benthic disturbance in the Central Indian Bassin. Deep Sea Res Part II 48:3381–3399

Roland F, Cole JJ (1999) Regulation of bacterial growth efficiency in a large tubid estuary. Aquat Microb Ecol 20:31–38

Schwinghamer P, Hargrave B, Peer D, Hawkins CM (1986) Partitioning of production and respiration among size groups of organisms in an intertidal benthic community. Mar Ecol Prog Ser 31:131–142

Shiah F-K, Gong G-C, Chen C-C (2003) Seasonal and spatial variation of bacterial production in the continental shelf of the East China Sea: possible controlling mechanisms and potential roles in carbon cycling. Deep Sea Res Part II 50:1295–1309

Spilmont N (2004) Metabolisme benthique intertidal en milieu marin et estuarien: mesures in situ de la production et de la respiration, variabilité spatio-temporelle et bilans, Calais (France)

Spilmont N, Migné A, Lefebvre A, Artigas LF, Rauch M, Davoult D (2005) Temporal variability of intertidal benthic metabolism under emersed conditions in an exposed sandy beach (Wimereux, eastern English Channel, France). J Sea Res 53:161–167

Strickland JDH, Parsons TR (1972) A practical hanbook of seawater analysis. Bull Fish Res Bd Can 167:311

Sundbäck K, Nilsson P, Nilsson C, Jönsson B (1996) Balance between autotrophic and heterotrophic components and processes in microbenthic communities of sandy sediments: a field study. Estuar Coastal Shelf Sci 43:689–706

Talbot MMB, Bate GC, Campbell EE (1990) A review of the ecology of surf-zone diatoms, with special reference to *Anaulus australis*. Oceanogr Mar Biol: Annu Rev 28:155–175

van Duyl FC, de Winder B, Kop AJ, Wollenzien U (1999) Tidal coupling between carbohydrate concentrations and bacterial activities in diatom-inhabited intertidal mudflats. Mar Ecol Prog Ser 191:19–32

van Duyl FC, de Winder B, Kop AJ, Wollenzien U (2000) Consequences of diatom mat erosion for carbohydrate concentrations and heterotrophic bacterial activities in intertidal sediments of the Ems-Dollard estuary. Cont Shelf Res 20:1335–1349

van Es FB (1982) Community metabolism of intertidal flats in the Ems-Dollard Estuary. Mar Biol 66:95–108

Yentsch CS, Menzel DW (1963) A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. Deep Sea Res 10:221–231

DYNAMIQUE BACTERIENNE EN MANCHE ORIENTALE - RELATIONS AVEC LES POUSSEES DE *PHAEOCYSTIS GLOBOSA*.

Ce travail porte sur la dynamique bactérienne (abondances totale, vivante et active, productions de cellules et de biomasse, activités de dégradation exo-enzymatique) en Manche orientale, depuis une approche écosystémique à l'application d'outils microbiens spécifiques. Il permet de mieux comprendre le rôle des bactéries, jusqu'alors peu étudiées en Manche orientale, dans les flux de matière et d'énergie, particulièrement en période de floraison printanière.

Le premier objectif consistait à déterminer la réponse du bactérioplancton à la variabilité spatio-temporelle du milieu, à l'échelle (i) de l'écosystème au cours de deux années consécutives (2003/2004), (ii) saisonnière sur le site de Wimereux et (iii) journalière au cours de suivis Lagrangiens de masse d'eau. Cette étude montre que les années 2003 et 2004 ont été très différentes en termes de fonctionnement trophique du réseau microbien. Par ailleurs, la diversité des paramètres de contrôle de la dynamique bactérienne (température, disponibilité en matières organiques, pression de prédation) conditionne son caractère saisonnier. Sur un cycle journalier, l'application de deux méthodes de mesure de la production a permis une analyse plus précise et plus fine des conditions de croissance bactérienne.

Afin d'évaluer le rôle trophique du bactérioplancton, particulièrement lors des blooms massifs de *Phaeocystis globosa*, les fractions cellulaires viables et actives du pool bactérien, responsables de l'activité mesurée, ont été estimées. Les abondances de ces cellules augmentent significativement en réponse aux matières organiques accumulées pendant et après le bloom phytoplanctonique. Des mesures d'activité exo-enzymatique montrent une dégradation bactérienne significative des matières issues du bloom, et soulignent l'existence d'une étroite relation « trophique » entre bactéries et *P. globosa*.

Mots clefs : Bactérioplancton - *Phaeocystis globosa* - Variabilité spatio-temporelle - Production bactérienne hétérotrophe - Viabilité - Activités exo-enzymatiques - Manche orientale.

BACTERIAL DYNAMICS IN THE EASTERN ENGLISH CHANNEL – RELATIONS WITH *PHAEOCYSTIS GLOBOSA* BLOOMS.

Bacterial dynamics (total, viable and active abundances, biomass and cell production, exo-enzymatic activities) was estimated in the eastern English Channel, from an ecosystemic approach to the use of specific microbial tools. It allows better understanding the role of heterotrophic bacteria, little studied in the eastern English Channel to date, in matter and energy fluxes, specially during phytoplankton bloom.

The first aim was to determine the bacterial response to the space and time variability of the environmental conditions, at (i) the ecosystem scale during two consecutive years (2003/2004), (ii) the seasonal scale in Wimereux location and (iii) at the diurnal scale during Lagrangian drifts. This study highlights two different years in terms of microbial food web functioning. In addition, the diversity of factors controlling the bacterial dynamics (temperature, organic matter availability, grazing pressure) governs its seasonality. During a diurnal cycle, the use of two bacterial production methods allowed a more accurate and finer analyse of bacterial processes.

In order to estimate the trophic role of bacterioplankton, particularly during the massive *Phaeocystis globosa* blooms, estimations of the bacterial viable and active cellular fractions, responsible for the bulk of bacterial activities, were made. Bacterial abundance significantly increased in response to organic matter accumulation during and after the bloom. Exo-enzymatic activities highlighted a significant bacterial degradation of the phytoplankton-derived organic matter, and emphasized the strong "trophic" relation linking bacteria and *P. globosa*.

Key words: Bacterioplankton - *Phaeocystis globosa* - Spatio-temporal variability - Bacterial heterotrophic production - Viability - Exoenzymatic activities - Eastern English Channel.