



Dynamique spatiale et temporelle de la production primaire de l'estuaire de la Seine

Jerome Morelle

► To cite this version:

Jerome Morelle. Dynamique spatiale et temporelle de la production primaire de l'estuaire de la Seine. Biodiversité. Normandie Université, 2017. Français. NNT : 2017NORMC252 . tel-01729055

HAL Id: tel-01729055

<https://theses.hal.science/tel-01729055>

Submitted on 12 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Normandie Université

THESE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité Physiologie et biologie des organismes - populations – interactions

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

Dynamique Spatiale et temporelle de la production primaire dans l'estuaire de Seine

**Présentée et soutenue par
Jérôme MORELLE**

**Thèse soutenue publiquement le 30 novembre 2017
devant le jury composé de**

M. Rodney FORSTER	Reader and Director-Designate, University of Hull, Hull. United Kingdom.	Rapporteur
M. Patrick MEIRE	Professeur, Université d'Anvers, Belgique.	Rapporteur
Mme Yolanda DEL AMO	Maître de Conférences, Université de Bordeaux, France.	Examinatrice
Mme Aude LEYNAERT	Chargé de recherche CNRS. IFREMER, Plouzané, France.	Examinatrice
M. Jean-Marc LEBEL	Professeur des universités, Université de Caen Normandie, France.	Examineur
Mme Mathilde SCHAPIRA	Responsable d'étude en environnement littoral. IFREMER, Nantes, France.	Examinatrice
M. Pascal CLAQUIN	Professeur des universités, Université de Caen Normandie, France.	Directeur de thèse

Thèse dirigée par Pascal CLAQUIN, laboratoire BOREA CAEN

M. Francis ORVAIN	Maître de conférences, HDR, Université de Caen Normandie, France.	Invité



UNIVERSITÉ
CAEN
NORMANDIE





Normandie Université

THESE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité Physiologie et biologie des organismes - populations – interactions

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

Dynamique Spatiale et temporelle de la production primaire dans l'estuaire de Seine

**Présentée et soutenue par
Jérôme MORELLE**

**Thèse soutenue publiquement le 30 novembre 2017
devant le jury composé de**

M. Rodney FORSTER	Reader and Director-Designate, University of Hull, Hull. United Kingdom.	Rapporteur
M. Patrick MEIRE	Professeur, Université d'Anvers, Belgique.	Rapporteur
Mme Yolanda DEL AMO	Maître de Conférences, Université de Bordeaux, France.	Examinatrice
Mme Aude LEYNAERT	Chargé de recherche CNRS. IFREMER, Plouzané, France.	Examinatrice
M. Jean-Marc LEBEL	Professeur des universités, Université de Caen Normandie, France.	Examineur
Mme Mathilde SCHAPIRA	Responsable d'étude en environnement littoral. IFREMER, Nantes, France.	Examinatrice
M. Pascal CLAQUIN	Professeur des universités, Université de Caen Normandie, France.	Directeur de thèse

Thèse dirigée par Pascal CLAQUIN, laboratoire BOREA CAEN

M. Francis ORVAIN	Maître de conférences, HDR, Université de Caen Normandie, France.	Invité



UNIVERSITÉ
CAEN
NORMANDIE



Préambule



Ce travail a été réalisé dans le cadre du projet GIP SA 5 - PROUESSE

« PROdUction primaire dans l'ESTuaire de Seine »

Coordonné par Pascal Claquin (BOREA-UNICAEN).

En collaboration avec l'IFREMER - LERN (Mathilde Schapira) et le MNHN (Pascal Jean LOPEZ)

En interaction étroite avec le projet GIP SA 5 - BARBES

« Biological Association in Relation with sediment transport: development of a new model of Bioturbation caused by ecosystem Engineers in Seine estuary »

Coordonné par Francis Orvain (BOREA – UNICAEN)



Table des matières

Préambule.....	2
Remerciements	10
Liste des abréviations	14
 PARTIE 1 : INTRODUCTION GENERALE	 16
1. La production primaire, un processus clé.....	18
2. Méthodes d'estimations de la production primaire aquatique	21
3. Facteurs de régulation de la production primaire	24
4. Diversité et capacité de production	30
5. Excrétion d'exopolysaccharides : rôle et importance.....	32
6. La production primaire dans les estuaires	35
7. L'estuaire de Seine	46
8. Problématique et objectifs	52
 PARTIE 2 : MATERIEL ET METHODES	 56
A. Etudes in situ.....	58
1. Site d'étude.....	58
2. Compartiment phytoplanctonique	58
3. Compartiment microphytobenthique.....	70
B. Etude en laboratoire	76
 PARTIE 3 : DYNAMIQUE DE LA PRODUCTION PRIMAIRE PHYTOPLANCTONIQUE	 80
 Electron requirements for carbon incorporation along diel light cycle in three marine diatom species	 82
1. Introduction	83
2. Methods	85
3. Results	89
4. Discussion	95
4.1. Physiological responses to the light regime	95
4.2. Dynamics of $\phi_{e,C}$	96

Annual phytoplankton primary production estimation in a temperate estuary by coupling PAM and carbon incorporation methods	100
1. Introduction	101
2. Methods	102
3. Results	109
4. Discussion	120
4.1. Phytoplankton biomass and the dynamics of photosynthetic parameters	120
4.2. Carbon and ETR relationship	121
4.3. Phytoplankton primary production along the Seine Estuary.....	122
4.4. Estimation of annual phytoplankton primary production in the Seine estuary	123
5. Conclusion.....	124
 PARTIE 4 : DYNAMIQUE DES EXOPOLYSACCHARIDES EN ESTUAIRE	130
 Dynamics of phytoplankton productivity and exopolysaccharides (EPS and TEP) pools in the Seine Estuary (France, Normandy) over tidal cycles and over two contrasting seasons	132
1. Introduction	133
2. Methods	135
3. Results	141
4. Discussion	150
4.1. Dynamics of biological parameters in the Seine estuary in relation with environmental parameters	150
4.2. Dynamics of EPS in the Seine estuary in relation with environmental parameters	152
4.3. Dynamics of EPS in the Seine estuary in relation with biological parameters	154
4.4. Potential contribution of allochthonous primary producers to the S-EPS pool	155
5. Conclusion.....	156
 Dynamics of TEP and EPS pools and phytoplankton community structure along the salinity gradient of a temperate estuary (Seine, France)	164
1. Introduction	165
2. Methods	166
3. Results	171
4. Discussion	177
4.1. Phytoplankton taxonomic composition and spatial and temporal dynamics ...	177
4.2. TEP dynamics and distribution in relation with biological, physical and chemical processes	180

4.3. EPS dynamics and distribution in relation with biological, physical and chemical processes	181
5. Conclusion.....	182
 PARTIE 5 : DYNAMIQUE DE LA PRODUCTION PRIMAIRE MICROPHYTOBENTHIQUE.....	 184
 Improvement of PAM fluorescence data analysis for microphytobenthos by integrating light attenuation induced by sediment grain-size and vertical distribution of microalgal biomass	186
1. Introduction	187
2. Materials and methods	192
3. Results	201
4. Discussion	205
 Microphytobenthic primary production estimation in heterogeneous mudflats of an anthropized estuary (Seine estuary, France).	210
1. Introduction	211
2. Materials and methods	213
3. Results	220
4. Discussion	229
4.1. Photoacclimation strategies.....	229
4.2. Influence of biological and environmental parameters	232
4.3. Microphytobenthic primary production in the Seine Estuary	233
5. Conclusion.....	234
 PARTIE 6 : SYNTHÈSE GÉNÉRALE, DISCUSSION ET PERSPECTIVES.....	238
1. Dynamique des paramètres environnementaux.....	240
2. Dynamique des communautés.....	242
3. Dynamique des paramètres photosynthétiques	249
4. Dynamique de la production primaire.....	255
5. Dynamique des excréments d'exopolysaccharides	258
6. Comparaison inter-estuarienne.....	268
7. Limites et perspectives de l'étude	270
 REFERENCES.....	276

Liste des figures	314
Liste des tableaux	325
Liste des communications	330

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier Pascal Claquin, mon directeur de thèse, pour m'avoir encadré pendant mon cursus de Master, pour m'avoir épaulé quand j'étais loin et bien entendu pour m'avoir permis d'obtenir cette thèse et encadré lors de ce travail. Un travail rempli d'interactions, de discussions scientifiques, de sport, de repas et d'échanges autour de quelques désaltérants. Merci d'avoir toujours fait attention à la direction que je prenais dans mes travaux. Merci pour ta bonne humeur et pour ta patience. Merci pour cette facilité que tu as laissée aux échanges, peu importe le sujet. Merci pour le temps, jour et nuit, que tu as passé à travailler pour les études que contient ce manuscrit. Merci pour ton amitié, merci pour tout !

Merci à Francis Orvain pour m'avoir encadré sur la partie microphytobenthique, pour le temps que tu as accordé à mon travail, pour l'aide et l'apprentissage que tu m'as fourni. Mais surtout merci pour ton amitié. Merci pour ces bons moments passés ensemble ici ou ailleurs, sur une vasière ou sous un cocotier. Merci d'avoir toujours été là, peu importe pourquoi.

Merci à Mathilde Schapira pour ton encadrement, pour ta sympathie, pour ton écoute et pour tes conseils. Merci également pour le temps que tu as passé sur ce manuscrit mais également sur l'eau ou en laboratoire.

Surtout merci à vous trois pour la confiance que vous m'avez accordée dans la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier Rodney Forster et Patrick Meire pour avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse ainsi que Yolanda Del Amo, Aude Leynaert et Jean Marc Lebel pour avoir accepté d'être examinateurs.

Merci à Pascal Sourdain et Sylvie Dufour, co-directeurs de l'UMR BOREA pour m'avoir accueilli au sein de cette unité et pour l'ensemble des journées passées ensemble. Merci Pascal pour ta bonne humeur au sein du laboratoire de Caen et pour ton écoute lors de nos échanges.

Merci à l'ensemble des acteurs du GIP Seine-Aval pour m'avoir permis de réaliser ce travail. Je remercie tout particulièrement Nicolas Bacq pour ton écoute, ta sympathie, tes conseils et ta disponibilité. Merci à Jean Philippe Lemoine pour tout ce que tu as apporté à ce manuscrit, autant en terme de données, que de disponibilité et de gentillesse. Merci à Barbara Leroy pour les données que tu m'as permis d'obtenir, pour cette remontée de la Seine et pour ta bonne humeur. Merci à Pierre Le Hir pour ses suggestions plus que constructives.

Merci à toute l'équipe de l'Ifremer qui a participé à ce projet. Merci Franck Maheux, Olivier Pierre-Duplessix et Benjamin Simon pour les sorties en mer, pour votre professionnalisme et pour votre gentillesse. Merci à Philippe Riou pour ton enthousiasme, ta sympathie et les moments que tu as accordés à cette étude. Merci également à Emilie Rabillet, Françoise Sylvaine et Courtney Gaëlle pour votre participation aux analyses de ce projet.

Merci à Pascal Jean Lopez, pour ta gentillesse, ton accueil toujours chaleureux, pour ton travail dans cette étude, pour tes conseils et pour cette semaine passée sur le PlanetSolar, dont je remercie l'équipage pour son accueil et sa sympathie.

Merci aux équipes de la maison de l'estuaire et de la cellule du littoral pour les sorties réalisées sur les zones intertidales de l'estuaire. Merci tout particulièrement à Thomas Lecarpentier pour ta joie de vivre, ton investissement et ces moments passés ensemble.

Merci aux deux équipages du « Côtes de la Manche » pour ces semaines passées à bord et pour votre travail lors des échantillonnages. Merci à Romaric Verney et Arnaud Huguet de m'avoir permis d'intégrer vos campagnes sur ce navire pour mes propres recherches. Merci à Matthias Jacquet pour son travail, ses données et sa disponibilité.

Merci à Guillaume Izabel pour son investissement dans cette thèse, merci pour ta bonne humeur et la qualité du travail que tu as réalisé pour ce manuscrit.

Merci à Christophe Roger pour ta bonne humeur permanente et ta motivation à toute épreuve lors des sorties.

Merci aux différents stagiaires que j'ai encadré, de près ou de loin, et qui m'ont aidé dans l'analyse et le traitement des échantillons. Tout particulièrement Matthieu Filoche, Claire Josso, Brenda Hervieux, Steeven Israël, Marine Paris et Fanny Pappelard, pour la qualité de leur travail.

Merci aux personnes du laboratoire de Caen, professeurs, maîtres de conférence, stagiaires, doctorants et techniciens qui m'ont à un moment ou à un autre permis de me sentir bien. Merci à toute l'équipe de la station marine du Crec pour votre bonne humeur et cette ambiance chaleureuse. Merci tout particulièrement à Natacha Delwarde, Aurore Sauvey, Julie Schwartz, Laura Gribouval et Stéphanie Lemesle pour votre dynamisme, votre sympathie, votre soutien et votre humour. Merci à Myriam Tayou et Catherine Eudes pour votre travail et votre bonne humeur. Merci Mabel pour ta participation dynamique à ce travail.

Merci à mes amis, je ne pourrais les citer tous mais merci Mélanie, Tancrède, Jules, Adrien, Simon et Lucien pour me faire rêver en dehors du travail. Merci Clélia, Maxime, Solène, Clément (Véro !), Juliette et Miguel pour votre présence permanente même de loin. Merci Jean-Pierre et Gérard, sans vous je ne serais pas là. Merci Esteban, tu auras été la dernière personne à m'avoir vu avant ce rendu. Merci Ezra, tu auras tout de même passé pratiquement deux ans à supporter mon caractère. Merci Jet.

Merci à ma famille. Merci ma petite maman pour m'avoir élevé et aimé, pour m'avoir toujours porté sur le chemin de la réussite. Pour être là, dans les meilleurs comme dans les pires moments. D'être toujours disponible, à n'importe quelle heure du jour et de la nuit. Merci pour nos échanges, nos weekends et nos p'tites clopes téléphoniques. Merci d'être toi, je t'aime.

Merci à ma jumelle Lulu et à mon bof Clément, très ironiquement pour vous être marié 42 jours avant le rendu de ce manuscrit, et très sincèrement pour tout le reste, votre bonne humeur, votre disponibilité, votre générosité, votre gentillesse, tous les bons moments passés ensemble et pour vos corrections, je sais que ce n'était pas facile.

Mes pensées en ce jour se dirigent forcément vers toi Esam Ewad, merci pour ta gentillesse, pour nos discussions et pour ta participation dans ce projet. Repose en paix.

Liste des abréviations

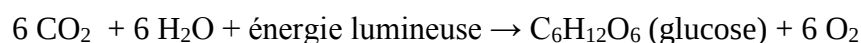
α	Efficacité photosynthétique
σ_{PSII}	Section d'absorption fonctionnelle du PSII
$\phi_{e.C.}$	Moles d'électrons nécessaires à la fixation d'une mole de carbone
^{13}C	Carbone 13
a^*	Section d'absorption spécifique de la chl a
B-EPS	Substances exopolymériques liées
Chl a	Chlorophylle a
DIN	azote inorganique dissous
E (ou I)	Irradiance
EPS	Substances exopolymériques
(r)ETR(max)	Taux (relatif) (maximum) de transport des électrons au niveau du PSII
ETR*	ETR calculé avec a^*
ETR(II)	ETR calculé avec σ_{PSII}
F_0	Fluorescence minimale
F_M	Fluorescence maximale
F_S	Fluorescence stable
F_V/F_M ou Y(II)	Rendement quantique maximal du PSII
Geq	Equivalent glucose
MES (SPM in English)	Matière en suspension
MTZ	Zone de turbidité maximale
P	Phosphore
P^{chl} ou P_{obs}	Taux de fixation du carbone par unité de chl a
PAM	Pulse Amplitude Modulated
PSI ou PSII	Photosystème I ou II
Q_A ou Q_B	Quinone A ou B
q_n ou NPQ	Quenching non-photochimique
q_p	Quenching photochimique
S-EPS	Substances exopolymériques solubles
Si	Silicium
TEP	Particules exopolymériques transparentes
WSI	Interface eau/sédiment
XGeq	équivalent en Gomme de Xanthane

PARTIE 1 : INTRODUCTION GENERALE

1. La production primaire, un processus clé

La production primaire représente le stock de carbone organique produit par unité de temps et de surface, suite à la fixation du carbone inorganique (dioxyde de carbone, CO₂) via la photosynthèse (Falkowski and Raven 2007b).

La photosynthèse est un processus bioénergétique qui permet aux photoautotrophes de synthétiser de la matière organique en utilisant l'énergie lumineuse. Deux types de photosynthèse peuvent être distingués : l'une oxygénique et l'autre anoxygénique. La photosynthèse anoxygénique, qui ne sera pas abordée dans ce manuscrit, est réalisée par différents types de bactéries anaérobies comme les bactéries pourpres qui oxydent le sulfure d'hydrogène en soufre. La photosynthèse oxygénique est apparue chez les cyanobactéries il y a 3 milliards d'années (Karl 2002), puis a été acquise par certains groupes eucaryotes suite à des endosymbioses successives (Bhattacharya *et al.* 2004). La photosynthèse oxygénique nécessite la coopération de deux photosystèmes (PS), nommés PSII et PSI que l'on trouve dans les membranes des thylakoïdes (Schubert *et al.* 1998). Chez les eucaryotes photosynthétiques, les thylakoïdes sont localisés au sein des chloroplastes, organites cellulaires nés de l'endosymbiose, ceinturés de deux, trois ou quatre membranes en fonction des lignées et du degré d'endosymbiose (primaire, secondaire ou tertiaire). La membrane des thylakoïdes est le support de complexes protéiques membranaires et des pigments (chlorophylles, caroténoïdes) qui composent l'appareil photosynthétique. La photosynthèse se déroule en deux phases. Lors de la première phase dite « claire », l'énergie lumineuse est utilisée pour scinder les molécules d'eau (H₂O) en oxygène (O₂), en protons (H⁺) et en électrons (e⁻) au niveau du PSII (Fig. 1). Les H⁺ sont utilisés dans la formation d'une coenzyme qui stocke l'énergie chimique, l'ATP (Adénosine triphosphate), alors que les e⁻ parcourent une chaîne de transfert entre les photosystèmes I et II aboutissant à la production d'une coenzyme réductrice, le NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit). Lors de la seconde phase, dite « sombre », ces coenzymes sont alors utilisées pour l'absorption et la réduction du carbone. L'aboutissement de ces deux étapes est la transformation du CO₂ en glucose, indispensable à la formation d'autres molécules organiques. Le principe de la photosynthèse oxygénique peut ainsi être exprimé par l'équation suivante :



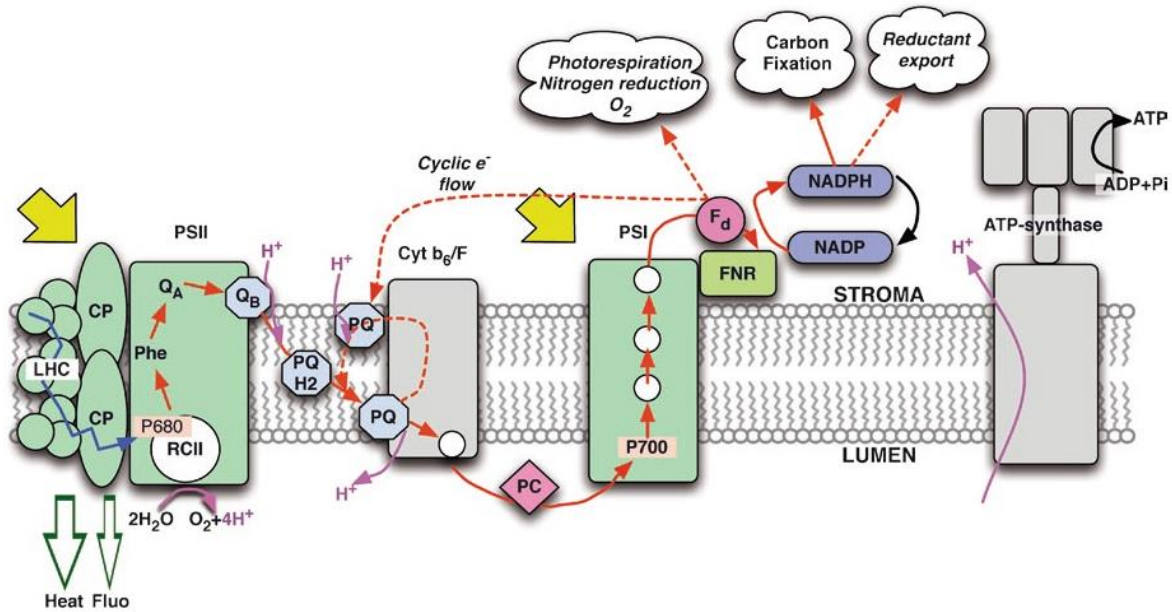


Figure 1. Représentation schématique de la section transversale d'une membrane photosynthétique (i.e. thylakoïde) montrant l'orientation et certains des principaux composants de l'appareil photosynthétique. Le transport des électrons (e^-) est indiqué par des flèches rouges et le transport des protons (H^+) par les flèches violettes. Les électrons, extraits de l'eau dans le photosystème II (PSII), sont transférés au cytochrome b_6/f (Cyt b_6/f) et de là, via la plastocyanine (PC) au photosystème I (PSI), où ils sont utilisés pour réduire NADP en NADPH. **Abréviation :** LHC, antenne collectrice de la lumière (flèches jaunes) ; RCII : centre réactionnel de la molécule de chlorophylle a du PSII (P680) et du PSI (P700) ; Pheo, une molécule de phéophytine a ; Q_A et Q_B , des quinones liées ; PQ, des plastoquinones libres ; F_d , ferrédoxine ; FNR, ferrédoxine/NADP réductase ; P_i , phosphate inorganique.

Cette synthèse de molécule organique via la fixation de CO_2 par les organismes photosynthétiques, représente la source du carbone organique principale pour les organismes hétérotrophes et place ces organismes autotrophes, à la base des réseaux trophiques. La production primaire est donc un processus clé, dont une connaissance approfondie est indispensable à la compréhension, l'appréhension ainsi qu'au suivi du fonctionnement trophique et des écosystèmes.

Dans les écosystèmes aquatiques, les producteurs primaires réalisant la photosynthèse oxygénique sont représentés par des organismes multicellulaires tels que les angiospermes ou les macroalgues, et des organismes unicellulaires, procaryotes (i.e. les cyanobactéries) et eucaryotes (i.e. les microalgues). Il est important de noter que le terme « algue » n'a aucune réalité phylogénétique et que ce terme regroupe l'ensemble des organismes photosynthétiques eucaryotes qui ont un appareil végétatif rudimentaire (thalle) ayant un besoin absolu d'eau pour réaliser leur cycle de vie. Les algues sont ainsi taxonomiquement très diversifiées et ont des représentants au sein de nombreuses lignées eucaryotes (Fig. 2). Les organismes photosynthétiques unicellulaires (cyanobactéries et microalgues) peuvent être pélagiques et former le phytoplancton ou benthiques et former le microphytobenthos. (Helbling and Villafañe

2009). Bien que le rôle du microphytobenthos ait été longtemps ignoré, l'importance de ce compartiment a été amplement mise en évidence dans les zones néritiques. Il apparaîtrait que, tout comme le phytoplancton, 90% de la production primaire réalisée par le microphytobenthos est consommée et soutient les réseaux trophiques (Cloern *et al.* 2014) contre seulement 24 à 44% pour celle des macrophytes (Underwood and Kromkamp 1999; Geider *et al.* 2001; Cloern *et al.* 2014). Ainsi, au sein des écosystèmes aquatiques les producteurs primaires produisent un stock de carbone organique qui supporte l'ensemble des réseaux trophiques incluant les compartiments trophiques supérieurs d'intérêt commercial. En effet, la croissance des poissons ainsi que les activités de pêche ou d'aquaculture sont étroitement corrélés à la biomasse et à la production des organismes autotrophes (Nixon 1988; Caddy 2000; Nixon and Buckley 2002). Compte tenu de l'incertitude concernant la réponse des écosystèmes face à l'inévitable augmentation des pressions anthropiques et du changement climatique (Folke *et al.* 2002), il apparaît aujourd'hui indispensable d'améliorer notre compréhension des processus régulant la production primaire.

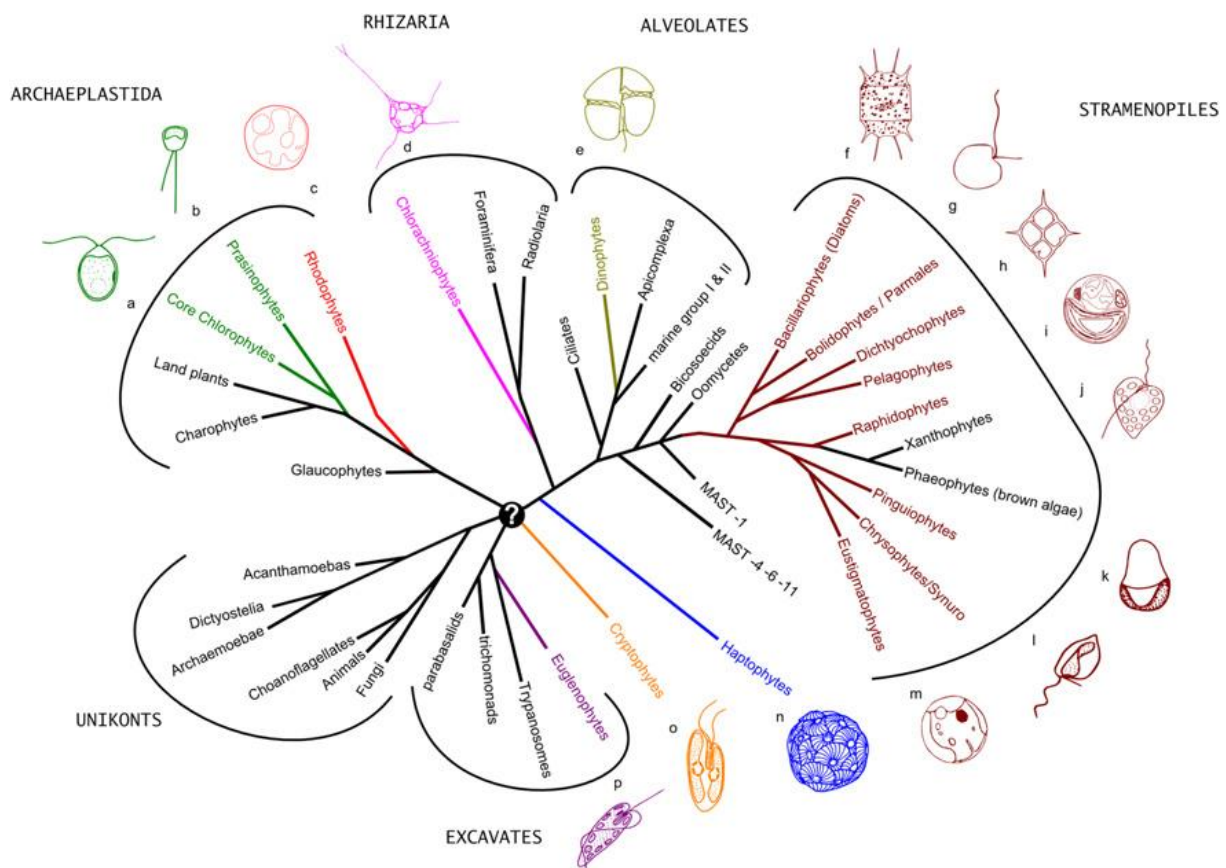


Figure 2. Arbre phylogénétique représentant la distribution des taxa de microalgues au sein des lignées eucaryotes. Illustrations : (a) Chlorophyceae, (b) *Pseudoscurfieldia* sp., (c) *Porphyridium cruentum*, (d) *Gymnochlora dimorpha*, (e) Dinoflagellés, (f) *Odontella* sp., (g) *Bolidomonas pacifica*, (h) *Dictyocha* sp., (i) *Aureococcus anophagefferens*, (j) *Heterosigma akashiwa*, (k) *Pinguiochrysis pyriformis*, (l) *Ochromonas* sp., (m) *Nannochloropsis salina*, (n) *Calcidiscus* sp., (o) *Cryptomonas* sp., (p) Euglenoides. Le symbole « ? » indique que l'arbre n'est pas enraciné (d'après Not *et al.* 2012)

La production primaire nette aquatique de la planète a été estimée entre 40 et 60 PgC par an (Behrenfeld *et al.* 2005; Falkowski and Raven 2007b), ce qui correspondrait à l'équivalent de la production terrestre estimée entre 56 et 59 PgC.an⁻¹ (Field *et al.* 1998; Geider *et al.* 2001). Cependant, l'exactitude de ces données reste une question ouverte et il reste de considérables incertitudes autant sur les méthodes d'estimations de la production primaire que sur les facteurs physicochimiques et écologiques qui limitent celle-ci.

2. Méthodes d'estimations de la production primaire aquatique

Nos connaissances actuelles sur la production primaire aquatique sont principalement basées sur des algorithmes qui reposent sur des mesures de la concentration en chlorophylle *a* (chl *a*) à partir d'images satellites, dont l'emprise offre une vision de sa répartition spatiale (Gaxiola-Castro *et al.* 1999; Platt *et al.* 2008; Tan and Shi 2009). Bien que ces méthodes puissent être validées au niveau des zones stables et homogènes, elles ne permettent pas de mesurer la production primaire au niveau des zones dynamiques telles que les côtes, les rivières ou les estuaires. En effet, la présence de matières en suspension (dissoutes et particulaires), qu'elles soient organiques ou inorganiques, entraînent des erreurs dans l'interprétation de la couleur de l'eau. De plus, le fort degré d'hétérogénéité spatiale et temporelle des compartiments de producteurs primaires dans ces zones peut engendrer des erreurs d'estimation en fonction des échelles considérées (Shaffer and Onuf 1985; Underwood and Kromkamp 1999). En effet, les images satellites représentent une image figée du compartiment des producteurs primaires alors que celle-ci est la résultante de nombreux processus qui influencent la variabilité spatiale et temporelle de la biomasse et du taux de croissance des organismes photosynthétiques à une échelle très fine (Cloern *et al.* 2014; Fig. 3).

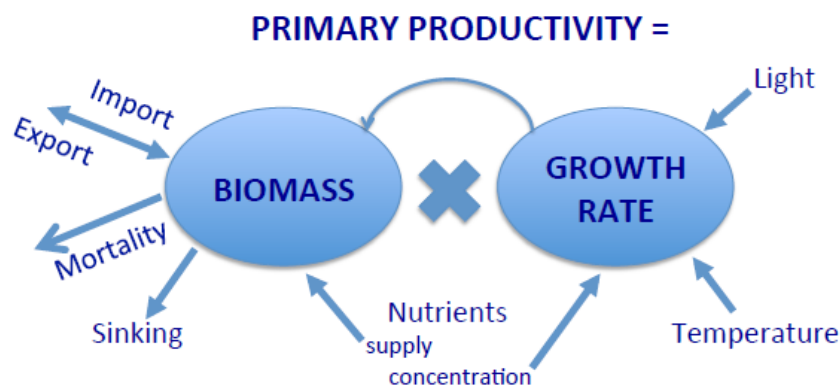


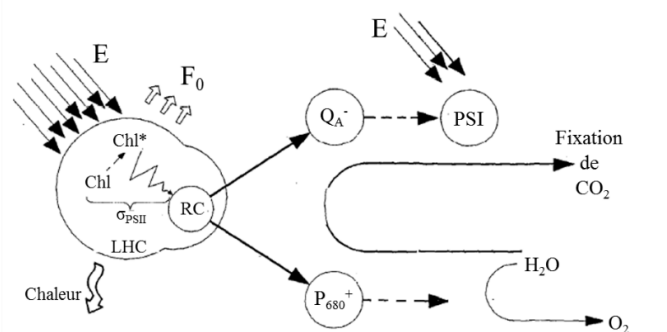
Figure 3. La productivité primaire est le produit de la biomasse des cellules photosynthétiques (régulée notamment par son import et son export, sa mortalité par broutage ou sénescence, sa sédimentation en profondeur ou la disponibilité des nutriments) par le taux de croissance de ces cellules (régulé par la lumière, la température et les concentrations en sels nutritifs de l'environnement). D'après Cloern *et al.* (2014).

Les mesures satellites n'étant pas adaptées aux observations côtières (Moreno-Madrinan and Fischer 2013), les mesures de production primaire dans ces environnements sont basées sur des mesures directes. Deux méthodes traditionnelles de mesure directe ont été développées pour estimer la production primaire. La plus utilisée est la méthode d'incorporation d'un isotope radioactif du carbone, le ^{14}C , introduite par Steeman-Nielsen (1952) et modifiée par Babin *et al.* (1994). Pour pallier aux contraintes de radioprotection, un isotope stable du carbone, le ^{13}C peut également être utilisé. Cette méthode, décrite dans le chapitre 2, permet de mesurer directement l'incorporation de carbone inorganique dans la matière organique. Cependant, cette méthode nécessite des temps d'incubation relativement longs pouvant atteindre plusieurs heures. Une autre approche est basée sur le suivi de l'évolution de l'oxygène produit lors du processus de la photosynthèse. Cependant, cette méthode nécessite également des temps d'incubation longs et sa sensibilité s'est avérée faible. Elle est plus adaptée à des mesures en laboratoire (Falkowski and Raven 2007b). Les longs temps d'incubation de ces deux méthodes engendrent des données à faible fréquence d'acquisition et donc spatialement et temporellement espacées, ne permettant pas d'appréhender les variations à court-terme des processus photosynthétiques. De plus, ces méthodes semblent soumises à l'« effet bouteille ». Ce phénomène fait allusion à l'évolution du milieu dans un environnement confiné tel que les bouteilles d'incubation. En effet, pendant les heures d'incubation, des limitations peuvent se créer et les populations bactériennes évoluent. Cela engendre un changement de la composition de la population, une augmentation de la consommation par les bactéries et donc une dérive des paramètres étudiés (Pernthaler and Amann 2005; Hammes *et al.* 2010).

A partir des années 1970-80, de nouvelles méthodes de mesure des processus photosynthétiques ont été développées à partir de la fluorescence chlorophyllienne des cellules photosynthétiques (Samuelsson and Oquist 1977; Cullen and Renger 1979; Vincent *et al.* 1984; Falkowski *et al.* 1986; Schreiber *et al.* 1986). Pour comprendre le principe de la fluorescence, il est nécessaire d'approfondir le processus de la photosynthèse évoqué plus tôt. Lorsque les pigments chlorophylliens des centres réactionnels (RC) des photosystèmes sont excités par les photons, ils émettent des électrons pour revenir à leur état fondamental. En dehors de l'émission d'électrons, il existe deux autres voies de désexcitation, une partie de l'énergie absorbée est alors réémise sous forme de chaleur et de fluorescence (Fig. 4). L'émission et la variation de la fluorescence proviennent essentiellement du PSII (Krause and Weis 1991). L'ensemble des voies de désexcitation étant dépendantes, toute variation de la fluorescence traduit une variation du transport des électrons. Lorsque les pigments sont à l'obscurité, on admet que les RC du PSII sont ouverts. Lorsque la molécule de chl *a* « P680 », situé au centre du RC du PSII, est

excitée par un photon, elle transmet un électron à un premier accepteur, la quinone A (Q_A), qui est réduite et le RC est alors fermé, il n'accepte plus d'électron. L'électron est ensuite transmis au second accepteur, une quinone B (Q_B), qui va ensuite rejoindre un pool de plastoquinones qui seront utilisées pour la synthèse d'ATP. Lorsque Q_B est réduite, Q_A est oxydée, le centre réactionnel est à nouveau ouvert. La fermeture des centres va entraîner l'augmentation de la fluorescence, une fluorescence minimale (F_0) est ainsi mesurée lorsque tous les centres sont ouverts et une fluorescence maximale (F_M) lorsque tous les centres sont fermés (Kolber and Falkowski 1993).

A. Centre réactionnel du PSII ouvert



B. Centre réactionnel du PSII fermé

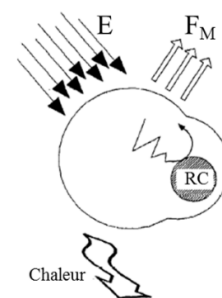


Figure 4. Modèle résumant les transferts d'énergie au niveau du PSII. La lumière incidente (E) est absorbée par les antennes collectrices (LHC) d'une chlorophylle avec une section d'absorption (σ_{PSII}) et va migrer par résonance en excitant les molécules de cette chlorophylle (Chl^*) jusqu'à un centre réactionnel (RC). Si le centre réactionnel est ouvert (A), P_{680} va être oxydée (P_{680}^+) et le premier accepteur d'électron (Q_A) sera réduit (Q_A^-). Sous ces conditions, la fluorescence est minimale (F_0). Si au moment où le photon est absorbé, Q_A est réduit [i.e. le RC est fermé (B)], l'énergie absorbée peut être renvoyée sous forme de fluorescence, augmentant la fluorescence jusqu'à un niveau maximal (F_M). La valeur de fluorescence F observée à un niveau d'irradiance E est une moyenne de F_0 et F_M pondérée par la fraction de RC ouverts et fermés et correspond au quenching photochimique (q_P). D'après Kolber & Falkowski (1993).

Deux méthodes sont couramment utilisées pour mesurer la fluorescence variable du PSII. La différence entre ces deux méthodes porte sur la fréquence et l'intensité des flashes utilisés pour fermer les RC du PSII (Kromkamp and Forster 2003) :

- La méthode ST pour « Single Turnover », principalement utilisée dans les fluorimètres de type « FRRF » (ex : Fast Repetition Rate Fluorometers Act2; Chelsea Instruments Ltd., West Molesey, England), réduit progressivement le pool de Q_A de F_0 jusqu'à un niveau F_M , à l'aide d'une succession de flashes courts d'une durée de quelques microsecondes ($\approx 2 \mu s$) et d'intensité modérée.
- La méthode MT pour « Multi-Turnover », principalement utilisée dans les fluorimètres de type « PAM » (pour Pulse Amplitued Modulated ; Walz GmbH, Effeltrich, Germany), utilise un flash plus long ($\approx 600 ms$) et plus puissant qui réduit les accepteurs primaires, Q_A , mais également les accepteurs secondaires, Q_B , et le pool de plastoquinones menant à un F_M plus important.

Ces deux méthodes permettent d'estimer le rendement quantique maximal du PSII (F_V/F_M) qui traduit, en partie l'état physiologique des organismes (Parkhill *et al.* 2001). Ce rendement diminue avec l'augmentation des intensités lumineuses en raison de l'équilibre qui s'instaure entre l'énergie allouée pour la photosynthèse (i.e. quenching photochimique (q_P)), et celle allouée pour la dissipation de l'excès d'énergie (i.e. quenching non-photochimique (q_N ou NPQ)). Combinées avec des mesures de la « section d'absorption optique du PSII », le a^* (Dubinsky 1992) ou de la « section d'absorption fonctionnelle du PSII », le σ_{PSII} , (Kolber *et al.* 1998), ces deux méthodes permettent de calculer un taux de transport d'électrons (ETR ; Electron Transport Rate) dont les détails de calculs sont donnés dans le chapitre 2. Le développement constant de nouvelles générations de fluorimètres permet de combiner ces deux méthodes de fluorescence et d'affiner les mesures d'ETR. Cependant, bien que ces méthodes aient l'avantage d'être flexibles, sensibles, non-invasives et permettent d'estimer les paramètres photosynthétiques à haute fréquence, elles ne permettent pas de mesurer directement le carbone fixé (Kolber and Falkowski 1993; Barranguet and Kromkamp 2000).

Le couplage des méthodes de mesure des paramètres photosynthétiques à partir de la fluorescence avec les méthodes d'incorporation du carbone s'est avéré être une alternative intéressante pour estimer la production primaire à haute fréquence spatiale et temporelle. En effet, ce couplage permet de connaître le nombre d'électrons nécessaires à la fixation d'une mole de carbone, $\phi_{e,C}$, et permet ainsi de transformer des données de fluorescence en terme de carbone à haute fréquence spatiale et/ou temporelle (Barranguet and Kromkamp 2000; Marchetti *et al.* 2006; Hancke *et al.* 2008b; Napoléon and Claquin 2012). Cependant, le $\phi_{e,C}$ est spatialement et temporellement inconstant en raison des multiples facteurs physicochimiques et écologiques qui vont influencer la fixation de carbone et le flux d'électrons des microalgues (Barranguet and Kromkamp 2000; Morris and Kromkamp 2003; Behrenfeld *et al.* 2004; Napoléon *et al.* 2013b; Lawrenz *et al.* 2013)

3. Facteurs de régulation de la production primaire

En réponse aux changements physicochimiques de l'environnement (nutriments, température, lumière), les producteurs primaires vont subir des modifications physiologiques, morphologiques et moléculaires qui vont affecter la photosynthèse et par conséquent la biomasse et la production. Ces variations de la production primaire engendrées par des critères physicochimiques peuvent se répercuter sur l'ensemble des compartiments du réseau trophique, ce sont des cascades dites « bottom-up ».

L'énergie lumineuse

La lumière est le facteur le plus déterminant pour les producteurs primaires. L'échelle temporelle de variation de l'irradiance s'étend de la microseconde due aux mouvements des vagues à l'interface air-eau, jusqu'aux variations des cycles climatiques en passant par les variations saisonnières et interannuelles de l'intensité lumineuse. Cependant, le niveau de variation le plus important à une profondeur donnée reste le rythme circadien (Falkowski 1984) qui influence fortement les processus photosynthétiques. En effet, quand les conditions sont optimales en termes de température et de nutriments, la production primaire et les capacités photosynthétiques sont directement liées à l'intensité lumineuse incidente et à la photopériode (Cole and Cloern 1987; Behrenfeld *et al.* 2004). Ainsi, les variations journalières de la production sont généralement expliquées par les variations de l'intensité lumineuse en lien avec le rythme circadien (Prézelin 1992). A côté du rythme circadien, l'hydrodynamisme qui définit la profondeur critique (modèle de Sverdrup (1952)) et la turbidité qui influence les propriétés optiques de la colonne d'eau (Smith and Mobley 2008) sont les forçages clés qui vont contrôler les paramètres photosynthétiques (Anning *et al.* 2000; Behrenfeld *et al.* 2002; Mangoni *et al.* 2009) par la mise en œuvre des processus de photoacclimatation (Macintyre *et al.* 2002; Behrenfeld *et al.* 2004; Van De Poll *et al.* 2009).

La photoacclimatation est un processus qui permet aux organismes autotrophes de modifier leur appareil photosynthétique et donc leur photosynthèse pour s'acclimater aux variations lumineuses (Dubinsky and Stambler 2009). Le mécanisme de régulation le plus visible correspond à une modification de la concentration pigmentaire (Falkowski 1984; Dubinsky *et al.* 1986; Falkowski and Raven 2007a). Ainsi, lors de l'acclimatation aux fortes intensités lumineuses, la concentration en chl *a* par cellule diminue alors que lors de l'acclimatation aux faibles intensités, la concentration en chl *a* par cellule atteint son maximum. Macintyre *et al.* (2002) ont pu observer un contenu en chl *a* 12 fois plus important chez la chlorophycée *Dunaliella sp.*, en passant des fortes aux faibles intensités lumineuses. Cependant, aux faibles intensités, l'augmentation du nombre de molécules de chl *a* est associée à une réorganisation des membranes au niveau des thylakoïdes qui engendre un auto-ombrage des chloroplastes entre les membranes et donc une diminution de la section d'absorption optique (a^*), phénomène appelé « package effect » (Falkowski and Raven 2007a; Dubinsky and Stambler 2009).

Une autre source de variation de l'absorption est une modification de la composition pigmentaire. Les pigments microalgaux comprennent des groupes ayant des propriétés chimiques et physiques différentes (Kirk, 1994). De façon générale, les pigments peuvent être

divisés en trois groupes : les chlorophylles *a*, *b* et *c* (~10 sortes; Zapata *et al.* 2006), les caroténoïdes (>30 sortes de carotènes et leurs dérivés oxygénés connus sous le nom de xanthophylles ; Jeffrey & Vesk 1997) et 3 sortes de phycobiliprotéines (allophycocyanines, phycocyanines et phycoérythrines ; Rowan 1989). Parmi ces pigments, un premier groupe est représenté par les pigments accessoires photosynthétiques qui absorbent l'énergie à des longueurs d'onde différentes de celles de la chl *a*, et qui transfèrent une partie de cette énergie absorbée aux chl *a*, pour la photosynthèse (Majchrowski and Ostrowska 2000). Un second groupe est représenté par des pigments accessoires non photosynthétiques dits « photoprotecteurs » (Karentz 1994; Majchrowski and Ostrowska 2000). Ces pigments sont principalement des caroténoïdes qui absorbent l'énergie des faibles longueurs d'onde (400-500 nm) et des ultraviolets (360-400 nm). Ils agissent comme des écrans solaires (Laurion *et al.* 2002) en fournissant une protection contre le stress photo-oxydatif qui pourrait être induit par ces faibles longueurs d'onde de forte énergie (Karentz 1994).

Deux autres réponses font partie des processus de photoacclimatation. D'une part, la capacité des cellules à modifier la taille de leurs antennes collectrices et d'autre part, celle de modifier le nombre de leurs photosystèmes actifs, ces deux capacités n'étant pas forcément liées. Ainsi, lors d'une acclimatation à de fortes intensités, la taille des antennes collectrices des photosystèmes peut être diminuée et/ou le nombre des photosystèmes actifs réduit. Ces deux réponses se traduisent par une diminution de la section d'absorption optique (a^*) ou fonctionnelle (σ_{PSII}) des photosystèmes.

Un autre processus de photoacclimatation est la dispersion de l'excès d'énergie sous forme de chaleur. Ce processus est réalisé par différents pigments qui diffèrent en fonction des phylums comme la zéaxanthine *via* le cycle des xanthophylles pour les algues dites vertes, brunes et quelques rouges (Demmig-Adams 1990; Gévaert *et al.* 2003), la diatoxanthine par les diatomées et les dinoflagellés *via* le cycle diadinoxanthine-diatoxanthine (Lavaud *et al.* 2004), ou *via* l'accumulation de zéaxanthine par les cyanobactéries et certaines algues rouges ((Demmig-Adams 1990). Dans le cadre du cycle des xanthophylles, sous fortes intensités, la violaxanthine est transformée en zéaxanthine avec comme forme intermédiaire l'anthéroxanthine. Dans cet état, la zéaxanthine étant instable, l'énergie absorbée est principalement dirigée vers la dissipation thermique. En revanche, sous des intensités lumineuses plus faibles, la violaxanthine est suffisamment stable pour transférer l'énergie aux chl *a* pour la photosynthèse (Dubinsky and Stambler 2009).

Cependant, même si ces différents processus de photoacclimatation permettent de limiter les dommages au niveau de l'appareil photosynthétique lors de l'exposition aux fortes intensités

lumineuses ou au contraire d'optimiser la photosynthèse aux faibles intensités, ils sont couteux en énergie et leur mise en place va donc avoir des conséquences sur la croissance des cellules.

Le microphytobenthos est soumis à d'autres types de variations de l'intensité lumineuse, en rapport direct avec les caractéristiques physiques du milieu benthique. Les zones intertidales, tout particulièrement, sont soumises aux périodes d'illuminations nycthémérales mais également aux périodes d'immersion de la marée sur la zone intertidale. De plus, la lumière subit une atténuation importante dans le sédiment (Ploug *et al.* 1993) et la couche photique ne dépasserait pas ~2 mm selon Paterson *et al.* (1998). Le microphytobenthos s'adapte donc à des intensités très fluctuantes d'autant plus que la nature du sédiment peut faire varier l'atténuation de la lumière d'un facteur pouvant être 3 fois plus important dans les sédiments cohésifs tels que la vase par rapport au sable (Ploug *et al.* 1993; Kühl *et al.* 1994). De la même façon, la concentration en chl *a* et la présence de biofilm à la surface du sédiment peut atténuer la pénétration de la lumière dans la couche euphotique (Ploug *et al.* 1993; Kühl *et al.* 1994). Les cellules photosynthétiques microphytobenthiques sont cependant capables de s'adapter aux dépôts frais de sédiments, à l'immersion et aux variations de l'intensité lumineuse. Certaines cellules, dites épipéliques sont capables de se déplacer pour éviter l'enfouissement qui limiterait la photosynthèse. D'autres, dites épipsammiques sont étroitement fixées aux particules sédimentaires. Ainsi, la majorité des cellules épipéliques sont mobiles et présentent un rythme de migration verticale lié aux cycles des marées et à la photopériode (Admiraal 1984; Serôdio *et al.* 1997; Kromkamp *et al.* 1998; Paterson *et al.* 1998; Underwood and Smith 1998; Underwood and Kromkamp 1999). Ce processus propre aux cellules microphytobenthiques peut être considéré vis-à-vis de la lumière comme un processus de photoacclimatation à part entière.

Les nutriments

Les nutriments sont essentiels au développement des producteurs primaires et leurs limitations vont affecter à la fois la photosynthèse et la biomasse de ces organismes. Il existe deux grands groupes de nutriments, les macronutriments nécessaires en grande quantité et les micronutriments indispensables au bon fonctionnement des cellules mais nécessaires en petite quantité (Raven *et al.* 2007). Chez les algues, la plupart de ces nutriments sont considérés comme des éléments essentiels pour tous les phylums. Cependant certains sont essentiels uniquement pour une partie des groupes. Par exemple, la silice (Si), constituant le frustule des diatomées est indispensable à ce groupe qui représente les plus importants producteurs primaires marins (40% de la production nette marine (Nelson *et al.* 1995; Sarthou *et al.* 2005)).

La limitation en sels nutritifs affecte les paramètres photosynthétiques (Behrenfeld *et al.* 2004; Mangoni *et al.* 2009; Napoléon *et al.* 2013b) en entraînant des altérations au niveau de l'appareil photosynthétique et des capacités de photoacclimation (Raven and Geider 2003). Les limitations en azote et en phosphore vont affecter les capacités de photoacclimation du phytoplancton en affectant notamment la synthèse protéique, les phospholipides des membranes et les métabolismes énergétiques (Kolber *et al.* 1988; Geider *et al.* 1997; Guerrini *et al.* 2000; Lynn *et al.* 2000; Young and Beardall 2003; Behrenfeld *et al.* 2004; Napoléon *et al.* 2013b). La figure 5 tirée de Behrenfeld *et al.* (2004) résume comment la concentration en sels nutritifs influence la régulation des premières phases de la photosynthèse notamment en jouant sur les ratios NADPH (reductants) et ATP et les conséquences de ces régulations sur les métabolismes du carbone et de l'azote. Selon ce schéma, proposé à la suite d'une importante synthèse de travaux, l'efficacité de l'utilisation de la lumière par les pigments (à la longueur spécifique d'absorption des pigments) est plus élevée dans des conditions de forte intensité lumineuse et de forte concentration en sels nutritifs et plus basse sous faible lumière dans des conditions limitées en sels nutritifs. Dans les écosystèmes eutrophes, riches en sels nutritifs, les cellules phytoplanctoniques disposent ainsi des ressources nécessaires pour optimiser leur efficacité et leur capacité photosynthétique ce qui explique les forts taux de croissance et l'accumulation de biomasse qui sont observés dans ces écosystèmes.

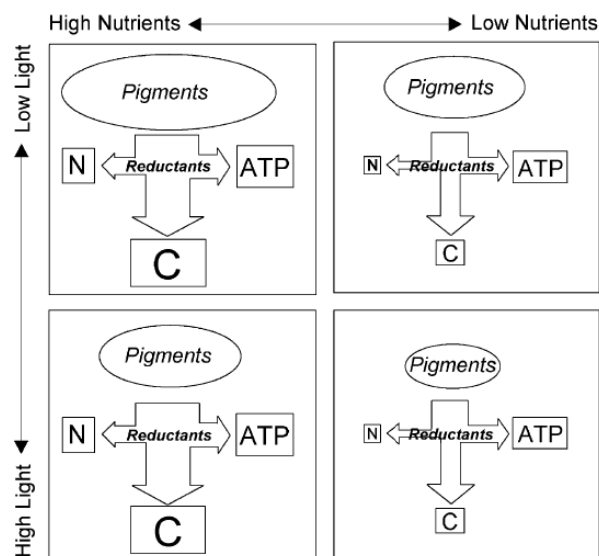


Figure 5. Conceptualisation de l'influence de la lumière et des nutriments sur l'efficacité de l'utilisation de la lumière par les pigments. Dans chaque cadre, le pool de pigments représente la capacité de collecte de la lumière pour l'ensemble des unités photosynthétiques, qui varie en parallèle avec la somme du pouvoir réducteur nécessaire à l'assimilation de l'azote (N), la fixation du carbone et la synthèse de l'ATP. Une augmentation de la lumière diminue les besoins de la cellule en pigment pour une demande de pouvoir réducteur donnée, ce qui augmente le rapport carbone/pigment. Une diminution des nutriments provoque une diminution du pouvoir réducteur pour les trois voies de synthèse mais la diminution de l'ATP est proportionnellement inférieure à la diminution du N ou du C. D'après Behrenfeld *et al.* (2004).

Le microphytobenthos, ne dépassant pas le bord du plateau continental, est moins impacté par les limitations en nutriments que le phytoplancton. L'importance de cette limitation va surtout dépendre du type de sédiment colonisé. En effet, les sédiments vaseux sont souvent très concentrés en nutriments dissous en comparaison aux sédiments sableux qui vont être plus oligotrophes (Admiraal 1984; Heip *et al.* 1995; Underwood and Kromkamp 1999). Ainsi, il apparaîtrait que les nutriments joueraient un rôle sur la production primaire et la biomasse du microphytobenthos uniquement dans les environnements très pauvres (concentrations en nitrate dans le sédiment $< 20 \mu\text{mol.L}^{-1}$), ce qui est rarement le cas dans les zones néritiques (Underwood and Kromkamp 1999).

Bien que les nutriments puissent jouer un rôle déterminant sur la biomasse et la production primaire, l'apport en nutriment ne suffit pas à caractériser des écosystèmes comme productifs ou non. En effet, lorsque les conditions de croissance en termes de nutriments sont optimales, la croissance et la production peuvent être limitées par d'autres facteurs environnementaux et en particulier par la lumière et la température.

Température

Bien que les optimums de températures changent en fonction des espèces considérées et notamment de leurs origines, la température est également un facteur limitant pour la production primaire, comme pour l'ensemble des réactions biochimiques (Raven and Geider 1988; Davison 1991; Claquin *et al.* 2008; Thorel *et al.* 2014). En effet, les microalgues montrent une grande variété de réponses physiologiques en réponse aux variations de température (Thompson 2006). En particulier aux faibles températures, la diminution de l'activité des enzymes qui interviennent dans la photosynthèse engendre un ralentissement de celle-ci et en conséquence, limite la production primaire (Falkowski *et al.* 1992; Morgan-Kiss *et al.* 2006).

Les variations de température jouent un rôle particulièrement important sur les taux de photosynthèse du microphytobenthos en zone intertidale. En effet, à l'échelle saisonnière les températures sur le sédiment peuvent varier entre 0 et 35 °C suivant la saison considérée et de 20 °C à l'échelle journalière avec au cours des cycles de marée une variation pouvant atteindre 3 °C par heure lors de l'émersion (Underwood and Kromkamp 1999). Il a ainsi été montré une forte relation entre la production microphytobenthique et la température (Blanchard *et al.* 1996). Par ailleurs, la dessiccation des biofilms soumis à de fortes températures pourraient fortement impacter la production par le microphytobenthos (Underwood and Kromkamp 1999). Il est ainsi important de prendre en compte le facteur température lors de l'étude de la dynamique de production d'un écosystème, que ce soit à l'échelle journalière comme à l'échelle saisonnière.

Consommateurs primaires

En addition aux cascades bottom-up, la dynamique de la production primaire peut également être affectée par des cascades dites « top-down ». Ces dernières impliquent une régulation des producteurs primaires par les compartiments trophiques supérieurs (Sommer and Stibor 2002; Caraco *et al.* 2006; Sommer and Sommer 2006) ou encore par les virus (Fuhrman 1999). Ainsi les copépodes et le micro-zooplancton (flagellés et ciliés), principaux consommateurs du phytoplancton ainsi que les brouteurs et les filtreurs, principaux consommateurs du microphytobenthos, peuvent, s'ils se retrouvent en forte abondance, limiter la croissance, diminuer la biomasse et donc réguler la production primaire. Il a également été montré que les pathogènes viraux infectent un grand nombre de producteurs marins dont les diatomées et les cyanobactéries. La présence de particules virales pourrait en effet, sous certaines proportions, réduire la production primaire de 78% (Suttle *et al.* 1990). Ce résultat montre que l'infection virale pourrait également être un facteur de régulation important des communautés phytoplanctoniques et de la production primaire dans les océans.

4. Diversité et capacité de production

Les espèces n'ayant pas les mêmes capacités d'acclimatation et de production, La structure de la communauté phytoplanctonique peut également avoir un rôle sur la dynamique de la production primaire (Côté and Platt 1983; Videau *et al.* 1998; Duarte *et al.* 2006; Jouenne *et al.* 2007; Mangoni *et al.* 2009; Claquin *et al.* 2010). Cependant la relation entre biodiversité et production, ou biodiversité et productivité, est très peu étudiée (Mittelbach *et al.* 2001; Gamfeldt and Hillebrand 2011; Napoléon *et al.* 2014) et très variable (Napoleon *et al.* 2012). Des travaux ont montré une relation positive, négative, unimodale (en "cloche") ou encore une absence de relation évidente entre biodiversité et productivité (Napoleon *et al.* 2012). Comme expliqué dans Napoléon (2012), la relation positive, la plus souvent décrite dans la littérature peut s'expliquer par les mécanismes suivants : (i) la probabilité qu'une espèce très productive soit présente augmente avec la diversité d'une communauté ; (ii) une complémentarité entre les espèces peut s'opérer au sein des communautés phytoplanctoniques très diversifiées (Tilman *et al.* 1997; Loreau 1998). En revanche, les relations unimodales observées signifient que d'importants niveaux de productivité sont associés à une faible richesse taxonomique. Cette relation peut s'expliquer, dans les milieux très productifs où la ressource est limitante (Huston and DeAngelis 1994; Duarte *et al.* 2006), par la dominance de certains taxa qui excluraient certaines espèces par compétition. L'absence d'un modèle unique traduit une réalité écologique ou révèle la complexité des mécanismes sous-jacents et la difficulté à les caractériser. En effet,

l'une des principales difficultés dans l'exploration de la relation diversité/productivité reste la caractérisation de la biodiversité.

Historiquement, la diversité du phytoplancton eucaryote a été évaluée par identification au microscope des caractéristiques morphologiques. Il est cependant admis que le nombre d'espèces décrites grâce à ces observations sous-estime largement l'ampleur réelle de la diversité du phytoplancton (Not *et al.* 2012). Au cours de la dernière décennie, l'évaluation de la diversité environnementale à l'aide d'approches moléculaires a mis en évidence une diversité massive non décrite, y compris de lignées entières (Massana and Pedrós-Alió 2008; Vaulot *et al.* 2008), que ce soit pour les eucaryotes comme pour les procaryotes. La combinaison des analyses phylogénétiques et morphologiques moléculaires ne cesse d'augmenter, particulièrement pour le phytoplancton de petite taille qui s'avère être très abondant (Fig. 6) et pour lequel très peu de caractères morphologiques distinctifs sont disponibles (Not *et al.* 2012).

En effet, les cellules phytoplanctoniques ne sont pas seulement phylogénétiquement très variées (Fig. 2), mais couvrent également une large gamme de taille intra- ou intergroupes. Ce spectre de taille s'étend sur plus de trois ordres de grandeur, allant du pico-plancton (0,2 à 2 μm) au mésoplancton (0,2 à 2 mm) en passant par le nanoplancton (2.0 à 20 μm) et le microplancton (20 à 200 μm). Les cellules phytoplanctoniques sont principalement solitaires mais de nombreuses espèces (la plupart des espèces de diatomées, quelques dinoflagellés et haptophytes) ont également la possibilité de former des chaînes ou des colonies. Bien que des exceptions existent, les plus grandes classes de taille du phytoplancton marin sont généralement dominées par les diatomées et les dinoflagellés, tandis que les classes plus petites regroupent des cyanobactéries et des nano et pico eucaryotes appartenant aux Cryptophytes et aux « Prasinophycées » (groupe paraphylétique de Chlorophytes). En pratique, cette large gamme de tailles impose de coupler différentes méthodologies d'observation (microscopie optique et électronique, cytométrie en flux, outils moléculaires) pour caractériser la structure des assemblages phytoplanctoniques. La taille des cellules affecte également de nombreuses caractéristiques fonctionnelles du phytoplancton et la répartition dans les différentes classes exerce un contrôle majeur sur les cycles biogéochimiques et les réseaux trophiques (Li 1994; Worden *et al.* 2004; Vaulot *et al.* 2008). Par exemple, en raison de leur large rapport surface/volume qui facilite l'absorption des nutriments, les petites cellules sont particulièrement bien adaptées aux eaux stables et oligotrophes (pauvres en éléments nutritifs), alors que les cellules plus grandes ont généralement de meilleures aptitudes pour les milieux dynamiques et eutrophes (Malone and Neale 1981; Côté and Platt 1983; Raven 1998; Montecino and Quiroz 2000; Jouenne *et al.* 2007). Parce que l'environnement marin présente des structures

physicochimiques hétérogènes dans l'espace et le temps, la taille des cellules est une caractéristique importante à considérer. De plus, cette répartition est un bon indicateur de la modification des masses d'eau dans lesquelles se trouvent le phytoplancton (e.g. Thyssen *et al.* 2011). La variabilité de taille et de physiologie du phytoplancton est donc une variable supplémentaire pouvant affecter la production primaire. Bien qu'il ait longtemps été admis que la production en zones côtières était assurée par des cellules de grandes tailles, certaines études mettent en avant les petites classes de taille. Par exemple, il a été montré, sur les côtes chiliennes, que la production primaire des cellules de petites tailles ($< 8 \mu\text{m}$) était significativement supérieure à celle des cellules plus grandes ($> 8 \mu\text{m}$) et que la productivité (i.e. P/B) est moitié moins importante lorsque 80% de la communauté phytoplanctonique est $> 8 \mu\text{m}$ que lorsque 50% de la communauté est $< 8 \mu\text{m}$ (Montecino and Quiroz 2000).

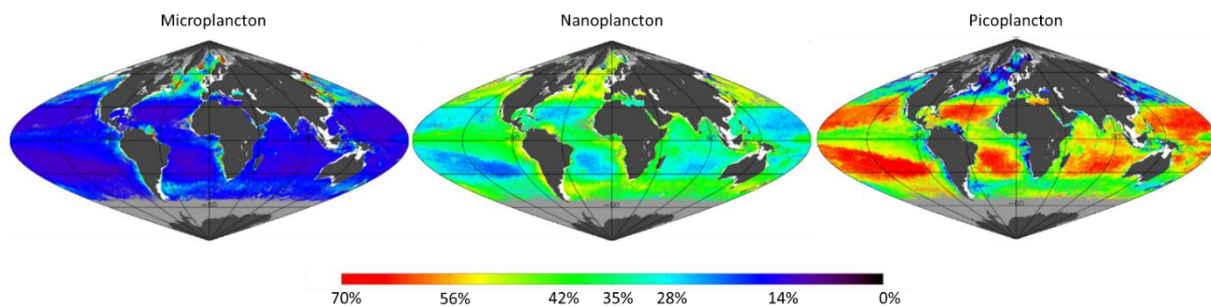


Figure 6. Pourcentages des différentes classes de taille de phytoplancton calculés selon le modèle présenté par Brewin *et al.* (2010) avec des données de mai 2005. Les pixels gris clairs se réfèrent à des pixels non identifiés en raison de la couverture nuageuse ou des angles avec de la lumière solaire élevés. Les pixels blancs représentent des eaux côtières et des eaux intérieures ($< 200 \text{ m}$ de profondeur) où l'algorithme s'est révélé surestimer la chlorophylle en raison de la présence de matière particulaire en suspension et/ou de matière organique dissoute colorée.

5. Excrétion d'exopolysaccharides : rôle et importance

Certains organismes dont les producteurs primaires et notamment les diatomées, peuvent excréter de grandes quantités de carbone sous la forme de polysaccharides extracellulaires dits EPS (pour « Extracellular Polymeric Substance »). En effet, une part non négligeable du carbone fixé au cours des processus de photosynthèse par les organismes autotrophes n'est pas intégrée dans les composés structuraux, fonctionnels ou de réserve des cellules, mais est excrétée sous forme de substances dissoutes riches en polysaccharides (Wotton 2004).

Ces EPS jouent un rôle important pour les communautés microphytobenthiques. En effet, la production d'EPS permet aux microalgues épipsammiques de rester accrochées aux grains de sables et aux microalgues épipéliques de migrer dans les premiers millimètres du sédiment pour mieux faire face à leurs besoins physiologiques (Underwood and Smith 1998). Ces molécules sécrétées au niveau du raphé des diatomées, vont former un biofilm exogène qui leur permet de se déplacer grâce à des interactions ioniques. En plus de servir à la migration, les EPS ont de multiples fonctions vitales pour les diatomées, en particulier en formant la structure rigide d'un biofilm, les EPS permettant d'adhérer au substrat et évitant l'érosion du sédiment. De plus, la sécrétion d'EPS par le MPB a été montrée en réponse aux stress environnementaux tel que le stress nutritif (Staats *et al.* 2000). Les EPS peuvent être divisés en deux fractions principales : la fraction colloïdale et la fraction liée dont les compositions varient en fonction de la nature du sédiment, de l'âge du biofilm et de son état physiologique (Fig. 7). Les EPS colloïdaux correspondent à la fraction qui est directement sécrétée dans le milieu, et qui forme en grande partie le biofilm alors que les EPS liés sont attachées au frustule des diatomées par des liaisons ioniques et jouent un rôle dans l'adhésion et la protection. La capacité de mobilité du microphytobenthos semblerait engendrer une très forte productivité et une photoinhibition presque nulle au sein de ces cellules microphytobenthiques (Kromkamp *et al.* 1998).

En dehors de leur rôle dans la mobilité du microphytobenthos, les EPS jouent également un rôle important dans le devenir de la production phytoplanctoniques. Pour ce compartiment, les EPS sont représentés par une fraction soluble composée principalement de galactose et d'acide glucuronique (De Brouwer *et al.* 2002), et d'une fraction particulière sous la forme de particules exopolymériques transparentes (TEP) principalement composées de fucose et de rhamose (Fukao *et al.* 2009). Les sécrétions d'EPS et de TEP par le phytoplancton jouent un rôle important dans les processus d'agrégation, de sédimentation et dans les flux de carbone de la colonne d'eau (e.g. Passow *et al.* 2001; Bhaskar & Bhosle 2005). De plus, leur production permet la création de microenvironnements où les cellules sont protégées des changements rapides des conditions environnementales, des toxines, du broutage ou même de la digestion (Decho 2000). En dehors de la biomasse des producteurs primaires, les EPS représentent une part non négligeable de la production primaire disponible pour les consommateurs qui soutient les réseaux trophiques. Ainsi, l'étude de la dynamique des EPS est également indispensable à l'appréhension et la compréhension des flux de carbone au sein d'un écosystème.

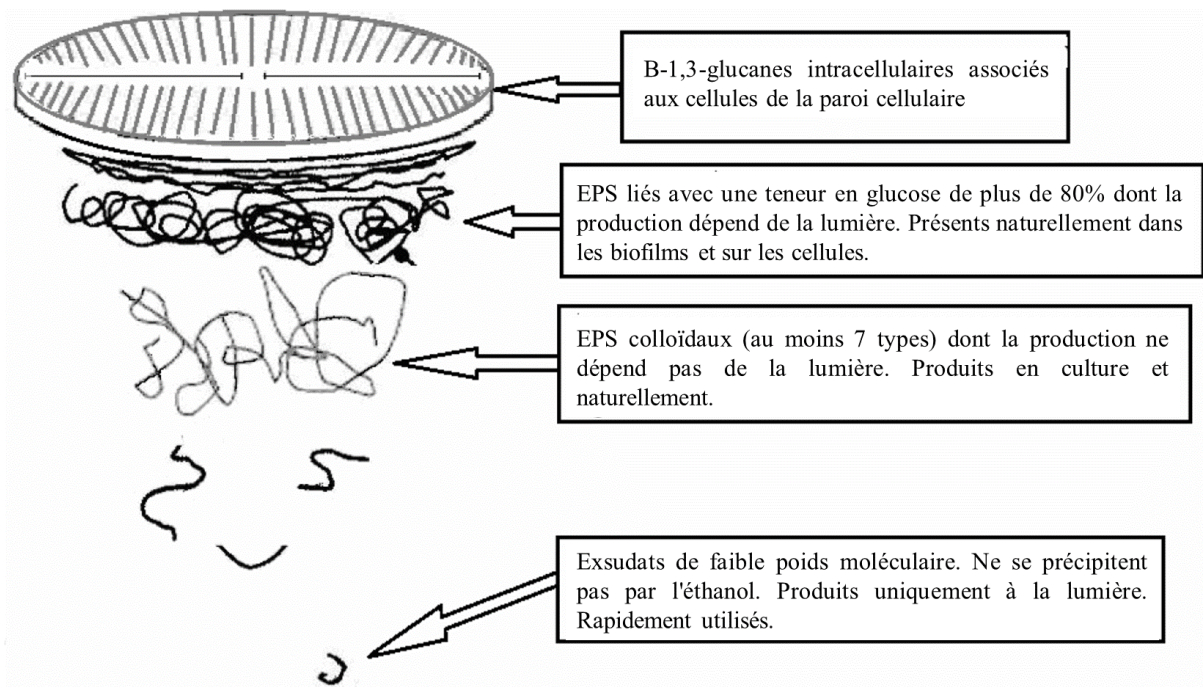


Figure 7. Variété des EPS produits par les diatomées (Shniukova and Zolotareva 2015)

Ainsi, de nombreux facteurs extérieurs mais aussi intrinsèques jouent un rôle important dans la dynamique de la production primaire phytoplanctonique et microphytobenthique. L'impact de ces facteurs est cependant différent d'un système à un autre et d'une zone géographique à l'autre. La production primaire a ainsi été étudiée dans de nombreux écosystèmes aquatiques différents tels que les lacs, les rivières et les zones côtières (Gattuso *et al.* 1998; Cloern *et al.* 2014) mais aussi les zones océaniques oligotrophes (Falkowski 1998). Cependant la mesure de la production primaire peut s'avérer être plus complexe dans certains écosystèmes dynamiques tels que les estuaires (Underwood and Kromkamp 1999). Or, la compréhension de la variabilité de la production primaire est une clé pour comprendre la variabilité de ces écosystèmes d'une importance capitale. Cette connaissance permet de mieux appréhender le cycle des nutriments, du carbone et des métaux traces, la qualité de l'eau et de l'habitat, la production secondaire par les herbivores, les captures de poissons et les cultures de crustacés (Cloern *et al.* 2014). D'autant plus que la valeur cumulative de tous ces services écosystémiques est jugée comme étant la plus élevée dans les estuaires en comparaison à tous les autres biomes (Costanza *et al.* 1997).

6. La production primaire dans les estuaires

1.1. Importance des écosystèmes estuariens

Différentes définitions d'un estuaire sont données dans la littérature. Globalement, un estuaire est défini par la zone intermédiaire entre les eaux douces d'une rivière et les eaux salées d'un océan ouvert, laquelle peut être soumise aux oscillations des marées. Selon les critères retenus, (e.g. géomorphologiques, biologiques, paysagers, navigabilités), les limites de cette zone diffèrent. Transversalement, un estuaire intègre les milieux adjacents, généralement des zones humides. Longitudinalement, un estuaire est le plus souvent défini comme la zone d'influence de la marée sur le cours d'eau et bien que l'onde de marée puisse se propager très en amont, c'est principalement la limite du front de salinité où les eaux de mélange ont une salinité de 1‰ qui prédomine.

Malgré des définitions différentes suivant la thématique abordée, l'importance majeure de ces écosystèmes estuariens fait l'unanimité. En effet, de par leur position stratégique entre la terre et la mer, les estuaires sont des environnements aux intérêts économiques importants. En dehors de la pêche, de nombreuses industries basent leur économie autour des estuaires, notamment le transport et l'expédition via les ports et les chantiers navals, mais également les entreprises en lien avec l'aquaculture, la production d'énergie électrique, l'exploitation du pétrole et du gaz, les biotechnologies marines ou encore le tourisme. Ainsi les estuaires sont parmi les écosystèmes aquatiques les plus fortement impactés par les activités anthropiques (Kennish *et al.* 2014). Sur le plan écologique, les estuaires sont d'une importance primordiale pour de nombreux organismes estuariens, marins et terrestres (Ayadi *et al.* 2004). Bien que les estuaires soient des écosystèmes fragiles, ils sont néanmoins riches en biomasse et font partie des écosystèmes les plus productifs (Underwood and Kromkamp 1999; Cloern *et al.* 2014). De plus, ils offrent de nombreux services écosystémiques en intervenant dans la stabilisation des côtes, la détoxification des contaminants, la transformation et la régulation des nutriments mais aussi les cycles biogéochimiques des substances comme la séquestration du carbone (Kennish 2016). La valeur cumulée de ces services, rapportée à la surface occupée, est jugée comme étant la plus importante dans les estuaires en comparaison aux autres biomes, avec 22 832 \$ ha/an (Costanza *et al.* 1997).

Les écosystèmes estuariens sont donc des zones aux forts intérêts à la fois écologiques et économiques, mais subissent également de nombreuses pressions qui peuvent fortement affecter ces fonctions (Viles and Spencer 1995). Au sein de ces systèmes, les producteurs primaires soutiennent l'ensemble des réseaux trophiques et la dynamique de la production

primaire est directement liée à la dynamique des estuaires. Or, les estuaires qui font partie des écosystèmes les plus dynamiques et les plus complexes, sont le siège de flux considérables de matière et d'énergie, où se mêlent une multitude de processus biogéochimiques, rendant difficile et imprécise l'estimation de la production primaire (Fig. 8).

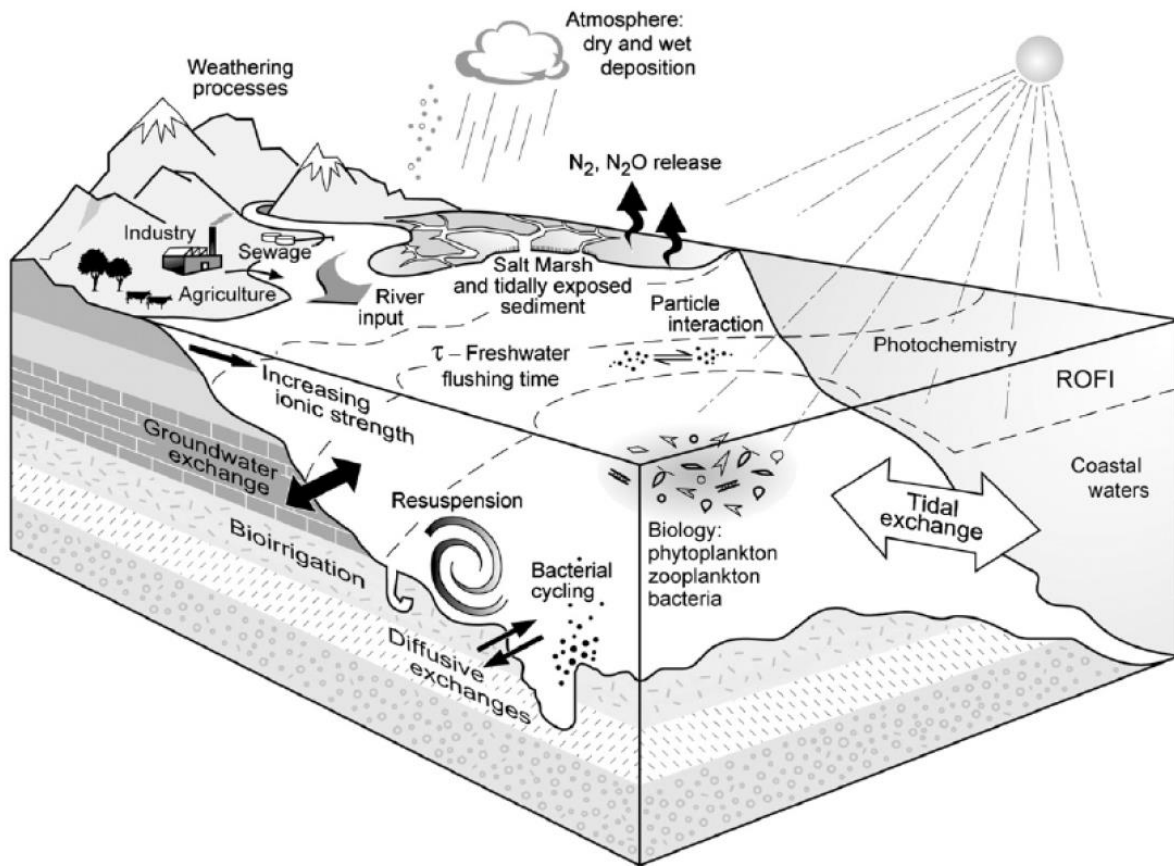


Figure 8. Ensemble des interactions et processus biogéochimiques au sein des écosystèmes estuariens et à leurs interfaces. Un grand nombre de processus physiques contribuent à la variabilité spatiale et temporelle du système estuarien (apport fluvial, anthropiques, courants et amplitude de marée). Echanges eau douce/eau salée avec les zones côtières adjacentes. ROFI = Region of Freshwater Influence. D'après Statham (2012).

1.2. La production primaire dans les estuaires à travers le monde : estimation et variabilité

Boynton *et al.* (1982) ont compilé les résultats obtenus dans 45 estuaires et ont pu observer des productions primaires qui variaient entre 19 et 547 $\text{gC.m}^{-2}.\text{y}^{-1}$ avec une moyenne de 190 $\text{gC.m}^{-2}.\text{y}^{-1}$. De leur côté, Underwood et Kromkamp (1999) ont présenté plusieurs valeurs de la production primaire recueillies dans différents estuaires avec pour le compartiment phytoplanctonique un minimum de 7 $\text{gC.m}^{-2}.\text{y}^{-1}$ (partie amont de Bristol Channel au Royaume-Uni) et un maximum de 875 $\text{gC.m}^{-2}.\text{y}^{-1}$ (partie oligohaline de l'Escaut occidental : « Westerschelde ») et pour le compartiment microphytobenthique des valeurs comprises entre

29 gC.m⁻².y⁻¹ dans l'estuaire de la mer Walden et 314 gC.m⁻².y⁻¹ dans l'Ems-Dollard tous deux situés au Pays-Bas. Ces auteurs ont également montré la contribution relative des différents compartiments de producteurs primaires dans la production autochtone des estuaires, où le microphytobenthos a été considéré comme ayant une contribution supérieure ou équivalente au phytoplancton. Cloern *et al.* (2014) quant à eux, montrent des valeurs estimées de la production primaire dans 131 écosystèmes estuariens et côtiers, comprises entre -105 et 1890 gC.m⁻².y⁻¹ avec une moyenne de 225 gC.m⁻².y⁻¹ sur 1148 mesures réalisées. Dans cette étude, les auteurs mettent également en évidence une forte variabilité entre les zones échantillonnées concentrées en Europe, en Amérique du Nord et autour de la mer Baltique en utilisant des méthodes principalement basées sur l'incorporation de ¹⁴C et des mesures d'O₂. La recherche bibliographique réalisée au cours de notre étude nous montre également une forte variabilité dans les chiffres de production estimés et dans les méthodes de mesure et d'échantillonnage employées.

La classification écologique des écosystèmes marins est en partie basée sur les apports de matière organique dans un écosystème. Ainsi, une classification des écosystèmes a été proposée en fonction des valeurs de la production primaire annuelle (gC.m⁻².an⁻¹ ; tab. 1) de ces écosystèmes (Nixon 1995). Il est cependant important de concevoir que dans les estuaires, une partie de la production primaire est d'origine autochtone et qu'une autre partie, d'origine allochtone, provenant des apports fluvial et océanique, vient renforcer celle-ci.

Tableau 1. Classification des écosystèmes en fonction des apports de matière organique (gC.m⁻².an⁻¹).

Classe	Production (gC.m ⁻² .an ⁻¹)	Qualité de l'environnement
Oligotrophe	< 100	« Good » = bon
Mésotrophe	100 - 300	« Fair » = juste
Eutrophique	100 - 500	« Poor » = pauvre
Hypertrophique	> 500	« Very Poor » = très pauvre

Ainsi, un environnement dit « oligotrophe » est donc un environnement peu productif (< 100 gC.m⁻².an⁻¹) alors qu'un écosystème est dit « hypertrophique » lorsqu'il est très productif (> 500 gC.m⁻².an⁻¹). Cependant, la production n'est pas l'unique critère qui doit être pris en compte, notamment pour les estuaires. En effet, selon les indicateurs d'eutrophisation (Lemley *et al.* 2015), un estuaire oligotrophe est défini par une faible biomasse phytoplanctonique (< 5 µg.L⁻¹), une forte diversité de diatomées benthiques (entre 3 et 4.5 en indice de Shannon), une faible concentration en azote (< 0.1 mg.L⁻¹), en phosphore (< 0.01 mg.L⁻¹) et une forte concentration en oxygène dissout (> 5 mg.L⁻¹), il est alors dit en « bon état ». A l'inverse, un estuaire hypertrophique est défini par une forte biomasse phytoplanctonique (> 60 µg.L⁻¹), une

faible diversité de diatomées benthiques (entre 0 et 1), de fortes concentrations en nitrates ($> 1 \text{ mg.L}^{-1}$) et en phosphates ($> 0.1 \text{ mg.L}^{-1}$) et une concentration en oxygène très basse, il est alors classé en « très pauvre ». Les estuaires dits « juste » ou « pauvre » étant des intermédiaires aux deux autres. Un estuaire « pauvre » est également défini par une biomasse microphytobenthique forte ($> 100 \text{ mg.m}^{-2}$) (Lemley *et al.* 2015).

Ainsi, il apparaît que la classification des estuaires ne peut être généralisée en raison d'une importante variabilité au niveau des différentes estimations de production primaire entre les estuaires. L'une des sources de cette variabilité est représentée par les caractéristiques bathymétriques, hydrographiques ou morphologiques propres à chaque estuaire mais également par leur position géographique qui va notamment déterminer certains paramètres influents tels que la température ou l'intensité lumineuse. Il y a notamment des différences majeures entre les estuaires tempérés et tropicaux pouvant contrôler les processus biogéochimiques le long des gradients salins. Eyre & Balls (1999) qui ont réalisés une étude comparative sur différents estuaires tropicaux et tempérés ont listé ces principales différences : (i) les saisons en zone tropicale, typiquement deux au lieu de quatre en zone tempérée, engendrent de fortes précipitations et un ruissellement important lors de la mousson qui vont augmenter les variations annuelles du temps de résidence et de la turbidité, modifier l'hydrologie estuarienne, potentiellement diminuer la rétention des nutriments et engendrer un découplage benthos-pelagos ; (ii) les différences en termes de végétation (mangroves) et d'activité anthropique engendrent des variations importantes dans la disponibilité des nutriments avec de plus faibles concentrations en azote et en phosphore souvent limitantes, et de fortes concentrations en silice favorisant les diatomées ; (iii) la lumière plus importante et moins variable ne limite pas la photosynthèse et les fortes températures augmentent l'activité microbienne et l'évaporation conduisant à de fortes salinités.

A cette forte variabilité observée entre les différents estuaires à l'échelle mondiale, s'ajoute une variabilité très élevée au sein d'un même estuaire, variabilité qui s'exprimera à différentes échelles spatiales et temporelles suivant les facteurs forçants.

1.3. Variabilité intra-estuarienne

Comme l'ont souligné Wolanski & Elliot (2015), il est impossible de comprendre la structure écologique et le fonctionnement d'un estuaire sans comprendre les processus physiques qui s'y exercent et notamment les dynamiques hydrologiques et sédimentaires, qui varient d'un estuaire à l'autre. De plus, il apparaît que la majorité de la variation de la biomasse

et de la production primaire dans les estuaires est due à des processus physiques (Sinclair *et al.* 1981).

De manière générale, les deux forces essentielles qui dominent la dynamique estuarienne sont les flux d'eaux douces dirigés vers l'aval et les flux d'eaux salées liés à l'onde de marée qui pénètre à l'intérieur de l'estuaire (Fig. 9). Ces courants peuvent être renforcés ou minimisés par les conditions météorologiques telles que les précipitations, la houle, les ondes de tempêtes et les vents. Le mélange entre les eaux douces et salines n'est pas immédiat et une stratification a lieu dans l'estuaire avec l'eau salée, plus dense, en profondeur entraînant des courants de densité entre les deux masses d'eau. Enfin, ce mélange entraîne également des courants verticaux dits résiduels, importants en termes de remise en suspension. L'ensemble des courants engendrés par ces deux forces entraîne une circulation hydrologique complexe spécifique à la dynamique estuarienne qui joue un rôle direct et indirect sur la production primaire (May *et al.* 2003).

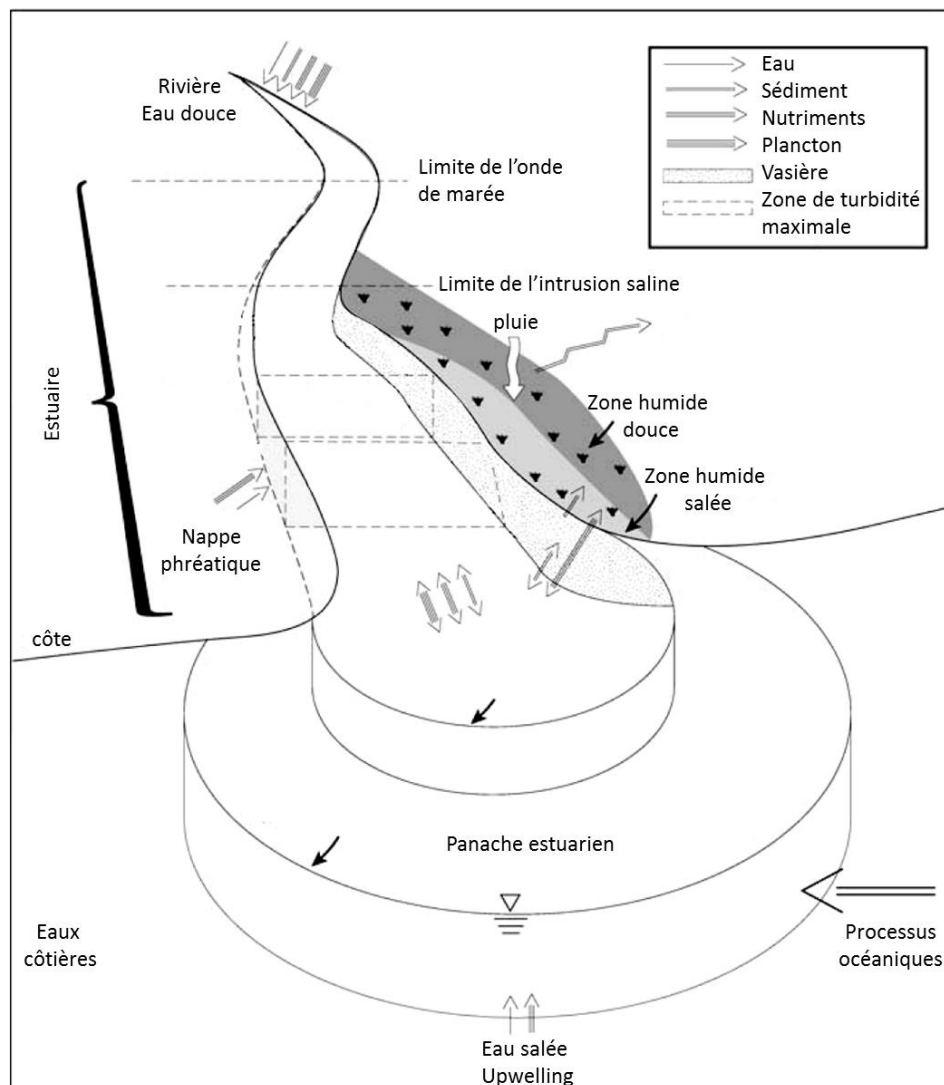


Figure 9. Schéma des flux dominants de l'eau, des sédiments, des nutriments et du plancton dans un estuaire. D'après Wolanski *et al.* (2004).

Les apports du fleuve en nutriment

Les apports des fleuves en particules, en matière organique et en nutriments liés à l'érosion des bassins versants (Schlesinger and Melack 1981; Meybeck 1982; Mulholland and Watts 1982), s'avèrent beaucoup plus importants dans les estuaires que dans n'importe quel autre écosystème (Howarth 1988) (Fig. 9). Cet important apport en nutriments supporte une forte biomasse chlorophyllienne pouvant aller jusqu'à des concentrations en chl *a* occasionnellement exceptionnelles comme celles mesurées à la sortie de l'estuaire de la rivière Tamagawa dans la baie de Tokyo avec 98.27 µg/L (Yamaguchi *et al.* 1991) ou encore dans l'amont de l'estuaire de la rivière Swan à l'ouest de l'Australie où des concentrations supérieures à 100 µg/L ont été mesurées (Thompson 1998). De plus la sédimentation des dérivés carbonés en lien avec les blooms phytoplanctoniques accélère l'activité benthique et le renouvellement des nutriments comme le montre Grenz *et al.* (2000) dans la baie de San Francisco. Cependant, au cours d'épisodes d'étiage très prononcé, les nutriments peuvent être limitants et ainsi des périodes de limitation par les nutriments ont été décrites dans quelques estuaires tels que l'Escaut (« Schelde ») lors de certains blooms printaniers (Kromkamp and Peene 1999) ou celui de la rivière Colne au Royaume-Uni (Kocum *et al.* 2002). Sur les zones intertidales, la disponibilité en nutriments est plus importante dans les zones de sédiments fins (vasières) que dans les zones de sédiments plus grossiers (sable) lesquels sont rarement remis en suspension (Admiraal 1984; De Jong and De Jonge 1995; Heip *et al.* 1995). De plus, il apparaît que le microphytobenthos est rarement limité en nutriments du fait de sa capacité à incorporer les nutriments lors de ses phases de migration (Underwood and Kromkamp 1999; Longphuiert *et al.* 2009; Leynaert *et al.* 2011).

Turbidité et matière en suspension

La quantité de particules dans la colonne d'eau gardée en suspension par les courants est à l'origine d'une turbidité importante de la colonne d'eau et cette dernière varie énormément en fonction des courants (May *et al.* 2003). Généralement, elle diminue de l'amont vers l'aval avec la sédimentation des particules au sein de l'estuaire. Ainsi, la majorité des particules est donc retenue dans l'estuaire comme dans l'estuaire de l'Escaut où plus de 79% des matières en suspensions (MES) n'atteignent pas l'océan (Wollast and Peters 1978). La turbidité étant un facteur important de variation de la luminosité incidente dans la colonne d'eau, elle limite la photosynthèse et l'incorporation des nutriments (Cole *et al.* 1992; Irigoien and Castel 1997; May *et al.* 2003). Ainsi, lorsque le taux de nutriments est important, la production est directement liée à la disponibilité de la lumière (Cloern *et al.* 1983). La luminosité dans la

colonne d'eau peut être insuffisante pour assurer une forte production malgré le fort taux de nutriments dans de nombreux estuaires (Kocum *et al.* 2002; Gazeau *et al.* 2005) et peut même devenir négative si la respiration excède la production (Garnier *et al.* 2001a). Sur les zones intertidales, l'eau turbide des estuaires empêche généralement la pénétration de la lumière lors de l'immersion. De ce fait, de fortes concentrations chlorophylliennes (Wiltshire *et al.* 1997) et de très fortes densités de cellules microphytobenthiques, allant jusqu'à 10^4 ou 10^6 cellules.cm⁻², sont retrouvées lors de la courte période d'émersion diurne (Underwood *et al.* 1998). Cependant, si la lumière est trop forte à cette période, les cellules s'accumulent à l'aube ou au crépuscule et restent en profondeur lors du zénith (Jönsson *et al.* 1994; Underwood *et al.* 1999).

Le maximum de turbidité apparaît à l'amont des estuaires à l'interface eaux douces/salées (Fig. 7) (Uncles and Stephens 1993). Cette zone de turbidité maximale (MTZ pour « Maximum Turbidity Zone ») présente des turbidités décuplées par rapport aux autres zones de l'estuaire (Wollast and Peters 1978). La MTZ qui se déplace en fonction des courants longitudinaux et verticaux mais également latéralement, présente cependant une forte activité en raison de la fixation de bactéries hétérotrophes sur les particules comme dans l'estuaire de l'Escaut où la valeur de production bactérienne peut atteindre 3000 mgC.m⁻².d⁻¹ (Goosen *et al.* 1997).

Malgré les importants apports en nutriments qui peuvent engendrer une importante biomasse et une forte production en amont comme dans l'estuaire de la Neuse (Mallin *et al.* 1993), la forte turbidité associée au flux de la rivière a généralement un effet négatif sur la biomasse et la production. Ainsi, une plus forte production est mesurée en aval des estuaires, là où la turbidité est moindre alors qu'une faible production est observée en amont comme décrit par exemple dans l'estuaire de la rivière Norman au Nord de l'Australie (Burford *et al.* 2012; Reynolds 2012).

Temps de résidence

Le temps de résidence des masses d'eau varie en fonction de la morphologie des estuaires, de l'intensité du débit fluvial et des cycles de marée. Spécifiquement dans les estuaires, le temps de résidence des particules en suspension est quant à lui très variable. Tout d'abord, il est important de prendre en compte le piégeage des particules au sein de la MTZ dont la durée varie en fonction des courants. Ensuite, une partie importante des particules est définitivement retenue dans les estuaires et participe à son colmatage, pouvant engendrer une réduction du volume de l'estuaire. En fonction de leur taux de sédimentation, ces particules sont donc retenues sur l'ensemble du gradient spatial de l'estuaire. L'expulsion des particules

en suspension en dehors des estuaires se produit ainsi principalement lors des forts débits fluviaux qui peuvent déplacer la MTZ en aval de l'estuaire mais ces conditions ne sont réunies que quelques fois dans l'année. Ainsi compte tenu de ces différents devenir, le renouvellement du stock de matières en suspension présent dans un estuaire peut varier considérablement en fonction des estuaires et le temps de résidence des particules peut atteindre plusieurs années. De plus, les vents, formateurs de vagues, peuvent également influencer le temps de résidence, au même titre que l'intensité du débit fluvial (Lucas *et al.* 2009). Le phytoplancton dans ces systèmes très dynamiques se comporte en partie de la même façon que les particules de taille équivalente. Cependant la capacité d'acclimatation du phytoplancton ou les capacités natatoires de certains groupes (i.e. Cryptophytes) peuvent influencer les caractéristiques de flottabilité et donc le devenir des cellules. Toutefois, l'intensité des forces physiques qui s'appliquent aux habitats pélagiques dans les estuaires limite l'efficacité de ces stratégies.

Les apports marins

Tout comme le débit fluvial, l'intensité des marées peut casser la stratification des masses d'eaux, augmenter la concentration en MES et diminuer la luminosité. Dans ces conditions, la biomasse et la production à court-terme du phytoplancton peuvent diminuer rapidement (Cloern 1996). Ceci a notamment été observé dans l'estuaire du saint Laurent au Canada (Sinclair *et al.* 1981). De plus, l'océan côtier peut également être une source supplémentaire de nutriments en particulier dans les zones d'upwelling (Fig. 9). C'est le cas par exemple, dans la baie de Coos en Oregon (Hessing-Lewis *et al.* 2015) et plus globalement sur l'ensemble de la côte NO américaine (PNW) (Hickey and Banas 2003; Davis *et al.* 2014). Ainsi la production peut devenir extrêmement forte au cours de la saison estivale lorsque l'upwelling est présent, comparée à celle mesurée au printemps lors de la relaxation de l'upwelling (Figueiras *et al.* 2002). Les apports marins peuvent également être une source de biomasse phytoplanctonique provenant des eaux du large transportées dans les estuaires (Martin *et al.* 2007). Cet apport peut ainsi être une source supplémentaire de carbone organique qui va soutenir les réseaux trophiques locaux (Smith and Hollibaugh 1997).

Les mouvements de la marée vont également influencer les zones intertidales des estuaires. Ainsi, la biomasse microphytobenthique semble être plus importante en haut d'estran (Brotas and Catarino 1995; Santos *et al.* 1997) sûrement dû à des teneurs en eau moins importantes, une remise en suspension moins fréquente ne limitant pas la pénétration de la lumière et des périodes d'émersion plus longues (Guarini *et al.* 1998; Underwood and Kromkamp 1999).

La salinité

La rencontre des eaux marines et des eaux douces est à l'origine de l'établissement d'un gradient horizontal et d'un gradient vertical de salinité. Ces deux gradients vont jouer un rôle important sur la dynamique des producteurs primaires. La stratification des eaux et la dynamique du gradient vont être définies par l'importance du mélange des eaux, rythmé par l'intensité des marées et du débit du fleuve, mais également par les caractéristiques morphologiques de chaque estuaire. La salinité va ainsi principalement influencer la répartition des espèces photosynthétiques et une succession graduelle entre des populations phytoplanctoniques d'eaux douces, d'eaux salées et les populations méso- et poly-halines dites estuariennes, sera observée le long du gradient de salinité (Kromkamp and Peene 1999). En effet, les espèces perdent une partie de leur compétitivité du fait d'une augmentation de la demande énergétique lors de la mise en place des mécanismes d'osmorégulation et généralement, les conditions hyper ou hypo-osmotiques vont induire chez ces espèces : (i) une inhibition de la photosynthèse (Guillard and Ryther 1962; Olsen and Paasche 1986) ; (ii) une augmentation de la respiration et (iii) déclencher les processus de photoinhibition dont la dynamique va dépendre du degré de mélange des masses d'eau. Ainsi, les communautés d'eaux douces sont souvent composées de chlorophycées (Gosselain *et al.* 1994; Muylaert *et al.* 2009), les communautés côtières sont composées principalement de diatomées marines et de dinoflagellés, principalement aux saisons printanière et estivale, et les communautés estuariennes sont quant à elles plutôt composées d'espèces avec de larges gammes d'acclimation à la salinité (Muylaert *et al.* 2009). Ces communautés provenant à la fois des eaux douces et des eaux salées deviennent ainsi plus compétitrices que les autres avec le mélange des eaux. Les zones de transition entre deux biomes telles que les estuaires sont ainsi souvent caractérisées par des changements prononcés dans la composition et la diversité des communautés et peuvent être définies comme des écotones ou des écoclines (Van Der Maarel 1990). Un écotone est défini comme une zone dynamique avec un changement rapide de l'environnement caractérisé par des communautés différentes de celles des deux biomes adjacents tandis qu'une écocline définit une zone avec des gradients de variables environnementales caractérisées par un continuum d'assemblages le long de ces gradients. Bien que les estuaires aient souvent été définis comme des écotones, depuis le début du XXI^e siècle, plusieurs études les ont définis comme des écoclines (Attrill and Rundle 2002; Cortelezzi *et al.* 2007; Muylaert *et al.* 2009). Les forts gradients qui s'appliquent dans les estuaires (principalement la salinité, la turbidité et les nutriments) constituent des forces sélectives d'espèces et provoquent des successions temporelles et spatiales du phytoplancton. En effet,

ces facteurs influent sur la biomasse du phytoplancton et peuvent changer la structure de la communauté (Trigueros and Orive 2000; Lionard *et al.* 2008; Muylaert *et al.* 2009; Vigil *et al.* 2009). La diversité des communautés de producteurs primaires apparaît donc comme étant également une variable importante pouvant influencer la production primaire estuarienne.

Structure des communautés phytoplanctoniques estuariennes

Les gradients thermiques, halins ou nutritifs constituent des zones hautement dynamiques où se produisent de profonds changements écologiques (e.g. Bouvier & Giorgio 2002; Schapira *et al.* 2009; Schapira *et al.* 2010). Ces gradients sont nombreux en milieux estuariens et peuvent jouer un rôle primordial sur la répartition des différentes classes de taille du phytoplancton et sur leurs contributions respectives à la production primaire totale (e.g. Liu *et al.* 2004; Gaulke *et al.* 2010; Ribalet *et al.* 2010; Mitbavkar *et al.* 2012). Ces changements au sein de la communauté phytoplanctonique peuvent avoir de lourdes conséquences sur l'ensemble du réseau trophique pélagique des estuaires et sur les cycles biogéochimiques. La matière organique issue des producteurs primaires autochtones non transmise vers les niveaux trophiques supérieurs va alimenter la boucle microbienne. Cette matière fraîche, plus labile que la matière détritique allochtone, va permettre le développement de certaines communautés bactériennes différentes de celles qui se développent sur la matière détritique.

Les études précédentes réalisées en estuaires, bien que peu nombreuses et restreintes aux grands estuaires nous montrent une dynamique de la diversité phytoplanctonique qui diffèrent en fonction de chaque estuaire en raison de la grande variabilité au niveau de la dynamique des processus physicochimiques (Lancelot and Muylaert 2012). Les analyses de diversité souvent réalisées dans des zones restreintes des estuaires (e.g. MTZ) semblent principalement basées sur des approches par microscopie optique (Jouenne *et al.* 2007) et par analyse pigmentaire (HPLC) alors que les approches par biologie moléculaire restent très rares (Bazin *et al.* 2014) (Fig. 10).

Plusieurs études mettent également en évidence le rôle des petites classes de taille de phytoplancton et en particulier des Cyanobactéries du genre *Synechococcus* dans différents types d'écosystèmes estuariens : Baie de Chesapeake (Ray *et al.* 1989; Affronti and Marshall 1993; Wang *et al.* 2011), estuaire de Southampton (Iriarte 1993; Iriarte and Purdie 1994), les Baies de Blanes (Agawin *et al.* 1998), de San Francisco (Ning *et al.* 2000), de Pensacola (Murrell and Lores 2004) et de l'estuaire de Changjiang (Pan *et al.* 2007). Au vu de ces résultats, il apparaît donc indispensable d'améliorer nos connaissances sur la dynamique et le rôle fonctionnel du pico- et nanophytoplancton au sein des écosystèmes estuariens. Ceci étant

nécessaire à une meilleure estimation du rôle de la production primaire autochtone sur l'ensemble des écosystèmes estuariens.

L'ensemble de ces caractéristiques propres aux estuaires, s'ajoute donc aux autres facteurs environnementaux et biologiques limitants pour la production primaire. En effet, la température va également jouer un rôle important dans les estuaires comme, par exemple, dans les estuaires du Taggus (Gameiro *et al.* 2011), de Rhode (Gallegos 2012) ou de Neuse (Peierls *et al.* 2012). L'augmentation de la biomasse chlorophyllienne se répercute sur les compartiments supérieurs du réseau trophique par l'augmentation de la biomasse des consommateurs tels que les copépodes (Kiorboe and Nielsen 1994) ou les mollusques bivalves (Beukema and Cadée 1991) qui peuvent cependant devenir eux-mêmes des régulateurs top-down importants de la production primaire (Meeuwig 1999) dans les estuaires.

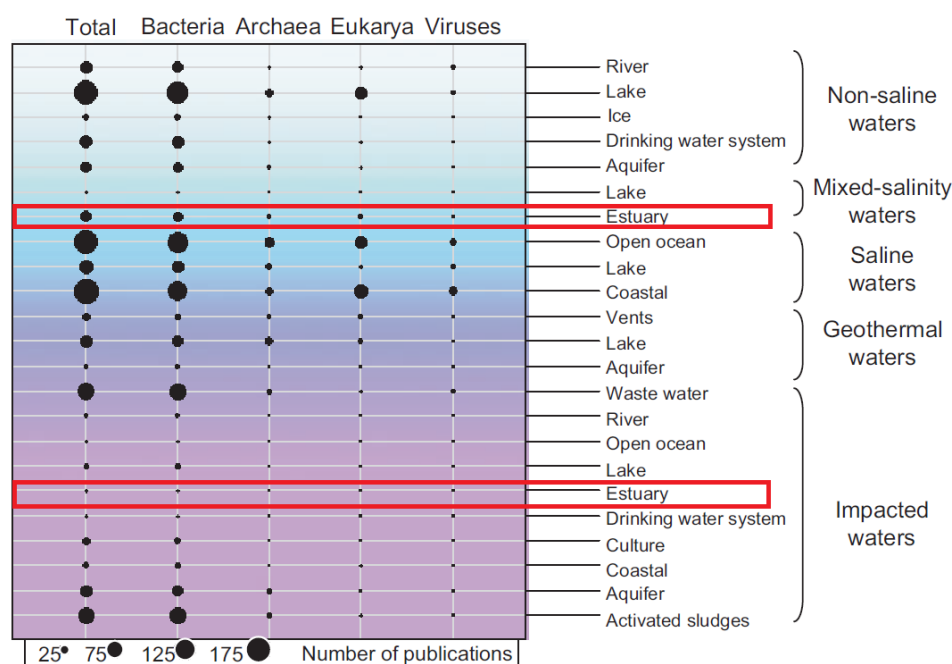


Figure 10. Schématisation du nombre d'études de la diversité réalisées par approche moléculaire. Les zones estuariennes ont été encadrées en rouge. D'après Zinger *et al.* (2012).

En raison des nombreux gradients spatiaux qui s'exercent au sein d'un estuaire (salinité, turbidité, nutriments), la variabilité spatiale de la production primaire au sein des estuaires est donc très importante. Ainsi entre plusieurs sites spatialement distincts, les valeurs de production peuvent être très variables comme dans l'estuaire de l'Escaut en 1991 où la production variait entre 78 et 493 gC.m⁻².an⁻¹ (Kromkamp *et al.* 1995). Les mesures mono-site ne permettent donc pas d'estimer la dynamique de la production primaire à l'échelle des écosystèmes dynamiques

tels que les estuaires (Jassby *et al.* 2002) et la méthode d'échantillonnage peut s'avérer être également une source de variabilité importante entre les valeurs de la production primaire des différents estuaires étudiés.

L'ensemble des études réalisées en estuaire a ainsi permis la caractérisation approfondie du fonctionnement de ces écosystèmes. Cependant, ces études sont le plus souvent restreintes aux grands estuaires mondiaux qui ont longtemps eu le monopole des investigations tels que les estuaires de l'Escaut (Belgique/ Pays-Bas), de l'Elbe (Allemagne), de Delaware ou de la Neuse, ainsi que les baies de Chesapeake ou de San Francisco. Ainsi, notre connaissance de la production primaire dans les écosystèmes estuariens est biaisée par la forte concentration d'échantillonnages principalement basés en mer Baltique et au niveau des côtes Nord-Américaines (Cloern *et al.* 2014). Les études scientifiques dans de nombreux estuaires de moins grandes envergures ou aux enjeux économiques moins importants restent fragmentaires voire inexistantes. C'est le cas de l'estuaire de Seine où très peu d'études ont été réalisées autant sur le compartiment pélagique que sur le compartiment benthique. Ainsi, à l'heure actuelle, la dynamique spatiale et temporelle de la production primaire dans cet estuaire reste à explorer. Par ailleurs, bien que des études ont été réalisées sur la diversité et les flux de matière en Seine (Billen *et al.* 2001; Garnier *et al.* 2001b; Billen and Garnier 2007; Némery and Garnier 2007), peu de données sont disponibles pour l'estuaire, voir aucune. Ces données étant pourtant essentielles à la compréhension et à la gestion de cet écosystème aux forts intérêts économiques et écologiques.

7. L'estuaire de Seine

Territoire économique et écologique

Le bassin versant de Seine occupe 78 600 km², soit 12% du territoire de la France. Cet espace héberge environ 17,5 millions de personnes, notamment l'agglomération parisienne, l'une des plus grandes mégaloïles européennes soit 26% de la population française (2011). Il contribue pour 50% du trafic fluvial français, 40% de l'activité économique et 30% de l'activité agricole nationale. Le réseau hydrographique de Seine, utilisé et aménagé depuis des siècles, n'a plus rien de naturel. Barrages, digues, écluses ont accompagné le développement de la navigation et contribué au contrôle des crues pour prévenir les inondations. La qualité de l'eau est donc tributaire des activités humaines. Dans les parties amont du bassin, l'activité agricole est à l'origine d'une pollution par les engrais et pesticides. A l'aval des grandes agglomérations,

les rejets des stations d'épuration et les eaux pluviales ruisselant sur les surfaces imperméabilisées (voirie, bâtiments...) restent des sources de polluants domestiques et urbains en dépit de la construction de stations d'épuration et de bassins de décantation. L'activité industrielle est, enfin, une autre source de contamination de l'eau par les hydrocarbures, métaux lourds, et autres polluants émergents, sans oublier la pollution thermique.

L'estuaire de Seine correspond aux 160 derniers kilomètres du fleuve et est délimité par le barrage de Poses en amont, qui constitue un obstacle infranchissable pour les marées, et par la partie orientale de la baie de Seine en aval (Fig. 11). La limite entre eau saumâtre et eau douce, variable, se situe aux environs de Vieux-Port. Il peut être délimité en trois zones : l'estuaire aval (estuaire marin, bas estuaire ; eau salée), de la baie de Seine à Honfleur (PK 355) ; l'estuaire moyen (mélange eaux douce, eau salée ; siège du bouchon vaseux), de Honfleur jusqu'à Vieux-Port (PK 324) et l'estuaire amont (estuaire fluvial, haut estuaire ; eau douces), de Vieux-Port au barrage de Poses, à 160 km du Havre (PK 202).

Le réseau urbain de l'estuaire est structuré autour de deux communautés d'agglomération, celle du Havre (250 000 habitants pour 17 communes) et celle de Rouen, Elbeuf, Austreberthe (près de 500 000 habitants pour 71 communes). La Seine et son estuaire représente un territoire économique majeur pour la France notamment par ses deux ports maritimes : Le Grand Port Maritime du Havre (GPMH) et le Grand Port Maritime de Rouen (GPMR). Cependant, gérer l'estuaire de façon intégrée et durable en tenant compte des développements économiques et sociaux et de la préservation de la biodiversité et des paysages reste un débat constant. Le manque de connaissances scientifiques relatives au fonctionnement de l'estuaire de Seine, les préoccupations environnementales sur cet espace à fort intérêt économique mais aussi patrimonial et sa lente dégradation ont conduit à la mise en place de nombreux aménagements et de programmes de recherche comme le GIP Seine-Aval. Depuis, un accroissement significatif des connaissances sur l'estuaire de Seine a pu être observé et l'état de l'estuaire s'est notablement amélioré au cours des dernières décennies : anoxies plus réduites en durée et en extension, réduction des phosphores et des contaminations métalliques, amélioration de la qualité des eaux, etc.

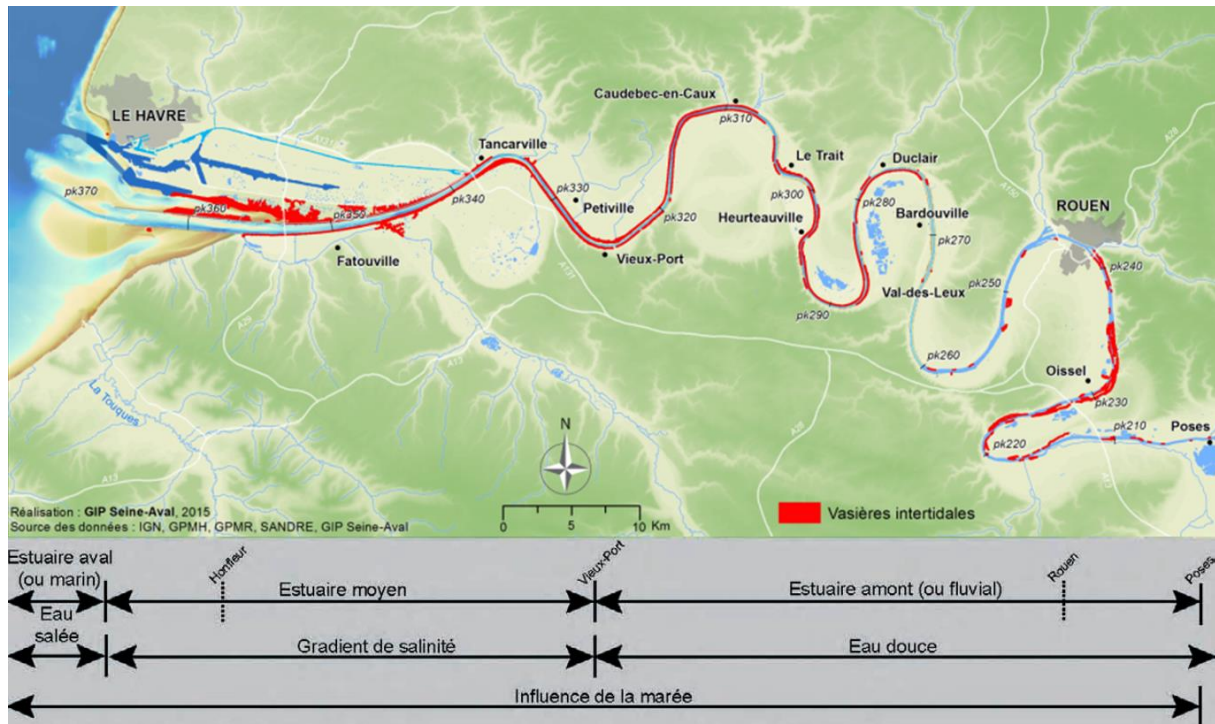


Figure 11. Carte de l'estuaire de Seine, des vasières intertidales et délimitation des différentes zones de l'estuaire (Estuaire aval, moyen et amont). Source : ouvrage collectif « La Seine en Normandie », GIP Seine-Aval.

Dynamique hydrologique et apports fluviaux

Le débit moyen de la rivière à Poses est de $436 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ avec une période de fort débit de décembre à avril atteignant $1200 \text{ à } 2500 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ et une période de faible débit avec environ $250 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (Données GIP Seine-Aval, 2008; 2011). La salinité varie, dans la partie oligohaline de 0,5 à 5 ; dans la partie mésohaline, de 5 à 18 ; dans la partie polyhaline de 18 à 30 et dans la partie euhaline, elle est supérieure à 30. L'estuaire de Seine est de type macrotidal, avec une amplitude de marée allant de 3 à 7 m à Honfleur et de 1 à 2 m à Poses. Le temps de séjour moyen dans l'estuaire varie entre 18 jours pour un débit de $200 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ à Poses et 5 jours pour un débit de $1000 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (Brenon and Hir 1999; Even *et al.* 2007). Les courants de marée, quant à eux, atteignent $2,5 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ et sont orientés vers le large avec une composante Nord. La marée dans l'estuaire de Seine se caractérise par une tenue du plein à marée haute de plus de deux heures et met en moyenne six heures à se propager de l'embouchure de Seine jusqu'à Rouen (fig. 11) en raison de la déformation de l'onde de marée pendant la propagation dans les zones peu profondes (Brenon and Hir 1999; Wang *et al.* 2002). Le flot est asymétrique en faveur du jusant et cette asymétrie augmente au fur et à mesure que la marée se propage en amont de l'estuaire.

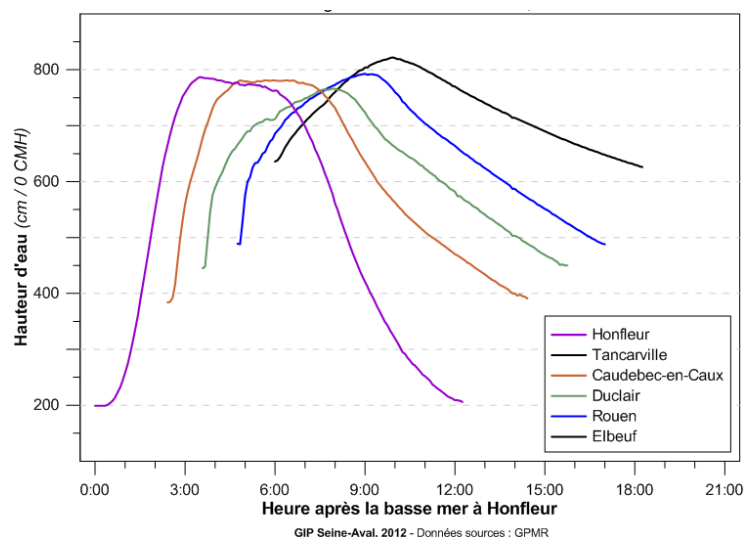


Figure 12. Courbe de marée dans l'estuaire de Seine le 20 mars 2010 pour un débit à Poses de $397 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ et un coefficient de marée de 83. Les courbes marégraphiques présentées correspondent à la hauteur d'eau mesurée par les marégraphes situés en différents points de l'estuaire de Seine. Données GIP-Seine-Aval (2012).

A l'échelle saisonnière, la température de l'eau oscille entre 25°C en été et 7°C en hiver avec des différences inférieures à 1°C le long du profil longitudinal et un faible gradient vertical (Data GIP Seine-Aval, 2008 ; 2011). La zone de turbidité maximale (MTZ), contenant jusqu'à $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de matière en suspension, est le plus souvent située entre Honfleur et Tancarville, mais peut se déplacer en amont en fonction de l'intensité de la marée et de la décharge de la rivière. Pendant les inondations hivernales, la MTZ peut être évacuée dans la baie de Seine (Etcheber *et al.* 2007; Garnier *et al.* 2010).

Les nutriments retrouvés au niveau de l'estuaire ont pour origine principale les activités anthropiques. En effet, les apports en azote et en phosphore résultent principalement des activités agricoles (lessivage, élevages), des rejets industriels et urbains. La silice provient essentiellement de l'altération des roches et n'est que faiblement influencée par l'activité humaine (Meybeck 1998; Aminot and Kérouel 2004). Les ortho-phosphates (PO_4^{3-}) et l'ammonium (NH_4^+) sont issus de la dégradation de la matière organique (MO) dans les stations d'épurations ou dans le milieu. Les rejets sont principalement issus de l'agglomération parisienne. Les PO_4^{3-} sont en partie adsorbés par les MES, leurs concentrations varient à l'échelle annuelle et saisonnière en fonction du débit, suivant une loi de dilution. Depuis les années 1990, les concentrations en NH_4^+ et PO_4^{3-} ont notablement diminuées du fait de l'amélioration des traitements (Data GIP Seine-Aval, 2008 ; 2011). L'ammonium présente les concentrations les plus élevées et subit une décroissance le long du fleuve *via* le processus de nitrification (oxydation de l'ammonium [NH_4^+] en nitrites [NO_2^-] puis en nitrates [NO_3^-]). Le nitrate est la forme azotée dominante dans l'estuaire et se dilue au niveau de l'estuaire aval. Les

concentrations en nitrates sont plus élevées par fort débit en raison du lessivage (Mignolet *et al.* 2007) et suivent une évolution opposée aux PO_4^{3-} avec un accroissement continu depuis les années 1990 pouvant également être dû à l'amélioration de l'oxygénation, réduisant la dénitrification. La silice subit des variations au printemps et à l'automne suite à son utilisation par les diatomées mais les concentrations semblent rester stables à l'échelle interannuelle. La MTZ piège les MES et participe ainsi à la dégradation des éléments nutritifs avec 40% de dégradation du flux azoté en situation sèche et 12% en situation humide, les flux de phosphore sont quant à eux très faiblement réduits (<10%) (Billen and Garnier 2007), régulant ainsi les risques d'eutrophisation. L'eutrophisation, qui peut être définie d'après l'ESCO (Expertise Scientifique Collective – Eutrophisation, 2017) comme un « **Syndrome d'un écosystème aquatique associé à la surproduction de matières organiques induit par des apports anthropiques en phosphore et en azote** », favorise, par ces apports, le développement du phytoplancton dont certaines espèces toxiques comme *Alexandrium sp*, *Dinophysis sp*, et *Pseudo-nitzschia australis* sont fréquemment observées dans le panache de Seine (REPHY-IFREMER). Il est à noter qu'aucun évènement toxique à PSP (*Alexandrium*) n'a été observé dans l'estuaire et la baie de Seine alors que des interdictions de pêche frappent fréquemment la baie de Seine à cause d'évènements toxiques à DSP ou ASP (*Dinophysis sp* et *Pseudo-nitzschia spp*). Au cours de la dernière décennie, le passage d'un milieu limité en azote à un milieu limité en phosphore, dû au traitement des orthophosphates, a cependant diminué les risques d'eutrophisation (Data GIP Seine-Aval, 2008 ; 2011) mais des dystrophies sont fréquemment présentes en baie de Seine (Thorel *et al.* 2014).

Patrimoine biologique et réseau trophique

A notre connaissance, les dernières mesures de production primaire sur la Seine et son estuaire ont été réalisées en 1996 pour le compartiment phytoplanctonique (Videau *et al.* 1998) et en 2003 pour le microphytobenthos sur 2 stations de la vasière nord à l'entrée de l'estuaire (Spilmont *et al.* 2006). Aucune étude ne s'est intéressée à la dynamique du micro-phytoplancton dans l'estuaire de Seine. De plus, la distribution des communautés pico- et nano-phytoplanctoniques, ainsi que leurs contributions relatives à la production primaire et à la biomasse totale dans les différentes zones de l'estuaire de Seine est encore à explorer. Bien qu'un suivi de différents paramètres physicochimiques (hydrographie, nutriments, contaminants) et biologique (chl *a*) soit réalisé depuis plusieurs années par des remontées régulières du fleuve de Seine dans le cadre du suivi de la qualité des eaux (Agence de l'Eau

Seine-Normandie (AESN)- Banque Qualit'eau), la zone estuarienne étudiée se résume à deux stations, situées aux limites amont et aval, échantillonnées mensuellement de mars à octobre. Ces résultats, basés sur la chl *a*, spatialement éloignés et temporellement incomplets ne permettent cependant pas d'appréhender la variation spatiale et temporelle de la production primaire dans l'estuaire pourtant indispensable. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, la chl *a* n'est pas un bon indicateur de la productivité d'un système et la haute résolution spatiale et temporelle des mesures est nécessaire pour appréhender la variabilité de la production primaire.

En revanche, la dynamique du phytoplancton dans la rivière de Seine a fait l'objet de nombreuses études (Billen *et al.* 2001, 2007). La croissance printanière, dominée par les diatomées, démarre au printemps dans les cours d'eau d'ordre 6 (nombre de Strahler). L'importance des apports en azote (N) et phosphore (P) engendre des biomasses dépassant les 100µg.L⁻¹ de chl *a* au printemps dans les cours d'eau d'ordre 6 et 7. Plus tard, avec l'augmentation de la température, les chlorophycées prennent le relai des diatomées et les facteurs de contrôle biologiques (zooplancton, filtreurs, virus, etc.) se mettent en place, entraînant une chute abrupte de la biomasse algale. Cette chute qui s'observe dans les cours d'eau d'ordre 6 peut être suivie d'une reprise de la croissance algale en aval (cours d'eau d'ordre 7&8 et estuaire). L'estuaire reçoit à partir du printemps et parfois tout l'été des biomasses algales considérables produites dans les rivières d'ordre 6. L'accroissement de la turbidité et de la profondeur limite l'éclairement et diminue la photosynthèse, le ratio production/consommation diminue alors brutalement (Data GIP Seine-Aval, 2008 ; 2011). De plus, l'accroissement des processus de lyse et de broutage en zone portuaire diminue la biomasse (Akopian *et al.* 1999). Après Tancarville, l'accroissement de la salinité achève de lyser les algues dulçaquicoles. L'eutrophisation de l'estuaire entraîne cependant un accroissement de la biomasse algale apportée par le fleuve. On connaît le démarrage printanier des diatomées (notamment *Skeletonema costatum*) et la floraison estivale des dinoflagellés (*Gymnodinium spp.*) avec une quasi-exclusion mutuelle entre les deux genres (Data GIP Seine-Aval, 2008 ; 2011).

En ce qui concerne les bactéries, leur production serait comprise entre 1 et 2,5 µgC/l/h entre Tancarville et Honfleur. Le zooplancton a également été étudié dans l'estuaire de Seine et le copépode *Eurytemora affinis* (Poppe, 1880) apparaît comme étant la composante majeure du mésozooplancton estuarien et présente de fortes abondances dans la zone oligohaline (<18) de l'estuaire (jusqu'à 200 000 ind.m⁻³) mais peut être observé dans la zone mésohaline. Il présente trois périodes d'abondance maximale : février – mars, à la mi-avril et fin mai. Il se

nourrit principalement du phytoplancton d'origine fluviale.

Il existe plusieurs paradoxes au sein de l'estuaire, notamment l'extrême abondance de la biomasse des premiers maillons des chaînes trophiques et le fait qu'ils soient soumis à des apports très élevés de contaminants. Mais également entre l'abondance des proies disponibles et la pauvreté de l'ichtyofaune. Les causes synergiques seraient : la destruction des habitats, l'apparition d'obstacles sur les voies de migrations, la dégradation de la qualité de l'eau, la pression de pêche, la réduction des vasières, la chenalisation ou encore les dragages.

8. Problématique et objectifs

Les apports anthropiques, provenant de l'ensemble du bassin versant, font de l'estuaire de Seine un système fortement eutrophisé (Billen *et al.* 2001) où la richesse biologique est importante et qui génère une forte productivité. Cette production primaire, qui peut avoir une origine allochtone ou autochtone est cependant mal évaluée dans l'estuaire de Seine.

L'estuaire de Seine étant un système macrotidal, la production primaire doit être considérée au niveau planctonique et benthique. L'efficacité du transfert de la production primaire autochtone vers les niveaux trophiques supérieurs et le devenir de cette matière organique va dépendre de la qualité de cette matière en terme de digestibilité ou de dégradabilité (McCallister *et al.* 2006). La taille des particules (microalgues, débris de macroalgues) va également jouer un rôle prédominant dans les propriétés de transfert de cette matière vers les niveaux trophiques supérieurs (Barnes *et al.* 2011). La qualité de la matière et la taille des microalgues sont largement dépendantes du phylum, de la classe voire de l'espèce considérée. Ainsi la diversité des assemblages est une information essentielle pour comprendre le fonctionnement écologique de l'estuaire mais également pour mieux appréhender la potentialité du transfert trophique.

Le but de cette étude est de se focaliser sur le compartiment des producteurs primaires en évaluant la dynamique spatiale et temporelle de la production primaire et de la biodiversité à l'échelle de l'estuaire de Seine en considérant le phytoplancton et le microphytobenthos. L'un de nos objectifs est notamment de pouvoir accéder à des mesures de production primaire phytoplanctonique à une haute résolution spatiale.

Afin de pouvoir estimer la production primaire de l'estuaire de Seine, plusieurs campagnes d'échantillonnages ont été réalisées à haute résolution spatiale le long du gradient salin de l'estuaire de Seine et temporelle au cours de l'année 2015 aux échelles saisonnière et journalière. Afin d'obtenir une estimation à haute résolution, les paramètres photosynthétiques ont été mesurés à haute fréquence à l'aide de la technologie PAM sur chacun des compartiments

phytoplanctonique et microphytobenthique. Pour le phytoplancton, ces mesures ont été couplées à des mesures traditionnelles d'incorporation de carbone (^{13}C) à basse fréquence afin d'estimer la dynamique de production en terme de carbone (Napoléon and Claquin 2012). Dans le but de comprendre la variabilité annuelle de cette production, les paramètres physicochimiques, la diversité phytoplanctonique et le compartiment pico- et nano-phytoplanctonique rarement étudié en zone estuarienne, ont également été mesurés. Enfin, la dynamique de la production primaire excrétée sous forme de TEP et d'EPS a également été étudiée pour chacun des compartiments planctonique et microphytobenthique. D'autre part, en laboratoire, des expériences visant à améliorer la précision des estimations de la production primaire ont été réalisées.

La seconde partie de ce manuscrit présente l'ensemble des stratégies d'échantillonnage et des méthodes qui ont été utilisées au cours de cette étude. Les parties 3 à 5 présentent les publications scientifiques qui ont été rédigées au cours de cette étude. Enfin, la sixième partie reprend les conclusions obtenues lors de cette étude dans une discussion générale visant à définir la dynamique spatiale et temporelle de la production primaire de l'estuaire de Seine. Dans cette dernière partie, les valeurs de production, la dynamique des producteurs primaires et les méthodes utilisées ont ainsi été comparées avec les autres études réalisées dans ces écosystèmes spécifiques.

La troisième partie correspond à l'étude du compartiment phytoplanctonique. Le premier article vise à étudier en laboratoire la dynamique journalière de la relation ETR/C en fonction du cycle nycthéral de la lumière en utilisant différentes méthodes de mesure. En effet, afin de répondre aux objectifs présentés ci-dessus, notre méthode d'estimation de la production primaire nécessitait de pouvoir appréhender la dynamique journalière du $\phi_{e,C}$. Par ailleurs, les différentes méthodes utilisées pour estimer les paramètres photosynthétiques peuvent influencer l'estimation de ce paramètre (Lawrenz *et al.* 2013). Pour cette raison, l'ETR a été estimé en utilisant deux méthodes différentes afin de comprendre l'impact de la méthode sur la dynamique du $\phi_{e,C}$. Le second article a pour objectif d'étudier la dynamique annuelle de la production primaire phytoplanctonique de l'estuaire de Seine. Cet article présente ainsi les paramètres physicochimiques et biologiques obtenus lors des campagnes *in situ* le long du gradient salin de l'estuaire. Après avoir décrit l'évolution de la capacité photosynthétique du phytoplancton à haute fréquence et compris la façon dont elle est contrôlée, les données d'ETR obtenues à haute fréquence ont été converties en carbone. Pour cela, un modèle statistique prenant en compte les variables environnementales a été déterminé et a permis d'estimer la production primaire phytoplanctonique annuelle de l'estuaire de Seine.

La quatrième partie correspond à l'étude de la dynamique des excréments de carbone sous forme de polysaccharides (EPS et TEP) réalisées par les producteurs primaires. Ainsi, le premier article étudie au cours d'un cycle tidal, le lien entre les paramètres photosynthétiques et la dynamique des TEP et EPS. L'objectif de cette étude étant d'estimer si la distribution et la variabilité journalière de ces polysaccharides dans l'estuaire de Seine est contrôlée par les paramètres physiques, chimiques ou biologiques. Parallèlement, la contribution des compartiments phytoplanctoniques et microphytobenthiques dans le pool d'EPS disponible dans l'estuaire a été estimée. Le second article a pour objectif d'étudier le lien qu'il pourrait exister entre la dynamique saisonnière des TEP et EPS et la diversité du phytoplancton en considérant les différentes classes de taille de ce compartiment.

La cinquième partie, quant à elle, correspond à l'étude du compartiment microphytobenthique. Le premier article correspond à une étude méthodologique qui a pour objectif d'étudier la variation de l'atténuation de la lumière dans le sédiment en considérant les différents mélanges sablo-vaseux pouvant être observés sur une zone intertidale. Cette étude a permis de développer un outil opérationnel de correction de données *in situ* en fonction de la répartition de la chlorophylle et des paramètres sédimentaires de l'environnement du microphytobenthos. Le second article de cette partie a pour objectif d'étudier la dynamique du compartiment microphytobenthique et présente les paramètres physiques, chimiques et biologiques obtenus lors des campagnes *in situ* sur les zones intertidales de l'estuaire. Après avoir décrit l'évolution de la capacité photosynthétique du compartiment microphytobenthique sur les différentes vasières de l'estuaire et compris les différents facteurs qui l'influencent, la production primaire microphytobenthique a été estimée pour les deux périodes productives de ce compartiment.

PARTIE 2 : MATERIEL ET METHODES

A. Etudes in situ

1. Site d'étude

L'ensemble des connaissances sur l'estuaire de Seine nécessaire pour cette étude a été présenté chapitre 1.

2. Compartiment phytoplanctonique

2.1. Stratégie d'échantillonnage

Deux stratégies d'échantillonnage ont été mises en place en 2015 afin d'étudier la variation spatiale et temporelle de la production primaire phytoplanctonique :

- Un échantillonnage mensuel au cours de l'année 2015, sur un réseau de 8 stations réparties le long du gradient salin de l'estuaire (Tab. 2 ; fig. 13) afin d'appréhender les dynamiques spatiale et saisonnière du phytoplancton (biomasse, production primaire, excrétion, diversité).
- Un échantillonnage toutes les heures au cours d'un cycle de marée (i.e. 12 heures), en point fixe, sur 3 stations contrastées en termes de salinité : « La Carosse », « Fatouville » et « Tancarville » (Tab. 2 ; fig. 13), au cours des périodes de crue (février 2015) et d'étiage (juillet 2015) afin d'appréhender la dynamique temporelle, à court terme, du phytoplancton (biomasse, productivité et excrétion) à deux saisons contrastées.

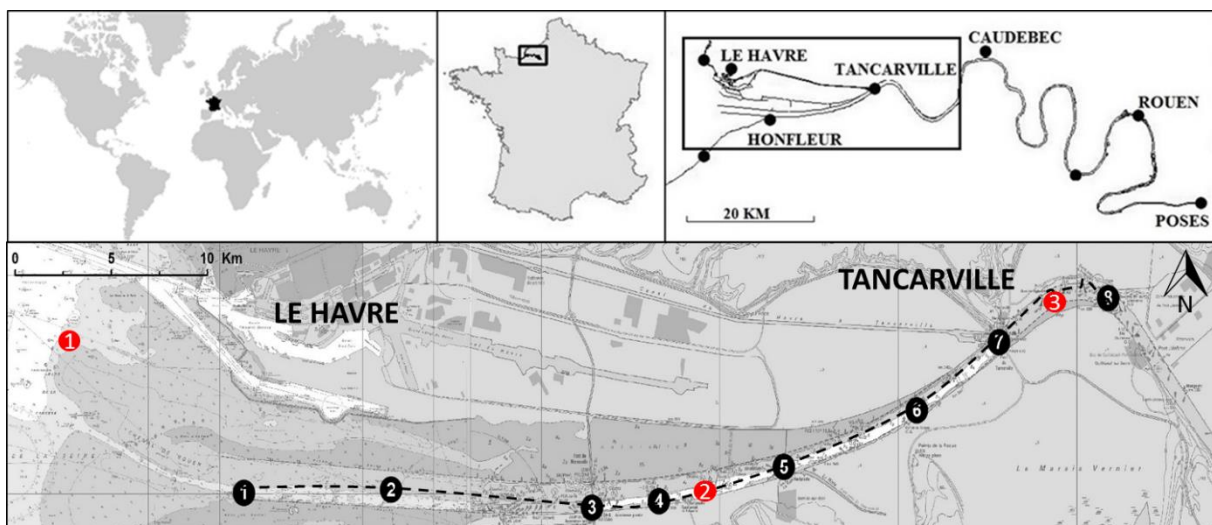


Figure 13. Localisation des stations d'échantillonnage sur l'estuaire de Seine pour les campagnes mensuelles (points noirs ; stations 1 à 8) échantillonnées en transect (ligne pointillée) et les campagnes journalières (points rouges avec 1 : La Carosse, 2 : Fatouville et 3 : Tancarville) échantillonnées au cours d'un cycle de marée.

Tableau 2. Coordonnées géographiques des stations d'échantillonnage.

Echantillonnage	Label	Latitude	Longitude
Mensuel - Toute l'année 2015	S1	49°26.015' N	0°06.754' E
	S2	49°25.817' N	0°11.018' E
	S3	49°25.779' N	0°16.454' E
	S4	49°25.876' N	0°18.284' E
	S5	49°26.368' N	0°27.845' E
	S6	49°27.327' N	0°25.585' E
	S7	49°28.369' N	0°27.845' E
	S8	49°28.987' N	0°31.015' E
Journalier - Au cours d'un cycle de marée	La Carosse	49°29.110' N	0°01.600' E
	Fatouville	49°26.202' N	0°19.274' E
	Tancarville	49°28.472' N	0°28.241' E

Les campagnes mensuelles d'échantillonnage ont été réalisées de janvier à décembre 2015 à bord du NO « Delphy », du laboratoire Ifremer LER-N. Chaque mois, un transect le long des 8 stations a été réalisé. Afin d'échantillonner une masse d'eau stable tout au long du transect, les échantillonnages ont été réalisés en journée, avec un coefficient de marée autour de 90 (Tab. 2) et pendant l'étale de marée haute. En effet, l'estuaire de Seine a la particularité de présenter une tenue du plein à marée haute qui dure plus de deux heures. Les mesures ont ainsi été réalisées en profitant de cette tenue du plein.

Les campagnes journalières ont été réalisées en février et juillet 2015 à bord du NO « Côtes de la Manche », CNRS-INSU. Pour chaque campagne, les prélèvements et mesures ont également été réalisés sous des conditions de marée moyenne (coefficient ≈ 90 ; tab. 3).

Tableau 3. Dates d'échantillonnage et coefficients de marée lors des campagnes PROUESSE et SUSPENS-SYNAPSES.

LES:

Echantillonnage		Date	Coefficient de marée	
Mensuel - Toute l'année 2015		Janvier	19/01/2015	80
		Février	18/02/2015	92
		Mars	05/03/2015	82
		Avril	16/04/2015	80
		Mai	13/05/2015	56
		Juin	15/06/2015	87
		Juillet	15/07/2015	80
		Août	28/08/2015	86
		Septembre	17/09/2015	75
		Octobre	12/10/2015	81
		Novembre	23/11/2015	77
		Décembre	10/12/2015	75
Journalier - Au cours d'un cycle de marée	Crue Hiver	La Carosse	03/02/2015	79
		Fatouville	04/02/2015	84
		Tancarville	05/02/2015	86
	Etiage Été	La Carosse	18/07/2015	86
		Fatouville	16/07/2015	84
		Tancarville	17/07/2015	85

Campagnes mensuelles

Les prélèvements d'eau ont été effectués en surface sur toutes les stations à l'aide d'une pompe et en profondeur (1 mètre au-dessus du fond) sur les stations S2, S4, S6 et S8 à l'aide d'une bouteille Niskin. Tous les prélèvements d'eau ont été pré-filtrés sur une soie de 500 µm afin d'éliminer les plus gros débris avant d'être conditionnés pour les différentes analyses. Suivant les paramètres étudiés, les échantillons ont été conditionnés à bord (i.e. sels nutritifs, cytométrie, flores phytoplanctoniques) ou de retour au laboratoire (i.e. filtration). Le transport des échantillons d'eau a été réalisé dans des bidons opaques de 5L, maintenus au frais durant le transport.

Ainsi, les prélèvements ont permis de mesurer différents paramètres physicochimiques (sels nutritifs (DIN, P, Si) et matière en suspension (MES)), et biologiques (biomasse chlorophyllienne, polysaccharides, diversité phytoplanctonique). Les mesures de production primaire, basées sur l'incorporation de carbone (^{13}C), ont été réalisées pour les stations 2, 4, 6 et 8 et ont servi à calibrer les mesures de PAM à hautes fréquences. Des profils verticaux en profondeur des autres paramètres physicochimiques ont été réalisés sur chaque station avec une sonde multi-paramètres de type Seabird SBE 19plus-V2[®]. De la station 1 à 8, les paramètres photosynthétiques ont été mesurés en continu, au niveau de la surface, à l'aide de la version en « flux continu » (FT) du WATER-PAM (Waltz, Effeltrich, Germany). Pour cela un système de prélèvement par pompe installé sur le N.O. « Delphy », a permis d'obtenir une mesure toutes les 5 minutes.

Campagnes journalières

Les prélèvements ont été réalisés toutes les heures pendant 12 heures aux deux profondeurs à l'aide d'une bouteille Niskin. Tous les prélèvements d'eau ont été préfiltrés sur une soie de 500 µm afin d'éliminer les plus gros débris avant d'être filtrés et conditionnés directement à bord du navire. Ainsi, les prélèvements ont permis de mesurer différents paramètres physicochimiques (sels nutritifs (DIN, P, Si) et MES) et biologiques (biomasse chlorophyllienne, polysaccharides). Chaque heure, des profils verticaux ont également été réalisées à chaque station à l'aide d'une sonde multi-paramètres de type Seabird SBE 19plus-V2[®]. Les paramètres photosynthétiques ont été mesurés en continu, au niveau de la surface, à l'aide de la version en « flux continu » (FT) du WATER-PAM (Waltz, Effeltrich, Germany). Pour cela un système de prélèvement a été couplé à la pompe du thermo-salinomètre (Seabird) sur le NO « Côtes de la Manche », ce qui a permis d'obtenir une mesure toutes les 5 minutes.

2.2. Paramètres physicochimiques

Lumière et débit de la Seine

Les données de rayonnement solaire global (mesurés en $\text{Joules.cm}^{-2}.\text{h}^{-1}$) ont été récupérées *via* la station météorologique de la ville de Bernières/mer (49.332 °N ; 0.422 °W) pour chaque tranche horaire de l'année 2015. Les données ont été exprimées en μmol de $\text{photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ pour une longueur d'onde de 440 nm. Les débits utilisés dans cette étude sont mesurés quotidiennement à Poses (m^3/s) et fournis par le GIP Seine-Aval.

Sels nutritifs

L'eau de mer a été filtrée directement après le prélèvement à la sortie de la bouteille Niskin sur une soie de 100 μm pour le dosage des nitrates (NO_3^-), nitrites (NO_2^-), de l'ammonium (NH_4^+) et des phosphates (PO_4^{3-}) puis avec une préfiltration supplémentaire sur une membrane de type SFCA-GF de 0,45 μm pour le dosage des silicates (Si(OH)_4^-). A l'exception des silicates conservés à 4°C, les autres échantillons ont été congelés à -20°C jusqu'à l'analyse. Après décongélation, les sels nutritifs ont été dosés au LER-N (Ifremer) grâce à un auto-analyseur en flux continu (SEAL® AA3) suivant des protocoles standards (Aminot and Kérouel 2007). Le dosage des nutriments dans les eaux salines et eaux saumâtres fait partie de la portée d'accréditation du LER-N (section Essais, accréditation n° 1-2048, portée disponible sur le site www.cofrac.fr). des domaines d'étalonnage et de limites de quantification de présence, ou non, de blanc optique et/ou d'un effet de sel et d'incertitudes de mesures (Tableau 4) ont été définis pour chaque nutriment. Les concentrations en sels nutritifs ont été exprimées en μmol .

Tableau 4. Incertitudes et limites de quantification pour l'analyse des différents sels nutritifs (μmol) : nitrates (NO_3^-), nitrites (NO_2^-), ammonium (NH_4^+), phosphates (PO_4^{3-}) et silicates (Si(OH)_4^-). Les limites de quantification ont été établies pour les différents domaines de concentration.

	NO_3^-	NO_2^-	NH_4^+	PO_4^{3-}	Si(OH)_4^-
Incertitudes	3%	4,9%	10,1%	4,4%	0,7%
Limites de quantification	0,10	0,02	0,10	0,04	0,2
	0,60	0,05	0,30	n.a.	1,0

Matière en suspension

Des échantillons de 250 à 500 ml d'eau ont été filtrés sur des filtres GF/F (Porosité = 0,7 μm) pré-calcinés 4h à 450°C et pré-pesés sur une balance de précision. Chaque filtre a ensuite été rincé avec de l'eau distillée afin d'éliminer les particules de sels. Les filtres ont ensuite été séchés pendant 24h à 50°C puis pesés sur la même balance de précision que pour le

pré-pesage. La différence entre la masse du filtre après et avant filtration, permet d'estimer la concentration de matière en suspension (MES) exprimée en g.L^{-1} .

2.3. Paramètres biologiques

Biomasse chlorophyllienne

La biomasse phytoplanctonique a été estimée par dosage de la chlorophylle *a* (chl *a*). Afin d'estimer la biomasse des différentes classes de taille du phytoplancton, 250 à 500 ml d'eau de mer ont été filtrés sur des filtres GF/F d'une porosité de $0,7 \mu\text{m}$ pour l'estimation de chl *a* totale et sur des filtres polycarbonate Isopore d'une porosité de $10 \mu\text{m}$ pour l'estimation de chl *a* dans la fraction supérieure à $10 \mu\text{m}$. Les filtres ont ensuite été conservés au noir et à -20°C jusqu'à l'analyse.

Pour l'analyse, les filtres ont été plongés dans de l'acétone à 90% puis broyés et placés pendant une nuit à 4°C afin d'extraire les pigments chlorophylliens. Après centrifugation, la fluorescence de la chl *a* extraite a été mesurée dans le surnageant avant et après acidification ($10 \mu\text{L}$ de HCl, $0,3 \text{ M}$ pour 1 ml d'acétone) grâce à un fluorimètre (Turner Design TD-700®) suivant la méthode de Lorenzen (1966). Par différence entre la chl *a* totale et la chl *a* $>10 \mu\text{m}$, la concentration en chlorophylle des cellules de taille $<10 \mu\text{m}$ a été calculée. Ainsi pour chaque station, trois concentrations en chl *a* différentes sont disponibles: (i) chl *a* totale, (ii) chl *a* $>10 \mu\text{m}$ (i.e. biomasse du microphytoplancton) et (iii) chl *a* $<10 \mu\text{m}$ (i.e. biomasse du pico- et nanophytoplancton). Ces dosages ont été effectués à la station marine du CREC de l'Université de Caen au sein de l'unité BOREA. Les données de chl *a* ont été exprimées en $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Polysaccharides

La concentration en particules exopolymériques transparentes (TEP) a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique décrite par Claquin *et al.* (2008) adaptée de Passow & Alldredge (1995). Ainsi, des échantillons de 15 à 50 ml ont été filtrés sur des filtres à membrane polycarbonate Isopore de $0,4 \mu\text{m}$ (Millipore) et stockés à -20°C jusqu'à l'analyse. Les particules retenues sur les filtres ont été colorées avec 5 ml de bleu Alcian 0.02% (Sigma) dans de l'acide acétique 0.06% (pH 2.5). Après centrifugation à 3500 g pendant 30 minutes, les surnageants ont été jetés, les filtres rincés avec 5 ml d'eau MilliQ et centrifugés à nouveau. L'opération de rinçage a été répétée jusqu'à ce que tout l'excès de colorant soit complètement éliminé du culot. Après une nuit de séchage dans un stérilisateur à 50°C , 6 ml de H_2SO_4 à 80% ont été ajoutés et incubé durant 2 heures. L'absorbance du surnageant a été mesurée à l'aide d'un spectromètre

à 787 nm. L'absorption au bleu Alcian a été étalonnée à l'aide d'une solution de gomme de Xanthane (XG). Les concentrations de TEP ont été exprimées en $\mu\text{gXGeq.L}^{-1}$.

La teneur en exopolysaccharides solubles dit « colloïdaux » (S-EPS) a été mesurée à l'aide de la méthode de Dubois (Dubois *et al.* 1956; Orvain *et al.* 2014), le glucose étant le standard. Ainsi, après une filtration de 10 à 50 ml sur filtre GF/F, les filtrats ont été considérés comme contenant les S-EPS. Les S-EPS de haut et de bas poids moléculaire ont été séparés en incubant les échantillons dans de l'éthanol à 70% pendant 16 heures à -20°C . Les échantillons ont été centrifugés à 3500 g, à 4°C pendant 30 min. les surnageants contenant les S-EPS de faible poids moléculaire ont été jetés et les culots contenant les S-EPS de haut poids moléculaire ont été séchés à 50°C pendant une nuit. Les échantillons secs ont été remis en suspension dans 1 ml d'eau distillée, puis 50 μl de phénol à 5% et 250 μl d'acide sulfurique ont été ajoutés à 50 μl de l'extrait et vortexés. L'absorbance a été lue après 30 min avec un lecteur de plaque FlexStation (Molecular Devices) à 485 nm. Une gamme d'étalonnage a été préalablement réalisée en utilisant une solution de glucose (G) comme référence et les concentrations de S-EPS ont été exprimées en $\mu\text{gGeq.L}^{-1}$.

2.4.Paramètres photosynthétiques

Fluorescence modulée PAM-Walz

Pour l'estimation à haute fréquence de la productivité primaire, l'efficacité de conversion d'énergie maximale (ou efficacité quantique de la séparation de charge du photosystème II (PSII) (F_V/F_M)) a été mesurée à des intervalles de 5 minutes à l'aide de la version en flux (FT) du WATER-PAM (Waltz, Effeltrich, Allemagne) (Schreiber *et al.* 1986). L'eau en sub-surface a été prélevée *via* une pompe menant à une chambre noire isolée thermiquement. Après 5 minutes d'acclimatation au noir, ce qui était suffisant pour l'oxydation du groupe de Quinone A (Q_A) dans cet environnement très turbide, un sous-échantillon a été automatiquement transféré dans la chambre de mesure. L'échantillon a été excité par une lumière bleue de faible intensité ($1 \mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 470 nm, fréquence 0.6 kHz) pour enregistrer la fluorescence minimale (F_0). La fluorescence maximale (F_M) a été obtenue lors d'une impulsion de lumière saturante (0,6 s, $1700 \mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 470 nm) permettant de réduire tout le pool de Q_A (Fig. 14). Ainsi, F_V/F_M a été calculé selon l'équation suivante (Genty *et al.* 1989):

$$\frac{F_V}{F_M} = \frac{(F_M - F_0)}{F_M}$$

Consécutivement, les échantillons ont été exposés à neuf irradiances (E). Les gammes de variations ont été adaptées au cours de la saison : (i) de 0 à 469 μmol de photons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de janvier à juillet et au cours de la campagne journalière hivernale et (ii) de 0 à 1541 μmol de photons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ d'août à décembre et au cours de la campagne journalière estivale. Chaque irradiance été séparée par un temps de 30 s par rapport aux autres. Ainsi, la fluorescence à l'état stable (F_S) et la fluorescence maximale (F_M') ont été mesurées pour chaque palier lumineux. L'efficacité quantique du PSII pour chaque irradiance a été déterminée comme suit (Genty *et al.* 1989):

$$\frac{\Delta F}{F_M'} = \frac{(F_M' - F_S)}{F_M'}$$

Le taux relatif de transport d'électrons (rETR, μmol electron. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) a été calculé pour chaque irradiance. Le rETR est une mesure du taux de transport linéaire d'électrons par le PSII, qui est corrélée avec la performance photosynthétique globale du phytoplancton (Juneau and Harrison 2005) :

$$\text{rETR}(E) = \frac{\Delta F}{F_M'} \times E$$

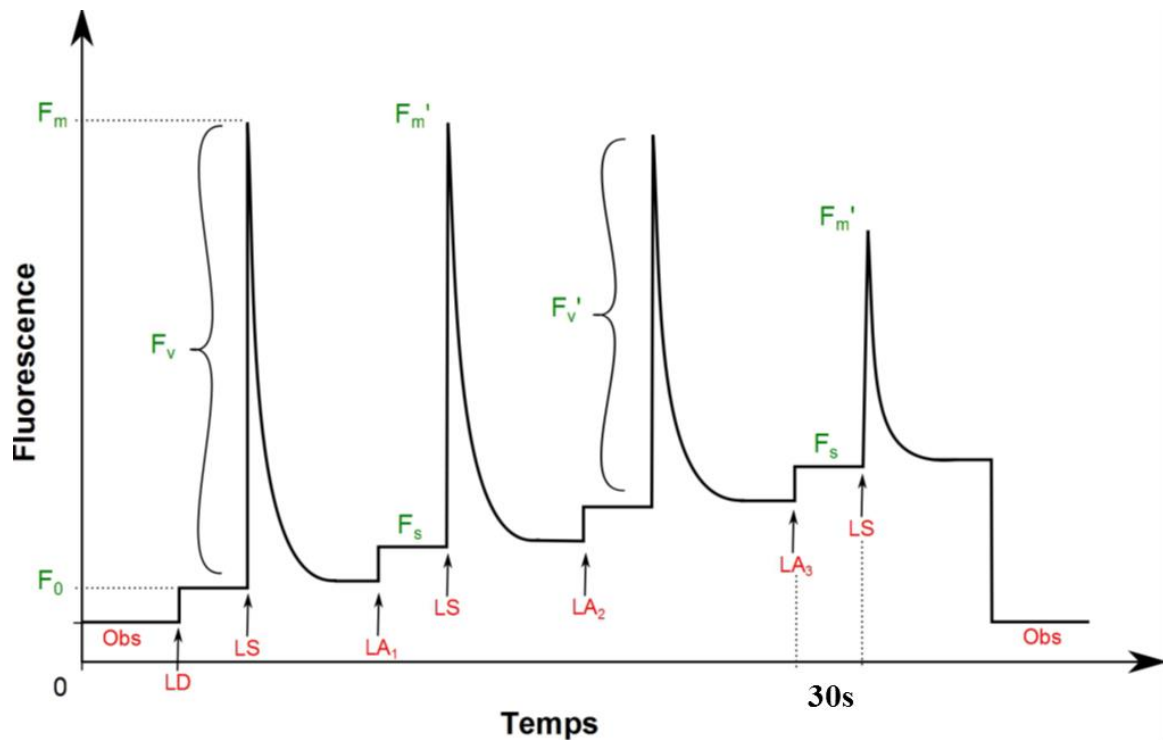


Figure 14. Principe de la fluorescence modulée « PAM ». Sous une très faible lumière détectrice (LD), l'activité photosynthétique est insignifiante. Le premier accepteur d'électron du PSII, Q_A , est alors complètement oxydé, la fluorescence émise est par conséquent minimale. Ce niveau de fluorescence obtenu après un passage à l'obscurité est appelé le niveau minimum de fluorescence F_0 . Ensuite un flash lumineux de haute intensité est émis. Le PSII est saturé, Q_A est complètement réduit. La fluorescence atteint alors un maximum (F_M). Une gamme de lumière actinique (LA_1 , LA_2 etc.) d'intensités croissantes est appliquée sur l'échantillon. Chaque intensité lumineuse (flux de photons) est appliquée pendant 30 secondes dans cette étude. Pour chaque intensité, une fluorescence de base stable F_S est atteinte. Toutes les 30 secondes un flash de lumière saturante (LS) est émis et F_M' est alors déterminée.

En parallèle, au cours des campagnes mensuelles et pour chaque point d'échantillonnage, ainsi qu'à chaque heure lors des campagnes journalières, un échantillon de sub-surface (-1m) et un de fond (+1m) ont été prélevés et adaptés au noir pendant 5 min. Chaque échantillon a ensuite été introduit dans la version cuvette du WATER-PAM (Waltz, Effeltrich, Allemagne) et les F_v/F_m ont été calculés comme décrit ci-dessus.

Un autre sous-échantillon adapté au noir a été placé dans un MULTI-COLOR-PAM pour l'estimation de la section transversale d'absorption fonctionnelle du PSII à 440 nm ($\sigma_{PSII440}$ exprimée en m^2). Ce fluorimètre permet d'analyser la cinétique de la fluorescence O-I₁ à une longueur d'onde choisie (dans cette étude 440 nm) en utilisant une routine d'ajustement du programme PamWin-3 basée sur le modèle de Lavergne & Trissl (1995) étendu pour tenir compte de la ré-oxydation de Q_A (Schreiber *et al.* 2012). Cette méthode permet d'estimer la constante de temps de réduction de Q_A pendant l'élévation O-I₁ (τ ; ms) et ainsi de calculer $\sigma_{PSII440}$ (m^2) comme suit:

$$\sigma_{PSII440} = \frac{1}{\tau \times L \times I}$$

Où : L est la constante d'Avogadro et I est le taux de fluorescence des photons de la lumière entraînant l'élévation O-I₁ (E; $\mu mol \text{ photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$).

En suivant Schreiber *et al.* (2011), le taux de transport d'électrons (ETR(II); Electron.(PSII.s)⁻¹) a ensuite été calculé selon l'équation:

$$ETR(II) = \frac{rETR \times \sigma_{PSII} \times L}{F_v/F_m}$$

Avec rETR (moles d'électrons. $m^{-2}.\text{s}^{-1}$) et F_v/F_m calculé comme précédemment, L la constante d'Avogadro en mol^{-1} et $\sigma_{PSII440}$ en m^2 . ETR(II) a d'abord été exprimé en électron.(PSII.s)⁻¹ puis en mmol d'électrons.mgchl⁻¹.h⁻¹ selon l'équation:

$$ETR(II) = \frac{[ETR(II)] \times [PSII] \times 36.10^6}{[chl a] \times L}$$

Où [ETR(II)] est exprimé en électron.(PSII.s)⁻¹, [chl a] représente la concentration en chlorophylle a exprimée en mg.ml⁻¹ et [PSII] représente la concentration des centres réactionnels des PSII (en PSII.ml⁻¹) a été obtenu comme suit:

$$[PSII] = \frac{[chl a] \times L}{900 \times 1000}$$

Où [chl a] est exprimé en g.ml⁻¹ et en supposant un poids moléculaire de 900 g.mol⁻¹ par chl a et une taille d'unité photosynthétique de 1000 molécules de chl a par chaîne de transport d'électrons (Schreiber *et al.* 2011).

Incorporation de carbone marqué (^{13}C)

Un photosynthetron (modifié de Babin *et al.* 1994) a été utilisé pour réaliser les incubations de ^{13}C sur les échantillons prélevés aux sites 2, 4, 6 et 8 des campagnes mensuelles. Un tube fluorescent modulable en forme de U (OSRAM, DULUX L, 2G11, 55W / 12 -950, LUMILUX DE LUXE, lumière de jour) a produit la lumière. La température dans le photosynthetron a été maintenue *in situ* par un circuit d'eau de mer équipé d'un refroidisseur d'eau (AQUAVIE ICE 400).

Au total, 1100 ml de chaque échantillon ont été inoculés avec du $\text{NaH}_2^{13}\text{CO}_3$ (98 atome %, Sigma) correspondant à un enrichissement d'environ 15% du carbone inorganique dissous déjà présent dans l'eau de mer. L'eau de mer inoculée a été partagée entre 16 flasques de culture (62 ml) placés dans le photosynthetron. L'intensité lumineuse a été mesurée dans chaque flasque en utilisant un capteur quantique micro-sphérique (US-SQS; Walz) connecté à un enregistreur de données LI-COR 1400. L'un des flacons a été conservé dans le noir pour estimer l'incorporation du carbone inorganique non-photosynthétique. Après trois heures d'incubation, chaque flasque a été filtrée sur des filtres GF/F pré-brûlés de 25 mm (450 ° C, 12 h) et ils ont été conservés à -20 ° C jusqu'à l'analyse. Pour éliminer les carbonates, des filtres ont été exposés à du HCl fumant pendant 4 heures, puis séchés à 50 ° C pendant 12 heures. La concentration de carbone organique particulaire (POC) et le ratio isotopique de ^{13}C à ^{12}C ont été déterminés à l'aide d'un analyseur élémentaire (EA 3000, Eurovector) combiné à un spectrophotomètre de masse (IsoPrime, Elementar).

Le taux de fixation du carbone (P_{obs}) a été calculé selon Hama *et al.* (1983) et la valeur de l'incorporation dans l'obscurité a été soustraite de toutes les données. P_{obs} a été exprimé en $\text{mmol C.mgchl}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

Courbes P vs E

Chaque série de rETR, ETR(II) et P_{obs} a été tracée en fonction de l'irradiance (E). Pour estimer les paramètres photosynthétiques, le modèle mécanique de Eilers & Peeters (1988) a été appliqué à ces courbes à l'aide de SigmaPlot 12.0 (Logiciel Systat Inc., Chicago, USA):

$$X(E) = \frac{E}{(aE^2 + bE + c)}$$

Où X(E) représente soit rETR(E), ETR(II)(E) ou $P_{\text{obs}}(E)$. La capacité photosynthétique maximale a été calculée avec les coefficients *a*, *b* et *c* extraits de l'équation de l'ajustement comme suit :

$$X_{\max} = \frac{1}{(b + 2\sqrt{ac})}$$

Où $X_{\max}$ correspond à la capacité photosynthétique maximale mesurée avec la méthode PAM ($rETR_{\max}$ en unité relative ou $ETR(II)_{\max}$ en $\text{mmol d'électrons.mgchl}^{-1}.\text{h}^{-1}$) ou mesurée avec la méthode d'incorporation du ^{13}C ($P_{\max}$ en $\text{mmol C.mgchl}^{-1}.\text{h}^{-1}$). L'efficacité photosynthétique (α) a été calculée :

$$\alpha = \frac{1}{c}$$

Où α est l'efficacité photosynthétique mesurée soit avec la méthode PAM (en unité relative ou en $\text{mmol d'électrons.mgchl}^{-1}.\text{h}^{-1}.$ ($\mu\text{mol de photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) $^{-1}$) ou avec la méthode d'incorporation de ^{13}C ($\text{mmol C.mgchl}^{-1}.\text{h}^{-1}.$ ($\mu\text{mol de photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) $^{-1}$).

Nombre d'électrons nécessaire à la fixation d'une mole de carbone ($\phi_{e.C.}$)

Afin d'étudier la relation entre les deux paramètres, les valeurs de $P_{\max}$ ont été tracées en fonction des valeurs d' $ETR(II)_{\max}$. La quantité $\phi_{e.C.}$ ($\text{mol d'électrons.mol de C}^{-1}$), qui correspond à la pente initiale de la relation (Barranguet and Kromkamp 2000; Napoléon *et al.* 2013b), a été estimée pour chaque station et chaque période d'échantillonnage.

2.5. Diversité phytoplanctoniques

Micro-phytoplankton

Des échantillons d'eau de 250 ml ont été prélevés en surface lors des campagnes mensuelles sur les stations 1, 3, 5 et 7. Il ont été conservés dans une solution de Lugol (2%) à l'obscurité et à 4°C pour l'identification et l'énumération des espèces phytoplanctoniques selon la technique Utermöhl (Lund *et al.* 1958). Au laboratoire 10 ml de l'échantillon ont été mis à décanter dans des cellules de comptage pendant 24h. L'identification et l'énumération ont ensuite été réalisées sous microscope inversé à contraste de phase. L'identification est réalisée jusqu'au plus bas niveau taxonomique possible. Ces analyses ont été réalisées au laboratoire Ifremer LER-N par les analystes en charge du REPHY.

Nano- et picophytoplankton

Chaque prélèvement a été réalisé en triplicat. Un volume de 1 ml d'eau a été fixé avec du glutaraldéhyde (0,25%). Après 15 minutes dans le noir à 4°C, les échantillons sont plongés dans l'azote liquide. De retour au laboratoire, ils sont stockés à -80°C jusqu'à l'analyse (Vaulot *et al.* 1989; Olson *et al.* 1993). Les analyses ont été réalisées au plateau de cytométrie en flux

de la structure fédérative 146 ICORE. L'appareil utilisé est un cytomètre en flux Gallios (Beckman Coulter®). Après décongélation à température ambiante, une solution en concentration connue de billes en latex auto-fluorescentes de 1 µm de diamètre ($\lambda = 485$ nm) a été ajoutée à chaque échantillon comme référence de taille et de fluorescence. Trois blancs d'eau de mer filtrée sur 0.2 µm ont été analysés lors de chaque session de cytométrie afin d'évaluer le bruit de fond lié à l'appareil. Pour chaque échantillon les paramètres de taille et de forme des cellules (i.e. forward scatter FS et side scatter SC) ont été enregistrés ainsi que leurs caractéristiques de fluorescence intrinsèques dans le rouge (FL4 ; $\lambda=695$ nm) et dans l'orange (FL3 ; $\lambda=620$ nm). Les différentes populations de pico- et nanophytoplancton ont été discriminées d'après leur taille et leur contenu pigmentaire (e.g. Marie *et al.* 1999).

Biologie moléculaire

Chaque prélèvement a été réalisé en triplicat. Un volume de 25 ml d'eau a été filtré successivement sur des filtres polycarbonate Isopore d'une porosité de 5 µm et 0.2 µm pour l'analyse des cellules eucaryotes (18S) et procaryotes (16S) respectivement. Les filtres ont immédiatement été introduits dans des cryotubes et conservés à -20°C jusqu'à l'extraction. Les ADN ont été extraits à partir des filtres correspondant à chaque échantillon en utilisant le kit *PowerBiofilm DNA Isolation* et les instructions du fabricant (MO BIO). Pour la préparation des banques d'ADN du 18S et du 16S, les amplifications ont été réalisées avec des amorces comportant 8 bases à leurs extrémités 5' suivi par 2 à 4 bases aléatoires. Les amorces utilisées pour l'amplification des régions de l'ADN ribosomal 18S et 16S sont données dans le tableau 5. La première étape de PCR a été réalisée à partir de 1 µl d'ADN (5-10 ng) selon le mélange réactionnel suivant : 1,00 µL ADN ; 1,00 µL Forward Primer (10 µM) ; 1,00 µL Reverse Primer (10 µM) ; 0,75 µL DMSO ; 0,25 µL BSA (10x) ; 8,50 µL H₂O, et 12,50 µL PCR Master Mix 2x (KAPA2G Robust HotStart DNA polymerase ReadyMix, KAP, Biosystems).

Le programme d'amplification utilisé a été : 95°C pendant 5 min, 30 cycles (95°C pendant 15 sec, 52°C pendant 15 sec, et 72°C pendant 30 sec) et 72°C pendant 3 min. Les produits de PCR ont été vérifiés sur gel d'agarose, purifiés grâce au kit *Agencourt AMPure XP beads* (Beckman Coulter) puis quantifiés en utilisant le kit *Qubit dsDNA HS assay*. Ils ont ensuite été normalisés puis rassemblés. Les banques ont été préparées en utilisant 1 µg d'ADN des pools et le kit *Illumina TruSeq DNA PCR-Free Library Preparation*. Les recommandations du fabricant ont été suivies à l'exception de l'utilisation d'un mixte End-Repair différent afin d'éviter la formation de chimères. Les banques ont finalement été quantifiées par PCR et séquencées selon le kit *MiSeq 2x300 paired-end run*, toujours selon les recommandations d'Illumina.

Tableau 5. Amorces utilisées pour l'amplification des différentes régions de l'ADN ribosomal (18S et 16S).

Région de l'ADN ribosomal	Amorces utilisées pour l'amplification
18S	0067a_deg - (AAGCCATGCATGYCTAAGTATMA)
	NSR399 - (TCTCAGGCTCCYTCTCCGG)
16S	515 F/ - (GTGYCAGCMGCCGCGGTAA)
	926 R - (CCGYCAATTYMTTTRAGTTT)

Les amplicons ont été analysés en utilisant le logiciel *mothur* v.1.36.1 (Schloss *et al* 2009). Les lectures ont été traitées en utilisant principalement la procédure standard décrite par Schloss *et al* (2009) pour les données de type MiSeq Illumina (Kozich *et al* 2013). Dans un premier temps les contigs ont été assemblés permettant l'obtention de séquences « paires ». Les séquences des codes-barres et amorces ainsi que les séquences de faible qualité ont été retirées (Taille minimale de 350 paires de base (pb), taille maximale de 460 pb, et élimination de toutes les séquences contenant des bases ambiguës et/ou comprenant des homopolymères supérieurs à 8pb). Les séquences ont alors été alignées en utilisant le dépôt 119 de la banque de références SILVA (Quast *et al* 2013) et des pré-clusters ont été réalisés (pre.cluster, diffs=1). Les singletons ont été exclus, ainsi que les chimères en utilisant la commande : chimera.uchime *mothur*. Les séquences ont été classifiées en utilisant l'algorithme *k-nearest neighbour* (*knn*) présent dans *mothur*, et la méthode de recherche d'homologie BLASTN toujours en utilisant le dépôt 119. La classification des séquences a été réalisée en utilisant l'algorithme *knn* dont la méthode est plus optimale que celles plus généralement utilisées de type Bayésien (Wang *et al* 2007). Après classification, les séquences ne correspondant pas aux jeux de données (eucaryotes ou procaryotes) ont été enlevées. Pour tenir compte des différences de profondeur de séquençage, 7004 séquences (pour le jeu de données 16S) et 20624 (pour le 18S), ont été aléatoirement sélectionnées pour chaque échantillon. Les Unité Taxonomique Opérationnelles (OTUs) ont été réalisées en utilisant l'algorithme *average neighbour*. Les OTUs ont été définies comme correspondant à 97% de similarité que ce soit pour les données 16S et 18S. Après sous-échantillonnage les données correspondent à 1 029 588 séquences pour le 16S et 3 052 352 séquences pour le 18S ; elles ont été rassemblées en 11 546 OTUs pour le 16S et 9 487 OTUs pour le 18S. Ces séquences ont finalement été classifiées en utilisant l'algorithme *knn* présent dans *mothur* et la méthode BLASTN et les banques SILVA pour le 16S et PR2 (Guillou *et al* 2013) pour le 18S.

3. Compartiment microphytobenthique

3.1. Stratégie d'échantillonnage

Afin d'étudier la variation des paramètres photosynthétiques du compartiment microphytobenthique, deux campagnes d'échantillonnage des vasières de l'estuaire de Seine ont été réalisées au cours des mois de septembre/octobre 2014 et avril 2015 en association avec le projet GIP Seine-Aval 5 : « BARBES – Coordination F. Orvain (UMR BOREA) ». Lors de ces campagnes, 15 stations (9 sur la vasière Nord nommées de A à I ; 3 sur la vasière du chenal environnemental nommées de K à M et 3 sur la vasière Sud nommées de N à P) ont été échantillonnées (Fig. 15). Les coordonnées des différents sites sont données ci-dessous (tab. 6).

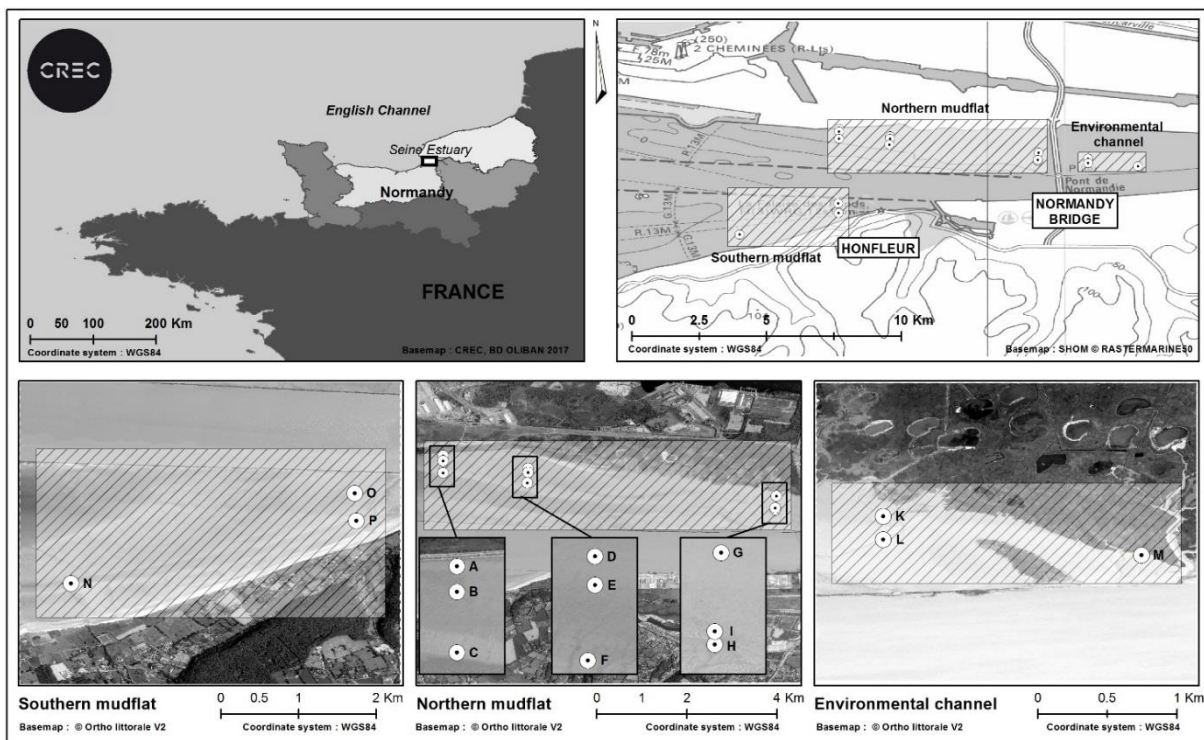


Figure 15. Localisation des stations d'échantillonnage sur l'estuaire de Seine pour les campagnes d'étude du microphytobenthos en association avec le projet GIP Seine-Aval 5 : « BARBES ». Avec en Vasière Nord, 9 sites nommés de A à I, en vasière Sud 3 sites nommés de N à P et au niveau du chenal environnemental 3 sites nommés de K à M.

Tableau 6. Coordonnées géographiques des sites d'échantillonnage des campagnes d'étude sur le microphytobenthos en association avec le projet GIPSA BARBES.

Sites	Longitude Wgs84	Latitude Wgs84	Sites	Longitude Wgs84	Latitude Wgs84
A	0.2004	49.4516	I	0.2668	49.4412
B	0.2004	49.4506	K	0.2836	49.4416
C	0.2004	49.4482	L	0.2836	49.4401
D	0.2174	49.4491	M	0.3003	49.4391
E	0.2174	49.4483	N	0.1672	49.4162
F	0.2172	49.4462	O	0.2001	49.4267
G	0.267	49.4436	P	0.2003	49.4235
H	0.2668	49.4408	-	-	-

A chaque station, trois carottes (20 cm de diamètre x 1 cm de profondeur) ont été prélevées pour mesurer les paramètres sédimentaires (i.e. granulométrie, teneur en eau, densité sédimentaire, masse volumique et coefficient d'atténuation spécifique de la lumière par le sédiment) et biologiques (i.e. teneur en chlorophylle *a* et polysaccharides et matière organique). Après avoir été soigneusement homogénéisé, différents volumes de substrat ont été prélevés pour chaque paramètre à l'aide de seringues coupées et répartis dans différents tubes puis conservés à -20 °C jusqu'à l'analyse. Les paramètres photosynthétiques ont été mesurés, en triplicat, par fluorescence modulée, à l'aide d'un fluorimètre de type Fiber-PAM, comprenant une unité de contrôle PAM et une unité de détection WATER-EDF (Walz, Effeltrich, Allemagne). La distance entre la sonde à fibre optique et la surface du sédiment a été maintenue constante à 2 mm pour toutes les mesures. De plus, un anneau de 4 cm de diamètre a été utilisé pour isoler l'échantillon de la lumière naturelle et pour contrôler l'adaptation au noir et le niveau d'irradiation imposé lors de la mesure de la courbe. Cette configuration a été maintenue à l'aide d'un porte-burette fixé sur une base enterrée dans le sédiment. Très proche des mesures PAM, trois micro-carottes (2 centimètres de profondeur et 1,2 cm de diamètre) ont été prélevées et immédiatement congelées à l'aide d'azote liquide sur le terrain. De retour au laboratoire les micro-carottes ont été conservées dans un congélateur à -80 °C.

3.2. Paramètres sédimentaires

Teneur en eau, densité sédimentaire et masse volumique

La teneur en eau (ω ; %) a été déterminée en pourcentage d'eau par rapport au sédiment sec total. Le poids de l'eau a été calculé par la différence de poids avant et après le séchage des échantillons à 60 °C pendant 3 jours dans une étuve. Le poids de sel a également été pris en compte à partir du volume d'eau déduit. La teneur en matière organique (%) a ensuite été obtenue comme perte par calcination de l'échantillon sec à 450 °C pendant 4 h. La densité sèche du sédiment (C_{sed} ; $kg.m^{-3}$) a ainsi été estimée à partir de la teneur en eau (ω ; %) selon la formule :

$$C_{sed} = \frac{\gamma_s \times 1000}{\left(\frac{\omega}{100}\right) \times \gamma_s + 1000}$$

Où γ_s est la densité de grain initialement supposée à 2650 $kg.m^{-3}$. La masse volumique ($kg.L^{-1}$) a ensuite été estimée à partir de la teneur en eau et de la densité sédimentaire selon la formule suivante :

$$MV = \frac{C_{sed} + \frac{\omega}{100} \times C_{sed}}{1000}$$

Granulométrie du sédiment

Pour déterminer la taille des particules, les sédiments issus de la calcination de la matière organique ont été baignés dans du peroxyde d'hydrogène à 6% pendant 48 heures pour éliminer définitivement toute trace de matière organique. La distribution granulométrique a ensuite été mesurée avec un analyseur de taille de particules LS Coulter sur les sous-échantillons. La fraction de sédiments vaseux a été estimée comme le pourcentage de particules $< 63 \mu\text{m}$ et la médiane de la taille du sédiment a été estimée à partir d'un histogramme en pourcentage cumulatif.

Coefficient d'atténuation de la lumière

Pour estimer l'atténuation de la lumière avec la profondeur dans le sédiment, un coefficient d'atténuation de la lumière (k_d ; mm^{-1}) a été calculé en utilisant l'équation fournie par Forster & Kromkamp (2004). Cette équation tient compte de la proportion de sédiment sec (PSed) dans chaque intervalle de profondeur ; la valeur d'atténuation spécifique $k^*_{d(\text{sed})}$; la proportion de la teneur en pigments chlorophyllien (PChl) et le coefficient d'atténuation spécifique de la chlorophylle, $k^*_{d(\text{chl})}$, comme suit:

$$k_{d(z_i)} = (\text{PSed}_{z_i} \times k^*_{d(\text{sed})}) + (\text{PChl}_{z_i} \times k^*_{d(\text{chl})})$$

PChl a été calculé à chaque section à partir de la concentration cumulée de chl a (mg.m^{-2}) de la surface jusqu'à la profondeur de la section considérée (z_i) suivant l'équation:

$$\text{PChl}(z_i) = \frac{\frac{\text{Chl } a(z_i) \text{ cumulée}}{-z_i}}{2.9}$$

Où z_i correspond à la profondeur de la section en μm , en supposant une concentration en chl par zone de 29 mg.m^{-2} pour une profondeur de $10 \mu\text{m}$ (Forster and Kromkamp 2004), soit 2.9 mg.m^{-2} pour une profondeur de 1 mm . Les valeurs de chl a cumulées (mg.m^{-2}) ont été calculées directement à partir de la teneur en chl a de chaque intervalle des profils verticaux ($\mu\text{g.gDW}^{-1}$). La conversion de $\mu\text{g.gDW}^{-1}$ en mg.m^{-2} était basée sur la masse volumique (g.cm^3) et la profondeur de la section (mm). Par la suite, les fractions PSed_{z_i} ont été calculées suivant la relation: $\text{PSed}_{z_i} = 1 - \text{Pchl}_{z_i}$.

La valeur de référence pour le coefficient d'atténuation spécifique de la chlorophylle de $0.02 \text{ m}^2.\text{mgchl } a^{-1}$ (Forster and Kromkamp 2004) a été utilisée pour estimer le coefficient d'atténuation intégré en profondeur, $k_{d(\text{chl})}^*$ et une valeur de 58 m^{-1} a été obtenu ($k_{d(\text{chl})}^* = 2,9 \text{ mgchl } a.\text{m}^{-2}.\mu\text{m}^{-1} \times 0.02 \text{ m}^2.\text{mgchl } a^{-1} = 58 \text{ mm}^{-1}$).

De même, la valeur de référence pour le coefficient d'atténuation spécifique des sédiments de $0,011 \text{ m}^2.\text{mgDW}^{-1}$ permet d'obtenir une valeur de 2 mm^{-1} pour $k_{d(\text{sed})}^*$ en l'absence de chl *a* (Forster and Kromkamp 2004). Cependant, dans un contexte de mélange sablo-vaseux, la valeur de $k_{d(\text{sed})}^*$ peut changer avec la composition granulométrique des sédiments (Kühl and Jørgensen 1994) et induire des changements dans les valeurs de k_d . De la même manière qu'il a été nécessaire de tenir compte de la variation de la chl *a* avec la profondeur en utilisant les micros-profiles, il apparaît nécessaire de tenir compte de la variation de la composition des sédiments dans l'évaluation du k_d . Ainsi, afin d'estimer le coefficient d'atténuation intégrée en profondeur ($k_{d(\text{sed})}^*$ en mm^{-1}) pour chaque échantillon, l'absorbance a été lue sur des plaques multi-puits (96) pour la même longueur d'onde que le Fiber-PAM (460 nm) en utilisant un lecteur de microplaques fluorescents FlexStation™ (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA). Pour chacune des 15 stations, 9 puits avec 200 μL d'eau milliQ ont été remplis avec les sédiments secs de chaque triplicat pour obtenir différentes épaisseurs de sédiments (25, 50, 75, 100, 125, 150, 200 et 400 μm). $k_{d(\text{sed})}^*$ a été déterminé comme égal au coefficient *a* de l'équation d'ajustement :

$$y = e^{-ax}$$

Où *y* est la lumière absorbée et *x* l'épaisseur de sédiment calculée en utilisant le poids (mg) et la densité sèche (g.cm^{-3}) de l'échantillon.

3.3. Paramètres biologiques

Dosage de la chlorophylle a

Environ 1.5 ml de sédiment ont été lyophilisés et une fraction d'environ 1 g de sédiments a été pesée pour chaque réplica. Les pigments ont été extraits dans 10 ml d'acétone à 90% en rotation verticale continue (12 tour/min) pendant 1h dans l'obscurité et à 4°C. Les échantillons ont ensuite été placés pendant 18h dans l'obscurité à 4 °C. Après centrifugation (4 °C, 2000g, 5 min), la fluorescence du surnageant a été mesurée à l'aide d'un fluorimètre TurnerTD-700 (440 nm) avant et après acidification (10 μL de HCl, 0,3 M pour 1 ml d'acétone). Les valeurs de chl *a* (en $\mu\text{g.gDW}^{-1}$) et la fraction des phéopigments (exprimés en pourcentage des pigments totaux) ont ensuite été calculées à l'aide de la méthode de Lorenzen (1966) et convertis en mg.m^{-2} en utilisant la densité sèche du sédiment et sur la base de la profondeur de 1 cm

échantillonnée, pour tenir compte des effets de dilution de la chl *a* liés au compactage lors de l'exposition à marée basse (Perkins *et al.* 2003; Jesus *et al.* 2006).

Profils verticaux de la chlorophylle a

Afin d'accéder à la répartition verticale de la biomasse en chl *a*, les micro-carottes ont été découpées en utilisant un microtome de congélation (-25°C) lors des deux semaines qui ont suivi l'échantillonnage. Chaque section tranchée (200 µm) du sédiment a été placée dans un tube Eppendorf pré-pesé et lyophilisée. La masse sèche a ensuite été mesurée avant l'analyse de chl *a*. Les valeurs en chl *a* ont été obtenues selon la méthode de Welschmeyer (1994) à l'aide d'un fluorimètre TD-700 (Turner Designs, Californie, États-Unis). Les intervalles considérés étaient de 0-200, 200-400, 400-600, 600-800, 800-1000, 1800-2000, 2800-3000, 3800-4000, 5800-6000, 7800-8000 et 9800-10000 µm.

Polysaccharides

Les EPS ont été extraits à partir de 5 ml de sédiments frais placés dans des tubes de centrifugation de 15 ml avec 5 ml d'eau de mer artificielle filtrée à 0,2 µm et stérilisée (Orvain *et al.* 2014). Les analyses ont été réalisées immédiatement de retour du terrain pour éviter toute perturbation cellulaire et contamination des extraits (Chiovitti *et al.* 2004; Takahashi *et al.* 2009). Après 1 heure d'incubation dans l'eau de mer artificielle, les tubes ont été mélangés et centrifugés (4 °C, 3000 g, 10 min). Les surnageants contenant la fraction colloïdale (S-EPS) ont été recueillis dans un nouveau tube de centrifugation et conservés à -20 °C jusqu'à une analyse plus approfondie. En plus des S-EPS, nous avons choisi d'extraire les EPS liés (B-EPS) à partir du culot de la dernière centrifugation, en utilisant 5 ml d'eau de mer artificielle et ~ 1 g de résine cationique activée (Dowex Marathon C, Na +, Sigma-Aldrich). Même si cette procédure est reconnue pour extraire seulement de petites proportions du volume total d'EPS liés (Pierre *et al.* 2012), elles peuvent être strictement considérées comme des EPS purs, contrairement aux extractions avec de l'eau distillée, dont la majorité de l'extraction sera composée de composés internes (Takahashi *et al.* 2009). Après la remise en suspension, les tubes ont été agités doucement pendant 1 heure à 4 °C au noir, puis centrifugés (4 °C, 3000 g, 10 min). Les surnageants ont été recueillis et maintenus congelés (-20 °C) pour une analyse plus poussée des B-EPS. Pour chaque fraction EPS (S-EPS et B-EPS), les EPS de haut et de bas poids moléculaire ont été extraits en incubant les échantillons dans l'éthanol (concentration finale 70%) pendant 16h à -20 °C. Après centrifugation (4 °C, 3000 g, 30 min), les EPS de bas

poids moléculaire retenus dans le surnageant ont été jetés et le culot contenant les EPS de haut poids moléculaire a été séchée à 60 °C dans un bain sec sous débit d'air (de 6 à 48 h selon la fraction). Les échantillons secs ont été remis en suspension dans 1 ml d'eau distillée, puis 50 µl de phénol à 5% et 250 µl d'acide sulfurique ont été ajoutés à 50 µl de l'extrait et vortexés. L'absorption a été lue après 30 min avec un lecteur de plaque FlexStation TM (Molecular Devices) à 485 nm. Une courbe d'étalonnage avait été préalablement réalisée à partir d'une solution de glucose (G) (Dubois *et al.* 1956). Le contenu en protéines a également été mesuré en utilisant du sérum d'albumine de bovin (Sigma-Aldrich) (Bradford 1976). Sur des plaques multi-puits (96 puits), 160µl d'échantillon ont été homogénéisés avec 40µl de réactif de dosage de Bradford (Bio-Rad). L'absorbance a été lue pour une longueur d'onde de 600 nm à l'aide d'un bio-luminomètre (Mithras LB940 Berthold Technologies). Chaque concentration d'EPS a d'abord été exprimée en fonction du volume de sédiments frais et a ensuite été convertie en concentration en utilisant la masse volumique.

3.4. Paramètres photosynthétique

Fluorescence PAM

La méthode de fluorescence PAM, décrite précédemment, a permis d'estimer le rendement de fluorescence initiale ($F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$) qui correspond à l'efficacité maximale du rendement quantique du PSII (Van Kooten and Snel 1990). Après une adaptation au noir de 5 min, l'échantillon a été excité par une lumière de mesure basse fréquence (1 µmol de photons.m⁻².s⁻¹, 460 nm, fréquence 0,6 kHz) pour accéder au niveau initial de fluorescence, F_0 . La fluorescence maximale (F_m) a été obtenue lors d'une impulsion de lumière saturante (0,6 s, 2 500 µmol de photons.m⁻².s⁻¹, 460nm), permettant aux pools de quinone A (Q_A), de quinone B (Q_B) et une partie de la plastoquinone (PQ) d'être réduits. Par la suite, chaque échantillon a été exposé à neuf irradiations (I: de 0 à 929 µmol photons.m⁻².s⁻¹) pendant 30 secondes à chaque étape. Pour chaque niveau d'exposition à la lumière une fluorescence à l'état stationnaire (F_s) et une nouvelle fluorescence maximale (F_m') ont été mesurées et un rendement de fluorescence variable ($\Delta F/F_m = (F_m' - F_s)/F_m'$) calculé. Ensuite, le taux de transport relatif des électrons a été calculé en utilisant l'équation : $rETR = \Delta F/F \times E$. L'extinction non photochimique de la fluorescence a également été estimée avec l'équation : $NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$.

B. Etude en laboratoire

1. Organismes et conditions de culture

Trois espèces de diatomées (Bacillariophyceae) marines cosmopolites ont été étudiées:

- *Thalassiosira pseudonana* (Hasle et Heimdal, CCMP H1), qui est une diatomée centrique couramment utilisée comme modèle pour les études sur la physiologie des diatomées.
- *Skeletonema marinoi* (Sarno et Zingone, isolés en Manche), centrique également et particulièrement abondante pendant les blooms printaniers.
- *Pseudo-nitzschia australis* (Frenguelli, isolée en Manche), diatomée pennée qui produit de l'acide domoïque, responsable de phénomène d'« intoxication par les mollusques » provoquant le syndrome ASP (Amnesic Shellfish Poisoning) (Fritz *et al.* 1992).

Pour chaque espèce, des cultures semi-continues de 2.5 L ont été réalisées en triplicat dans des ballons en Pyrex stériles de 4 L en utilisant de l'eau de mer naturelle filtrée et stérilisée, enrichie en nutriments par un milieu « f/2 » (Guillard and Ryther 1962). Les cultures ont été maintenues dans un incubateur (Snijders Scientific, Pays-Bas) à 18 °C avec un cycle d'intensité lumineuse sigmoïdal et une photopériode lumière/obscurité de 12/12h. L'intensité lumineuse, fournie par les néons, variait étape par étape de 0 μmol de photons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ la nuit à 175 μmol de photons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ à 14 heures.

Quotidiennement, lors de la croissance des cultures, les ballons ont été mélangés toutes les quatre heures de jour par agitation manuelle et l'intégrité des cellules a été vérifiée au microscope. L'efficacité de conversion d'énergie maximale ($Y(\text{II})_{\text{max}}$) a également été estimée pour évaluer l'état physiologique des cellules. La biomasse a été estimée par des mesures de chl *a* *in vivo* à l'aide d'un fluorimètre TD-700 (Turner Designs, Californie, États-Unis) et des dilutions ont été effectuées pour maintenir les cultures en croissance exponentielle maximale. Il a été supposé que les cultures étaient à l'état d'équilibre lorsque le taux de croissance quotidien et le $Y(\text{II})_{\text{max}}$ restaient inchangés pendant cinq jours consécutifs (Claquin *et al.* 2008). Lorsque l'état d'équilibre a été atteint, les expériences ont été réalisées. Les concentrations en chl *a*, la section d'absorption spécifique de la chlorophylle (a^*) et les paramètres photosynthétiques ont été mesurés chaque heure pendant le cycle de lumière et des expériences d'incorporation de ^{13}C ont été effectuées trois fois par jour, à 9h30, 14h et 19h30.

2. Paramètres biologiques

Afin de mesurer la concentration en chl *a*, des triplicats de 10 ml de chacune des cultures ont été centrifugés à température ambiante (10 min ; 4000 rpm), puis 10 ml d'acétone à 90% ont été ajoutés à chacun des culots. Après 12 h à 4°C et à l'obscurité, les échantillons ont été centrifugés (5 min ; 4000 g ; 4°C) et la concentration en chl *a* mesurée dans le surnageant à l'aide d'un fluorimètre TD-700 (Turner Designs, Sunnyvale, Californie, USA) suivant la méthode de Welschmeyer (1994). La concentration en chl *a* a été exprimée en $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Le coefficient d'absorption spécifique de la chlorophylle (a^* ; $\text{m}^2.\text{mgchl } a^{-1}$) a été obtenu en mesurant la densité optique *in vivo* de la culture à l'aide d'un spectrophotomètre (Ultrospec 1000) et calculé selon l'équation de Dubinsky *et al.* (1986):

$$a^* = \frac{A \times 100 \times \ln(10)}{[\text{chl}a]}$$

Où *A* est la densité optique moyenne entre 400 et 700nm et $[\text{chl } a]$ la concentration en chl *a* exprimée en mg.m^{-3} .

3. Paramètres photosynthétiques

Les paramètres photosynthétiques ont été mesurés selon la méthode de fluorescence modulée PAM, à l'aide d'un Multi-Color PAM (Walz, Effeltrich, Germany) (Schreiber *et al.* 2011). Ainsi, l'absorption fonctionnelle du PSII à 440 nm ($\sigma_{\text{PSII}440}$; nm^2) a été mesurée en triplicat pour chaque culture comme décrit précédemment section A.2.4.

Le dispositif Multi-Color-PAM permet également d'estimer l'efficacité de conversion d'énergie maximale, ou l'efficacité quantique de la séparation de charge PSII ($Y(\text{II})_{\text{max}}$). Après 10 minutes d'acclimatation au noir pour permettre l'oxydation du pool d'accepteurs d'électrons, un sous-échantillon de 3 ml a été transféré dans la chambre de mesure. L'échantillon a été excité par une lumière de mesure à basse fréquence ($1 \mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 440 nm) pour accéder au niveau de fluorescence minimale (F_0). La fluorescence maximale (F_M) a été obtenue pendant une impulsion de lumière saturante ($2\,500 \mu\text{mol de photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 440nm), ce qui permet de réduire les pools de Q_A , de Q_B et une partie de la plastoquinone (PQ). $Y(\text{II})_{\text{max}}$ a été calculé selon l'équation suivante (Schreiber *et al.* 2012):

$$Y(\text{II})_{\text{max}} = \frac{F_V}{F_M} = \frac{F_M - F_0}{F_M}$$

Après avoir estimé $Y(II)_{\max}$, les échantillons ont été exposés à neuf niveaux d'irradiance (E) de 0 à 966 $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ séparés de 55 secondes. La fluorescence à l'état d'équilibre (F_S) et la fluorescence maximale (F_M') ont été mesurées et $Y(II)$ a été déterminé pour chaque irradiance à l'aide de l'équation $Y(II) = (F_M' - F_S)/F_M'$ (Schreiber *et al.* 2012). Par la suite, $rETR$ ($\mu\text{mole}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) a été calculé pour chaque irradiance (E) suivant l'équation $rETR(E) = Y(II) \times E$. Des courbes P-E (décrites précédemment section A.2.4 des études *in situ*) ont ensuite été réalisées à l'aide du logiciel SigmaPlot pour estimer les paramètres $rETR_{\max}$ ($\mu\text{mole}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) et α ($\mu\text{mole}^{-1}.\text{L}^{-1}.\text{h}^{-1}.$ ($\text{mmol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) $^{-1}$).

Deux méthodes de calcul ont été utilisées pour estimer le taux de transfert absolu des électrons (ETR ; $\text{mmole}^{-1}.\text{mgchl}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Dans un premier temps, ETR a été estimé en utilisant les valeurs de a^* (Napoléon *et al.* 2013a) et nommé ETR^{a^*} suivant l'équation :

$$ETR^{a^*}(E) = rETR(E) \times a^* \times fAQ_{PSII} \times 3.6$$

Où fAQ_{PSII} est la fraction de photons absorbée par le PSII, supposant que 74% des photons absorbés sont alloués à la photochimie au niveau du PSII (Johnsen and Sakshaug 2007; Napoléon *et al.* 2013a). Dans un deuxième temps, ETR a été estimé en utilisant les valeurs de $\sigma_{PSII440}$ (nm^2) et nommé $ETR(II)$ en suivant les équations de Schreiber *et al.* (2011) décrites précédemment section A.2.4.

La méthode d'incorporation de carbone marqué (^{13}C) a également été utilisée afin d'estimer les paramètres photosynthétiques. Cette méthode est bien décrite en section A.2.4. Le taux de fixation du carbone (P_{obs}) a ainsi été calculé selon Hama *et al.* (1983) et P_{obs} exprimé en $\text{mmol C.mgchl}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

Les valeurs de P_{obs} ont ensuite été tracées en fonction de chaque valeur d'ETR ($ETR(II)$ et ETR^{a^*}) et $\phi_{e.C.}$ qui correspond à la pente initiale de la relation (Barranguet and Kromkamp 2000; Napoléon *et al.* 2013b), a été estimée pour chaque culture.

PARTIE 3 : DYNAMIQUE DE LA PRODUCTION PRIMAIRE PHYTOPLANCTONIQUE

Electron requirements for carbon incorporation along diel light cycle in three marine diatom species

This article is under review in “*Photosynthesis research*”

Jérôme Morelle and Pascal Claquin

Abstract

Diatoms account for about 40% of primary production in highly productive ecosystems. The development of a new generation of fluorometers has made it possible to improve estimation of the electron transport rate from photosystem II, which, when coupled with the carbon incorporation rate enables estimation of the electrons required for carbon fixation. The aim of this study was to investigate the daily dynamics of these electron requirements as a function of the diel light cycle in three relevant diatom species and to apprehend if the method of estimating the electron transport rate can lead to different pictures of the dynamics. The results confirmed the species dependent capacity for photoacclimation under increasing light levels. Despite daily variations in the photosynthetic parameters, the results of this study underline the low daily variability of the electron requirements estimated using functional absorption of the photosystem II compared to an estimation based on a specific absorption cross-section of chlorophyll *a*. The stability of the electron requirements throughout the day shows it is possible to estimate high-frequency primary production by using autonomous variable fluorescence measurements from ships-of-opportunity or moorings, without taking potential daily variation in this parameter into consideration. The electron requirements obtained ranged from 3.44 to 6.19 mol electron.molC⁻¹, confirming the low electron requirements of diatoms to perform photosynthesis, and pointing to a potential additional source of energy for carbon fixation, as recently described in literature for this class.

1. Introduction

Because primary production sustains each group in the marine food web (Pauly and Christensen 1995), accurate estimation of its short-term dynamics is a key to capturing, understanding, and managing marine ecosystems (Cloern *et al.* 2014). The main method traditionally used to estimate primary production is carbon (^{13}C or ^{14}C) incorporation (Babin *et al.* 1994; Cloern *et al.* 2014). The disadvantage of this method is the long incubation time, which prevents the estimation of high frequency primary production at spatial and temporal scales. An alternative rapid, and automatic way of obtaining high frequency measurements is fluorometry, which is based on variations in the fluorescence of photosystem II (PSII). This flexible, sensitive and non-invasive method (Kromkamp and Forster 2003) enables access to the photosynthetic rate but not to production in terms of fixed carbon (Kolber and Falkowski 1993; Barranguet and Kromkamp 2000). Two principal fluorescence-based methods are currently used, the single-turnover method (ST) and the multi-turnover method (MT) (Kromkamp and Forster 2003). The ST method progressively reduces the first stable acceptor, Q_A . This method makes it possible to calculate the functional absorption of the PSII (σ_{PSII}) and to determine a fluorescence-based photosynthetic rate that can be used to estimate a fluorescence-based carbon fixation rate (Kolber and Falkowski 1993). The MT method classically used in pulse amplitude modulated (PAM) fluorometry, can reduce the total set of electron acceptors. When combined with estimation of the specific absorption of the chlorophyll pigment (a^*), the MT method enabled estimation of the electron transport rate (ETR) (Barranguet and Kromkamp 2000; Napoléon and Claquin 2012). The development of new generations of fluorometers makes it possible to merge some of the advantages of the two fluorescence methods and to refine and improve the estimation of the ETR (Schreiber *et al.* 2012). In order to calculate high frequency carbon incorporation, the ETR values can be plotted against the carbon incorporation rate determined using $^{13/14}\text{C}$ methods to estimate the electrons needed to fix a mole of carbon ($\phi_{\text{e,C}}$) (Kolber and Falkowski 1993; Barranguet and Kromkamp 2000; Kromkamp and Forster 2003; Juneau and Harrison 2005; Marchetti *et al.* 2006; Hancke *et al.* 2008b, 2015; Napoléon and Claquin 2012; Napoléon *et al.* 2013a; Zhu *et al.* 2016; Schuback *et al.* 2017). However, this parameter does not remain spatially and temporally constant due to the many physical, chemical and biological factor that influence both carbon fixation and electron fluxes, for example, temperature (Morris and Kromkamp 2003), the concentration of nutrients (Napoléon *et al.* 2013b) or species composition (Behrenfeld *et al.* 2004). However, the main parameter that influences primary production is the irradiance level.

There are many different time scales of variations in light intensities ranging from variations due to waves at the air-water interface to variations in the light regime at seasonal scale. The most important level of variation in irradiance is the light-dark rhythm (Falkowski 1984), which strongly influences daily primary production rates. The diel variations in primary production can generally be explained by the circadian rhythms (Prézelin 1992) and species composition (Litchman 1998; Huisman *et al.* 2004). However, at a high level of irradiance, photoacclimation has been shown to be the main process affecting the photosynthetic device and can greatly affect the daily primary production dynamics (Macintyre *et al.* 2002; Behrenfeld *et al.* 2004; Van De Poll *et al.* 2009).

Although some authors have investigated ETR/C relationships and $\phi_{e,C}$ dynamics, none have studied daily variations in $\phi_{e,C}$ that could influence estimations of daily primary production using variable fluorescence techniques. This point is particularly important in the context of achieving independent estimations of primary production based on ETR estimation from ships-of-opportunity or moorings (Lawrenz *et al.* 2013; Napoléon & Claquin 2012; Silsbe *et al.* 2015; Houliez *et al.* 2017; Claquin *et al.* in prep). The aim of this study was to investigate the daily dynamics of ETR/C relationships and $\phi_{e,C}$ as a function of the diel light cycle considering photosynthetic parameters dynamics in order to better apprehend daily variations in primary production. Furthermore, the different methods currently used to estimate ETR can influence the estimation of $\phi_{e,C}$ (Lawrenz *et al.* 2013). For that reason, ETR was estimated using two different methods based on the same rETR measurements. On the one hand using a^* (Barranguet and Kromkamp 2000; Morris and Kromkamp 2003; Napoléon and Claquin 2012; Napoléon *et al.* 2013b), and on the other hand, using σ_{PSII} (Schreiber *et al.* 2012). In addition to comparing the two methods of estimation, our aim was to understand if the methods produce different pictures of $\phi_{e,C}$ daily dynamics. The study was conducted on three species belonging to the same phylum, the diatom species (Bacillariophyceae), which is one of the most important groups of primary producers (Armbrust 2009) in marine ecosystems (Nelson *et al.* 1995; Geider *et al.* 2001) and which plays a major role in exporting organic carbon (Buesseler 1998; Ducklow *et al.* 2001; Henson *et al.* 2012).

2. Methods

2.1. Culture conditions

Three cosmopolitan marine diatom species (Bacillariophyceae) were investigated in this study: two centric diatoms, *Thalassiosira pseudonana* (Hasle and Heimdal, CCMP H1), which is a model for diatom physiology studies, *Skeletonema marinoi* (Sarno & Zingone, isolated in the English Channel), which is particularly abundant during spring blooms, and the pennate diatom *Pseudo-nitzschia australis* (Frenguelli, isolated in the English Channel), which produces Domoic acid, which is responsible for amnesic shellfish poisoning (Thorel *et al.* 2014).

For each species, semi-continuous cultures (2.5L) were performed in triplicate in sterile 4 L Pyrex flasks using autoclaved and filtered natural poor seawater enriched in nutrients with f/2-medium (Guillard and Ryther 1962). The cultures were maintained in an incubator (Snijders Scientific, Netherlands) at 18°C with a step-by-step sinusoidal light intensity cycle and a 12:12-h light/dark photoperiod. The light intensity, provided by daylight fluorescent lamps, was varied step by step from 0 to 175 $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ at 2 pm.

Each day of culture growth, cultures were manually mixed by gentle swirling every four hours during the light cycle and the integrity of the cells was checked under the microscope. Maximum energy conversion efficiency ($Y(\text{II})_{\text{max}}$) was also estimated to check the healthy state of the cells. Biomass was estimated by *in vivo* chl *a* measurements using a turner TD-700 fluorometer (Turner Designs, California USA) and dilutions were performed to maintain maximum exponential growth. Experiments were started when the cells kept their growth rate constant for 5 consecutive days (Claquin *et al.* 2008). Chlorophyll *a* (chl *a*) concentrations, chlorophyll-specific absorption cross sections, and photosynthetic parameters were measured at hourly intervals during the light cycle and ^{13}C incubation experiments were performed three times a day, at 8:30 am, at 2 pm and at 7:30 pm (i.e. 0.5; 6; and 11.5 hours after dawn respectively).

2.2. Chlorophyll parameters

To measure the chl *a* concentration, 10 mL of each culture were centrifuged for 10 minutes at 4000 rpm. Pigments were extracted by adding 90% acetone (v/v) to the pellet, which was stored for 12 hours in the dark at 4°C. After centrifugation at 4000 rpm for 5 min at 4°C, the concentration of chl *a* was measured in the supernatant using a Turner TD-700 fluorometer (Turner Designs, Sunnyvale, California, USA) and is expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Welschmeyer 1994).

The chlorophyll-specific absorption cross section (a^* ; $\text{m}^2.\text{mgChl } a^{-1}$) was obtained by measuring the *in vivo* optical density of the cultures in a spectrophotometer (Ultrospec 1000) by using Shibata method. The a^* was calculated using the average optical density between 400 nm and 700 nm ($A_{400-700}$) and the concentration of chl a ($\text{mg}.\text{m}^{-3}$) according to the equation of Dubinsky *et al.* (1986) specific to concentrated suspension cultures:

$$a^* = \frac{A \times 100 \times \ln(10)}{[\text{Chl } a]} \quad (1)$$

2.3. Photosynthesis and primary production measurements

2.3.1. Multi-Color-PAM Fluorometry

The Multi-Color-PAM fluorometer (Walz, Effeltrich, Germany; Schreiber *et al.* 2011) makes it possible to analyze the kinetics of the O-I₁ fluorescence rise at 440 nm by using the fitting routine of the PamWin-3 program based on the reversible radical pair model of PSII of Lavergne & Trissl (1995) extended to account for Q_A-reoxidation (Schreiber *et al.* 2012). This ST method enables estimation of the constant time of Q_A-reduction during the O-I₁ rise (τ ; ms) and calculation of the functional absorption of the PSII ($\sigma_{\text{PSII}440}$; nm^2) as follows:

$$\sigma_{\text{PSII}440} = \frac{1}{\tau \times L \times I} \quad (2)$$

Where L is Avogadro's constant and I is the photon fluence rate of the light driving the O-I₁ rise (E ; $\mu\text{mol quanta}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$).

The Multi-Color-PAM device also enables estimation of the maximum energy conversion efficiency, or quantum efficiency of PSII charge separation ($Y(\text{II})_{\text{max}}$: fluorescence ratio). After 10 minutes of dark acclimation to allow oxidation of the electron acceptor pool, a 3-ml sub-sample was transferred into the measuring chamber. The sample was excited by a low frequency measuring light ($1 \mu\text{mol photons}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; $\lambda = 440 \text{ nm}$) to access the quasi-dark level of fluorescence yield (F_0). Maximum fluorescence (F_M) was obtained during a saturating light pulse ($2500 \mu\text{mol photons}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; $\lambda = 440 \text{ nm}$), making it possible to reduce the pools of Quinone A (Q_A), Quinone B (Q_B) and part of the plastoquinone (PQ). After subtraction of the blank fluorescence measured on culture medium filtered through a GF/F glass-fiber filter, $Y(\text{II})_{\text{max}}$ was calculated according to the following equation (Schreiber *et al.* 2012):

$$Y(\text{II})_{\text{max}} = \frac{F_V}{F_M} = \frac{F_M - F_0}{F_M} \quad (3)$$

Thus, $Y(II)_{\max}$ variations are due to F_0 and/or F_M dynamics (eq. 2). However, the level of F_0 and F_M can depend on chl a concentration or/and $\sigma_{PSII440}$ (Oxborough *et al.* 2012). In order to identify the role of these parameters in $Y(II)_{\max}$ variations, the values of F_0 and F_M were divided by the concentration of chl a and the $\sigma_{PSII440}$:

$$\frac{F_0 \text{ (or } F_M)}{[Chl\ a]} \quad (4)$$

$$\frac{F_0 \text{ (or } F_M)}{[Chl\ a] \times \sigma_{PSII440}} \quad (5)$$

After $Y(II)_{\max}$ was estimated, the samples were exposed to fourteen increasing levels of blue light (E ; $\lambda = 440$ nm) from 0 to 966 $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ with 55 seconds at each step ($E = 0; 12; 23; 24; 48; 77; 109; 158; 224; 309; 445; 598; 766 ; 966 \mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). Steady state fluorescence (F_S) and maximum fluorescence (F_M') were measured and $Y(II)$ for each irradiance was determined using eq.6 (Schreiber *et al.* 2012). Subsequently, the relative electron transport rate (rETR ; $\mu\text{mole}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) which represents the rate of linear electron transport through PSII and is correlated with the overall photosynthetic performance of the phytoplankton (Juneau and Harrison 2005) was calculated for each irradiance following eq.7:

$$Y(II) = \frac{F_M' - F_S}{F_M'} \quad (6)$$

$$rETR(E) = Y(II) \times E \quad (7)$$

The rETR(E) values were plotted against light (E) and the mechanistic model of Eilers & Peeters (1988) was applied (eq. 8) using SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc. Chicago, USA) to fit the data and extract the equation coefficients (a , b and c) to calculate the maximum photosynthetic capacity ($rETR_{\max}$, $\mu\text{mole}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; eq.9) and the photosynthetic efficiency (α , $\mu\text{mole}^{-1}.\text{L}^{-1}.\text{h}^{-1}.$ ($\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) $^{-1}$; eq.10):

$$X(E) = \frac{E}{aE^2 + bE + c} \quad (8)$$

$$rETR_{\max} = \frac{1}{(b + 2\sqrt{ac})} \quad (9)$$

$$\alpha = \frac{1}{c} \quad (10)$$

2.3.2. Calculation of the electron transport rate

Two methods of calculation were used to estimate the absolute ETR from PSII. First, the ETR ($\text{mmole}^- \cdot \text{mgchl } a^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) was estimated using the a^* ($\text{m}^2 \cdot \text{mgChl } a^{-1}$) values (Napoléon *et al.* 2013a), and called ETR^{a^*} :

$$\text{ETR}^{a^*} (E) = r\text{ETR}(E) \times a^* \times f\text{AQ}_{\text{PSII}} \times 3.6 \quad (11)$$

Where $f\text{AQ}_{\text{PSII}}$ is the fraction of absorbed quanta to PSII assuming that, for diatoms, 74% of the absorbed photons were allocated to photoreactions in the PSII (Johnsen and Sakshaug 2007; Napoléon *et al.* 2013a).

Second, the ETR was estimated using the σ_{PSII440} values (nm^2), converted in $\text{mmole}^- \cdot \text{mgchl } a^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ according to Schreiber *et al.* (2011) and named $\text{ETR}(\text{II})$:

$$\text{ETR}(\text{II}) = \frac{r\text{ETR}(E) \times \sigma_{\text{PSII}}}{Y(\text{II})_{\text{max}}} \times \frac{[\text{PSII}] \times 36.10^5}{[\text{chl}a]} \quad (12)$$

Where $[\text{chl } a]$ is the chl a concentration expressed in $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ and $[\text{PSII}]$ is the concentration of the PSII reaction centers in $\text{PSII} \cdot \text{ml}^{-1}$ obtained as follows:

$$[\text{PSII}] = \frac{[\text{chl } a] \times L}{900 \times 1000} \quad (13)$$

Where $[\text{chl } a]$ is expressed in $\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ assuming a molecular weight of $900 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ per chl and a photosynthetic unit size of 1000 molecules of chl per electron transport chain (Schreiber *et al.* 2011).

2.3.3. ^{13}C incubation

For each replication, a volume of 650 ml was inoculated with $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ (98 atom %, Sigma-Aldrich) corresponding to 15% enrichment of the dissolved inorganic carbon present. The homogenized enrichment was shared between ten 62 ml culture flasks including a dark flask used to estimate incorporation of non-photosynthetic carbon. All the flasks were placed in a photosynthetron (modified from Babin *et al.* (1994)) maintained at 18°C by a water circuit and illuminated by a U shaped dimmable fluorescent tube (OSRAM, DULUX L, 2G11, 55W/12-950, daylight). Each 62ml flask was illuminated with constant light for 90min before collection. The light intensity in each flask was measured using a micro-spherical quantum sensor (US-SQS; Walz) connected to a LI-COR 1400 data logger. Irradiance varied from one flask to another with values of 0; 24; 36; 54; 80; 122; 285; 426; 608; and

848 $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ respectively. After incubation, each flask was filtered on GF/F filters pre-combusted at 450°C for four hours and stored at -20°C until analysis. Before analyses, filters were exposed to fuming HCL for four hours and dried at 50°C for 12 hours to remove carbohydrates. After being placed in tin capsules, the samples were conserved at 50°C until measurement.

The isotopic ratio of ^{13}C to ^{12}C and the concentration of particulate organic carbon (POC) were determined using an EA 300 elemental analyzer (Eutovector, Milan, Italy) combined with a mass spectrophotometer (IsoPrime, Elementar). After the dark incorporation value was subtracted, the carbon fixation rates (P^{Chl} ; $\text{mmolC.mgchl}^{-1}.\text{h}^{-1}$) were calculated according to Hama *et al.* (1983).

2.3.4. Electrons required for C fixation ($\phi_{\text{e,C}}$)

The P^{Chl} values were plotted against each ETR value (ETR(II) and $\text{ETR}^{\text{a}*}$) and $\phi_{\text{e,C}}$, which corresponds to the initial slope of the relationship (Barranguet and Kromkamp 2000; Napoléon *et al.* 2013b), was estimated for each species in the triplicate cultures, at the three different times during the light period.

2.4.Data analyses

In order to investigate the significant effect of the diel cycle on biological (a^* , chl a) and photosynthetic ($Y(\text{II})_{\text{max}}$, σ_{PSII} , $\text{ETR}^{\text{a}*}_{\text{max}}$, $\text{ETR(II)}_{\text{max}}$, $P^{\text{Chl}}_{\text{max}}$, $\phi_{\text{e,C}}$) parameters, repeated measures analysis of variance (RM ANOVA) were performed followed by Holm-Sidak pairwise comparison tests using SigmaPlot 11.0 (Systat Software). Previously, the presence of outliers, non-normality of residuals, and the lack of homoscedasticity were tested using Shapiro and Bartlett tests, respectively. Differences were considered significant when the p-value was less than 0.05. All plots were performed using SigmaPlot 11.0 (Systat Software).

3. Results

3.1.Chl a and absorption cross section

Chl a concentrations showed significant increasing trends as the sampling day advanced with values ranging from 133.4 to 238.8 $\mu\text{g.L}^{-1}$ for *T. pseudonana*, from 261.2 to 347.1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ for *S. marinoi* and from 43.1 to 55.3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ for *P. australis*. The values of a^* (Fig. 16.A) decreased as the day advanced from 0.010 to 0.003 $\text{m}^2.\text{mgchl}^{-1}$ for *T. pseudonana*, from 0.038 to 0.030 $\text{m}^2.\text{mgchl}^{-1}$ for *P. australis* and remained almost constant for *S. marinoi* at 0.0055

$\text{m}^2.\text{mgchl } \alpha^{-1}$. The $\sigma_{\text{PSII}440}$ (Fig 16.B) showed no significant differences over the course of the day for *T. pseudonana* with a daily mean value of $2.98 \pm 0.28 \text{ nm}^2$. For *S. marinoi*, the lowest value ($1.71 \pm 0.20 \text{ nm}^2$) recorded at 2 pm differed significantly from the other values recorded during the day ($2.44 \pm 0.17 \text{ nm}^2$). For *P. australis*, values ranged between 2.64 ± 0.55 and $4.16 \pm 1.05 \text{ nm}^2$ and no significant differences were observed (RM ANOVA, $p=0.185$).

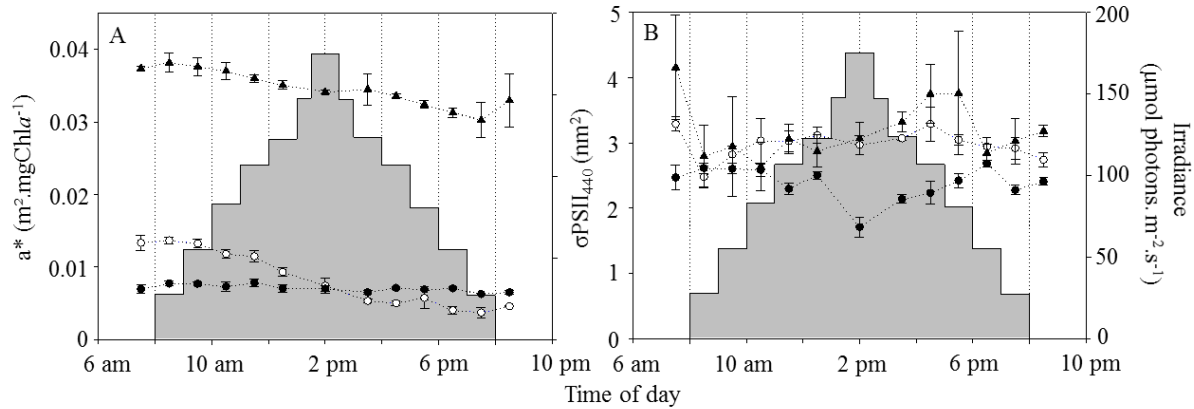


Figure 16. Daily dynamics of (A) specific absorption of the chlorophyll pigment (a^* ; $\text{m}^2.\text{mgChl } \alpha^{-1}$) and (B) functional absorption cross-section of the PSII (σ_{PSII} , nm^2) in the three species studied. The white circle represents *T.pseudonana*, the black circle represents *S.marinoi*, and the black triangle represents *P.australis*. The grey bar plot represents irradiance dynamics ($\mu\text{mol photons}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) over the course of the day (times).

3.2. Quantum efficiency of PSII charge separation

$Y(\text{II})_{\text{max}}$ (Fig. 17) showed high values ranging between 0.621 and 0.668 for *T. pseudonana*, between 0.502 and 0.636 for *S. marinoi*, and between 0.652 and 0.680 for *P. australis*. For *T. pseudonana*, significantly lower values were recorded after 2 pm than before. For *S. marinoi*, a significant decrease was measured from 11:30 am to 2 pm followed by a significant increase from 2 pm to 4:30 pm. For *P. australis*, despite limited variability, values increased in the morning from 7:30 am to 12:30 pm, decreased significantly between 12:30 pm and 2 pm, and no differences were recorded between 2:00 pm and 8:30 pm. The dynamics of F_M and F_0 were then investigated in order to explain the variations in $Y(\text{II})_{\text{max}}$ (eq. 4&5). For *T. pseudonana*, the significant decrease observed in $Y(\text{II})_{\text{max}}$ at 2:00 pm was also observed for $(F_0 \text{ (or } F_M))/\text{chl } a$ (Fig. 17-A) and for $(F_0 \text{ (or } F_M))/(\text{chl } a.\sigma_{\text{PSII}440})$ but the variation in F_M was greater (Fig. 17-B). Thus, the $Y(\text{II})_{\text{max}}$ can be attributed a marked decrease in F_M independently of biomass or functional absorption of the PSII. For *S. marinoi*, the significant lowest value of $Y(\text{II})_{\text{max}}$ observed at 2 pm was also observed for $F_M/\text{chl } a$ (Fig. 17-C) but not for $F_M/(\text{chl } a.\sigma_{\text{PSII}440})$ (Fig. 17-D). This variation is therefore mainly linked to $\sigma_{\text{PSII}440}$ dynamics. For *P. australis*, the slight decrease observed after 2:00 pm for $Y(\text{II})_{\text{max}}$ was associated with a slight increase in $F_M/\text{chl } a$ (Fig. 17-E) while $F_M/(\text{chl } a.\sigma_{\text{PSII}440})$ remained stable (Fig. 17-F). Thus, the $Y(\text{II})_{\text{max}}$ variation can be induced by the observed increase in $\sigma_{\text{PSII}440}$ (Fig. 1-B).

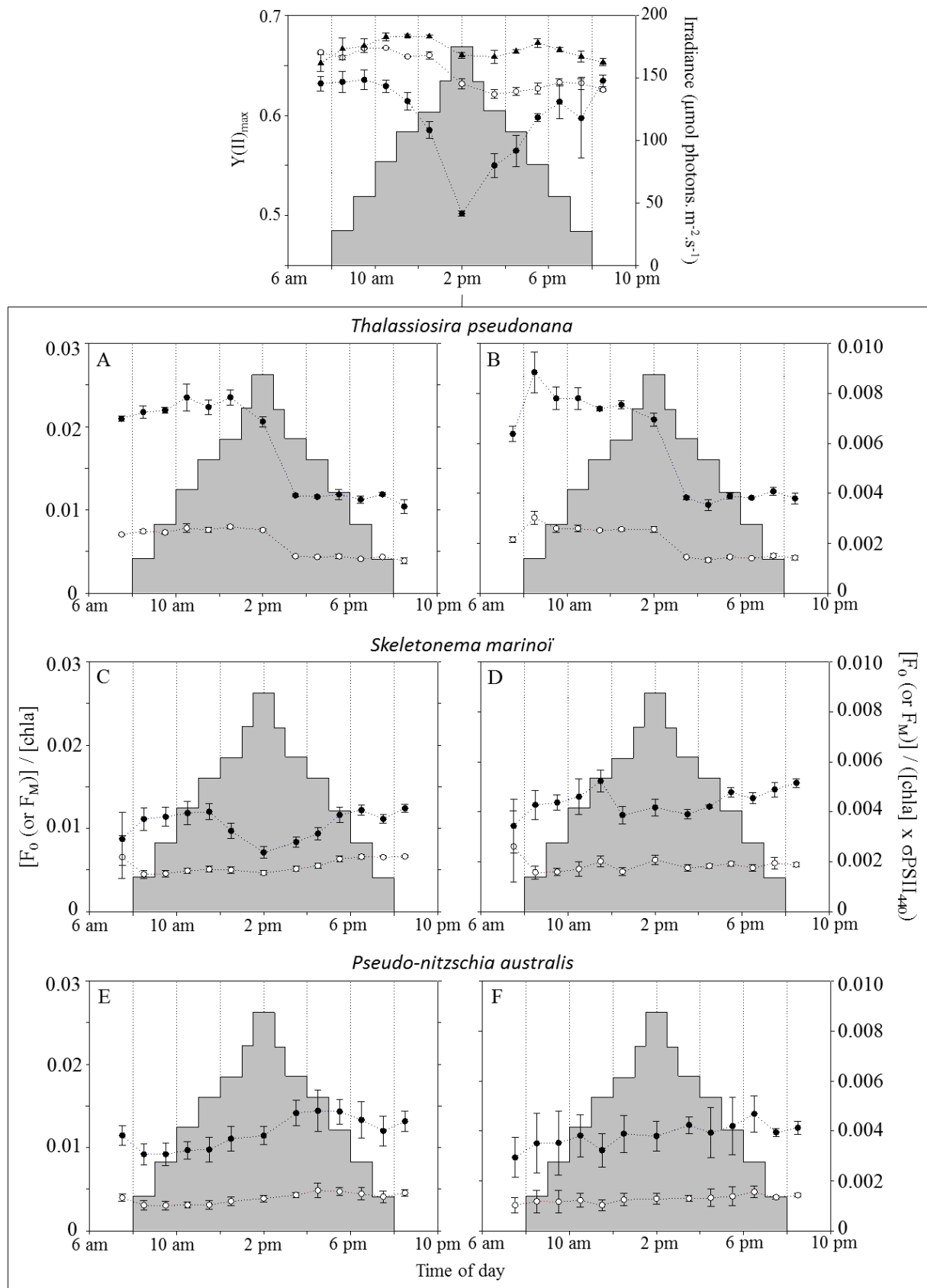


Figure 17. Dynamics of $Y(II)_{\text{max}}$ (fluorescence ratio), F_m (or F_o)/chl *a* (left panel), and F_m (or F_o)/([chl *a*] $\times \sigma_{\text{PSII}_{440}}$) (right panel) for each studied species studied: *T.pseudonana* (A&B), *S. marinoi* (C&D) and *P. australis* (E&F). The black circle represents F_m and the white circle F_o . The grey bar plot shows irradiance ($\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) dynamics over the course of the day (times).

3.3. Photosynthetic parameters

The photosynthetic efficiency of the PSII electron transport (α ; $\mu\text{mole}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}\cdot(\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})^{-1}$) showed different trends between species and methods (Fig. 18). The α^{a*} values (Fig. 18-A) were higher than the $\alpha(\text{II})$ values (Fig. 18-B) especially for *P. australis*. For *T. pseudonana*, the values of α^{a*} were significantly lower after 2 pm than before (RM ANOVA $p < 0.001$; Holm-Sidak pairwise comparison) while values of $\alpha(\text{II})$ did not differ (RM ANOVA; $p=0.059$). For *S. marinoi*, α^{a*} and $\alpha(\text{II})$ values remained stable throughout the day despite the weak yet significant variations observed at 2 pm, 7:30 pm and 8:30 pm in both parameters (RM ANOVA, $p < 0.001$; Holm-Sidak pairwise comparison). For *P. australis*, high variability between replicates resulted in no significant differences for α^{a*} (RM ANOVA, $p = 0.195$) and $\alpha(\text{II})$ (RM ANOVA, $p = 0.048$) values.

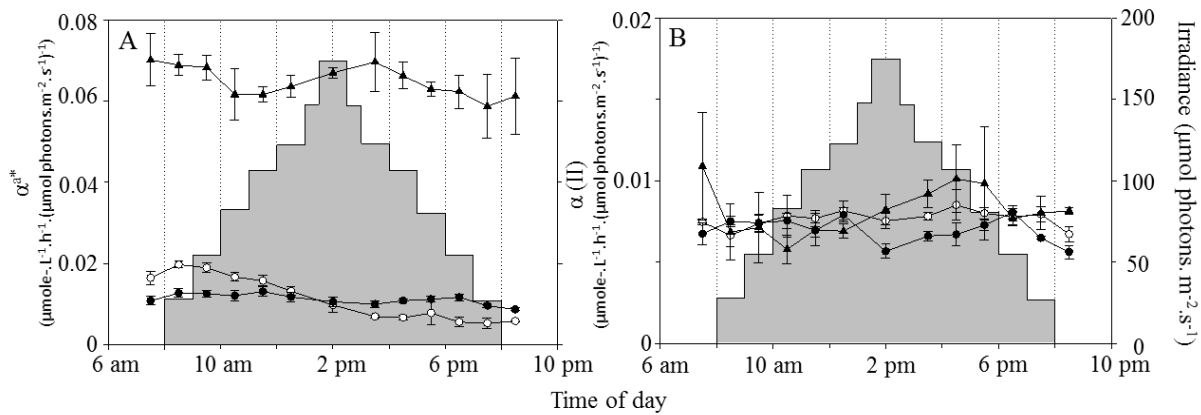


Figure 18. Dynamics of the photosynthetic efficiency of the PSII (α ; rel. unit) calculated using (A) α^{a*} and (B) σ_{PSII440} ($\alpha(\text{II})$) for each species studied. The black circle represents *S. marinoi*, the white circle represents *T. pseudonana* and the black triangle represents *P. australis*. The grey bar plot shows irradiance ($\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) dynamics over the course of the day (times).

The maximum electron transport rate (ETR_{max} ; $\text{mmole}\cdot\text{mgchl } a^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) differed as a function of the method of calculation used, and mean values ranged between 0.49 and 10.26 $\text{mmole}\cdot\text{mgchl } a^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ for $\text{ETR}^{a*}_{\text{max}}$ (Fig. 19-A) and between 0.45 and 1.39 $\text{mmole}\cdot\text{mgchl } a^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ for $\text{ETR}(\text{II})_{\text{max}}$ (Fig. 19-B). An increase in ETR_{max} values was observed in each species at the beginning of the day until reaching a maximum, whose timing and value differed as a function of the method and species (table 7). After this maximum value, a decrease in ETR_{max} values was observed. Comparison between the two ETR_{max} estimations showed higher values for $\text{ETR}^{a*}_{\text{max}}$ than for $\text{ETR}(\text{II})_{\text{max}}$. The discrepancy between the two ETR estimations is species dependent (table 1), the weakest relationships were observed for *S. marinoi*, and the biggest differences between ETR values were observed for *P. australis* with respectively a maximum value of $\text{ETR}(\text{II})_{\text{max}}$ of 1.19 $\text{mmole}\cdot\text{mgchl } a^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ and maximum value of $\text{ETR}^{a*}_{\text{max}}$ of 10.26 $\text{mmole}\cdot\text{mgchl } a^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Table 7. Linear regression and Spearman correlation between the two ETR estimations using a^* ($ETR^{a^*}_{max}$) and $\sigma_{PSII440}$ ($ETR(II)_{max}$) for each species studied. The correlation coefficient, the p-value and the headcount (n) are given for each analysis. The maximum values of each ETR are given with the recording time. The plot represents the $ETR(II)_{max}$ values (Y axis) as a function of the $ETR^{a^*}_{max}$ values (X axis) fitted to the linear regression whose equation is given.

<i>T. pseudonana</i>	Maximum $ETR^{a^*}_{max} = 2.94 \text{ mmole} \cdot \text{mgchl } a^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; recording time: 9:30 am Maximum $ETR(II)_{max} = 1.39 \text{ mmole} \cdot \text{mgchl } a^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; recording time: 11:30 am Linear regression : $ETR(II)_{max} = 0.42 + 0.14 \times ETR^{a^*}_{max}$ $R^2 = 0.70$; p-value < 0.001; n=39 Spearman correlation coefficient: 0.84 p-value < 0.001; n = 39	
<i>S. marinoi</i>	Maximum $ETR^{a^*}_{max} = 1.46 \text{ mmole} \cdot \text{mgchl } a^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; recording time: 9:30 am Maximum $ETR(II)_{max} = 0.86 \text{ mmole} \cdot \text{mgchl } a^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; recording time: 9:30 am Linear regression : $ETR(II)_{max} = 0.76 + 0.21 \times ETR^{a^*}_{max}$ $R^2 = 0.06$; p-value < 0.001; n=38 Spearman correlation coefficient: 0.27 p-value > 0.05; n = 38	
<i>P. australis</i>	Maximum $ETR^{a^*}_{max} = 10.26 \text{ mmole} \cdot \text{mgchl } a^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; recording time: 9:30 am Maximum $ETR(II)_{max} = 1.19 \text{ mmole} \cdot \text{mgchl } a^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; recording time: 5:30 pm Linear regression: $ETR(II)_{max} = 0.49 + 0.06 \times ETR^{a^*}_{max}$ $R^2 = 0.30$; p-value < 0.001; n=39 Spearman correlation coefficient: 0.48 p-value < 0.01; n = 39	

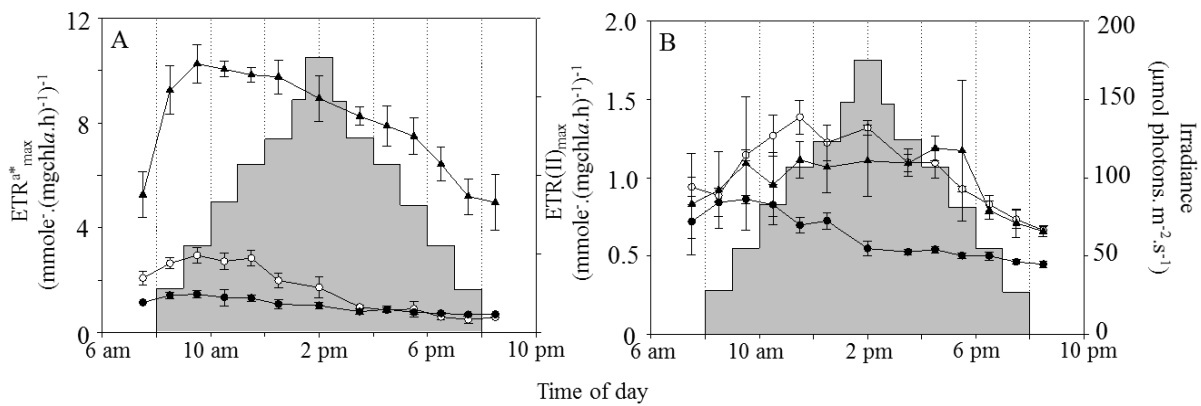


Figure 19. Dynamics of the maximum electron transport rate (ETR_{max} ; relative unit) calculated using (A) a^* ($ETR^{a^*}_{max}$) and (B) $\sigma_{PSII440}$ ($ETR(II)_{max}$) for each species studied: *Thalassiosira pseudonana* (empty circles); *Skeletonema marinoi* (black circles) and *Pseudo-nitzschia australis* (black triangles). The grey bar plot shows irradiance ($\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) dynamics over the course of the day (times).

3.4. Electron requirements for carbon fixation ($\phi_{e,C}$)

Pchl(E) values were plotted against $ETR(E)$ values and strong linear regressions were found (Fig. 5). R^2 of the linear regressions were always higher than 0.89 for both $ETR(E)$. $\phi_{e,C}$ values ranged between 3.06 and 6.74 mol electrons.molC⁻¹ using $ETR(II)$ and between 1.69 and 43.20 mol electrons.molC⁻¹ using $ETRa^*$ (Tab. 8). The $\phi_{e,C}$ values by comparing the three times of sampling did not significantly differ over the course of the day when estimated using $ETR(II)$ (Tab. 9). Conversely, the $\phi_{e,C}$ values for *T. pseudonana* and *P. australis* did significantly differ when estimated using $ETRa^*$ with for *T. pseudonana*, each hour different from the others and for *P. australis*, H1 (8:30 am) different from H2 and H3 which do not differ (Tab. 9).

Table 8. Hourly and daily $\phi_{e,C}$ values (mean $\pm$ SD) estimated from the linear regressions ($y = ax + b$) between ETR(E) (mmole $\cdot$ mgChl $a^{-1}\cdot h^{-1}$) and $P^{chl}(E)$ (mmolC $\cdot$ mgChl $a^{-1}\cdot h^{-1}$) for each species studied (three replicates per species). With $y = \text{ETR(E)}$ (ETR(II) or ETR ^{a*}), $x = P^{chl}(E)$ and R^2 the correlation coefficient of the relationship all replicates pooled.

Species	Time of day	P^{chl} vs. ETR ^{a*}		P^{chl} vs. ETR(II)	
		$\phi_{e,C}$	R^2	$\phi_{e,C}$	R^2
<i>T. pseudonana</i>	8:30 am	8.85 ± 1.0	0.99	3.24 ± 0.21	0.99
	2 pm	4.64 ± 0.95	0.99	3.93 ± 0.45	0.99
	7:30 pm	2.16 ± 0.74	0.96	3.52 ± 0.47	0.96
	Daily	5.21 ± 3.03	-	3.56 ± 0.45	-
<i>S. marinoi</i>	8:30 am	6.80 ± 0.07	0.98	4.85 ± 0.21	0.98
	2 pm	6.44 ± 1.64	0.98	4.12 ± 0.70	0.98
	7:30 pm	6.04 ± 0.39	0.99	4.91 ± 0.39	0.99
	Daily	6.43 ± 0.91	-	4.62 ± 0.56	-
<i>P. australis</i>	8:30 am	39.74 ± 4.02	0.99	5.77 ± 1.01	0.99
	2 pm	22.63 ± 0.37	0.99	4.12 ± 0.50	0.99
	7:30 pm	18.19 ± 2.92	0.92	3.69 ± 0.74	0.92
	Daily	26.86 ± 10.17	-	4.53 ± 1.16	-

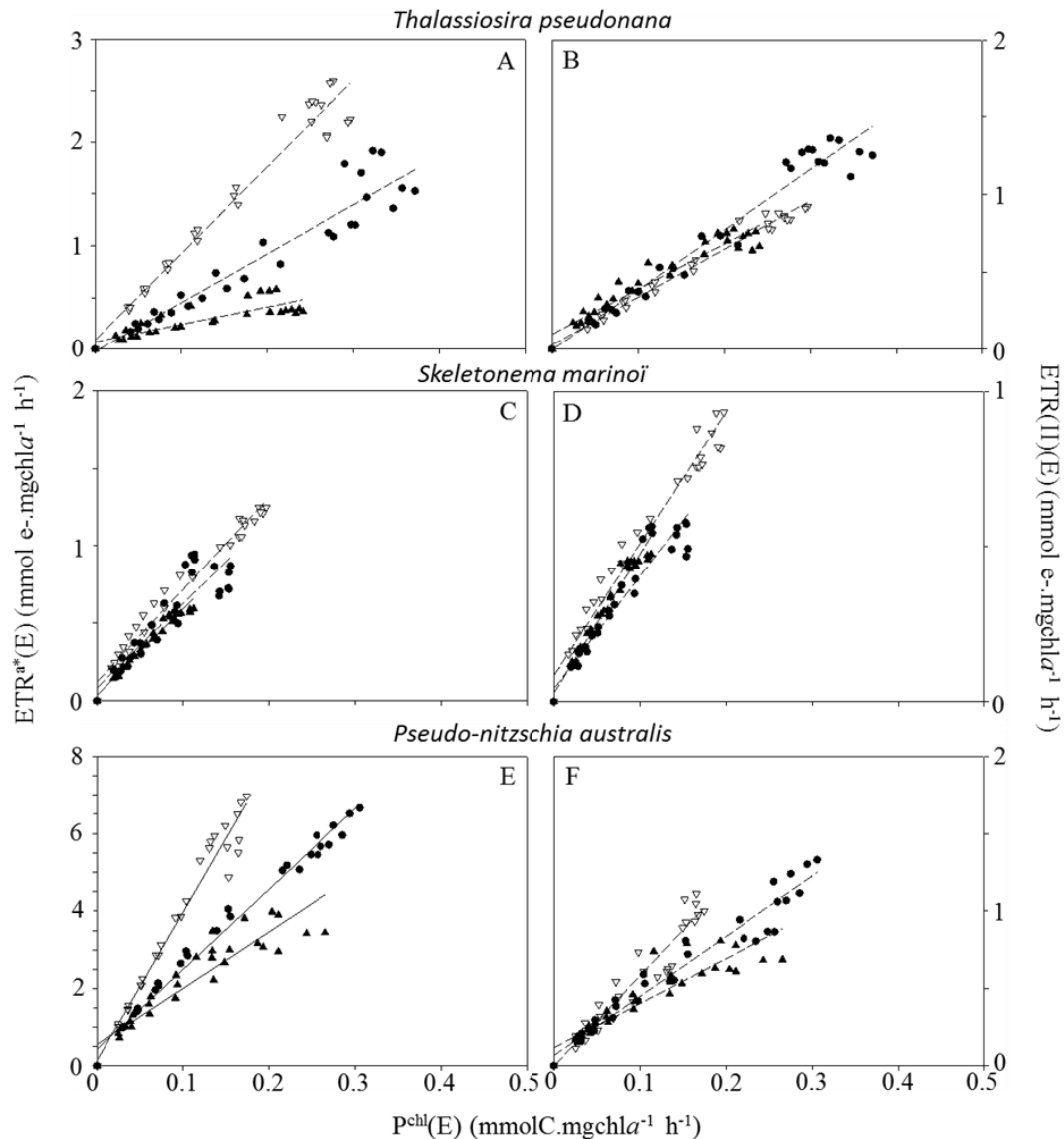


Figure 20. Linear relationship between ETR(E) (ETR(II) or ETR ^{a*} ; mmole $\cdot$ mgChl $a^{-1}\cdot h^{-1}$) and $P^{chl}(E)$ (mmolC $\cdot$ mgChl $a^{-1}\cdot h^{-1}$) for each species studied: (*T. pseudonana* (A & B), *S. marinoi* (C & D) and *P. australis* (E & F)) at each sampling time (9:30 am: white triangle; 2:00 pm: black circles; 7:30 pm: black triangles).

Table 9. Results of the one way Repeated Measures Analysis of Variance (RM ANOVA) for the ϕ_e , C. values which were estimated from the linear regressions between ETR(E) (ETR(II) or ETR^{a*}) and P^{chl}(E) for each species studied (three replicates per species). The difference was considered as significant when p-value < 0.05. If difference was significant, an all pairwise multiple comparison procedure was performed using the Holm-Sidak method. The differences between sampling times (H1, H2 or H3) are given by a group name (a, b or c) in exponent.

Species	ETR ^{a*}		ETR(II)	
	p-value	Holm-Sidak method	p-value	Holm-Sidak method
<i>T. pseudonana</i>	< 0.001	H1 ^a - H2 ^b - H3 ^c	0.237	not significant
<i>S. marinoi</i>	0.713	not significant	0.228	not significant
<i>P. australis</i>	< 0.001	H1 ^a - H2 ^b - H3 ^b	0.102	not significant

4. Discussion

4.1. Physiological responses to the light regime

Variations in phytoplankton productivity and associated physiological responses are known to occur at short time scales (Falkowski 1984; Greene *et al.* 1994; MacIntyre and Cullen 1996; Jouenne *et al.* 2005; Lavaud 2007). For diatoms, the degree of variability in photosynthesis appears to be particularly pronounced and it is assumed that diel oscillation in photosynthesis are not clock-controlled but regulated by diel variations in environmental light (Prézelin 1992; Dimier *et al.* 2007, 2009; Lavaud *et al.* 2007; Key *et al.* 2010; Wu *et al.* 2012). In this study, our photosynthetic parameters showed no parallel changes with the irradiance level. Indeed, despite an increasing trend in photosynthetic parameters (ETR(II)_{max}, α , Y(II)_{max}) in the morning correlated with the irradiance level, the highest values were not correlated with the maximum intensity (Figs. 3&4; Table 1). The relationship between light and photosynthesis is clearly described: at the lowest light levels, photosynthesis is a linear function of irradiance while with increasing light, photosynthesis becomes light-saturated and remains unchanged unless photoinhibition occurs, which leads to a decrease in photosynthetic capacity (Behrenfeld *et al.* 2004). In *T. pseudonana* and *S. marinoi*, the highest values in the morning were followed by decreasing values at the highest intensity. This result suggests activation of a photoacclimation process leading to reorganization and/or to a reduction in pigment content under excessive light intensity to protect cells against possible damage to the photosynthetic units, and can cause a slight decrease in photosynthetic efficiency (Macintyre *et al.* 2002; Dubinsky and Stambler 2009). As samples were adapted to the dark, any modulation of Y(II)_{max} values was caused by an increase in non-photochemical quenching (q_N) which may have two explanations: (i) a transitional variation corresponding to the reorganization of PSII antennae to increase the dissipation of energy and (ii) the alteration of photosystems corresponding to damage to the PSII reaction centers (Kolber and Falkowski 1993). The first reason could thus be illustrated by the variation in $\sigma_{PSII440}$ while the second reason will be independent. As

observed in *T. pseudonana* in this study, $Y(II)_{\max}$ dynamics was independent from $\sigma_{PSII440}$ as illustrated by the decrease in $F_0/(chl\ a.\sigma_{PSII440})$ in comparison with $F_0/chl\ a$. At 2 pm, the decrease in $Y(II)_{\max}$ is due to a decrease in $F_M/chl\ a$ while $F_0/chl\ a$ which remains constant and can be explain by short-term photoacclimation as regulation of the xanthophyll cycle. After 2 pm, the decrease in $F_0/(chl\ a.\sigma_{PSII440})$ which represents the concentration of active reaction centers (Oxborough *et al.* 2012) could illustrate some damage in the photosystems. However, due to the relatively low irradiance applied ($175\ \mu mol\ photons.m^{-2}.s^{-1}$), this hypothesis is debatable and the decrease observed in $F_0/(chl\ a.\sigma_{PSII440})$ could be induce by some other photoacclimation processes like a down regulation of the photosynthesis. In *S. marinoi*, $Y(II)_{\max}$ dynamics was linked to $\sigma_{PSII440}$ values and could be explained by reorganization of the PSII antennas. This observation is in agreement with the work of Weis & Berry (1987) who showed that an increase in q_N could be induced by a decrease in σ_{PSII} . In *P. australis*, $ETR(II)_{\max}$ remained constant when the light levels were high. A decrease in light absorption illustrated by a^* values was offset by an increase in $\sigma_{PSII440}$ values which appears to allow constant electron transport inside the PSII. Thus, in contrast to *T. pseudonana*, which appears to have suffered damage to photosystems during high light intensity, *S. marinoi* and *P. australis* appear to have regulated their absorption of energy used for photosynthesis by modulating $\sigma_{PSII440}$ either to optimize photosynthesis like *P.australis* or to prevent damage to PSII like *S. marinoi*. These results confirm the species-dependent capacities and the different strategies used for photoacclimation in the same phylum.

4.2.Dynamics of $\phi_{e,c}$

In this study, rETR values were used to estimate ETR using two commonly used methods, ETR^{a^*} (Barranguet and Kromkamp 2000; Morris and Kromkamp 2003; Napoléon and Claquin 2012; Napoléon *et al.* 2013b) and $ETR(II)$ (Schreiber *et al.* 2012, Morelle *et al.* in prep). ETR^{a^*} values were higher than $ETR(II)$ and the results obtained using the two methods were weakly correlated (table 1). This result can be easily explained as due to a^* estimation which corresponds to an average of total pigment absorption including non-photosynthetic and photo-protective pigments but also including a “package effect” (Fujiki and Taguchi 2002; Johnsen and Sakshaug 2007). While $ETR(II)$ is based on σ_{PSII} measurements at a narrow waveband (440 nm in the present study) which does not represent the whole photosynthetic active radiation spectrum (Schreiber *et al.* 2012). Both the approaches present some biases which can lead to a weak correlations between the two ETR estimates as a function of the species (present study), of pigment phytoplankton groups (Johnsen and Sakshaug 2007) and of

growth conditions (Hancke *et al.* 2008a; Napoléon *et al.* 2013b). Here, we used the two approaches to evaluate the discrepancy between $\phi_{e,C}$ estimations and to assess the impact of the method on the characterization of $\phi_{e,C}$ daily dynamics. In the three species studied, a linear relationship was obtained between ETR and P^{chl} values in agreement with the results of previous studies (Napoléon *et al.* 2013b; Lawrenz *et al.* 2013), which confirms that it is possible to accurately estimate primary productivity using variable fluorescence measurements (Barranguet and Kromkamp 2000; Napoléon and Claquin 2012). Our results showed that the method used greatly influences $\phi_{e,C}$ estimations and it is consequently important to consider which method was used before comparing studies or $\phi_{e,C}$ estimations in different locations and conditions.

Considerable spatial and temporal variability of $\phi_{e,C}$ values is reported in the literature (Lawrenz *et al.* 2013; Napoléon & Claquin 2012; Hancke *et al.* 2015). At time scales, it is accepted that $\phi_{e,C}$ variability is influenced by the seasonal dynamics of environmental parameters (light, nutrients, temperature, etc.) and the species composition of phytoplankton assemblages. At the daily scale, our results showed that $\phi_{e,C}$ from ETR^{a*} variability was higher between triplicates at the same sampling time than over the course of the day, as shown by the high standard deviations (Table 8). Thus, daily estimation of the primary production using the ETR^{a*} will have to take into consideration the large variability and the weak repetitiveness in the resulting values. The variation in ETR(II) was better correlated with P^{chl} resulting in less variable estimations of $\phi_{e,C}$ values over the course of the day with notable repetition between replicates (Table 8). For the estimation of daily primary production, it therefore appears that the $\phi_{e,C}$ values obtained using the ETR(II) method are better suited to transforming variable fluorescence data into carbon rate units without needing to take any daily variations into consideration. This result means it could be possible to estimate high frequency primary production using autonomous variable fluorescence measurements from ships-of-opportunity or moorings (Napoléon and Claquin 2012; Lawrenz *et al.* 2013; Silsbe *et al.* 2015; Houliez *et al.* 2017, Claquin *et al.*, in prep) without taking a potential daily variation in $\phi_{e,C}$ into consideration. However, in this work, cultures grown in controlled environments which are far from *in situ* conditions encountered by phytoplankton communities like the potential nutrient deprivations or the biotic/abiotic stresses for instance. Therefore, further investigations are needed to validate our finding for field application. Anyway, low frequency $\phi_{e,C}$ calibrations are still necessary as a function of water masses and seasons.

The $\phi_{e,C}$ values obtained in this study with ETR(II), which ranged from 3.06 to 6.74 mol electron.molC⁻¹ were in the range defined in several studies referenced by Lawrenz *et*

al. (2013) at between 1.15 and 54.2 mol electron.molC⁻¹ with a mean of 10.9 mol electron.molC⁻¹, and similar to the values found by Hancke *et al.* (2008) in monocultures of different phytoplankton species ranging from 3.6 to 6.2 mol electron.molC⁻¹ or to other estimations of $\phi_{e,C}$ obtained from PAM measurements (Hancke *et al.* 2015 and citations therein). However, our values were low compared to a large number of $\phi_{e,C}$ estimated *in situ* which, for example, ranged between 15.9 and 35.7 for deep alpine lake phytoplankton (Kaiblinger and Dokulil 2006) or for nutrient limited cultures of phytoplankton, ranged between 9.17 and 125 (Napoléon *et al.* 2013b). The primary sources of $\phi_{e,C}$ variation are variations in environmental parameters which lead to high values of $\phi_{e,C}$ including salinity, temperature (Morris and Kromkamp 2003), nutrient limitations (Babin *et al.* 1996), a shift in community composition or light stress (Napoléon & Claquin, 2012; Lawrenz *et al.* 2013). Under optimal growth conditions, the value of $\phi_{e,C}$ would be between 4 and 6 moles (Lawrenz *et al.* 2013) which is in agreement with the results obtained in the present study. Values of $\phi_{e,C} < 4$ appear to be physically impossible and could be due to methodological or calculation errors that could lead to underestimations of up to 53% (Lawrenz *et al.* 2013) but the present study was conducted under controlled conditions and methodological errors are thus assumed to be low. It therefore appears that an additional source of energy used can be suspected in the fixation of carbon. It was recently shown that diatoms are able to optimize their photosynthesis through the exchange of energy between plasmids and mitochondria (Bailleul *et al.* 2015). Indeed, when the ATP:NADPH ratio generated by a linear electron flow is insufficient to fuel CO₂ imports into the plasmid and assimilation by the Calvin cycle, diatoms are able to produced additional ATP *via* alternative pathways, particularly through extensive energy exchanges between plastids and mitochondria. This process could explain our values of $\phi_{e,C} < 4$ mol electron.molC⁻¹ for *T. pseudonana*, particularly since this activity has already been demonstrated in this species (Bailleul *et al.* 2015). These results also confirm the low electron cost to diatoms of performing photosynthesis under non-limiting nutrient conditions (Napoleon *et al.* 2013b).

Acknowledgments

We thank Juliette Fauchot and Bertrand Le Roy for providing the diatom strains and Anne-Flore Breton for technical assistance. We are also really grateful to Camille Napoleon for technical help and constructive exchanges during this study. This work was support by the GIP Seine-Aval project “PROUESSE” and the SMILE 2 project supported by l’Agence de l’Eau Seine Normandie.

Annual phytoplankton primary production estimation in a temperate estuary by coupling PAM and carbon incorporation methods

This article is under review in “*Estuaries and coasts*”

Jérôme Morelle; Mathilde Schapira; Francis Orvain; Philippe Riou; Pascal Jean Lopez; Olivier Pierre-Duplessix; Emilie Rabiller; Frank Maheux; Benjamin Simon and Pascal Claquin

Abstract

Phytoplankton primary production varies considerably with environmental parameters especially in dynamic ecosystems like estuaries. The aim of this study was to investigate short-term primary production along the salinity gradient of a temperate estuary over the course of one year. The combination of carbon incorporation and fluorescence methods enabled primary production estimation at short spatial and temporal scales. The electron requirement for carbon fixation was investigated in relation with physical-chemical parameters to accurately estimate primary production at high frequency. These results combined with the variability of the photic layer allowed the annual estimation of primary production along the estuary. Phytoplankton dynamics was closely related to salinity and turbidity gradients, which strongly influenced cells physiology and photoacclimation. The number of electrons required to fix one mol of carbon (C) was ranged between 1.6 and 25 mol electron.molC⁻¹ with a mean annual value of 8 ± 5 mol electron.molC⁻¹. This optimum value suggests that in nutrient replete conditions like estuaries, alternative electron flows are low while electrons transfer from photosystem II to carbon fixation is highly efficient. A statistical model was used to improve the estimation of primary production from electron transport rate as a function of significant environmental parameters. Based on this model, daily carbon production in the Seine estuary (France) was estimated by considering light and photic zone variability. A mean annual daily primary production of 0.12 ± 0.18 gC.m⁻².d⁻¹ with a maximum of 1.18 gC.m⁻².d⁻¹ in summer was estimated which lead to an annual mean of 64.75 gC.m⁻².y⁻¹. This approach should be applied more frequently in dynamic ecosystems such as estuaries or coastal waters to accurately estimate primary production in those valuable ecosystems.

1. Introduction

Phytoplankton primary production (PPP) is one of the most important process in aquatic ecosystems which is at the base of the marine trophic network (Pauly and Christensen 1995; Chen and Borges 2009; Cloern *et al.* 2014). It is therefore essential to accurately estimate the PPP to understand, apprehend and manage the ecosystems. However, PPP varies considerably with environmental parameters (Cloern 1996; Pannard *et al.* 2008), including light availability (Falkowski and Raven 1997; Anning *et al.* 2000; Macintyre *et al.* 2002), nutrient concentrations (Dortch and Whitledge 1992; Lohrenz *et al.* 1999; Tillmann *et al.* 2000; Claquin *et al.* 2010) and temperature (Davison 1991; Falkowski and Raven 1997; Shaw and Purdie 2001; Claquin *et al.* 2008). The most commonly used methods for *in situ* estimation of PPP are carbon isotopes (^{14}C or ^{13}C) incorporation (Babin *et al.* 1994; Cloern *et al.* 2014) methods. Carbon isotopes methods are sensitive but the long incubation periods required are a disadvantage for accurate estimations at small spatial and temporal scales. The PAM (Pulse amplitude modulated) fluorometer method based on variations in the fluorescence emitted by the photosystem II (PSII) during photosynthesis allows rapid measurements of photosynthetic parameters (Parkhill *et al.* 2001; Kromkamp and Forster 2003; Napoléon and Claquin 2012). In contrast to the carbon incorporation method, which gives the rate of photosynthetic carbon incorporated, the PAM method gives access to the electron transport rate (ETR) from the PSII (Kolber and Falkowski 1993; Barranguet and Kromkamp 2000). The combination of these both methods allows to estimate PPP at small spatial and temporal scales as a function of the environmental parameters (Napoléon and Claquin 2012; Lawrenz *et al.* 2013; Hancke *et al.* 2015). Indeed, previous studies have shown that the estimation of the PPP was as accurate using the fluorescent approach than other traditional incubation methods such as carbon isotopes incorporation or oxygen measurements if the number of electrons required to fix one mol of carbon is known (Hartig *et al.* 1998; Barranguet and Kromkamp 2000; Kromkamp and Forster 2003; Morris and Kromkamp 2003).

The variability of environmental factors that could influence PPP is particularly high in dynamic ecosystems such as estuaries (Underwood and Kromkamp 1999; Cloern *et al.* 2014). These dynamic ecosystems are characterized by high variability at seasonal and tidal scales. Located at the interface between land and sea, estuaries are influenced by the freshwater outflow from the river and the marine water inflow from the tide. These ecosystems are known to play therefore important role in biogeochemical cycles (Chen and Borges 2009). Along the estuaries, PPP is affected by several gradients (i.e. salinity, turbidity, nutrient concentrations

and light availability) caused by the dilution of the marine water brought by the tide with fresh water from the river (Kimmerer *et al.* 2012). PPP is usually the lowest within the maximum turbidity zone (MTZ) created by tidal asymmetries in particle transport brought about by the effect of gravitational circulation on tidal flows (Sanford *et al.* 2001) which induce low light penetration, salt stress and cell lysis (Goosen *et al.* 1999). Despite the large number of studies on temporal variations of PPP in estuaries, very few studies have been conducted at small spatial and temporal scales (Parizzi *et al.* 2016) and many large estuaries are still poorly studied. This is the case of the Seine estuary, which represents the largest outflow into the English Channel. Thus, the aims of this study were: (1) to investigate monthly the time and space dynamics of photosynthetic parameters along the estuary by using high frequency measurements during one year and identify the main factors controlling those parameters, (2) to explore the relationships between ETR and C fixation as a function of environmental factors, (3) to apply the multi-factorial relationships obtained on the whole ETR data set in order to estimate PPP from daily to annual scale.

2. Methods

2.1. Study site

The Seine River and its estuary drains a watershed covering 76,260 km². After Paris, the river flows northwest and drains its water into the English Channel. Located 202 km from Paris (the kilometric scale of the Seine River is set at 0 km in the center of Paris), the weir at Poses (Fig. 21) represents the upper limit of the tidal propagation in the Seine estuary. The annual average river discharge at Poses is 436 m³.s⁻¹ with a flood period extending from December to April when the discharge reaches 1200-2500 m³.s⁻¹ and a low-flow period with a discharge of around 250 m³.s⁻¹ (Data GIP Seine-Aval, 2008; 2011). In the oligohaline part, salinity ranges from 0.5 to 5; in the mesohaline part salinity ranges from 5 to 18; in the polyhaline part from 18 to 30; and in the euhaline part salinity is above 30. The Seine estuary is a macrotidal type estuary, with a tidal amplitude ranging from 3-7 m at Honfleur and 1-2 m at Poses. The mean residence time in the estuary varies between 17-18 days for a discharge of 200 m³.s⁻¹ at Poses and between 5-7 days for a discharge of 1000 m³.s⁻¹ (Brenon and Hir 1999; Even *et al.* 2007). The tide in the Seine estuary is characterized by flattening at high tide lasting more than 2 hours due to the deformation of the tidal wave during the propagation at shallow depths (Brenon and Hir 1999; Wang *et al.* 2002). The flow is asymmetric in favor of the flood and this trend increases as the tide propagates up the estuary. Seasonally, water temperature ranges between 25 °C in summer and 7 °C in winter with differences of less than 1 °C along

the longitudinal profile and a weak vertical gradient (Data GIP Seine-Aval, 2008; 2011). The MTZ, containing up to 2 g L^{-1} of suspended particulate matter (SPM), is most often located between Honfleur and Tancarville, but can move upstream depending on the intensity of the tide and river discharge. During winter flood events, the MTZ can be flushed out into the Seine Bay (Etcheber *et al.* 2007; Garnier *et al.* 2010).

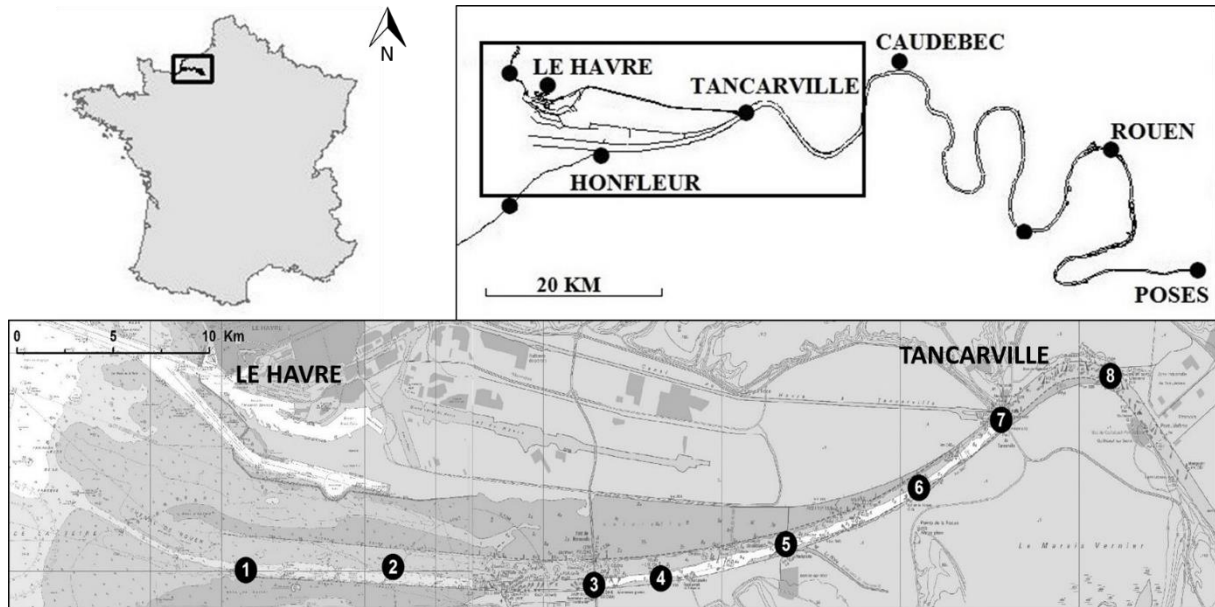


Figure 21. Map of the Seine estuary (Longitude: 0.2327, latitude: 49.4326 (WGS84) - Normandy, France) showing the study area. Poses is the upper limit of tidal propagation. The sampling transect from site 1 to site 8 followed the salinity gradient from the euhaline zone (Site 1) to the oligohaline zone (site 8). The sites were sampled monthly throughout 2015

2.2. Sampling strategy

Sampling was conducted monthly from January to December 2015 onboard the Ifremer ship “Delphy” at eight sampling sites scattered along the salinity gradient (Fig 1). The sites were distributed from the euhaline zone (site 1) to the oligohaline zone (site 8). In order to sample a steady waterbody along the estuary, sampling was performed every month in spring tides conditions (tidal coefficient 90) during daylight and during the flattening of the high tide, which, in these conditions, lasts up to three hours along the Seine estuary. Photosynthetic parameters were measured at high frequency at five minute intervals in sub-surface water using the PAM method providing almost 40 distinct measurements along the salinity gradient. Vertical salinity profiles (measured using the Practical Salinity Unit; PSU), turbidity (measured using the Nephelometric Turbidity Unit; NTU) and temperature ($^{\circ}\text{C}$) were recorded at each site with a SBE 19-plusVD CTD (Seabird) from the sub-surface down to 1 m above the water-sediment interface (WSI). At each sampling site, water was sampled from the sub-surface (i.e. 1 m) with a pump for analysis of the physical-chemical (nutrients, SPM) and biological parameters (chl *a*, $F_v:F_m$). At sites 2, 4, 6 & 8, sampling was also conducted from 1 m above

the WSI with a 5 L Niskin bottle and at these sites, a part of the water samples from sub-surface was used to estimate primary production using the ^{13}C incorporation method.

2.3. Physical-chemical parameters

2.3.1. Nutrients

To determine the concentration of nutrients (PO_4^{3-} , NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ and $\text{Si}(\text{OH})_4$), 100 ml water samples were pre-filtered at 48 μm directly from the Niskin bottle. For the determination of concentrations of silicate ($\text{Si}(\text{OH})_4$), water samples were subsequently filtered through a 0.45 μm acetate cellulose membrane and stored at 4 °C until analysis. For the determination of dissolved inorganic nitrogen (i.e. $\text{DIN} = \text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- + \text{NH}_4^+$) and phosphate concentrations (PO_4^{3-}), water samples were immediately stored at -20 °C. The samples were analyzed within one month after field collection with an auto-analyzer (Technicon III) following standard protocols (Aminot and Kérouel 2007; Hydes *et al.* 2010). The limits of quantification were 0.2 μM for silicate, 0.1 μM for nitrate, 0.02 μM for nitrite, 0.04 μM for phosphate and 0.1 μM for ammonia.

2.3.2. Suspended particulate matter

Suspended particulate matter (SPM) was filtered following the method of Aminot & Chaussepied (1983). The concentration of SPM in each sample was obtained after filtration (filtrated volume ranging from 0.1 to 1 L depending on turbidity) and drying for 24 h at 50 °C on pre-weighed calcined (i.e. 6 h; 450 °C) GF/F filters (47 mm, 0.7 μm). Filters were rinsed with distilled water to remove any remaining salt. This strategy ensured a precision of 0.0001 g.L^{-1} for the lowest SPM concentrations (Verney *et al.* 2009).

2.4. Biomass measurements

Phytoplankton biomass was assessed based on chlorophyll *a* (chl *a*) concentrations. Samples (30-500 ml) were filtered in triplicate through glass-fiber filters (Whatman, GF/F, 47 mm, 0.7 μm) and immediately frozen (-20 °C) until analysis. In the laboratory, pigments were extracted in 10 mL of 90% (v/v) acetone for 12 h in the dark at 4 °C. After centrifugation at 2000 g for 10 minutes at 4 °C, the concentration of chl *a* were measured on extracts according to the fluorometric method of Lorenzen (1966) using a Turner Trilogy fluorometer (Turner Designs, Sunnyvale, California, USA).

2.5. Estimation of primary production

2.5.1. PAM fluorometry

For the high-frequency estimation of primary production, the maximum energy conversion efficiency (or quantum efficiency of photosystem II (PSII) charge separation ($F_V:F_M$)) was measured at 5 minute intervals using the flow through (FT) version of the WATER PAM (Waltz, Effeltrich, Germany) (Schreiber *et al.*, 1986). Sub-surface water was collected through a pipe leading to a thermally insulated dark reserve that maintained the sample at the *in situ* temperature. After 5 min of dark acclimation, which was sufficient for the oxidation of the Quinone A (Q_A) pool in this highly turbid environment, a sub-sample was automatically transferred into the measuring chamber. The sample was excited by a weak blue light ($1 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 470 nm, frequency 0.6 kHz) to record the minimum fluorescence (F_0). Maximum fluorescence (F_M) was obtained during a saturating light pulse (0.6 s , $1700 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 470 nm) allowing all the Quinone A (Q_A) pool to be reduced. $F_V:F_M$ was calculated according to the following equation (Genty *et al.* 1989):

$$\frac{F_V}{F_M} = \frac{(F_M - F_0)}{F_M} \quad (1)$$

Consecutively, samples were exposed to nine irradiances (E) from 0 to $469 \mu\text{mol photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ from January to July and from 0 to 1541 from August to December for 30 s for each light step. Steady state fluorescence (F_S) and maximum fluorescence (F_M') were measured. The effective quantum efficiency of PSII for each irradiance was determined as follows (Genty *et al.* 1989):

$$\frac{\Delta F}{F_M'} = \frac{(F_M' - F_S)}{F_M'} \quad (2)$$

The relative electron transport rate ($rETR$, $\mu\text{mol electron.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) was calculated for each irradiance. $rETR$ is a measure of the rate of linear electron transport through PSII, which is correlated with the overall photosynthetic performance of the phytoplankton (Juneau and Harrison 2005) :

$$rETR(E) = \frac{\Delta F}{F_M'} \times E \quad (3)$$

At each site, a sample of both sub-surface water and water at the WSI were taken and dark adapted for 5 min. A sub-sample was inserted into the measuring chamber of the cuvette version of the WATER PAM (Waltz, Effeltrich, Germany) and rETR versus E curves were performed as described above. Another dark adapted sub-sample was placed in a multi-color PAM for estimation of the σ_{PSII} the functional absorption cross-section of PSII (expressed in m^2) by the pump-and-probe method by gradually increasing the intensity of the pump flash and following the flash-intensity saturation curve of variable fluorescence.

According to Schreiber *et al.* (2011), the maximum electron transport rate ($ETR(II)_{max}$; $electron.(PSII.s)^{-1}$) was calculated as follows:

$$ETR(II)_{max} = \frac{rETR_{max} \times \sigma_{PSII} \times L}{F_V:F_M} \quad (4)$$

With $rETR_{max}$ in $mol\ electron.m^{-2}.s^{-1}$ and $F_V:F_M$ calculated above, L the Avogadro's constant in mol^{-1} and σ_{PSII} in m^2 . $ETR(II)_{max}$ was first expressed in $electron.(PSII.s^{-1})^{-1}$. Second, $ETR(II)_{max}$ was expressed in $mmol\ electron.mgchl^{-1}.h^{-1}$ according to the equation:

$$ETR(II)_{max2} = \frac{[ETR(II)_{max}] \times [PSII] \times 36.10^6}{[chl\ a] \times L} \quad (5)$$

, where $[ETR(II)_{max}]$ is expressed in $electron.(PSII.s^{-1})^{-1}$, 36×10^6 the factor to change from seconds to hours and from mol to mmol, $[chl\ a]$ the chlorophyll concentration is expressed in $mg.ml^{-1}$ and $[PSII]$ the concentration of PSII reaction centers in $PSII.ml^{-1}$ was obtained as follows:

$$[PSII] = \frac{[chl\ a] \times L}{900 \times 1000} \quad (6)$$

where $[chl\ a]$ is expressed in $g.ml^{-1}$ assuming a molecular weight of $900\ g.mol^{-1}$ per chl and a photosynthetic unit size of 1000 molecules of chl per electron transport chain (Schreiber *et al.* 2011).

2.5.2. ^{13}C Incorporation

A photosynthetron (modified by Babin *et al.* (1994)) was used to incubate ^{13}C on the samples taken at sites 2, 4, 6 and 8. A U-shaped dimmable fluorescent tube (OSRAM, DULUX L, 2G11, 55W/12–950, LUMILUX DE LUXE, daylight) produced the light, and the

temperature in the photosynthetron was maintained at the *in situ* temperature by a seawater circuit equipped with a water chiller (AQUAVIE ICE 400). A total of 1100 ml of seawater was inoculated with $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ (98 atom %, Sigma) corresponding to an enrichment of about 15% of the dissolved inorganic carbon already present in the seawater. The inoculated seawater was shared among 16 culture flasks (62 ml) placed in the photosynthetron. Light intensity was measured in each flask using a micro-spherical quantum sensor (US-SQS; Walz) connected to a LI-COR 1400 data logger. One of the flasks was kept in the dark to estimate incorporation of non-photosynthetic inorganic carbon. After 3 hours of incubation, each flask was filtered onto 25 mm pre-combusted (450 °C, 12 h) GF/F filters and stored at -20 °C until analysis. To remove carbonates, filters were exposed to fuming HCl for 4 hours and then dried at 50 °C for 12 hours. The concentration of particulate organic carbon (POC) and the isotopic ratio of ^{13}C to ^{12}C were determined using an elemental analyzer (EA 3000, Eurovector) combined with a mass spectrophotometer (IsoPrime, Elementar). As already discussed in previous studies (Lawrenz *et al.* 2013; Milligan *et al.* 2014; Hancke *et al.* 2015) concerning GPP (Gross Primary Production) and NPP (Net Primary Production) estimations, it is still debated about ^{13}C or ^{14}C incubation of few hours. We assumed that under non limiting nutrient conditions, 3 hours of incubation time tend to an estimation of GPP. The carbon fixation rate (P_{obs}) was calculated according to Hama *et al.* (1983). The value for incorporation in the dark was subtracted from all data and P_{obs} is expressed in $\text{mmol C.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

2.5.3. P vs. E curves

Each ETR(II) and P_{obs} series were plotted against light (E). To estimate photosynthetic parameters, the mechanistic model of Eilers & Peeters (1988) was applied to these plot using SigmaPlot 12.0 (Systat Software):

$$X(E) = \frac{E}{(aE^2 + bE + c)} \quad (7)$$

, where X represents either ETR(II) or P_{obs} . Thereby the maximum photosynthetic capacity ($\text{ETR(II)}_{\text{max}}$ or P_{max}) and the low maximum light utilization efficiency (α) were calculated as follows:

$$X_{\text{max}} = \frac{1}{(b + 2\sqrt{ac})} \quad (8)$$

$$\alpha = \frac{1}{c} \quad (9)$$

2.5.4. Estimation of the annual primary production

Carbon incorporation ($P_{\max}$) was plotted against $ETR(II)_{\max}$ to investigate the relationship between the two parameters. The electron requirement for C fixation ($\phi_{e,C}$) dynamics characterized by the slopes of the relationships (Napoléon *et al.* 2013b; Lawrenz *et al.* 2013) was also expressed. Successive multiple regressions were performed to identify the best relationship to estimate $P_{\max}$ as a function of $ETR(II)_{\max}$ but also as a function of the other physical-chemical parameters (temperature, salinity, DIN, P, Si and SPM) and this relationship was used to estimate simulated carbon incorporation $P_{\max}^{\text{sim}}$ ($\text{mgC.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$) and α^{sim} ($\text{mgC.m}^{-3}.\text{h}^{-1} . (\mu\text{mol photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1})^{-1}$). The parameter E_k was calculated as $E_k = rETR_{\max}/\alpha$ and used to estimate $\alpha(II)$ from $ETR(II)_{\max}$ and α^{sim} from $P_{\max}^{\text{sim}}$.

Finally, primary production was estimated for each site for the whole study year. PP was estimated for each hour of daylight (E) of the year using the Webb model (Webb *et al.* 1974) and integrated with the depth of the photic zone as follows:

$$PP (\text{mgC.m}^{-2}.\text{h}^{-1}) = \frac{n}{i} \times \int_{z_0=0.05}^{z_i=n} P_{\max}^{\text{sim}} \times (1 - e^{(-\alpha^{\text{sim}} \times \frac{E_{z_i}}{P_{\max}^{\text{sim}}})}) dz \quad (10)$$

, where z is the depth, i the number of replicates, and n the maximum depth of the photic zone. $P_{\max}^{\text{sim}}$ ($\text{mgC.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$) and α^{sim} (rel.unit) are the values previously calculated for each sampling month. E_{z_i} is the irradiance ($\mu\text{mol photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) at depth z_i calculated at 0.01 m intervals along the photic layer, which, in this study extended from 0 to 3.5 m ($i = 35$ and $n = 3.5$), using the Beer-Lambert law as follows:

$$E_{z_i} = 0.94 \times (E_{z_0} \times e^{-k_d \times z_i}) \quad (11)$$

, where E_{z_0} is the incident light at the surface obtained from the nearest national weather station (18 miles; 29 km), 0.94 is the percentage of light penetration into the water. k_d is the coefficient of light attenuation in the photic zone, which varied in space and over time at each site. The different values of k_d were estimated for each site and each month using the linear relationship found between turbidity (NTU) and the light attenuation coefficients (k_d) obtained with the PAR and the depth on the SBE profiles recorded during the sampling campaigns in the Seine estuary: $k_d = 0.1107 \times \text{Turbidity} + 0.588$ ($R^2 = 0.923$). For turbidity ranging from 4.88 to 93.31, the corresponding k_d ranged from 1.13 to 10.92 mm^{-1} . P:B ratio ($\text{mgC.mgchl } a^{-1}.\text{d}^{-1}$) was also estimated using these PP estimations.

2.6.Data analysis

Multivariate analyses

To resolve the spatial and temporal variability of the physicochemical parameters, partial triadic analyses (PTA) were performed on the data set using the ADE-4 package (Chessel *et al.* 2004; Dray and Dufour 2007) with R software. Data were organized in sub-matrices for each site. The interstructure of the PTA consisted in comparing the structure shared between sub-matrices and in identifying sites with similar temporal structure. The second step consisted in constructing a compromise that enabled us to build a common temporal typology between matrices. The relationship between physical, chemical, biological and photosynthetic parameters was investigated by principal component analyses (PCA) using the ADE-4 package in R software. PCA was performed of the group of sites shown by PTA to have a similar annual structure.

Univariate analyses

In a complementary way, the linear dependence between parameters was established by linear regressions performed on R software and by calculation of Person correlation coefficient. All plots of the parameters dynamics were created using the SigmaPlot 12.0 software. The illustrative plots performed on the different parameters by taking into account the spatial and the temporal dynamics were previously smooth using the non-parametric method of local regression (“Loess”). To identify the physical-chemical parameters that significantly drive the ETR/P relationship, multiple regressions with temperature, salinity, nutrients concentrations (DIN, P and Si) and SPM were performed using a upward step-by-step method on R software.

3. Results

3.1.Dynamics of hydrological parameters

The dynamics of the physical and chemical parameters (irradiance, river flow, temperature, salinity, nutrients, turbidity and SPM) are characteristics for the Northern European estuaries and are therefore described in supplementary material (Fig S1 to S4). In order to investigate the seasonal pattern and the functioning of the estuary in a special context, a partial triadic analysis (PTA) was performed on physical and chemical parameters from sub-surface and deep waters.

Interstructure analyses of the PTA

In the interstructure analysis of the PTA, the two first eigenvectors represent respectively 78.25% and 10.38% of total inertia of the sub-surface waters (Fig. 22-A) and respectively 72.12% and 17.17% of total inertia of the bottom waters (Fig. 22-D). Projection of the sites on the first axis revealed the common temporal pattern among sites (Fig. 22-B&E), in agreement with the high vector correlation coefficients (RV-coefficient) calculated (Table 1). Projection of the sites on the second axis divided the sampling transect into two zones and four distinct areas (Fig. 22-B) in agreement with Ward's clustering method (Fig. 22-C): (i) area 1 (Site 1&2) and area 2 (Site 3&4) grouped in zone A (Downstream), (ii) area 3 (Site 5&6) and area 4 (Site 7&8) grouped in zone B (Upstream).

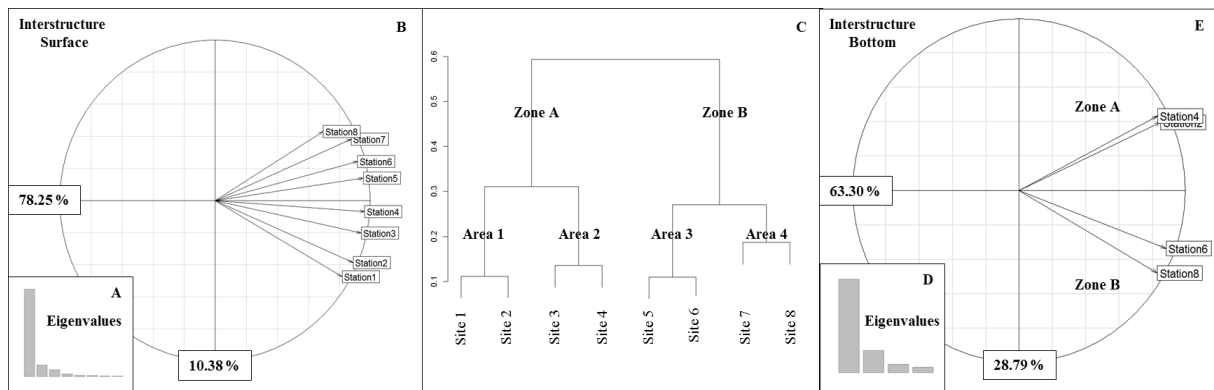


Figure 22. Interstructure analysis of the partial triadic analysis (PTA) performed on physical-chemical parameters in the sub-surface layer: (A) Histogram of eigenvalues based on the diagonalization of the RV matrix, (B) ordination of the sites given by the two first eigenvectors of the vector correlation matrix and (C) tree topology obtained by Ward's clustering method **and for the bottom layer:** (D) Histogram of eigenvalues based on the diagonalization of the RV matrix and (E) ordination of the sites given by the two first eigenvectors of the vector correlation matrix

The weight values were similar for all the sites, showing that any site had a particular temporal pattern (Table 10). Thus, the Seine estuary can be divided in two zones as a function of the dynamics of the physical-chemical parameters: (i) a downstream zone (zone A) stretching from longitude 0.11 (site 1) to longitude 0.30 (site 4) and characterized by high salinity, and (ii) an upstream zone (zone B) stretching from longitude 0.36 (site 5) to longitude 0.51 (site 8), characterized by lower salinity and higher turbidity. Zone A thus combined a polyhaline (salinity >18) with a mesohaline area and zone B combined a mesohaline with an oligohaline area (salinity < 5).

Table 10. Matrix of the RV-coefficients between the sub-matrix and the weight of each sub-matrix in the construction of the compromise

Sites	1	2	3	4	5	6	7	8	Weight
Surface									
1	1.00								0.33
2	0.89	1.00							0.35
3	0.82	0.90	1.00						0.38
4	0.76	0.86	0.95	1.00					0.38
5	0.69	0.78	0.86	0.90	1.00				0.38
6	0.62	0.69	0.80	0.86	0.94	1.00			0.37
7	0.55	0.61	0.72	0.81	0.89	0.92	1.00		0.35
8	0.44	0.51	0.57	0.60	0.63	0.60	0.67	1.00	0.28
Bottom									
2		1.00							0.50
4		0.76		1.00					0.49
6		0.62		0.56		1.00			0.52
8		0.50		0.51		0.80		1.00	0.49

Compromise analyses

In the compromise analysis of the PTA, for sub-surface waters the two first eigenvectors represented 53.84% and 34.63% of total inertia (Fig. 23-A) and for bottom parameters 63.30% and 28.79% of total inertia (Fig. 23-D), providing an accurate summary of the common temporal trend among sites over the sampling year. Compromise analysis revealed a clear seasonal pattern in the physical-chemical parameters both in the sub-surface and deep waters (Fig. 23-B, C, E and F). The period from January to March was characterized by high DIN and Si concentrations, related to high river flow in winter. The increase in temperature in April was followed by an increase in salinity (related to the decrease in river flow) and in surface irradiance in May. The increase in phosphate concentrations between September and October was associated with the increase in SPM concentrations and turbidity. This period was also characterized by a decrease in irradiance and temperature, and in salinity in relation with the increase in river flow.

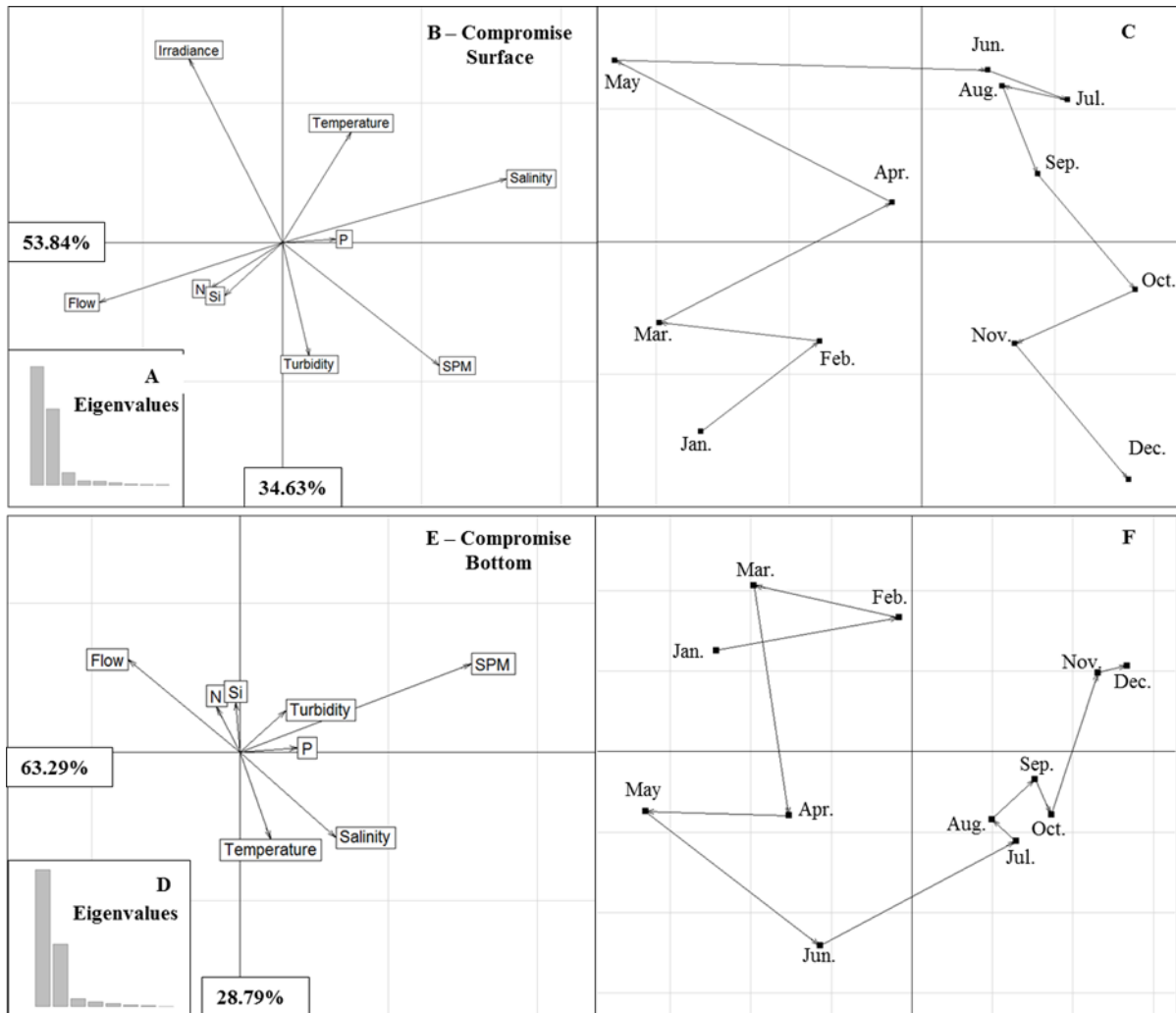


Figure 23. Compromise analysis of the partial triadic analysis (PTA) performed on physical-chemical parameters in the sub-surface waters: Histogram of eigenvalues (A), projection of the variables (B) and the sampling dates (C) in the plane defined by the two first axes **and for bottom waters:** Histogram of eigenvalues (D), projection of the variables (E) and the sampling dates (F) in the plane defined by the two first axes

The dynamics of the physical and chemical parameters are given in supplementary material. The highest SPM and turbidity values were recorded near the limit of salt water intrusion in the upper part of the estuary that defined the MTZ. Its position is consequently influenced at daily and seasonal scales by variations of the tide and of the river flow. Since sampling was always carried out during spring tides, the localization of the MTZ, was only controlled by the Seine river flow. Consequently, the MTZ was located downstream of zone B during the high-flow period and upstream during the low-flow period. Within both zones, high DIN and Si concentrations were negatively related to salinity and positively with river flow, suggesting a strong control by freshwater outputs. Indeed, in the Seine river, a large part of the DIN pool originates from agricultural and industrial activities and urban discharges along its watershed (Garnier *et al.* 2010), while Si is weakly influenced by human activities (Sferratore *et al.* 2006; Aminot and Kérouel 2007). Despite the decrease in P in the Seine River in the last

few years, due to the improved waste water treatment plants and the massive introduction of detergents without phosphates, high concentrations were nevertheless measured throughout the estuary (Némery and Garnier 2007; Passy *et al.* 2016). In this study, P concentrations varied differently than DIN and Si in the two zones: P was positively linked with turbidity and SPM in zone A, whereas in the zone B, P concentrations were positively linked with salinity and negatively related to the Seine river flow. P is adsorbed onto suspended particles in the low-salinity and high turbidity part of estuaries, which can be explained by non-biological buffering mechanisms (Morris *et al.* 1981; Sharp *et al.* 1982; Némery and Garnier 2007). The positive relationship with SPM and turbidity in zone A together with the negative relationship with river flow in zone B, suggest the adsorption of P within the MTZ. The pool of P is then exported downstream by the SPM. The inverse relationship observed between P and river flow in zone B could be due to an accumulation of P during the low flow periods.

3.2. Phytoplankton biomass and photosynthetic parameters

The chlorophyll *a* concentrations ranged from 0.2 to 15.9 $\mu\text{g.L}^{-1}$. In sub-surface (Fig. 24A), high concentrations of chl *a* were recorded from May to September, and during this period, chl *a* concentrations were increasing from upstream to downstream. The highest phytoplankton biomass in sub-surface (15.9 $\mu\text{g.L}^{-1}$) was measured at site 2 in July and the lowest (0.2 $\mu\text{g.L}^{-1}$) at site 4 in January. Close to the WSI (Fig. 24B), despite the surprising high values recorded in winter ($> 10 \mu\text{g.L}^{-1}$) in zone B, the same gradient than in sub-surface was observed in summer but with lower values: the highest value measured in July was 8.6 $\mu\text{g.L}^{-1}$ at site 2. The lowest value (0.4 $\mu\text{g.L}^{-1}$) was measured in zone A during January.

The effective quantum efficiency of PSII ($F_V:F_M$), which represents the physiological state of the cells, showed distinctive dynamics in sub-surface in comparison with the bottom waters. In sub-surface (Fig. 24C), $F_V:F_M$ were high in winter and spring with the highest value (0.67) measured in March at site 1. In contrast, the lowest value (< 0.01) was measured during summer (July) at site 8. In the upstream part of the estuary (Zone B), $F_V:F_M$ were low with values remaining frequently below 0.20. Close to the WSI (Fig. 24D), the highest value (0.64) was measured at site 2 in May and the lowest (< 0.01) at site 8 in August. $F_V:F_M$ ratios close to the WSI showed high values in Zone A, with an average of 0.41 during the year, while in Zone B the $F_V:F_M$ ratios remained low with an average of 0.16 during the studied period.

The high values of chl *a* observed close to the WSI in winter were associated to very low values of $F_V:F_M$ which indicates that this biomass is rather freshwater chlorophyll detrital matter than living phytoplankton.

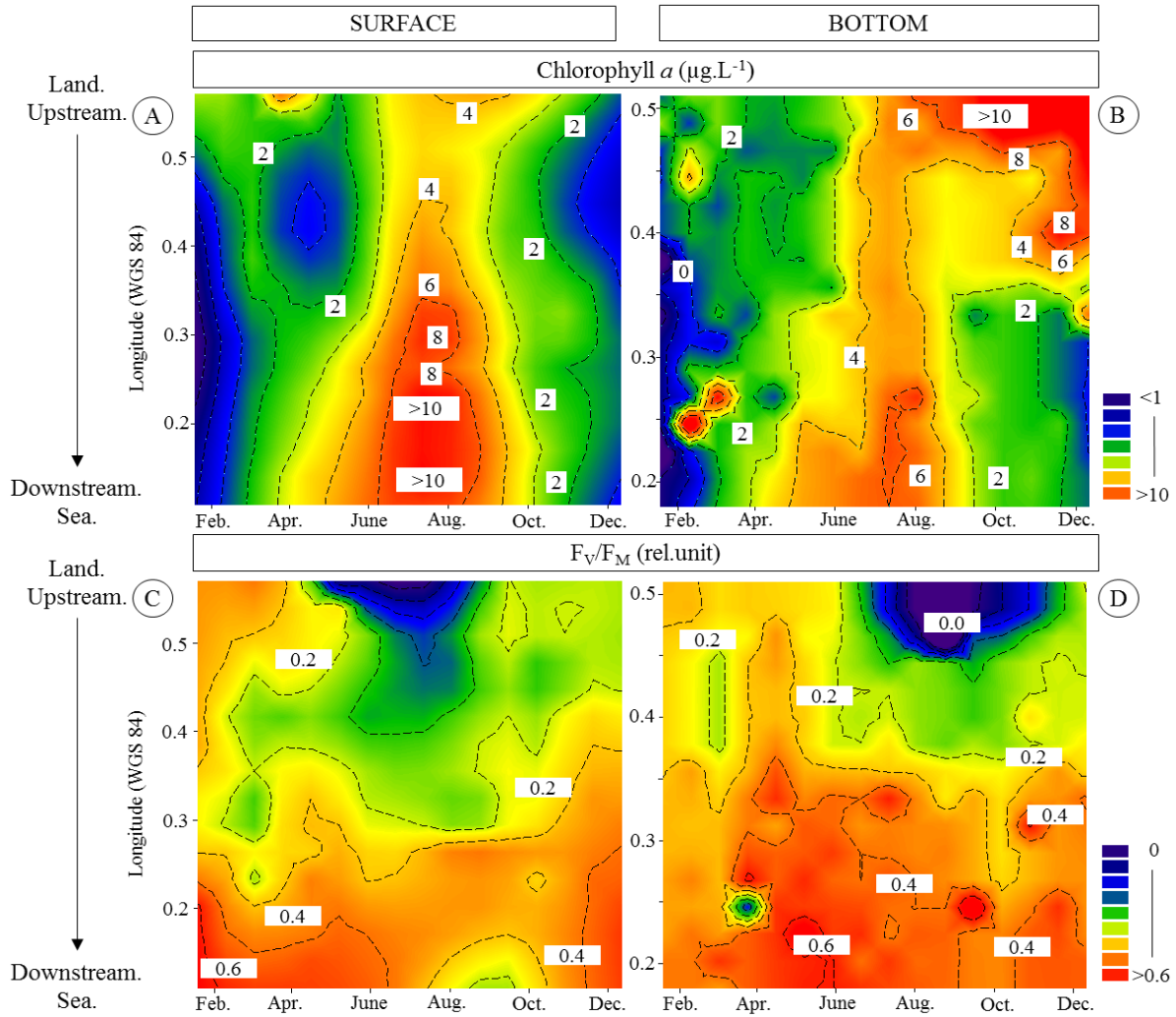


Figure 24. Variations in biomass (chl a concentration; $\mu\text{g.L}^{-1}$) and the effective quantum efficiency of PSII ($F_v:F_m$; rel.unit) representing the physiological state of the cells in the Seine estuary from January to December, 2015. The sub-surface layer (1 m) is shown in the left panel and the bottom layer (1 m above the WSI) in the right panel

The maximum light utilization efficiency ($\alpha(II)$; $\text{mgC.m}^{-3}.\text{h}^{-1}.\text{(\mu mol photon m}^{-2}.\text{s}^{-1})^{-1}$), were highly variable in space and time (Fig. 25). In January, low values (i.e. $< 0.008 \text{ mgC.m}^{-3}.\text{h}^{-1}.\text{(\mu mol photon m}^{-2}.\text{s}^{-1})^{-1}$) were recorded throughout the salinity gradient and within the MTZ area from January to March and from August to December. In May at longitude 0.4, a zone with values < 0.008 was also recorded. Higher $\alpha(II)$ were observed during the rest of the year, with the highest values ($> 0.012 \text{ mgC.m}^{-3}.\text{h}^{-1}.\text{(\mu mol photon m}^{-2}.\text{s}^{-1})^{-1}$) measured in the polyhaline zone (longitude < 0.2) between February and October. From February to December, a spatial gradient appeared to mirror the salinity gradient with decreasing values from downstream to upstream.

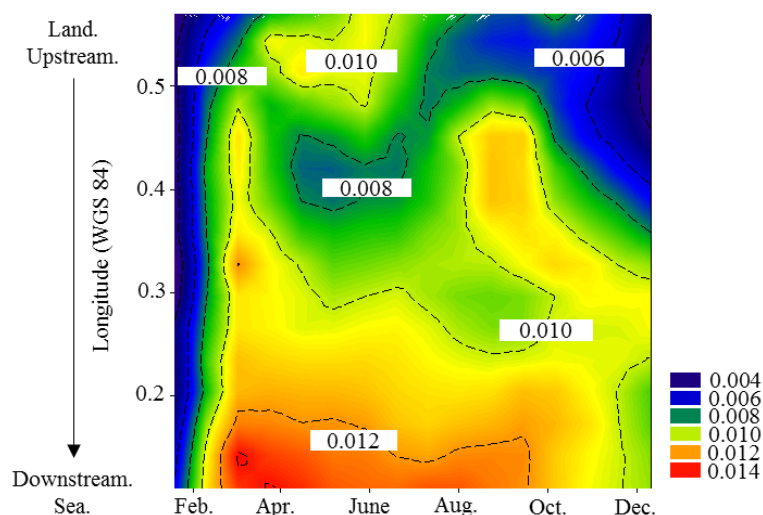


Figure 25. Variations in the low maximum light utilization efficiency ($\alpha(II)$; $\text{mgC.m}^{-3}.\text{h}^{-1} . (\mu\text{mol photon m}^{-2}.\text{s}^{-1})^{-1}$) in the Seine estuary from January to December, 2015. This parameter was measured at high frequency in the sub-surface layer of water all along the sampling transect at monthly intervals

The dynamics of $\text{ETR(II)}_{\text{max}}$ (Fig. 26) showed low values (i.e. $< 2 \text{ mmol electron.mgchl}^{-1}.\text{h}^{-1}$) throughout the salinity gradient in winter (January and February). $\text{ETR(II)}_{\text{max}}$ started to increase from March, firstly in the downstream part of the estuary and throughout the salinity gradient afterwards. The highest values were recorded from June to October throughout the salinity gradient. $\text{ETR(II)}_{\text{max}}$ were particularly high in the polyhaline zone with a maximum value of $10.8 \text{ mmol electron.mgchl}^{-1}.\text{h}^{-1}$ at site 2 in June. During this period of high $\text{ETR(II)}_{\text{max}}$, values gradually increased from upstream to downstream.

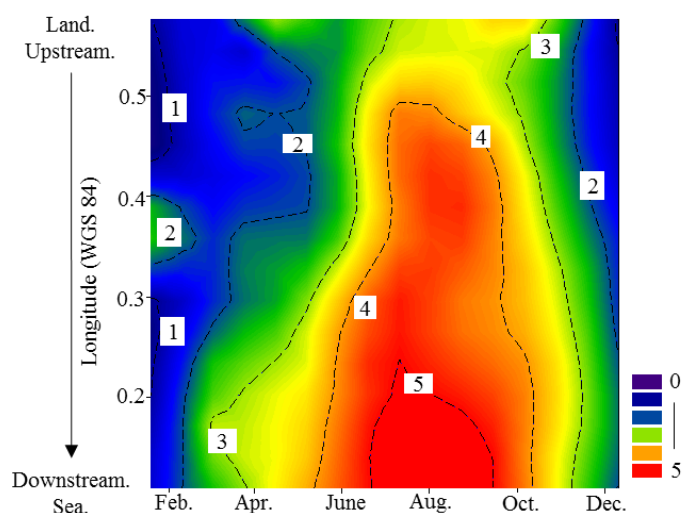


Figure 26. Variations in the maximum electron transport rate ($\text{ETR(II)}_{\text{max}}$; $\text{mmol electron.mgchl}^{-1}.\text{h}^{-1}$) in the Seine estuary from January to December, 2015. The $\text{ETR(II)}_{\text{max}}$ was measured at five minute intervals in the sub-surface layer of water all along the sampling transect at monthly intervals

3.3. Estimation of $\phi_{e,C}$ and of primary production

The combined PAM and carbon incorporation method was used to investigate the relationship between $P_{\max}$ et $ETR(II)_{\max}$ measurements, and $P_{\max}$ values were plotted against the $ETR(II)_{\max}$ values (Napoléon and Claquin 2012; Lawrenz *et al.* 2013). The electron requirement for C fixation ($\phi_{e,C}$; mol electron.molC⁻¹), defined by the slope of the relationship between P and ETR, varied spatially and temporally ranging from 1.6 to 25 mol electron.molC⁻¹ (Fig.27). A marked seasonal pattern was observed, characterized by high values (> 15 mol electron.molC⁻¹) throughout the salinity gradient in January and only in the downstream part in February and March (e.g. 25 mol electron.molC⁻¹ at site 2 in March). High values were also estimated upstream during the summer (22.2 mol electron.molC⁻¹ at site 8 in July). $\phi_{e,C}$ values < 4 mol electron.molC⁻¹ were recorded twice: 1.6 mol electron.molC⁻¹ at site 6 in May and 1.9 mol electron.molC⁻¹ at site 8 in December. The mean $\phi_{e,C}$ value was 7.95 ± 4.94 mol electron.molC⁻¹.

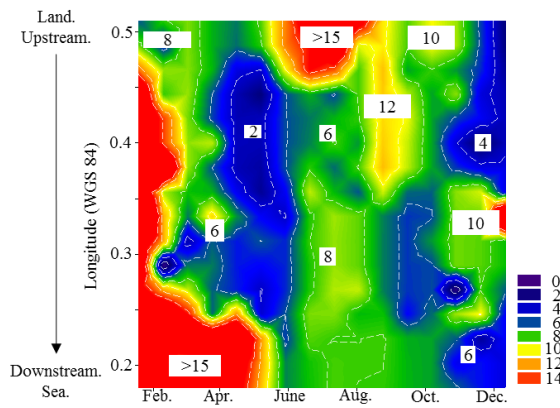


Figure 27. Dynamics of electron requirements for C fixation ($\phi_{e,C}$) in the Seine estuary from January to December, 2015

To identify the physical-chemical parameters that drive this relationship between P and $ETR(II)$, multiple regressions with temperature, salinity, nutrients concentrations (DIN, P and Si) and SPM were performed using an upward step-by-step method. A significant negative coefficient with DIN concentrations and a significant positive coefficient with temperature were observed. These two parameters were used to estimate the $P_{\max}$ dynamics ($p < 0.0001$; $R^2 = 0.59$) by using $ETR(II)_{\max}$ according to the following equation:

$$P_{\max}^{\text{sim}} = 0.43 - 1.19 \cdot 10^{-2} \times ETR(II)_{\max} - 9.75 \cdot 10^{-4} \times [\text{DIN}] + 1.29 \cdot 10^{-2} \times \text{Temperature}$$

A carbon incorporation at high frequency ($P_{\max}^{\text{sim}}$) and a maximum light utilization efficiency ($\alpha_{\text{sim}} = \text{ratio } E_k / P_{\max}^{\text{sim}}$) were then estimated for each value of $\text{ETR(II)}_{\max}$. For each site, these values of $P_{\max}^{\text{sim}}$ and α_{sim} were used to estimate PPP at each hour of daylight (E) throughout the year by using a depth integrated equation of light penetration as a function of turbidity (equations 10&11).

The dynamics of annual PPP showed high variability that differed at each time scale: at the hourly scale, values reached $110.4 \text{ mgC.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$, at the daily scale, values reached $1.2 \text{ gC.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$, and at the monthly scale values reached $26.1 \text{ gC.m}^{-2}.\text{month}^{-1}$ at site 2 in July (Table 11; Fig. 28). When considering all the sites, the highest PPP were observed in July, with a mean of $13.2 \text{ gC.m}^{-2}.\text{m}^{-1}$. Annual PPP was minimum at site 6 with a value of $17.3 \text{ gC.m}^{-2}.\text{y}^{-1}$ and maximum at site 2 with a value of $81.5 \text{ gC.m}^{-2}.\text{y}^{-1}$.

Table 11. Estimation of phytoplankton primary production ($\text{gC.m}^{-2}.\text{m}^{-1}$) for each month (from January to December) and at each site (from 1 to 8). The minimum and maximum daily PP ($\text{gC.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) are given and an annual PP (in $\text{gC.m}^{-2}.\text{y}^{-1}$ and in tC.y^{-1}) was calculated for each site (bottom row). A mean PP ($\text{gC.m}^{-2}.\text{m}^{-1}$) was calculated for each month (last column on the right) and on average for the estuary (last cell on the bottom right)

Site	1	2	3	4	5	6	7	8	Mean (gC.m^{-2})
January	0.27	0.22	0.11	0.05	0.01	0.03	0.02	0.09	0.10
February	1.53	1.06	0.72	0.38	0.37	0.37	0.44	0.27	0.64
March	1.39	0.83	0.43	0.29	0.30	0.32	0.35	0.37	0.54
April	7.47	5.61	2.35	2.09	0.87	0.33	0.15	0.88	2.47
May	15.14	9.78	4.65	2.79	1.87	1.89	3.24	4.43	5.47
June	10.72	10.82	8.10	9.18	4.87	5.38	2.65	3.66	6.92
July	18.95	26.09	21.64	17.43	11.00	4.93	2.76	2.43	13.15
August	8.58	19.87	7.56	8.34	8.76	2.05	6.66	3.06	8.11
September	3.33	3.46	3.01	2.66	1.12	1.12	0.93	1.14	2.10
October	2.57	2.60	1.01	1.49	1.60	0.70	0.36	1.32	1.45
November	1.99	0.87	0.82	0.84	0.21	0.05	0.01	0.89	0.71
December	0.19	0.32	0.28	0.15	0.16	0.11	0.06	0.02	0.16
Max PP ($\text{gC.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$)	0.83	1.18	0.94	0.77	0.49	0.23	0.28	0.17	-
Min PP ($\text{gC.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$)	2 ⁻³	3 ⁻³	2 ⁻³	9 ⁻⁴	2 ⁻⁴	5 ⁻⁴	9 ⁻⁵	2 ⁻⁴	-
Annual PP ($\text{gC.m}^{-2}.\text{y}^{-1}$)	72.13	81.53	50.68	45.68	31.16	17.26	17.62	18.54	-
Surface (km^2)	44.38	23.07	9.81	4.27	3.79	2.61	2.26	2.96	-
Annual PP (tC.y^{-1})	3200	1881.3	497.15	195.26	118.15	45.09	39.84	54.92	64.75 $\text{gC.m}^{-2}.\text{y}^{-1}$

A representative area (in km^2) was attributed to each site as a function of the water cover at high tide. Primary production values are expressed in tC.yr^{-1} for each of these areas. Results revealed the prime role played by the mouth of the estuary (represented by site 1). Despite the better production capacity per m^2 at site 2, the area represented by site 1 (44.38 km^2) led a higher carbon production with 3200 tC.yr^{-1} . When primary production was weighted as a function of the surface area of each site, the mean value for the annual PP in the Seine estuary in 2015 was $64.75 \text{ gC.m}^{-2}.\text{y}^{-1}$.

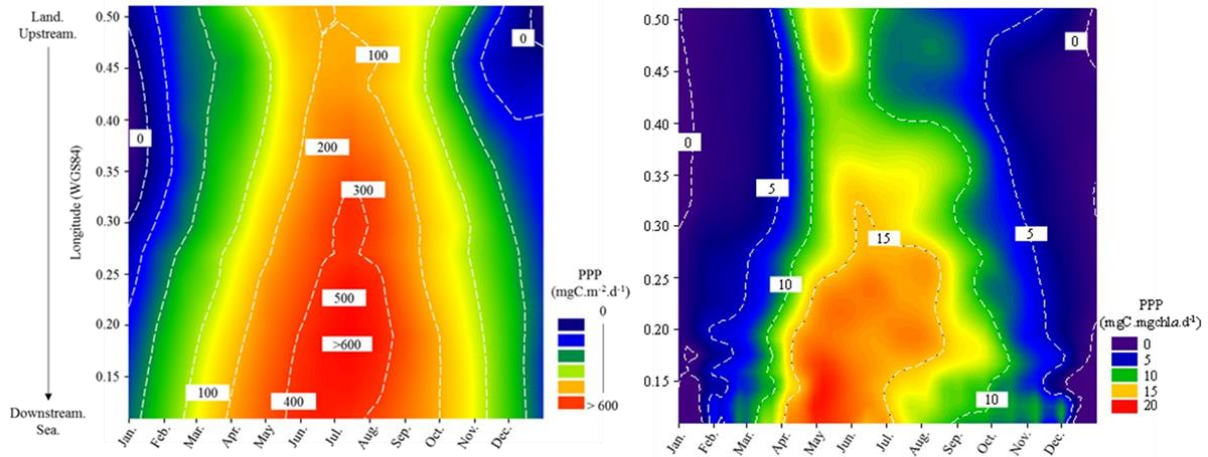


Figure 28. Dynamics of daily phytoplankton primary production (left; $\text{mgC.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) and P:B ratio (right; $\text{mgC.mgchl a}^{-1}.\text{d}^{-1}$) along the Seine estuary from “Le Havre” (longitude 0.09) to “Tancarville” (Longitude 0.51) in 2015. PP was estimated as a function of hourly irradiance and integrated over depth

The measured P:B ratio in sub-surface varied between 1 and $7.4 \text{ mgC.mgchl a}^{-1}.\text{h}^{-1}$ with a mean value of $4.2 \text{ mgC.mgchl a}^{-1}.\text{h}^{-1}$. The spatial gradient of P:B ratio ($\text{mgC.mgchl a}^{-1}.\text{d}^{-1}$) integrated along the photic layer showed higher values downstream than upstream (Fig. 28). The maximum P:B ratio ($19.6 \text{ mgC.mgchl a}^{-1}.\text{d}^{-1}$) was recorded in the mouth of the estuary in spring. In summer, the highest values were observed in the mesohaline part of the estuary.

3.4.Principal Component Analyses

Two principal component analyses (PCA) were performed to investigate the relationship between physical-chemical and biological parameters in the sub-surface waters (Fig. 29-A&B) and bottom waters (Fig. 29-C&D), the data sets representing the two zones defined by the PTA performed on physical-chemical parameters (Fig. 22). In zone A and zone B, the two first axes of the PCAs explained respectively 71.93% and 71.04% of the total inertia for sub-surface waters, and 76.17% and 76.33% of the total inertia for bottom waters. Analyses were thus based on these two axes.

For both zones (A and B), the parameters that contributed the most to axis 1 were salinity and temperature in one direction, and Si, DIN and flow in the other direction for sub-surface waters. Regarding the second axis, the parameters that contributed the most were irradiance in one direction and turbidity and the SPM concentrations in the other direction. Despite their low contribution, chl *a* concentrations were positively linked with temperature in both zones. Daily phytoplankton primary production (dPPP) and P:B ratio were positively linked with irradiance and temperature and negatively linked with turbidity. The P concentration varied between the two zones and was related to turbidity in zone A and to salinity

in zone B. The variations in $F_V:F_M$ and α_{sim} were poorly explained by the physical-chemical parameters tested in both PCA.

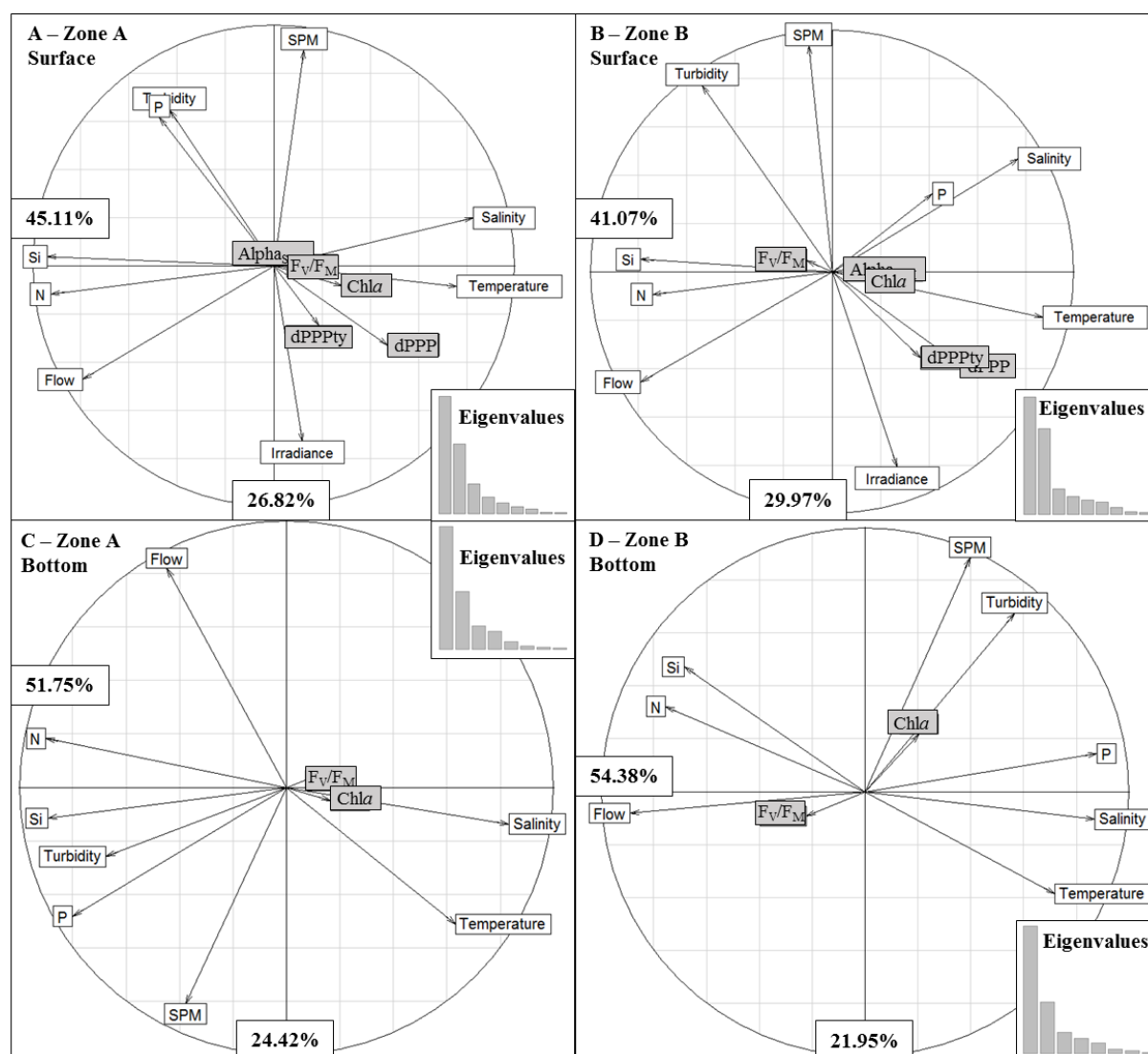


Figure 29. Principal component analysis factor loading plot in the plane defined by the two axes for sub-surface waters. (A) zone A (sites 1 to 4) and (B) zone B (sites 5 to 8) and for bottom waters with (D) zone A and (E) zone B. White labels show active variables and grey labels illustrative variables

In the bottom waters in zone A, the parameters that contributed the most to axis 1 were salinity and temperature in one direction and Si and DIN in the other direction. The parameters that contributed the most to axis 2 were the river flow in one direction, and SPM concentrations in the other. Despite their limited contributions, chl *a* concentrations and $F_V:F_M$ were positively linked with salinity. In Zone B, the parameters that contributed the most to axis 1 were salinity and P concentration in one direction and the river flow in the other direction. The parameters that contributed most to axis 2 were SPM and turbidity in one direction and temperature in the

other direction. The biological parameters contributed more than in zone A, and chl *a* concentrations were positively linked with turbidity and $F_V:F_M$ positively linked with flow.

4. Discussion

4.1. Phytoplankton biomass and the dynamics of photosynthetic parameters

Nutrient concentrations were very high throughout the year and were not limiting for phytoplankton growth. Despite a negative relationship between chl *a* and the concentrations of nutrients (DIN and Si), the role of phytoplankton consumption on nutrient dynamics may have been weak in regards to the importance of nutrients fluxes which are mostly controlled by hydrodynamics (Kromkamp and Peene 2005). Classically, the dynamics of chl *a* in nutrient-rich estuaries is mostly controlled by light availability, which varies with incident solar irradiance in the photic layers modulated by turbidity. The spatial dynamics of chl *a* can be explained by the higher light availability downstream and osmotic stress in the most upstream part of the estuary which can lead to growth limitation and cell stress (Lionard *et al.* 2005; Servais and Garnier 2006; Hernando *et al.* 2015). This stress is confirmed by the low annual values of $F_V:F_M$ ratios (< 0.2) observed upstream. However, the presence of cyanobacteria in this part of the estuary (data not shown) could also explain the low level of $F_V:F_M$ ratios. $F_V:F_M$ ratios of cyanobacteria are known to be poorly estimated by PAM methods because of the contribution of phycobilisoms auto-fluorescence to F_0 background and to states transition processes which lead to a rearrangements of photosynthesis apparatus with a transfer of light-harvesting antenna between both photosystems (PSI and PSII) (Campbell *et al.* 1998). The slightly higher $F_V:F_M$ ratios observed from January to April could also be attributed to freshwater species adapted to low salinity, low temperature and high turbidity as reported by Malpezzi *et al.* (2013) in the Chesapeake bay. In zone A (downstream part), $F_V:F_M$ ratios in sub-surface waters were higher in winter (> 0.4) than in summer (< 0.4) and inversely related to the concentrations of chl *a* (Masojidek *et al.* 2001; Macintyre *et al.* 2002; Suggett *et al.* 2004). The successive stress undergone in this zone could have led to a reduction in $F_V:F_M$ values especially with the high level of irradiance in summer. These reduction of $F_V:F_M$ can be due to photoprotection mechanisms or to alteration of PSII. As widely described, high irradiance may lead to a reduction of $F_V:F_M$ in sub-surface waters (Holm-Hansen *et al.* 2000; Shelly *et al.* 2003) due to the activation of short-term photoprotection mechanisms, such as xanthophyll cycling, which increases non-photochemical quenching to protect cells against high levels of irradiance (Dubinsky and Stambler 2009; Goss and Jakob 2010). Moreover, the sub-surface layer can be

defined as a fluctuating light environment caused by longitudinal and vertical mixing. In this type of environment, Alderkamp *et al.* (2010) have shown that phytoplankton cells need to balance their photosynthetic machinery to maximize photoprotection at high irradiance and photosynthetic efficiency at low irradiance. However, in estuary acclimation to low light is mainly require which induces a reduction in photo-protective pigment content, leading to potential damage of photosystems when cells are exposed to high light on surface during summer. Despite the low values of $F_V:F_M$ in summer in the downstream part, high values of α and $ETR(II)_{max}$ were measured allowing phytoplankton growth and high chl *a* concentration. This discrepancy between α , $ETR(II)_{max}$ and $F_V:F_M$ levels can be due to state transition mechanisms of cyanobacteria as previously described. These pattern were also observed upstream of the MTZ in the very low salinity zone. Despite low chl *a* concentrations, the high photosynthetic values revealed a non-negligible capacity of the freshwater phytoplankton to contribute to photosynthesis in the estuary.

Regarding, the WSI values, high $F_V:F_M$ ratios was not expected because of the high level of detritic matter in this water layer. This result suggests that a large part of the phytoplankton biomass close to the WSI was composed of healthy cells.

4.2. Carbon and ETR relationship

The relation between ETR and carbon fixation was used to estimate carbon incorporation at high spatial frequency. The dynamics of the $\phi_{e,C}$ showed strong temporal and spatial variability ranging between 1.56 and 24.98 mol electron.molC⁻¹ with a mean value of 7.95 ± 4.94 mol electron.molC⁻¹ over the course of the sampling year. Under optimal growth conditions, the value of $\phi_{e,C}$ is comprised between 4 and 6 moles and values lower than 4 are rather caused by the methods artefacts (Lawrenz *et al.* 2013). Only two of our values were lower than 2 mol electron.molC⁻¹ and the rest of values recorded in this study are in agreement with the previous statement (Hancke *et al.* 2015). Environmental variations are the primary source of variations in electron transport and carbon fixation which can induce high values of $\phi_{e,C}$. such as temperature (Morris and Kromkamp 2003), nutrient limitations (Babin *et al.* 1996; Napoléon *et al.* 2013b; Lawrenz *et al.* 2013; Schuback *et al.* 2015) or light stress (Napoléon and Claquin 2012; Zhu *et al.* 2016). The phytoplankton community assemblage can also influence the $\phi_{e,C}$ values, however, this factor was not considered in the present study but will be investigated in a future work. In this study, the average values of $\phi_{e,C}$ were lower than those observed in previous studies (Kaiblinger and Dokulil 2006; Napoléon *et al.* 2013b) despite high environmental pressures. We assume that the average value of 7.95 mol electrons.molC⁻¹ can

be explained by high nutrient level over the year. Napoléon *et al.* (2013b) observed a large increase of the $\phi_{e,C}$ under nutrient limitation, up to 125 mol electron.molC⁻¹, therefore nutrient limitation largely control the ETR/C relationship. Thus, in optimal nutrient conditions, even in stressful ecosystem as an estuary, the photosynthetic apparatus appears to be able to cope with environmental variations with ease.

Regarding metabolic regulation, the $\phi_{e,C}$ values are due to alternative electron flow pathways (AEF) between PSII and C fixation which therefore influence the ETR(II)_{max}/P_{max} relationship. Such AEF (i.e. Mehler reaction, electron flow around PSI or/and PSII, photorespiration) modulate the ATP:NADPH ratio as a function of the metabolic demand to optimize photosynthetic performance and growth (Endo and Asada 2008; Nogales *et al.* 2011; Johnson and Alric 2013). Thus, the more AEF is important in comparison to LEF (linear electron flow), the more $\phi_{e,C}$ is high and will potentially bias the estimation of carbon incorporation using the ETR(II)_{max} measurements.

In this context, it is still important to investigate the variation in the ETR(II)_{max}/P_{max} relationship (i.e $\phi_{e,C}$) as a function of environmental parameters. In our study, a statistic relationship was determined considering the temperature and the DIN as significant environmental parameters influencing the estimation of the C incorporation using ETR measurements. This was in agreement with previous studies that have explored such a statistical relationships between ETR and C fixation which underlined the importance of temperature, nutrients and light (Napoléon and Claquin 2012; Lawrenz *et al.* 2013).

4.3. Phytoplankton primary production along the Seine Estuary

Estimated daily carbon production in the Seine estuary reached 1.18 gC.m⁻².d⁻¹ in summer with an annual mean of 0.12 gC.m⁻².d⁻¹. Logically, primary production was higher in summer when river flow and turbidity are lower and when temperature and irradiance level are higher. These values are in agreement with some studies carried out worldwide in temperate estuaries, which reached 4.2 gC.m⁻².d⁻¹ in the Delaware (Pennock and Sharp 1986 and citations therein), up to 1.7 gC.m⁻².d⁻¹ in the Chesapeake (Magnien *et al.* 1992) in the east coast of the USA, up to 2.9 gC.m⁻².d⁻¹ in the Schelde in Europe (van Spaendonk *et al.* 1993 and citations therein), up to 1.17 gC.m⁻².d⁻¹ in the Lena in Russia (Sorokin and Sorokin 1996), and up to 2 gC.m⁻².d⁻¹ in the Chanchiang in China (Ning *et al.* 1988).

In order to understand variations in photosynthetic performance in space and over time, phytoplankton P:B ratio was investigated. The values were in accordance with previous studies performed English Channel coastal systems (Jouenne *et al.* 2007; Pannard *et al.* 2008;

Napoléon and Claquin 2012). The P:B ratio showed a seasonal pattern with low values under a temperature of 10 °C and high values in spring and summer especially in zone A. The weak P:B ratio in zone B could be explained by turbidity, especially from July when levels increased up to 120 NTU. During the spring bloom, induced by increasing temperature and irradiance levels (Hunter-Cevera *et al.* 2016), P:B ratio was higher inside the estuary in summer. Usually in coastal waters, the consumption of nutrients in spring becomes limiting in summer and results in lower P:B ratio (Napoleon *et al.* 2012; Napoléon *et al.* 2013a). In the Seine estuary, in summer, P:B ratio was higher inside the estuary than nearby coastal waters. This result pointed out an important autochthonous PPP in summer induced by the tradeoff between nutrient and light availability which support estuarine food web in addition to input from the coastal water during the flow.

4.4. Estimation of annual phytoplankton primary production in the Seine estuary

As a function of the sampling site, the annual PPP ranged between 17.26 and 81.53 gC.m⁻².y⁻¹. By taking each surface area into account, annual PPP represented a total of 6 032 tC.yr⁻¹ and a mean annual PPP of 64.75 gC.m⁻².y⁻¹. This annual PPP is low compared with the range of annual PPP reported for 45 estuaries by Boynton *et al.* (1982) varying from 19 to 547 gC.m⁻².y⁻¹ with a mean of 190 gC.m⁻².y⁻¹ or for the 1148 measurements recorded in 131 estuarine and coastal ecosystems (estuaries, fjords, bays and lagoons) reported by Cloern *et al.* (2014), which ranged from -105 to 1890 gC.m⁻².y⁻¹ with a mean of 225 gC.m⁻².y⁻¹. In this context, and according to the classification of Nixon (1995), the Seine estuary can be classified as an oligotrophic system (< 100 gC. m⁻².y⁻¹). A wide range of variability within or between ecosystems and estuaries, sampling effort and methods may explain this range. Some environmental dynamics like temperature or the level of irradiance are determined by the geographic location or by bathymetric, hydrodynamic or morphologic characteristics. We must therefore be wary when comparing the various estuarine systems. In the Seine estuary, the low PPP value is due to the intense turbidity. It is also important to note that we focused the sampling strategy on salinity gradient without considering the upper freshwater part of the estuary. PPP of this upper part can be high (Descy *et al.* 2016) and can considerably contribute to the estuarine trophic network in terms of POC (Etcheber *et al.* 2007). Sampling effort also explain a large part of the discrepancy of annual PPP estimations between worldwide estuaries. Some authors based their annual estimation on few sites (Vegter 1977; Mallin *et al.* 1993) or made over a period of a couple of months in spring or summer (Smith and Kemp 1995) and extrapolates their results over a year. In the present study, the spatial variability was taken into

account with high frequency measurements distributed all along the salinity gradient even in the less productive areas (MTZ) and during the less productive season (winter). Indeed, in our study, the four most downstream areas (1 to 4) produced 5239 tC during the six more productive months (from April to September), which represent 87% of the total annual PPP. In the present study, such approach would have led to an overestimation of more than 50% of the mean annual PPP per m². This estimation method would led to change the classification of this estuary into mesotrophic. This trivial example highlights the limit of this type of classification strongly related to sampling strategy and effort.

5. Conclusion

The measurement and estimation methods presented in this paper improved the phytoplankton primary production estimation along the salinity gradient of a temperate estuary. The combination of high frequency and traditional methods in relation with the environment dynamics has shown the possibility of making accurate estimation of PPP at small-scale in these highly dynamic systems, and could be applied more frequently in valuable ecosystems such as estuaries or coastal waters to apprehend their functioning. We pointed out a quite low variability of the $\phi_{e,C}$ because of nutrient replete conditions which allow to used variable fluorescence technics (PAM, FRRf) to get accurate PPP in estuaries. Phytoplankton biodiversity analysis was also performed during this study, therefore the relationship between biodiversity, community structures and PPP will be explored in complement to this work.

Acknowledgment

The authors wish to thank those who participated in the sampling campaigns and in the evening sampling treatments, especially Matthieu Filoche , Guillaume Izabel and the technical staff of the CREC – marine station of Luc-sur-Mer. This work was support by the GIP Seine-Aval project “PROUESSE”.

Supplementary material

Hydrological parameters

The Seine River flow decreased progressively from January to July 2015 with the maximum values reaching $1240 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$ in February and May (Fig. 10). Between July and November, the flow was around $500 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$, and the minimum value ($155 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$) was observed at the beginning of August. An increase in flow was recorded at the end of November.

The irradiance level was affected by a typical seasonal trend, with the highest value ($1.13 \times 10^8 \text{ } \mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) observed in June (Fig. S1).

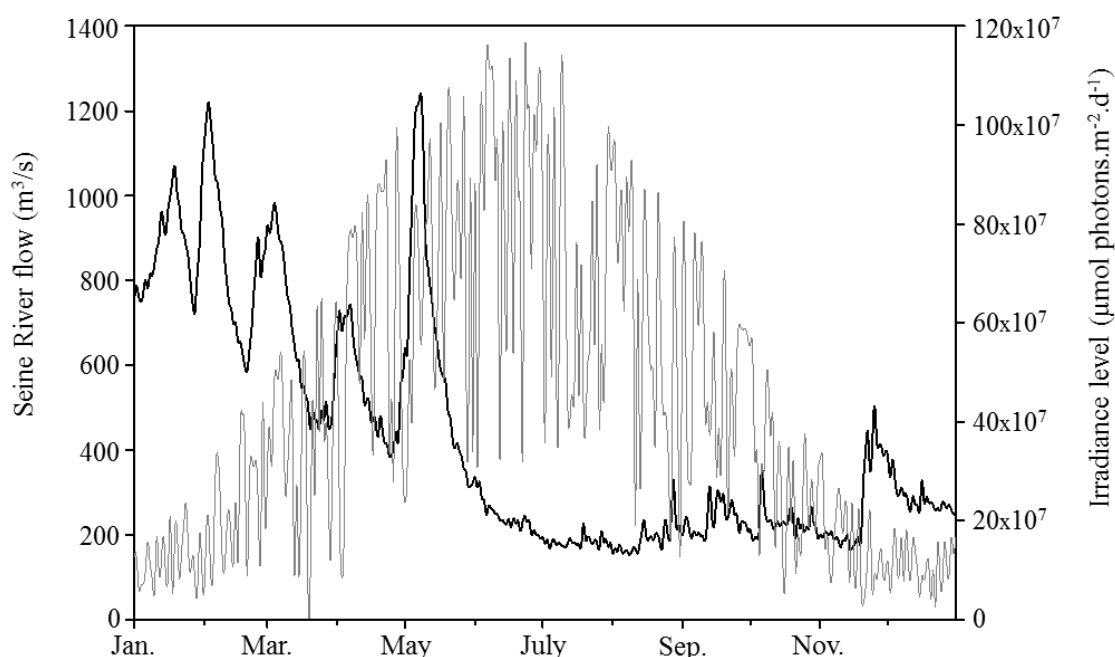


Figure S 1. Daily irradiance level (grey – $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) and river flow (black – $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$) in the Seine estuary during the sampling year (2015).

Water temperature followed a typical seasonal pattern over the course of the year (Fig. S2). The highest temperature ($21.89 \text{ }^{\circ}\text{C}$) was measured in sub-surface water in July and the lowest ($5.12 \text{ }^{\circ}\text{C}$) was measured close to the WSI in February in the oligohaline zone. Close to the WSI, the temperature was more heterogeneous with patches of cold or warm water. An inversion of the temperature gradient was observed over the course of the year in sub-surface, with temperature increasing from downstream to upstream in winter, and inversely in summer.

Salinity showed a dilution gradient in sub-surface from downstream to upstream (Fig. 11). While a similar gradient was observed close to the WSI, it was more disparate and patches of fresh or salty water were observed. The highest salinity value (29.9) was measured close to the WSI at site 2 in November.

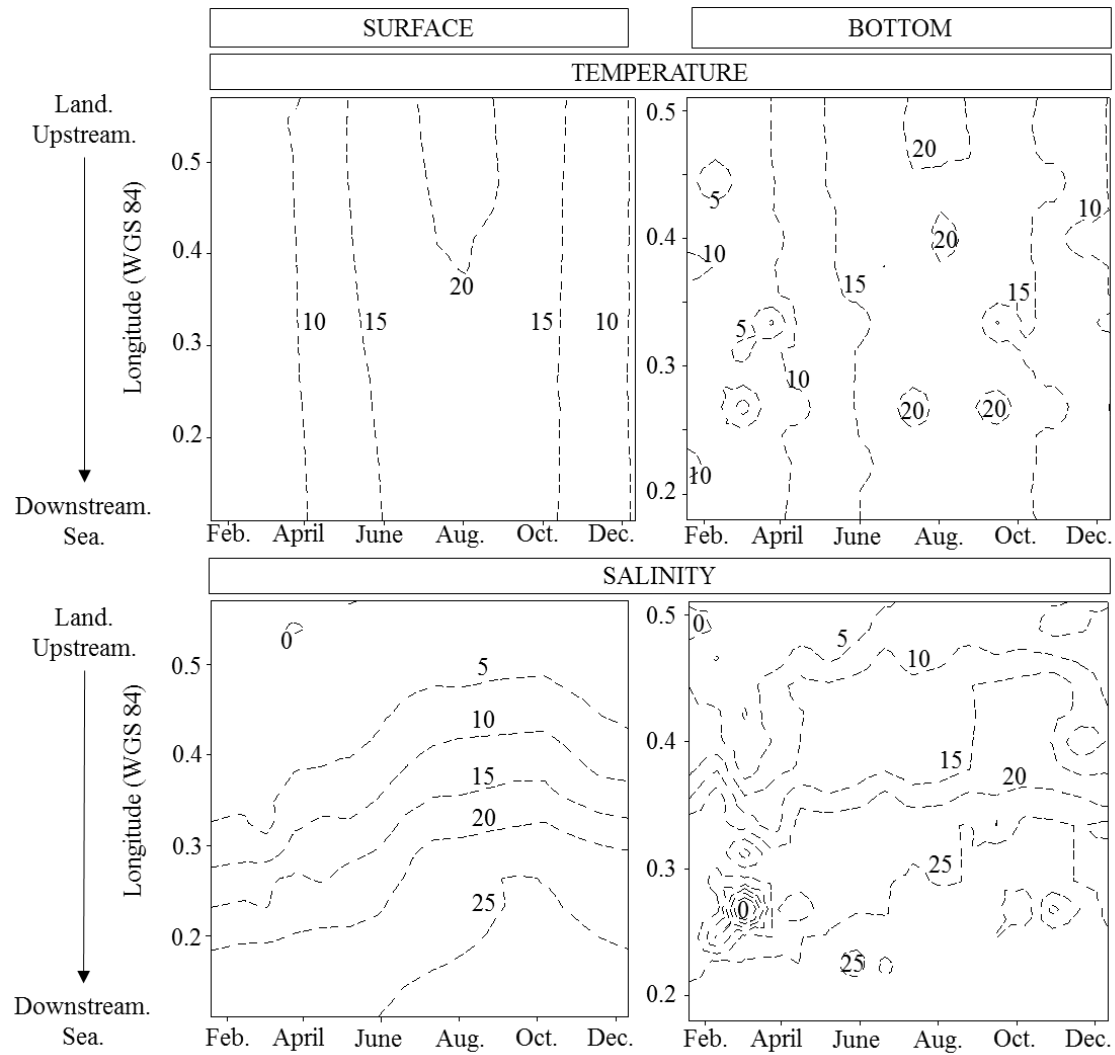


Figure S 2 Salinity (PSU) and temperature (°C) of the Seine estuary from January to December, 2015. The sub-surface layer (1 m) is shown in the left panel and the bottom layer (1 m above the WSI) in the right panel.

The highest concentrations of SPM were measured in winter in both sub-surface and bottom waters (Fig. 12). In sub-surface waters, the concentrations were often homogeneous along the salinity gradient. Some patches of higher concentration were observed close to the WSI out of the MTZ. The MTZ was located at site 8 from January to February, and at site 5 from November to December, with values with values higher than 0.1 g.L^{-1} in sub-surface. Close to the WSI, SPM concentrations were higher ($> 0.2 \text{ g.L}^{-1}$) especially in the MTZ, with a maxima of 2.7 g.L^{-1} observed in December at site 8. A correlation was found between SPM concentrations and turbidity (Person correlation coefficient: 0.58, $p < 0.001$, $n=148$) throughout the salinity gradient and over the entire studied period. Turbidity (Fig. 12) presented a clear gradient in the sub-surface water with an increase in turbidity values from downstream to upstream and confirmed the position of the MTZ previously defined with SPM concentrations.

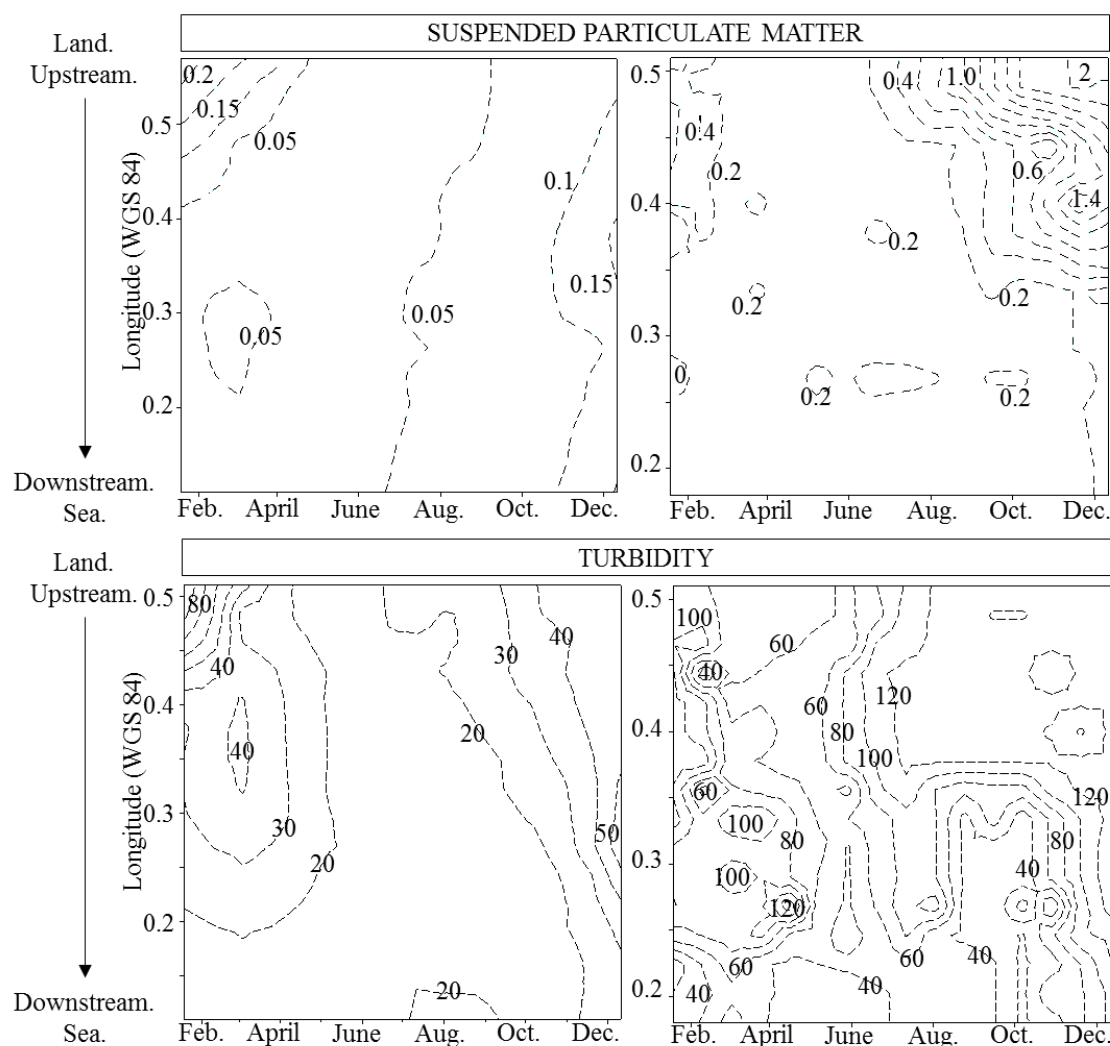


Figure S 3. Suspended particulate matter (g.L^{-1}) and turbidity (NTU) in the Seine estuary from January to December, 2015. The sub-surface layer (1 m) is shown in the left panel and the bottom layer (1 m above the WSI) in the right panel.

The concentrations of DIN and silicates were higher in sub-surface waters than in close to the WSI throughout the salinity gradient and over the entire studied period (Fig. 13). The highest values were always observed in the MTZ especially during the flood period (up to 482 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ for nitrates and 165.5 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ for silicates). The lowest concentration of DIN (40.9 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) was measured close to the WSI in August and the lowest concentrations of silicates (17 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) in May, both at site 2. In sub-surface waters, a clear pattern of dilution was observed for DIN concentrations with a decrease in [DIN] values from upstream to downstream. Close to the WSI, the concentrations of DIN were more disparate along the salinity gradient, despite a dilution being observed from upstream to downstream. The dilution pattern of the silicates was similar to the DIN pattern at both depth (Person correlation coefficient: 0.88, $p < 0.001$, $n=148$). Phosphate concentrations followed a different pattern characterized by weak differences between sub-surface and bottom waters throughout the salinity gradient (Fig. 5).

The highest values ($> 4 \mu\text{mol.L}^{-1}$) were observed upstream close to the WSI at sites 7, 8 & 9 in August, and the lowest value ($0.6 \mu\text{mol.L}^{-1}$) was measured close to the WSI at site 2 in May. In March, a patch of freshwater was observed close to the WSI at site 3 (longitude 0.27), characterized by low salinity, high turbidity and high concentrations of nutrients.

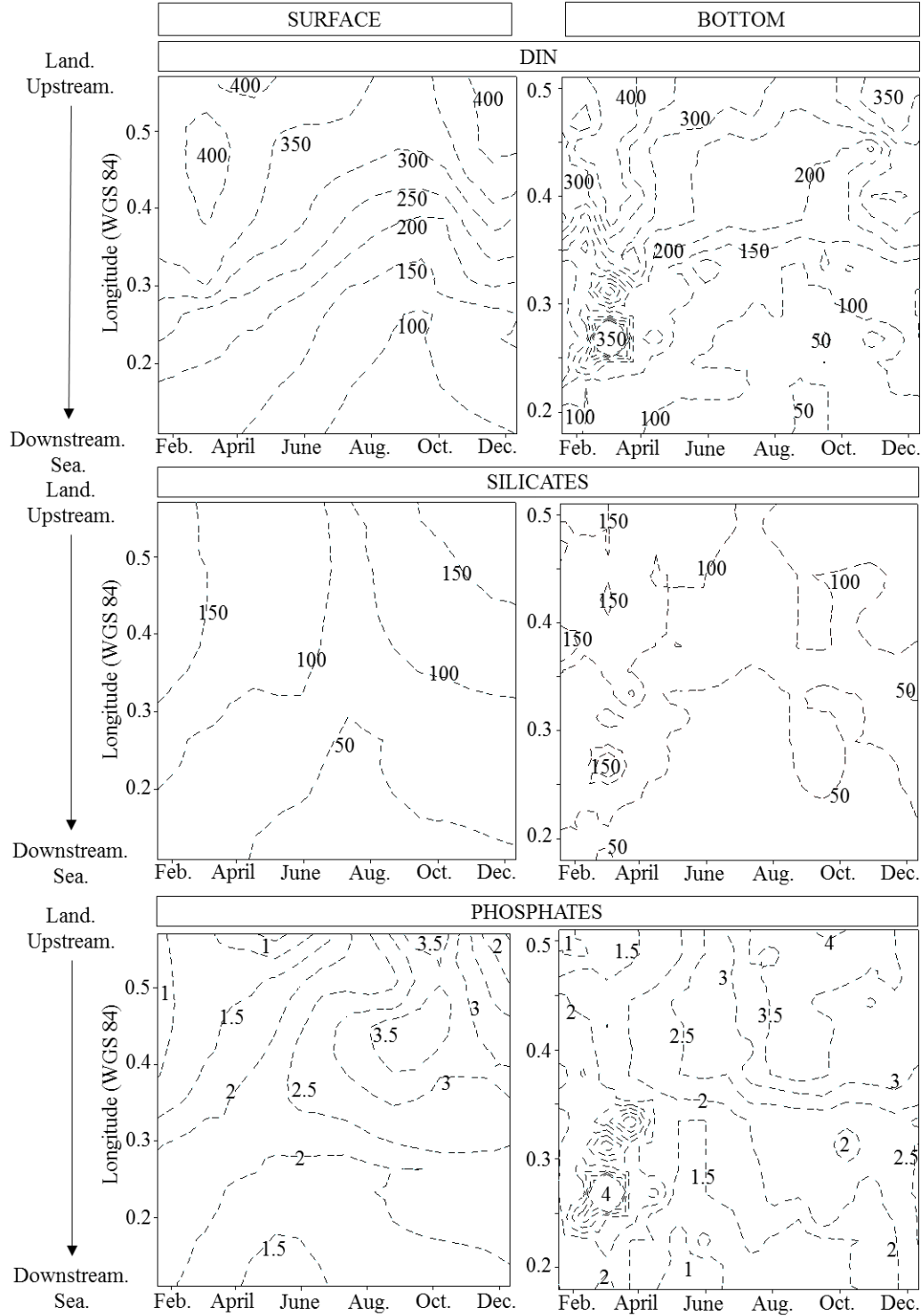


Figure S 4. Variations in nutrient concentrations (DIN ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- + \text{NH}_4^+$), silicates (Si(OH)_4) and phosphates (PO_4^{3-}) in $\mu\text{mol.L}^{-1}$) **in the Seine estuary from January to December, 2015.** The sub-surface layer (1 m) is shown in the left panel and the bottom layer (1 m above the WSI) in the right panel.

PARTIE 4 : DYNAMIQUE DES EXOPOLYSACCHARIDES EN ESTUAIRE

Dynamics of phytoplankton productivity and exopolysaccharides (EPS and TEP) pools in the Seine Estuary (France, Normandy) over tidal cycles and over two contrasting seasons

This article is “in press” in “*Marine Environmental Research*”, and available on line :

<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.09.007>

Jérôme Morelle; Mathilde Schapira and Pascal Claquin

Abstract

Exopolysaccharides (EPS) play an important role in the carbon flux and may be directly linked to phytoplankton and microphytobenthos production, most notably in estuarine systems. However the temporal and spatial dynamics of estuarine EPS are still not well understood, nor how primary productivity triggers this variability at these different scales. The aim of this study was to investigate the primary productivity of phytoplankton and EPS dynamics in the Seine estuary over a tidal cycle in three different haline zones over two contrasted seasons. The other objectives was to investigate the origin of pools of soluble carbohydrates (S-EPS) and transparent exopolymeric particles (TEP) in phytoplankton, microphytobenthos or other compartments. High frequency measurements of productivity were made in winter and summer 2015. Physical and chemical parameters, biomass and EPS were measured at hourly intervals in sub-surface waters and just above the water sediment-interface. Our results confirmed that high frequency measurements improve the accuracy of primary productivity estimations and associated carbon fluxes in estuaries. The photosynthetic parameters were shown to be strongly controlled by salinity and by the concentrations of suspended particle matter at the smallest temporal and at spatial scales. At these scales, our results showed an inverse relationship between EPS concentrations and biomass and productivity, and a positive relationship with sediment resuspension. Additionally, the distribution of EPS appears to be linked to hydrodynamics with the tide at daily scale and with the winter at seasonal scale. At spatial scale, the maximum turbidity zone played an important role in the distribution of TEP. Our results suggest that, in the Seine estuary, between 9% and 33% of the S-EPS pool in the water column can be attributed to phytoplankton excretion, while only 0.4% to 1.6% (up to 6.14% in exceptional conditions) originates from the microphytobenthos compartments. Most EPS was attributed to remobilization of detrital carbon pools in the maximum turbidity zone and in the sediment or allochthonous origin.

1. Introduction

Located at the interface between the land and marine environments, estuaries provide economic, cultural and ecological benefits to communities (Viles and Spencer 1995; Higgins *et al.* 2010; Barbier and Hacker 2011). Estuaries are strategic areas for human activities but are also vital for wildlife, as they provide a wide variety of habitats for nesting and feeding (Ayadi *et al.* 2004; Kaiser 2011). Long-term management of estuarine ecosystems is currently seriously threatened by anthropogenic pressure and climate change (Porter *et al.* 2013), and requires a better understanding of the structure and function of the organisms at the base of the food web. The estuarine food web is based on organic matter, which can be of autochthonous or allochthonous origin. Primary production by microalgae (i.e. phytoplankton and microphytobenthos) accounts for a large proportion of autochthonous production in many estuaries (Underwood and Kromkamp 1999; Cloern *et al.* 2014). Primary production in estuaries varies considerably in space and over time, making it difficult to scale up measurements (Shaffer and Onuf 1985). Indeed, estuaries are unique aquatic environments that receive inputs derived from freshwater outflows from rivers and mechanical energy from tides (Cloern 1991; Statham 2012). In addition to processes in open oceans that explain their variability, in estuaries, primary producer dynamics is the result of many processes on land, in the atmosphere, in the ocean and in the underlying sediments (Cloern 1996; Morse *et al.* 2014). Many of these processes fluctuate over a wide range of timescales and the geographical position of each estuary characterizes the relative strength of these processes operating at annual, seasonal, monthly, daily and even at event timescales (Cloern and Jassby 2010; Parizzi *et al.* 2016).

Apart from photosynthesis of organic matter, a significant proportion of primary production is released as extracellular polysaccharides (EPS) (Passow 2002). EPS are mainly made up of a free fraction of soluble carbohydrates (S-EPS) (Underwood *et al.* 1995) composed of galactose and glucuronic acid (De Brouwer *et al.* 2002), but also of a particle fraction in the form of transparent exopolymer particles (TEP), mainly composed of fucose and rhamnose (Fukao *et al.* 2009). These exopolymers play an important role in aggregation processes, particle sedimentation and carbon fluxes in aquatic ecosystems (e.g. Passow *et al.* 2001; Bhaskar & Bhosle 2005). Moreover, the production of EPS allows the creation of microenvironments in which cells are protected from rapidly changing environmental conditions, toxins, grazing, and even digestion (Decho 2000). In estuarine systems, EPS have been shown to account for a large proportion of the colloidal organic carbon pool in the water column (Annane *et al.* 2015) and high concentrations of TEP have been found in the maximum

turbidity zone (MTZ) of estuaries where suspended particle matter (SPM) accumulates (Malpezzi *et al.* 2013). However, most research on EPS in estuaries has focused on their production by microphytobenthic communities and only a few authors have studied EPS and TEP dynamics in the estuarine water column (Wetz *et al.* 2009; Annane *et al.* 2015). As a result, the link between phytoplankton primary production and the concentration of exopolymers in estuaries remains to be explored.

In estuaries, in addition to temperature and light, factors that potentially control primary production are forced by tide variability and also by river runoff and nutrient inputs (Sun *et al.* 2012). At a small scale, tidal regimes play a fundamental role in phytoplankton dynamics, as the movement of water masses causes notable variations in salinity, and in SPM and nutrient concentrations (Monbet 1992; Jouenne *et al.* 2007; Gameiro and Brotas 2010). Moreover, a strong salinity gradient in the estuary can profoundly influence the distribution, dynamics and production of phytoplankton, which include riverine, coastal and estuarine taxa (Muylaert *et al.* 2009). At seasonal scales, in temperate estuaries, phytoplankton dynamics are characterized by higher freshwater species biomass during the high flow period (i.e. winter) and high neritic diatom biomass during the low flow period (i.e. summer) (Cloern *et al.* 1985; Alpine and Cloern 1992). In sum, phytoplankton productivity can vary considerably over a wide range of scales, which, in turn, can strongly affect the biogeochemical functioning of the estuary. Despite the need to better understand the dynamics of phytoplankton and primary production at these different scales, only a few studies have addressed the variability of phytoplankton primary production over a tidal cycle (Cloern 1991; Desmit *et al.* 2005). In this context, it is vital to investigate the factors that control photosynthetic processes and carbon excretion by phytoplankton in estuaries.

Assessing small-scale temporal variability, such as the variability expected over a tidal cycle, requires high frequency measurements. The Pulse Amplitude Modulated (PAM) fluorometry method, based on the measurement of variation in fluorescence of the photosystem II (PSII), provides high frequency measurements of photosynthetic parameters (Kromkamp and Forster 2003). While this method does not directly measure the incorporation of photosynthetic carbon (Kolber and Falkowski 1993; Barranguet and Kromkamp 2000), it enables monitoring of the dynamics of photosynthetic parameters directly linked to carbon incorporation (Claquin *et al.* 2004; Napoleon *et al.* 2012).

The present study was conducted along the macro-tidal part of the Seine estuary, which forms the biggest outflow into the English Channel. Given the variability of physical forcing in estuaries, the aim of this work was to investigate the dynamics of EPS (S-EPS and TEP) in the

water column and phytoplankton primary productivity at appropriate temporal scales. Our specific objectives were to (1) study the relationships between short-term EPS dynamics and phytoplankton primary productivity over tidal cycles, (2) assess their variability along the salinity gradient, (3) explore these relationships over two contrasted seasons: high flow/winter (February) and low flow/summer (July) and, finally (4) to estimate the potential relative contribution of autochthonous phytoplankton primary production and microphytobenthic productive mudflats, to the EPS pool in a temperate estuary.

2. Methods

2.1. Study site

The Seine River and its estuary drain an area of 76,260 km². After Paris, the river flows northwest and drains into the English Channel. Located 202 km from Paris (the kilometric scale of the Seine River is set at 0 km in the center of Paris), the weir at Poses represents the upper limit of tidal propagation of the Seine estuary (Fig. 1). The annual mean discharge of the river measured at Poses is 436 m³/s. During the sampling year, the high flow period extending from January to May with a mean discharge of 750 m³/s and values reaching 1,240 m³/s and a mean discharge of 245 m³/s during low flow period (Data GIP Seine-Aval, 2008; 2011). Salinity ranges between (i) 0.5 and 5 in the oligohaline part; (ii) 5 and 18 in the mesohaline part; (iii) 18 and 30 in the polyhaline part, and (iv) higher than 30 in the euhaline part of the Seine estuary. The Seine estuary is a macrotidal estuary, whose tidal amplitude ranges from 3 to 7 m at Honfleur and from 1 to 2 m at Poses. The mean residence time in the estuary ranges from 17 to 18 days for a discharge of 200 m³/s at Poses and from 5 to 7 days for a discharge of 1,000 m³/s (Brenon and Hir 1999; Even *et al.* 2007). The tide in the Seine estuary is characterized by flattening at high tide that lasts for more than 2 hours due to the deformation of the tidal wave during propagation at shallow depths (Brenon and Hir 1999; Wang *et al.* 2002). The flow is asymmetric in favor of the flood and this trend increases when the tide propagates up the estuary (Le Hir *et al.* 2001a). Water temperatures range from 25 °C in summer to 7 °C in winter with differences of less than 1 °C along the longitudinal axis and a weak vertical gradient (Data GIP Seine-Aval, 2008; 2011). The estuary is characterized by the formation of a maximum turbidity zone (MTZ) containing up to 2 g/L of SPM, usually located between Honfleur and Tancarville. However, depending on the intensity of the tide and river discharge, the MTZ may move upstream, and, during winter flood events, the MTZ may be flushed out into the Seine Bay (Etcheber *et al.* 2007; Garnier *et al.* 2010).

2.2. Sampling strategy

Water column sampling

Sampling was conducted in February (winter – high flow period) and July (summer – low flow period) 2015 onboard the vessel “*Côtes de la Manche*”. During both periods, sampling was conducted under similar tidal conditions (i.e. the tidal range and the highest tidal elevation during daylight were similar), at three sites distributed along the salinity gradient (Fig. 30): in the euhaline part at the river plume (La Carosse - sampled on February 3 and July 18), in the mesohaline zone (Fatouville - sampled on February 4 and July 20) and in the oligohaline zone (Tancarville - sampled on February 5 and July 17). Sampling was conducted during daylight over a tidal cycle (i.e. 12 hours) at each of the three sites and during both campaigns. Photosynthetic parameters were measured in the surface water at five-minute intervals (i.e. 12 measurements/hour). Vertical salinity (Practical Salinity Scale), turbidity (Nephelometric Turbidity Unit) and temperature (°C) profiles were performed hourly with a SBE 19-plusVD CTD (Seabird) from the sub-surface to 1 m above the water-sediment interface (WSI). Water was sampled from the sub-surface (i.e. 1 m) and 1 m above the WSI using a 5 L-Niskin bottle at hourly intervals to measure hydrological (i.e. nutrients, suspended particular matter) and biological (i.e. chlorophyll *a*, EPS concentrations) parameters.

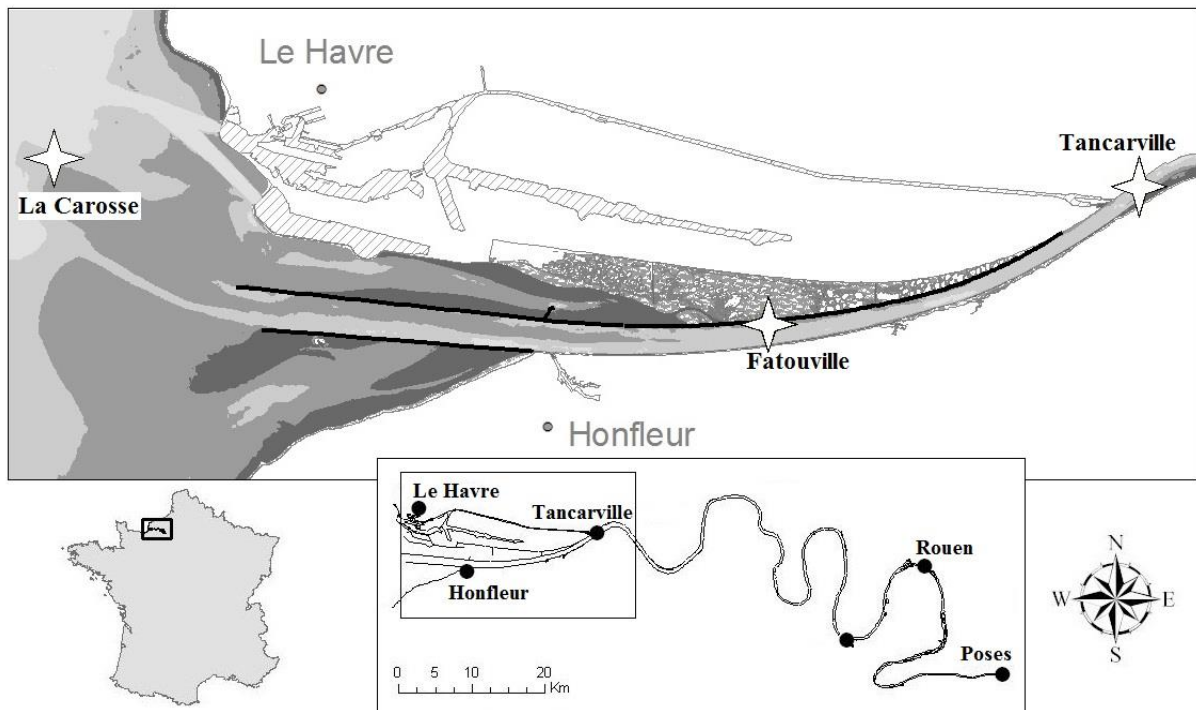


Figure 30. Study area, the Seine Estuary, Normandy, France (49°26'09"N; 0°16'28"E). Location of the 3 sampling sites (white stars): (i) La Carosse (49°28'985"N; 0°01'807"E), located in the euhaline zone and sampled on February 3 and July 18, (ii) Fatouville (49°26'202"N; 0°19'274"E), located in the polyhaline zone and sampled on February 4 and July 20, (iii) Tancarville (49°24'444"N; 0°28'200"E), located in the oligohaline zone and sampled on February 5 and July. Black dots represent major cities along the Seine Estuary.

Intertidal sediment sampling

Two other campaigns were conducted in September, 2014 and in April, 2015 at 15 sites distributed throughout the Seine estuary mudflats (the labels and coordinates are provided in the results section - Tab. 2) to access the microphytobenthos dynamics (Morelle *et al*, in prep). Each site was sampled during the emersion period (more than one hour after the beginning of the exposure period and more than one hour before the return flow) and three replicated squares (1 x 1 m) were chosen randomly at each site. In each square, three cores (20 cm diameter × 1 cm deep) were taken. After being carefully homogenized, the volume of substratum was determined by using cut syringes, split into flasks for analyses. The concentrations of the EPS in the samples were measured.

2.3. High-frequency measurements

2.3.1. Photosynthetic parameters

In order to acquire high-frequency estimations of primary productivity, the maximum energy conversion efficiency (or the quantum efficiency of photosystem II (PSII) charge separation, F_V/F_M) was measured at 5-minute intervals using the flow through version of the WATER PAM (Waltz, Effeltrich, Germany) (Schreiber *et al.* 1986). Water collected from the sub-surface was conducted through a pipe to a thermally insulated dark reserve that maintained the sample close to the *in situ* temperature. After 5 min of dark acclimation, which was sufficient for the oxidation of the Quinone A (Q_A) pool in this highly turbid environment, a sub-sample was automatically transferred into the measuring chamber. The sample was excited by a weak blue light ($1 \mu\text{mol photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 470 nm, frequency 0.6 kHz) to record the minimum fluorescence (F_0). The maximum fluorescence (F_M) was obtained during a saturating light pulse (0.6 s, up to $4000 \mu\text{mol photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 470 nm), allowing all the Q_A pool to be reduced. F_V/F_M was calculated according to the following equation (Genty *et al.* 1989):

$$\frac{F_V}{F_M} = \frac{(F_M - F_0)}{F_M} \quad (1)$$

Samples were exposed to nine consecutive irradiances (E) ranging from 0 to $469 \mu\text{mol photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ in winter and from 0 to 1541 in summer, for a period of 30 s for each light step. These different light ranges were chosen to properly estimate the photosynthetic parameters. Steady state fluorescence (F_S) and maximum fluorescence (F_M') were measured. The effective quantum efficiency of PSII for each irradiance was determined as follows (Genty *et al.* 1989) :

$$\frac{\Delta F}{F_M'} = \frac{(F_M' - F_S)}{F_M'} \quad (2)$$

The relative electron transport rate (rETR, $\mu\text{mol electron/m}^2/\text{s}$) was calculated for each irradiance. rETR is a measure of the rate of linear electron transport through PSII, which is correlated with the overall photosynthetic performance of the phytoplankton (Juneau and Harrison 2005):

$$\text{rETR}(E) = \frac{\Delta F}{F_M} \times E \quad (3)$$

Samples were removed from the Niskin bottle in sub-surface water and close to the WSI at hourly intervals. A sub-sample was placed in the measuring chamber of the cuvette version of the WATER PAM (Waltz, Effeltrich, Germany) and F_V/F_M was measured as described above.

2.3.2. P versus E curves

To estimate the photosynthetic parameters, the rETR values were plotted against E and the mechanistic model developed by Eilers & Peeters (1988) was applied to fit the data using SigmaPlot (Systat Software) according to the equation (4) with a , b and c initially set to 3×10^{-5} ; 0.06 and 111 respectively:

$$\text{rETR}(E) = \frac{E}{(aE^2 + bE + c)} \quad (4)$$

After 200 iterations of fit per curve, the best a , b and c parameters were estimated by the software for each rETR/ E curve and the maximum photosynthetic capacity rETR_{max} was calculated as follows:

$$\text{rETR}_{\text{max}} = \frac{1}{(b + 2\sqrt{ac})} \quad (5)$$

2.4. Discrete measurements

2.4.1. Nutrients

To determine nutrient concentrations (PO_4^{3-} , NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ and $\text{Si}(\text{OH})_4$), 100 ml water samples were pre-filtered through a 48 μm Nylon Mesh (Sefar Nitex 03-48/31-102 cm; Open area %: 30) directly from the Niskin bottle in order to already eliminate a major part of the particles (Aminot and Kérouel 2004, 2007). For the measurement of silicate concentrations

(Si(OH)_4), water samples were subsequently filtered through 0.45 μm acetate cellulose membrane and stored at 4 °C until analysis. For the measurement of dissolved inorganic nitrogen (i.e. $\text{DIN} = \text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- + \text{NH}_4^+$) and phosphate concentrations (PO_4^{3-}), water samples were stored directly at -20 °C. Samples were analyzed within one month after field collection with an auto-analyzer (Technicon III) following standard protocols (Aminot and Kérouel 2007; Hydes *et al.* 2010). The limits of quantification were 0.2 μM for silicates, 0.1 μM for nitrates, 0.02 μM for nitrites, 0.04 μM for phosphates and 0.1 μM for ammonia.

2.4.2. Suspended particulate matter

Surface and bottom water samples were collected from the Niskin bottle at hourly intervals over the 12 h tidal cycle. Before the field campaign, Whatman GF/F glass microfiber 0.7 μm filters were prepared and rinsed using the vacuum filtration system, dried at 50 °C for 24 h, and pre-weighed. A known volume of the sampled water was filtered through the prepared filters using a glass tank on a filter ramp connected to a pump. Filters were rinsed with distilled water to remove any remaining salt. The concentration of total suspended solids (g/L) was then calculated by gravimetric determination after air-drying the filters for 24 h at 50 °C and weighing on a high precision Sartorius scale. This method ensured a precision of 0.0001 g/L for the lowest SPM concentrations (Verney *et al.* 2009).

2.4.3. Phytoplankton biomass

Phytoplankton biomass was assessed through chlorophyll *a* (chl *a*) concentrations. Samples (30 to 500 ml) were filtered in triplicate, through glass fiber filters (Whatman GF/F: 0.7 μm pore size and 47 mm diameter) and immediately frozen at -20 °C until analysis. In the laboratory, pigments were extracted in 10 mL of 90% (v/v) acetone, for 12 h at 4 °C in the dark. After centrifugation (3000 g, 4 °C, 10 minutes), the chl *a* concentration ($\mu\text{g/L}$) was measured on extracts according to the fluorometric method of Lorenzen (1966) and using a Turner Trilogy fluorometer (Turner Designs, Sunnyvale, California, USA).

2.4.4. Extracellular polymeric substances

Water column pools

The concentration of TEP was determined using the colorimetric method described by Claquin *et al.* (2008) adapted from Passow and Alldredge (1995). Briefly, 15 to 50 ml samples were filtered onto 0.4 μm polycarbonate Isopore membrane filters (Millipore) and stored at -20 °C until analysis. Particles retained on the filters were stained with 5 ml of 0.02% Alcian blue

(Sigma) in 0.06% acetic acid (pH 2.5). After centrifugation at 3500 g for 30 min, the supernatants were removed and the filters were centrifuged several times with 5 ml of MilliQ water until all excess dye was completely removed from the pellet. After one night of drying in a sterilizer at 50 °C, 6 ml of 80% H₂SO₄ were added and 2 hours later the absorption of the supernatant was measured using a spectrometer at 787 nm. Alcian blue absorption was calibrated using a solution of Xanthan gum (XG) as a standard. TEP concentrations are expressed in µgXGeq/L. Subsequently, to estimate the TEP pool in the water column, the TEP concentrations were converted into carbon (mgC/L) using a coefficient of 0.70 (Engel and Passow 2001; Claquin *et al.* 2008).

Carbohydrate content was measured using Dubois's method (Dubois *et al.* 1956). Briefly, the filtrates of TEP filters were considered as colloidal EPS (S-EPS). High and low molecular weight EPS was extracted by incubating the samples in ethanol (70% f.c.) for 16 hours at -20 °C. Samples were centrifuged at 3000 g, for 30 min at 4 °C. Low molecular weight EPS was collected in the supernatant and discarded. The pellet containing high molecular weight EPS was dried at 50 °C overnight. The dried samples were re-suspended in 1 ml distilled water. Next, 50 µL of 5% phenol and 250 µL sulfuric acid were added to 50 µL of the extract, and vortexed. Absorption was read after 30 min with a FlexStation plate reader (Molecular Devices) at 485 nm, using glucose (G) as a standard for the calibration curve. S-EPS concentrations are expressed in µgGeq/L.

Intertidal sediment pools

Fresh sediments were treated immediately on return to the laboratory to avoid any cell disruption or contamination of EPS extracts by chrysolaminarin stored in the vacuoles (Chiovitti *et al.* 2004; Takahashi *et al.* 2009). Following Orvain *et al.* (2014), microphytobenthic EPS was extracted from 5 ml of fresh sediment placed in 15 ml centrifugation tubes with 5 ml of 0.2 µm filtered and sterilized artificial sea water. After one hour of incubation in artificial seawater, tubes were mixed and centrifuged at 4 °C, 3000 g for 10 min. Supernatants containing the colloidal fraction were collected in a new centrifugation tube and stored frozen (-20 °C) until analysis. The method described above for phytoplanktonic S-EPS was used. Each EPS concentration was first expressed as a function of the volume of fresh sediment (mgGeq/L) and was then converted into contents (mgGeq/gDW) by using the volumetric mass (in g/L) and into surface units (mgGeq/m²) by using the dry bulk density (in kg/m³) and considering a core depth of 1 cm. The chl *a* data, which were also measured during

these campaigns using the Lorenzen method (1966), were used to express the S-EPS:chl *a* ratio in mgGeq/mgchl *a*.

2.5. Data analysis

P-E curves & Spearman correlations were performed using the SigmaPlot (Systat software) and linear & multiple regressions using the R software (R Development Core Team) to investigate correlations between parameters at each site, in the two seasons, and at both depths. Significant correlations were accepted when the p-value was < 0.05 . A principal component analysis (PCA) was performed using the “FactoMineR” package in R on data collected from the sub-surface and close to the WSI at hourly intervals at the three sampling sites in the two sampling periods. The data were not transformed before analyses.

3. Results

3.1. Spatial and temporal dynamics of the water column along the salinity gradient

The temperature, salinity and nutrient dynamics are characteristic of North European estuaries (Fig. S5 & S6). The main points regarding these parameters are the higher temperature ($> 18^{\circ}\text{C}$) and the lower river flow in summer ($< 226 \text{ m}^3/\text{s}$) versus winter (temperature $< 7^{\circ}\text{C}$ and flow $> 1110 \text{ m}^3/\text{s}$). In both seasons, the salinity gradient ranged between 0.01 and 32.37, extended upstream up to Tancarville in summer and up to Fatouville in winter. In summer, despite the low river flow, nutrient concentrations remained high (between 9.17 and 413.54 μM for [DIN], between 5.22 and 160.20 μM for [Si] and, between 0.36 and 4.17 μM for [P]) and were not limiting for phytoplankton growth during this period. [DIN] and [Si], were closely linked to freshwater inputs and decreased from upstream to downstream. In contrast, [P] was positively correlated with the tidal height and the highest concentrations were recorded in the mesohaline part of the estuary.

The highest SPM concentrations were recorded close to the WSI, at Fatouville during winter, and at Tancarville during summer (Tab. 12). The sampling site La Carosse displayed characteristics of marine waters with very low SPM concentrations. At Fatouville in winter, peaks of SPM were recorded close to the WSI at the beginning of the high tide and during the ebb (fig. S7), whereas very low SPM concentrations were observed during the high tide slack. A very similar pattern was observed in summer, with high SPM concentrations recorded close to the WSI at the beginning of the high tide and at low tide. At Tancarville, a peak was recorded at both depths during the ebb in winter, and during low tide in summer. These observations

suggest that SPM concentrations were closely linked to resuspension of bottom sediments triggered by tidal currents rather than to inputs from the watershed. Nevertheless, the pattern of variation in SPM concentrations in surface was closely linked to the dynamics of SPM observed close to the WSI. This observation suggests that resuspension of sediment by tidal currents has an impact on the entire water column. Our results also suggest that the MTZ was located between Fatouville and Tancarville in winter, and upstream from Tancarville in summer.

Table 12. Minimum and maximum values of the sampling parameters recorded at each of the three sites (La Carosse (LC), Fatouville (Fat.) and Tancarville (Tan.)) in sub-surface (1 m below the surface (S)) and close to the bottom (1 m above the water sediment interface (B)) in February (winter) and in July (summer) 2015. The S-EPS concentrations are expressed in glucose equivalent (mgGeq) and the TEP concentrations in Xanthan gum equivalent (mgXGeq).

Sites	S/B	SPM g/L	Chl <i>a</i> µg/L	F _V /F _M ratio	rETR _{max} µmol e ⁻ /m ² /s	TEP mgXGeq/L	TEP:Chl <i>a</i> (x10 ³) mgXGeq/mgchl <i>a</i>	EPS mgGeq/L	EPS:Chl <i>a</i> mgGeq/mgchl <i>a</i>
Winter									
LC	S	0.01/0.11	0.49/1.01	0.26/0.60	3.52/29.95	0.87/5.90	1.46/8.00	3.06/4.85	3.66/8.14
	B	0.02/0.08	0.59/0.98	0.24/0.62	-	4.76/9.65	5.51/15.84	4.23/7.53	4.93/12.81
Fat.	S	0.03/1.77	0.97/2.55	0.18/0.27	11.69/47.82	7.57/26.94	6.22/14.33	3.20/5.56	1.51/4.99
	B	0.08/2.81	1.40/27.20	0.16/0.25	-	14.08/68.69	2.53/16.14	3.78/6.53	0.22/3.63
Tan.	S	0.03/0.22	1.00/2.27	0.26/0.41	20.11/40.87	2.52/6.82	1.50/3.42	3.10/6.64	1.84/4.69
	B	0.07/0.44	1.44/2.40	0.23/0.42	-	2.63/8.38	1.60/4.48	4.23/7.64	2.10/4.75
Summer									
LC	S	0.00/0.02	5.71/17.37	0.09/0.51	120.81/231.03	0.52/1.27	0.03/0.18	0.85/3.54	0.13/0.60
	B	0.01/0.05	1.17/4.61	0.31/0.50	-	0.66/3.40	0.16/1.05	1.20/3.63	0.45/1.78
Fat.	S	0.02/0.43	1.84/54.57	0.15/0.37	55.84/314.65	1.00/8.58	0.02/2.99	1.67/3.92	0.04/8.59
	B	0.02/0.94	3.33/11.72	0.10/0.37	-	1.13/14.10	0.17/2.59	1.38/4.87	0.17/1.16
Tan.	S	0.03/1.03	1.80/16.12	0.09/0.25	49.56/278.75	1.53/30.59	0.37/2.06	1.42/5.15	0.12/1.30
	B	0.11/2.00	2.88/21.45	0.12/0.33	-	2.68/32.06	0.49/5.19	0.91/6.77	0.08/2.17

3.2. Discrete measurements of chl *a* biomass and photosynthetic parameters

The chl *a* concentrations were low in winter (Tab. 12) with minor variations at La Carosse and Tancarville (Fig. 31). Only three peaks were recorded close to the WSI at Fatouville associated with SPM dynamics (during the flood, the high tide slack and the ebb). In summer, at La Carosse, an increase was recorded during the flood at both depths but the increase was bigger at the surface. At Fatouville, chl *a* concentrations were low close to the WSI except for a peak at low tide slack. In surface waters, values were low at low tide slack but increased considerably from the flood to the high tide slack. At Tancarville, the chl *a* concentrations decreased during the flow and increased during the ebb at both depths.

At La Carosse, despite low chl *a* in winter, F_V/F_M values were high (Tab. 12). The highest F_V/F_M values were recorded at both depths during tide slack. However, marked variations were recorded over the tidal cycle (Fig. 2), two reductions were recorded during the flood and during the ebb at both depths. At Fatouville, F_V/F_M values were low and remained constant throughout the day. At Tancarville, two reductions were recorded, one during the flow

and the other at the beginning of the ebb. Despite the high chl *a* concentrations in summer, F_V/F_M were lower than in winter. At La Carosse, at both depths, F_V/F_M increased during the flood, decreased during high tide and increased during the ebb. At Fatouville, F_V/F_M were closely linked to the dynamics of the tide characterized by a decreasing trend during the ebb followed by an increase with the flow to reach maximum values during high tide. At Tancarville, F_V/F_M values were very low with high variability over the tidal cycle.

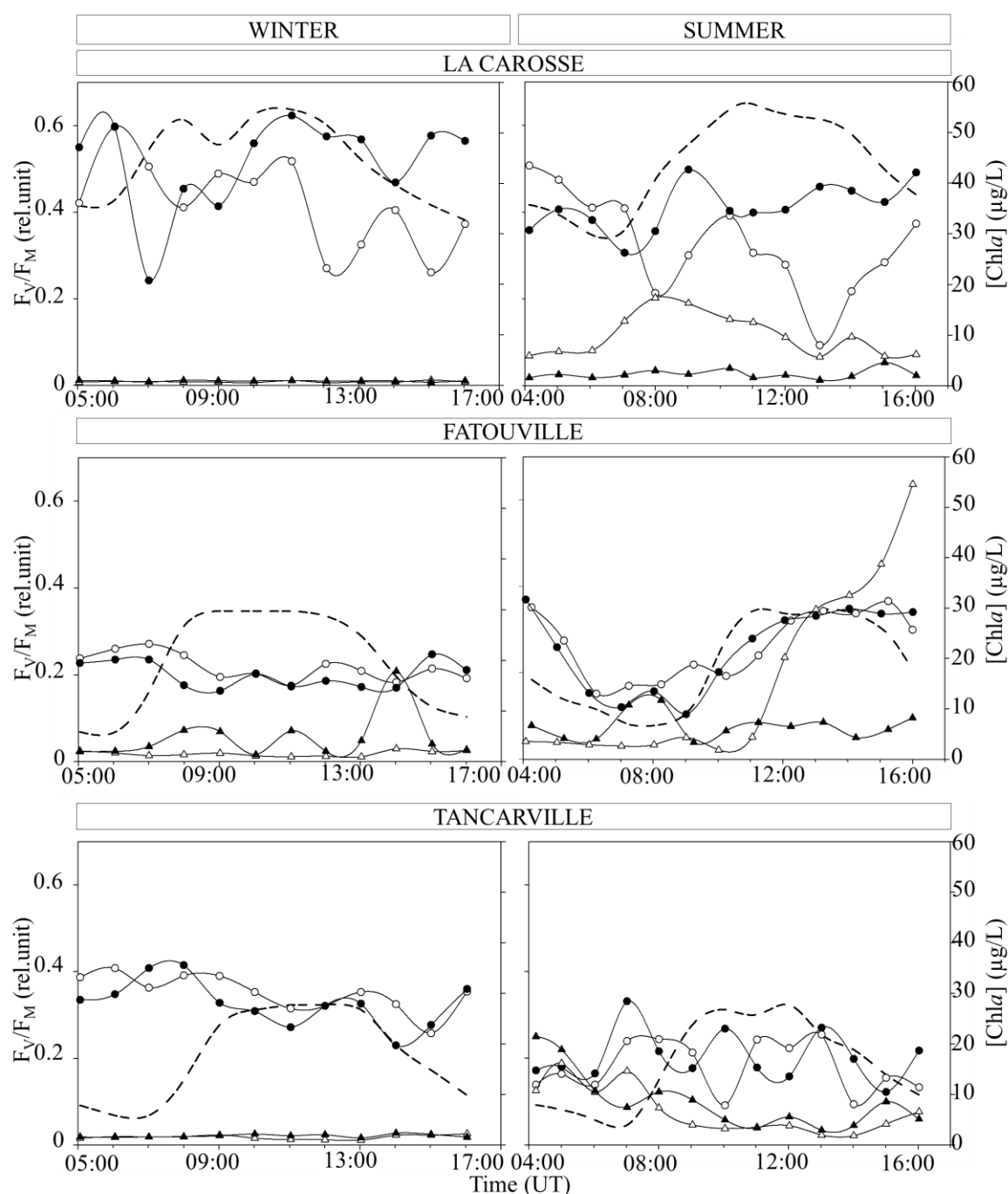


Figure 31. Phytoplankton biomass [chl *a*], µg/L - triangles) **and** F_V/F_M (relative units - circles) **measured over a tidal cycle at the three sampling sites (La Carosse, Fatouville and Tancarville), in winter (left panel) and in summer (right panel).** Values measured 1 m below the surface are represented by empty circles and values measured 1 m above the water sediment interface (WSI) by black dots. The dashed lines represent tidal height (m) measured 1 m above the WSI (cf. Fig. 32).

3.3. High frequency measurements of photosynthetic parameters

Primary productivity estimated using high frequency $rETR_{max}$ ($\mu\text{mol electron/m}^2/\text{s}$) measurements showed a high degree of variability at very small temporal scale (5 min) compared with hourly observations (Fig. 32). In winter, productivity values were low (Tab. 12).

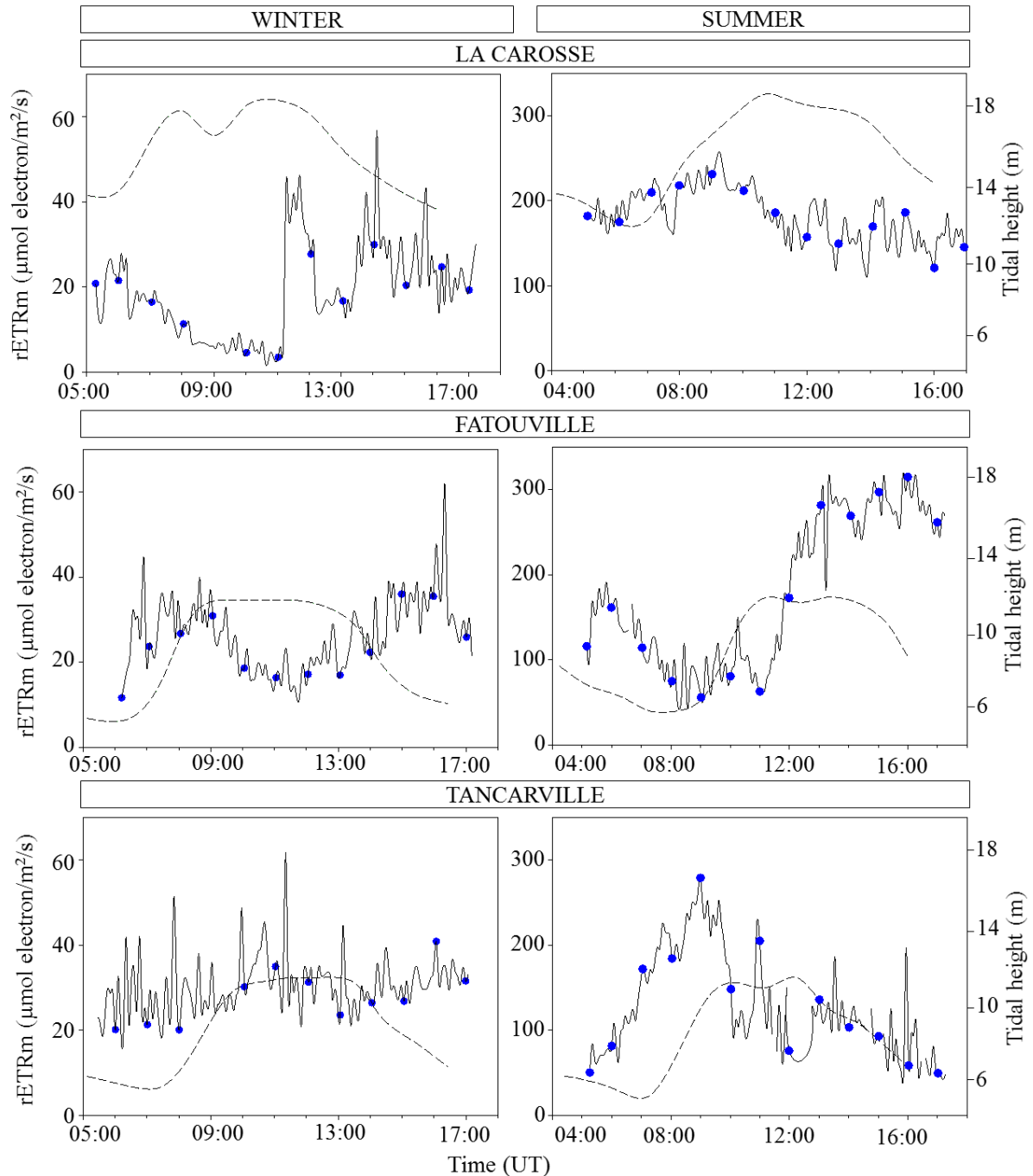


Figure 32. High frequency measurements of the maximum rate of electron transport ($rETR_{max}$; $\mu\text{mol electron/m}^2/\text{s}$ – solid line) measured over a tidal cycle at the three sampling sites (La Carosse, Fatouville and Tancarville), in winter (left panel) and in summer (right panel). The dots represent values during low frequency sampling. The dashed lines represent tidal height (m) measured 1 m above the water sediment interface.

At La Carosse, $rETR_{max}$ decreased during the flow, increased during high tide and decreased at the beginning of the ebb followed by marked variability of the values. At Fatouville, $rETR_{max}$ increased during the flow, when currents were at their maximum, and decreased during tide slacks. At Tancarville, despite the high degree of variability, the $rETR_{max}$ remained close to a mean value of $30.16 \pm 6.42 \mu\text{mol electron/m}^2/\text{s}$. In summer, $rETR_{max}$ values were higher than in winter throughout the salinity gradient (Tab. 12). At La Carosse, the dynamics of phytoplankton productivity increased from low tide to half the flow. Thereafter a decrease was observed during the high tide before a slight increase at the beginning of the ebb. At Fatouville, productivity mirrored tidal dynamics but with a time lag of approximately three hours. At Tancarville, an increase in productivity from the morning low tide to high tide was followed by a decrease from high tide to the evening low tide.

3.4. Extracellular polymeric substances.

3.4.1 Transparent exopolymeric particles (TEP)

At each site, TEP concentrations ($[\text{TEP}]$, mgXGeq/L) were higher close to the WSI than in sub-surface waters (Tab. 12) and $[\text{TEP}]$ peaks were mostly recorded during flows (Fig. 33). In winter, at La Carosse, three peaks were recorded close to the WSI: two during the high tide, mirroring the tide dynamics, and one at the end of the ebb. In sub-surface waters, a peak was recorded at the beginning of the flow and an increasing trend was recorded during the ebb. At Fatouville, high variability was observed close to the WSI with values increasing both during the flow and the ebb. At the surface, the same dynamics were observed but with lower values. At Tancarville, some $[\text{TEP}]$ peaks were also observed during the flow and the ebb at both depths. During summer, $[\text{TEP}]$ variations at La Carosse were weak despite two small peaks close to the WSI recorded during the flow. Upstream, at Fatouville and Tancarville, high peaks were recorded during low tide at both depths, small peaks were also recorded at high tide at both these sites. Thus, during the campaigns, it appears that between 0.36 and 48.08 mgC/L and a mean of 5.89 mgC/L were available for the trophic network in the form of TEP.

The TEP:chl *a* ratios were higher in winter than in summer (Tab. 12). Some decreasing trends in the TEP:chl *a* ratio were recorded at high tide slacks in the sub-surface water at La Carosse in both seasons and in summer at Fatouville at both depths with an inverse dynamics with respect to the tide (Fig. S8). Some negative peaks were also recorded at the end of the high tide slacks.

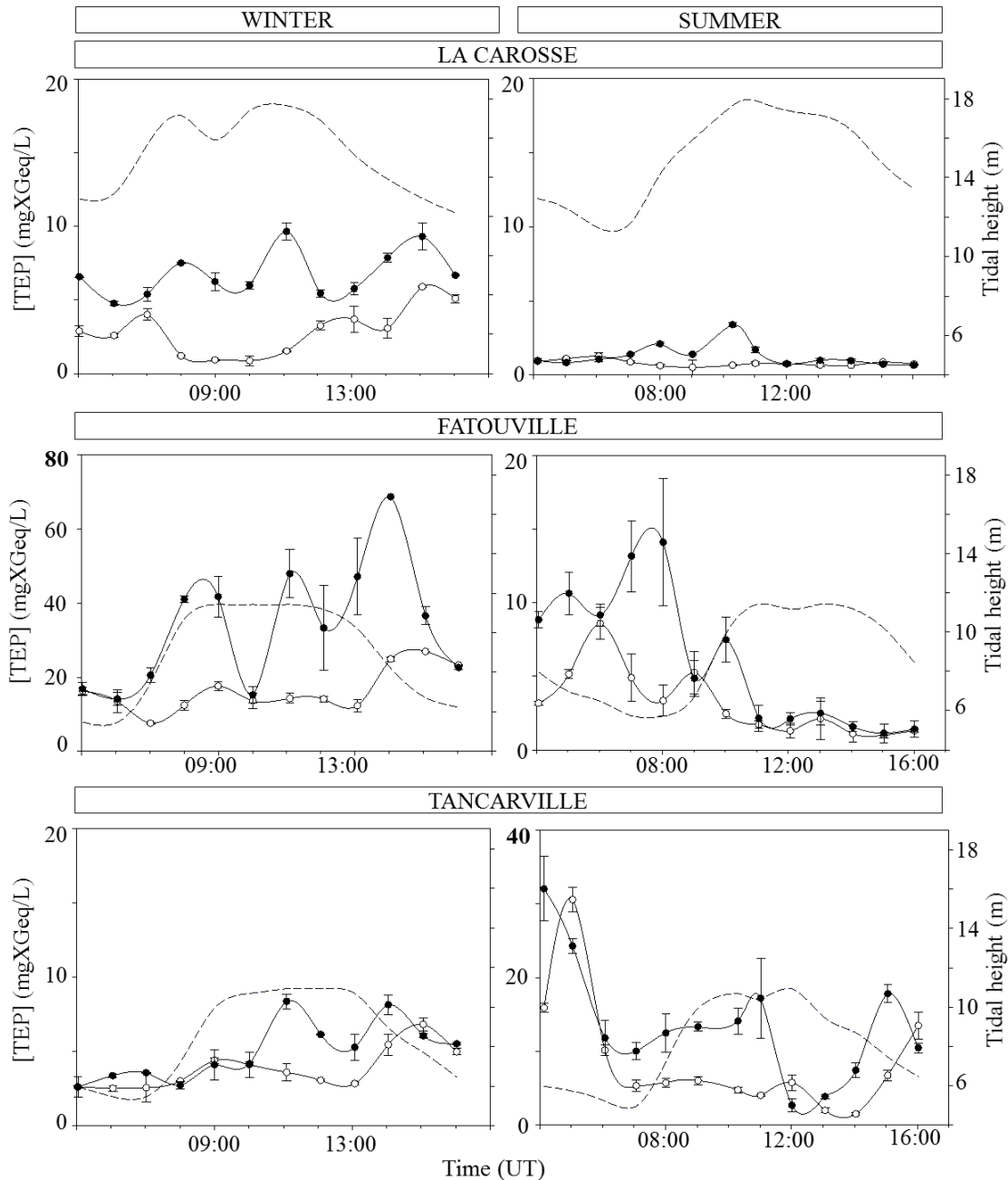


Figure 33. Concentrations of transparent exopolymeric substances ([TEP]; mgXGeq/L; mean $\pm$ standard error) over a tidal cycle at the three sampling sites La Carosse, Fatouville & Tancarville, **in winter** (left panel) **and in summer** (right panel). Values recorded 1 m below the surface are represented by empty circles and values measured 1 m above the WSI by black dots. The dashed lines represent the tidal height (m).

3.4.2 Soluble carbohydrates (S-EPS)

Water column pools

Despite high variability, the S-EPS concentrations ([S-EPS]) were higher close to the WSI than in sub-surface waters and in winter than in summer (Tab. 12). Some peaks were recorded at both depths mainly during the reverse flows (before and after the tide slacks) (Fig. 34). The highest peaks and the highest variability were observed close to the WSI. In winter,

high variability was recorded at Fatouville during the ebb. In summer, at La Carosse, highly variable values were recorded during low tide especially in sub-surface waters whereas inverse patterns were observed at the two sampling depths. At Fatouville, [S-EPS], the same patterns were observed at both depths with decreasing values at slack tides and peaks during the flows. At Tancarville, [S-EPS] were characterized by a marked increase close to the WSI at high tide and high variability during the ebb.

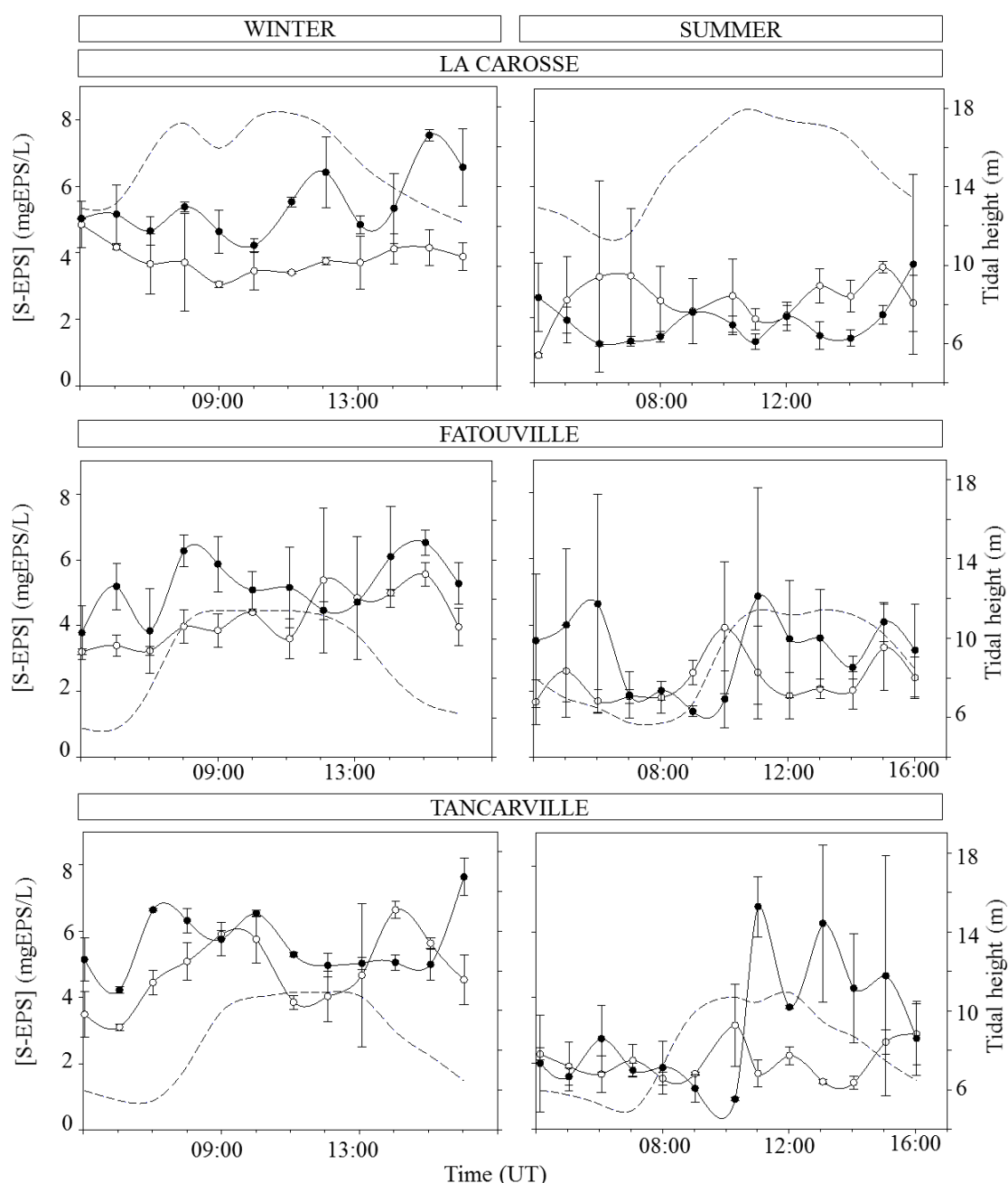


Figure 34. Concentrations of soluble extracellular polymeric substances ([S-EPS]; mgEq/L; mean $\pm$ standard error) over a tidal cycle at the three sampling sites La Carosse, Fatouville & Tancarville, **in winter** (left panel) **and in summer** (right panel). Values recorded 1 m below the surface are represented by empty circles and values measured 1 m above the WSI by black dots. The dashed lines represent the tidal height (m).

EPS:chl *a* ratios presented some peaks at both depths (Fig. S9). In winter at La Carosse, a strong peak was observed close to the WSI at the end of the ebb. In summer, the highest values were recorded close to the WSI during the ebb. In winter at Fatouville, EPS:chl *a* ratios in sub-surface waters increased during the high tide and were variable at the beginning of the ebb, while close to the WSI, some peaks were recorded during the tide slacks and the ebb. In summer, a strong peak was recorded in sub-surface waters during the flow, followed by a marked decrease during the high tide slack. Close to the WSI, a peak was recorded at the end of the ebb. In winter at Tancarville, an increase in the EPS:chl *a* ratio was recorded at the end of the ebb close to the WSI. In summer, values were low at both depths during the low tide and the flow. Two peaks were recorded close to the WSI during the high tide slack and the ebb and one peak was recorded in sub-surface waters at high tide.

Intertidal sediment pools

S-EPS concentrations on the Seine estuary mudflats also displayed high variability among the 15 sites sampled (Tab. 13; Morelle *et al*, in prep). Values ranged between 61.02 and 526.04 mgGeq/m² also varied between seasons with a higher mean value in September (310.81 ± 129.61 mgGeq/m²) than in April (157.06 ± 66.16 mgGeq/m²). In contrast, the EPS:chl *a* ratios were often higher in April (19.74 ± 24.08 mgGeq/mgchl *a*) than in September (9.50 ± 8.93 mgGeq/mgchl *a*).

Table 13. Variations in mass of soluble extracellular polymeric substances per m² (mgEPS/m²) and in EPS:chl *a* ratios (mgEPS/mgchl *a*) at the 15 sites sampled on the Seine estuary mudflats (Morelle *et al*, in prep.). The S-EPS concentrations are expressed in glucose equivalent (mgGeq) and the TEP concentrations in Xanthan gum equivalent (mgXGeq).

Site	Longitude (Wgs84)	Latitude (Wgs84)	September, 2014		April, 2015	
			EPS:chl <i>a</i> (mgGeq/mgchl <i>a</i>)	EPS (mgGeq/m ²)	EPS:chl <i>a</i> (mgGeq/mgchl <i>a</i>)	EPS (mgGeq/m ²)
O	0.2001	49.4267	1.33	87.10	33.52	149.82
C	0.2004	49.4482	33.91	480.45	NA	NA
N	0.1672	49.4162	10.78	377.18	33.78	284.73
E	0.2174	49.4483	1.55	264.12	4.31	91.02
P	0.2003	49.4235	5.83	197.33	92.56	149.01
B	0.2004	49.4506	5.45	409.84	11.62	227.14
F	0.2172	49.4462	6.95	437.90	4.99	129.03
H	0.2668	49.4408	7.19	181.99	36.78	118.06
G	0.267	49.4436	5.09	264.04	6.08	132.67
I	0.2668	49.4412	4.49	171.85	17.16	268.40
A	0.2004	49.4516	5.87	445.43	8.47	170.39
D	0.2174	49.4491	4.32	292.04	3.23	61.02
L	0.2836	49.4401	23.56	526.04	6.05	118.53
M	0.3003	49.4391	8.59	221.22	5.28	99.91
K	0.2836	49.4416	17.58	305.66	12.50	199.08
			9.50 ± 8.93	310.81 ± 129.61	19.74 ± 24.09	157.06 ± 66.16

3.5. Relationships between biological parameters and environmental variables

Principal component analyses (PCA) were performed on the data set to explore the relationships between biological and abiotic parameters (Fig. 35). The 1st and 2nd components explained 65.26% of the total inertia while the 1st and the 3rd dimensions explained 59.40% of total inertia (Tab. 14). The first principal components (PC1; 41% of variance) formed a typical estuarine axis with parameters related to the inflow of marine waters such as salinity (32%) on the left hand side of axis 1, and parameters related to freshwater inputs, such as Si (23%) and DIN (33%) concentrations on the right hand side of axis 1. The second principal component (PC2; 24%) was strongly influenced by factors related to seasonal changes such as PAR (38%) and temperature (48%). The third principal components (PC3; 18%) was related to P concentrations (58) and SPM (21%). The chl *a* concentrations (chl *a*) were positively correlated with temperature (Spearman correlation coefficient (SCC): 0.59; $p < 0.001$; $n=150$) and PAR (SCC: 0.42; $p < 0.001$; $n=150$). In the same way, productivity was positively correlated with temperature (SCC: 0.60; $p < 0.001$; $n=75$) and PAR (SCC: 0.66; $p < 0.001$; $n=75$). Indeed, the high temperatures and high solar irradiance in summer provide the best environmental growth conditions for phytoplankton. The chl *a* was negatively correlated with P concentration (SCC: -0.20; $p < 0.05$; $n=150$) as confirmed by their position in the 1st/3rd dimensions of the PCA (Fig. 6). F_v/F_m was positively correlated with salinity (SCC: 0.22; $p < 0.01$; $n=150$), and negatively correlated with temperature (SCC: -0.27; $p < 0.01$; $n=150$), and SPM (SCC: -0.15; $p=0.06$; $n=150$) concentrations. [TEP] were positively correlated with SPM (SCC: 0.17; $p < 0.05$; $n=150$). The [S-EPS], S-EPS:chl *a* and TEP:chl *a* ratios were negatively correlated with temperature, PAR, chl *a* and productivity (SCCs: < -0.44 ; $p < 0.001$; $n=150$).

Table 14. Eigenvalues, total variance and cumulative variance of the three factors of the principal component analysis.

Factor	I	II	III
Eigenvalues	2.90	1.67	1.26
Total variance (%)	41.44	23.82	17.96
Total variance (cumulative %)	41.44	65.26	83.22

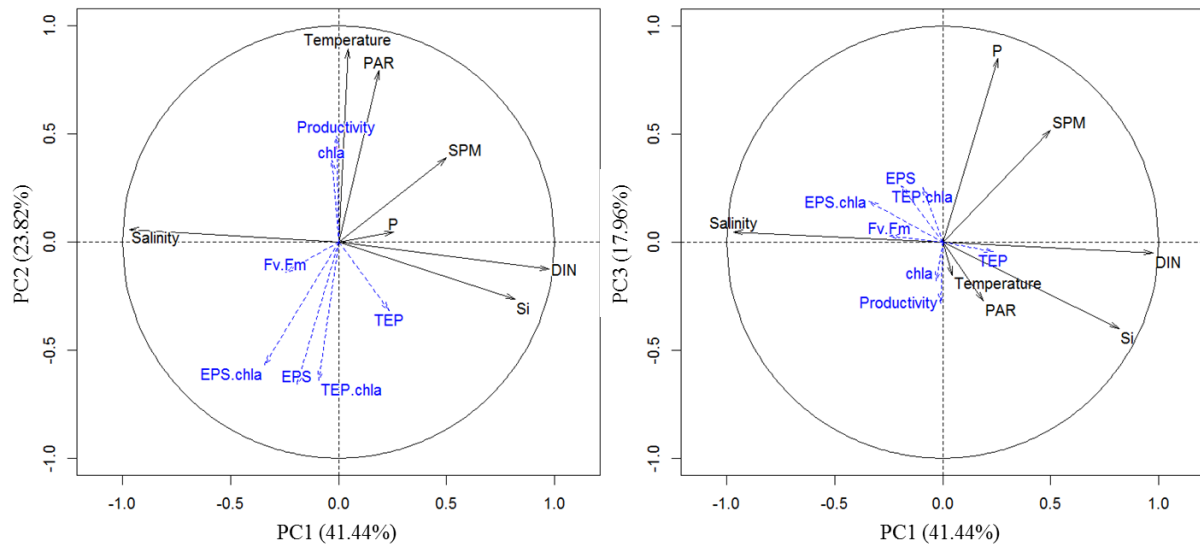


Figure 35. Representation of Principal Component Analysis (PCA) using the abiotic parameters (PAR (J/cm^2); temperature ($^{\circ}\text{C}$), salinity (PSU), SPM (g/L) and nutrients ($\mu\text{mol}/\text{L}$): DIN, P and Si) and as qualitative variables the biological parameters (chl *a* ($\mu\text{g}/\text{L}$), F_v/F_m (rel.unit), Transparent exopolymeric particles (TEP) & exopolymeric substances (EPS) concentrations (mgXGeq/L and mgEPS/L) and TEP & EPS per chl *a* unit ($\text{mgXGeq}/\text{mgchl } a$ and $\text{mgEPS}/\text{mgchl } a$) as quantitative variables. Dimensions 1 & 2 (65.26%) in the left panel and the dimensions 1 & 3 (59.40%) in the right panel.

4. Discussion

4.1. Dynamics of biological parameters in the Seine estuary in relation with environmental parameters

Our study revealed high variability of photosynthetic parameters in the estuary, where small-scale variability (i.e. 5 minutes) can be greater than variability at tidal scale (Fig. 35). Less frequent measurements could thus easily result in over- or underestimation of these parameters, thereby highlighting the complexity of estimating primary productivity in these dynamic ecosystems. Moreover, variability appeared to be higher and more frequent before or after the low or the high tide at which time turbulence and the concentrations of SPM generally reach maximum levels thereby preventing light from penetrating and hence preventing photosynthesis.

Even though variations in nutrient concentrations are known to play a major role in phytoplankton dynamics in many ecosystems, in many estuaries, it has been shown that nutrients do not control phytoplankton growth because they are largely in excess (Kromkamp *et al.* 1995; Cai *et al.* 2004). However, in this study, P concentrations were negatively correlated with phytoplankton biomass and productivity (Fig. 35). This could be the result of the consumption of P by phytoplankton but P concentrations within the estuary ($> 0.62 \mu\text{mol}/\text{L}$ for all the samples) remained higher than those usually observed during the same period in the

Seine Bay (i.e. $\leq 0.04 \mu\text{M}$) where phytoplankton grow easily. Moreover, previous studies have shown that P does not limit phytoplankton growth in the Seine estuary (Némery and Garnier 2007; Passy *et al.* 2016). Phosphate has a strong affinity for sorption and desorption reactions with SPM, which create high fluxes and is an important source of dissolved P in the MTZ (Némery and Garnier 2007). Therefore, this negative relationship may rather be related to a positive relationship between P and SPM that reduces light penetration into the water column, and consequently results in low phytoplankton biomass and productivity. Thus, like in many temperate estuaries, phytoplankton productivity in the Seine estuary is mainly controlled by light availability.

The physiological status of the cells (F_V/F_M) was low within the MTZ during both study periods (Tab. 12). This could be explained by the intense resuspension of dead cells and SPM in this area, which reduced light penetration, especially during the flow and ebb. Additionally, the physiological changes in the phytoplankton caused by the contrast between freshwater outflow and marine water inflow have been shown to cause physiological stress and cell lysis (Lionard *et al.* 2005; Servais and Garnier 2006; Hernando *et al.* 2015). However, despite weak F_V/F_M , phytoplankton productivity levels in the MTZ (Fatouville in winter and Tancarville in summer) were in the same order of magnitude as those measured at the two other sites in the same season (Tab. 12). This result shows that photosynthetic activity of living cells is possible in the MTZ despite the high level of stress. More surprisingly, F_V/F_M values were higher close to the WSI than in sub-surface waters. These results suggest that, despite the high concentrations of SPM close to the WSI and the subsequent reduction in light penetration into the water column, phytoplankton cells were able to survive and even to maintain a high physiological status. The deep water layer corresponds to marine water with a residence time ranging from 5 to 18 days (Brenon and Hir 1999; Even *et al.* 2007). This observation suggests that these photosynthetic cells are able to rapidly return to a high productive status as soon as they access light. This result further implies that organic matter in the bottom layer of the Seine Estuary is probably not only composed of detrital matter but also of living phytoplankton cells. This observation may have major implications for trophic transfer between pelagic and benthic organisms in this part of the estuary.

In winter, at spatial scale, phytoplankton biomass and productivity were higher in the oligohaline zone (Tancarville) than in the euhaline zone (La Carosse) (Tab. 12). The winter season involves an increase in freshwater discharge and can increase phytoplankton growth, as already observed in the Godavari estuary (Sarma *et al.* 2009) and in the Chesapeake estuary (Adolf *et al.* 2006). The higher productivity observed at Fatouville (MTZ) at low tide rather

than at high tide (Fig. 32) suggests higher primary productivity in fresh waters than in saline waters during this period. Different community composition in these distinct water masses could explain this result. Indeed, in winter, high primary production in freshwater has been reported in other estuarine systems (Servais and Garnier 2006; Lehman 2007) where it was attributed to specific freshwater phytoplankton communities (Malpezzi *et al.* 2013). The presence of cyanobacteria in the outer part of estuary could also explain the low level of primary productivity measured in the oligohaline zone of the estuary in winter: cyanobacteria display lower productivity than eukaryotic phytoplankton (Masojidek *et al.* 2001; Macintyre *et al.* 2002). PAM measurements may have underestimated cyanobacteria productivity, as the blue light used in the present study is weakly absorbed by the prokaryotic fraction of the phytoplankton (Glover *et al.* 1985; Suggett *et al.* 2004). In addition, the F_V/F_M is known to be poorly estimated in cyanobacteria because of the state transition processes (Campbell *et al.* 1998).

In summer, the low discharge enables upstream migration of marine and estuarine species (Josselyn and West 1985), which could explain the high phytoplankton biomass observed close to the WSI at Fatouville and Tancarville (Tab. 12). The high phytoplankton growth rate observed in the Seine river plume led to an increase in productivity at La Carosse at the beginning of the flow (Fig. 32). During the ebb, a decrease in productivity was observed, possibly the consequence of the increase in SPM and the subsequent reduction in light penetration, or potential damage to phytoplankton cells caused by the mechanical stress associated with strong hydrodynamics, as previously shown in other estuarine systems (Cloern *et al.* 1985; Servais and Garnier 2006). The highest primary productivity in summer was observed at Fatouville in the mesohaline zone (Tab. 12). At this site, primary productivity increased with the flow and decreased with the ebb (Fig. 32). This result suggests that phytoplankton growth occurred in the polyhaline zone between La Carosse and Fatouville where the concentrations of nutrients were still high and light still available, but not in the other zones.

4.2. Dynamics of EPS in the Seine estuary in relation with environmental parameters

It has already been shown that in very dynamic zones like estuaries, the distribution of TEP may be mainly controlled by environmental processes (Malpezzi *et al.* 2013). In the literature, TEP production has been frequently associated with nutrient stress (Corzo *et al.* 2000; Passow 2002). However, the estuarine systems are not nutrient limited, but high values of [TEP] were recorded (Tab. 12). This result confirms that TEP production can be high in nutrient replete

conditions as already reported (Claquin *et al.* 2008; Pedrotti *et al.* 2010). Thus in the present study, it is possible that the [TEP] dynamics were not associated with nutrient limitation as often cited in the literature but with other processes such as temperature (Claquin *et al.* 2008) or turbulence intensity (Pedrotti *et al.* 2010).

The [TEP] measured in the Seine estuary during this survey (0.52 - 68.7 mgXGeq/L; Tab. 12) was higher than those reported in the literature, which never exceeded 11 mgXGeq/L (Passow 2002), 2.82 mgXGeq/L (Malpezzi *et al.* 2013), 14.8 mgXGeq/L (Radić *et al.* 2005) or 1.54 mgXGeq/L (Annane *et al.* 2015). Villacorte *et al.* (2015) investigated the difference in measurements in TEP ($> 0.4 \mu\text{m}$) and TEP with TEP_{precursors} ($< 0.4 \mu\text{m}$) and showed that [TEP] could represent about 11% of [TEP+TEP_{precursors}]. The high SPM concentrations (up to 2 g/L; Tab. 12) in some samples could have allowed the retention of the TEP_{precursors} on the filters thereby partly explaining the very high values observed along the Seine estuary.

However, the positive relationship observed between [TEP] and SPM is in agreement with the widely described role of TEP and EPS in particle aggregation and sedimentation processes (Passow 2002; Thornton 2002). In estuaries, very high TEP concentrations have also been measured in association with SPM in the MTZ and shown to account for a significant proportion of the POC in MTZ (Malpezzi *et al.* 2013; Annane *et al.* 2015). Indeed, because of their sticky properties (Engel 2000; Passow 2002), TEP, associated with a strong salinity gradient and turbulence, promote the aggregation and sedimentation of organic and mineral particles especially within the MTZ and hence influence the dynamics of POM and SPM in the estuary. These processes could explain the distribution of TEP at spatial scale with high concentrations recorded in the MTZ (Tab. 12). In addition, the mixing of freshwater and seawater affects the concentration of some ions and cations responsible for salinity, which could play a major role in the crosslinking of polysaccharides to form gel-like particles such as TEP (Bar-Zeev *et al.* 2015). This form of TEP formation could reinforce the high [TEP] recorded in the estuary and explain part of the positive relationship with SPM associated with a negative relationship with salinity (Fig. 35). Indeed, due to stratification, the mixing of fresh and salt water is particularly intense in the low salinity zone that promotes TEP at MTZ level.

At the daily scale, the high concentrations of TEP in the Seine estuary were mainly linked to tidal flows and mainly recorded within the Seine river plume or the MTZ (Fig. 33), which are both subject to high levels of turbulence leading to resuspension of exopolysaccharide-rich particles from the sediment. At the seasonal scale, the highest concentrations of TEP were recorded during the winter period throughout the salinity gradient (Tab. 12). This seasonal dynamics could be related to higher hydrodynamics in winter, triggered by the combination of

strong currents along the estuary during this high flow period and the frequent stormy and windy conditions in this season. These strong hydrodynamics cause higher levels of sediment resuspension from the WSI in winter than in summer.

The S-EPS distribution in the Seine estuary could also be linked to environmental processes. At daily scale, no clear pattern emerged from the S-EPS concentration due to the high variability of the values measured (Fig. 34). However, some peaks were observable both in sub-surface waters and close to the WSI especially at the beginning or end of the flows. This observation suggests that the distribution of S-EPS could also be related to resuspension especially before or after tide slacks. At the seasonal scale, the S-EPS were also higher in winter and highest close to the WSI (Tab. 12) thus possibly reinforcing the influence of environmental parameters on S-EPS distribution in the Seine estuary. However, at spatial scale, the concentrations of S-EPS were not linked to the MTZ, like the TEP concentrations, and no relationship was observed with the SPM concentration. This observation suggests that the adsorption characteristics of those S-EPS were lower than TEP. In comparison with TEP, S-EPS easily dissolves in water so their adsorption in the water column could be limited and their concentration more closely linked to biological parameters (De Brouwer *et al.* 2002). Despite the fact that environmental processes play an important role in distributions of both TEP and S-EPS in the Seine estuary, these processes are mainly produced by biological organisms and the concentrations of those polysaccharides in relation to biological parameters remain to be investigated.

4.3. Dynamics of EPS in the Seine estuary in relation with biological parameters

The TEP is mainly produced by phytoplankton and significant correlations between TEP concentrations and phytoplankton dynamics have already been described (Hong 1997; Beauvais *et al.* 2003; Radić *et al.* 2005; Wurl and Holmes 2008; Klein *et al.* 2011). Nevertheless, some studies found no direct correlation between the TEP fraction and chl *a* (Garcia 2002; Corzo *et al.* 2005). In the present study, a negative correlation was found between TEP and chl *a* (Fig. 35). Our results are comparable with those of Chowdhury *et al.* (2016) and Klein *et al.* (2011), who reported low concentrations of TEP during maximum abundance of phytoplankton and higher concentrations during phytoplankton senescence which, in estuaries, is especially important in the MTZ. Moreover, our TEP:chl *a* ratios were inversely correlated with chl *a* and productivity. This observation suggests that the stress generated in the estuary leads to high levels of TEP excretion by the phytoplankton. This hypothesis is supported by the negative correlation between [TEP] and F_v/F_m . However, the TEP:chl *a* ratios observed in this

study (Tab. 12) are also high in comparison with those previously reported in the literature (Passow 2002; Klein *et al.* 2011). Therefore, the [TEP] may not be only linked to phytoplankton production. However, the TEP:chl *a* ratios observed in this study (Tab. 12) are also high in comparison with those previously reported in the literature (Passow 2002; Klein *et al.* 2011). Therefore, the [TEP] may not be only linked to phytoplankton production. In strong hydrodynamic conditions, the high [TEP] in the MTZ may also be attributed to the microbial loop activity. Indeed, it has been shown that the POM from the MTZ is biodegraded by highly active heterotrophic bacteria that can also release TEP into the water column (Azam *et al.* 1983; Middelburg and Herman 2007; Malpezzi *et al.* 2013). Moreover, significant quantities of TEP could be derived from allochthonous inputs of organic matter that include high concentrations of detrital material and heterotrophic bacteria (Heip *et al.* 1995).

S-EPS produced by phytoplankton are known to protect cells against digestive enzymes, toxic substances (Wotton 2004), and osmotic stress (Liu and Buskey 2000), which is a major constraint in estuaries. Additionally, S-EPS can be produced by phytoplankton in aiding in flotation process through their threads and by reducing density (Wotton 2004). These potential roles of S-EPS could explain the high concentrations observed in this study (Tab. 12) especially during flows (Fig. 34). In addition to chl *I* dynamics, changes in carbon excretion and photosynthetic parameters can may also be due to different phytoplankton assemblages combined with water mass dynamics (Klein *et al.* 2011). However, no relationship was found with the F_v/F_m , and S-EPS concentrations were negatively correlated with chl *a* concentrations and productivity, which confirm results of previous studies (Passow 2002; Klein *et al.* 2011) showing that, in contrast to TEP, a large proportion of the S-EPS pools were not related to phytoplankton dynamics.

4.4. Potential contribution of allochthonous primary producers to the S-EPS pool

Both groups of phototrophic microorganisms (phytoplankton and microphytobenthos) excrete S-EPS for different reasons and in different ways. Due to the key roles played by EPS in epipellic diatom dynamics in mobility and substratum adhesion, the S-EPS dynamics in ecosystems have often been linked with microphytobenthos cells. However, in the Seine estuary the surface of mudflat during low tide represents only 7.21% of the estuarine surface and no subtidal microphytobenthos community exists because of the high level of turbidity and the depth (up to 18 m). Additionally, the mudflat is a plane system and microphytobenthos are especially active during emersion during the daylight period whereas the pelagic system is

volumetric: in the Seine estuary for a mudflat surface of $7.6 \times 10^6 \text{ m}^2$, the water volume is $930 \times 10^6 \text{ m}^3$ (on average between low and high tides).

We estimated potential S-EPS production by the microphytobenthic compartment using the data we sampled in the intertidal zones (Morelle *et al.*, in prep) and a microphytobenthic EPS production coefficient estimated at $1.8 \text{ mgGeq/mgchl a/h}$ (Wolfstein *et al.* 2002). Assuming a tidal emersion during daylight of 6 hours per day and a maximum residence time of 18 days in the Seine estuary (Brenon and Hir 1999; Even *et al.* 2007), the S-EPS pool originating from microphytobenthos represents $0.055 \pm 0.054 \text{ mgGeq/L}$ in the water column. The percentage of S-EPS originating from microphytobenthos production could represent an average of 1.61% of the mean S-EPS pool measured during this survey. In the same way, we estimated potential phytoplankton S-EPS production using a production coefficient 40% lower than microphytobenthos production (Goto *et al.* 1999), i.e. $1.08 \text{ mgGeq/mgchl a/h}$. The S-EPS pool originating from phytoplankton represent $1.15 \pm 1.54 \text{ mgGeq/L}$ in the water column. On average, the percentage of EPS originating from phytoplankton production could represent 33.62% of the mean S-EPS pool measured during this survey. However, we used a maximum residence time of 18 days whereas in reality, the residence time ranged between 5 and 18 days. If we used the minimum residence time of 5 days, the percentage would be 9.34% for the phytoplankton and 0.44% for the microphytobenthos. In addition, if we consider that, in exceptional conditions, all the S-EPS pool present on mudflats could be re-suspended in the water column each day, considering 5 to 18 days residence time, the percentage of S-EPS from microphytobenthos production could represent from 1.70 to 6.14% of the mean S-EPS pool measured in the water column. Thus, we suggest that part of [S-EPS] in the Seine estuary is not directly linked to primary producers. In addition to hydrodynamic processes of remobilization from sediments and upstream inputs, other organisms such as zoo-plankton, zoo-benthos, and especially bacteria could contribute significantly to the S-EPS pool. Further studies are therefore needed to understand the origin of the S-EPS in highly hydrodynamic estuaries.

5. Conclusion

High frequency analysis of the photosynthetic parameters of phytoplankton revealed the presence of living cells with good physiological status in the bottom water layers pointing to a role for this fraction in the autochthonous production of this estuary. This finding has major implications for trophic transfer between pelagic and benthic organisms, which plays a key role in the nursery and feeding function of these ecosystems.

We also showed that EPS are not only linked to primary production processes but rather to stress levels (salinity, turbidity, temperature or hydrodynamics), demonstrating that healthy phytoplankton produce less EPS than stressed or senescent cells. EPS distributions especially TEP are thus mainly linked to hydrodynamic processes such as MTZ formation or sediment resuspension. Our estimation of the relative contribution of primary producers (phytoplankton and microphytobenthos) to S-EPS production show that the mudflats contribute less than 6% to the S-EPS pool in the water column, while phytoplankton produce up to 33%. The origin of a large proportion of the S-EPS in the water column thus remains unknown and further investigation is needed into potential secondary production of S-EPS by zoobenthos, zooplankton and heterotrophic microbial communities.

Acknowledgments

The authors wish to thank Romaric Verney and Matthias Jacquet from IFREMER/Brest for inviting us to their campaigns of the “SUSPENS” project, their CTD casts and the realization of the SPM measurements. We thank Emilie Rabiller and Olivier Pierre-Duplessix (Ifremer LER/N) for nutrient analyses on board. We also thank the crew of the CNRS/INSU oceanographic ship “*Côtes de la Manche*” for welcoming us on board and for their help with sampling. Matthieu Filoche is also acknowledged for his help during sampling. This work was supported by the GIP Seine-Aval project “PROUESSE”.

Supplementary material

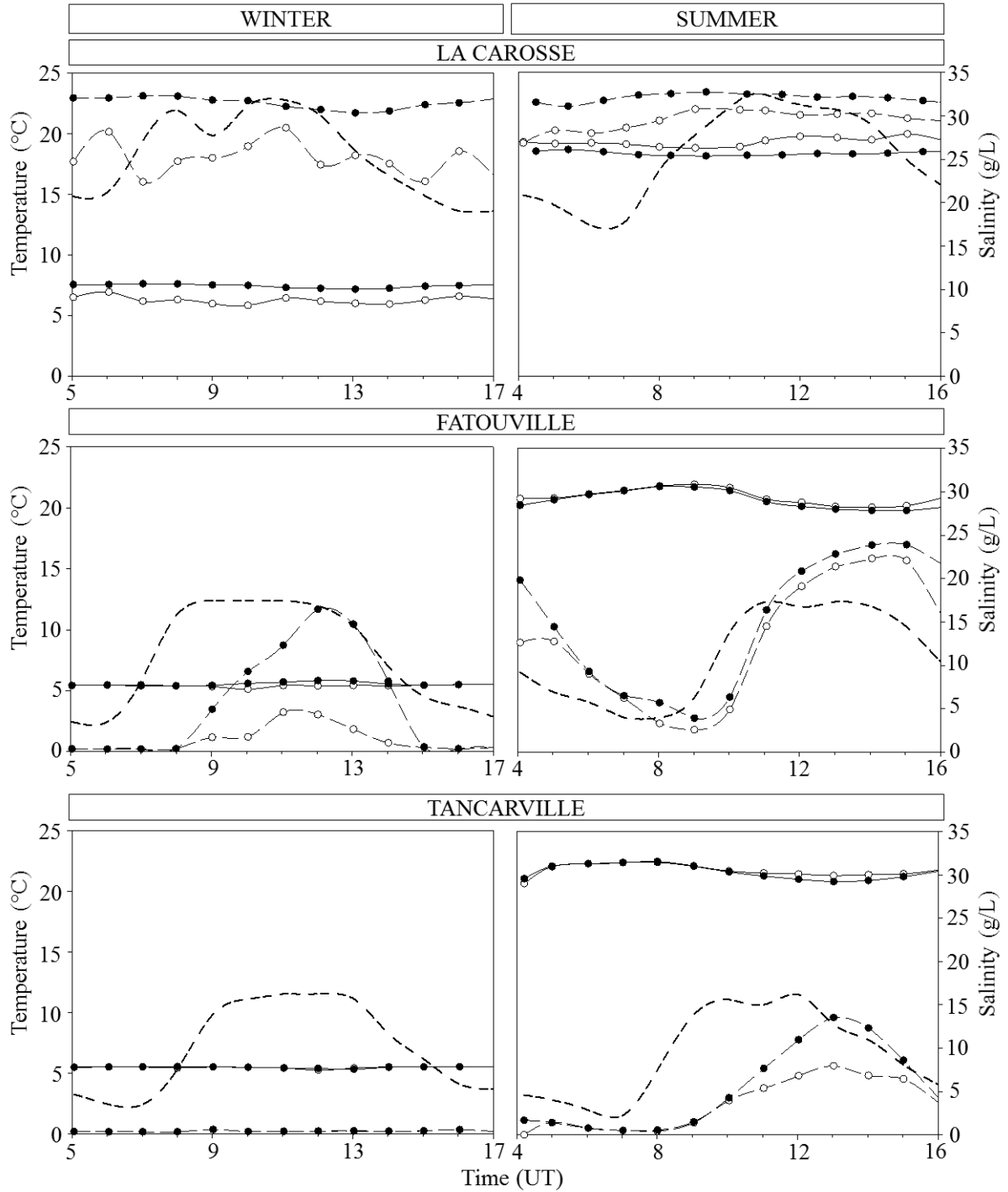


Figure S 5. Temperature (°C; triangles) and salinity (circles) over a tidal cycle at the three sampling sites “La Carosse”, “Fatouville” & “Tancarville”, in winter (left panel) and in summer (right panel). Sub-surface (1 m) values are represented by empty symbols and values measured close to the bottom (1 m above the WSI) by black symbols. Dotted lines represent the tidal height (1 m above the WSI) in the legend it should be Time (UT)

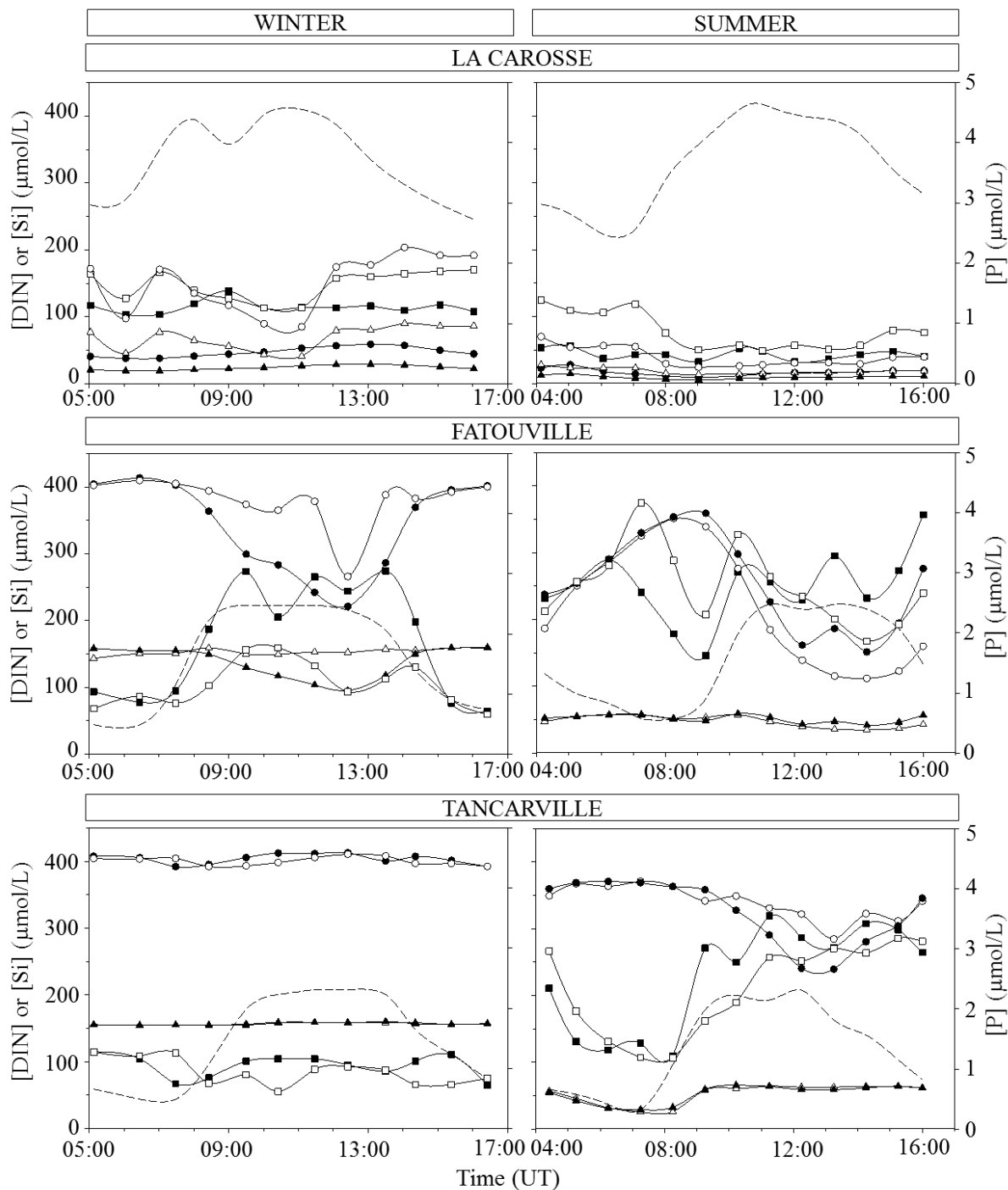


Figure S 6. Nutrient dynamics (µmol/L) with the dissolved inorganic nitrogen (DIN=NO₃⁻+NO₂⁻+NH₄⁺; circles), phosphate (PO₄³⁻; squares) and silicate (Si(OH)₄; triangles) measured over a tidal cycle at the three sampling sites (“La Carosse”, “Fatouville” and “Tancarville”), in winter (left panel) and in summer (right panel). Sub-surface values (1 m below the surface) are represented by open symbols and values measured close to the bottom (1 m above the WSI) by black symbols. Dotted lines represent the tidal height (i.e. 1 m above the WSI).

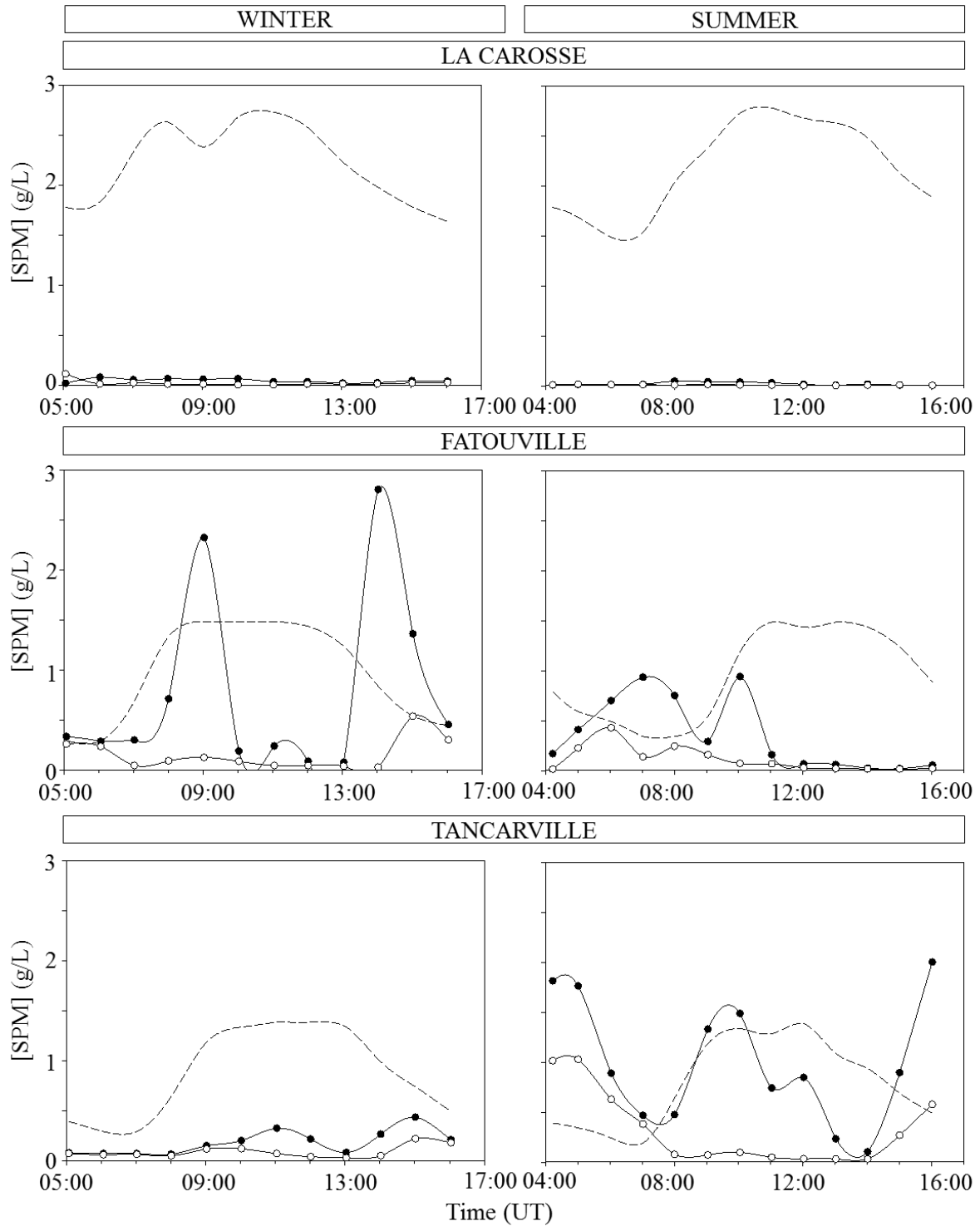


Figure S 7. Suspended Particle Matter (SPM: g/L) measured over a tidal cycle at the three sampling sites (La Carosse, Fatouville and Tancarville), in winter (left panel) and in summer (right panel). Values recorded 1 m below the surface are represented by empty symbols and values measured close to the bottom (1 m above the water sediment interface) by black symbols. The dashed lines represent the tidal height (m).

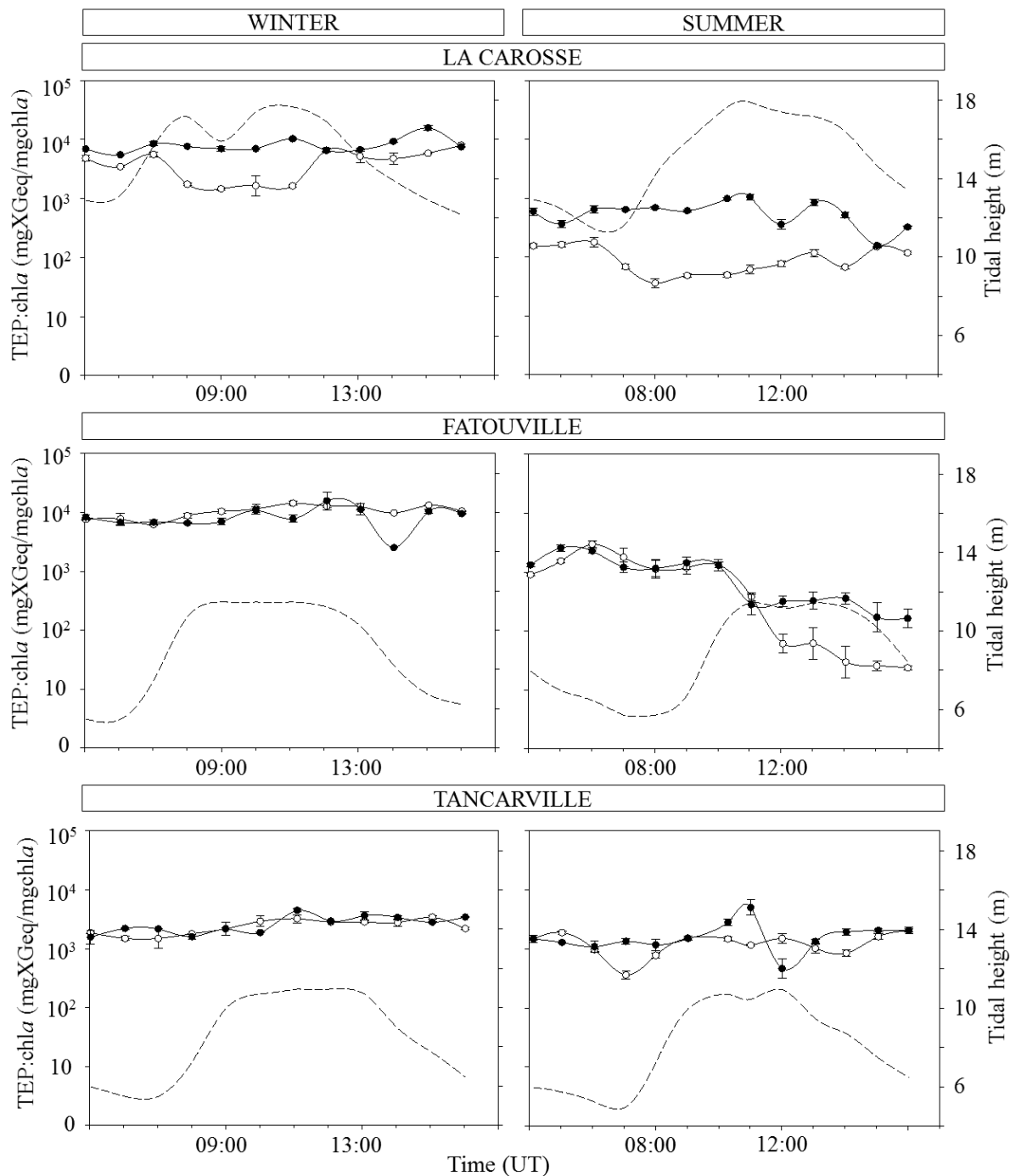


Figure S 8. TEP:chl *a* ratios (mgXGeq/mg chl *a*; mean $\pm$ standard error) over a tidal cycle at the three sampling sites shown in logarithmic scale (log₁₀) La Carosse, Fatouville & Tancarville, in winter (left panel) and in summer (right panel). Values recorded 1 m below the surface are represented by empty symbols and values measured 1 m above the WSI by black symbols. The dashed lines represent the tidal height (m).

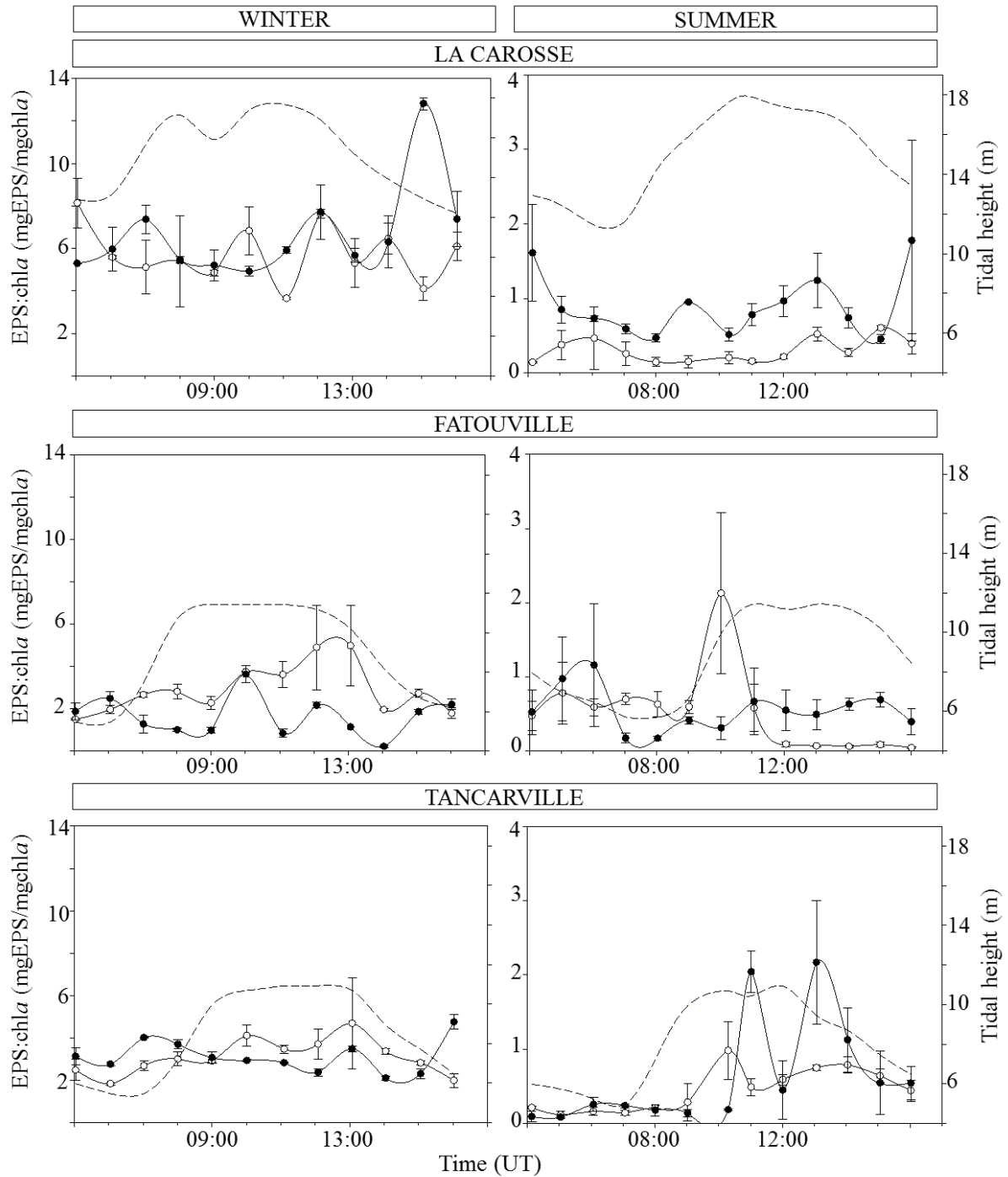


Figure S 9. Variations in S-EPS:chl *a* ratios (mgGeq/mg chl *a*; mean $\pm$ standard error) over a tidal cycle at the three sampling sites La Carosse, Fatouville & Tancarville, in winter (left panel) and in summer (right panel). Values recorded 1 m below the surface are represented by empty symbols and values measured 1 m above the WSI by black symbols. The dashed lines represent tidal height measured 1 m above the WSI.

Dynamics of TEP and EPS pools and phytoplankton community structure along the salinity gradient of a temperate estuary (Seine, France)

This article has been submitted to “*Estuarine Coastal and Shelf Science*”

Jérôme Morelle, Mathilde Schapira, Sylvaine Françoise, Gaëlle Courtay & Pascal Claquin

Abstract

In parallel to phytoplankton community dynamics, transparent exopolymeric particles (TEP) and exopolymeric substances (EPS) were investigated along the salinity gradient of a temperate estuary (Seine estuary, Normandy, France) over the course of a year. The phytoplankton community was mainly dominated by marine diatom species (especially *Skeletonema* sp., *Nitzschia* sp., and *Paralia sulcata*) associated with a spring bloom of pico-eukaryotes and the development of *Cryptophyceae* in summer. The decreases in species richness and salinity were correlated along the estuary and a significant exponential relationship between species richness and primary production was identified. Concentrations of TEP and EPS (soluble and bound) are highly dynamic in this estuary and can reach respectively 69 mgC.L⁻¹, and 33 mgC.L⁻¹. TEP distribution was mainly related to physical factors (hydrodynamics, MTZ formation and sediment resuspension) probably produced by stressed or dying phytoplankton, while EPS appeared to be excreted during the phytoplankton spring bloom. Soluble and bound EPS appear to be related to *Skeletonema* sp. and *Cryptophyceae* occurrences. This paper presents the dynamic pattern of these carbon pools, which play an important role in the trophic network and influence the flocculation processes involved in the fate of both organic and inorganic matter.

1. Introduction

Estuaries are transitional zones between two aquatic biomes: a freshwater biome in a river and a marine biome along a coast or in a bay. Transitional zones between two biomes are often characterized by pronounced changes in community composition and diversity, and, as such, can be defined as ecotones or ecoclines (Van Der Maarel 1990). An ecotone is defined as a dynamic zone where rapid environmental changes occur and is characterized by unique communities that differ from the communities inhabiting the two adjacent biomes. In contrast, an ecocline is defined as a zone with gradual changes in environmental conditions and where a continuum of assemblages is observed along the gradients. While estuaries have traditionally been defined as ecotones, since the beginning of the 21st century several studies have defined them as ecoclines (Attrill and Rundle 2002; Cortelezzi *et al.* 2007; Muylaert *et al.* 2009). The strong gradients occurring in estuaries (mainly in salinity, turbidity and nutrients) are selective forces of species and drive temporal and spatial successions of phytoplankton. These factors are known to influence both phytoplankton biomass and community structure (Trigueros and Orive 2000; Lionard *et al.* 2008; Muylaert *et al.* 2009; Vigil *et al.* 2009). These types of changes could have a strong impact on the marine system and on the stoichiometry, carbon storage and biogeochemistry (Marinov *et al.* 2010).

The carbon pool in estuaries mainly originates from phytoplanktonic and microphytobenthic primary production (Cloern *et al.* 2014) and is available in the form of cellular biomass and exopolymeric substances (EPS). Excretion of EPS by phytoplankton (Decho 1990; Alldredge *et al.* 1993; Passow and Alldredge 1994) creates a great carbon reserve and is an important component of the carbon budget. These fibrillary polymers may coagulate to form larger particles, called transparent exopolymeric substances (TEP). The abiotic formation of TEP from colloidal precursors depends on environmental conditions such as turbulence, ion density, and the concentration of inorganic colloids, as well as on the types and concentrations of the precursors present (Passow 2002). Some of these substances are degraded by microbial and bacterial respiration, resulting in the release of carbon in the form of CO₂ (Passow 2002). The other part migrates to deep layers as aggregates and, if not re-suspended, is involved in carbon sequestration (Legendre and Rivkin 2002). Annane *et al.* (2015) suggest that the carbon available from phytoplankton biomass and TEP are major contributors to the carbon pool in the Lower St Laurent estuary. EPS thus play a major role in aggregation processes, particle sedimentation and carbon fluxes in aquatic ecosystems (e.g. Passow *et al.* 2001; Bhaskar & Bhosle 2005). The production of EPS enables the creation of

microenvironments in which cells are protected from rapidly changing environmental conditions, toxins, grazing, and even digestion (Decho 2000). In estuarine systems, EPS have been shown to account for a large proportion of the colloidal organic carbon pool in the water column (Annane *et al.* 2015) and high concentrations of TEP have been found in the maximum turbidity zone (MTZ) of estuaries where suspended particle matter (SPM) accumulates (Malpezzi *et al.* 2013). However, although estuaries may present very high concentration of TEP, it is regularly reported that no direct correlation can be found with the phytoplankton dynamics such as the concentration of chlorophyll *a* (chl *a*) or primary productivity (Garcia 2002; Corzo *et al.* 2005; Klein *et al.* 2011; Chowdhury *et al.* 2016).

As in addition to primary production, estuaries are important ecosystems in terms of carbon sequestration and export (Cai 2011), a greater knowledge of EPS dynamics is an absolute prerequisite for a better understanding of carbon fluxes in these transitional zones. However, most research on EPS in estuaries to date has focused on their production by microphytobenthic communities and only a few authors have studied EPS and TEP dynamics in the estuarine water column (Wetz *et al.* 2009; Annane *et al.* 2015). As the different phytoplankton groups and species do not have the same rates of polysaccharide production, chl *a* concentration, sinking rate or photosynthetic efficiency, spatial and temporal variations in phytoplankton size and community structure could explain the previously described absence of correlation between EPS and phytoplankton dynamics (Garcia 2002; Corzo *et al.* 2005; Klein *et al.* 2011; Chowdhury *et al.* 2016). It is thus important to consider the influence of the succession of different phytoplankton communities in relation with the TEP and EPS distribution in estuaries.

In this context, the aim of this study was to investigate the seasonal dynamics of exopolysaccharides (EPS and TEP), phytoplankton community structure and size class distribution in a temperate estuary (Seine, Normandy, France) in order to study, in addition to physical and chemical variability, how spatial and temporal changes in phytoplankton communities could trigger EPS and TEP dynamics along the salinity gradient.

2. Methods

2.1. Study site

The Seine River and its estuary drains a watershed covering 76,260 km². After Paris, the river flows northwest and drains into the English Channel (Fig. 36). Located 202 km from Paris (the kilometeric scale of the Seine River is set at 0 km in the center of Paris), the weir at

Poses (Fig. 36) represents the upper limit of the tidal propagation in the Seine estuary. The annual average river discharge at Poses is $436 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ with a flood period extending from December to April when the discharge reaches $1\,200\text{--}2\,500 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ and a low-flow period with a discharge around $250 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (Data GIP Seine-Aval, 2008; 2011). In the oligohaline part, salinity ranges from 0.5 to 5; in the mesohaline part salinity ranges from 5 to 18; in the polyhaline part from 18 to 30; and in the euhaline part, salinity is above 30. The Seine estuary is a macrotidal estuary, with a tidal amplitude ranging from 3-7 m at Honfleur and 1-2 m at Poses (Fig. 36). The mean residence time in the estuary varies between 17-18 days for a discharge of $200 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ at Poses and between 5-7 days for a discharge of $1\,000 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (Brenon and Hir 1999; Even *et al.* 2007). The tide in the Seine estuary is characterized by flattening at high tide lasting more than 2 hours due to the deformation of the tidal wave during the propagation at shallow depths (Brenon and Hir 1999; Wang *et al.* 2002). The flow is asymmetric in favor of the flood and this trend increases as the tide propagates up the estuary. Seasonally, water temperature ranges between 25°C in summer and 7°C in winter with differences of less than 1°C along the longitudinal profile and a weak vertical gradient (Data GIP Seine-Aval, 2008; 2011). The turbidity maximum zone (TMZ), containing up to 2 g L^{-1} of SPM, is most often located between Honfleur and Tancarville, but can move upstream depending on the intensity of the tide and on river discharge. During winter flood events, the TMZ can be flushed out into the Seine Bay (Etcheber *et al.* 2007; Garnier *et al.* 2010).

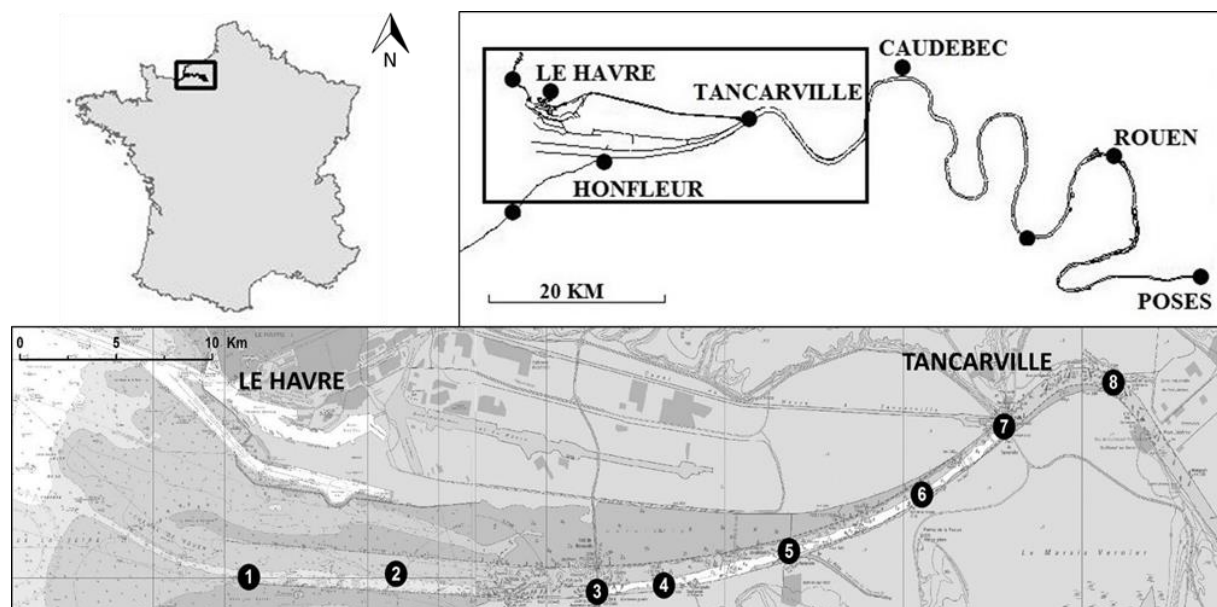


Figure 36. Map of the Seine estuary (Longitude: 0.2327, latitude: 49.4326 (WGS84) - Normandy, France) showing the study area. Poses is the upper limit of tidal propagation. The sampling transect from site 1 to site 8 followed the salinity gradient from the euhaline zone (Site 1- L: 0.1116, l: 49.4335) to the oligohaline zone (site 8 - L: 0.5149, l: 49.4841). The sites were sampled monthly throughout 2015.

2.2. Sampling strategy

Sampling was conducted monthly from January to December 2015 onboard the Ifremer ship “Delphy” at eight sampling sites distributed along the salinity gradient (Fig 36) from the euhaline zone (site 1) to the oligohaline zone (site 8). In order to sample a steady waterbody along the estuary, sampling was performed every month in spring tide conditions (tidal coefficient 90) during daylight and during flattening of the high tide, which, in these conditions, lasts up to three hours. At each sampling site, water was sampled with a pump from the sub-surface (i.e. at a depth of 1 m) and with a Niskin bottle at the water-sediment interface (WSI) (i.e. 1 m above) for analysis of the physical-chemical (SPM, nutrients) and biological parameters (chl *a*, exopolysaccharides and community structure). Vertical salinity profiles (measured using the practical salinity unit; PSU), turbidity (measured using the nephelometric turbidity unit; NTU) and temperature (°C) were recorded at each site with a SBE 19-plusVD CTD (Seabird) from the sub-surface down to 1 m above the water-sediment interface (WSI). The physical-chemical parameters are described and interpreted in a previous paper (Morelle *et al.* submitted).

2.3. Phytoplankton biomass

Phytoplankton biomass was assessed based on chlorophyll *a* (chl *a*) concentrations. Samples (30-500 ml) were filtered in triplicate through glass-fiber filters (Whatman, GF/F, 0.7 µm) to determine the total chl *a* concentration and through polycarbonate filters (Millipore, 10 µm) to determine the phytoplankton biomass of the >10 µm size fraction. The phytoplankton biomass of the <10 µm size fraction was calculated as the difference between the total and >10 µm chl *a* concentrations. Filters were immediately frozen (-20 °C) until analysis. In the laboratory, pigments were extracted in 10 mL of 90% (v/v) acetone at 4 °C for 12 h in the dark. After centrifugation at 2000 g at 4 °C for 10 minutes the concentration of chl *a* with acidification (HCl 0.1 M) was measured on extracts following the fluorometric method of Lorenzen (1966) using a Turner Trilogy fluorometer (Turner Designs, Sunnyvale, California, USA).

2.4. Phytoplankton identification and enumeration

2.4.1. Micro-phytoplankton

At sites 1, 3, 5, and 7: 250 ml of sub-surface water were sampled, preserved in Lugol iodine solution (2% f.c.) and stored at 4 °C in the dark until identification and enumeration of micro-phytoplankton species according to the Utermöhl method (Lund *et al.* 1958). Briefly, 10

ml of sample were left to settle in counting cells for 24 hours. Identification and quantification were then carried out under an inverted microscope with contrast phase optics. Identification was done to the lowest possible taxonomic level.

2.4.2. Pico- and nano-phytoplankton

Water samples (1 ml) were collected in triplicate, fixed with 0.25% (f.c.) of glutaraldehyde, maintained at 4 °C for 15 minutes in the dark before being deep-frozen in liquid nitrogen (Vaulot *et al.* 1989; Olson *et al.* 1993). Back in the laboratory, samples were stored at -80 °C for less than 6 months before analysis by flow cytometry (FCM). Analyses were carried out on a Gallios flow cytometer (Beckman Coulter®) at the FCM facilities of the *structure fédérative* ICORE 146. After being quick thawed, pico- and nano-phytoplankton cells were distinguished and enumerated by FCM according to their specific auto-fluorescence and light scatter properties (Marie *et al.* 1999; Pan *et al.* 2005). The forward-angle light scatter (FSC), right-angle light scatter (SSC), and both red (FL4; $\lambda = 695$ nm) and orange (FL3; $\lambda = 620$ nm) fluorescence of each sample were recorded. Fluorescent beads (diameter 1 μ m) (Molecular Probes, Eugene, Oregon) were added as internal standard to all samples. The concentrations of beads were estimated after each FCM session under epifluorescence microscopy to ensure reliability of this concentration, and all FCM parameters were normalized to it and to fluorescence. *Synechococcus* sp., autotrophic pico-eukaryotic cells and *Cryptophyceae* were distinguished by side-angle light scatter (SSC) versus orange fluorescence (from phycoerythrin) and red fluorescence (from chlorophyll), according to standard protocols (Marie *et al.* 1999; Pan *et al.* 2005). The pico- and nano-phytoplankton was identified and abundance was measured at the different sites from January to September 2015. Due to conservation problems, samples collected from October to December could not be rigorously exploited. The different subpopulations were distinguished based on their fluorescence and size. To our knowledge, these are the first observations of pico- and nano-phytoplankton cells in the Seine estuary.

2.5.Exopolysaccharide analysis

2.5.1. Exopolysaccharides (EPS)

Carbohydrate contents were measured following Dubois's method (Dubois *et al.* 1956; Orvain *et al.* 2014), with glucose as the standard. Briefly, 10 to 50 ml of each sample were filtered onto Whatman GF/F glass fiber filters. The filtrates were considered as colloidal EPS (S-EPS) and stored at -20 °C. In addition to S-EPS, bound EPS (B-EPS) were extracted from the filters. For that purpose, the filters were placed in 15 ml centrifugation tubes with 12 ml of

0.2 μm filtered and sterilized artificial sea water (ASW) and ~ 1 g of activated cationic resin (Dowex Marathon C, Na^+ ; Sigma-Aldrich). The tubes were agitated gently for 1 hour at 4 °C in the dark and then centrifuged at 3000 g at 4 °C for 10 min. The supernatants were collected and stored at -20 °C for further analysis of B-EPS. After the supernatants were thawed at room temperature, high and low molecular weight EPS was extracted by incubating 3 ml of each sample in 7 ml ethanol (70 % f.c.) at -20 °C for 16 hours. The samples were centrifuged at 3000 g at 4 °C for 30 min and the supernatants containing low molecular weight EPS were discarded. The pellet containing high molecular weight EPS was dried at 50 °C overnight. The dried samples were re-suspended in 3 ml distilled water. To estimate carbohydrate contents, 50 μL of 5% phenol and 250 μL sulfuric acid were added to 50 μL of the extract, and vortexed. After 30 min, absorption was read with a FlexStation plate reader (Molecular Devices) at 485 nm, using glucose as standard for the calibration curve. EPS concentrations were estimated for each site and are expressed in $\mu\text{gGeq.L}^{-1}$. These concentrations were then converted into carbon using a coefficient of 0.4 corresponding to the carbon mass coefficient in one molecule of glucose.

2.5.2. Transparent exopolymeric particles (TEP)

The concentration of TEP was determined using the colorimetric method described by Claquin *et al.* (2008) and adapted from Passow and Alldredge (1995). Briefly, 15 to 50 ml samples were filtered onto 0.4 μm polycarbonate Isopore membrane filters (Millipore) and stored at -20 °C until analysis. Particles retained on the filters were stained with 5 ml of 0.02 % Alcian blue (Sigma) in 0.06% acetic acid (pH 2.5). After centrifugation at 3500 g for 30 min, the supernatant was removed and the filter was rinsed with 5 ml of MilliQ water and centrifuged several times until all excess dye was completely removed from the pellet. After one night of drying in a sterilizer at 50 °C, 6 ml of 80% H_2SO_4 were added and 2 hours later the absorbance of the supernatant was measured at 787 nm using a spectrometer. Alcian blue absorbance was calibrated using a solution of Xanthan Gum (XG). TEP concentrations are expressed in $\mu\text{gXGeq/L}$. The concentrations were then converted into carbon using a coefficient of 0.7 (Engel and Passow 2001; Claquin *et al.* 2008).

2.6. Data analysis

The plots were performed for each parameter studied by taking the spatial and temporal dynamics into account using SigmaPlot software (v.12.5). Correlations between EPS and the

other parameters studied were tested by calculating Spearman's correlation coefficient using SigmaPlot software (v.12.5).

3. Results

3.1. Dynamics of the size fractionated phytoplankton biomass

The total chl *a* concentrations in the sub-surface layer ranged from 0.2 to 15.9 $\mu\text{g}.\text{L}^{-1}$. A decreasing trend was observed from downstream to upstream from April to October (Fig. 37). Close to the WSI, values ranged between 0.4 to 21.8 $\mu\text{g}.\text{L}^{-1}$ and despite the surprisingly high values recorded in winter ($> 10 \mu\text{g}.\text{L}^{-1}$) in the oligohaline zone, the same gradient was observed as in the sub-surface layer (Fig. 38).

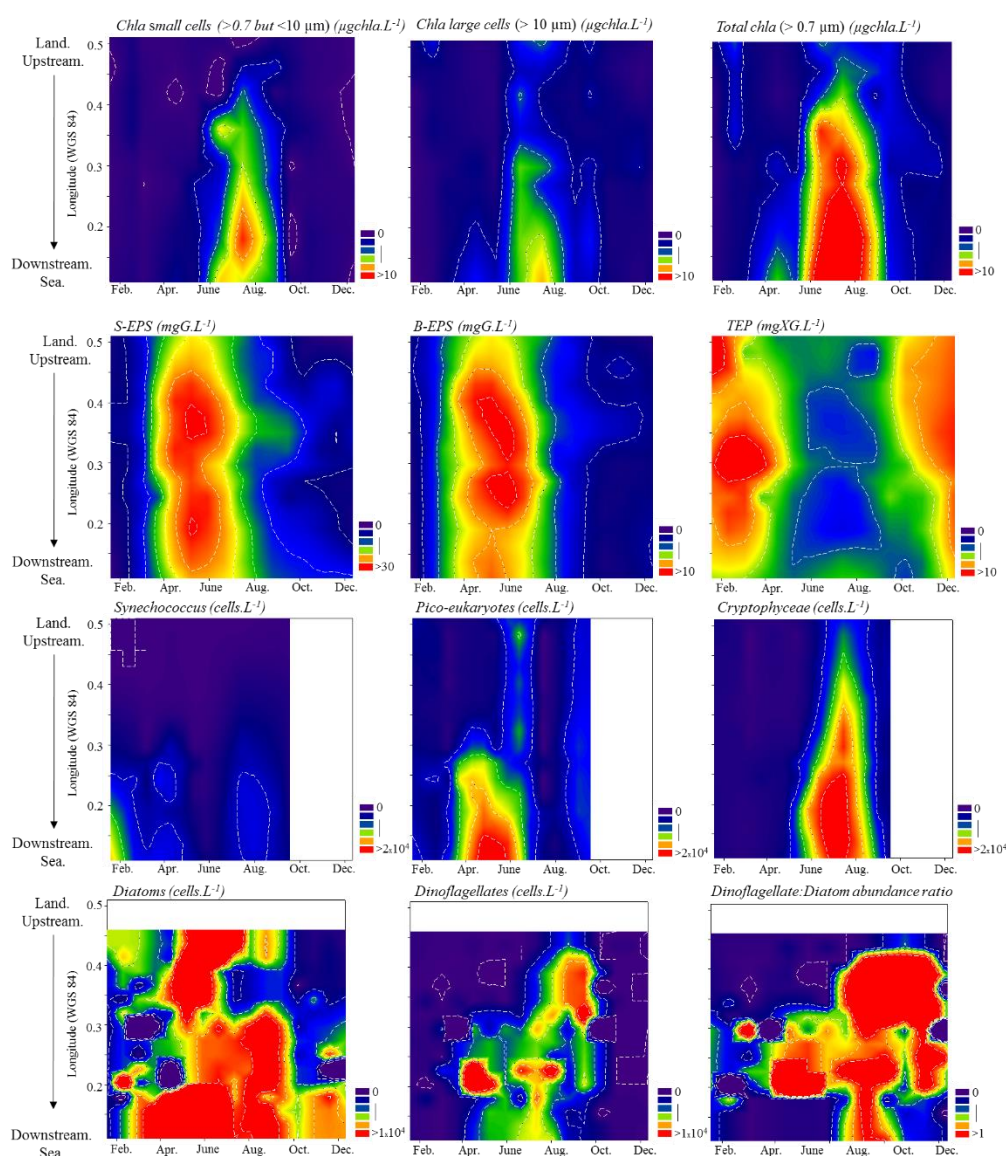


Figure 37. Variations in the parameters in the sub-surface layer (1 m under the surface) of the Seine estuary from January to December, 2015. With total, small cell and large cell chl *a* concentrations ($\mu\text{gchl } a.\text{L}^{-1}$); S-EPS, B-EPS ($\text{mgG}.\text{L}^{-1}$) and TEP concentrations ($\text{mgXG}.\text{L}^{-1}$); Synechococcus, Pico-eukaryotes, Cryptophyceae, diatom and dinoflagellate abundance ($\text{cells}.\text{L}^{-1}$). The dinoflagellate:diatom abundance ratio is also given. Values were previously smoothed using the Loess non-parametric regression method.

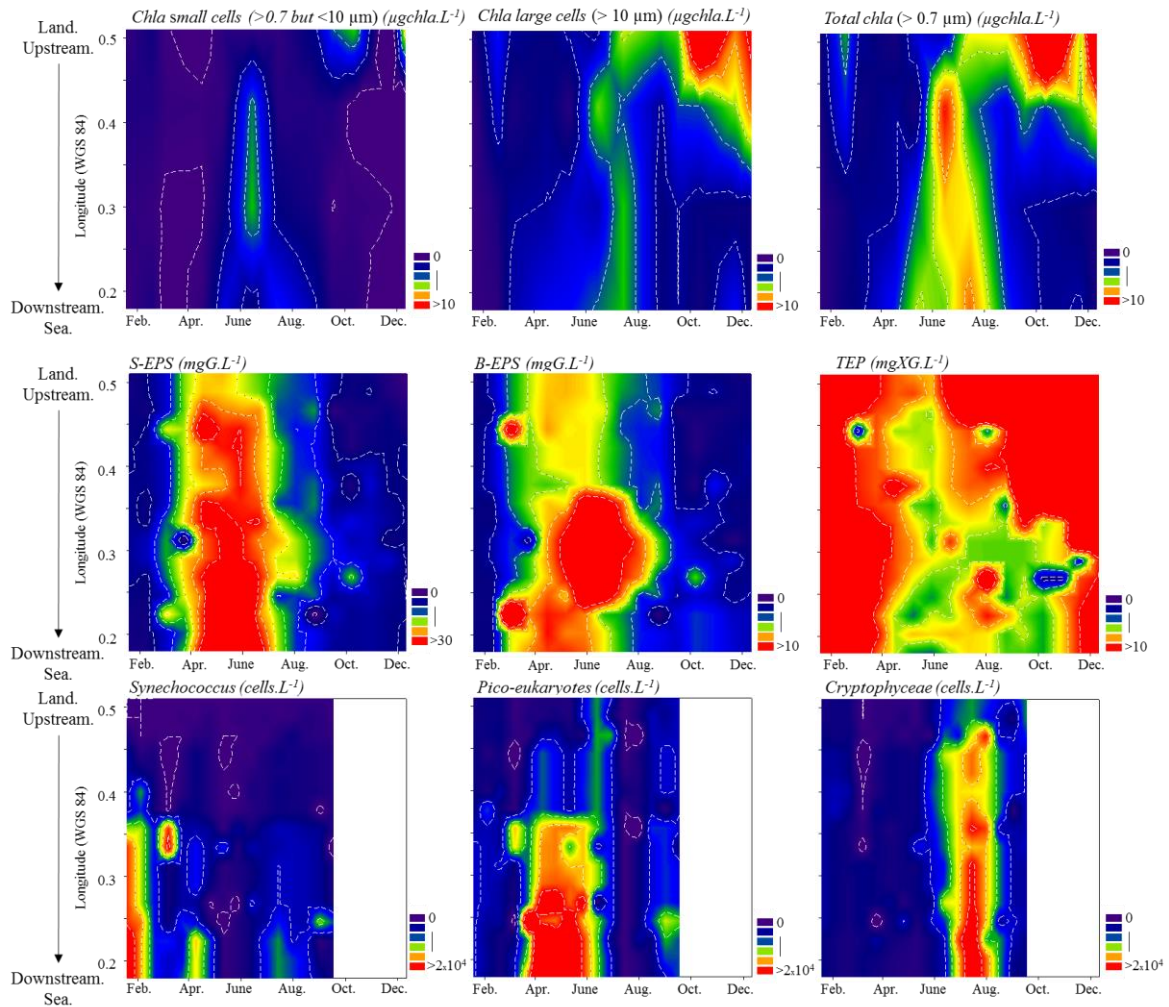


Figure 38. Variations in the parameters close to the water/sediment interface (1 m above the sediment) in the Seine estuary from January to December, 2015. With total, small cell and large cell chl *a* concentrations ($\mu\text{gchl } a.L^{-1}$); S-EPS, B-EPS (mgG.L^{-1}) and TEP concentrations (mgXGeq.L^{-1}); and *Synechococcus*, *Pico-eukaryotes*, and *Cryptophyceae* abundances (cells.L^{-1}). Values were previously smoothed using the Loess non-parametric regression method.

High concentrations of small cells ($<10 \mu\text{m}$) were recorded from June to September in the downstream part, the highest value ($9.6 \mu\text{g.L}^{-1}$) being recorded at site 2 in July. Close to the WSI, high concentrations were recorded from May to September with the highest value ($5.05 \mu\text{g.L}^{-1}$) recorded at site 4 in June. In winter, the highest value ($6.9 \mu\text{g.L}^{-1}$) was recorded in the oligohaline zone (site 8) in December.

High concentrations of large cells ($> 10 \mu\text{m}$) were recorded from April to October, the highest value ($7.63 \mu\text{g.L}^{-1}$) being recorded at the limit of the bay at site 1 in July. Close to the WSI, high concentrations were observed from March to September, with the highest value ($6.34 \mu\text{g.L}^{-1}$) recorded at site 8 in July. In winter, the highest value ($16.5 \mu\text{g.L}^{-1}$) was recorded in the oligohaline zone (site 8) in October.

Micro-phytoplankton assemblages

Partie 4 : Dynamique des exopolysaccharides en estuaire

Over the course of the year, 39 distinct taxonomic units of diatoms were observed, 13 distinct taxonomic units of dinoflagellates, and six other taxonomic units of algae, representing a species richness of 58 taxonomic units identified in the Seine estuary. Most were identified at the downstream sites (1 & 3) in spring and summer (Table 15).

Table 15. Presence and absence of the diatoms, dinoflagellates and other algal group taxa observed by optic microscopy from January to December 2015 in the sub-surface layer at sites 1, 3, 5 and 7. XXX represent unidentified taxonomic units.

Month Sites	January 1 3 5 7	February 1 3 5 7	March 1 3 5 7	April 1 3 5 7	May 1 3 5 7	June 1 3 5 7	July 1 3 5 7	August 1 3 5 7	September 1 3 5 7	October 1 3 5 7	November 1 3 5 7	December 1 3 5 7	SUM
Diatoms													
Biddulphiales	1	1	1	1 1	1 1 1								8
Thalassiosiraceae sp.			1	1					1				2
asterionella sp.			1 1										2
Cerataulina						1	1						2
Chaetoceros	1	1			1	1 1		1 1 1	1	1 1 1	1 1		14
Detonula sp				1	1		1						3
Ditylum sp.			1	1 1	1	1 1	1 1	1 1		1			11
Lauderia sp	1		1										2
Leptocylindrus sp		1					1 1	1	1				2
Licmophora sp.			1				1						2
Naviculaceae sp.	1	1	1	1			1		1 1		1	1	10
Nitzschia sp.	1 1 1	1 1 1	1 1	1 1 1	1 1 1	1 1 1	1 1 1 1	1 1 1 1	1	1 1	1 1 1 1		32
Odontella sp.				1		1		1		1	1 1 1	1	8
Coscinodiscus sp.								1					1
Actinoptychus sp										1			1
Plagiogramma sp.				1		1							2
Pleurosigma sp		1 1	1 1		1 1	1 1	1 1	1			1		12
Gyrosigma sp		1 1	1 1		1 1	1 1	1 1	1			1		12
Pseudonitzschia sp						1 1 1		1		1		1	6
Raphoneis sp.		1		1									2
Skeletonema sp.		1 1 1	1 1 1 1	1 1 1	1 1	1 1 1 1	1 1	1 1 1 1	1	1	1		25
Guinardia delicatula		1			1 1	1			1 1		1		7
Guinardia flaccida				1									1
Lauderia annulata							1						1
Dactylosolen fragilissima						1							1
Lithodismium undulatum							1		1 1				3
Paralia sulcata	1 1 1 1	1 1 1	1	1 1		1 1 1	1	1	1 1	1	1 1 1	1 1	23
Rhizosolenia imbricata		1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1		1 1 1	1 1 1 1	1	20
Rhizosolenia setigera	1					1							2
Thalasionema nitzschioides				1	1	1	1	1	1		1 1	1	9
Thalassiosira levanderi		1											1
Thalassiosira gravida				1									1
Thalassiosira rotula				1									1
Eucampia zodiacus						1 1			1			1	4
Meuniera membranacea											1		1
Brockmanniella brockmannii												1	1
Asterionellopsis glacialis		1 1	1 1 1		1								6
Bacillaria paxillifera			1 1						1				3
XXX					1	1 1 1	1	1 1 1	1	1 1 1	1 1 1	1 1 1 1	20
SUM	6 2 5 2	1 7 7 7	10 7 5 5	8 7 6 2	8 6 4 1	11 13 5 9	8 7 6 2	9 7 4 5	9 6 2 1	7 6 3 1	11 8 5 3	5 6 1 1	5.56
Dinoflagellates													
Protoperidinium sp		1				1	1	1	1	1			6
Peridinium sp		1				1	1	1	1	1			6
Scripsiella sp.					1 1	1	1 1 1	1 1 1	1 1 1	1	1		14
Gonyaulax sp.				1	1 1	1 1	1	1	1 1				9
Alexandrium sp.		1					1	1					3
Prorocentrum sp				1		1	1 1 1	1 1 1	1 1 1	1 1 1			11
Gymnodiniaceae							1	1 1	1 1				5
Gyrodinium sp			1				1 1		1				4
Akashiwo sp							1 1 1		1 1				5
Toradinium sp	1							1	1				3
Dinophysis sp									1				1
Heterocapsa triquetra					1 1		1			1			3
XXX				1			1	1 1	1			1	6
SUM	1 0 0 0	1 2 0 0	1 0 0 0	1 1 0 1	3 3 0 0	2 4 0 0	10 5 3 0	1 3 8 3	6 5 7 0	1 2 0 0	1 0 0 0	1 0 0 0	1.58
Other algal groups													
Euglenaceae	1	1		1 1	1 1						1 1		8
Scenedesmus sp					1								1
ulothrix						1	1						2
Dictyocha sp		1	1									1	3
Pediastrum sp				1									1
Ciliates		1 1					1		1	1 1			6
SUM	1 0 0 0	1 2 1 0	1 0 0 0	1 1 1 0	1 1 1 0	1 0 0 2	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 1 0	0 1 0 1	1 1 0 0	0 1 0 0	0.44
TOTAL SUM	8 2 5 2	3 11 8 7	12 7 5 5	10 9 7 3	12 10 5 1	14 17 5 11	18 12 9 2	10 10 12 8	15 11 10 1	8 9 3 2	13 9 5 3	6 7 1 1	7.58

The high turbidity and the high SPM concentrations in the samples prevented more precise exploitation of this method. The mean species richness per site was 5.56 for diatoms, 1.58 for dinoflagellates, 0.44 for eukaryotes and 7.58 for all taxonomic units taken together. The most frequent diatoms in the 48 samples were *Nitzschia* sp., observed in 32 samples; *Skeletonema* sp., observed in 25 samples; *Paralia sulcata*, observed in 23 samples; and *Rhizosolenia* sp., observed in 22 samples. The most frequent dinoflagellates were *Scrapsiella* sp., observed in 14 samples and *Prorocentrum* sp., observed in 11 samples (Table 15). Despite being the most frequently observed over the course of the year, the four diatoms species cited earlier were also predominant in some samples (not enumerated) with in winter a majority of *Paralia sulcata* and *Asterionelopsis glacialis*; in spring and summer, a majority of *Skeletonema* sp., *Nitzschia* sp., and *Chaetoceros* sp., and in October, a majority of *Rhizosolenia imbricata*. Some indeterminate centric diatoms were also frequently observed (in 20 samples) from May to December in the oligohaline part of the estuary. The gradient in species richness was positively correlated with the salinity gradient ($p < 0.001$) with an average of 11 different taxonomic units per month observed at site 1, nine at site 3, six at site 5, and four at site 7 (Table 15). Thus, diatoms dominated the community with a mean of 85% of diatom cells per sample.

Per sample, between 400 and 108 400 cells.L⁻¹ were estimated for diatoms, up to 15 400 cells.L⁻¹ for dinoflagellates, and up to 6 700 cells.L⁻¹ for the other eukaryote taxonomic units. Both the lowest and the highest values for diatoms were observed in May, at sites 1 and 7, respectively. The absence of dinoflagellates was often observed in the oligohaline part (sites 5 and 7) while high dinoflagellate abundance was observed in spring and summer in the polyhaline part with the highest value at site 5 in September. Dinoflagellates were more abundant than diatoms in spring and summer (Fig. 37).

3.2. Pico- and nano-phytoplankton communities

Two different populations of Cyanobacteria belonging to the genus *Synechococcus* were observed. These two populations, Syn_1 and Syn_2, could be distinguished from one another by their orange fluorescence, which is linked to their phycoerythrin content: population Syn_1 had higher phycoerythrin content than population Syn_2 (Fig. 39-A). While Syn_1 was observed over the entire study period, Syn_2 was only observed in April and from July to September (data not shown). These two *Synechococcus*-like populations were only observed in the downstream part of the estuary (Fig.37 & Fig. 38) with the highest abundance (1.5×10^4 cells.L⁻¹ in the sub-surface layer and 2.5×10^4 cells.L⁻¹ close to the WSI) observed in January at site 1. While two sub-populations of pico-eukaryotes were distinguished, the

difference in SSC and FL4 was not significant and consequently only one population of pico-eukaryotes corresponding to the sum of Pic-Euk_1 and Pico-Euk_2 abundances is discussed hereafter (Fig. 39-B). Pico-eukaryote cells were present throughout the year, except in July, and all along the salinity gradient. The highest pico-eukaryote abundance (3.4×10^4 cells.L⁻¹ at both depths) was observed downstream (at sites 1 & 2) in April close to the WSI and in May in the sub-surface layer (Fig. 37 & 38). Pico-eukaryote abundances decreased from downstream to upstream over the course of the year.

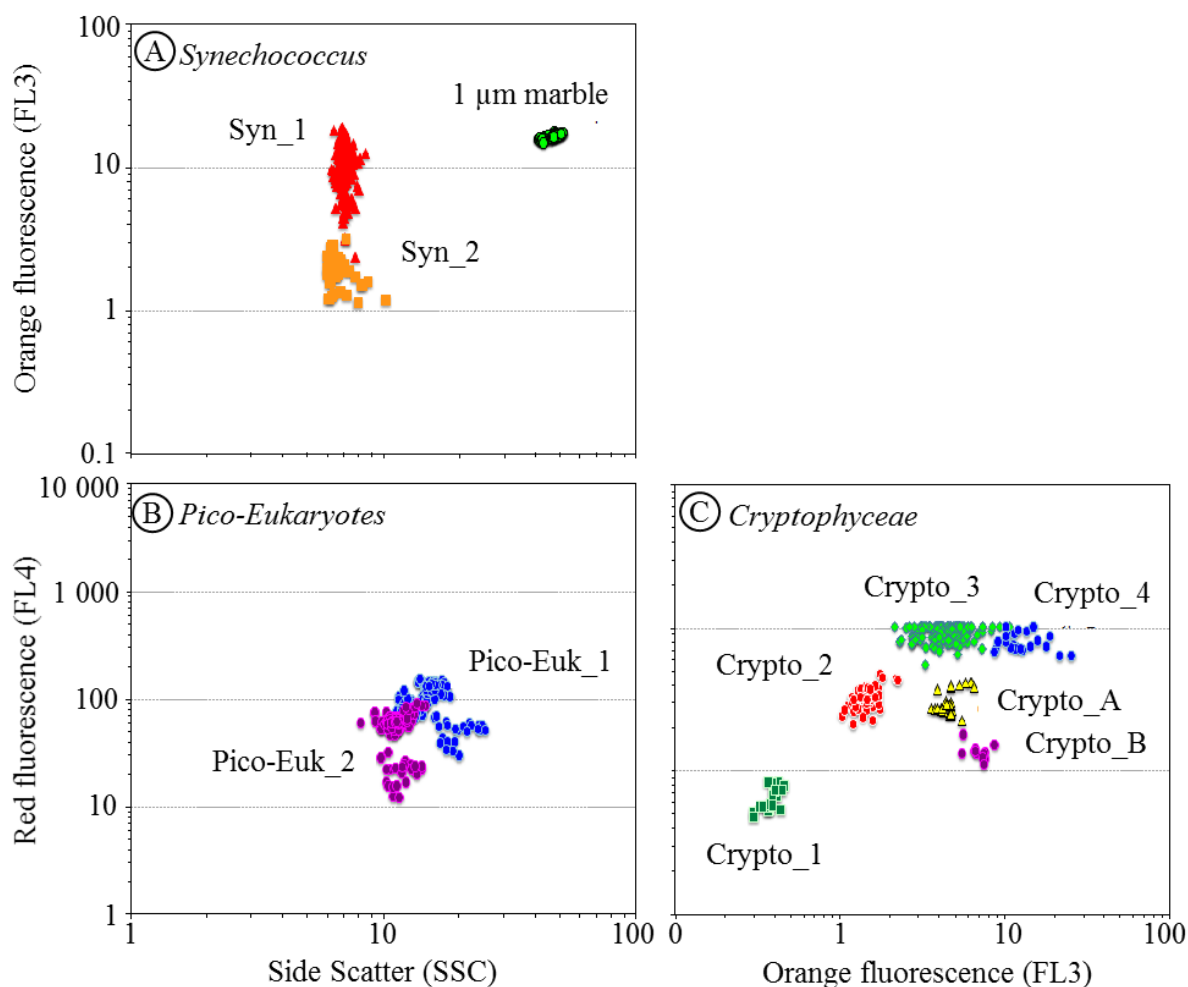


Figure 39. Cytometric signatures of the different populations observed in 2015 along the Seine estuary. A 1 µm self-fluorescent latex marble was added to each sample as a size and fluorescence reference. The graphs show the FL3 median (phycoerythrin), FL4 median (chlorophyll) and SSC median (size). With the two *Synechococcus* populations (A), the two pico-eukaryote populations that were not significantly differentiated (B) and the six *Cryptophyceae* populations (C).

Regarding nano-phytoplankton, six different populations of *Cryptophyceae* were identified. These six different populations were distinguished based on their specific fluorescence in the FLA and FL4 channels (Fig. 39-C). The sub-population crypto_3 was present in the Seine estuary throughout the year except in May. The five other sub-populations

of *Cryptophyceae* were recorded sporadically along the salinity gradient in spring and summer. Abundances decreased from downstream to upstream over the course of the year. The highest values (3.0×10^4 cells.L⁻¹ in the sub-surface layer and 2.6×10^4 cells.L⁻¹ close to the WSI) were measured downstream at site 2 in June and July (Fig. 37 & 38).

3.3. EPS concentrations

As a function of the different EPS, the S-EPS in the sub-surface layer, ranged between 0 and 39.54 mgGeq.L⁻¹ which represents ~73% of the total EPS pool with the highest value recorded at site 5 in June, while B-EPS values ranged between 0.24 and 14.18 mgGeq.L⁻¹ representing ~27% of the total EPS pool with the highest value recorded at site 3 in June. High values were recorded from March to July with the highest values recorded in the polyhaline zone (sites 2 to 7) while low values were recorded at all the sites during the rest of the year (Fig. 37). S-EPS and B-EPS were significantly correlated with the phytoplankton dynamics (Table 16). Close to the WSI, S-EPS values ranged between 0 and 74.32 mgGeq.L⁻¹ and represented ~67.75% of the total EPS pool with the highest value recorded at site 2 in May, while B-EPS values ranged between 0.23 and 17.11 mgGeq.L⁻¹ and represented ~32.25% of the total EPS pool with the highest value recorded at site 4 in June. Distribution was similar with high values recorded from March to July in the downstream zone while low values were recorded at all the sites during the rest of the year (Fig. 38). The carbon pool available from EPS in the Seine estuary was between 0.1 and 5.7 mgC.L⁻¹ in the sub-surface layer and between 0.1 and 33.2 mgC.L⁻¹ close to the WSI.

3.4. TEP concentrations

TEP concentrations ([TEP]) showed high spatial and temporal variability at both depths (Fig. 37). In the sub-surface layer, values ranged between 2.21 and 16.48 mgXGeq.L⁻¹ with a mean of 6.32 mgXGeq.L⁻¹. The highest values were recorded in February at site 4 and the lowest value was recorded in May at site 1. High values were recorded from January to April and from October to December, while low values were recorded from April to October (Fig. 37). Close to the WSI, values ranged between 3.11 and 98.20 mgXGeq.L⁻¹ with a mean of 15.93 mgXGeq.L⁻¹ (Fig. 38). The highest value was recorded in December at site 8 and the lowest in May at site 2. Distribution was more variable with some patches. High values (> 20 mgXGeq.L⁻¹) were recorded in the low salinity zone (at sites 6 & 8) from September to December and at site 8 in July and August, and low values in summer. At both depths, [TEP] were positively correlated with turbidity and SPM values and negatively correlated with biological parameters

(Table 16). The available carbon pool from TEP in the Seine estuary ranged between 1.55 and 11.5 mgC.L⁻¹ in the sub-surface layer and between 2.2 and 68.7 mgC.L⁻¹ close to the WSI.

Table 16. Spearman correlation coefficients obtained between the exopolysaccharides (TEP, S-EPS and B-EPS) and the biological, physical and chemical parameters (n=96 in the sub-surface layer, and n=48 close to the WSI), the pico/nano abundances (*Synechococcus*, Pico-eukaryotes and Cryptophyceae; n=72 in the sub-surface layer and n=48 close to the WSI) and the diatom and dinoflagellate abundances (n=48 in the sub-surface layer only). The coefficients were considered significant when the p-value was < 0.05, if not, it was noted “NS”).

Parameters	Sub-surface layer			Water sediment interface		
	TEP	S-EPS	B-EPS	TEP	S-EPS	B-EPS
Temperature	-0.69	0.46	0.24	-0.35	0.35	NS
Salinity	-0.22	NS	NS	-0.46	NS	NS
Irradiance	-0.60	0.52	0.62	-	-	-
Turbidity	0.81	-0.46	-0.35	0.67	NS	NS
SPM	0.50	-0.51	-0.56	0.77	-0.58	-0.56
DIN	0.36	-0.20	NS	0.54	NS	NS
P	NS	NS	-0.21	0.61	-0.32	-0.35
Si	0.42	-0.38	-0.19	0.54	NS	NS
Fv/Fm	NS	NS	NS	-0.53	NS	NS
Large Chl <i>a</i>	-0.36	0.29	0.23	0.33	NS	NS
Small Chl <i>a</i>	-0.50	0.29	0.25	NS	NS	NS
Total Chl <i>a</i>	-0.52	0.34	0.28	NS	NS	NS
TEP	-	-0.57	-0.40	-	-0.60	-0.54
S-EPS	-0.57	-	0.81	-0.60	-	0.93
B-EPS	-0.40	0.81	-	-0.54	0.93	-
<i>Synechococcus</i> Ab.	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Pico-eukaryote Ab.	-0.42	NS	NS	NS	NS	NS
Cryptophyceae Ab.	NS	0.23	NS	-0.43	0.33	NS
Diatom Ab.	-0.31	0.28	0.28	-	-	-
Dinoflagellate Ab.	-0.36	0.28	NS	-	-	-

4. Discussion

4.1. Phytoplankton taxonomic composition and spatial and temporal dynamics

The stable hydrographical features that prevailed in spring and summer (higher temperatures, higher light availability, lower flow, and lower turbidity than in winter) resulted in denser phytoplankton biomass. The high flow and resulting currents and the reduction in salinity, low light availability with high turbidity in winter drastically reduced population density and production. In this way, the annual cycle of phytoplankton in the Seine estuary is typical of temperate ecosystems.

The high density of phytoplankton in terms of chl *a* coincides with high species richness and high primary production (PP) and productivity values (Morelle *et al.* submitted). The Seine estuary thus seems to have a high PP with high species richness in the phytoplankton community (p < 0.001; Fig. 40).

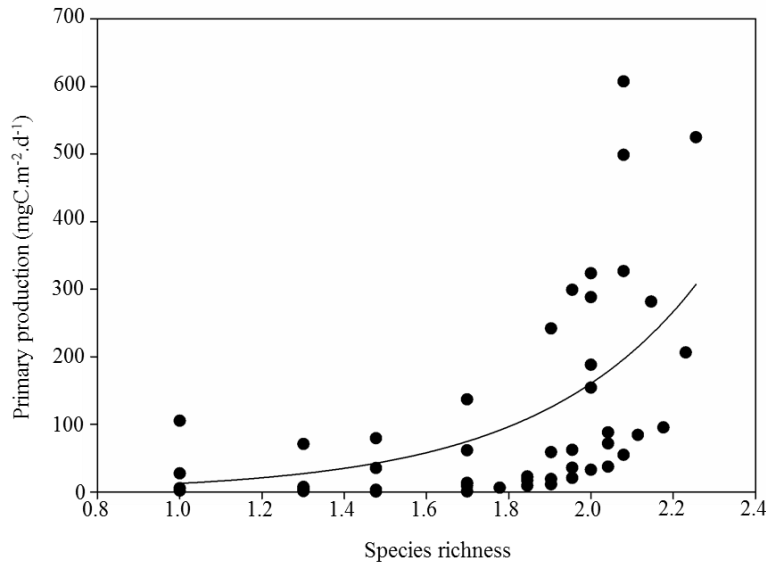


Figure 40. Primary production as a function of the species richness of the Seine estuary. All the spatial (sites 1, 3, 5 & 7) and temporal (from January to December) data were used in this plot. Species richness was calculated as a function of the microscopic observations made in this study (table 15) and expressed in $\log_{10}+1$. The primary production data ($\text{gC.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) are detailed in Morelle *et al.* (submitted). The dynamic fit was performed on SigmaPlot 12.5 after 200 iterations of fits and the final equation was $\text{PP} = e^{2.5 \times \text{SR}}$ ($p < 0.001$; $R^2=0.35$).

The richness and the abundance of phytoplankton decreased from downstream to upstream, possibly due to the decrease in salinity. Indeed, in the Seine estuary, most of the spatial structure of phytoplankton abundance, composition, or production can easily be linked with the dynamics of the environmental variables, particularly salinity. This hypothesis is in accordance with the large number of phytoplankton originate from high salinity water identified during this study. The Seine estuary thus appears to be mainly inhabited by marine phytoplankton whose species richness and abundance decreases with the salinity gradient. This distribution pattern appears to be closely linked to the ecocline concept proposed by Attrill & Rundle (2002) and already reported in the Schelde estuary (Muylaert *et al.* 2009). The low frequency of freshwater species can be linked to the limits of our sampling strategy, which was applied along the salinity gradient up to the MTZ. It is widely accepted that freshwater species, which are mainly of riverine origin, cannot survive in the MTZ. Thus, a succession of phytoplankton species acclimated to low light are observed in the MTZ. These species are able to grow in highly turbid environments by reducing dark respiration rates, and increasing accessory pigments and chlorophyll a cell content to increase the efficiency of their light harvesting complex (Muylaert *et al.* 2000a). Moreover, in the Seine estuary, the copepod *Eurytemora affinis* (Poppe, 1880) is widely distributed in the oligohaline part of the estuary (up to $2 \times 10^5 \text{ ind.m}^{-3}$) and mainly feeds on phytoplankton of river origin (Cailleaud *et al.* 2007). Thus, if the estuary is represented by a two-ecocline model, the marine ecocline was observed, and the freshwater ecocline is located

further upstream beyond the MTZ. This supports the view expressed by Cloern & Dufford (2005) that the pelagic ecosystem of an estuary is an open system in which immigration and dispersal sustain community diversity.

The dinoflagellate assemblages were characterized by a few species: a spring peak (April-May) was dominated by *Gonyaulax* sp. and a summer peak (July to September) by *Scripsiella* sp., and *Prorocentrum* sp.. Apart from these two peaks, dinoflagellates were sparse in the water column. In the present study, diatoms formed the main component of the phytoplankton population, which could be due to their tolerance of the dynamic environmental conditions and euryhaline nature. Along the estuarine salinity gradient and over the course of the year, phytoplankton in both zones (downstream and upstream) were mainly dominated by *Skeletonema* sp., *Nitzschia* sp., and *Paralia sulcata*. These estuarine assemblages have already been described in the Pearl River estuary (Huang *et al.* 2004). Indeed, *Skeletonema* sp and *Nitzschia* sp are euryhaline and eurythermal species that can grow rapidly under eutrophic conditions (Huang *et al.* 2004). Neither was it not surprising to find *P. sulcata* as a dominant species because this diatom is widely distributed and is often found in temperate brackish to marine planktonic and benthic waters, in both littoral and sublittoral zones (McQuoid and Nordberg 2003). The high vertical mixing and resuspension in estuaries creates conditions that favor the occurrence of *P. sulcata*, especially because this species has a competitive advantage in low light conditions (Hobson and McQuoid 1997). Some other species were often observed in the downstream zone like *Dytilum* sp, *Rhizoslenia* sp, and *Chaetoceros* sp, which are known to be typical species of clear coastal or estuarine waters (Muylaert *et al.* 2000a, 2009). It thus appears that the typical estuarine gradients (salinity, turbidity) play a fundamental role in the phytoplankton species community favoring the most competitive species under changes in salinity and light availability.

Because of their high surface to volume ratio, small cells grow much more efficiently than large cells in low light conditions (Kiorboe 1993) and are thus expected to be frequent in turbid systems like estuaries. In our study, no clear differences were found between the size-fractionated measurements, although observations of micro-phytoplankton revealed the predominance of large chain-forming diatoms. However, this study also provided observations of pico-nano phytoplankton in the Seine estuary and revealed high abundances of up to 50.10^3 cells.L⁻¹ with a mean of 13.10^3 cells.L⁻¹ over the course of the year. Such high abundances could have a strong impact on the knowledge of the trophic network and on the carbon flow in estuarine systems. Spatially, abundances of pico-nano phytoplankton decreased from downstream to upstream probably due to the decrease in salinity and in light availability, which

create conditions that are not optimal for the growth of photosynthetic organisms. A clear seasonal succession was observed for pico-nano phytoplankton with dominance of *Synechococcus* in winter (January to March), then dominance of pico-eukaryotes in spring (April to June), and dominance of *Cryptophyceae* in summer (July to September). The low abundance of *Synechococcus* could be explained by the fact that this cyanobacteria develops preferentially in the upper part of well-lit euphotic zones, which is not the case in an ecosystem as dynamic and turbid as an estuary (Partensky *et al.* 1999). The dominance of pico-eukaryotes in spring is in accordance with the results of previous studies that demonstrated the halotolerant capacities of these organisms (Schapira *et al.* 2010). The dominance of *Cryptophyceae* is not surprising in an estuary given its competitive abilities. Indeed, *Cryptophyceae* thrive in all kinds of marine, brackish, freshwater habitats (Klaveness 1988) and due to an either red or blue phycobiliprotein as a light harvesting complex for photosynthesis *Cryptophyceae* can acclimatize to low intensity light (Hammer *et al.* 2002). The presence of pico- and nano-phytoplankton in the Seine estuary highlighted the significant contribution of these small cells to the biomass and hence to estuarine primary production and should thus be further explored.

4.2.TEP dynamics and distribution in relation with biological, physical and chemical processes

The seasonal and spatial distribution of TEP is in accordance with our previous results at daily scale in the Seine estuary (Morelle *et al.* 2017), which showed that the TEP were inversely correlated with phytoplankton dynamics, and closely linked to resuspension processes. In this study, the TEP concentration was higher close to the WSI (mean of 16 mgXGeq.L⁻¹) than in the sub-surface layer (mean of 6.4 mgXGeq.L⁻¹), and in winter (from October to April: mean of 20 mgXGeq.L⁻¹ close to the WSI and 8 mgXGeq.L⁻¹ in the sub-surface layer) than in summer (from May to September: mean of 4.2 mgXGeq.L⁻¹ at both depths). It is assumed that diatoms are the main source of TEP precursors and that their production ability depends on the composition of the community (Passow and Alldredge 1994; Passow 2002). However, our results differ from those obtained by Annane *et al.* (2015), who showed that *Skeletonema* sp., *Thalassiosira* sp., and *Chaetoceros* sp. were the main source of TEP in the St. Lawrence estuary. In the present study, these three genera were observed in the Seine estuary throughout the year (Table 15) but their occurrence was not correlated with TEP concentrations. Our results showed that the species most present at high TEP concentrations were *Paralia sulcata*, *Rhizosolenia imbricata* and *Nitzschia* sp.. However, these species were also present during periods with lower TEP concentrations, which allows us to hypothesize that

the occurrence of species known to be large producers of TEP is not sufficient to explain the TEP dynamics in an ecosystem as dynamic as an estuary. This hypothesis is reinforced by the positive relationship we found between [TEP] and [Si] and the negative relationship with diatom abundance (Table 16). In this study, our results rather confirm that, in the Seine estuary, healthy phytoplankton produce less than stressed or dying phytoplankton as already demonstrated in both field and laboratory studies (Liu and Buskey 2000; Ramaiah *et al.* 2001; Klein *et al.* 2011; Chowdhury *et al.* 2016), confirmed by the negative relationship between [TEP] and F_V/F_M (Table 16). This study also confirms the previously demonstrated strong relationship between TEP, SPM and turbulence (Beauvais *et al.* 2006; Malpezzi *et al.* 2013).

In addition to confirming that TEP was inversely correlated with phytoplankton dynamics (chl *a* biomass, production, productivity, and community structure) and positively correlated with SPM and turbidity at a smaller spatial and seasonal scale, this study showed that the TEP dynamics cannot be related to the pico- and nano-phytoplankton populations identified in the Seine estuary. The high TEP concentrations in relation with the sediment resuspension confirm their important role played in the sedimentation processes and the high proportion of the carbon pool available in the form of TEP which, in this study, represented between 1.5 and 69 mgC.L⁻¹.

4.3.EPS dynamics and distribution in relation with biological, physical and chemical processes

In contrast to the distribution of TEP, EPS distribution enabled us to make additional observations compared with our previous results at daily scale in the Seine estuary (Morelle *et al.* 2017). Indeed, the daily scale used in the winter and summer season showed values lower than 10 mgGeq.L⁻¹ but in this study, an increase in EPS concentrations in the Seine estuary from April to July with values higher than 10 mgGeq.L⁻¹ (up to 51.5 mgGeq.L⁻¹ in the sub-surface layer and 83 mgGeq.L⁻¹ close to the WSI, S-EPS and B-EPS taken together) was observed. Our results revealed a significant negative relationship between [TEP] and [S-EPS] or [B-EPS] (Table 16) suggesting that different factors influence their production. The production of carbohydrates by phytoplankton is known to be highly variable and to depend on the species, growth stage and environmental conditions (Alldredge 1999; Penna *et al.* 1999). Phosphorus limitation (Alcoverro *et al.* 2000; Staats *et al.* 2000) and, for some species, nitrogen limitation (Granum *et al.* 2002) can cause an increase in photosynthetic extracellular release. In this study, the most frequent species observed during the increase in EPS were *Skeletonema sp.*, present from February to August, and *Nitzschia sp.* present throughout the year. Therefore,

Skeletonema sp., which is known to produce large quantities of EPS (Urbani *et al.* 2005) could be responsible for the spring increase in EPS. Moreover, previous studies showed that a reduction in inorganic phosphorus content triggers the production of polysaccharides by different species, particularly *Skeletonema sp.* (Shniukova and Zolotareva 2015). This result is in agreement with a decrease in P concentration from April to July in the downstream zone of the Seine estuary (Morelle *et al.* submitted) reinforced by the negative relationship with P concentration and the positive relationship with diatoms observed for S-EPS or B-EPS concentrations (Table 16). However, the positive relationship between S-EPS and *Cryptophyceae* abundance observed at both depths also suggests a contribution of pico/nano-phytoplankton to the pools of soluble carbohydrates measured. This hypothesis should be tested by an *in vitro* study on the possible production and excretion of EPS by *Cryptophyceae*. The concentrations of EPS measured in this study also confirmed the large proportion of the carbon pool available in the form of EPS which represented up to 30 mgC.L⁻¹ from S-EPS and up to 7 mgC.L⁻¹ from B-EPS.

5. Conclusion

This is the first description of the structure of the phytoplankton community along the salinity gradient of the Seine estuary, and revealed the notable contribution of marine species, thus confirming the ecocline concept. Moreover, the pico/nano-phytoplankton analysis suggested a potential contribution of this compartment to primary production. Our results confirm the importance of the TEP and EPS forms in the carbon pool available for the trophic network, since up to 69 mgC.L⁻¹ from TEP, up to 30 mgC.L⁻¹ from S-EPS, and up to 7 mgC.L⁻¹ from B-EPS were measured. Different dynamics between carbon excreted pools (TEP, EPS) were identified: TEP distribution was mainly related to physical factors (hydrodynamics, MTZ formation and sediment resuspension) and appears to be produced by stressed or dying phytoplankton, while EPS appears to be excreted during the phytoplankton spring bloom. Soluble and bound EPS appears to be related to the occurrence of *Skeletonema sp.* and *Cryptophyceae*. A significant relationship between primary production and species richness was observed in this work, but further investigations are required to propose more general concepts regarding the relationship between community structure and carbon fluxes.

**PARTIE 5 : DYNAMIQUE DE LA PRODUCTION
PRIMAIRE MICROPHYTOBENTHIQUE**

Improvement of PAM fluorescence data analysis for microphytobenthos by integrating light attenuation induced by sediment grain-size and vertical distribution of microalgal biomass

This article is under review in “*Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*”

Jérôme Morelle, Francis Orvain & Pascal Claquin

Abstract

The intertidal mudflats are among the most productive ecosystems and the microphytobenthic (MPB) biofilms play the main role in primary production rates. However, the primary production of MPB biofilms inhabiting intertidal sediments varies at short spatial and temporal scales. Thereby, accurate measurements require rapid and non-intrusive methods as the PAM fluorescence method. However, the effect of light attenuation on irradiance and fluorescence signal in the photic layer of the sediment should be taken into account by using measurements of granulometry and sediment chl *a* concentration, in order to obtain the inherent photobiological parameters of MPB, whatever their vertical position in the photic layer. We propose a correction model in order to readjust photosynthetic parameters after "depth-resolving" and "depth-integrating" both irradiance and fluorescence from PAM measurements. This paper is using the previous models developed by Kühl & Jørgensen (1992); Serôdio (2004) and Forster & Kromkamp (2004) by integrating the chl *a* distribution profiles and the sediment granulometry (from pure sand to pure mud) in order to provide a new tool (proposed as an e-document) to apply this model on further field measurements and improve adjustments of the inherent photosynthetic parameters ($rETR_{max}$, α and I_{opt}). The sensitivity of the model to the variable sediment granulometry and the shape of the chl *a* profile was evaluated in theoretical study cases using a typical fluorescence data set from PAM measurements. Our results confirmed that the chl *a* profile play a prime key role on the significance of the light attenuation with depth but also that it is important to take into account the variability in sediment granulometry when a light attenuation coefficient is estimated. Indeed, we have shown that, depending on the specific attenuation coefficient of the sediment particles considered, the underestimation of the photosynthetic parameters, even with the same chl *a* profile, is higher in muddy environment than in sandy environment with, in our study case, differences reaching 3.42 % for $rETR_{max}$, 20.05 % for α and 71.14 % for I_{opt} . Thus, sediment granulometry analysis

and chl *a* profile measurements could be systematically quantified in future studies and put in relationship with the light attenuation coefficient in order to apply more robust "depth-resolved" and "depth-integrated" corrections in a wide range of situations. This study should be helpful for future studies to estimate the inherent photosynthetic parameters by avoiding their systematic underestimation, especially in environments containing fine particles.

1. Introduction

The littoral areas of lakes and coastal seas form one of the most productive ecosystems in the world, and their production far exceeds that of open oceans (Geider *et al.* 2001). One of the main primary producers is the microalgae which colonizes all sorts of substrates within the euphotic zones of these aquatic systems (Underwood and Kromkamp 1999; Aberle-Malzahn 2004). Microphytobenthic communities that include assemblages of diatoms, green algae, and cyanobacteria (Admiraal *et al.* 1985) have great ecological implications in coastal and estuarine ecosystems: as ecosystem engineers (Sutherland *et al.* 1998; Tolhurst *et al.* 2006; Lubarsky *et al.* 2010), as trophic support for benthic fauna locally (Herman *et al.* 2000), but also after exports to adjacent habitats of intertidal mudflats (Ubertini *et al.* 2012; Kang *et al.* 2015). The importance of microphytobenthic primary production (PP) is similar to that of phytoplankton (Underwood and Kromkamp 1999) where most production (~90%) is consumed or recycled to maintain local heterotrophic metabolism (Cloern *et al.* 2014). Moreover, many authors consider that productivity and biomass of microphytobenthos (MPB) are higher than those of phytoplankton on intertidal mudflats (De Jonge and Van Beuselom 1992; Lucas and Holligan 1999; Guarini *et al.* 2000; Kang *et al.* 2015).

However, the primary production and standing stocks of MPB biofilms inhabiting intertidal sediments vary at several spatial and temporal scales (Blanchard *et al.* 2001; Orvain *et al.* 2012). Changes can vary at time scales from the order of the hour but also with tidal rhythm and daylight photoperiod, spring/neap cycles and seasonal cycles (Taylor 1964; Pinckney and Zingmark 1991; Blanchard *et al.* 2001). Primary production also exhibits a high degree of spatial variability from (i) high-resolution patchy distribution related to the intrinsic autoecology of biofilms (Weerman *et al.* 2011) and benthic fluxes regulated by the macrofauna of the biogeochemical components affecting organic matter and the release of nutrients (Thrush *et al.* 2013) to (ii) mesoscale patterns related to the morphodynamics of estuarine landscapes and tidal bars and flats (Fagherazzi *et al.* 2014) and (iii) wide-scale changes related to sediment

composition, salinity, nutrient inputs related to river flows (Benyoucef *et al.* 2014) and shear stress (Fagherazzi *et al.* 2014).

The light is the prime factor influencing primary production (Underwood and Kromkamp 1999). There are major spatial and temporal gradients in the availability of light in MPB habitats controlling primary production. Steep gradients of irradiance occur across the sediment surface bed, depending on the grain-size (Kühl *et al.* 1994) but also the proportion of silt and sand. Intertidal sites are subject to varying patterns of diel lighting periods mediated by periods of tidal immersion (Underwood and Kromkamp 1999; Jesus *et al.* 2006). Such changes are accompanied by a variation in the spectral quality of light in sediments (Kühl and Jørgensen 1992). Irradiance is further modified by an increased attenuation of light at depth due to the presence of microalgal biofilms in the surface layers of the sediments (Ploug *et al.* 1993; Kühl and Jørgensen 1994). However, the majority of epipellic microphytobenthos are mobile and have a vertical rhythmic migration linked to both the diel and tidal cycles (Taylor 1964; Baillie and Welsh 1980; Edgar and Pickett-Heaps 1984; Mitbavkar and Anil 2004). In intertidal sediments, this motility is a strategy developed by MPB biofilms to colonize the illuminated surface, when light is available (by using upward migration). By contrast, the downward MPB migration often occurs during exposure period (tidal diurnal emersion), which is a strategy that could be used to avoid photoinhibition rapidly due to high light exposure and potential saturation of photosystems (Admiraal 1984; Jesus *et al.* 2005) and to capture remineralized nutrients concentrated in deeper layers of sediment (Orvain *et al.* 2003). Compared to the range of light imposed at the surface of intertidal mudflats that is very much higher than the level of light that could occur in phytoplanktonic photic layer in the water column, the migratory strategy could be the strongest adaptation compared to the other physiological adaptation of diatom cells to limit the impairment due to excessive light, corresponding to modifications in internal chl *a* concentration, pigment composition, active reactional centers number, light harvesting cross section size or to the activation of the xanthophyll cycle (Jesus *et al.* 2005; Serôdio *et al.* 2012; Cartaxana *et al.* 2013). In diatoms, this mobility is associated with the excretion of extracellular polymeric substances (Decho 2000), primarily glycoproteins, which can also be used by bacteria, meiofauna and macrofauna as carbon sources (Middelburg *et al.* 2000) and reinforce the importance of microphytobenthos as food web support.

Because of this large variability at short spatial and temporal scales, accurate measurements of primary productivity require rapidly repeated spatially and temporally closed measurements while avoiding disturbances in the microscopic gradient of the photic zone under the air-sediment interface (Kühl and Jørgensen 1994). However, traditional photosynthesis

measurements using labeled ^{14}C carbon cannot be applied without disturbing natural assemblage and resuspending them in incubators for experiments longer than one hour (Blanchard *et al.* 1996; Underwood and Smith 1998). The turbidity and shading effects of algae make the control of light and its availability for algal cells difficult to accurately estimate in incubators. Moreover, the typical high-resolution variability of benthic primary producers and processes under the influence of natural microscopic gradients in the photic zone cannot be surveyed by such techniques. For this rationale, there has been an increase in research on rapid and non-intrusive methods using oxygen electrodes (Serôdio 2003) and Pulse Amplitude Modulated (PAM) fluorescence (Kromkamp *et al.* 1998; Serôdio 2003; Forster and Kromkamp 2004; Jesus *et al.* 2006), which employs the optical properties of chlorophyll *a* pigments (chl *a*) to enable rapid and remote detection of the MPB photosynthetic activity in these fragile environments (Jesus *et al.* 2006). In fact, this technique has substantial advantages, such as the rapidity and non-intrusive nature of measurements, which facilitates adaptation to the degree of temporal and spatial variability of the MPB communities (Serôdio 2004). PAM techniques are easily deployed in the field, explaining why there is extensive literature using PAM fluorometers (Walz, Germany) in studies of MPB communities (Serôdio *et al.* 1997, 2007; Kromkamp *et al.* 1998; Underwood and Kromkamp 1999; Barranguet and Kromkamp 2000; Serôdio and Catarino 2000; Perkins *et al.* 2001, 2011; Forster *et al.* 2006; Vieira *et al.* 2013; Juneau *et al.* 2015). After a period of darkness imposed to the MPB sample (between 5 and 10 min according to the study), the minimum level of fluorescence F_0 is recorded. Then, in response to a saturating pulse of actinic light (I), (i.e. ambient light or light provided by the fluorometer), the F_M level is recorded, and the first steady-state fluorescence (after a relaxation time) is also recorded after the light saturating flash (F_S). After a time lag (e.g. lasting 30 seconds), the PAM fluorescence method measures a series of $F_S(I)$ and $F_M'(I)$ for increasing light pulses (see Table 1 for definition of F_S and F_M'). From these values, the Electron Transport Rate (ETR) in photosystem II (PSII), which equals the product of apparent or effective photochemical efficiency is calculated $(F_M'(I) - F_S(I)) / F_M'(I)$, multiplied by the incident Photosynthetically Active Radiation (I) and a ETR factor: $\text{ETR}(I) = [(F_M'(I) - F_S(I)) / F_M'(I)] \times I \times \text{ETR factor}$. Since the percentage of absorbed photons by active Photosystem II (PSII) is debatable and can change between species according to Johnsen & Sakshaug (2007) and Schreiber *et al.* (2011), the ETR factor is not considered as a constant value. During the first steps of data treatment of PAM results, ETR can be previously expressed in relative form: $\text{rETR}(I) = [(F_M'(I) - F_S(I)) / F_M'(I)] \times I$. Photosynthetic parameters (rETR_{max} , α and I_{opt}) are

therefore estimated by adjusting the light response of ETR to photosynthetic non-linear models: the Webb *et al.* (1974) model, when there is no decrease of ETR at high levels of ETR achieving to a plateau (rETR_{max}) and the Eilers & Peeters (1988) model, when there is an apparent decrease of rETR after the plateau rETR_{max} at the highest irradiances.

Although fluorescence measurements do not allow direct access to primary production, many studies have shown that it is possible to use the fluorescence approach to accurately estimate the primary production as with other traditional incubation, such as carbon incorporation or oxygen release measurements (Hartig *et al.* 1998; Barranguet and Kromkamp 2000; Serôdio 2003; Morris and Kromkamp 2003; Serôdio *et al.* 2007).

However, PAM measurements should be carefully interpreted as indicated by Vieira *et al.* (2013) for the imaging-PAM. This technique is increasingly used, but imaging fluorometry poses additional problems with the interpretation of the measurements, especially because of the micro-heterogeneity of the benthic habitat, inducing strong effects on light attenuation between sand and mud particles (Kühl and Jørgensen 1994) and vertical profiles of the MPB biomass (Vieira *et al.* 2013), but also because of the micro-topography affecting the incident light to the surface. PAM measurements are actually affected by light attenuation, which is mainly dependent on the vertical profile of chl *a* concentration (self-shading by the MPB positioned in the upper layers), their migration behavior, the grain-size (Kühl and Jørgensen 1994; Forster and Kromkamp 2004; Serôdio 2004), but also more minor factors like the diversity of pigment composition of the MPB species assemblage (diatoms, cyanobacteria, euglenoids) on spectral radiation, the presence of breakdown products of chl *a* (pheopigment as shown by Jesus *et al.* (2006)) and the presence of water, with differences between wet and dry sand (Kühl and Jørgensen 1994). Perkins *et al.* (2011) argued that the application of chlorophyll fluorescence to MPB biofilms is complex as a result of the signal emanating from subsurface cells, vertical cell migration in the sediment matrix, high regulation capacity, chlororespiration in the dark and the effects of the physical structure of the sediment/biofilm matrix (light attenuation by the sediment matrix). Indeed, PAM sends different intensities of actinic irradiance to the photosynthetic cells and measures the downwelling fluorescence signal produced by the cells, allowing a user to estimate the photosynthetic parameters like the photosynthetic efficiency or the ETR (for more details see Webb *et al.* 1974; Eilers & Peeters 1988; Genty *et al.* 1989; Van Kooten & Snel 1990; Kolber & Falkowski 1993). Due to the light attenuation in the sediments, the level of actinic irradiance received by the photosynthetic cells at their vertical position in the sediment photic layer is attenuated with respect to the irradiance received at the exposed surface. This light attenuation also affects the downwelling

fluorescence received at the surface of the sediment will be lower than that the true one emitted by the photosynthetic cells at the vertical position where they are positioned. Usually, what researcher measure are the underestimated 'depth-integrated' measurements from PAM device and may want to estimate the inherent photophysiological properties. This could be done by using numerical estimations of depth-resolved and depth-integrated light as well as fluorescence. Serôdio (2004) and Forster & Kromkamp (2004) demonstrated that it is possible to use 'depth-resolved' and 'depth-integrated' equations to calculate the effects of light attenuation on PAM measurements. These 2 studies agreed with the fact that 40% of error in photosynthetic parameters estimation was found between the measuring values and the corrected ones. These models were applied in study cases by simulating various vertical migratory patterns with the microscopic profile of chl *a* biomass. However, the granulometry of the sediment can also modify the light availability for diatoms in the subsurface (Kühl and Jørgensen 1994; Kühl *et al.* 1994; Jesus *et al.* 2005), but the wide range of natural situations encompassing all types of sand-mud mixture (from pure mud to pure sand) has never been taking into account in the model.

In order to better evaluate *in situ* microphytobenthic inherent photosynthetic parameters in on the field, we started afresh the "depth-resolved" model developed by Serôdio (2004) and Forster & Kromkamp (2004) to provide a data processing tool for field measurement (proposed as a "correction" for irradiance/fluorescence). The PAM fluorescence data were depth-resolved in various types of microalgal repartition (chl *a* vertical profile) and in addition to the sediment granulometry from pure mud to pure sand conditions. Conclusions about the importance of this modification in depth-resolved model for accurate estimation of microphytobenthos photosynthetic parameters are thus put forward. The model has been resumed in order to build a practical numerical tool, whose theory is detailed in this paper and can be used to readjust photosynthetic parameters (proposed as a correction model). Algorithms of the model were performed on Excel (see e-document) and Matlab (available on request) for future corrections of *in situ* measurements for routine applications.

2. Materials and methods

2.1. Step-by-step details of attenuation of irradiance/fluorescence in sediment biofilm (depth-resolution and depth-integration method)

2.1.1. Light attenuation coefficient

The term of light (as well as irradiance) in the subsequent paragraphs refers to the ambient photosynthetically active radiation (PAR). To estimate the light attenuation with depth in the foreshore sediment, a light attenuation coefficient (table 17; k_d ; mm^{-1}) was calculated using the equation provided by Forster & Kromkamp (2004). This equation takes into account the amount of sediment dry weight (PSed) in each depth interval, their specific attenuation value $k_{d(\text{sed})}^*$, the proportion of chl *a* content (PChl *a*) and their specific attenuation coefficient $k_{d(\text{chl } a)}^*$, as:

$$k_{d(z_i)} = \left(\text{PSed}_{z_i} \times k_{d(\text{sed})}^* \right) + \left(\text{PChl}_{z_i} \times k_{d(\text{chl } a)}^* \right) \quad (1)$$

PChl *a* was calculated at each section from cumulative chl *a* concentration (mg m^{-2}) from the surface to the depth (z_i) of the considered section following the equation:

$$\text{PChl } a_{z_i} = \frac{\frac{\text{cumulative Chl } a(z_i)}{-z_i}}{2.9} \quad (2)$$

with z_i the depth of the section in μm , assuming an areal chl *a* concentration value of 29 mg m^{-2} for a depth of $10 \mu\text{m}$ (Forster and Kromkamp 2004), and then 2.9 mg m^{-2} for a depth of $1 \mu\text{m}$.

The reference value of 29 mg m^{-2} (for a layer interval of $10 \mu\text{m}$) represents a maximum theoretical value when the volume of the $10 \mu\text{m}$ layer if Pchl *a* is maximal (=1). It was decided to use the same value as Forster & Kromkamp (2004), which is a little bit higher than the 25 mg m^{-2} of areal chl *a* concentration estimated by Guarini *et al.* (2000) in their dynamic model of MPB primary production, by counting a number of cells per unit area - using scanning electron microscopy pictures. The cumulative chl *a* (mg m^{-2}) was directly calculated from the chl *a* content of each interval from vertical profiles ($\text{chl } a_{z_i}$; $\mu\text{g.gDW}^{-1}$). These values of chl *a* can be obtained by taking minicores on the field which will be directly frozen. Each section can be sliced using a cryotome to measure the dry mass and the chl *a* content. The conversion from $\mu\text{g gDW}^{-1}$ to mg m^{-2} was based on the dry bulk density (g cm^{-3}) and the depth of the section (mm). The fractions PSed_{z_i} (eq. 1) were calculated following the relation: $\text{PSed}_{z_i} = 1 - \text{Pchl}_{z_i}$.

The reference value for chl *a* specific attenuation coefficient of $0.02 \text{ m}^2 \text{ mgchl } a^{-1}$ (Forster and Kromkamp 2004) was used to estimate the depth-resolved attenuation coefficient, $k_{d(\text{chl } a)}^*$ (eq. 1), and a value of 58 mm^{-1} was obtained ($k_{d(\text{chl } a)}^* = 2.9 \text{ mg chl } a \text{ m}^{-2} \mu\text{m}^{-1} \times 0.02 \text{ m}^2 \text{ mg chl } a^{-1} = 58 \text{ mm}^{-1}$). The reference value of specific attenuation coefficient of $0.02 \text{ m}^2 \text{ mg chl } a^{-1}$ was initially based on the table of values for planktonic diatom cells given in Kirk (1983) and confirmed for microphytobenthic diatoms by Forster & Kromkamp (2004)

Similarly, the reference value for sediment specific attenuation coefficient of $0.011 \text{ m}^2 \text{ mgDW}^{-1}$ allowed to obtain a value of 2 mm^{-1} for $k_{d(\text{sed})}^*$ (equation 2) in absence of chl *a* (Forster and Kromkamp 2004). However, in a context of a sand-mud mixture, the value of $k_{d(\text{sed})}^*$ can change with the grain-size composition of sediments (Kühl and Jørgensen 1994) and induce changes in k_{di} values. In the same way that the chlorophyll variation has to be taken into account, it seems necessary to take into account the variation in sediment composition (See Method. 2.2 Model sensitivity to sediment granulometry).

Table 17. Explanations of the photophysiological parameters and notations used in this study.

Parameters	unit	Explanation
I, I_0 I_{zi} I_{opt} I_{opt-c}	$\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	- Irradiance submit at the surface (Photosynthetically Active Radiation) - Irradiance at the depth z_i (Photosynthetically Active Radiation) - Optimal Irradiance for photosynthesis obtained with rETR/I curves (Eilers and Peeters 1988) before and after correction (c) by using the depth-resolved profile of fluorescence.
F_0 F_M	No units	- Minimum fluorescence emitted by a dark-adapted sample ($I=0$) - Maximum fluorescence emitted by a dark-adapted sample ($I=0$)
F_S F_M'	No units	- Steady-state fluorescence emitted by a light-adapted sample (I) - Maximum fluorescence emitted by a light-adapted sample (I)
F_{SE} F_{SR} F_{ME} F_{MR}	No units	- F_S emitted ($_{-E}$) by microphytobenthos pigments - F_S received ($_{-R}$) by the PAM sensor after attenuation of F_{SE} - F_M emitted ($_{-E}$) by microphytobenthos pigments - F_M received ($_{-R}$) by the PAM sensor after attenuation of F_{ME}
$F(I; z)$	No units	- Fluorescence for an irradiance I and a depth z
F_{MET} F_{SET} F_{MRT} F_{SRT}	No units	- Total F_{ME} from all interval of depth - Total F_{SE} from all interval of depth - Total F_{MR} from all interval of depth - Total F_{SR} from all interval of depth
k_d $k_{d(\text{sed})}^*$ $k_{d(\text{chl } a)}^*$	mm^{-1}	- Light attenuation coefficient - specific attenuation coefficient of the sediment particles - specific attenuation coefficient of the chl <i>a</i> pigment
$rETR(I)$ $rETR_{max}$ $rETR_{(max)c}$	$\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	- Relative electron transport rate obtained with PAM measurement - Maximal $rETR(I)$ measured with rETR/I curves (Eilers and Peeters 1988) before and after correction (c) by using the depth-resolved profile of fluorescence.
z_i z_{max}	Mm	- Depth of an sediment layer interval (i) - Maximum depth where fluorescence is detected
α α_c	$\mu\text{mol electrons } (\mu\text{mol photons})^{-1}$	- Maximum light efficiency measured with rETR/I curves (Eilers and Peeters 1988) before and after correction (c) by using the depth-resolved profile of fluorescence
δ	%	- Percentage of correction after model application
NPQ(I)	Fluorescence Ratio	- Non-photochemical quenching

2.1.2. Irradiance correction

The irradiance from ambient photosynthetically active radiation (PAR) as well as light emitted by the PAM fluorometer and discerned by the microphytobenthos can be considered as attenuated beam from above due to the successive layers of sediment and by the superficial biofilms according to the attenuation coefficient k_d (Eq. 1). The actual irradiance, which is detected by deep MPB cells can be expressed at each distance from the surface using the Beer-Lambert equation as:

$$I_{zi} = I_0 \times e^{k_{d(zi)} \times z_i} \quad \text{and so} \quad kd_{zi} = \frac{\ln\left(\frac{I_0}{I_{zi}}\right)}{z_i} \quad (3)$$

With I_0 the irradiance submitted at the surface in $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $k_{d(zi)}$ the light attenuation coefficient in mm^{-1} (eq. 1) and z_i (mm) the depth of the considered section.

2.1.3. Fluorescence correction

For an irradiance (I) sent by a PAM device (PAR) and received by the MPB pigments, the photosynthetic apparatus performs fluorescence emission (the suffix F-E for **E**mitted fluorescence will be used to express this step), which is measured by the PAM device. However, the measured value (the suffix F-R for **R**eceived fluorescence will be used to express this step) is attenuated for the same reason as the irradiance, but from a signal coming from the depth this time.

It can be recalled that PAM sends a “measuring light” to estimate the minimum fluorescence (F_0), different intensity pulses of saturating light to estimate maximum fluorescence values (F_M or F_M') and actinic lights to estimate steady-state fluorescences (F_S) (Van Kooten and Snel 1990). Using the measured fluorescence, the PAM method makes it possible to estimate a relative electron transport rate (rETR; $\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) for each level of actinic irradiance (I; $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) calculated as follows:

$$\text{rETR}(I) = \frac{F_M'(I) - F_S(I)}{F_M'(I)} \times I \quad (4)$$

In the same way as the irradiance, in order to obtain the actual rETR(I) profile on the depth, these fluorescence values must be corrected as a function of the real irradiance I_{zi} (eq. 3) received by the MPB cells, by regarding the attenuation of fluorescence along the sediment layers.

The non-linear relationship between irradiance and fluorescence is required, in order to evaluate the actual values of steady-state fluorescence emitted (F_{SE}) for each irradiance subjected to each depth (I_{zi}). Thus, the polynomial trend line of the F_S versus I curve measured by the PAM device at surface was plotted and fitted to extract the coefficients (a , b , c and d) of the polynomial regression (fig. 41).

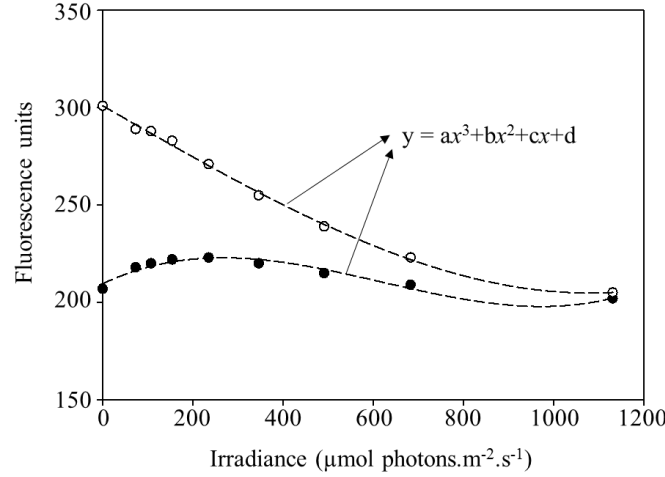


Figure 41. Plot of the stable (F_S ; black circles) and maximum (F_M ; empty circles) fluorescence values as a function of the different irradiance values sent by the PAM device (ordinates). Values were chosen as a function of the curve profile and obtained from PAM measurement performed on MPB biofilm from an intertidal mudflat (Baie des Veys, France). The relations were fitted using a polynomial trend ($y = ax^3 + bx^2 + cx + d$) in order to estimate the F_{SE} and F_{ME} values using the real irradiance received by the cells (I_{zi}).

Then, for each I and for each z , the steady-state fluorescence emitted by the microphytobenthos, $F_{SE}(I_{zi}; z_i)$, was calculated with the polynomial coefficients and the values of the actual irradiance received I_{zi} :

$$F_{SE}(I_{zi}; z_i) = (a \times I_{zi}^3 + b \times I_{zi}^2 + c \times I_{zi} + d) \times \frac{I_{zi} \times \text{Chl } a(z_i)}{I_T} \quad (5)$$

Where I_T was, for an initial irradiance I_0 , the sum of the new irradiances calculated (I_{zi}) received and used by the chl a content ($\text{mgchl } a \text{ m}^{-2}$) for each interval (di) calculated as follows:

$$I_T = \sum_i (I_{zi} \times \text{chl } a(z_i) \times di) \quad (6)$$

Next, the steady-state fluorescence measured by the PAM (F_{SR}) corresponds to the integration of these F_{SE} after an attenuation by sediment layers and biofilms (fig. 42). So, the $F_{SE}(I_{zi}; z_i)$ values were used to estimate the F_{SR} at each depth as follows:

$$F_{SR}(I_{zi}; z_i) = F_{se}(I_{zi}; z_i) \times e^{kd_{zi} \times z_i} \quad (7)$$

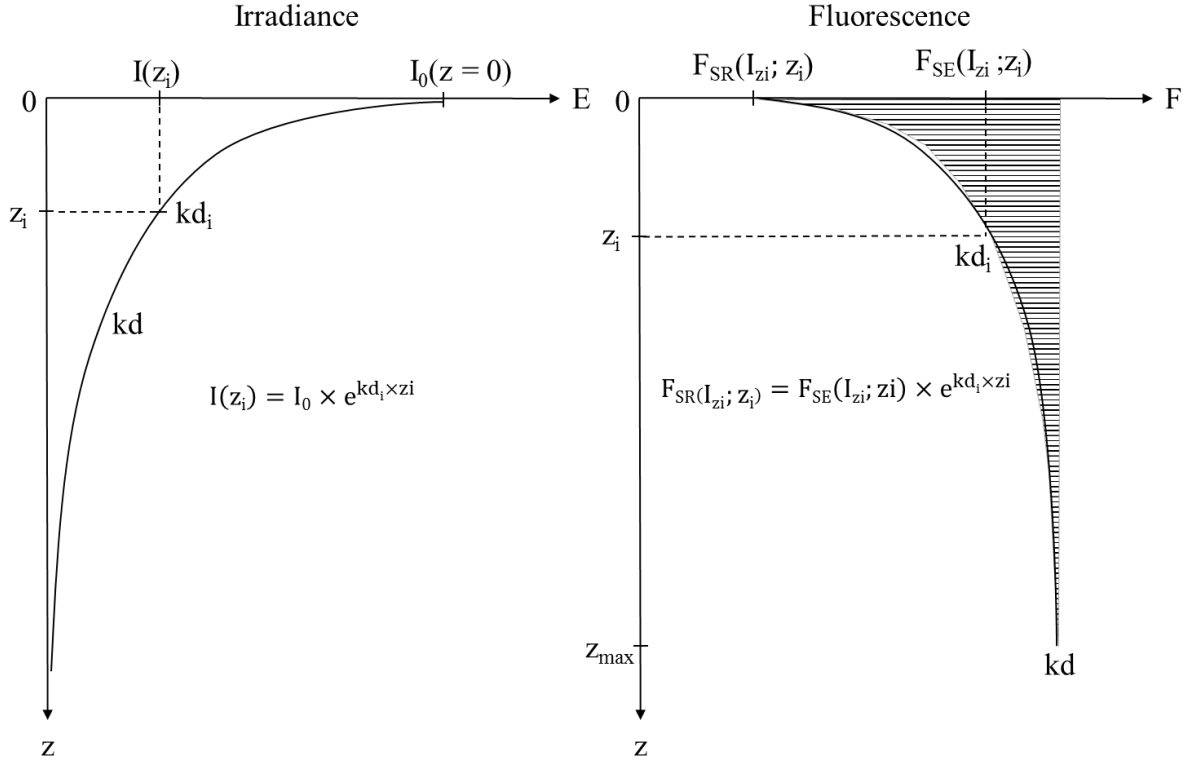


Figure 42. Illustration of terms used in equations 3 and 7. The irradiance received at each depth z_i (I_{z_i}) by the microphytobenthic cells is an attenuated value from the real irradiance at the surface (I_0) following a light attenuation coefficient (k_d) which can differs with light, biomass repartition and sediment type. In the same way, the level of fluorescence, $F_{SR}(I_{z_i}; z_i)$, at the surface is an attenuated values from the real fluorescence emitted by undisturbed microphytobenthos biofilms $F_{SE}(I_{z_i}; z_i)$ from depth following the same attenuation coefficient (figure directly taken and modified from Serôdio (2004)).

The F_S value, measured by the PAM device represents the integration over depth of the actual emitted steady-state fluorescence (F_{SE}), and these are attenuated when the beam returns from the depth to the surface (F_{SR}) as follows:

$$F_{SRT}(I) = \int_0^{z_{max}} F_{SR}(I_{z_i}; z_i) dz_i \quad (8)$$

, where z_{max} is the maximum depth at which the microphytobenthos can detect the downwelling beam under the surface and dz_i the interval of depth where the fluorescence was emitted by chl *a* pigments.

In the dark ($I = 0$), the fluorescence values $F_{SE}(I_0, z_i)$ cannot be evaluated by this method, relying on irradiance. These initial values were therefore extrapolated from the three-order polynomial trend lines of $F_{SE}(z_i)$ versus I_{z_i} curves (from equations 3 & 5). Thus, the polynomial equation was used to estimate the initial F_{SE} of the depth considered in the dark ($I=0$) equal to the coefficient d from the polynomial trend ($y = ax^3 + bx^2 + cx + d$) (fig. 43).

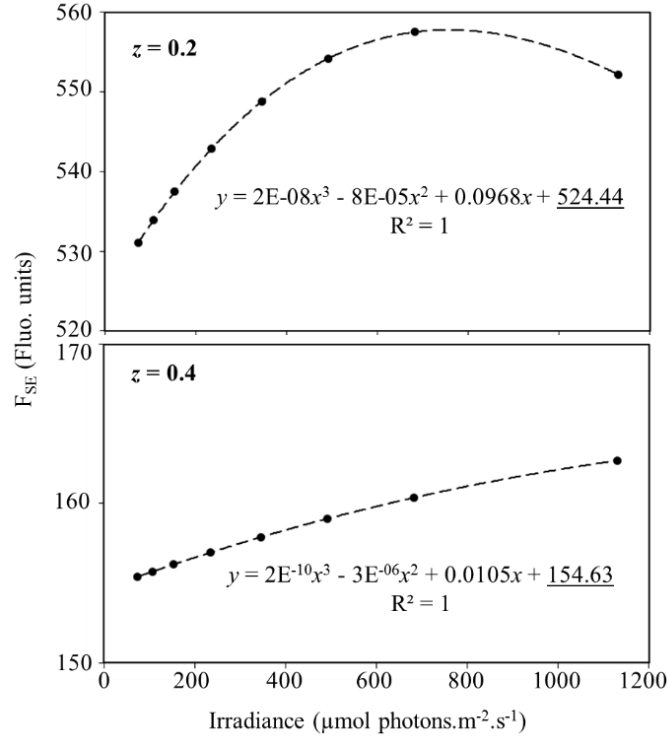


Figure 43. Plot of the steady state fluorescence (F_{SE} ; black circles) emitted as a function of the different irradiance values sent by the PAM device (ordinates) for a defined depth ($z = -0.2$ mm on top and $z = -0.4$ mm on down). The relations were fitted using a polynomial trend ($y = ax^3 + bx^2 + cx + d$) in order to estimate the F_{SE} values for $I=0$ considered as equal to the coefficient d from the polynomial trend.

Due to the effects of the attenuation of light, the value F_{SRT} is greater than the fluorescence actually measured at the surface by the PAM (F_S). Thus, for each $F_{SE}(I_{zi}; z_i)$, a coefficient $\omega(I)$ was calculated (eq. 9) and each profile of $F_{SE}(I_{zi}; z_i)$ and $F_{SR}(I_{zi}; z_i)$ were corrected (equation 10 & 11) :

$$\omega(I) = \frac{F_{SRT}(I)}{F_S(I)} \quad (9)$$

$$F_{SE}(I_{zi}; z_i)c = F_{SE}(I_{zi}; z_i) \times \omega(I) \quad (10)$$

$$F_{SR}(I_{zi}; z_i)c = F_{SE}(I_{zi}; z_i)c \times e^{kd_{zi} \times z_i} \quad (11)$$

The same steps (eq. 5 tot 11) were applied to calculate the maximal fluorescence, F_M .

The actual minimal (F_0), the steady-state (F_{SE}) and the maximum (F_{ME}) fluorescences emitted by the MPB before the attenuation were thus used to calculate the "depth-resolved" corrected $rETR_c(I_{zi}; z_i)$ at each depth interval and each PAR irradiance level:

$$rETR_c(I_{zi}; z_i) = \frac{F_{ME}(I_{zi}; z_i)c - F_{SE}(I_{zi}; z_i)c}{F_{ME}(I_{zi}; z_i)c} \times I_{zi} \quad (11)$$

For each irradiance level of PAR, the new corrected F_S and F_M (F_{SET} and F_{MET}) were used to estimate the actual 'depth-integrated' $rETR(I)$ of the sample:

$$rETR_c(I) = \frac{F_{MET}(I)c - F_{SET}(I)c}{F_{MET}(I)c} \times I \quad (12)$$

After consideration of the spectral quality of k_d , the fluorescence attenuation is higher than the PAR attenuation, as shown by Kühl *et al.* (1994). Serôdio (2004) considered separated values of attenuation coefficients for irradiance and fluorescence. Following the approach by Forster & Kromkamp (2004), it was decided not to use separated values of fluorescence and PAR attenuation, because the value of fluorescence in depth is estimated as function of irradiance by using a polynomial equation (figures 42 & 43) that actually accounts for these spectral differences.

2.1.4. P vs. E curves

Each $rETR(I)$ initially measured and $rETR_c(I)$ estimated after correction (i.e. depth-resolved and depth-integrated) were plotted as a function of the level of irradiance (I). To estimate the photosynthetic parameters, the mechanistic model of Eilers & Peeters (1988) was applied to these experimental data:

$$rETR(I) = \frac{I}{(aI^2 + bI + c)} \quad \text{and} \quad rETR_c(I) = \frac{I}{(a_c I^2 + b_c I + c_c)} \quad (13)$$

Thereby, the maximum photosynthetic capacity ($rETR_{max}$) and the low maximum light utilization efficiency (α) were calculated for the values before and after the correction (with the subscript c) as follows:

$$rETR_{max} = \frac{1}{(b + 2\sqrt{ac})} \quad \text{and} \quad rETR_{max-c} = \frac{1}{(b_c + 2\sqrt{a_c c_c})} \quad (14)$$

$$\alpha = \frac{1}{c} \quad \text{and} \quad \alpha_c = \frac{1}{c_c} \quad (15)$$

$$I_{opt} = \sqrt{\frac{1}{\alpha \times a}} \quad \text{and} \quad I_{opt-c} = \sqrt{\frac{1}{\alpha_c \times a_c}} \quad (16)$$

2.1.5. Non-photochemical quenching

The corresponding heat dissipation of the excess absorbed light energy can be estimated from the non-photochemical quenching (NPQ) of chl *a* fluorescence (Serôdio and Lavaud 2011; Chukhutsina *et al.* 2014), which were adjusted at each depth and for each irradiance as follows:

$$\text{NPQ}(I_{zi}; z_i)c = \frac{F_{ME}(I=0; z_i)c - F_{ME}(I_{zi}; z_i)c}{F_{ME}(I_{zi}; z_i)c} \quad (17)$$

And, so on, the NPQ at each irradiance level as:

$$\text{NPQ}(I)c = \frac{F_{ME_T}(I=0)c - F_{ME_T}(I)c}{F_{ME_T}(I_{zi})c} \quad (18)$$

2.2. Model sensitivity to sediment granulometry

The sensitivity of the model to the $k_{d(\text{sed})}^*$ variability and the shape of the chl *a* profile was evaluated in theoretical study cases. A typical fluorescence data set exhibiting an apparent decrease at high irradiance level was used (table 18). The polynomial trends of this fluorescence dataset ($ax^3 + bx^2 + cx + d$; fig. 41) used in eq. 5 were estimated for F_S ($a = -3.97 \times 10^{-8}$; $b = -2.87 \times 10^{-6}$; $c = -0.13$; $d = 301.04$; $R^2 = 0.997$) and F_M ($a = 1.42 \times 10^{-7}$; $b = -0.0003$; $c = 0.11$; $d = 209.56$; $R^2 = 0.910$).

Table 18. Reference data set from PAM measurements exhibiting an apparent decrease at high irradiance level ($> 400 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Values were choose as a function of the curve profile and obtained from PAM measurement performed on MPB biofilms from an intertidal mudflat (Baie des Veys, France). **I** is the irradiance submitted to the sample, **F_S** the steady-state fluorescence and **F_M** the maximal fluorescence measured at each irradiance

I	0	73	107	154	235	346	491	683	1131
F_S	207	218	220	222	223	220	215	209	202
F_M	301	289	288	283	271	255	239	223	205

To consider the sensitivity of the model to typical profiles of chl *a* content, 3 study cases were proposed: a linear profile (fig. 44-1), a profile with a peak of chl *a* at subsurface (2 mm; fig. 44-2), and a profile with an established MPB biofilm (fig. 44-3).

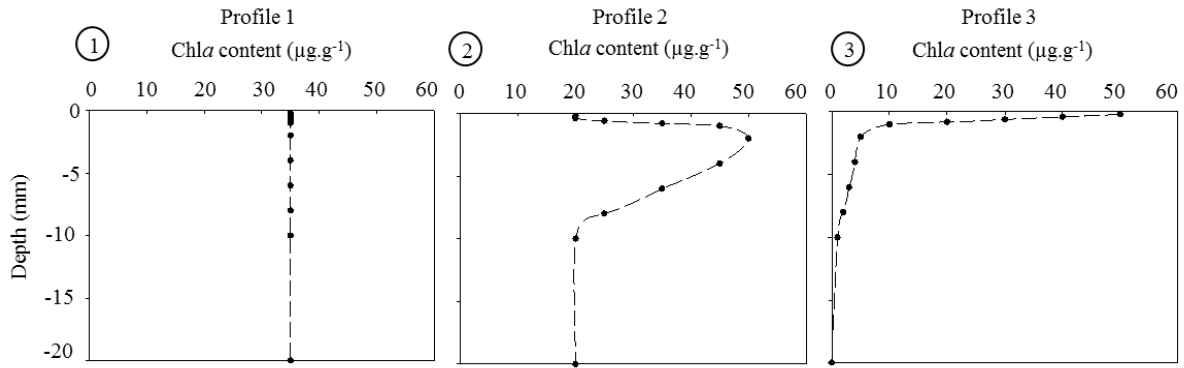


Figure 44. Profiles of the vertical repartition of chlorophyll *a* used in the theoretical simulation of the fluorescence correction with a linear profile (1), a profile with a peak of chl *a* at -2 mm of the surface (2), and a profile with an established MPB biofilm in surface (3).

To account for the chl *a* specific "self-shading" of the light attenuation $k_{d(chl\ a)}^*$, we tested different types of chl *a* depth profiles (fig. 44). Chl *a* depth profiles can change on intertidal flats from a uniform vertical distribution typical of sandier sites, to chl *a* being strongly accumulated in the uppermost layer of 500 μm in muddier sites (Kühl and Jørgensen 1992; Barranguet and Kromkamp 2000; Jesus *et al.* 2006). At the beginning of immersion periods (the first 30 minutes), it has been shown in muddy sediments that MPB chl *a* is more concentrated in subsurface layers (with a peak at 1-2 mm) and this situation is also encountered at the end of immersion period, before the flow return (the last 30 minutes). The typical scheme of MPB migration is clearly responsible for these succeeding steps of chl *a* vertical distribution (Serôdio *et al.* 1997; Blanchard *et al.* 2001; Orvain *et al.* 2003). In nature, MPB biofilm can also tend to migrate downward very rapidly during immersion periods, when rain occurs (Perkins *et al.* 2003). The proposed scenarios of chl *a* distribution are thus representative of these typical situations with : (i) homogeneous profile representative of sandy sediments (but also, the case of recently deposited fluid layers of mud); (ii) MPB chl *a* values concentrating in the uppermost layer in the middle of immersion diurnal period in sunny conditions (Dupuy *et al.* 2014); (iii) MPB chl *a* accumulating in subsurface with a peak at 1 mm of depth, a situation representative of the 30 first minutes and the 30 last minutes of immersion period, but also the middle of immersion periods, in case of rainfall (Tolhurst *et al.* 2003).

To account for the influence of the sediment specific attenuation $k_{d(sed)}^*$ variation in numerical simulations, we used a minimum value of 1 mm^{-1} representative of the low attenuation in sandy sediments and a maximal value of 4 mm^{-1} representative of the high attenuation in muddy sediments. These values were closed from the values found by Kühl & Jørgensen (1994) for dry sand and diatoms. The values of light attenuation coefficient for non-colonized sediments were measured by Kühl & Jørgensen (1994) with various sediments from

wet sand to pure mud. The estimated values were of 3.46, 1.64, 1.60 and 0.99 mm⁻¹ for different particle size of > 63, 63-125, 125-250 and 250-500 µm, respectively. We have chosen 2 extreme values of the range of sediment grain size, by choosing a value of 1 mm⁻¹, typical of muddy sediments and 4 mm⁻¹, typical of fine sand. Compaction degree can also make change the attenuation coefficient, in relation to water content rapid variation due to consolidation during immersion periods (Jesus *et al.* 2006). Six theoretical scenarios were tested by crossing the 2 factors: $k^*_{d(sed)}$ and the shape of the chl *a* profile (table 19).

Table 19. Characterization of the six different scenarios used in the sensitivity exercises on the correction model. With potential minimal (1 mm⁻¹) and maximal (4 mm⁻¹) values for the sediment specific attenuation coefficient ($k^*_{d(sed)}$) and three typical profiles of chl *a* content (fig. 44).

Scenario	Value of $k^*_{d(sed)}$	Typical chl <i>a</i> profile
1	1	Homogeneous (fig. 44-1)
2	4	Homogeneous
3	1	Subsurface peak (fig. 44-2)
4	4	Subsurface peak
5	1	Established MPB biofilm (fig. 44-3)
6	4	Established MPB biofilm

3. Results

In all study cases, corrected rETR values (rETR_c) were consistently higher than those measured initially, showing an underestimation of this parameter without application of the correction model. In addition, the corrected NPQ was not affected by the correction, with a typical saturation effect in response to excessive light by following a sigmoidal pattern (fig. 45).

For the photosynthetic efficiency (α ; µmol electrons m⁻² s⁻¹ (µmol photons m⁻² s⁻¹)⁻¹), the highest correction was estimated with profile 2 corresponding to a biomass peak under the sediment layer at 2 mm in subsurface and for both $k^*_{d(sed)}$ (39.04% in sand: scenario 2 and 53.11 % in mud: scenario 5; table 20). The lowest correction of α was estimated for an established MPB biofilm, which colonized the top layer of 1000 µm with a steep chl *a* gradient (Scenario 3 in the sand with 19.09% and scenario 6 in the mud with 39.13%). The depth-integrated model showed a significant correction for α with an average value of 38.98 ± 10.86% of difference after correction. The corrected α were always higher than those measured which showed an underestimation of photosynthetic efficiency without correction. Consideration of $k^*_{d(sed)}$ was very important for the correction of α which showed corrected values from 13.90 to 20.04 % higher in the mud than in the sand (table 21).

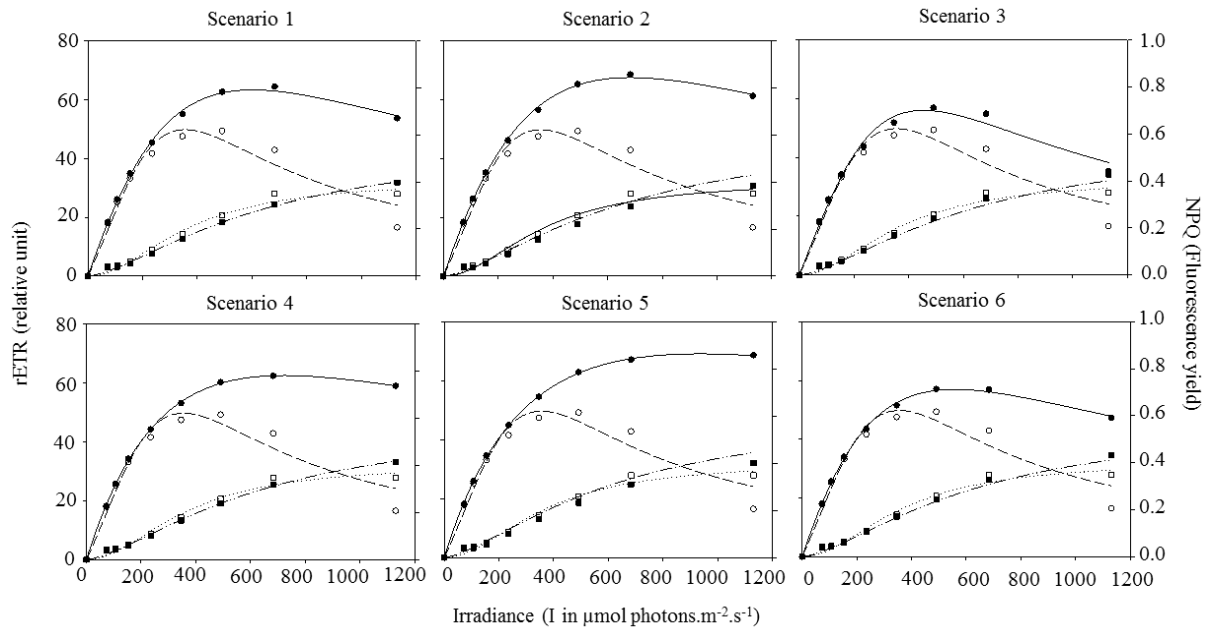


Figure 45. Comparison of the general effects of depth integration model on light-response curves of rETR (circle; $\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and NPQ (square; fluorescence yield) curves between 6 scenarios. The 6 scenarios were organized to compare the effect of the type of sediment (scenarios 1, 2, and 3 with sand ($k_d = 1 \text{ mm}^{-1}$), and scenarios 4, 5, and 6 with mud ($k_d = 4 \text{ mm}^{-1}$) and the type of vertical profile of chl *a* biomass with a homogeneous profile (scenarios 1&4), a vertical profile with chl *a* peaking at subsurface layers (scenarios 2&5) and a constituted MPB biofilm peaking at the surface (scenario 3&6). The curves are plotted to show the difference before (empty symbols) and after (filled symbols) correction by the light-fluorescence attenuation model.

Table 20. Values of the photosynthetic parameters extract using the Eilers & Peeters (1988) fit with photosynthetic efficiency (α), relative maximum electron transport rate ($rETR_{\text{max}}$) and the optimal light for photosynthesis (I_{opt} ; $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) before and after application of our corrective model. Variation coefficients (δ in %) of each parameter are given to evaluate the difference before and after correction and their average values ($\pm$ SD).

Scenarios	Before correction			After correction				
	α	$rETR_{\text{max}}$	I_{opt}	α	δ_{α}	$rETR_{\text{max}}$	$\delta_{rETR_{\text{max}}}$	I_{opt}
1	0.20	49.85	354.40	0.27	34.79	63.35	27.08	602.01
2				0.28	39.04	67.64	35.69	683.00
3				0.24	19.09	55.95	12.23	454.38
4				0.30	48.69	62.72	25.82	723.46
5				0.30	53.11	69.35	39.11	935.10
6				0.28	39.13	57.02	14.39	558.39
Mean $\pm$ SD				38.98 $\pm$ 10.86		25.72 $\pm$ 9.92		86.06 $\pm$ 42.51

Table 21. Percentage of difference between the corrected values in sand ($k_d = 1$) and the corrected values in mud ($k_d=4$). The percentages were calculated by subtraction of the variation coefficient in mud (δ in %) to the one in sand (table 4).

Typical chl <i>a</i> profile	scenarios	Differences between $k_d = 1$ and $k_d = 4$		
		α	$rETR_{\text{max}}$	I_{opt}
Homogeneous (fig. 2-1)	1 & 4	+13.90	-1.25	+34.27
Subsurface peak (fig. 2-2)	2 & 5	+14.06	+3.42	+71.14
Established biofilm (fig. 2-3)	3 & 6	+20.05	+2.16	+29.35

For the maximum relative electron transport rate ($rETR_{max}$; $\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), the smallest correction (tab. 20; 12.23 %) was observed for the sandy environment with an established biofilm (scenario 3). The highest correction (39.11 %) for a muddy environment associated with a profile with a biomass peak at the subsurface, which may occur during upward or downward migration (Scenario 5). Although the 2 factors (chl *a* profile and $k^*_{d(sed)}$) played a significant role in estimating the relative maximum electron transport rate, the fluorescence correction for this parameter was more sensitive to the vertical pattern of chl *a* compared to the $k^*_{d(sed)}$ effect. In our simulation, the variation of $k^*_{d(sed)}$ induced a correction percentage as a function of the considered $k^*_{d(sed)}$, which differed from -1.25 to 3.42 % (table 21).

For the optimum irradiance for photosynthesis (I_{opt}), the correction percentage was highest with mean correction percentage values of 86.06 ± 42.51 % greater than the estimated values of the fluorescence measured. The highest correction (163.85 %) was recorded in muddy sediment with a profile of biomass culminating in the subsurface (profile 5; table 20) while the lowest (28.21 %) was recorded in sandy sediment for an established MPB biofilm (profile 3; table 20). The difference between the corrections for the same profile with different $k^*_{d(sed)}$ varied from 29.35 % for profile 3 to 71.13 % for profile 2 always higher in a muddy environment (Table 21).

For all the scenarios, apparent photoinhibition (at saturating irradiances) was reduced to some extent, and sometimes totally disappeared (fig. 45; scenario 5). In the first part of the $rETR-I$ curves ($< 400 \mu\text{mol hv.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), the six simulations (either with or without correction) were very similar and the differences were highest with increasing irradiance values.

The model detailed in this paper also allowed us to estimate the photosynthetic parameters on each depth layer. Because the trends were the same for each scenario, this step was carried out, by way of illustration, on the reference curve with an intermediate value of $k^*_{d(sed)} = 2 \text{ mm}^{-1}$ and with a typical structured MPB biofilm, which is the most similar situation to those encountered in tidal flat (Forster and Kromkamp 2004; Jesus *et al.* 2006). After correction by the integrated depth model, each depth interval showed a different trend (Fig. 46). The influence of light can be observed at each distance from the surface down to the base of the photic layer of sediments (4 mm in our simulations, where tests were carried out up to 2 cm).

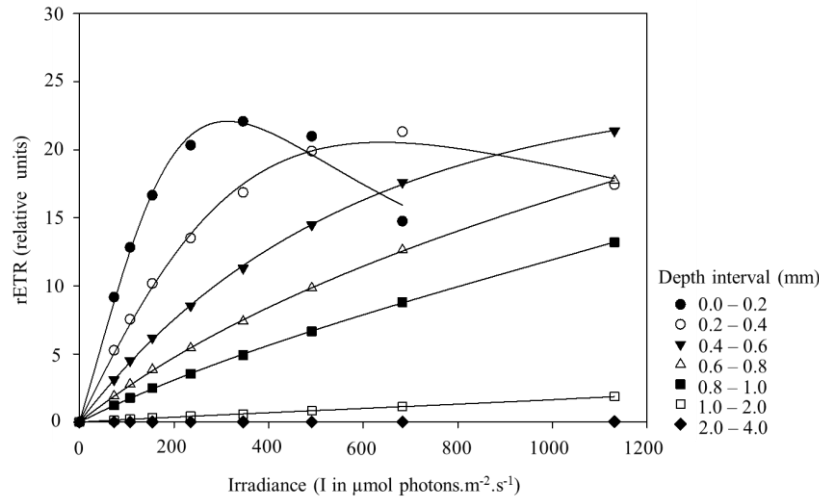


Figure 46. Fine scale vertical pattern of light curves of rETR curves for an established biofilm and a moderate attenuation coefficient ($k^*_{d(sed)} = 2 \text{ mm}^{-1}$). Values of rETR (relative units) were plotted against the irradiance ($\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) at different depths intervals from 0 – 0.2 mm to 2.0 – 4.0 mm (see legend).

As expected, the layer with the highest photosynthetic efficiency ($\alpha = 0.12$, table 22) was located at the surface layer (0-200 μm) and this parameter decreased with depth to zero at 4 mm. A dramatic decrease in this parameter can be observed after the distance of 1 mm ($\alpha = 0.002$) from the sediment surface. A significant change in I_{opt} also appeared between the different layer positions. This parameter was minimal for the first surficial layer (312.51 $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) and increased with depth. In deep layers ($> 0.6 \text{ mm}$), this parameter was higher than the maximal light tested (1200 $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) and though all fitted curves were well adjusted ($R^2 > 0.98$), the parameter cannot be estimated accurately. The $rETR_{max}$ was also affected by the attenuation of light in the first layers and decreased with depth. Photoinhibition was observed only in the first 2 upper 200 μm sections, but to a lesser extent in the second layer.

Table 22. Values of the photosynthetic parameters extract using the Eilers & Peeters (1988) fit with photosynthetic efficiency (α), relative maximum electron transport rate ($rETR_{max}$) and the optimal light for photosynthesis (I_{opt} ; $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) after application of our corrective model on each interval of depth (mm).

Depth interval (mm)	0.0 - 0.2	0.2 - 0.4	0.4 - 0.6	0.6 - 0.8	0.8 – 1.0	1.0 – 2.0	2.0 - 4.0
α	0.117	0.072	0.043	0.027	0.017	0.002	0.000
$rETR_{max}$	22.11	20.55	23.63	17.93	11.21	1.52	0.02
I_{opt}	312.51	639.87	2142.36	2775.17	2239.77	2278.58	2181.73

In proportion of the light received at each position, the non-photochemical quenching (NPQ) followed the same tendency as the photosynthetic efficiency with a gradual decrease from the upper layer to the depth of 4 mm where the NPQ values were minimal.

4. Discussion

Forster & Kromkamp (2004) stressed that variable fluorescence measurements are reliable for quantifying photosynthesis-irradiance curves in order to estimate primary production rates in microphytobenthic biofilms from tidal flats, when caution is taken to consider the fine-scale of the depth distribution of microalgae. The advantage of the fluorescence method is to estimate the rates of photosynthesis for intact biofilms in a vertical structure of natural sediment and by giving the opportunity to multiply measurements to explore frequent temporal and spatial variability in response to environmental factors, as the response to biochemical fluxes of nutrient uptake and interaction with other ecosystem engineers like macrofaunal bioturbators. Perkins *et al.* (2011) reviewed the issues and difficulties in interpreting fluorescence yields in biofilm where cells are capable of rapid and sometimes deep migratory rhythms. Indeed, light is clearly established as the main stimulus that microphytobenthic cells can manage through behavioral responses (migration) and physiological strategies implying the NPQ induction (Mitbavkar and Anil 2004; Perkins *et al.* 2011; Laviale *et al.* 2016). In this work, we focused on the dependence of light attenuation to decipher the factors responsible for changes in the light attenuation coefficient (k_d).

Our results confirm that the chl *a* profile that can differ in many forms at depth (homogeneous or established MPB biofilm, peak of biomass in sub-surface and many others) play a key role in mitigating light attenuation with depth and therefore correction of the ETR/I curves. Indeed, we shown that, depending on the profile considered, the uncorrected underestimation was between 19.09 and 53.11 % for α , between 28.21 and 163.85 % for I_{opt} , and between 12.23 and 39.11 % on average for $rETR_{max}$, which is in line with Serôdio's assertion (2004) and were also confirmed by Forster & Kromkamp (2004). The situation with maximum chl *a* in subsurface layers, being the most subject to a high bias, while the lowest correction values were always recorded for the profile with an established MPB biofilm. The homogeneous profile always has intermediary values. In addition to reaffirming the importance of correcting the initially measured data, confirmed by very high minimum corrections percentages, this work reinforces the importance of taking into account variations in chl *a* distribution with depth. This confirms other works (Kühl and Jørgensen 1992; Forster and Kromkamp 2004; Serôdio 2004; Forster *et al.* 2006; Jesus *et al.* 2006), demonstrating that measuring the vertical profile of chl *a* is one of the main variables responsible for vertical stratification of primary production rates. Although the refined vertical profile may be difficult

to measure in routine surveys, we recommend systematic measurements to couple fluorescence data with the concentration of chl *a* in the photic layer, using, for instance, the “crème-brûlée” technique (Laviale *et al.* 2015) or cryolanding techniques (De Brouwe and Stal 2001; Kelly *et al.* 2001). The "crème brûlée" technique was developed to measure the chl *a* concentration in the 0-200 μm depth layer. Combined with the value of 0-1 cm chl *a* concentration, it should be possible to imagine the shape of a chl *a* concentration profile, even if the level of vertical resolution is minimum in such case.

Apart for the importance of chlorophyll distribution in correcting the fluorescence measurements already demonstrated, this work shows that it is also important to take into account the variability in sediment structure when a light attenuation coefficient is estimate. Indeed, we have shown that, depending on the specific attenuation coefficient of the sediment particles considered ($k_{d(\text{sed})}^*$ of 1 mm^{-1} for the sand and 4 mm^{-1} for the mud), the underestimation without correction can differ for the same profile of chl *a* between -1.25 and 3.42 % for $rETR_{\text{max}}$, between 13.90 and 20.05 % for α and between 29.35 and 71.14 % for I_{opt} . Thus, with the exception of the $rETR_{\text{max}}$ in a sandy environment with a homogeneous profile, the correction were always higher in a muddy environment for each parameter. Those results confirm a significant role of the variability of $k_{d(\text{sed})}^*$ in light attenuation with depth and underline the error that can be made by taking a constant value of this parameter in the calculation of the coefficient of light attenuation (k_d) (equation 1). Indeed, the intertidal ecosystems are often characterized by heterogeneities and mixed sediments with sand and mud (Orvain *et al.* 2012; Ubertini *et al.* 2012) and the variation of $k_{d(\text{sed})}^*$ can quickly change with the sand-mud mixture (Kühl and Jørgensen 1994). Although the sediment structure and the distribution of chlorophyll with depth can be related (Jesus *et al.* 2006) the correction cannot be applied simply by evaluating the concentration of chl *a* in the upper layers and generalization solely according to type of sediment cannot be made either. Thus, sediment size particle analysis should also be quantified and put in relationship with the $k_{d(\text{sed})}^*$ to apply more robust corrections of light penetration and avoid systematic underestimation, and especially in environments containing fine particles where the correction will be greater. This paper mainly proposes algorithms available for readers to apply these calculations easily and for large data sets (see e-document in Excel; a Matlab version can be also provided on request).

The present results have several implications for the interpretation of microphytobenthic photosynthetic response to variability of light. Beyond the confirmation that the photosynthetic parameters ($rETR_{\text{max}}$, α , and I_{opt}) are underestimated (up to 50% for α , 40 % for $rETR_{\text{max}}$ and 165% for I_{opt}), our study underlines the role played by nature of sediment. In accordance with

previous studies (Forster and Kromkamp 2004), light curves derived from deep-integrated measurements showed a true ecophysiological response with fewer photoinhibition mechanisms than apparent raw fluorescence data. The decrease of ETR under high light may be due to fast-reversed down-regulation (qE, xanthophyll cycle). Photosystem II and xanthophyll cycle pigments are the main physiological mechanisms that are involved in the photoprotection of epipelagic benthic diatoms subjected to excessive saturating irradiance (Cartaxana *et al.* 2013). This study reveals that PAM measurements, when not corrected by light attenuation at depth, can cause artificial reduction of ETR at saturating light, generally interpreted as evidence of photoinhibition. Indeed, this reduction no longer appears after correction of the raw fluorescence data. This result reinforces the role played by migratory behavior by avoiding excessive light saturation and the remarkable adaptation fitness of these diatoms to sediment matrix environment (Barnett *et al.* 2015). Physiological photoprotection is a complementary process that can be deployed by benthic diatoms to better withstand high doses of light. Migration, however, must be the most efficient process and probably the best strategy to avoid surpassing energy costs such as activation of the xanthophyll cycle. Cartaxana *et al.* (2011) showed the prevalence of migration for benthic diatoms to protect against high light, for epipelagic diatoms inhabiting muddy sediments, while physiological protection strategies are exclusive in sandy sediments. Our study emphasizes the different penetration of light between mud and sand and it appears in this study that correction (i.e. depth-resolved and depth-integrated fluorescence) could be applied for readjusting photosynthetic parameters in both environments because distortion can be observed, whatever the granulometry.

This paper strengthens the applicability of the fundamental scientific findings of the past decades on the importance of accounting accurately for irradiance, when the role of light in photobiological processes in sediments is investigated. The proposed corrections in this study as function of chl *a* depth profiling and granulometry are the most relevant factors affecting light penetration, but this model can still be refined in perspectives for future studies. For instance, Perkins *et al.* (2011) clearly stated that PAM is intrusive in terms of rapidly exposing cells to darkness during some minutes and by exposing cells to drastic irradiance exposures which could artificially initiate migrations due to photoinhibition or photo-kinesis. For instance, Serôdio *et al.* (1997) employed a PAM fluorescence survey to demonstrate the chronobiological migration of MPB. The measurement of F_0 (fluorescence in darkness) could be surveyed in parallel to better detect the potential artificial migratory provoked by the exposition to darkness. Similarly, as biofilms are very static and patchy, a subsample core in nearby area might not be

accurate for chl *a* profiling across depths for the actual sampled area with the PAM. We recommend taking samples in the very close vicinity of the experimented area with the PAM. The estimation of light attenuation exerted by sediment composition could also be improved by new measurements of light attenuation in a range of sand-mud mixture and various mineralogical composition. Similarly, the distance crossed by the photons in air can be affected by a specific attenuation before reaching the sediment surface. This is very relevant the distance between the optic fiber and the air-sediment interface to be controlled, but also the angle of actinic light at the sediment surface could interact (Perkins *et al.* 2011). This specific issue could contribute to the difficulties in using the imaging-PAM fluorometer, since 3D microtopography can modify the 3D field of distances crossed by photons in the air. New numerical equations could thus be developed to account for the light attenuation in the air, if microtopography is measured in parallel.

The role of chl *a* depth profiling is the major process controlling the light attenuation in the sediment euphotic layer. However, the presence of breakdown products (i.e. photo-oxidized chl *a* after grazing by deposit-feeders, for instance) can also induce the accumulation of pheopigments that could be also implied in k_d changes. The amount of EPS produced by diatoms during MPB migration, even if these substances are generally considered as transparent (Decho 1990), could also induce specific light attenuation. The presence of accessory pigments (carotenoids, phycobiliproteins), depending on the composition of the multispecific assemblage of the biofilm, could also be taken into account, by using field spectro-radiometer sensor or extraction of the pigments, then analyzed with HPLC (Jesus *et al.* 2006). Once again, all these factors could bring new modification in the estimation of k_d .

Microphytobenthic primary production estimation in heterogeneous mudflats of an anthropized estuary (Seine estuary, France).

This article is “in prep” and will be submitted to “*Marine Environmental Progress Series*”

Jérôme Morelle, Francis Orvain & Pascal Claquin

Abstract

Spatial and temporal dynamics of primary production of intertidal microphytobenthos is fundamental regarding tidal flat ecology. The goal of this study was to estimate the contribution of the microphytobenthos to the autochthonous primary production in a highly anthropized estuary (Seine estuary) and to explore the relationship between the primary production dynamics and various benthic parameters. PAM fluorescence method was used to quantify the primary productivity on several intertidal zones during the two main productive periods of microphytobenthos (September and April). Weak photosynthetic performances were measured in sandy zones and during fluid mud deposit. By using a biofilm vertical structuration index, this study highlights the strong influence of the biofilm structuration on the production rates dynamics. A strong negative relationships was observed between phaeopigment percentage and chl *a* biomass which confirmed the influence of grazers on biofilm. However, the phaeopigment percentage do not influence primary production. At last, this study allowed to estimate the contribution of the microphytobenthic compartment in the whole autochthonous primary production of the estuary. This contribution do not exceed 18% due to the reduction of mudflat areas induce by the intense hydrodynamics and anthropic disturbance of this estuary.

1. Introduction

The microphytobenthos (MPB) is represented by photosynthetic microalgae and cyanobacteria which form biofilms on intertidal and subtidal zones (Admiraal *et al.* 1985). In estuaries, cohesive sediments are known to be colonized by epipellic diatoms (Admiraal *et al.* 1994). On the contrary, in regions characterized by higher hydrodynamic stress, epipsammic species live attached to sediment grains, with lower levels of primary production, because of fast nutrient limitation in sand matrix, where drainage of interstitial water prevents MPB from accessing to stocks of nutrients (Ubertini *et al.* 2015). MPB have great ecological weight as sediment bio-stabilizers by secreting high amounts of EPS, a process especially developed in mud and sand-mud mixtures (Tolhurst *et al.* 2006; Ubertini *et al.* 2015). MPB is considered as key food sources for local deposit-feeders that can sustain the upper levels of the trophic web such as birds and fishes (Kang *et al.* 2015), but also for local suspension-feeders after resuspension (Lefebvre *et al.* 2009; Hochard *et al.* 2010; Ubertini *et al.* 2012). The understanding of the spatial and temporal dynamics of intertidal MPB in terms of primary production/consumption, nutrient cycling (including bioturbation) and resuspension is of fundamental concern in tidal flat ecology.

While the distribution of MPB has often been studied in macroscale environments (Guarini *et al.* 1998; Méléder *et al.* 2005; Orvain *et al.* 2012), primary production has rarely been investigated at macroscale. The studies investigating MPB primary production clearly shows that MPB primary production is comparable to that of phytoplankton (Underwood and Kromkamp 1999) where most (~90%) production is consumed or decomposed to support local grazing (Cloern *et al.* 2014). Local variations are important and annual production varied ecosystems, between 30 and 250 gC m⁻² year⁻¹ (Pinckney and Zingmark 1993a; De Jong and De Jonge 1995). Generally speaking, MPB can account for more than 50% of the whole primary production of coastal areas (Cahoon 1999). After wave-induced resuspension, MPB contributes significantly to primary production in tidal flat and water column production *via* resuspension, particularly in turbid shallow water systems such as intertidal flats (De Jonge and Van Beuselom 1992; De Jong and De Jonge 1995). Previous reports indicated that re-suspended MPB in tide or wind-dominated regions could account for between 30 and 85% of total planktonic biomass in the water column (De Jong and De Jonge 1995; Ubertini *et al.* 2012).

At large scale, several generalizations on MPB dynamics can be made. The MPB biomass is generally higher in muddy habitats than in sandy habitats and peak in spring and

summer, even if some studies documented another bloom in the fall (see review of MacIntyre *et al.* 1996) and may exceed the phytoplankton biomass on a given area (MacIntyre and Cullen 1996; Underwood and Kromkamp 1999). Thereby, MPB are present in large proportions in most of the shallow-water habitats and constitute a large pool of photosynthetically competent organisms which contribute significantly to primary production in shallow waters (Jassby *et al.* 1993; MacIntyre and Cullen 1995; Cloern *et al.* 2014). The dynamics of MPB primary production seems followed the same trend with peak in spring and summer and with usually higher level in muddy than in sandy habitats in terms of primary production (MacIntyre *et al.* 1996). In relation with environmental variables, primary production seems principally limited by light availability reaching the MPB cells whose distribution is determined by disturbance, grazing pressure and vertical migration. However, there are major spatial and temporal gradients in light availability in MPB habitats which drive primary production. Steep gradients of irradiance occur within the sediment from fine silt and mud to sand (Jesus *et al.* 2006) and intertidal sites are subject to varying patterns of diel illumination periods mediated by periods of tidal immersion (Underwood and Kromkamp 1999). At the scale of MPB biofilms, the euphotic zone is confined to the upper few millimeters (Kühl and Jørgensen 1994; Kühl *et al.* 1994; MacIntyre *et al.* 1996). This is the only portion of the sediment in which the MPB are able to photosynthesize when the surface of the sediment is illuminated. Thus, MPB are typically concentrated in the upper few millimeters of the sediment (Pinckney and Zingmark 1993b). However, in order to optimize photosynthesis, most of the MPB cells are able to performed migration in surface when the sediment is exposed, or in depth when it is flooded (Palmer and Round 1965; Mitbavkar and Anil 2004). This motility which requires production of extracellular polymeric substances (EPS) (primarily polysaccharides) is a strategy developed to rapidly avoid photoinhibition due to high light exposure and potential saturation and alteration of photosystems (Hay *et al.* 1993; Cartaxana *et al.* 2013). Given the range of light imposed at the surface of intertidal mudflats in comparison with the light exposed in the water column, this strategy is more efficient in comparison with other physiological photoacclimation processes of the photosynthetic apparatus (Jesus *et al.* 2005; Serôdio *et al.* 2012; Cartaxana *et al.* 2013). Consequently, migration has to be carefully considered in order to estimate properly microalgal abundance and productivity (Pinckney and Zingmark 1993a). In addition, depth distribution also depends on the sediment granulometry, hydrodynamic mixing and bioturbation (Dupuy *et al.* 2014) which induce different vertical organization of the MPB distribution. Moreover, spatial pattern of biofilms repartition on intertidal flats are also observed, resulting from interaction between diatom growth and sedimentary processes. Indeed, Weerman *et al.*

(2010) showed the scale-dependent interaction between sedimentation, diatoms growth and water redistribution which explain the observed patchiness of biofilms in intertidal flats. This interaction between biological and physiological processes is important and could be strongly affected by anthropic exploitation of the natural ecosystems especially since a potential threshold in the relationship between sediment mud content and benthic chlorophyll *a* has been showed. Below this threshold, the interaction network involved different variables and fewer feedbacks than above (Thrush *et al.* 2012).

If the variability of MPB primary production is mainly due to differences in the availability of light (Guarini *et al.* 2000), there is also a major role of geomorphology of sediment related to the biogeochemical cycles (Hochard *et al.* 2010). The primary production actually directly depends on the sediment composition, and especially sand-mud mixture (Ubertini *et al.* 2015). The role of biological drivers such as grazing effects seems particularly relevant, to explain the top-down processes regulating microphytobenthic biomass and primary production, but this process seems underestimated in many studies (Kwon *et al.* 2016).

In this context, the main objective of this study was to estimate the contribution of the benthic compartment to the autochthonous primary production in the Seine estuary, a highly dynamic and anthropized estuary and to interpret by comparing them to sediment and benthic variables. PAM fluorescence method was applied to quantify benthic primary productivity along several spatial gradients of the estuary (sediment granulometry, foreshore position, upstream/downstream gradient). The benthic primary production and the influence of human activities on the estuarine mudflats was then discussed within an ecosystem context at patch- (m^2) and estuary-scales (km^2).

2. Materials and methods

2.1. Study site and sampling

The Seine River consists of the largest riverine discharge into the English Channel. This discharge results in creating a macrotidal estuary of 120 km under a dual marine-river influence for a watershed surface of 78.000 km and a mean flow discharge of $400 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$. The sampling survey was conducted on the different intertidal zones of the Seine estuary in September 2014 and in April 2015. 15 sites were sampled in 3 different habitats in terms of substratum (i.e. a sandy zone: the southern mudflat, a muddy site: the environmental channel and a sand-mud mixture zone: the Northern mudflat), foreshore position (per 3 sites from the upper to the lower

limit of the foreshore), downstream-upstream distance and human influences (table 23, fig. 47). Each site was sampled during emersion time (more than 1 hour after the beginning of exposure period and more than 1 hour before the flow return) and three replicated squares (1 x 1 m) were chosen randomly on each site.

Table 23. GPS coordinates (WGS84) of the 15 sampling sites. The three different zone were differentiate in terms of substratum with a sandy zone (the southern mudflat), a muddy site (the environmental channel) and a sand-mud mixture zone (the Northern mudflat). In the Northern mudflat, the sampling sites could be regrouped per 3 from their position from downstream to upstream of the estuary and from the upper to the lower limit of the foreshore.

Zone label	Site label	Longitude	Latitude
Northern mudflat	A	0.2004	49.4516
	B	0.2004	49.4506
	C	0.2004	49.4482
	D	0.2174	49.4491
	E	0.2174	49.4483
	F	0.2172	49.4462
	G	0.267	49.4436
	H	0.2668	49.4408
	I	0.2668	49.4412
Environmental channel	K	0.2836	49.4416
	L	0.2836	49.4401
	M	0.3003	49.4391
Southern mudflat	N	0.1672	49.4162
	O	0.2001	49.4267
	P	0.2003	49.4235

For each sampled site, three cores (20 cm diameter × 1 cm deep) were taken for sedimentary parameters (i.e. grain size, water content, volumetric mass, dry bulk density, and the sediment specific attenuation of light coefficient) and chlorophyll *a* content. After being cautiously homogenized, the volume of substratum was determined by using cut syringes. Thereafter, this mixture was split into flasks and conserved at -20°C before further analysis. The photosynthetic parameters of each site were measured using PAM measurements at three different positions chosen randomly on each site. To study the distribution of chlorophyll at depth, three minicores (top 2 cm of surface sediment and 1.2 cm in diameter) were sampled in the very close vicinity of PAM measurements, and immediately frozen using liquid nitrogen haze on the field. Once frozen, they were plunged in the liquid N₂ bottle and brought back to the lab where they were preserved at -80 °C.

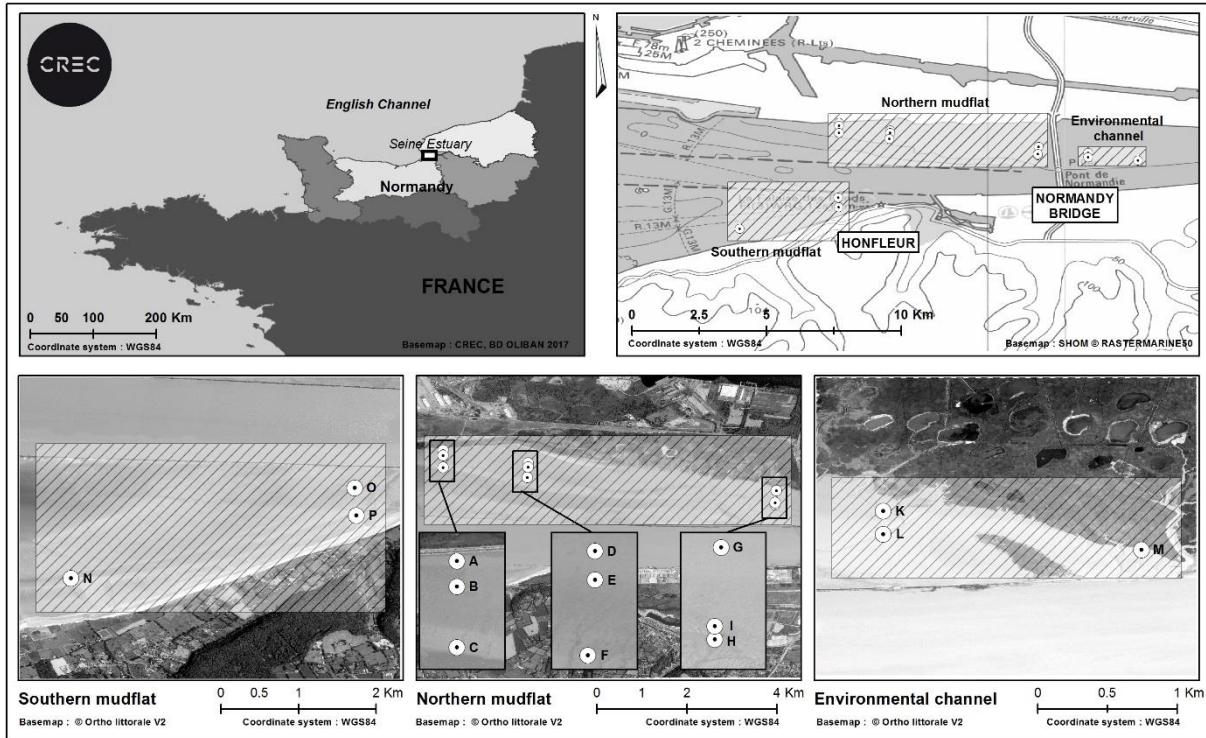


Figure 47. Location of the Seine estuary (Normandy, English Chanel, France) with the 15 sampling sites in the three respective zones: (1) the Northern mudflat (three radials: A, B, C - D, E, F - G, H, I), (ii) the Environmental channel (K, L, & M) (iii) the Southern mudflat (N, O, & P).

2.2. Sedimentary parameters

The fresh sediment was weighed to calculate the volumetric mass of sediment (in kg.L^{-1}). The water content (ω ; %) was determined as a percentage of water relative to the total dry sediment. The samples were dried at 60°C during 3 days in an oven and the weight of the water was calculated by the difference in weight before and after the drying. The organic content was then obtained as loss by calcination of the dry sample at 450°C for 4 h. The dry bulk density (C_{sed} , kg.m^{-3}) was estimated from ω according to the equation:

$$C_{\text{sed}} = \frac{(\gamma_s \times 1000)}{\frac{\omega}{100} \times \gamma_s + 1000} \quad (1)$$

, where γ_s is the assumed grain density (2650 kg.m^{-3}).

To determine the particle grain size, sediments were digested in 6% hydrogen peroxide for 48h to remove organic matter. The grain size distribution was measured with an LS Coulter particle size analyzer on subsamples. The mud sediment fraction (i.e. mud content) was estimated as the percentage of silt particles $< 63 \mu\text{m}$ and the median grain size diameter was estimated from cumulative percentage histogram.

In order to estimate the depth-integrated attenuation coefficient ($k^*_{d(sed)}$ in mm^{-1}) of samples, absorbance was read on multiwell plates (96) for the same wavelength of the fiber-PAM fluorometer (460 nm) using a FlexStation™ fluorescent microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA). For each of the 15 stations samples in September 2014, 9 wells with 200 μl of milliQ water were filled with the dry sediment of each triplicate to obtain different sediment thicknesses (respectively 25, 50, 75, 100, 125, 150, 200 and 400 μm). The weight (mg) was determined with the volume of the well (cm^3) assuming a density of $1.33 g.cm^{-3}$. The thicknesses was refine later using the weight and the measured dry density ($g.cm^{-3}$) of the each samples. Therefore, $k^*_{d(sed)}$ was represented by the coefficient a from the curve of the absorbed light as a function of the thickness of the sample following equation 2:

$$y = e^{-ax} \quad (2)$$

2.3. Biological parameters

2.3.1. Chlorophyll a content

In order to calculate the chlorophyll a content (chl a) of the samples, 1.5 ml of fresh sediment from the cores (20 x 1 cm) were homogenized and immediately frozen ($-20^\circ C$). These samples were lyophilized and a fraction of about 1 g of sediment was weighed for each replicate. Photopigments were extracted into 10 ml of 90% acetone for 18 h in the dark at $4^\circ C$ by being continuously mixed by automatic rotation. After centrifugation ($4^\circ C$, 2000 g, 5 min), the fluorescence of the supernatant was measured using a TurnerTD-700 fluorimeter before and after acidification (10 μl of HCl, 0.3 M per 1ml of acetone). The chl a values (in $\mu g.gDW^{-1}$) and phaeopigments were then calculated using the Lorenzen method (1966) and converted to $mg.m^{-2}$ using the dry density of the sediment by considering a sample depth of 1 cm to take into account the chlorophyll dilution effects associated with compaction during exposure at low tide (Perkins *et al.* 2003). The phaeopigments content were expressed as a percentage of total Photopigments.

2.3.2. Biomass vertical profiles

In order to access the vertical distribution of biomass, the minicores (directly transferred from N_2 nitrogen to a $-80^\circ C$ freezer) were sliced using a freezing microtome ($-25^\circ C$) during the two subsequent weeks after sampling. Each sliced section (200 μm) of the sediment was placed in pre-weighed Eppendorf tube and freeze-dried. The depth intervals were 0-200, 200-400, 400-600, 600-800, 800-1000, 1800-2000, 2800-3000, 3800-4000, 5800-6000, 7800-8000 and 9800-

10000 μm . The dry mass was measured before chl *a* analysis. Chl *a* analyses were performed according Welschmeyer (1994).

A biofilm structuration index (BSI) was calculated by dividing the mean value of chl *a* in the first top layers (0 – 1 mm) by the mean value in the underlying layers (1 – 10 mm). Globally, it appears that a BSI > 1.5 was characteristic of an established biofilm (significant higher chl *a* concentration in the top layers) and BSI < 1.5 characteristic of a homogeneous profile.

2.3.3. Photosynthetic parameters

Fluorescence measurement

The fluorescence of benthic microalgae was measured in triplicate using a PAM fluorometer including a PAM-control unit and a WATER-EDF-universal emitter detector unit (Walz, Effeltrich, Germany). The distance between the fiber optic probe tip and the surface of the sediment was kept constant at 2 mm for all measurements. Moreover, a 4 cm diameter ring was used to isolate the sample from natural light and to control dark adaptation and the irradiance level imposed during the light curve measurement. This setup was maintained using a burette holder fixed on a base buried in sediment.

The PAM fluorescence method estimate an initial fluorescence yield (F_v/F_m) which corresponds to the maximal quantum yield efficiency of the PSII (Van Kooten and Snel 1990). After a dark adaptation of 5 min the sample was excited by a low frequency measuring light (1 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 460 nm, frequency 0.6 kHz) to access the initial level of fluorescence yield, F_0 . The maximum fluorescence (F_m) was obtained during a saturating light pulse (0.6 s, > 10 000 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 460nm), allowing the quinone A (Q_A), quinone B (Q_B) and part of plastoquinone (PQ) pools to be reduced. Subsequently, each samples were exposed to nine actinic light (I: 0 to 929 $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ in September 2014 and 0 to 2309 $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ in April 2015) for 30 seconds at each step. For each light exposure levels, a steady state fluorescence (F_s) and a new maximum fluorescence (F_m') were measured and a variable fluorescence yield ($\Delta F/F_m'$) calculated. Then, relative electron transport rate (relative unit) were calculated by using the following equation: $rETR = \text{Yield} \times I$. Non photochemical quenching of fluorescence was also estimated with the equation $NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$.

Fluorescence correction

According to Forster & Kromkamp (2004) and Serôdio (2003), the fluorescence values were corrected using a depth-integrated model by taking into account both the attenuation of light from the biomass distribution and the particles grain size in the estimation of the attenuation coefficient of light following the equation :

$$k_{d(zi)} = (PSed_{zi} \times k^*_{d(sed)}) + (PChl_{zi} \times k^*_{d(chl)}) \quad (3)$$

, where $k^*_{d(sed)}$ was calculated for each sample as describe before, and the proportion of diatoms pigment content (PChl) calculated using the biomass distribution from the minicores, the amount of sediment dry weight (PSed) calculated following the relation: $PSed = 1 - PChl$ and assuming a depth-integrated chl *a* specific attenuation coefficient ($k^*_{d(chl)}$) of 58 mm^{-1} (detailed in Morelle *et al*, under review).

2.3.4. Primary production estimation

After correction of the rETR values, each rETRc series were plotted against light (I). To estimate photosynthetic parameters, the mechanistic model of Eilers & Peeters (1988) was applied to these plots in presence of an apparent photoinhibition at high lights or using the Webb *et al.* (1974) model. The parameters adjustment were performed using a simplex procedure by minimizing a least-squares criterion (Nelder and Mead 1965) to obtain the photosynthetic efficiency (α ; $\mu\text{mol electrons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}.) and the relative maximum electron transport rate ($rETR_{max}$; $\mu\text{mol electron m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).$

In order to estimate the potential MPB primary production, the maximum electron transport rate (ETR_{max} , $\text{mmol electrons mgchl}^{-1} \text{ h}^{-1}$) was calculated as follow:

$$ETR_{max} = rETR_{max} c \times a^* \times fAQ_{PSII} \times 3.6 \quad (4)$$

According to Kromkamp *et al.* (1998) , a^* is a chlorophyll-specific absorption cross-section, which for diatoms is $0.008 \text{ m}^2.(\text{mgchl } a)^{-1}$, fAQ_{PSII} is the fraction of the photons absorbed by the PSII. We assume that 75.7% of the photons absorbed have been attributed to photoreactions in the PSII (Johnsen and Sakshaug 2007; Napoléon *et al.* 2013a).

In order to estimate the maximum carbon incorporation ($P_{\max}$), the factor 0.114 molC.mol electron⁻¹ (Barranguet and Kromkamp 2000; Morris and Kromkamp 2003; Claquin *et al.* 2008) was used to convert the $ETR_{\max}$ in $P_{\max}$ (expressed in mgC mgchl $a^{-1} h^{-1}$).

The parameter E_k was calculated as $E_k = rETR_{\max} / \alpha$ and used to estimate α^P . The values of $P_{\max}$ and α^P were then used to estimate the primary production for each hour of daylight (I) during the two sampling periods, using the Webb model (Webb *et al.* 1974) integrated with the different layers of the photic zone as follow:

$$PP = \int_{z_i=0}^{z_i=1} P_{\max} \times \left(1 - e^{-\alpha^P \times \frac{I_{z_i}}{P_{\max}}} \right) dz \quad (5)$$

For each interval dz (200 μ m) from the first millimeter (1% of light), $P_{\max}$ is expressed in mgC m⁻² h⁻¹ using the chl a content (mg.m⁻²) which is calculate using the chl a concentration (μ g gDW⁻¹) for each interval from the minicores, the dry bulk density (kg m⁻³), and the thickness of the interval (μ m). Moreover, I_{z_i} represents the irradiance (μ mol photons m⁻² s⁻¹), calculated for each interval dz using the Beer-Lambert law as follow:

$$E_{z_i} = E_{z_0} \times e^{-z_i \times k_d} \quad (6)$$

, where E_{z_0} is the incident light at the surface obtained from the nearest national weather station and k_d is the coefficient of light attenuation in the photic zone calculate in eq. 3.

2.4. Statistical analyses

All the fluorescence correction and the $rETR-I$ curves were performed using MATLAB program and were fitted using the Eilers & Peeters (1988) or Webb *et al.* (1974) models. Multiple regressions were performed in order to estimate which parameters influenced the dynamics of the biological parameters on R Software. The correlations between parameters were tested using Pearson correlation tests on SigmaPlot Software. Some ANOVA and Kruskal-Wallis tests were performed in order to estimate the significant spatial differences between sites.

3. Results

3.1. Sedimentary parameters

During the both sampling campaigns (September 2014 and April 2015), the 15 different sites could be organized according to the proportion of fine mud with particles $> 63 \mu\text{m}$ (table 24). In fact, a gradient was observed from station O, the sandiest site at both seasons (8.61% of fine particles in summer and 3.71% in spring), to the muddiest site, K in summer (73.70%) and L in spring (75.68%) both located in the environmental channel (table 23). The southern mudflat, which included the sites O, N and P could be considered as a sandy intertidal zone, with less than 36.1% of fine particles in summer and less than 7.44% in spring. This zonation is linked to the mean dominant current within the estuary, which is oriented to the NW, carrying the fine particles towards the northern intertidal zone (Le Hir *et al.* 2001a). C and E stations in summer, and B and H in spring were also considered as sandy sites despite being located on the northern mudflat. The presence of a pit in the northern intertidal zone could potentially result in the sweeping of fine particles and the presence of sandy areas where the flow is important. This appeared at the 2 contrasted seasons, but the percentage of mud was higher in September, likely because of more quiet hydrodynamic condition at the end of the summer. In spring, the increase in the river flow in winter could explain the decrease in fine particles content observed especially at the lower limit of the foreshore. The K, L and M sites could be regarded as muddy sites with a fine particle size representing more than 67.3% in summer. Indeed, these sites are located in the environmental channel, a protected area with low flow and characterized by the accumulation of fine particles. In spring, the site L was characterized by a percentage of fine mud greater than 71.4%. All the other stations in summer were considered as sandy mud, with a percentage of fine particles between 47.1 and 58.3%. Stations located at the top of the foreshore have higher percentages in spring than in summer, indicating sedimentation of fine particle during winter, a period of strong current and subsequent erosion of the estuary that could accumulate only at the upper areas of the northern shore. Very low percentages in fine particles were recorded in the southern intertidal zone and at the bottom of the foreshore. This could thus confirm the transport of fine particles in the northern intertidal zone especially from this area towards the upper mudflats of the northern area. In spring, the sites K, M and C were not retained due to a technical problem with the sampling material.

Table 24. Values of the sedimentary parameters (mean $\pm$ SD) calculate in triplicate samples for each site.

Site	<63 μ m (%)	Median (μ m)	k* _{d(sed)} (mm ⁻¹)	Volumetric mass (kg.L ⁻¹)	Moisture content (%)	Dry bulk density (kg.m ⁻³)
September 2014						
O	8.6	172.0	2.4 $\pm$ 0.3	1.7 $\pm$ 0.2	26.1 $\pm$ 1.7	1566.2 $\pm$ 42.4
C	21.8	167.6	2.8 $\pm$ 0.3	1.9 $\pm$ 0.1	28.9 $\pm$ 6.0	1510.3 $\pm$ 139.7
N	24.0	133.2	5.0 $\pm$ 0.3	1.7 $\pm$ 0.1	34.4 $\pm$ 5.2	1392.2 $\pm$ 102.8
E	28.7	122.8	3.7 $\pm$ 0.3	1.7 $\pm$ 0.1	27.6 $\pm$ 3.7	1533.5 $\pm$ 84.7
P	36.1	102.8	4.5 $\pm$ 0.7	1.8 $\pm$ 0.2	33.5 $\pm$ 2.3	1403.9 $\pm$ 45.9
B	47.1	69.1	4.3 $\pm$ 0.4	1.7 $\pm$ 0.1	54.6 $\pm$ 8.6	1089.1 $\pm$ 105.2
F	50.3	62.5	4.2 $\pm$ 0.5	1.6 $\pm$ 0.1	49.6 $\pm$ 15.8	1168.5 $\pm$ 193.7
H	51.5	60.1	3.7 $\pm$ 0.3	1.5 $\pm$ 0.1	81.6 $\pm$ 5.6	839.3 $\pm$ 39.8
G	57.2	53.6	3.4 $\pm$ 0.9	1.4 $\pm$ 0.1	122.6 $\pm$ 8.4	624.7 $\pm$ 31.9
I	58.1	50.9	3.9 $\pm$ 1.5	1.4 $\pm$ 0.1	77.3 $\pm$ 10.0	873.6 $\pm$ 72.8
A	58.3	51.2	5.5 $\pm$ 0.1	1.6 $\pm$ 0.2	57.0 $\pm$ 4.2	1057.1 $\pm$ 46.5
D	58.3	48.6	5.4 $\pm$ 0.7	1.5 $\pm$ 0.2	66.2 $\pm$ 26.9	1003.2 $\pm$ 239.1
L	67.3	41.3	3.3 $\pm$ 0.7	1.3 $\pm$ 0.0	201.2 $\pm$ 7.8	418.8 $\pm$ 13.8
M	69.7	41.0	4.8 $\pm$ 0.7	1.6 $\pm$ 0.1	69.4 $\pm$ 5.7	935.1 $\pm$ 49.2
K	73.7	35.9	4.2 $\pm$ 0.4	1.3 $\pm$ 0.0	198.7 $\pm$ 3.3	423.0 $\pm$ 5.9
April 2015						
O	3.7	202.7	2.4	1.8 $\pm$ 0.0	26.2 $\pm$ 0.6	1565.2 $\pm$ 15.2
P	6.7	209.0	2.3	1.9 $\pm$ 0.1	33.1 $\pm$ 2.2	1411.9 $\pm$ 43.2
N	7.4	209.7	2.3	1.8 $\pm$ 0.1	29.3 $\pm$ 2.0	1492.8 $\pm$ 44.4
H	10.0	51.7	4.3	1.8 $\pm$ 0.1	39.0 $\pm$ 8.6	1315.3 $\pm$ 156.1
B	35.5	128.0	3.3	1.4 $\pm$ 0.0	138.0 $\pm$ 9.4	570.3 $\pm$ 30.6
A	37.1	117.4	3.5	1.3 $\pm$ 0.0	168.2 $\pm$ 5.2	485.8 $\pm$ 12.3
F	43.8	79.0	3.9	1.7 $\pm$ 0.1	53.9 $\pm$ 3.8	1092.1 $\pm$ 45.3
I	58.2	205.1	2.4	1.4 $\pm$ 0.1	93.0 $\pm$ 9.8	767.9 $\pm$ 59.8
G	64.5	42.8	4.4	1.3 $\pm$ 0.0	157.6 $\pm$ 21.4	516.2 $\pm$ 57.9
E	64.5	44.8	4.3	1.5 $\pm$ 0.1	95.7 $\pm$ 12.0	753.7 $\pm$ 70.6
D	70.1	38.3	4.4	1.5 $\pm$ 0.0	111.5 $\pm$ 5.2	670.7 $\pm$ 23.2
L	71.4	42.2	4.4	1.4 $\pm$ 0.0	106.4 $\pm$ 4.9	694.1 $\pm$ 23.8

The other sediment parameters were also related to the percentage of fine sediment and can be classified in the same ranks (table 25). Indeed, the correlation was high for the water content with low percentages (between 20 and 40%) in sandy sites, and high percentages (up to 200%) in muddy sites. Inversely, the volumetric mass and the dry bulk density were higher in sandy sites (up to more than 1.8 kg.L⁻¹ and 1500 kg.m⁻³ respectively) and lower in muddy areas (up to less than 1.3 kg.L⁻¹ and 500 kg.m⁻³ respectively).

Table 25. Pearson correlation coefficient between sediment parameters. With n=81 for September and n=36 for April. All p-values were lower than 0.001.

		Moisture content	Volumetric mass	Dry bulk density
Fine content	Sept. 2014	0.64	-0.73	-0.78
	April 2015	0.67	-0.78	-0.82
Moisture content	Sept. 2014		-0.85	-0.94
	April 2015		-0.93	-0.96
Volumetric mass	Sept. 2014			0.89
	April 2015			0.95

The mean sediment specific attenuation coefficients ($k_{d(sed)}^*$) were inversely proportional to the median grain size in September (linear regression; $R^2 = 0.61$; $p < 0.001$) following the equation :

$$k_{d(sed)}^* = -0.0122 \times Median + 4.89 \quad (5)$$

Due to the impossibility to measure the $k_{d(sed)}^*$ in April, this equation was used to estimate the spring values. Then, low values ($< 3 \text{ mm}^{-1}$) were recorded in sandy sites representative of a slow absorption of light and high variable values ranging from 3.32 to 5.36 mm^{-1} were recorded for the other sites indicating a rapid attenuation of light as soon as the intertidal zone presented an accumulation of fine sediment.

3.2. Biological parameters

3.2.1. Chlorophyll *a*

Chlorophyll a content

The chlorophyll *a* contents ($\text{chl } a$; $\mu\text{g gDW}^{-1}$; table 26) were higher in September (values ranging between 0.96 and 11.15 $\mu\text{g gDW}^{-1}$) than in April (values ranging between 0.22 and 4.72 $\mu\text{g gDW}^{-1}$). The lowest values were always recorded on sites characterized by a grain size $< 30\%$ of fine content. Thus, the southern mudflat (sites O, P and N) showed low values for both seasons with an average for the 3 sites of 4.43 $\mu\text{g gDW}^{-1}$ in September and 0.36 $\mu\text{g gDW}^{-1}$ in April. In September, site E showed the highest $\text{chl } a$ content with 11.15 $\mu\text{g gDW}^{-1}$, and site C the lowest values with 0.96 $\mu\text{g.gDW}^{-1}$. In April, the lowest value was measured at site P (0.22 $\mu\text{g gDW}^{-1}$) and the highest at site D (4.72 $\mu\text{g gDW}^{-1}$). For both seasons, all the sites with a grain size $> 30\%$, located in the northern mudflat and in the environmental channel, displayed very similar values of $\text{chl } a$ content with an average of $5.46 \pm 1.84 \mu\text{g gDW}^{-1}$ in September and $3.51 \pm 0.99 \mu\text{g gDW}^{-1}$ in April.

Chlorophyll a concentration

The $\text{chl } a$ concentration values (mg m^{-2}) were spatially heterogeneous (table 26). The dynamic was correlated with the $\text{chl } a$ content (Pearson coefficient: 0.85; $p < 0.01$; $n=78$), maybe because consolidation process are low, because of the strong hydrodynamic that affects Seine intertidal flats. In September, the lowest value (14.17 mg m^{-2}) was recorded at site C and the highest (170.72 mg.m^{-2}) at site E. In April, the lowest values were measured in the sandiest sites

(fine content < 10%) and values ranged between 3.09 mg.m⁻² at site P and 31.06 mg.m⁻² at site D.

Phaeopigments content

The Phaeopigment content (%) showed an inverse relationship with the chl *a* concentrations (table 27). Thus, when the chl *a* concentrations were low it appears that the pheopigments were abundant (table 26).

Table 26. Values of the biological parameters (mean $\pm$ SD) calculated in triplicate samples for each site. With the chl *a* content ($\mu\text{g.g}^{-1}$), the chl *a* concentration (mg.m⁻²), the phéopigments content (%), the organic matter content (%) and the biofilm structuration index (BSI).

Site	<63 μm (%)	Chl <i>a</i> ($\mu\text{g.gDW}^{-1}$)	Chl <i>a</i> (mg.m ⁻²)	BSI	Phaeopigment s Content (%)	Organic matter Content (%)
SUMMER						
O	8.6	4.2 $\pm$ 0.3	65.6 $\pm$ 6.2	0.9 $\pm$ 0.1	38.8 $\pm$ 5.9	0.7 $\pm$ 0.0
C	21.8	1.0 $\pm$ 0.5	14.2 $\pm$ 6.5	7.6 $\pm$ 4.8	78.4 $\pm$ 7.9	0.7 $\pm$ 0.1
N	24.0	2.4 $\pm$ 1.7	35.0 $\pm$ 25.4	2.0 $\pm$ 0.2	76.3 $\pm$ 17.5	0.2 $\pm$ 0.0
E	28.7	11.2 $\pm$ 1.7	170.7 $\pm$ 25.6	0.9 $\pm$ 0.1	12.5 $\pm$ 6.8	1.1 $\pm$ 0.5
P	36.1	2.4 $\pm$ 0.7	33.8 $\pm$ 9.2	1.3 $\pm$ 0.2	64.3 $\pm$ 8.5	1.2 $\pm$ 0.1
B	47.1	7.0 $\pm$ 1.7	75.2 $\pm$ 11.3	2.9 $\pm$ 0.7	51.0 $\pm$ 3.4	1.5 $\pm$ 0.0
F	50.3	5.6 $\pm$ 3.1	63.0 $\pm$ 32.4	2.5 $\pm$ 0.1	60.0 $\pm$ 18.6	1.6 $\pm$ 0.3
H	51.5	3.0 $\pm$ 1.0	25.3 $\pm$ 7.2	1.6 $\pm$ 0.5	79.1 $\pm$ 5.3	0.5 $\pm$ 0.3
G	57.2	8.4 $\pm$ 1.5	51.8 $\pm$ 6.8	1.7 $\pm$ 0.5	57.3 $\pm$ 5.5	0.4 $\pm$ 0.1
I	58.1	4.6 $\pm$ 3.4	38.3 $\pm$ 25.7	1.6 $\pm$ 0.2	66.7 $\pm$ 18.6	0.4 $\pm$ 0.1
A	58.3	7.2 $\pm$ 0.8	75.9 $\pm$ 12.0	2.8 $\pm$ 0.5	52.8 $\pm$ 5.7	1.5 $\pm$ 0.2
D	58.3	6.6 $\pm$ 1.2	67.7 $\pm$ 23.9	1.5 $\pm$ 0.2	52.9 $\pm$ 11.0	2.2 $\pm$ 0.6
L	67.3	5.3 $\pm$ 1.2	22.3 $\pm$ 5.8	1.2 $\pm$ 0.0	72.3 $\pm$ 8.0	4.1 $\pm$ 0.3
M	69.7	2.8 $\pm$ 1.2	25.8 $\pm$ 10.1	1.5 $\pm$ 0.2	77.7 $\pm$ 9.2	2.4 $\pm$ 0.3
K	73.7	4.1 $\pm$ 0.5	17.4 $\pm$ 2.1	0.9 $\pm$ 0.1	77.4 $\pm$ 2.6	3.9 $\pm$ 0.5
SPRING						
O	3.7	0.3 $\pm$ 0.2	4.6 $\pm$ 3.1	2.3 $\pm$ 1.1	64.6 $\pm$ 30.1	1.6 $\pm$ 1.9
P	6.7	0.2 $\pm$ 0.1	3.1 $\pm$ 1.9	1.3 $\pm$ 0.3	92.7 $\pm$ 4.9	1.1 $\pm$ 0.1
N	7.4	0.6 $\pm$ 0.2	8.6 $\pm$ 0.7	1.6 $\pm$ 0.5	72.6 $\pm$ 5.5	2.4 $\pm$ 1.6
H	10.0	0.5 $\pm$ 0.2	6.2 $\pm$ 2.8	5.6 $\pm$ 7.9	87.9 $\pm$ 5.6	1.4 $\pm$ 0.2
B	35.5	3.7 $\pm$ 2.2	20.9 $\pm$ 11.6	4.1 $\pm$ 0.7	80.7 $\pm$ 6.7	4.3 $\pm$ 3.7
A	37.1	4.5 $\pm$ 0.3	21.8 $\pm$ 0.9	2.6 $\pm$ 0.5	79.7 $\pm$ 0.3	-
F	43.8	2.5 $\pm$ 0.3	26.7 $\pm$ 2.5	3.5 $\pm$ 0.7	74.1 $\pm$ 2.4	3.0 $\pm$ 0.4
I	58.2	2.2 $\pm$ 0.7	16.4 $\pm$ 4.5	1.6 $\pm$ 0.4	84.1 $\pm$ 3.3	6.4 $\pm$ 0.8
G	64.5	4.5 $\pm$ 0.6	23.5 $\pm$ 5.4	2.2 $\pm$ 1.8	77.0 $\pm$ 5.0	8.3 $\pm$ 0.6
E	64.5	3.0 $\pm$ 0.9	22.2 $\pm$ 5.7	2.6 $\pm$ 0.6	77.8 $\pm$ 5.2	5.0 $\pm$ 0.2
D	70.1	4.7 $\pm$ 0.8	31.1 $\pm$ 4.0	2.8 $\pm$ 0.6	69.1 $\pm$ 3.1	2.7 $\pm$ 0.2
L	71.4	3.0 $\pm$ 1.1	20.7 $\pm$ 7.0	1.3 $\pm$ 0.0	78.2 $\pm$ 14.3	6.4 $\pm$ 0.0

Table 27. Pearson correlation coefficient between parameters. With the correction for April data set in the upper matrix and for September data set in the lower matrix. Correlation were assumed to be not significant (NS) when p-values were lower than 0.05

		April 2015					
		Granulometry <63µm (%)	Moisture content (%)	Chl <i>a</i> (µg gDW ⁻¹)	Chl <i>a</i> (mg.m ⁻²)	Phaeopigments (%)	Organic content (%)
September 2014	Granulometry <63µm (%)		0.67 ; n=36 p < 0.001	0.70 ; n = 33 p < 0.001	0.75 ; n = 33 p < 0.001	NS n = 33	0.68 ; n=33 p < 0.001
	Moisture content (%)	0.64 ; n = 81 p < 0.001		0.86 ; n = 33 p < 0.001	0.62 ; n = 33 p < 0.001	NS n = 33	0.71 ; n=33 p < 0.001
	Chl <i>a</i> (µg gDW ⁻¹)	0.35 ; n = 78 p < 0.001	NS n = 78		0.90 ; n = 33 p < 0.001	NS n = 33	0.42 ; n=30 p < 0.05
	Chl <i>a</i> (mg.m ⁻²)	NS n = 78	-0.26 ; n = 78 p < 0.05	0.85 ; n = 78 p < 0.001		-0.41 ; n = 33 p < 0.05	NS n = 30
	Phaeopigments (%)	NS n = 78	0.28 ; n = 78 p < 0.05	-0.78 ; n = 78 p < 0.001	-0.91 ; n = 78 p < 0.001		0.65 ; n=30 p < 0.001
	Organic content (%)	0.46 ; n = 78 p < 0.001	0.57 ; n = 78 p < 0.001	NS n = 75	-0.30 ; n = 75 p < 0.001	0.34 ; n = 75 p < 0.01	

Vertical chlorophyll *a* profile

In September, the chl *a* distribution patterns along the vertical gradient were very variables among sites (Fig. 48), revealing a strong heterogeneity in MPB biofilm characteristics. Homogeneous profiles were observed in the southern mudflat at site O and in the environmental channel at site K. This homogeneity in depth was also observed at other sites but with a different pattern: slightly higher values in surface than in depth were observed at sites M and P while inversely, slightly lower values in surface than in depth were observed at sites L, H and E. The other chl *a* profiles presented significant higher values in the first top sections (0 – 1 mm) than in depth but with apparent differences: sites N, G and A showed a lower value in the first surface section than in other top first sections while sites C, B, F, I and D showed the highest value in the first surface section.

In April (fig. 49), homogeneous profiles were also observed in the environmental channel (site L), in the southern mudflat (sites O and P) and at sites I and H. Profiles with significant higher values in the first top sections (0 – 1 mm) and a lower value in the first surface section than in other top first sections were observed at sites E and A, while sites N, B, F, G and D showed the highest value in the first surface section.

The BSI (table 26) values confirmed our observation except for sites O and H in April which presented an incoherent BSI with the apparent structuration profile, probably due to very low chl *a* concentration values along the profile.

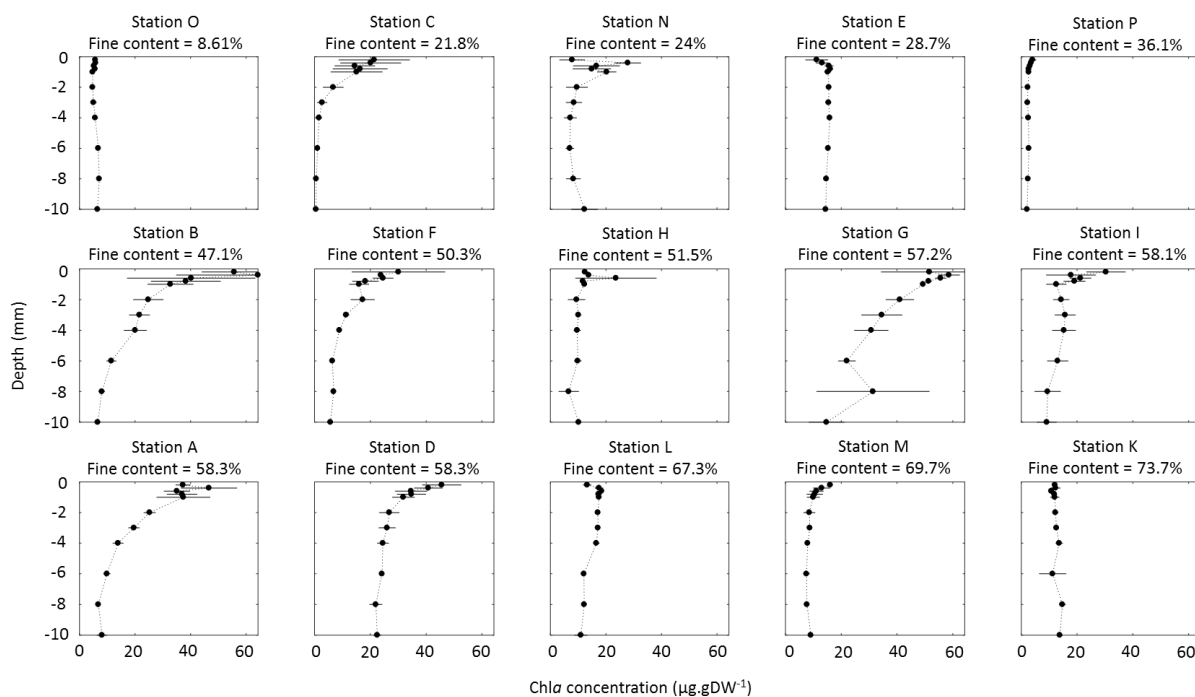


Figure 48. Vertical profile of chl *a* (µg.gDW⁻¹) for each sampling site in September 2014 ordered with the fine content (%). (Horizontal bars represent the standard deviation; n = 3).

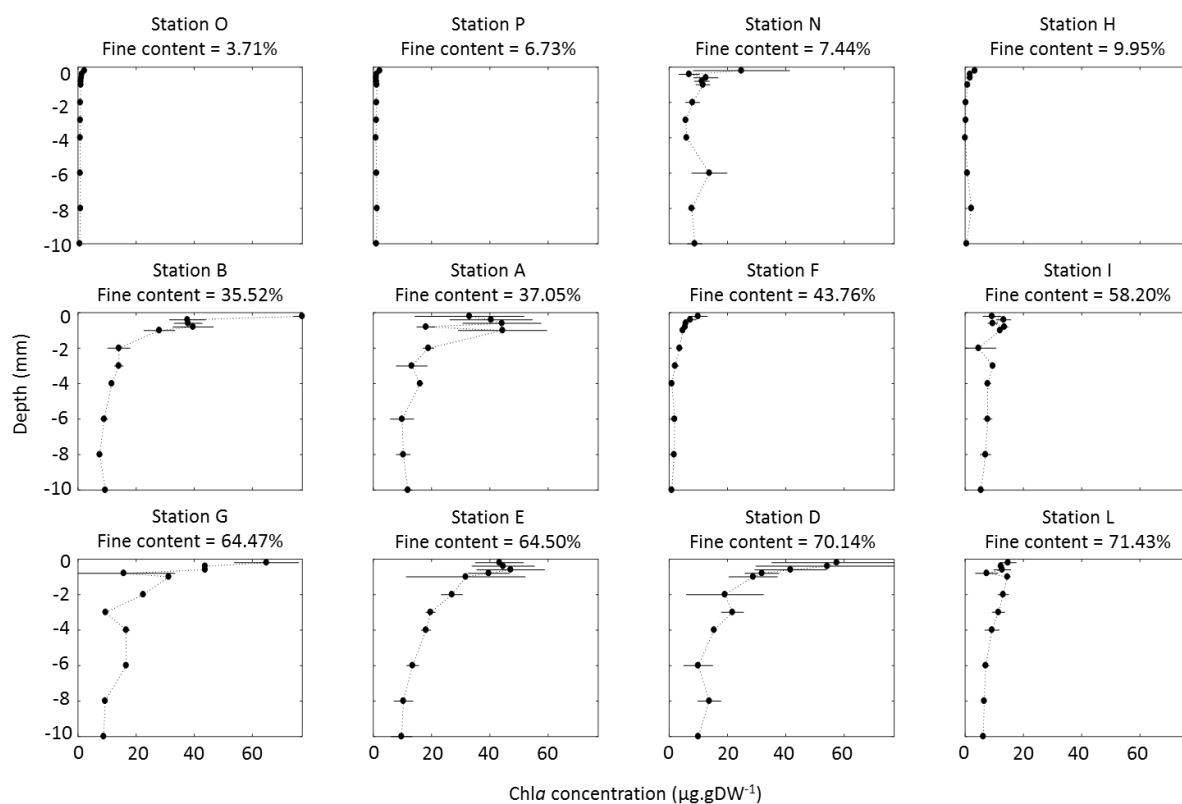


Figure 49. Vertical profile of chl *a* (µg.gDW⁻¹) for each sampling site in April 2015 ordered with the fine content (%). (Horizontal bars represent the standard deviation; n = 3).

3.2.2. Organic content

Low percentage of organic content were recorded in the sandy zone at both season in comparison to the sand-mud mixture and muddy zones. During summer, in September, the percentages were low in the southern and in the northern mudflat with values ranging between 0.2 and 2.2%. The environmental channel presented higher values than in the other areas with values ranging between 2.4 and 4.1%. In April the percentages were higher than in September with values ranging between 1.1 and 2.4% in the southern mudflat, between 1.4 and 8.3% in the northern mudflat and of 6.4% in the environmental channel.

3.2.3. Photosynthetic parameters

The effective quantum yield of the PSII (F_V/F_M ; table 28) showed values ranged from 0.296 to 0.706 with an average for both seasons of 0.529 ± 0.107 characteristic of a good physiological state.

In September, the significant ($p < 0.01$) lowest F_V/F_M values (< 0.4) were measured in the environmental channel at sites K, L and M in comparison to the other sites more sandy (< 58.3 % of fine content). Those sites were also characterized by significantly lower α values (< 0.4) than those observed at the other sites ($p < 0.01$; table 28). In contrast in April, the F_V/F_M values were significantly lower (< 0.4) in sandy sites (N, H and B; $< 36\%$ of fine content) than in muddy sites (I, E, D and L; $> 50\%$ of fine content). In the same way, the lowest F_V/F_M ratios were associated with the lowest α values (i.e. < 0.5). The values of α were mostly lower after than before correction with a δ_α ranging between -2.67 and 1.75 % in September and between -16.84 and 3.58 % in April. No clear pattern could be extracted from the percentage of correction in relation with the sedimentary properties.

Regarding $rETR_{max}$ ($\mu\text{mol electron m}^{-2} \text{s}^{-1}$), in September, values ranging between 288.16 $\mu\text{mol electron.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Site M) and 766.98 $\mu\text{mol electron m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (site L) with a strong spatial heterogeneity (table 28). In April, $rETR_{max}$ values ranged between 179.2 and 693.2 $\mu\text{mol electron m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and were significantly lower on the sandiest sites (O, P, N and H) than in the muddiest sites ($> 36\%$ of fine content). Except for K in September, all the values were higher after than before correction with a mean of δ_{rETR_m} ranging between -4.40 and 38.78% in September and between 2.31 and 60.29% in April (see Morelle *et al.* (under review) for more explanations). Thus, the mean correction of $rETR_{max}$ values for both seasons was +20.89% after correction.

Table 28. Values of the photosynthetic parameters (mean $\pm$ SD) calculated in triplicate samples for each site. With the effective quantum yield of the PSII (F_v/F_m), the photosynthetic efficiency (α ; ...), and the relative maximal electron transport rate ($rETR_{max}$; ...). The variation coefficients (δ in %) of the photosynthetic parameters were given to evaluate the difference before and after application of the depth-integrated fluorescence correction (Morelle *et al.* under review).

Forene et al., under review

Site	<63μm (%)	F _V /F _M (rel.unit)	α (rel. unit)	δ _α (%)	rETR _m (rel. unit)	δ _{rETR_m} (%)
September 2014						
O	8.6	0.62 ± 0.01	0.55 ± 0.01	-1.8 ± 0.4	348.7 ± 61.7	31.7 ± 2.7
C	21.8	0.57 ± 0.02	0.50 ± 0.02	0.3 ± 0.3	338.3 ± 27.5	21.4 ± 3.0
N	24.0	0.71 ± 0.03	0.62 ± 0.03	-1.5 ± 2.7	529.5 ± 188.3	38.8 ± 2.3
E	28.7	0.52 ± 0.06	0.46 ± 0.02	0.9 ± 0.3	608.2 ± 90.6	17.2 ± 9.5
P	36.1	0.63 ± 0.03	0.53 ± 0.02	0.8 ± 1.3	555.1 ± 46.7	25.7 ± 1.4
B	47.1	0.58 ± 0.02	0.55 ± 0.04	-1.1 ± 5.5	496.4 ± 245.1	15.0 ± 12.2
F	50.3	0.60 ± 0.02	0.53 ± 0.01	-2.7 ± 2.1	501.6 ± 202.0	22.7 ± 1.2
H	51.5	0.61 ± 0.09	0.65 ± 0.04	-1.2 ± 1.7	543.9 ± 141.8	18.8 ± 9.0
G	57.2	0.60 ± 0.01	0.56 ± 0.02	0.2 ± 0.9	467.7 ± 62.7	14.5 ± 1.7
I	58.1	0.57 ± 0.03	0.55 ± 0.05	0.2 ± 0.7	479.4 ± 191.8	10.5 ± 1.4
A	58.3	0.57 ± 0.01	0.47 ± 0.00	-2.1 ± 0.9	467.5 ± 35.7	32.5 ± 2.9
D	58.3	0.44 ± 0.03	0.47 ± 0.03	-0.4 ± 0.2	463.0 ± 39.1	4.6 ± 1.3
L	67.3	0.36 ± 0.06	0.28 ± 0.04	1.8 ± 0.0	767.0 ± 110.4	19.6 ± 19.3
M	69.7	0.30 ± 0.10	0.35 ± 0.07	-1.2 ± 1.0	288.2 ± 44.4	4.3 ± 11.1
K	73.7	0.32 ± 0.16	0.35 ± 0.07	-1.0 ± 0.5	569.4 ± 40.4	-4.4 ± 17.4
				-0.6 ± 1.9	18.1 ± 13.3	
April 2015						
O	3.7	0.47 ± 0.05	0.51 ± 0.06	-0.9 ± 4.1	379.2 ± 54.3	12.9 ± 8.3
P	6.7	0.58 ± 0.02	0.60 ± 0.08	-6.0 ± 5.0	370.6 ± 31.5	28.3 ± 10.1
N	7.4	0.36 ± 0.09	0.49 ± 0.04	-3.1 ± 2.6	211.6 ± 78.2	18.5 ± 3.4
H	10.0	0.31 ± 0.01	0.37 ± 0.06	2.1 ± 10.9	179.2 ± 14.1	27.4 ± 21.1
B	35.5	0.31 ± 0.03	0.32 ± 0.03	1.6 ± 0.8	411.8 ± 167.6	2.3 ± 0.6
A	37.1	0.52 ± 0.04	0.48 ± 0.07	3.6 ± 2.2	651.9 ± 171.4	11.9 ± 3.8
F	43.8	0.56 ± 0.10	0.53 ± 0.08	0.2 ± 2.0	633.7 ± 154.8	12.2 ± 9.1
I	58.2	0.67 ± 0.02	0.60 ± 0.06	-16.8 ± 8.9	497.8 ± 128.1	60.3 ± 25.6
G	64.5	0.59 ± 0.04	0.58 ± 0.06	-7.0 ± 3.5	401.8 ± 55.1	22.1 ± 5.2
E	64.5	0.65 ± 0.01	0.62 ± 0.01	-3.8 ± 1.6	693.2 ± 116.9	23.3 ± 3.5
D	70.1	0.67 ± 0.01	0.66 ± 0.00	-7.7 ± 2.0	560.5 ± 61.5	27.2 ± 6.6
L	71.4	0.62 ± 0.05	0.64 ± 0.04	-12.6 ± 7.4	471.2 ± 90.2	37.4 ± 17.7
				-4.4 ± 7.4	24.3 ± 17.5	

3.2.4. Primary production estimation

For each site, the PP_{max} (mg C mgchl $a^{-1} h^{-1}$) was estimated from $rETR_{max}$ (table 29). The same range of PP_{max} can be observe for each site and at each season with values ranging from 5.29 to 22.66 mg C mg chl $a^{-1} h^{-1}$ with a mean value of 14.62 mg C mgchl $a^{-1} h^{-1}$ in September 2014 and of 13.45 mg C.mg chl $a^{-1} h^{-1}$ in April 2015. The lowest PP_{max} was measured at site M in September and at site H in April. The highest PP_{max} was observed at site L in September and at site E in April. Those values were used to estimate at each hour of daylight the primary production for each day of each sampled month (table 29). The mean daily PP values were more variable ranged between 24.45 mg C $m^{-2} d^{-1}$ at station H in April 2015 to 761.20 at station B in September 2015.

Table 29. Microphytobenthic primary productivity ($P_{\max}$; $\text{mgC} \cdot \text{mgchl } a^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) and daily ($\text{mgC} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$) and monthly ($\text{gC} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{m}^{-1}$) production for each sampling sites of the Seine estuary in September 2014 and in April 2015.

Site	< 63 μm (%)	$P_{\max}$ ($\text{mg C mgchl } a^{-1} \text{ h}^{-1}$)	PP ($\text{mgC m}^{-2} \text{ day}^{-1}$)	PP ($\text{gC m}^{-2} \text{ month}^{-1}$)
SUMMER				
O	8.6	10.3 $\pm$ 1.8	191.6	5.8
C	21.8	10.0 $\pm$ 0.8	507.9	15.2
N	24.0	15.7 $\pm$ 5.6	234.8	7.0
E	28.7	18.0 $\pm$ 2.7	278.7	8.4
P	36.1	16.4 $\pm$ 1.4	63.3	1.9
B	47.1	14.7 $\pm$ 7.2	761.2	22.8
F	50.3	14.8 $\pm$ 6.0	410.6	12.3
H	51.5	16.1 $\pm$ 4.2	219.9	6.6
G	57.2	13.8 $\pm$ 1.9	573.2	17.2
I	58.1	14.2 $\pm$ 5.7	307.0	9.2
A	58.3	13.8 $\pm$ 1.1	391.0	11.7
D	58.3	13.7 $\pm$ 1.2	358.2	10.8
L	67.3	22.7 $\pm$ 3.3	71.0	2.1
M	69.7	08.5 $\pm$ 1.3	91.0	2.7
K	73.7	16.8 $\pm$ 1.2	46.9	1.4
		14.6 $\pm$ 3.5	300.4	9.0
SPRING				
O	3.7	11.2 $\pm$ 1.6	53.1	1.6
P	6.7	11.0 $\pm$ 0.9	52.7	1.6
N	7.4	06.3 $\pm$ 2.3	384.6	11.5
H	10.0	05.3 $\pm$ 0.4	24.5	0.7
B	35.5	12.2 $\pm$ 5.0	386.6	11.6
A	37.1	19.3 $\pm$ 5.1	296.0	8.9
F	43.8	18.7 $\pm$ 4.6	141.3	4.2
I	58.2	14.7 $\pm$ 3.8	240.3	7.2
G	64.5	11.9 $\pm$ 1.6	352.6	10.6
E	64.5	20.5 $\pm$ 3.5	546.0	16.4
D	70.1	16.6 $\pm$ 1.8	572.1	17.1
L	71.4	13.9 $\pm$ 2.2	192.9	5.8
		13.5 $\pm$ 4.8	270.2	8.1

Despite an important variability, the lowest values of daily PP were always found in the sandy habitat of the southern mudflat or in the muddy habitat of the environmental channel showed some of the lowest values of PP while the highest daily PP were always found in a sand/mud mixture habitat. At monthly scale (table 29), the PP values were ranged between 0.45 and 22.84 $\text{g C m}^{-2} \text{ month}^{-1}$ following the same variability than the daily PP. The mean monthly PP were similar during the two sampling month with 9.01 $\text{g C m}^{-2} \text{ month}^{-1}$ in September 2014 and 8.11 $\text{g C m}^{-2} \cdot \text{month}^{-1}$ in April 2015.

The multiple regressions performed using the down/top step by step method with all the other parameters allows us to explain the primary production ($\text{mgC m}^{-2} \text{ day}^{-1}$) dynamic at 58% ($R^2 = 0.577$) by the chl *a* content (19%), the BSI (18%) and the alpha values (20%). The other 42% cannot be explain by the other physical, chemical, biological and photosynthetic parameters tested (sampling date, fine content, Median grain size, kd, moisture content,

Volumetric mass, dry bulk density, phaeopigments content, organic content, photosynthetic Yield, $rETR_{max}$ and P_{max}) over 2%.

The mean values of monthly PP were used to estimate the PP ($gC\ m^{-2}\ month^{-1}$) of each mudflat (table 30). For each sampling month, the northern mudflat presented the highest production per m^2 with $12.69\ gC\ m^{-2}\ month^{-1}$ in September and $9.60\ gC\ m^{-2}\ month^{-1}$ in April. The environmental channel showed the lowest value in September with $2.09\ gC\ m^{-2}\ m^{-1}$ while it was the southern mudflat that was less depressed in terms of PP in April with $4.90\ gC\ m^{-2}\ month^{-1}$. The surface of each area was used to estimate the carbon stock created by the MPB during each month (table 30). Thus, the southern mudflat was the least productive zone for each month with $0.39\ tC\ month^{-1}$ while the northern mudflat was the most productive area with $58.99\ tC$ in September and $44.63\ tC$ in April. Finally, the estuarine mudflats produced $62.07\ tC$ in September 2014 and $52.48\ tC$ in April 2015.

Table 30. Microphytobenthic primary production expressed in $gC.m^{-2}.month^{-1}$ and in $tC.m^{-2}.month^{-1}$ calculated from the surface of each mudflat sampled in the Seine estuary in September 2014 and in April 2015.

Production ($gC\ m^{-2}\ month^{-1}$)			
Mudflats	Southern	Northern	Environmental channel
Sept 2014	4.90	12.69	2.09
Apr 2015	4.90	9.60	5.79
Area (km^2)	0.08	4.65	1.29
Production ($tC\ month^{-1}$)			
Sept 2014	0.39	58.99	2.69
Apr 2015	0.39	44.63	7.46

4. Discussion

4.1. Photoacclimation strategies

The results of this study confirm, with *in situ* application, the relevant underestimation of the photosynthetic parameters without application of a depth integrated model on PAM data (Serôdio 2004; Forster & Kromkamp 2004; Morelle *et al*, under review). In fact, the results suggest that the lower sections of the sediment have a weak involvement in the global photosynthetic efficiency (α) but a significant involvement in the maximal photosynthetic capacities ($rETR_{max}$) illustrated by the variation in δ_{α} and $\delta_{rETR_{max}}$ up to 39 % in September and 60 % in April. In fact, this very high values of correction are much higher than what was observed in other studies (Forster and Kromkamp 2004; Serôdio 2004), when applied in the field thanks to the new tool (Morelle *et al*. under review) to apply these corrections of self-

shading biofilm and sediment composition, directly on measured estimated on the field (light attenuation). The strong hydrodynamism of the Seine estuary (with 7 mm of fluid layer that can cover sediment surface in one tidal cycle) certainly explained the higher number of situation, for which the MPB biofilm is not well established and almost homogeneous (BSI close to 1). The estimates of photosynthetic parameters and the caution taken to account for the chl *a* depth profiling, affecting light attenuation, are thus especially appropriate on the mudflats of the Seine estuary, but probably also in other estuaries, where unconsolidated fluid layers can often cover the sediment surface, before being rapidly re-suspended. The Turbidity Maximum Zone of the Seine estuary and the high discharge level (especially in winter) in the water column is very dynamic and also reveals the potential high amounts of sedimentation and erosion during tidal cycles. This process must explain the numbers of situation, for which the MPB biofilm does not have time to be well established.

The values of α observed in this study were associated and highly correlated with F_V/F_M values. Low values of F_V/F_M can be induced by a limitation in nutrients or a chronic photoinhibition (Kromkamp and Peene 1999; Barranguet and Kromkamp 2000). However, it appears that in estuaries, MPB is rarely nutrient-limited due to its ability to incorporate nutrients coming from mineralization rates of organic matter of the sediment, especially accessible in deeper layers during its migration phases for nitrogen (Underwood and Kromkamp 1999; Orvain *et al.* 2003) but also silicates (Longphuir *et al.* 2009; Leynaert *et al.* 2011).

In this study, the weak values of the photosynthetic parameters observed in April at sites H & B could be induced by photoinhibition. Indeed, at these two sites, the photoinhibition could have been promoted by the high concentration of chl *a* recorded in surface (BSI > 4) which exposed cells to the incident light and by the sandy sediment which facilitated the light penetration. Moreover, the sandy habitat generally contain more epipsammic than epipellic diatoms (Barranguet 1997; Méléder *et al.* 2003), those benthic microalgae displaying a low mobility. However, migration ensures protection from photoinhibition and desiccation and facilitates access to nutrients and organic and inorganic carbon deeper in the sediment (Barranguet *et al.* 1998; Barnett *et al.* 2015). Then, though migration seems to be the most efficient process and probably the best strategy for avoiding overspending energetic costs, the prevalence of migration was only describe for epipellic diatoms inhabiting muddy sediments, while physiological protection strategies are exclusive in sandy sediments (Cartaxana *et al.* 2011). The xanthophyll cycle is the major physiological process implied in photoprotection of benthic diatoms undergoing excessive irradiance (Cartaxana *et al.* 2013) but this process induce low photosynthetic parameters for non-migratory MPB (Du *et al.* 2017). Thus, in sandy habitat,

it appears that a homogeneous profile is better adapted to avoid photoinhibition, protect cells, and access nutrients. Indeed, the sites H & B were more sensitive to photoinhibition due to their chl *a* profile whereas the other sandy sites which presented a homogeneous profile of chl *a* showed higher values of photosynthetic parameters.

The weak values of the photosynthetic parameters observed in the environmental channel in September cannot be explain by these hypotheses. Indeed, the chl *a* depth profiles were rather homogeneous and this mudflat was the muddiest zone. Surprisingly, it appears that, in summer season, the muddy environment does not gather the favorable conditions for the growth of MPB biofilms. Muddy environment is characterized by strong light absorption and the presence of a strong fraction of mobile diatoms which may result in decreased photosynthesis (Billerbeck *et al.* 2007). Moreover, in this estuary, the amount of fine-grained material depends on the volume of erodible mud within this macrotidal estuary (Lesourd *et al.* 2003). The mud bedforms and fresh mud deposits are continuously reworked by intense hydrodynamics, wave regime, and rain-induced runoff creating new surface layers which could be identified as an additional challenge for biofilm formation and photosynthesis realization. Depending on the thickness of the deposited layer, the MPB cells will migrate to build up a new pioneering biofilm during a lag phase that is recognized to last 3 days in cultivation conditions (Orvain *et al.* 2003). Thereby, in summer, the low river flow could have retain the particles in the estuary and favor the deposit of fluid mud in the environmental channel, which is a preferential accumulation zone (Le Hir *et al.* 2001a). These sedimentary features strongly limit the photosynthesis performances in comparison with April where the sediment was likely to be eroded due to the significant hydrodynamism in winter (Serôdio and Catarino 1999) and could have been flushed with more facility out of the estuary and limited the deposition of fluid mud on the intertidal flats during the ebb. In the sand-mud mixture zone (40-60% of fine content), the F_V/F_M and the α were always high regardless the chl *a* profile or the season demonstrating that the MPB are in the best conditions and well acclimated to high irradiance in those environment type as describe before (Ubertini *et al.* 2015). It was also shown that the EPS were most excreted in sand-mud mixture zone (Ubertini *et al.* 2015). It would be interesting to deepen the knowledge about EPS in these zones in future studies and thus the potential role of the MPB in sediment biostabilization which would thus be stronger under these conditions.

4.2. Influence of biological and environmental parameters

The relationship between MPB primary production dynamics with other factors was tested using a stepwise multiple regression analysis. This analysis showed that the chl *a* content, (with values ranged between 0.22 and 11.15 $\mu\text{g gDW}^{-1}$ (3.1 and 170.7 mg m^{-2}) which were in line with the range from 1 to 560 mg m^{-2} describe by MacIntyre *et al.* (1996)), the biofilm structuration (BSI), and the photosynthetic efficiency (α) explained almost 60% of the variation in production rates for all sites at both seasons. This result makes sense because a high content of chl *a* well-established in a structured biofilm is decisive for showing high photosynthetic efficiency. The BSI (biofilm vertical structuration index) is clearly an excellent predictors of the ability of MPB to form a clear established biofilm which represent the best biological situation to performed photosynthesis. It appears surprising that the physical and chemical parameters made a very inconsistent contribution to the variance. However, our way of calculation used the light-exposure duration and the irradiance values to estimate the production rates. Thus, as shown by previous authors (Migné *et al.* 2004; Kwon *et al.* 2014), the light was the prime factor influencing our daily primary production estimations. In addition, our estimation took into account the attenuation of light in the euphotic zone of the sediment which was calculated using the chl *a* profile and the sediment grain size which thus also played an important role in our estimation and confirmed previous studies (Kühl and Jørgensen 1994; Kühl *et al.* 1994; Forster and Kromkamp 2004; Serôdio 2004). Moreover, the variation of each factors regulating this production is also important. Indeed, our results confirmed that the chl *a* content values were highly influenced by physical and chemical parameters like hydrodynamic, temperature, light, or sediment granulometry (Serôdio and Catarino 1999; Jesus *et al.* 2006) but also by biological parameters like phaeopigment percentages which confirm the potential top-down control by herbivory on MPB biomass (Santos *et al.* 1997; Cartaxana *et al.* 2003; Kwon *et al.* 2016). Therefore, the primary production dynamics is also indirectly affected by these parameters due to their influence on chl *a* distribution. The same observation can be made for α , whose values were highly correlated to F_V/F_M values. If high α values depend on high F_V/F_M , knowing that the values of F_V/F_M are dependent upon photoinhibition processes, nutrient capture with biofilm structuration, and sediment type, α values could depend on them too. To conclude on this question, the BSI will depend on the environmental parameters especially the sediment type (Jesus *et al.* 2006) and influence the photoinhibition, the access of nutrients and the $rETR_{\text{max}}$ which influence the production rate. Finally, primary production estimates did not respond to simple relationships with their fluctuating environment. Overall, the relationships between environmental parameters and primary production could not be fully described and/or

explained using known indices because of the complex interrelationships between factors. These observations are in complete adequacy with the assumption made by Guarini *et al.* (2000), in their dynamic reference model for MPB primary production, that the primary production is completely dependent on the migration pattern. Moreover, the higher level of primary production in April compared to September can be also explained by the potential role of thermo-inhibition, the optimum temperature for primary production being estimated at 25°C (Blanchard *et al.* 1997). The temperature can reach very high temperature at the mud surface in summer, as being recorded by Orvain *et al.* (2014) in Marennes-Oléron bay.

The negative relationships observed between phaeopigment percentage and chl *a* biomass confirms well the relevance of grazers on intertidal mudflats observed by Kwon *et al.* in Korean mudflats (2016), the deposit-feeders being able to suppress and consume a high quantity of produced chl *a* (transformed in breakdown products, i.e. phaeopigments). However, this grazer-dependence that appears relevant in the present study to explain low values of MPB biomass in summer (table 3), does not affect directly the primary production, since the phaeopigment percentage is not retained as an explanatory variable in the multiple regression test. Magni and Montani (2006) clearly showed a strong dependence of the nitrate/nitrite remineralization rate upon the macrofaunal activity (bioirrigation and bioturbation) when analyzing pore-nutrient vertical profiles on a tidal flat during a 1-year survey on a tidal sandflat, and the nutrient stocks were positively correlated with chl *a* biomass. In the present study investigated in various sand-mud mixture in the Seine estuary, we only observed a negative correlation of phaeopigment percentage on the chl *a* biomass physiological yield (F_v/F_m). These observations does not indicate a stimulation of photosynthetic activity by bioirrigation processes, similar to the one observed by Magni and Montani (2006), at least at the investigated scale.

4.3. Microphytobenthic primary production in the Seine Estuary

In this study we found a maximal MPB primary productivity ranged between 5.3 and 22.7 mg C mg chl *a* h⁻¹ and a daily MPB primary production ranged between 24.5 and 761.2 mgC m⁻² day⁻¹. These results are in line with estimations established by Spilmont *et al.* (2006) in the same estuary on the northern mudflat where he found values of PP_{max} ranging from 2.4 to 869.7 mg C m⁻² day⁻¹ along an annual survey. Beside primary production rate were often expressed in mgC m⁻² h⁻¹, assuming a exposure period of approximately 6 hours, our results were also in line with other hourly and daily primary production estimations in estuaries as in

the Santos estuary, Sao Paulo, Brazil (De Sousa *et al.* 1998), in the Ems Dollard estuary (Colijn & De Jonge 1984), in the Westerschelde and Oosterschelde estuaries (Barranguet and Kromkamp 2000) and some other estuaries (Underwood and Kromkamp 1999). In comparison with the phytoplankton primary production estimated along the salinity gradient of the Seine estuary at the same periods (Morelle *et al.*, under review) from 1.1 to 3.5 g C m⁻² month⁻¹ in September and from 0.3 to 7.5 g C m⁻² month⁻¹ in April, the MPB appears to be more productive with values comprise between 1.4 and 22.8 g C.m⁻².m⁻¹ in September and between 0.7 to 17.2 g C m⁻² month⁻¹ in April (table 6). However, the surface of the productive mudflat and the surface of the productive water column and the light exposure period of these two compartments are highly different and the carbon pool available from each one in the whole estuary do not show the same result. Indeed, by taking into account the surface area, the phytoplankton primary production has been estimated at 281 t C in September and 500 t C in April. In comparison, the MPB primary production was estimate at 62 t C in September and 53 t C in April (table 7). Thus, if we consider these two compartments as the only autochthonous primary producers, the relative contribution of MPB to total estuarine autochthonous primary production was 18% in September and 10% in April which is much less than observed in other estuarine systems (tab.4 in Underwood & Kromkamp 1999).

Studies dealing with sediment dynamics in the Seine estuary showed the decline of the volume of erodible mud, the turbidity maximum and reduction of mudflat areas due to the intense hydrodynamics and anthropic disturbance. In this estuary, the fluid mud is not as developed as in the Gironde or the Loire estuaries (Lesourd *et al.* 2003) and the deposition area is now located in the subtidal areas of the river mouth. Intertidal mudflats being less and less fueled by mud inputs. In this context, we can question whether MPB primary production rates are now dramatically depressed. The historical engineering context and the displacement of the mud deposition areas from the intertidal to the subtidal part of the estuary can inhibit the MPB primary production. The MPB primary production is a major ecosystem function injecting carbon and organic matter in the food-web, and a reduction of MPB activity must alter the performances of the superior components all along the trophic web, thereby threatening economic resources like fish stocks but also protection ecological stakes regarding birds and wildlife.

5. Conclusion

This study showed weak values of the photosynthetic parameters due to photoinhibition processes favored by biofilm structuration in sandy sediment and also by fluid mud deposition

on the sediment surface which strongly limit photosynthesis. Our results pointed out that chl *a* content, biofilm structuration, and photosynthetic efficiency explained almost 60% of production rates variability for all sites at both seasons. Although a negative relationship was observed between phaeopigment percentage and chl *a* biomass which confirms the relevance of grazers on intertidal mudflats, their activity seems not affect directly the primary production in this study. The primary production rates estimated in this work appeared to be dependent on irradiance levels, migratory capacities or temperature. Even if, this study confirm the high productivity of microphytobenthos in comparison with phytoplankton, the productive surface of the intertidal flat, largely reduced anthropic activities, allowed the microphytobenthos to perform only between 10 and 18% of the autochthonous primary production.

**PARTIE 6 : SYNTHÈSE GÉNÉRALE,
DISCUSSION ET PERSPECTIVES**

L'objectif de cette étude était d'évaluer la dynamique spatiale et temporelle de la production primaire de l'estuaire de Seine, des compartiments phytoplanctonique et microphytobenthique. Afin de comprendre la variabilité de cette production, les paramètres physicochimiques et la diversité phytoplanctonique ont été étudiés ainsi que la dynamique d'excrétion du carbone sous forme de TEP et d'EPS. L'ensemble des résultats obtenus dans cette étude permet ainsi de caractériser les dynamiques physicochimiques et biologiques de l'estuaire de Seine.

1. Dynamique des paramètres environnementaux

En surface comme en profondeur, une vision précise de la dynamique des paramètres physico-chimiques au cours de l'année 2015 a pu être définie. Ainsi, de janvier à mars, cette dynamique présentait de fortes concentrations en azote inorganique dissous (DIN) et en silicates (Si) liées à un fort débit de la rivière à cette saison. A partir d'avril et jusqu'en octobre, les augmentations des valeurs de température et d'irradiance, suivies par une augmentation de la salinité, en lien avec une diminution du débit, permettent d'identifier les saisons printanière et estivale. Enfin, à partir d'octobre, la saison hivernale a pu être caractérisée par une augmentation du débit entraînant une élévation de la turbidité et des concentrations importantes en matière en suspension (MES). En effet, au cours de cette étude, nos résultats ont mis en évidence de fortes concentrations en MES et une importante turbidité dans l'estuaire de Seine. Les dynamiques de ces deux variables, fortement corrélées entre elles, ont pu être reliées aux processus de remise en suspension de sédiments, induits par les flux de la marée à l'échelle journalière et par les variations du débit fluvial à l'échelle saisonnière. La dynamique de MES était également positivement associée aux concentrations en phosphates (P) notamment au niveau de la zone de turbidité maximale (MTZ) et lors de la remise en suspension. Ceci s'explique par le fait que les P sont adsorbés par les MES (Morris *et al.* 1981; Sharp *et al.* 1982; Némery and Garnier 2007) et en conséquence les flux de P sont donc en partie contrôlés par la dynamique des matières en suspension. Cependant, les concentrations en sels nutritifs dans l'estuaire étant très importantes tout au long de l'année, aucune période de limitation potentielle de la croissance du phytoplancton par ces éléments nutritifs n'a été observée. Spatialement, les valeurs de la concentration en nutriments et la turbidité ont mis en évidence des gradients décroissants de l'amont vers l'aval alors que les valeurs de salinité suivaient un gradient croissant. Ainsi, la dynamique des paramètres physicochimiques a permis de distinguer deux

zones distinctes dans l'estuaire, caractérisées par des dynamiques différentes : la zone avale (A) comprenant les stations 1 à 4 et la zone amont (B) comprenant les stations 5 à 8 (chap. 3).

Afin de replacer notre étude dans un contexte pluriannuel, nous avons comparé les débits de 2015 avec ceux de la période 2000-2016. Cette année n'a pas montré d'étiage ou de crue exceptionnelle contrairement à l'année 2016 par exemple où un épisode de crue de la Seine a pu être observé en juillet (fig. 50). Nous pouvons ainsi estimer que l'année 2015 peut être considérée comme représentative du débit moyen de l'estuaire.

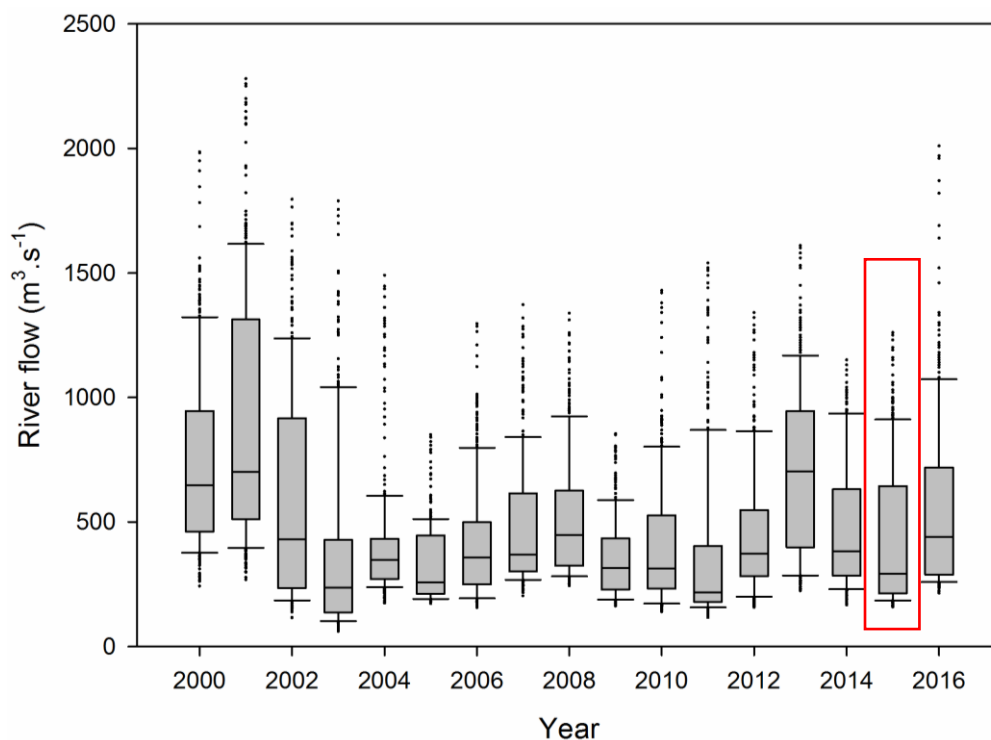


Figure 50. Diagrammes en boîte de la variation du débit de la Seine à Poses ($\text{m}^3.\text{s}^{-1}$) pour les années 2000 à 2016. Chaque boîte représente l'ensemble des données mesurées quotidiennement au cours de l'année concernée. La boîte à moustache est délimitée par les quartiles 1 et 3 et la barre centrale représente la médiane de la série de données. Les barres externes représentent 1.5 fois l'écart interquartiles avec les valeurs extrêmes et les points situés au-delà représentent les points fuyards (outliers). L'année 2015 est identifiée dans un rectangle rouge.

Les vasières intertidales de l'estuaire ont pu être différenciées en fonction de leur structure sédimentaire à partir des mesures en septembre 2014 et en avril 2015. Ainsi, la vasière Sud a été définie comme une zone sableuse avec très peu de particules fines. Cette structure sédimentaire s'explique par le courant moyen de l'estuaire qui s'oriente au NO, emportant les particules fines vers la zone intertidale nord (Le Hir *et al.* 2001a). La vasière Nord a été définie comme sablo-vaseuse mais présentait également des zones typiquement sableuses. Enfin, le chenal environnemental, zone de faible débit et d'accumulation de particules fines, a été défini comme une zone vaseuse. En raison des forts débits hivernaux, la granulométrie a varié entre

les saisons favorisant le dépôt de particules fines au Nord et donc l'apparition de zones sableuses en bas d'estran et au niveau des fosses au printemps. Ainsi, les zones sableuses ont été caractérisées par une plus faible teneur en eau, une plus forte masse volumique et une pénétration de la lumière plus importante que dans les zones vaseuses.

2. Dynamique des communautés

Biomasse des cellules photosynthétiques

A l'échelle saisonnière, la biomasse phytoplanctonique en surface a montré, en surface comme en profondeur, de fortes concentrations en chl *a* au printemps et en été, avec un gradient décroissant de l'aval vers l'amont (fig. 51 & 52). En hiver, de fortes valeurs de chl *a* ont été mesurées dans la MTZ, principalement en décembre. Ces fortes concentrations peuvent être en lien avec l'apport de végétaux supérieurs en provenance de l'amont de l'estuaire. Nos données suggèrent que la disponibilité en lumière, variable en fonction de la saison et de la turbidité, était le principal facteur de contrôle de cette dynamique dans l'estuaire. Cependant le gradient de salinité qui peut induire un stress osmotique et entraîner la lyse de cellules (Lionard *et al.* 2005; Servais and Garnier 2006; Hernando *et al.* 2015) pourrait également être en partie responsable du gradient observé. Nos résultats à l'échelle du cycle tidal et en profondeur nous ont également montré que la biomasse chlorophyllienne provenait principalement d'un apport de la zone polyhaline qui pénètre la zone amont de l'estuaire lors de la marée montante. En effet, les débits plus faibles aux saisons printanière et estivale permettraient la migration en amont des espèces marines (Josselyn and West 1985). Dans la zone aval de l'estuaire (Honfleur), les valeurs de chl *a* mesurées 2015 sont dans la gamme des valeurs mesurées précédemment sur la même zone entre 2008 et 2014 (fig. 53). En revanche, dans la zone amont (Tancarville), la biomasse chlorophyllienne moyenne mesurée en 2015 était relativement faible par rapport à celles mesurées précédemment sur cette zone entre 2008 et 2014. Les précédentes mesures ayant été réalisées pendant des stades différents de la marée, sans échantillonner la saison hivernale, cela pourrait expliquer cette différence. En effet, notre étude a montré que les valeurs étaient très faibles en hiver et très variables en fonction du cycle tidal, notamment dans la zone amont où le cycle tidal induit de fortes remises en suspension.

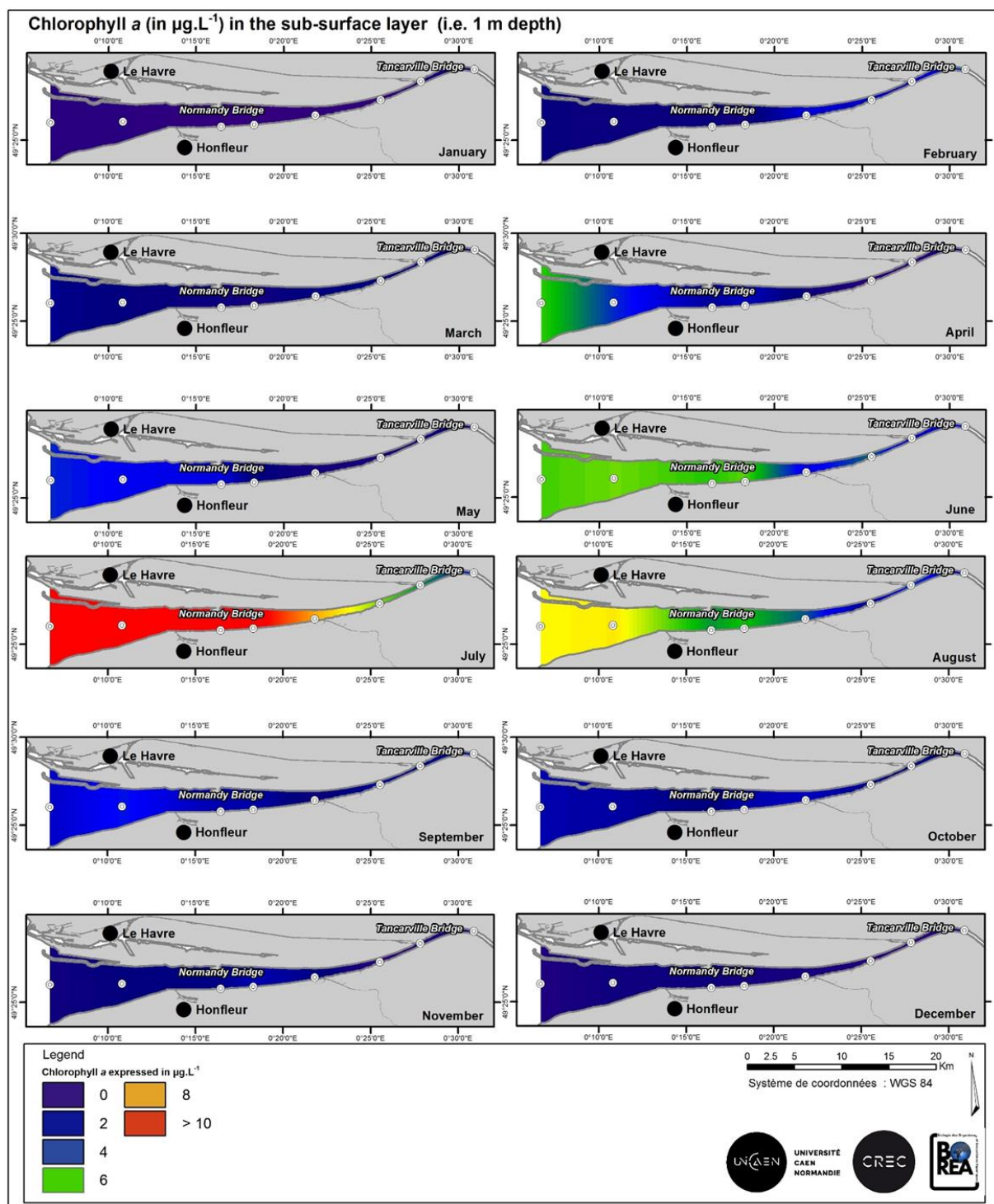


Figure 51. Variations de la biomasse en chl a ($\mu\text{g.L}^{-1}$) en sub-surface (-1m) pour chaque mois de l'année 2015. Les points blancs sur les cartes représentent les stations d'échantillonnage.

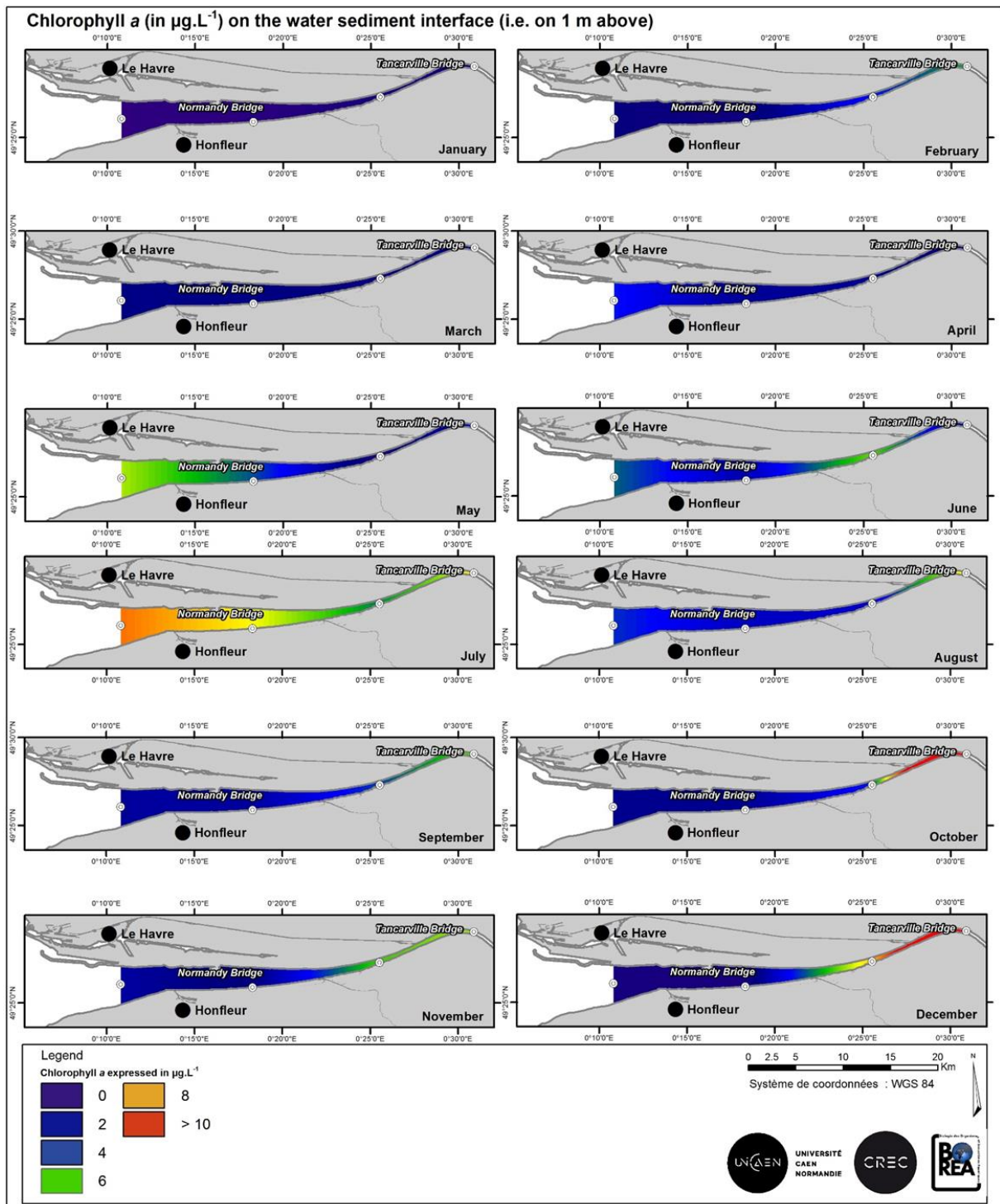


Figure 52. Variations de la biomasse en chl a ($\mu\text{g.L}^{-1}$) en profondeur (1m au-dessus du sédiment) pour chaque mois de l'année 2015. Les points blancs sur les cartes représentent les stations d'échantillonnage.

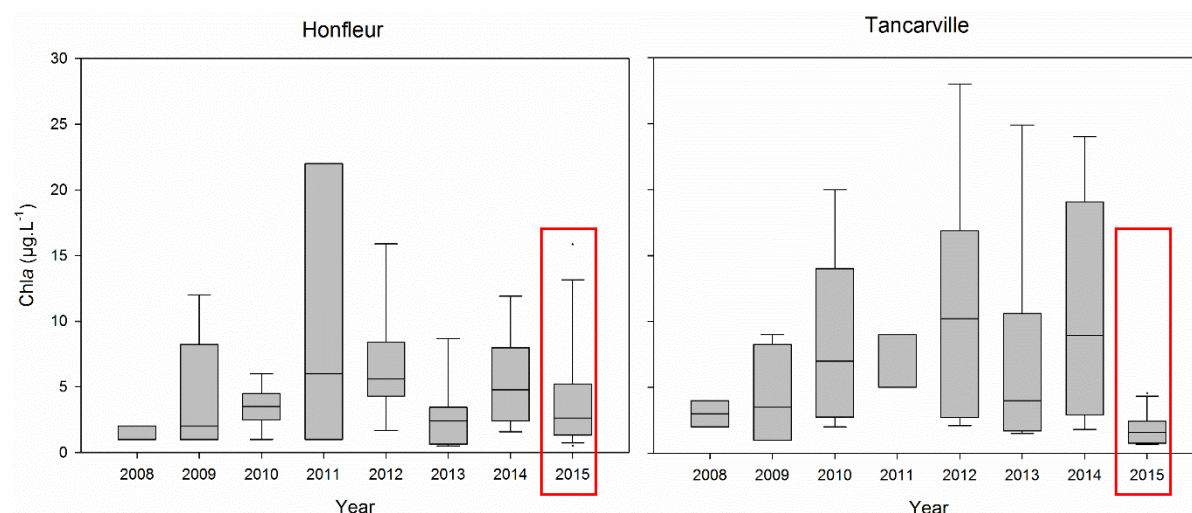


Figure 53. Diagrammes en boîte de la variation de la concentration en chl *a* ($\mu\text{g.L}^{-1}$) mesurée en aval (Honfleur) et en amont (Tancarville) de l'estuaire de Seine pour les années 2008 à 2015. Chaque boîte représente l'ensemble des données mesurées quotidiennement au cours de l'année concernée. La boîte à moustache est délimitée par les quartiles 1 et 3 et la barre centrale représente la médiane de la série de données. Les barres externes représentent 1.5 fois l'écart interquartiles avec les valeurs extrêmes et les points situés au-delà représentent les points fuyards (outliers). L'année 2015 est identifiée dans un rectangle rouge.

Les valeurs de la biomasse microphytobenthique échantillonnée en Septembre 2014 et en avril 2015 étaient plus importantes en été. Spatialement, les plus fortes biomasses ont été mesurées sur le chenal environnemental en été et sur la vasière Nord au printemps. Les plus faibles biomasses étant systématiquement observées sur la vasière Sud. Bien que nos résultats confirment en partie que la teneur en chl *a* est corrélée positivement à la teneur en eau (Paterson *et al.* 2000), ils confirment également que les zones fortement vaseuses peuvent être limitantes pour la croissance microphytobenthique et que le milieu sablo-vaseux serait le plus favorable (Ubertini *et al.* 2015). Les profils de répartition de cette chlorophylle étaient cependant très variables. Des profils homogènes ont pu être observés en vasière Sud et dans le chenal environnemental confirmant que la bonne pénétration de la lumière dans le sable favorise une répartition homogène (Jesus *et al.* 2005; Cartaxana *et al.* 2011). *A contrario*, en milieu vaseux, ces profils peuvent illustrer la difficulté pour les cellules microphytobenthiques de se déplacer dans une vase fluide. En vasière Nord, de fortes concentrations en surface qui diminuent de façon importante avec la profondeur ont été observées, traduisant la présence de biofilms bien établis et confirmant les conditions favorables des zones sablo-vaseuse.

Diversité des communautés phytoplanctoniques

Les fortes densités de chl *a* coïncidaient avec une forte richesse spécifique qui diminuait de l'aval vers l'amont dû au gradient salin. Cette hypothèse est en accord avec le grand nombre d'unités taxonomiques identifiées comme du phytoplancton d'origine marine. Ainsi, l'estuaire de Seine semble principalement soutenu par des espèces phytoplanctoniques d'origine marine, dont la richesse spécifique et l'abondance diminuent avec le gradient de salinité. Cela confirme l'opinion de Cloern & Dufford (2005) selon laquelle la diversité des écosystèmes estuariens serait soutenue par l'immigration et la dispersion. Ce schéma de distribution semble étroitement lié au concept d'écocline proposé par Attrill & Rundle (2002) et déjà observé dans l'estuaire de l'Escaut (Muylaert *et al.* 2009). Ainsi, si l'estuaire est représenté par un modèle à deux écoclines, il semble que, cette étude ait étudié l'écocline marine alors que l'écocline d'eau douce serait située en amont, dans la partie oligohaline non échantillonnée de l'estuaire (salinité < 1‰). En effet, la faible observation d'espèces d'eau douce pourrait être liée aux limites de la stratégie d'échantillonnage qui se terminait par la MTZ. Or, la survie des espèces d'eau douce dans la MTZ est très faible (Muylaert *et al.* 2000b). D'autant plus que dans l'estuaire de Seine, le copépode *Eurytemora affinis* (Poppe, 1880) est largement présent dans la zone oligohaline (jusqu'à 2×10^5 ind.m⁻³) et semble se nourrir principalement du phytoplancton d'origine fluviale (Cailleaud *et al.* 2007).

Lors de cette étude, très peu d'espèces de dinoflagellés ont été observées (un pic printanier (avril-mai) dominé par *Gonyaulax* sp. et un pic estival (juillet à septembre) dominé par *Scropsiella* sp. et *Prorocentrum* sp.). Les principales unités taxonomiques observées étaient des diatomées dont l'assemblage était dominé par *Skeletonema* sp., *Nitzschia* sp. et *Paralia sulcata*. Cet assemblage a déjà été observé dans l'estuaire de la rivière Pearl (Huang *et al.* 2004) et peut être relié à la tolérance de ces genres et espèces aux conditions dynamiques et à leur nature euryhaline. En effet, les espèces appartenant aux genres *Skeletonema* et *Nitzschia* sont euryhalines et eurythermales, leurs taux de croissance sont importants dans des conditions eutrophes (Huang *et al.* 2004). De même, *P. sulcata* possède une large répartition pélagique et benthique, littorale et subtidal, saumâtre et marine (McQuoid and Nordberg 2003). De plus, *P. sulcata* est une espèce adaptée aux faibles luminosités, ainsi le mélange vertical et la remise en suspension dans les estuaires créent des conditions favorisant son développement, la rendant plus compétitrice par rapport aux autres espèces présentes (Hobson and McQuoid 1997). D'autres genres de diatomées telles que *Dytilum* sp., *Rhizoslenia* sp. et *Chaetoceros* sp., typiques des eaux côtières et estuariennes (Muylaert *et al.* 2000b, 2009) ont également été observés dans la zone avale. Ainsi, il semble que les gradients de l'estuaire (salinité, turbidité)

jouent un rôle fondamental dans la structure des communautés de micro-phytoplancton favorisant les espèces les plus compétitrices face aux variations de la salinité et de la disponibilité en lumière.

En raison des conditions de faible luminosité dans les estuaires, les petites cellules devraient se développer beaucoup plus efficacement grâce à leur rapport surface/volume élevé (Kiorboe 1993). Or, dans notre étude, aucune différenciation claire n'a été observée entre les concentrations en chl *a* fractionnées par taille. Cependant, les mesures du pico- et nanophytoplancton ont montré des abondances plus élevées que le micro-phytoplancton allant jusqu'à $50 \times 10^3 \text{ cell.L}^{-1}$ avec en moyenne $13 \times 10^3 \text{ cell.L}^{-1}$. Ces résultats pourraient avoir un fort impact sur la structure des réseaux trophiques et les flux de carbone dans les estuaires. Une succession saisonnière claire a été observée avec une dominance de *Synechococcus* sp. pendant l'hiver (janvier à mars), puis de Pico-eucaryotes au printemps (avril à juin) et de *Cryptophyceae* en été (juillet à septembre). La faible abondance de *Synechococcus* sp. s'explique par le fait que cette cyanobactérie se développe de manière préférentielle dans les zones euphotiques bien éclairées, ce qui n'est pas le cas pour les écosystèmes estuariens, dynamiques et turbides (Partensky *et al.* 1999). La présence des pico-eucaryotes au printemps est conforme à des études antérieures qui démontrent les capacités halotolérantes de ces organismes (Schapira *et al.* 2010). De la même manière, des études précédentes montrent que les *Cryptophyceae* prospèrent dans toutes sortes d'habitats marins, saumâtres et d'eau douce (Klaveness 1988) et grâce à leurs pigments accessoires, les phycobilines, elles peuvent s'acclimater à de faibles intensités (Hammer *et al.* 2002). La présence de phytoplancton pico-nano dans l'estuaire de Seine a souligné la contribution significative de ces petites cellules à la biomasse et donc à la production primaire estuarienne et devrait être explorée de façon plus approfondie.

Lors de cette étude, nous avons également réalisé en collaboration avec Pascal Jean Lopez des séquençages sur l'ensemble de l'année d'échantillonnage et des stations dans le but d'approfondir notre connaissance sur la diversité écologique du phytoplancton au sein de cet écosystème. Ainsi, des inventaires sur les micro-eucaryotes (sur la base de codes-barres de l'ARN ribosomal 18S) et sur la fraction microbienne associée (sur la base de codes-barres de l'ARN ribosomal 16S) ont été réalisés en utilisant la technologie de séquençage MiSeq d'Illumina, une technologie présentant un certain nombre d'avantages notamment sur la qualité et la longueur des séquences (Loman *et al.* 2012). Les études bio-informatiques, toujours en cours, ont permis de définir des Unités Taxonomiques Opérationnelles (OTUs) qui possèdent 97% de similarité avec les séquences présentes dans les banques que ce soit pour les données 16S comme pour les données 18S. Après sous-échantillonnage, les données filtrées comptent

plus de 1×10^6 séquences pour le 16S et plus de 3×10^6 séquences pour le 18S qui ont pu être rassemblées en plus de 11 000 OTUs pour le 16S et plus de 9 000 OTUs pour le 18S.

Les analyses des données 18S montrent que les Stramenopiles (dont les diatomées) sont parmi les espèces les plus abondantes, suivies par les alvéolés (Fig. 54). En ce qui concerne la diversité, les OTUs en moyenne les plus diverses pour chaque site sont les Rhizaria (25,6%) suivis par les Stramenopiles (22,8%).

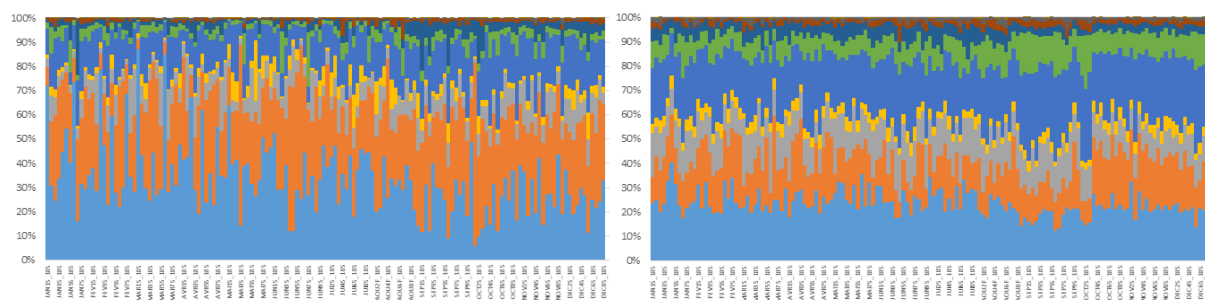


Figure 54. Evolution de l'abondance en terme de cellules.L⁻¹ (à gauche, exprimée en %) et de la diversité en nombre d'OTU (à droite, exprimée en %) des espèces eucaryotes (18S) au cours de l'année 2015. L'axe des abscisses réunit de gauche à droite les mois de l'année (de janvier à décembre) avec pour chaque mois les différentes stations (de 1 à 8). Avec des assignations taxonomiques par classe : Stramenopiles (bleu clair), Alveolata (orange), Opisthokonta (gris), Hacrobia (jaune), Rhizaria (bleu), Eukaryota_unclassified (vert), Archaeplastida (bleu foncé), Apusozoa (maron), Amoebozoa, Excavata et Eukaryota_X.

Les analyses sur les données 16S mettent en avant, tant au niveau des abondances que de la diversité, les Proteobacteria suivis par les Bacteroidetes et les Actinobacteria (Fig. 55). Ces analyses nous ont également permis de mettre en avant la présence d'Archae, bien que ces données ne soient qu'indicatrices puisque les oligonucléotides utilisés pour la création des banques n'étaient pas spécifiques de l'ADN ribosomal des Archae.

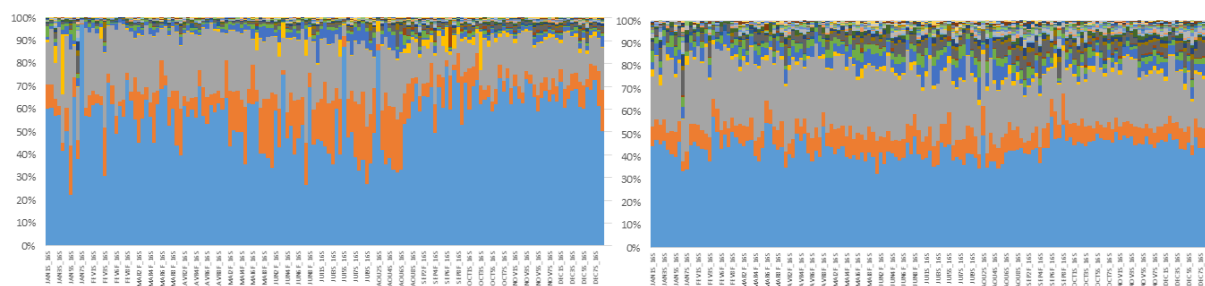


Figure 55. Evolution de l'abondance en terme de cellules.L⁻¹ (à gauche, exprimée en %) et de la diversité en nombre d'OTU (à droite, exprimée en %) des espèces bactériennes au cours de l'année 2015. L'axe des abscisses réunit de gauche à droite les mois de l'année (de janvier à décembre) avec pour chaque mois les différentes stations (de 1 à 8). Avec de bas en haut, correspondant aux différentes couleurs, les assignations taxonomiques de plus de 46 classes de rang: Proteobacteria (bleu ciel), Actinobacteria (orange), Bacteroidetes (gris), Firmicutes (jaune), Verrucomicrobia (bleu), Bacteria_unclassified (vert)

Ces premières analyses, bien que toujours en cours, suggèrent que la diversité génétique au sein de l'estuaire de Seine est très importante et que la fraction autotrophe n'est pas

forcément la plus diversifiée. En effet, cette diversité pourrait, même pour les espèces majoritaires, correspondre à des organismes tant procaryotes qu'eucaryotes qui n'ont, jusqu'à présent, que rarement ou jamais été étudiés. Il est intéressant de noter que certains des organismes correspondent à des séquences identifiées à partir d'analyses réalisées dans des baies (Shenhu, Sansha), des rivières (Danube), des lacs (Kusaki), des estuaires (Columbia), des golfes (Mexique ou Finlande) ou des zones marines pauvres en oxygène.

3. Dynamique des paramètres photosynthétiques

Etat physiologique des cellules

A l'échelle saisonnière, dans la zone avale (Zone A), les valeurs de l'efficacité quantique maximale du PSII (F_V/F_M) mesurées en surface étaient faibles en été et fortes le reste de l'année. Les faibles valeurs mesurées peuvent être liées au stress provoqué par les fortes irradiances (Holm-Hansen *et al.* 2000). En effet, l'activation de mécanismes de photoprotection comme le cycle des xanthophylles, peut conduire à une augmentation du quenching non-photochimique dans le but de protéger les cellules contre la production de ROS (Reactive Oxygen Species) qui altère les photosystèmes (Dubinsky and Stambler 2009; Goss and Jakob 2010). De plus, le mélange vertical et longitudinal dans les estuaires peut engendrer un environnement avec de fortes fluctuations lumineuses. Dans les environnements de ce type, les cellules phytoplanctoniques ont besoin d'équilibrer leur appareil photosynthétique pour maximiser la photoprotection aux fortes irradiances et l'efficacité photosynthétique aux faibles irradiances. Ainsi, lorsque la lumière diminue, la concentration en pigments des antennes collectrices augmente et la concentration en pigments photoprotecteurs diminue (Alderikamp *et al.* 2010). De ce fait, si les cellules acclimatées à de faibles niveaux de lumière se retrouvent en surface, elles présenteront de faibles valeurs de F_V/F_M en surface.

De plus, en zone A, le F_V/F_M a montré des valeurs plus élevées dans la couche d'eau salée en profondeur. Ce résultat suggère que, malgré les concentrations élevées de MES au fond et la très faible pénétration de la lumière, les cellules de phytoplancton peuvent survivre et maintenir un état physiologique élevé. Ceci pourrait s'expliquer par les capacités des cellules à s'acclimater rapidement aux variations de lumière, notamment par la réorganisation des antennes collectrices lors d'une baisse d'irradiance (Geider *et al.* 1993; Shelly *et al.* 2003; Behrenfeld *et al.* 2004). Cette couche d'eau profonde correspond à de l'eau marine dont le temps de résidence varie de 5 à 18 jours (Brenon and Hir 1999; Even *et al.* 2007). Ainsi, cette observation suggère que ces cellules photosynthétiques pourraient rapidement revenir à un état

productif élevé, dès qu'elles auront à nouveau accès à la lumière. De plus, ce résultat implique que la matière organique de la couche inférieure de l'estuaire de Seine serait probablement non pas composée uniquement de détritus, mais aussi de cellules phytoplanctoniques vivantes. Cette observation pourrait avoir des implications majeures sur le transfert trophique entre les organismes pélagiques et benthiques dans cette partie de l'estuaire.

Dans la zone amont (Zone B) les valeurs de F_V/F_M étaient faibles toute l'année sur l'ensemble de la colonne d'eau, traduisant les stress importants auxquels sont soumis les organismes dans la zone amont de l'estuaire : forte turbidité, faible disponibilité en lumière, stratification, fort gradient de salinité. Les valeurs légèrement plus élevées de janvier en avril pourraient être attribuées à des espèces d'eau douce, adaptées à ces conditions (Malpezzi *et al.* 2013). D'autre part, la présence de cyanobactéries pourrait expliquer les faibles niveaux de F_V/F_M mesurés. En effet, les régulations particulières de l'absorption de lumière, connues sous le nom de « transition d'état », sont importantes chez les cyanobactéries et peuvent entraîner une sous-estimation de leur état physiologique (Campbell *et al.* 1998).

Les fortes valeurs de F_V/F_M mesurées sur les zones intertidales de l'estuaire traduisent un bon état physiologique des biofilms microphytobenthiques. Seules quelques stations vaseuses ont présenté des valeurs plus faibles en été pouvant être attribuées aux mauvaises conditions de croissance dans ce milieu. Cependant, d'autres paramètres non mesurés pourraient être responsables de ces faibles valeurs tels que la richesse spécifique, la prédation ou l'état d'avancement de la marée au moment de la mesure. Ainsi, des expériences complémentaires seraient nécessaires afin d'appréhender le rôle de ces différents facteurs sur la variabilité de ce paramètre.

Capacité photosynthétique des cellules

A l'échelle journalière, la capacité photosynthétique a été exprimée en fonction du taux de transport maximal relatif des électrons au niveau du PSII ($rETR_{max}$), mesuré à haute fréquence (i.e. 5 min) au cours d'un cycle tidal. Les résultats confirment la variation très rapide de ce paramètre, dont les tendances peuvent être ainsi sur- ou sous-estimées à basses fréquences puisque la variabilité à court terme (i.e. 5min) peut être supérieure à la variabilité à plus long terme (i.e. heure, cycle de marée). Ainsi, nous recommandons l'utilisation de mesures à haute fréquence afin d'interpréter la dynamique des paramètres photosynthétiques avec précision, la haute fréquence étant plus en adéquation avec l'échelle de temps à laquelle varie ces paramètres.

En dépit de faibles F_V/F_M , les valeurs de $rETR_{max}$ dans la MTZ ont montré que l'activité photosynthétique des cellules vivantes est possible dans ce milieu extrême malgré le niveau

élevé de stress. De plus, nos observations au cours du cycle tidal nous montrent qu'en hiver, malgré de faibles valeurs, il apparaît qu'une capacité photosynthétique importante est véhiculée de la zone amont vers la zone aval de l'estuaire. La composition différente de la communauté entre les masses d'eau douce et salée pourrait expliquer ce résultat. En effet, pendant l'hiver, une production primaire élevée en eau douce a été reportée dans d'autres systèmes estuariens où elle a été attribuée à des communautés spécifiques de phytoplancton d'eau douce (Servais and Garnier 2006; Lehman 2007; Malpezzi *et al.* 2013). A nouveau, la présence de cyanobactéries dans la partie aval de l'estuaire pourrait également expliquer les faibles $rETR_{max}$ mesurés dans cette zone. En effet, les cyanobactéries présentent une productivité plus faible que le phytoplancton eucaryote (Masojidek *et al.* 2001; Macintyre *et al.* 2002). De plus, les mesures PAM peuvent avoir conduit à une sous-estimation de la productivité des cyanobactéries, car la lumière bleue utilisée est faiblement absorbée par cette fraction procaryotique du phytoplancton (Glover *et al.* 1985). En été, les valeurs de $rETR_{max}$ sont plus élevées. Cependant, nos résultats ont montré que lors des courants de marée, il y a une diminution des capacités photosynthétiques. L'augmentation de MES, la réduction de la pénétration de la lumière et/ou une altération des cellules dues aux contraintes associées à l'hydrodynamique de ces courants (Cloern *et al.* 1985; Servais and Garnier 2006), entrainerait ainsi une diminution des capacités photosynthétiques. Nos résultats ont également montré qu'une meilleure capacité photosynthétique est observée dans la zone mésohaline en comparaison avec celle mesurée dans la zone polyhaline. Cette observation suggère que la croissance du phytoplancton aurait pu se produire à l'intérieur même de l'estuaire où les concentrations en nutriments et la disponibilité en lumière sont simultanément favorables.

A l'échelle saisonnière, les valeurs de $rETR$ ont été utilisées pour estimer ETR . Deux méthodes ont été appliquées. La première méthode estimant ETR^{a*} (Barranguet and Kromkamp 2000; Morris and Kromkamp 2003; Napoléon and Claquin 2012; Napoléon *et al.* 2013a) et la deuxième estimant $ETR(II)$ (Schreiber *et al.* 2012). Nos résultats ont montré que les valeurs de ETR^{a*} étaient supérieures à celles de $ETR(II)$ et que les deux méthodes étaient faiblement corrélées entre elles. Cette dichotomie entre les deux méthodes peut être en lien avec l'estimation du a^* , utilisée dans le calcul du ETR^{a*} , qui correspond à une absorption moyenne de tous les pigments incluant des pigments non photosynthétiques et photo-protecteurs, mais aussi le "Package effect" (Fujiki and Taguchi 2002; Johnsen and Sakshaug 2007). De plus, l'estimation de $ETR(II)$ étant basée sur des mesures de σ_{PSII} à une longueur d'onde précise (440 nm dans cette étude), cela ne représente donc pas le PAR total (Schreiber *et al.* 2012). Ainsi, les deux approches présentent des biais qui ont conduit à une faible corrélation entre les deux

méthodes dont l'importance est dépendante des espèces étudiées, des différents groupes pigmentaires phytoplanctoniques (Johnsen and Sakshaug 2007) ou encore des conditions de croissance (Hancke *et al.* 2008a; Napoléon *et al.* 2013a). Il est apparu que les valeurs $\phi_{e,C}$ obtenues à l'aide de ETR(II) étaient cependant mieux adaptées pour transformer les données de fluorescence variable en unités de carbone, sans avoir à tenir compte des variations journalières du $\phi_{e,C}$. Ce résultat nous permet de mettre en avant qu'il est possible d'estimer la production primaire à haute fréquence, en utilisant des mesures autonomes de fluorescence variable à partir de navires d'opportunité ou d'amarrage (Napoléon & Claquin 2012; Lawrenz *et al.* 2013; Silsbe *et al.* 2015; Claquin *et al.*, in prep.) sans tenir compte d'une variation quotidienne potentielle du $\phi_{e,C}$. Cependant, l'étalonnage à basse fréquence de $\phi_{e,C}$ reste tout de même nécessaire en fonction des caractéristiques propres aux masses d'eau, aux différents écosystèmes et aux saisons.

Afin de caractériser la production primaire phytoplanctonique de l'estuaire de Seine, la méthode ETR(II) (Schreiber *et al.* 2012) a donc été utilisée pour mesurer les paramètres photosynthétiques et estimer le $\phi_{e,C}$. Les résultats de $ETR(II)_{max}$ ont montré des valeurs décroissantes le long du gradient de salinité de l'estuaire, à l'exemption de la période hivernale pendant laquelle les valeurs étaient faibles sur l'ensemble de l'estuaire. Ainsi, malgré les faibles valeurs de F_V/F_M mesurées en été et en surface, une forte capacité photosynthétique ($ETR(II)_{max}$) a été mesurée, ce qui permet d'expliquer les forts niveaux de biomasse observées. De plus, de fortes valeurs de $ETR(II)_{max}$ ont été observées en amont de la MTZ, dans la zone de faible salinité. Ce résultat suggère une forte capacité photosynthétique des espèces phytoplanctoniques situées en amont de la MTZ. Afin de confirmer cette suggestion, une campagne de prélèvement a été réalisée le 1^{er} septembre 2015 dans le but d'échantillonner la partie de l'estuaire située entre Honfleur et Rouen. Les résultats de cette campagne montrent des valeurs de $rETR_{max}$ croissantes entre la MTZ (Tancarville) et le port de Rouen (Fig. 56). Bien qu'obtenus lors d'un stade de marée différent de celui des campagnes saisonnières, ces résultats confirment les fortes capacités photosynthétiques des espèces phytoplanctoniques dulçaquicoles de la Seine en amont de la MTZ. La diminution de la chl *a* observée dans la partie dulçaquicole pourrait être attribuée à la sédimentation des cellules, bien plus importante dans cette zone que le long du gradient salin de l'estuaire.

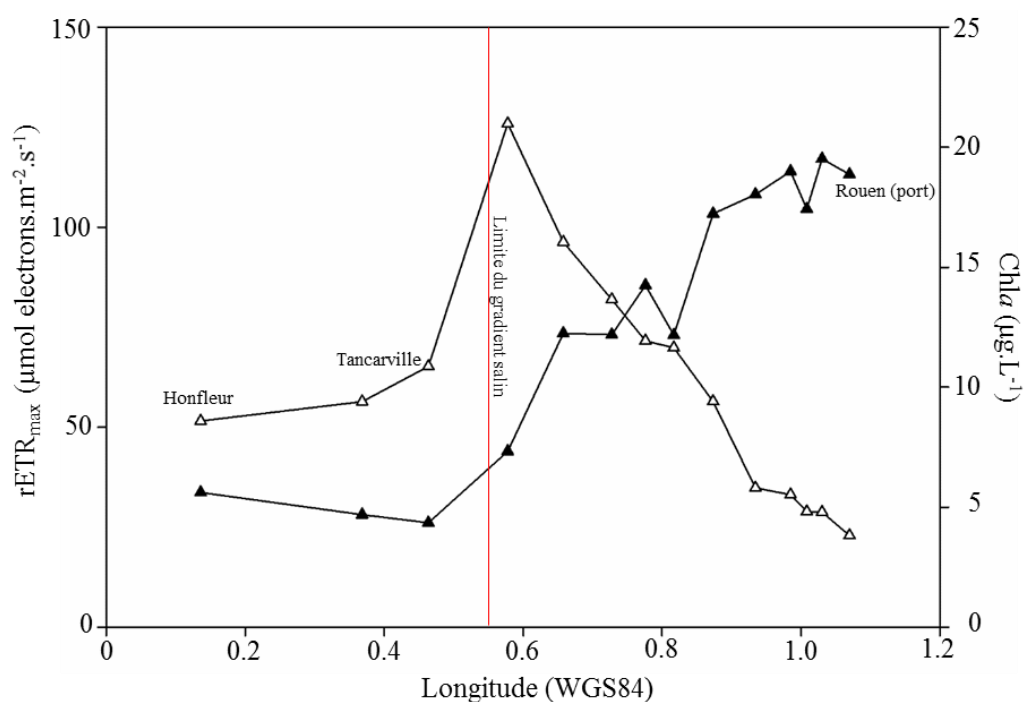


Figure 56. Evolution de la concentration en chl *a* (triangles vides ; $\mu\text{g.L}^{-1}$) et du taux relatif maximal de transport des électrons au niveau du PSII ($rETR_{max}$; triangles pleins : $\mu\text{mol electrons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) en Seine de Honfleur (WGS84 : 49.2557 ; 0.1358) à Rouen (WGS84 : 49.4429 ; 1.0698). La limite du gradient salin (ligne rouge) représente également la limite de l'étude réalisée dans ce manuscrit.

Les mesures de $rETR_{max}$ réalisées sur les zones intertidales ont été corrigées par l'application d'un modèle permettant d'intégrer l'atténuation de la lumière en profondeur. En effet, une estimation précise des paramètres photosynthétiques du microphytobenthos nécessitait l'application de ce modèle correctif prenant en compte l'impact de cette atténuation en fonction des composantes biotiques (i.e. répartition de la chl *a* en profondeur) et abiotiques (i.e. granulométrie du sédiment) du milieu. Les valeurs de $rETR_{max}$, étaient très variables à l'échelle des répliquas (spatialement proches) tout comme à l'échelle saisonnière. Globalement, les valeurs étaient plus fortes en Septembre, au niveau de la vasière Nord et du chenal environnemental. Ceci pouvant s'expliquer par l'hydrodynamisme de l'estuaire de Seine, favorisant les apports nutritifs au Nord (Le Hir *et al.* 2001b) et par l'aspect accumulateur du chenal, pouvant favoriser la disponibilité en nutriments et donc le développement du microphytobenthos (Underwood and Kromkamp 1999). Cependant, la granulométrie du sédiment ne peut être considérée comme l'unique facteur pouvant influencer les valeurs de $rETR_{max}$. L'état du biofilm ou encore la pression des consommateurs peuvent également être des facteurs important de régulation de la capacité photosynthétique du microphytobenthos. Des études complémentaires seront nécessaires pour obtenir des explications supplémentaires.

Dynamique de $\phi_{e,C}$.

En couplant des mesures de PAM à haute fréquence ($ETR(II)_{max}$) et des mesures de ^{13}C à basse fréquence (P_{max}) (Napoléon and Claquin 2012), il a été possible d'estimer la dynamique de $\phi_{e,C}$. Les valeurs obtenues comprises entre 1,56 et 24,98 mol e⁻.molC⁻¹ avec une moyenne annuelle de $7,95 \pm 4,94$ mol e⁻.molC⁻¹ étaient relativement faibles pour des études *in situ* en comparaison à la littérature (Napoléon and Claquin 2012; Lawrenz *et al.* 2013). De précédentes études ayant montré de fortes valeurs du paramètre $\phi_{e,C}$ lors de limitation en sels nutritifs (Napoléon and Claquin 2012; Napoléon *et al.* 2013b), nous pouvons supposer que l'absence de limitation en nutriments dans l'estuaire peut expliquer les faibles valeurs obtenues et confirme l'importance des sels nutritifs dans la relation ETR/C. Ainsi, comme l'ont montré Behrenfeld *et al.* (2004), en conditions nutritives optimales, l'appareil photosynthétique semble capable de s'acclimater plus facilement aux variations environnementales. Cependant, les valeurs supérieures à 6 indiquent la mise en place de voies alternatives des électrons. En effet, lors de perturbations environnementales ou d'ajustements métaboliques, les flux alternatifs des électrons (AEF : réaction de Mehler, transports cycliques autour du PSI et/ou du PSII, photorespiration, réduction des nitrates, etc) sont impliqués dans la modulation du ratio ATP/NADPH en fonction des demandes métaboliques, afin d'optimiser les performances photosynthétiques et la croissance (Endo and Asada 2008; Nogales *et al.* 2011; Johnson and Alric 2013). Ainsi, de nombreux électrons provenant du flux linéaire entre le PSII et l'incorporation de carbone peuvent prendre des voies alternatives et générer un biais dans l'estimation de la fixation du carbone à partir de la variation du $ETR(II)_{max}$. Cela montre l'importance d'estimer et de comprendre les variations du $\phi_{e,C}$. Ainsi, les sources des variations, qu'elles soient méthodologiques, environnementales ou physiologiques ne nous permettent pas d'estimer un $\phi_{e,C}$ constant dans l'estuaire. Dans ce contexte, il est important de continuer à étudier la relation ETR/C en fonction des paramètres environnementaux.

Couplage ETR/C

Dans cette étude, la relation ETR/C a été testée en intégrant la variation annuelle des paramètres physicochimiques afin de pouvoir estimer la fixation de carbone à partir des données de fluorescence modulée. Après avoir testé toutes les variables environnementales, la température et la concentration en DIN sont ressorties comme les facteurs influençant de manière significative la relation entre le $ETR(II)_{max}$ et P_{max} . Ce résultat est en accord avec les observations précédentes qui ont étudié les paramètres qui influent cette relation. En effet, une forte influence de la température, des nutriments et de la disponibilité en lumière a été

précédemment montrée (Napoléon and Claquin 2012; Lawrenz *et al.* 2013). Ainsi, en tenant compte de la variation de ces deux paramètres, les données de $ETR(II)_{\max}$ ont été transformées en données de production ($P^{\text{sim}}_{\max}$). Les données de $P^{\text{sim}}_{\max}$ ont ensuite été utilisées pour estimer la production primaire dans la couche euphotique, à chaque heure du jour de l'année d'échantillonnage, en utilisant une équation qui intègre l'atténuation de la lumière en profondeur en fonction de la turbidité.

4. Dynamique de la production primaire

Dynamique de la production primaire phytoplanctonique

La dynamique annuelle de la production primaire (PP) se caractérise par une forte variabilité temporelle et spatiale. Comme attendu, la production primaire était plus forte au printemps et en été, périodes pendant lesquelles les faibles débits de la rivière engendrent une plus faible turbidité et donc une meilleure pénétration de la lumière. De plus, les températures et les niveaux de lumière sont plus favorables à la photosynthèse lors de ces deux saisons. A l'échelle temporelle, les valeurs ont atteint $0,11 \text{ gC.m}^{-2}$ par heure, $1,18 \text{ gC.m}^{-2}$ par jour et $26,09 \text{ gC.m}^{-2}$ en juillet (Fig. 57). Le mois de juillet fut le mois avec la plus importante production, présentant une moyenne de $13,15 \text{ gC.m}^{-2}.\text{m}^{-1}$. Ces valeurs sont en accord avec les valeurs retrouvées dans la littérature, dans des estuaires de même latitude (Ning *et al.* 1988; Magnien *et al.* 1992; van Spaendonk *et al.* 1993; Hama and Handa 1994; Sorokin and Sorokin 1996). La PP annuelle était minimale à la station 6 avec une moyenne de $17,26 \text{ gC.m}^{-2}.\text{y}^{-1}$ et maximale à la station 2 avec une moyenne de $81,53 \text{ gC.m}^{-2}.\text{y}^{-1}$.

La productivité du phytoplancton (i.e. le ratio Production/Biomasse ; $\text{mgC.mgChl } a^{-1}$) a montré des valeurs allant jusqu'à $19,56 \text{ mgC.mgChl } a^{-1}$ par jour. La dynamique saisonnière de la productivité a également montré des valeurs faibles en hiver, lorsque la température était inférieure à 10°C , et de fortes valeurs au printemps et en été, principalement dans la zone A. Le gradient spatial avec des valeurs décroissantes de l'aval vers l'amont est toujours observable et peut à nouveau être lié au gradient de turbidité le long de l'estuaire. Contrairement à la production, les valeurs maximales de productivité ont été mesurées pendant le printemps dans la partie aval de l'estuaire (Hunter-Cevera *et al.* 2016). Comme cette augmentation est principalement observée dans le panache de l'estuaire, l'origine de la production peut être définie comme estuarienne et/ou côtière. Généralement, dans les études réalisées sur les systèmes côtiers, une diminution de la productivité est observée à la fin du printemps ou au début de l'été, en lien avec la consommation des nutriments qui deviennent alors limitants.

Cependant, dans l'estuaire, nous avons vu que les nutriments ne sont pas limitants et que c'était principalement la disponibilité en lumière qui limitait la croissance. En été, les valeurs de productivité les plus importantes ont été quant à elles mesurées dans la partie mésohaline de l'estuaire alors que la zone côtière était moins productive. Cette observation nous montre l'importance de la production autochtone de l'estuaire en particulier au cours de la période estivale.

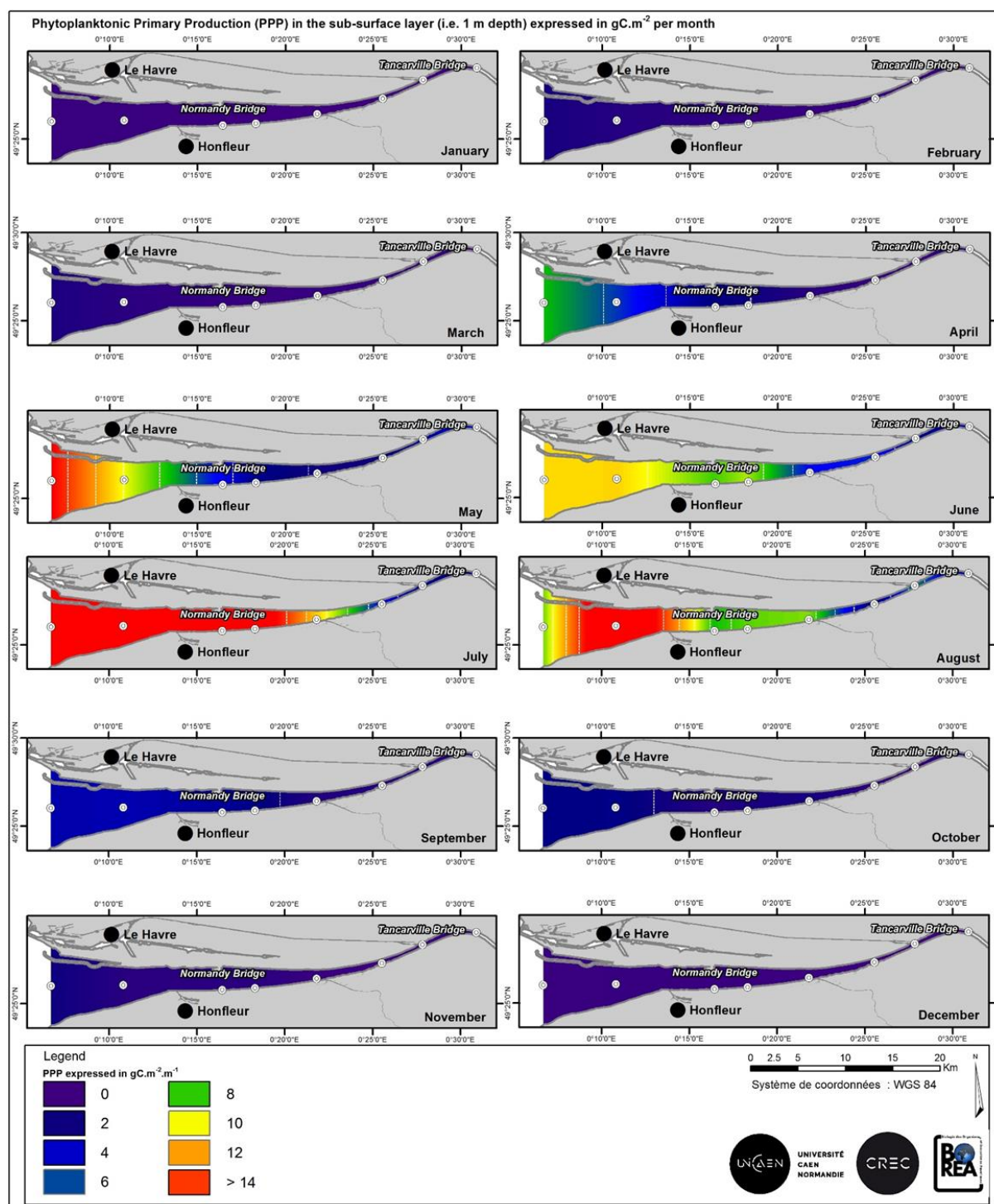


Figure 57. Variations de la production primaire (gC.m^{-2}) pour chaque mois de l'année 2015. Les points blancs sur les cartes représentent les stations d'échantillonnage.

En 2015, la production primaire annuelle de l'estuaire de Seine était comprise entre 17,26 et 81,53 $\text{gC.m}^{-2}.\text{y}^{-1}$ en fonction des stations considérées (Tab. 31). Ces valeurs ne permettent cependant pas de calculer une valeur moyenne de production pour l'ensemble de l'estuaire. En effet, étant donné que l'estuaire est plus large en amont qu'en aval, les différentes zones de l'estuaire représentent des surfaces différentes. Ainsi, la surface de chaque zone, considérée comme représentative d'une station, a été calculée à partir d'images satellites prises à marée haute. Les surfaces ainsi calculées s'échelonnaient entre 2,3 km^2 autour de la station 7 et 44,4 km^2 au niveau de la station 1. En tenant compte de ces surfaces, un total de 6 032 tC fixées et donc une moyenne rapportée au mètre carré pour l'ensemble de l'estuaire de 64,75 gC.m^{-2} ont pu être estimés pour l'année 2015.

Dynamique de la production primaire microphytobenthique

La production primaire microphytobenthique de l'estuaire a été estimée en transformant les valeurs de ETR_{max} en unité de carbone (Kromkamp *et al.* 1998; Morris and Kromkamp 2003; Johnsen and Sakshaug 2007; Claquin *et al.* 2008; Napoléon *et al.* 2013b). Ces valeurs ont ensuite été intégrées sur la couche photique et la production de chaque station (gC.m^{-2}) a été estimée pour les deux saisons d'échantillonnage.

Les valeurs de production primaire étaient comprises entre 5 et 1389 mgC.m^{-2} par station et par jour avec des moyennes de 300,4 et 270,2 $\text{mgC.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$ en septembre et en avril respectivement. Ces résultats sont en accord avec l'étude menée par Spilmont *et al.* (2006) au cours de laquelle des valeurs comprises entre 2,4 et 869 mgC.m^{-2} par jour avaient été relevées sur la vasière Nord de l'estuaire de Seine. De plus, ces valeurs sont également comparables aux valeurs estimées dans de nombreux autres estuaires (e.g. De Sousa *et al.* 1998; Colijn *et al.* 1984; Barranguet & Kromkamp 2000; Underwood & Kromkamp 1999).

La vasière Nord présentait la plus forte moyenne de production aux deux saisons. Les plus faibles moyennes de production étant observées sur la vasière sud au printemps et dans le chenal en été. Cette observation confirme que les environnements sablo-vaseux seraient plus favorables à la production microphytobenthique. En effet, la meilleure pénétration de la lumière dans les environnements sableux peut être néfaste lorsque les intensités lumineuses sont très fortes et engendre des processus de photoinhibition si le microphytobenthos n'a pas une capacité de photoacclimatation suffisante. Lorsque les intensités lumineuses sont plus faibles, l'atténuation importante de la lumière, en présence de sédiment fin, est fortement limitante pour la photosynthèse et donc pour la production, ce qui pourrait expliquer les faibles valeurs observées dans le chenal environnemental en été.

En comparaison avec nos résultats de la production primaire phytoplanctonique de l'estuaire de Seine aux mêmes périodes, comprises entre 1,1 à 3,5 gC.m⁻² en septembre et entre 0,3 à 7,5 gC.m⁻² en avril, le microphytobenthos semble être plus productif avec des valeurs comprises entre 1,4 et 22,8 gC.m⁻².m⁻¹ en septembre et entre 0,7 et 17,2 gC.m⁻².m⁻¹ en avril (tab. 31). Cependant, en considérant les surfaces productives, la production primaire totale estimée pour le microphytobenthos, variant entre 62,07 tC en Septembre 2014 et 52,48 tC en avril 2015, était faible comparé à celle du phytoplancton, qui selon nos estimations, variait de 281 tC en septembre et à 500 tC en avril 2015. En effet, en considérant ces deux compartiments comme les seuls producteurs primaires autochtones, la contribution relative du microphytobenthos à la production primaire autochtone estuarienne totale serait donc de 18% en septembre et de 10% en avril, ce qui est beaucoup moins important que ce qui a pu être estimé dans d'autres systèmes estuariens (cf. tab. 4 dans Underwood & Kromkamp 1999).

5. Dynamique des excréations d'exopolysaccharides

Dynamique des particules exopolymériques transparentes (TEP)

Malgré l'importance des TEP et des EPS dans les processus biologiques et écologiques (Bhaskar and Bhosle 2005), seules peu d'études se sont concentrées sur ces fractions biochimiques dans les estuaires (Annane *et al.* 2015). D'après Malpezzi *et al.* (2013), bien que leur production soit entièrement biologique, la distribution des exopolysaccharides dans des zones dynamiques telles que les estuaires, serait principalement contrôlée par les processus environnementaux. De plus, la formation des TEP est en partie abiotique, en lien avec les propriétés de coagulation des précurseurs, le taux de rencontre avec les particules sédimentaires, le pH, les concentrations en cations, ou encore la concentration et la nature des précurseurs présents (Passow 2002). Dans l'estuaire de Seine, les valeurs de la concentration en TEP dans la colonne d'eau étaient comprises entre 2,21 et 16,48 mgXGeq.L⁻¹ en surface avec une moyenne annuelle de 6,32 mgXGeq.L⁻¹ (fig. 58), et entre 3,11 et 98,20 mgXGeq.L⁻¹ à proximité du fond avec une moyenne annuelle de 15,93 mgXGeq.L⁻¹ (fig. 59). Ainsi, dans l'estuaire de Seine, le pool de carbone potentiellement disponible pour le réseau trophique sous la forme de TEP a été estimé entre 1,5 et 70 mgC.L⁻¹ (tab. 31). Ces valeurs sont fortes comparées aux valeurs reportées dans la littérature, où les valeurs maximales sont de 1.54 mgXGeq.L⁻¹ (Annane *et al.* 2015), 2.82 mgXGeq.L⁻¹ (Malpezzi *et al.* 2013), 11 mgXGeq.L⁻¹ (Passow 2002) ou encore 14.8 mgXGeq.L⁻¹ (Radić *et al.* 2005). Cependant, plusieurs aspects pourraient expliquer ces fortes valeurs.

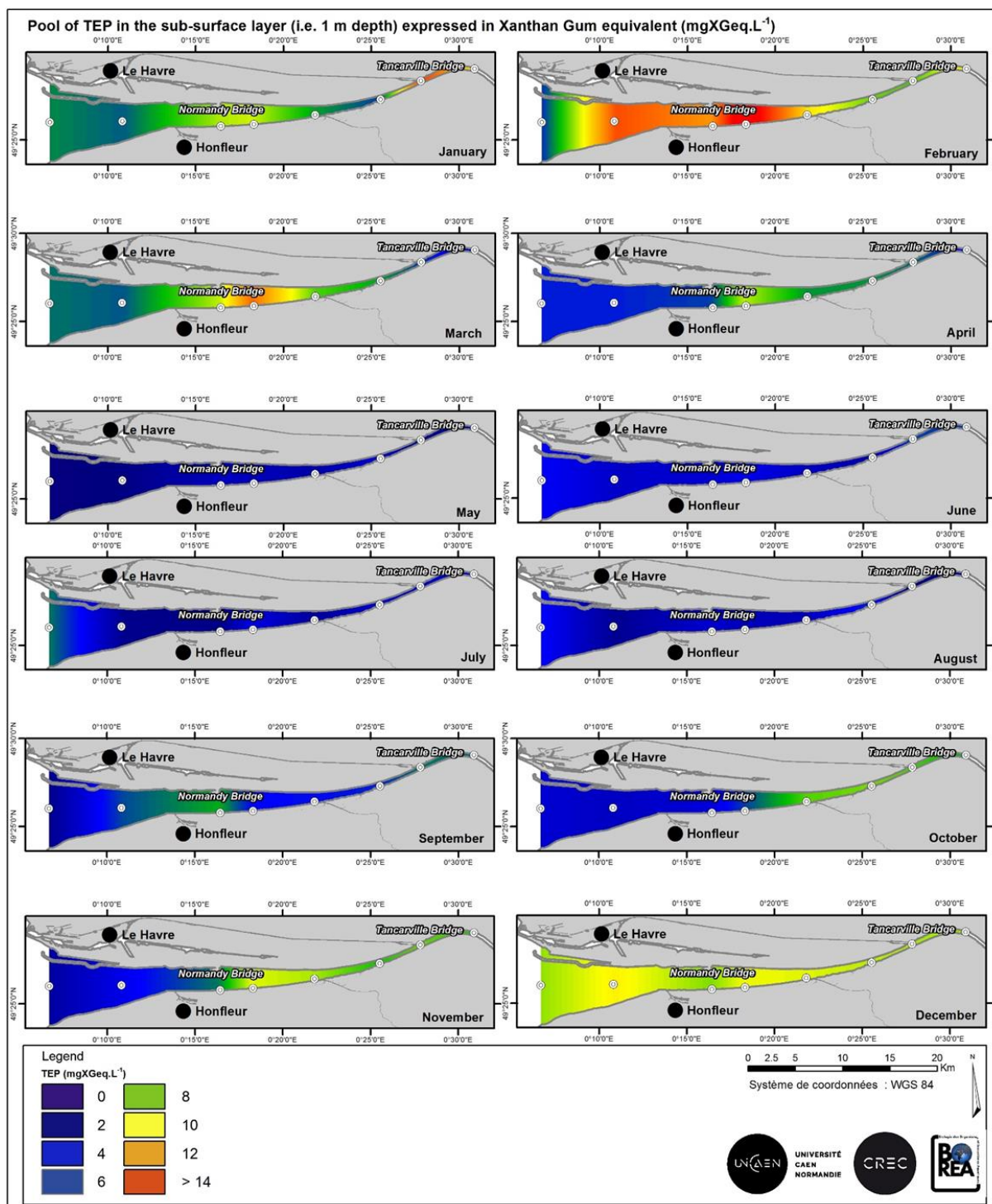


Figure 58. Variations des concentrations en TEP (mgXGeq.L^{-1}) mesurée en sub-surface (-1 m) pour chaque mois de l'année 2015. Les points blancs sur les cartes représentent les stations d'échantillonnage.

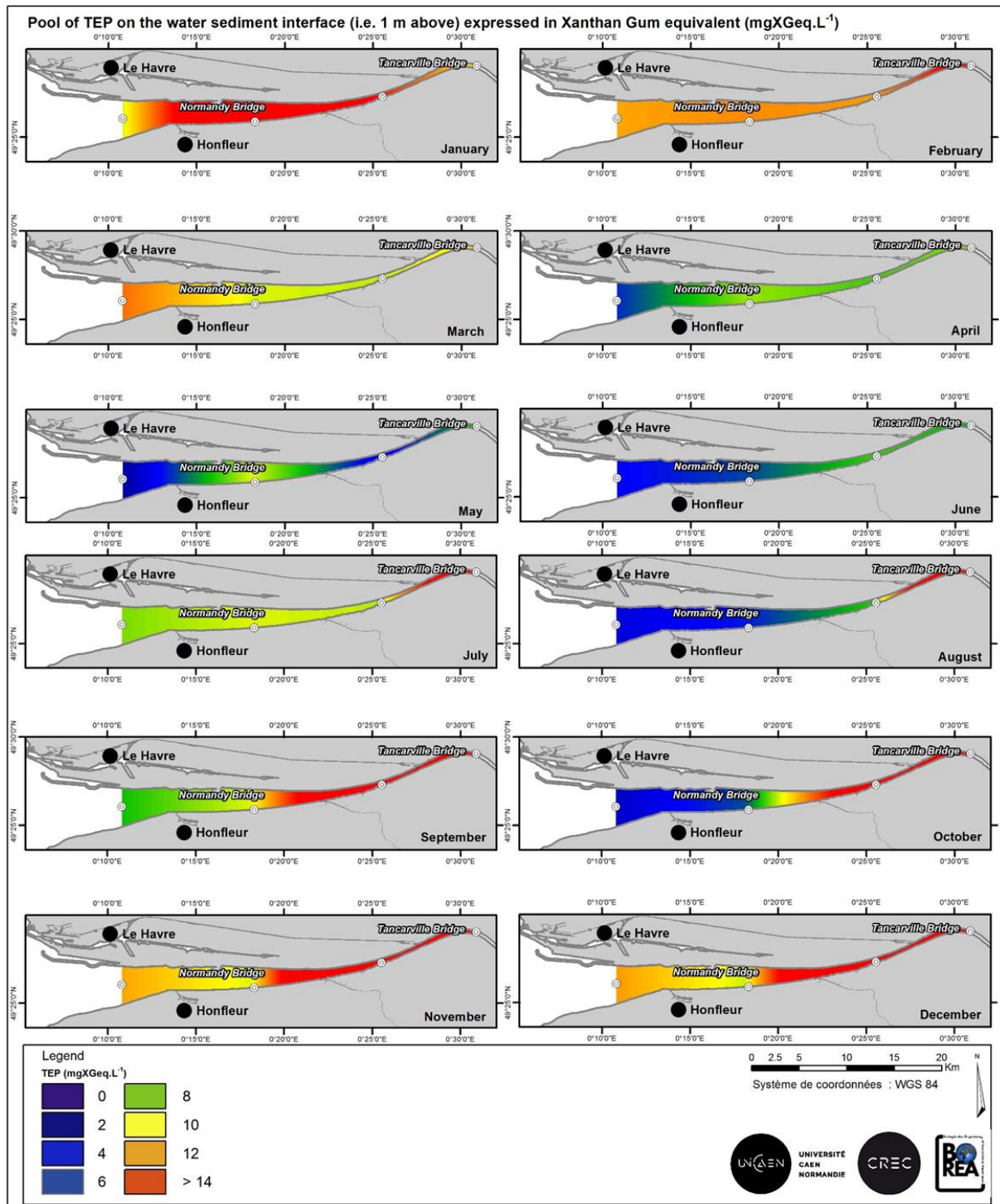


Figure 59. Variations des concentrations en TEP (mgXGeq.L^{-1}) mesurées en profondeur (1m au-dessus du sédiment) pour chaque mois de l'année 2015. Les points blancs sur les cartes représentent les stations d'échantillonnage.

Tout d'abord, les TEP sont bien connues pour être liées aux matières en suspension à cause des processus d'agrégation et de sédimentation (Passow 2002; Thornton 2002). Dans notre étude, les plus fortes valeurs de TEP ont été mesurées au fond et notamment dans la partie amont, au niveau de la MTZ, qui peut présenter une charge particulaire très importante jusqu'à plus de 2 g.L⁻¹. Or, il a déjà été montré que la MTZ était une zone présentant de très fortes concentrations en TEP dans les estuaires, qui constituaient une fraction très importante des particules organiques de carbone (POC) dans cette zone (Malpezzi *et al.* 2013; Annane *et al.* 2015). En effet, en lien avec leurs propriétés collantes (Engel 2000; Passow 2002), associées au gradient salin et à la turbulence, la formation de TEP est fortement stimulée dans la MTZ. En effet, le mélange des eaux douces et salées affecte la concentration des ions et des cations qui constituent les sels, ce qui pourrait jouer un rôle important dans le raccordement des polysaccharides et former des particules gélifiantes telles que des TEP (Bar-Zeev *et al.* 2015). Ainsi, ces hypothèses pourraient expliquer les fortes valeurs mesurées et la dynamique des TEP dans l'estuaire de Seine. D'autant plus que nos concentrations en TEP étaient principalement associées à la dynamique des MES pendant les courants de marée et la marée basse. De plus, la forte turbidité et le colmatage subséquent des filtres lors de la filtration, pourrait être à l'origine de la rétention de précurseurs des TEP (< 0,4 µm) sur les filtres, ces derniers pourraient ainsi représenter jusqu'à 89 % des valeurs mesurées (Villacorte *et al.* 2015). Ainsi, il serait intéressant de réaliser une étude complémentaire afin de tester cette hypothèse.

Malgré ce lien avec les paramètres environnementaux, les TEP sont principalement d'origine biologique et pourraient donc être également liées aux paramètres biologiques (Hong 1997; Beauvais *et al.* 2003; Radić *et al.* 2005; Wurl and Holmes 2008; Klein *et al.* 2011). Cependant, dans notre étude, comme dans d'autres études (Garcia 2002; Corzo *et al.* 2005), aucune corrélation n'a été retrouvée entre les TEP et la dynamique du phytoplancton (productivité, biomasse). Au contraire, la dynamique des TEP était inversement corrélée à celle de la chl *a*. Cette observation serait ainsi en accord avec les études qui montrent que les TEP sont principalement excrétées lors de la sénescence du phytoplancton plutôt que lors de sa croissance (Klein *et al.* 2011; Chowdhury *et al.* 2016). D'autant plus qu'une relation négative a été observée entre les TEP et le F_V/F_M. Bien que certains haptophytes (i.e. *Phaeocystis globosa*) ou dinoflagellés (i.e. *Lepidodinium chlorophorum*; Claquin *et al.* 2008) soient considérés comme d'importantes sources de précurseurs des TEP, il est admis que les diatomées en sont la principale et que leur capacité de production dépend de la composition de la communauté (Passow and Alldredge 1994; Passow 2002). Annane *et al.* (2015) suggèrent que *Skeletonema sp.*, *Thalassiosira sp.* et *Chaetoceros sp.* seraient les principales sources de TEP

dans l'estuaire du Saint-Laurent. Ces trois genres ont été observés dans l'estuaire de Seine, mais leur occurrence n'était pas corrélée avec les fortes concentrations en TEP. Selon nos résultats, les espèces majoritairement présentes lors de fortes concentrations en TEP étaient *Paralia sulcata*, *Rhizosolenia imbricata* et *Nitzschia sp.* Cependant, ces espèces étaient également présentes lors de périodes de faibles concentrations en TEP, ce qui nous permet de supposer que l'apparition d'espèces connues comme grands producteurs de TEP n'est pas suffisante pour expliquer la dynamique des TEP dans un écosystème aussi dynamique qu'un estuaire. Cette affirmation est renforcée par une relation positive des TEP avec la silice et une relation négative avec l'abondance des diatomées. De plus, aucune relation directe n'a pu être mise en évidence entre la dynamique des TEP et celle des populations pico et nano-phytoplanctoniques identifiées dans l'estuaire de Seine.

Ainsi, la répartition des TEP semble fortement liée à la dynamique des MES et à la turbidité, alors que leur production pourrait être liée à l'activité microbienne. En effet, l'activité microbienne est très importante en estuaire, notamment dans la MTZ, et ces bactéries pourraient produire des TEP dans la colonne d'eau (Azam *et al.* 1983; Middelburg and Herman 2007; Malpezzi *et al.* 2013). De plus, une forte fraction des TEP pourrait également être reliée aux apports allochtones de matière organique qui peuvent véhiculer de fortes concentrations de matériel détritique et de bactéries hétérotrophes (Heip *et al.* 1995).

Dynamique des substances polymériques extracellulaires (EPS)

La distribution en EPS variait différemment de celle des TEP avec des valeurs comprises entre 0 et 39,54 mgGeq.L⁻¹ pour les EPS solubles (S-EPS) et entre 0,24 et 14,18 mgGeq.L⁻¹ pour les EPS liés (B-EPS) en surface (fig. 60) et entre 0 et 74,32 mgGeq.L⁻¹ pour les EPS solubles (S-EPS) et entre 0,23 et 17,11 mgGeq.L⁻¹ pour les EPS liés (B-EPS) au fond (fig. 61). Ainsi, dans l'estuaire de Seine, le pool de carbone potentiellement disponible pour le réseau trophique sous la forme d'EPS a été estimé entre 0 et 33,2 mgC.L⁻¹ (Tab. 31).

A la différence des TEP, aucune relation n'a été observée entre les teneurs en EPS et la turbidité ou les concentrations en MES, à l'échelle spatiale et saisonnière. Ceci s'explique par le fait que les EPS font partie de la fraction dissoute et de ce fait leurs caractéristiques de sorption sont faibles. Ainsi, la distribution des EPS pourrait plus facilement être reliée aux paramètres biologiques. Les EPS sont connues pour être produites dans le but de protéger les cellules contre, par exemple, des enzymes digestives, des substances toxiques (Wotton 2004) mais aussi pour lutter contre le stress osmotique (Liu and Buskey 2000), contrainte majeure en

estuariers, ou encore faciliter la flottaison des cellules (Wotton 2004). En effet, les cellules phytoplanctoniques de la baie qui sont amenées par la marée dans l'estuaire sont soumises à la stratification et à une diminution de la salinité pouvant entraîner une libération d'EPS pour diminuer leur densité et lutter contre le stress osmotique. De plus, la production d'EPS par le phytoplancton est connue pour être très variable en fonction de l'espèce productrice, du stade de croissance et des conditions environnementales (Alldredge 1999; Penna *et al.* 1999). En effet, la limitation en phosphore (Alcoverro *et al.* 2000; Staats *et al.* 2000) ou en azote (Granum *et al.* 2002) semble favoriser l'excrétion d'EPS.

Dans cette étude, les fortes concentrations en EPS ont été mesurées au printemps et pourraient être liées au bloom printanier. Les genres les plus représentés au sein de la communauté phytoplanctonique de l'estuaire lors de cette période étaient principalement *Skeletonema sp.*, (de février à août) et *Nitzschia sp.* (Présents toute l'année). Par conséquent, *Skeletonema sp* qui est connu pour produire de grandes quantités d'EPS (Urbani *et al.* 2005) pourrait être responsable de l'augmentation d'EPS. En outre, de précédentes études ont montré que la réduction du contenu en phosphate pourrait activer la production d'EPS pour différentes espèces dont les cellules appartenant au genre *Skeletonema sp.* (Shniukova and Zolotareva 2015). Ainsi, ce résultat pourrait être lié à la diminution en P mesurée d'avril à juillet dans la zone aval de l'estuaire. Cette hypothèse est renforcée par la relation négative observée entre les EPS et les P et par la relation positive observée entre les concentrations en EPS et les abondances de diatomées. Cependant, la relation positive observée entre les EPS et les *Cryptophyceae* pourrait également suggérer une contribution du pico- et du nanophytoplancton dans les pools d'EPS. Cette hypothèse pourrait être confirmée par de futures études en culture sur l'excrétion d'EPS par ce compartiment du phytoplancton. L'absence d'EPS en été pourrait par ailleurs confirmer l'origine estuarienne de la biomasse phytoplanctonique estivale évoquée précédemment, dont les cellules seraient plus adaptées au gradient salin. Par ailleurs, la consommation de ce pool carbonée par les bactéries, dont l'activité métabolique est fortement stimulée par les températures estivales, pourrait également expliquer les faibles teneurs en EPS observées dans l'estuaire au cours de cette période. Cependant, il a été montré que contrairement aux TEP, l'origine des S-EPS n'est pas principalement phytoplanctonique et pourrait être reliée aux groupes microphytobenthique, zoo-planctoniques, zoo-benthiques et principalement aux bactéries (Underwood *et al.* 1995, 2004).

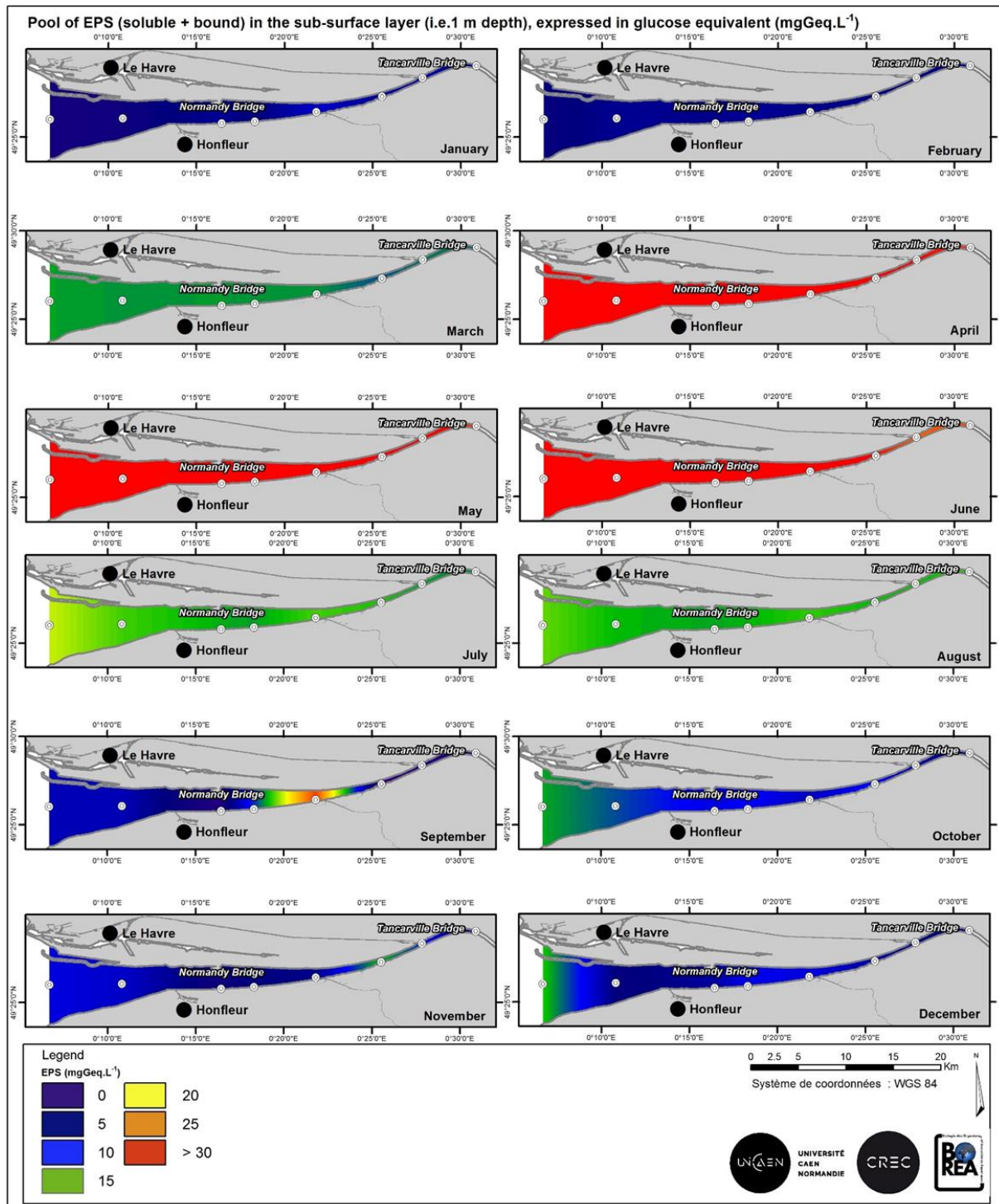


Figure 60. Variations des concentrations en EPS (mgGeq.L⁻¹) mesurée en sub-surface (-1 m) pour chaque mois de l'année 2015. Les points blancs sur les cartes représentent les stations d'échantillonnage.

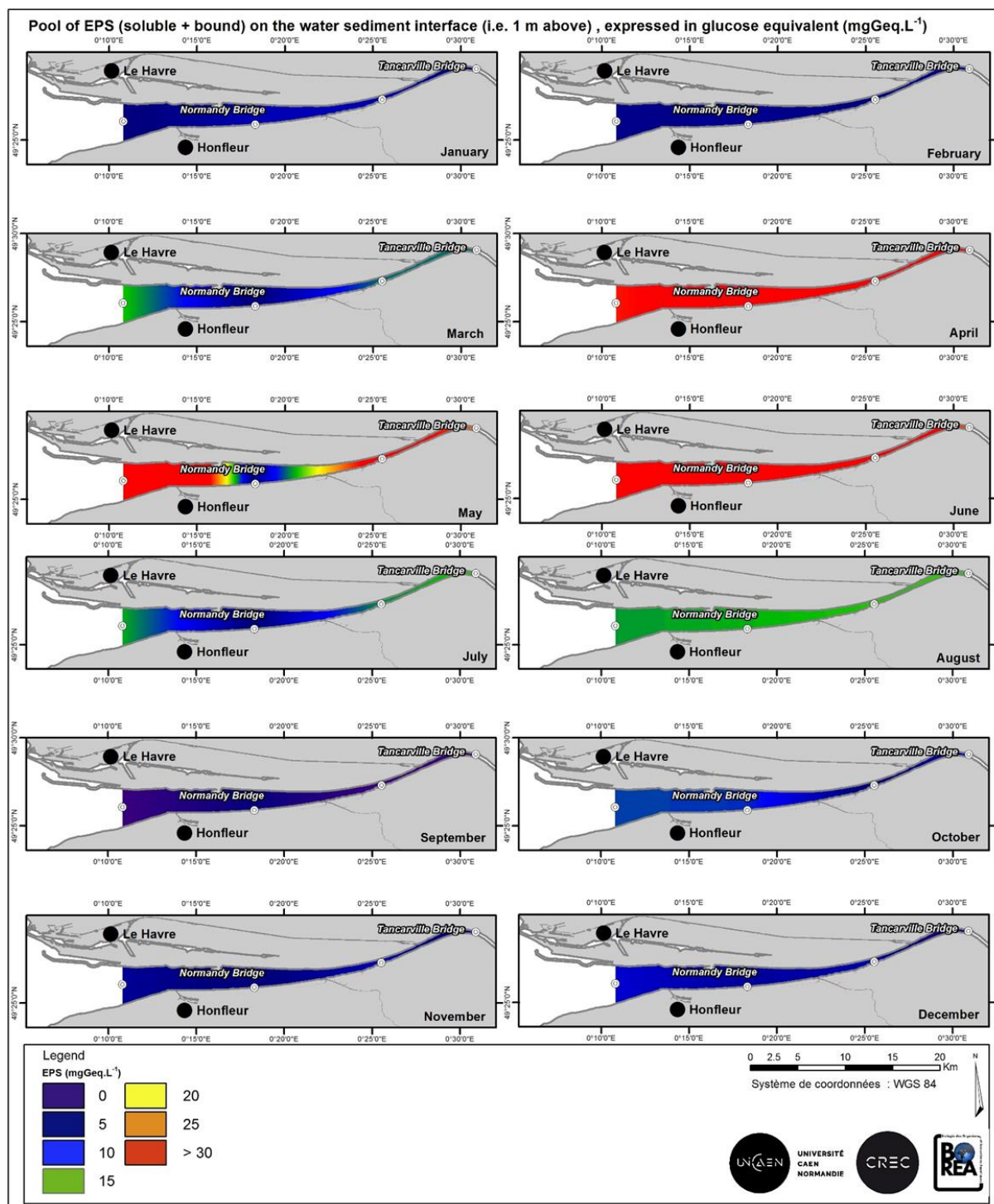


Figure 61. Variations des concentrations en EPS (mgEq.L^{-1}) mesurées en profondeur (1m au-dessus du sédiment) pour chaque mois de l'année 2015. Les points blancs sur les cartes représentent les stations d'échantillonnage.

Sur les vasières intertidales de l'estuaire, les concentrations en EPS étaient plus importantes en automne qu'au cours du printemps. En termes de variabilité spatiale, la vasière Sud présentait des concentrations en EPS plus faibles que celles mesurées sur la vasière Nord et dans le chenal environnemental. Sur ces deux dernières zones, les concentrations en EPS étaient équivalentes au printemps, alors qu'en été les plus fortes concentrations en EPS étaient mesurées au niveau du chenal. Ainsi, ces résultats semblent confirmer que les concentrations en EPS sont corrélées avec la proportion de sédiments fins (Ubertini *et al.* 2015). En effet, en présence de sédiments fins, les diatomées benthiques sont susceptibles de devoir faire de longues distances pour atteindre la surface de ces couches fluides et par conséquent, excréter de grandes quantités d'EPS. Cependant, les EPS sont également connues pour jouer des rôles dans la réduction de la dessiccation du biofilm et pour être excrétés lors de stress physiologiques (Paterson *et al.* 2000; Orvain *et al.* 2014).

La répartition des biofilms sur la zone intertidale étant très hétérogène, une généralisation spatiale basée sur nos 15 stations d'échantillonnage est difficile. Grâce au projet BARBES (GIP-SA5), au cours de la campagne d'avril, la répartition de la chl *a* et des EPS sur les vasières intertidales ont été déterminées sur 150 sites d'échantillonnage, dont les 15 sites étudiés lors de notre étude (Orvain *et al.* 2017). Ce projet a permis de confirmer significativement les relations qu'il existe entre la répartition spatiale des EPS d'une part et l'habitat sédimentaire et la répartition de la chl *a* d'autre part (Fig. 62). Il faut cependant tenir compte du fait que pour cette étude, les prélèvements ont été effectués en une semaine pendant les marées basses de vive-eau. Comme les diatomées benthiques possèdent un biorythme interne qui régule leur migration dans le sédiment, et donc leur synthèse d'EPS (Serôdio *et al.* 1997), la teneur en sucre contenu dans les EPS peut varier d'un facteur 2 ou 3 entre le début et la fin de l'émersion (Orvain *et al.* 2003). Ainsi, les sites ayant été échantillonnés sur l'ensemble du temps d'émersion, certains sites peuvent présenter des différences en lien avec cette régulation ou à cause de la variabilité météorologique (Tolhurst *et al.* 2008).

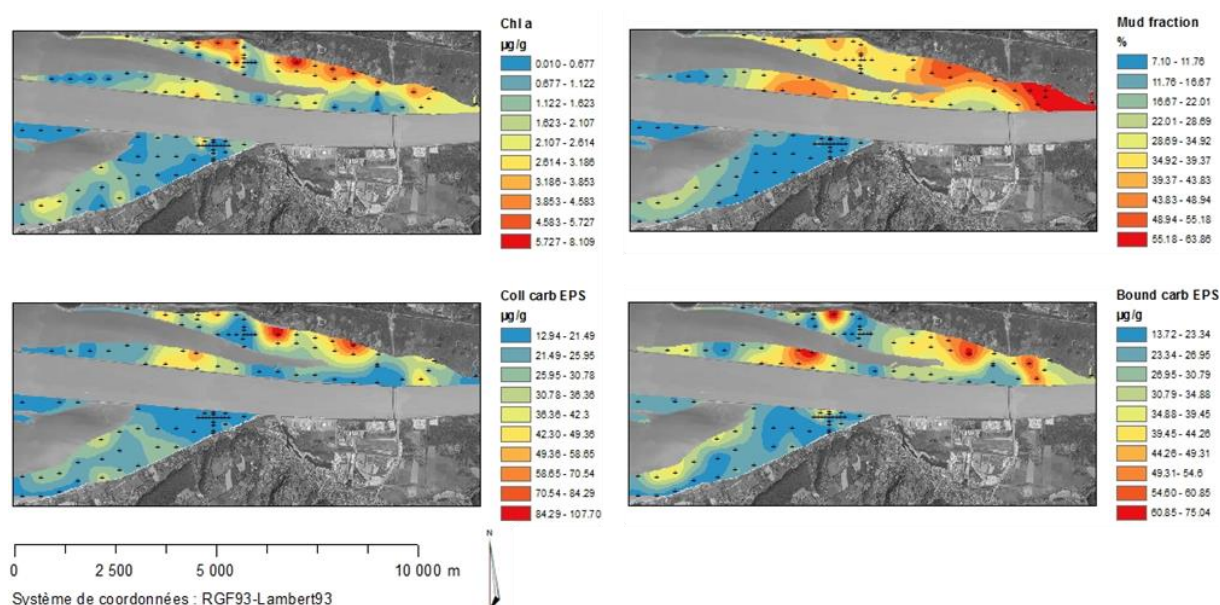


Figure 62. Cartes des composantes microphytobenthiques dans le 1er cm superficiel. Avec la biomasse chlorophyllienne (en $\mu\text{g.g}^{-1}$ de sédiment sec), la granulométrie (fractions de particules fines $>63 \mu\text{m}$; %), et les fractions des Substances Exopolymériques (EPS en $\mu\text{g.g}^{-1}$ de sédiment sec) qui sont composées des carbohydrates des EPS colloïdaux (« Coll carb EPS ») et liés (« Bound carb EPS »). Les cartes ont été réalisées par krigeage ordinaire (Orvain *et al.* 2017).

Ainsi, au cours de cette étude, entre 66 et 339 mgC.m^{-2} (Tab. 31) ont été mesurés sous forme d'EPS au niveau des différentes stations de l'estuaire de Seine. Cependant, seul $7,21 \%$ de la zone estuarienne étudiée est constituée de vasières et le MPB subtidal est inexistant dû aux fortes turbidités et à la profondeur qui limitent la pénétration de la lumière. De plus, le MPB est principalement actif pendant l'émersion de jour sur une très fine couche sédimentaire alors que le système pélagique est actif pendant toute la période diurne sur une profondeur plus importante (pour $7,6 \times 10^6 \text{ m}^2$ de vasières, il y a $930 \times 10^6 \text{ m}^3$ d'eau).

Dans le but d'estimer la part des compartiments phytoplanctonique et microphytobenthique dans le pool d'EPS, nous avons calculé une production potentielle d'EPS microphytobenthique en assumant une production de $1,8 \text{ mg Geq.mgChl } a.h^{-1}$ (Wolfstein *et al.* 2002). Ainsi, pour une émersion diurne de 6 heures et un temps de résidence de 5 à 18 jours (Brenon and Hir 1999; Even *et al.* 2007), le pool d'EPS originaire du MPB représenterait entre $0,44$ et $1,61 \%$ du pool mesuré dans la colonne d'eau au cours de cette étude. Cependant, les concentrations en EPS estimées par ce moyen sont inférieures à celles mesurées sur les vasières. En estimant que le pool d'EPS sédimentaire mesuré est entièrement remis en suspension, la contribution du MPB dans le pool d'EPS serait alors comprise entre $1,7$ et $6,1 \%$. Pour le phytoplancton, en assumant une production 40% plus faible (Goto *et al.* 1999) soit $1,08 \text{ mgGeq.mgChl } a.h^{-1}$, le pool d'EPS originaire de ce compartiment représenterait entre $9,34$ et $33,62 \%$ du pool mesuré. Ainsi, par ces estimations, nous pouvons confirmer qu'une large part

de du pool EPS est produite par d'autres organismes non autotrophes tels que les groupes zooplanctoniques, zoo-benthiques et le compartiment bactérien qui jouerait un rôle significatif.

Tableau 31. Synthèse des estimations de production primaire et d'excrétion de carbone (TEP, EPS) des compartiments phytoplanctonique et microphytobenthique de l'estuaire de Seine. Les données sur la production microphytobenthique ont été estimées en calculant la moyenne des mois d'Avril et Septembre.

Compartiment	Stations	Production		Profondeur	Excrétion	
		gC.m ⁻² .an ⁻¹	tC.an ⁻¹		TEP mgC.L ⁻¹	S-EPS mgC.L ⁻¹
Phytoplancton	1	72.13	3200	Sub-surface	Entre 1.5 et 11.5	Entre 0.18 et 20.58
	2	81.53	1881.3			
	3	50.68	497.15			
	4	45.68	195.26			
	5	31.16	118.15	Interface eau/sédiment	Entre 2.2 et 70	Entre 0 et 33.2
	6	17.26	45.09			
	7	17.62	39.84			
	8	18.54	54.92			
	Estuaire	64.75	6032			
Microphytobenthos	Vasières	gC.m ⁻² .m ⁻¹	tC.m ⁻¹	mgC.m ⁻²		
	Vasière Sud	4.90	0.39	Zone intertidale	/	entre 66 et 339
	Vasière Nord	11.15	51.81			
	Chenal environnemental	3.94	5.08			
	Estuaire	6.66	57.28			

6. Comparaison inter-estuarienne

La moyenne annuelle de production primaire phytoplanctonique de l'estuaire de Seine pour l'année 2015 a été estimée à **65 gC.m⁻².y⁻¹**. Cette valeur est faible par rapport aux gammes de valeurs données dans la littérature. En effet, celles-ci sont comprises entre 19 et 547 gC.m⁻².y⁻¹ pour une moyenne de 190 gC.m⁻².y⁻¹ sur 45 estuaires différents (Boynton *et al.* 1982) et entre -105 et 1890 gC.m⁻².y⁻¹ avec une moyenne de 225 gC.m⁻².y⁻¹ sur 131 écosystèmes estuariens et côtiers (Cloern *et al.* 2014). Il est évident que la comparaison entre estuaires est à relativiser puisque chaque estuaire est unique de par sa position géographique, sa bathymétrie, son hydrodynamisme ou sa morphologie, ces caractéristiques physiques conditionnant fortement les facteurs physico-chimiques contrôlant la production (e.g. irradiance, température, turbidité). Cependant, selon la classification de Nixon (1995), notre valeur de production annuelle caractériserait l'estuaire de Seine comme oligotrophe. Plusieurs facteurs pourraient expliquer la différence que nous observons avec les autres estuaires étudiés.

Tout d'abord, il est important de noter que l'effort d'échantillonnage dans cette étude s'est concentré jusqu'à la limite amont du gradient salin de l'estuaire et non jusqu'à la limite définie par l'influence de la marée. Or, comme nous l'avons vu, la production en amont de la MTZ, peut être très importante (Descy *et al.* 2016) et contribuer de façon non négligeable au carbone particulaire réutilisé par le réseau trophique (Etcheber *et al.* 2007). La partie dulcicole de l'estuaire représentant plus de 45 km² pourrait ainsi changer le rang de la classification de l'estuaire.

De plus, nos estimations sont basées sur des échantillonnages réalisés durant la tenue du plein à marée haute. Or, la production peut également varier à très courte échelle de temps en raison des variations environnementales induites par la marée. En effet, nos résultats nous ont permis d'observer que les valeurs moyennes de $rETR_{max}$ sont supérieures d'environ 20% lorsqu'elles prennent en compte la variation journalière en comparaison avec la valeur mesurée lors de la tenue du plein.

A la production phytoplanctonique s'ajoute la production microphytobenthique. Or les résultats obtenus au cours de cette étude ont montré que la productivité du microphytobenthos pouvait être très importante et que sa production pouvait atteindre 20% de la production autochtone totale de l'estuaire.

En tenant compte de ces observations, la valeur de la production primaire annuelle de l'estuaire pourrait être considérablement augmentée. Ainsi, des études approfondies complémentaires sont désormais nécessaires afin d'accéder à des valeurs encore plus précises de cette production primaire.

Il est également important de tenir compte de la variabilité annuelle de cette production. En effet, il a été observé des productions 5 fois plus faibles inter-annuellement dans la baie du Massachussetts (Oviatt *et al.* 2007). Bien que les valeurs de débits et de chl *a* mesurées lors des années précédentes ne permettent pas de situer l'année 2015 comme exceptionnelle, d'autres variables telles que la température, l'irradiance ou les vents pourraient également influencer la variabilité interannuelle. Ainsi, l'une des perspectives de cette étude serait d'acquérir des données pluriannuelles avant de caractériser l'estuaire.

Enfin, la méthode d'échantillonnage peut également être une source importante de variation des valeurs de production entre estuaires (Cloern *et al.* 2014) et certaines estimations ont pu être surestimées. Dans cette étude, la méthode d'échantillonnage mise en place avait pour objectif d'estimer la dynamique spatiale et temporelle de la production primaire en utilisant des mesures à haute fréquence spatiale. Ainsi, 8 stations ont été échantillonnées et plus de 40 mesures par transect ont été réalisées avec la technologie PAM sur le continuum du

gradient salin. Or, certaines estimations reportées dans la littérature sont basées sur une ou deux stations, ce qui ne permet pas d'accéder à la variabilité que nous avons pu observer. De plus, nous avons échantillonné à intervalle mensuel alors qu'il est récurrent d'observer dans la littérature des estimations basées sur des échantillonnages saisonniers, bien souvent réalisés au printemps et/ou en été. Or, nous avons pu observer que la production primaire automnale et hivernale est très faible et ne peut être estimée par extrapolation d'échantillonnages printaniers et estivaux. Enfin, notre méthode d'estimation de la production, basée sur l'intégration en profondeur de la production en fonction de l'atténuation de la lumière induite par la turbidité, a considérablement diminué la valeur de production. Or, la turbidité est l'un des facteurs limitants les plus influents dans les écosystèmes estuariens. Ainsi, nous pouvons suggérer que les études ayant estimé une production estuarienne sans intégrer correctement cette variable avec la profondeur peuvent avoir surestimé la production du système en cas de turbidité importante.

7. Limites et perspectives de l'étude

Production primaire nette et brute

Traditionnellement, les méthodes de production d'O₂ et la fixation de ¹⁴C ou ¹³C ont été utilisées pour estimer la production primaire brute (GPP pour « Gross Primary Production ») ou la production primaire nette (NPP pour « Net Primary Production ») et le débat est toujours ouvert pour savoir quel paramètre ces méthodes mesurent vraiment. La GPP est définie comme l'énergie intracellulaire disponible résultant des réactions photosynthétiques comme indiqué par le taux de transport des électrons entre PSI et PSII pendant la photopériode. La NPP est, quant à elle, considérée comme l'énergie intracellulaire stockée en terme de fixation nette du carbone pendant la photopériode (et donc ne tient pas compte du stockage d'énergie, des coûts d'énergie associés aux processus métaboliques et de la respiration) (Hama *et al.* 1983). Lors de l'utilisation des méthodes d'incorporation du carbone, une certaine part de la production est utilisée pour la respiration et/ou l'excrétion. De ce fait, les temps d'incubation jouent un rôle important pour comprendre la relation entre NPP et GPP. De manière conventionnelle, il est admis que les temps d'incubation courts (< 2 h) donnent des estimations proches de GPP alors que des temps d'incubation longs (24h) donnent des estimations de la NPP (Marra 2002). Cependant, certaines études ont montré la possibilité d'estimer la NPP avec des incubations de 2h (Williams *et al.* 1996; Pei and Laws 2013). Ainsi, le consensus actuel est que les incubations courtes (de 1 à 3h) quantifient quelque chose d'intermédiaire entre la GPP et la NPP au sens

strict (Hancke *et al.* 2015). Le temps d'incubation, au cours de cette étude, variait entre 2h et 4h. Ainsi, nous suggérons que nos mesures de ^{13}C , sur lesquelles ont été basées nos estimations de la production primaire phytoplanctonique, peuvent être incluses dans ce consensus. Actuellement, aucune méthodologie ne permet *in situ* de quantifier de manière fiable la NPP, car il est difficile de séparer la respiration phytoplanctonique de celle des hétérotrophes. Des mesures de MIMS (Membrane Intel Mass Spectrometer) peuvent permettre d'y accéder (Claquin *et al.*, 2004), mais ce type d'approche n'est pas applicable en milieu estuarien.

Diversité génétique et protistes hétérotrophes

Les premiers résultats sur la diversité génétique de l'estuaire ont suggéré que la diversité des protistes hétérotrophes de l'estuaire était bien plus importante que les résultats attendus et pourrait avoir une place et un rôle très important dans le fonctionnement de l'estuaire.

En effet, la matière organique dissoute, produite par l'excrétion du phytoplancton et l'activité du zooplancton, est consommée efficacement par les bactéries hétérotrophes. La biomasse bactérienne qui en résulte est consommée par le nanoplancton hétérotrophe et retourne ainsi dans le réseau trophique. Un premier effet de l'activité bactérienne est donc la production d'une biomasse exploitable, produite à partir de carbone organique particulaire ou dissout qui serait autrement exporté en profondeur, par sédimentation ou convection (Carlson *et al.* 1994). Ainsi, la production bactérienne peut limiter les exportations de matière organique et jouer un rôle déterminant dans les flux de CO_2 . De plus, dans les écosystèmes estuariens, recevant d'importants apports allochtones terrestres, benthiques, naturels et anthropiques, la production bactérienne peut être très importante et excéder la production primaire. De plus, une proportion importante du bactério-plancton est attachée aux particules qui sont alors directement consommées par des ciliés ou le meso-zooplancton et accroissent ainsi la productivité. Le couple bactéries-protistes régénère les éléments minéraux issus de la matière organique détritique. Ceux-ci s'ajoutant aux apports directs aggravent ainsi l'eutrophisation du milieu. Dans les cas extrêmes, l'activité bactérienne se traduit par une demande en oxygène telle, qu'elle conduit à l'anoxie où pratiquement seuls les procaryotes peuvent subsister.

Ainsi, aux vues de nos premiers résultats, des études approfondies sur le couplage de ce compartiment avec celui des producteurs primaires seraient intéressantes. Notamment en étudiant la production bactérienne afin de pouvoir caractériser la dynamique spatiale et temporelle des différents degrés d'hétérotrophie ($\text{PP}_{\text{bact}} > \text{PP}$) et d'autotrophie ($\text{PP}_{\text{bact}} < \text{PP}$) de l'estuaire.

Consommateurs primaires

Le maintien du fonctionnement des écosystèmes tels que les estuaires est important, notamment puisque ces systèmes sont très productifs en terme de production secondaire. Cette productivité peut être attribuée à plusieurs facteurs tels que l'important apport de carbone fixé par les producteurs primaires (Österblom *et al.* 2007) et l'efficacité du transfert de cette énergie aux compartiments trophiques supérieurs. D'autant plus que le régime omnivore de nombreuses espèces estuariennes contribue à l'efficacité du transfert des producteurs primaires vers les consommateurs (Costanza *et al.* 1997). De plus, récemment, la meilleure qualité nutritionnelle des espèces phytoplanctoniques estuariennes, en comparaison aux espèces d'eaux douces ou aux espèces océaniques, a été mise en avant et pourrait expliquer la forte production des compartiments supérieurs des réseaux trophiques de ces systèmes (Winder *et al.* 2017).

Ainsi, l'étude du couplage entre les producteurs et les consommateurs primaires est une approche importante pour caractériser le fonctionnement des écosystèmes estuariens.

Cet aspect a récemment été abordé sur l'estuaire de Seine avec par exemple le projet GIP SA5 – ZOOGLOBAL qui met en évidence le rôle trophique de la population des copépodes du genre *E.affinis* (très dominant en Seine) et du microzooplancton dont l'activité de broutage quotidienne consommerait jusqu'à 10 % du stock de chl *a*. Selon leurs résultats préliminaires, en terme de carbone, cette consommation représenterait quotidiennement jusqu'à 16% de la production primaire par *E.affinis* et jusqu'à 20% par le microzooplancton (Souissi 2017). D'autre part, le projet GIP SA5 – BARBES a permis de mettre en évidence l'impact de l'ensemble de la communauté macrozoobenthique (les 6 espèces étudiées représentant plus de 95 % de la biomasse totale) sur la dynamique sédimentaire. Les résultats, intégrés dans le modèle hydro-sédimentaire cross-shore MARS-2DV adapté à la Seine, montrent notamment le rôle fonctionnel des populations d'*Hediste diversicolor* en synergie avec le microphytobenthos (Orvain *et al.* 2017).

Modélisation

Bien que ce travail ait permis d'estimer pour la première fois la production primaire le long du gradient salin et des vasières de l'estuaire de Seine, le grand nombre de facteurs qui influence la production primaire tels que ceux traités dans cette étude, mais également ceux qui n'ont pas été abordés, tels que la fraction bactérienne ou le rôle des consommateurs primaires, ne permettent pas d'appréhender totalement la dynamique spatiale et temporelle de la production primaire. D'autant plus que la variabilité des variables forçantes est très importante à très petite échelle spatiale et temporelle. De ce point de vue, seule la mise en place d'outils de

modélisation pourrait permettre d'estimer cette dynamique dans son intégralité. Cependant les modèles physiologiques spécifiques restent rares spécifiquement en estuaire (Cole and Cloern 1987; Lucas *et al.* 1998; Arhonditsis *et al.* 2007; Arndt *et al.* 2011). Les modèles sont particulièrement intéressants pour améliorer la compréhension des cycles biogéochimiques dans les écosystèmes. Notamment, parce qu'ils permettent de compléter les mesures réalisées sur le terrain, en fournissant une description mécanistique des interactions biogéochimiques, sur une large gamme d'échelles qui ne peuvent être appréhendées par des observations *in situ*.

Le couplage de modèles biogéochimiques, le modèle Seneque/Riverstrahler et le modèle ECO-MARS3D, qui intègrent la Seine, son estuaire et la baie de Seine, a été réalisé récemment (Passy *et al.* 2016) pour analyser la dynamique de blooms en baie de Seine. Cependant, aucun modèle n'a actuellement pu être validé correctement dans l'estuaire de Seine en raison de l'absence de données sur la dynamique spatiale et temporelle de la production primaire avant ce travail. Dès à présent, les données obtenues dans cette étude pourraient permettre de conceptualiser, d'alimenter et de calibrer de tels modèles.

Automatisation d'un milieu turbide

A l'heure actuelle, une mise en synergie des dynamiques d'acquisition de connaissances, souvent menées de manière indépendante, apparaît indispensable pour mieux suivre, comprendre et gérer les écosystèmes. Ainsi, le suivi en continu, des variables forçantes de l'estuaire de Seine permettrait d'avoir une vision intégrée du système. Actuellement, plusieurs réseaux automatisés permettent de suivre différents paramètres, de façon plus ou moins automatisée, sur l'ensemble de la Seine et de son estuaire : le réseau CARBOSEINE, le réseau SYNAPSES, la Boué D4-La Carosse (future bouée SCENE) et la bouée instrumentée SMILE. Actuellement, le projet PHRESQUE vise à harmoniser et compléter ces différents réseaux, afin d'équiper le continuum Seine de l'un des réseaux de suivi de la qualité de l'eau des plus performants à l'échelle mondiale. En effet, le méta-réseau PHRESQUES permettra de suivre 10 paramètres (Température, O₂, conductivité, pH, turbidité, biomasse algale, pCO₂ & CDOM, sels nutritifs (N & P), météo, courants et MES) et de caractériser le fonctionnement de l'hydro-système sur près de 400 km.

Compte tenu de l'importance de la production primaire sur l'ensemble du fonctionnement de l'estuaire et pour les réseaux trophiques des écosystèmes de ce continuum, il serait intéressant d'envisager la perspective de mettre en place des méthodes d'estimation de cette production, dans ce type de réseaux. Ce type de mesures a été mis en place sur la bouée SMILE (UniCaen/Ifremer), installée en baie de Seine, qui est équipée d'un FRRF ACT2

Chelsea-Instrument permettant de réaliser, depuis mars 2016, des courbes ETR/PAR à haute fréquence (toutes les 2 heures pour l'instant). Ainsi, le développement de ce type de mesures automatisées sur d'autres bouées du réseau PHRESQUES et dans d'autres écosystèmes côtiers et estuariens, serait une avancée considérable sur la caractérisation de la production primaire, à une résolution très fine, dans ces milieux très dynamiques dont l'importance écologique et a été largement démontrée.

REFERENCES

- Aberle-Malzahn, N. 2004. The microphytobenthos and its role in aquatic food webs.
- Admiraal, W. 1984. The ecology of estuarine sediment-inhabiting diatoms. *Progress in phycological research* 269–322.
- Admiraal, W., J. Beukema, and F. B. Van Es. 1985. Seasonal fluctuations in the biomass and metabolic activity of bacterioplankton and phytoplankton in a well-mixed estuary: the Ems-Dollard (Wadden Sea). *Journal of plankton research* 7: 877–890.
- Admiraal, W., L. Breebaart, G. M. J. Tubbing, B. van Zanten, E. D. Steveninck, and R. Bijkerk. 1994. Seasonal variation in composition and production of planktonic communities in the lower River Rhine. *Freshwater Biology* 32: 519–531.
- Adolf, J. E., C. L. Yeager, W. D. Miller, M. E. Mallonee, and L. W. Harding. 2006. Environmental forcing of phytoplankton floral composition, biomass, and primary productivity in Chesapeake Bay, USA. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 67: 108–122.
- Affronti, L. F., and H. G. Marshall. 1993. Diel abundance and productivity patterns of autotrophic picoplankton in the lower Chesapeake Bay. *Journal of Plankton Research* 15: 1–8.
- Agawin, N. S. R., C. M. Duarte, and S. Agustí. 1998. Growth and abundance of *Synechococcus* sp. in a Mediterranean Bay: seasonality and relationship with temperature. *Marine Ecology Progress Series* 170: 45–53.
- Akopian, M., J. Garnier, and R. Pourriot. 1999. A large reservoir as a source of zooplankton for the river: structure of the populations and influence of fish predation. *J Plankton Res* 21: 285–297.
- Alcoverro, T., E. Conte, and L. Mazzella. 2000. Production of mucilage by the adriatic epipelagic diatom *Cylindrotheca closterium* (Bacillariophyceae) under nutrient limitation. *Journal of Phycology* 36: 1087–1095.
- Alderkamp, A.-C., H. J. W. de Baar, R. J. W. Visser, and K. R. Arrigo. 2010. Can photoinhibition control phytoplankton abundance in deeply mixed water columns of the Southern Ocean? *Limnology and Oceanography* 55: 1248–1264.
- Allredge, A. L. 1999. The potential role of particulate diatom exudates in forming nuisance mucilaginous scums. *Annali dell’Istituto Superiore di Sanita* 35: 397–400.
- Allredge, A. L., U. Passow, and B. E. Logan. 1993. The abundance and significance of a class of large, transparent organic particles in the ocean. *Deep-Sea Research Part I* 40: 1131–1140.
- Alpine, A. E., and J. E. Cloern. 1992. Trophic interactions and direct physical effects control phytoplankton biomass and production in an estuary. *Limnology and Oceanography* 37: 946–955.
- Aminot, A., and M. Chaussepied. 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin, CNEXO [ed.].
- Aminot, A., and R. Kérouel. 2004. Hydrologie des écosystèmes marins: paramètres et analyses, Editions Quae.
- Aminot, A., and R. Kérouel. 2007. Dosage automatique des nutriments dans les eaux marines. Méthodes d’analyse en milieu marin

- Annane, S., L. St-Amand, M. Starr, E. Pelletier, and G. A. Ferreyra. 2015. Contribution of transparent exopolymeric particles (TEP) to estuarine particulate organic carbon pool. *Marine Ecology Progress Series* **529**: 17–34.
- Anning, T., H. L. Macintyre, S. M. Pratt, P. J. Sammes, S. Gibb, and R. J. Geider. 2000. Photoacclimation in the marine diatom *Skeletonema costatum*. *Limnol. Oceanogr* **45**: 1807–1817.
- Arhonditsis, G. B., H. W. Paerl, L. M. Valdes-Weaver, C. A. Stow, L. J. Steinberg, and K. H. Reckhow. 2007. Application of Bayesian structural equation modeling for examining phytoplankton dynamics in the Neuse River Estuary (North Carolina, USA). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **72**: 63–80.
- Armbrust, E. V. 2009. The life of diatoms in the world's oceans. *Nature* **459**: 185–192.
- Arndt, S., G. Lacroix, N. Gypens, P. Regnier, and C. Lancelot. 2011. Nutrient dynamics and phytoplankton development along an estuary-coastal zone continuum: A model study. *Journal of Marine Systems* **84**: 49–66.
- Attrill, M. J., and S. D. Rundle. 2002. Ecotone or ecocline: Ecological boundaries in estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **55**: 929–936.
- Ayadi, H., O. Abid, J. Elloumi, A. Bouaïn, and T. Sime-Ngando. 2004. Structure of the phytoplankton communities in two lagoons of different salinity in the Sfax saltern (Tunisia). *Journal of Plankton Research* **26**: 669–679.
- Azam, F., T. Fenchel, J. G. Field, J. S. Graf, L. A. Meiyer-Reil, and F. Thingstad. 1983. The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea. *Marine Ecology* **10**: 257–263.
- Babin, M., A. Morel, H. Claustre, A. Bricaud, Z. Kolber, and P. G. Falkowski. 1996. Nitrogen- and irradiance-dependent variations of the maximum quantum yield of carbon fixation in eutrophic, mesotrophic and oligotrophic marine systems. *Deep Sea Research* **43**: 1241–1272.
- Babin, M., A. Morel, and R. Gagnon. 1994. An incubator designed for extensive and sensitive measurements phytoplankton photosynthetic parameters. *Limnology and Oceanography* **39**: 694–702.
- Bailleul, B., N. Berne, O. Murik, D. Petroustos, J. Prihoda, A. Tanaka, V. Villanova, R. Bligny, S. Flori, D. Falconet, A. Krieger-liszkay, S. Santabarbara, F. Rappaport, P. Joliot, L. Tirichine, P. G. Falkowski, P. Cardol, C. Bowler, and G. Finazzi. 2015. mitochondria drives CO₂ assimilation in diatoms. *Nature* **524**: 366–369.
- Baillie, P. W., and B. L. Welsh. 1980. The effect of tidal resuspension on the distribution of intertidal epipelagic algae in an estuary. *Estuarine and Coastal Marine Science* **10**: 165–180.
- Bar-Zeev, E., U. Passow, S. Romero-Vargas Castrillón, and M. Elimelech. 2015. Transparent exopolymer particles: From aquatic environments and engineered systems to membrane biofouling. *Environmental Science and Technology* **49**: 691–707.
- Barbier, E., and S. Hacker. 2011. The value of estuarine and coastal ecosystem services. *Ecological Monographs* **81**: 169–193.
- Barnes, C., X. Irigoien, J. A. A. De Oliveira, D. Maxwell, and S. Jennings. 2011. Predicting marine phytoplankton community size structure from empirical relationships with remotely sensed variables. *Journal of Plankton Research* **33**: 13–24.

- Barnett, A., V. Méléder, L. Blommaert, B. Lepetit, P. Gaudin, W. Vyverman, K. Sabbe, C. Dupuy, and J. Lavaud. 2015. Growth form defines physiological photoprotective capacity in intertidal benthic diatoms. *The ISME Journal* **9**: 32–45.
- Barranguet, C. 1997. The Role of Microphytobenthic Primary Production in a Mediterranean Mussel Culture Area. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **44**: 753–765.
- Barranguet, C., and J. Kromkamp. 2000. Estimating primary production rates from photosynthetic electron transport in estuarine microphytobenthos. *Marine Ecology Progress Series* **204**: 39–52.
- Barranguet, C., J. Kromkamp, and J. Peene. 1998. Factors controlling primary production and photosynthetic characteristics of intertidal microphytobenthos. *Marine Ecology Progress Series* **173**: 117–126.
- Bazin, P., F. Jouenne, T. Friedl, A.-F. Deton-Cabanillas, B. Le Roy, and B. Véron. 2014. Phytoplankton Diversity and Community Composition along the Estuarine Gradient of a Temperate Macrotidal Ecosystem: Combined Morphological and Molecular Approaches. *PLoS ONE* **9**: e94110.
- Beauvais, S., M. L. Pedrotti, J. Egge, K. Iversen, and C. Marrasé. 2006. Effects of turbulence on TEP dynamics under contrasting nutrient conditions: Implications for aggregation and sedimentation processes. *Marine Ecology Progress Series* **323**: 47–57.
- Beauvais, S., M. L. Pedrotti, E. Villa, and R. Lemée. 2003. Transparent exopolymer particle (TEP) dynamics in relation to trophic and hydrological conditions in the NW Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series* **262**: 97–109.
- Behrenfeld, M. J., E. Boss, D. A. Siegel, and D. M. Shea. 2005. Carbon-based ocean productivity and phytoplankton physiology from space. *Global Biogeochemical Cycles* **19**: 1–14.
- Behrenfeld, M. J., E. Marañón, D. A. Siegel, and S. B. Hooker. 2002. Photoacclimation and nutrient-based model of light-saturated photosynthesis for quantifying oceanic primary production. *Marine Ecology Progress Series* **228**: 103–117.
- Behrenfeld, M. J., O. Prasil, M. Babin, and F. Bruyant. 2004. in Search of a Physiological Basis for Covariations in Light-Limited and Light-Saturated Photosynthesis1. *Journal of Phycology* **40**: 4–25.
- Benyoucef, I., E. Blandin, A. Lerouxel, B. Jesus, P. Rosa, V. Méléder, P. Launeau, and L. Barillé. 2014. Microphytobenthos interannual variations in a north-European estuary (Loire estuary, France) detected by visible-infrared multispectral remote sensing. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **136**: 43–52.
- Beukema, J. J., and G. C. Cadée. 1991. Growth rates of the bivalve *Macoma balthica* in the Wadden Sea during a period of eutrophication: relationships with concentrations of pelagic diatoms and flagellates. *Marine Ecology Progress Series* **68**: 249–256.
- Bhaskar, P. V, and N. B. Bhosle. 2005. Microbial extracellular polymeric substances in marine biogeochemical processes. *Current Science* **88**.
- Bhattacharya, D., H. S. Yoon, and J. D. Hackett. 2004. Photosynthetic eukaryotes unite: Endosymbiosis connects the dots. *BioEssays* **26**: 50–60.
- Billen, G., and J. Garnier. 2007. River basin nutrient delivery to the coastal sea: Assessing its

- potential to sustain new production of non-siliceous algae. *Marine Chemistry* **106**: 148–160.
- Billen, G., J. Garnier, A. Ficht, and C. Cun. 2001. Modeling the response of water quality in the Seine river estuary to human activity in its watershed over the last 50 years. *Estuaries* **24**: 977–993.
- Billen, G., J. Garnier, J. Némery, M. Sebilo, A. Sferratore, S. Barles, P. Benoit, and M. Benoît. 2007. A long-term view of nutrient transfers through the Seine river continuum. *Science of the Total Environment* **375**: 80–97.
- Billerbeck, M., H. R??y, K. Bosselmann, and M. Huettel. 2007. Benthic photosynthesis in submerged Wadden Sea intertidal flats. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **71**: 704–716.
- Blanchard, G. F., J.-M. Guarini, F. Orvain, and P.-G. Sauriau. 2001. Dynamic behaviour of benthic microalgal biomass in intertidal mudflats. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **264**: 85–100.
- Blanchard, G. F., J.-M. Guarini, P. Richard, P. Gros, and F. Mornet. 1996. Quantifying the short-term temperature effect on light-saturated photosynthesis of intertidal microphytobenthos. *Mar Ecol Prog Ser* **134**: 309–313.
- Blanchard, G. F., P. G. Sauriau, V. Cariou-Le Gall, D. Gouleau, M. J. Garet, and F. Olivier. 1997. Kinetics of tidal resuspension of microbiota: Testing the effects of sediment cohesiveness and bioturbation using flume experiments. *Marine Ecology Progress Series* **151**: 17–25.
- Bouvier, T. C., and P. A. del Giorgio. 2002. Compositional changes in free-living bacterial communities along a salinity gradient in two temperate estuaries. *American Society of Limnology and Oceanography* **47**: 453–470.
- Boynton, W., W. Kemp, and C. Keefe. 1982. A comparative analysis of nutrients and other factors influencing estuarine phytoplankton production, p. 69–90/729. *In* V. Kennedy [ed.], *Estuarine Comparisons: Proceedings of the Sixth Biennial International Estuarine Research Conference*, Gleneden Beach, Oregon, November 1-6, 1981. Elsevier, 2013.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* **72**: 248–254.
- Brenon, I., and P. Le Hir. 1999. Modelling the Turbidity Maximum in the Seine Estuary (France): Identification of Formation. 525–544.
- Brewin, R. J. W., S. Sathyendranath, T. Hirata, S. J. Lavender, R. M. Barciela, and N. J. Hardman-Mountford. 2010. A three-component model of phytoplankton size class for the Atlantic Ocean. *Ecological Modelling* **221**: 1472–1483.
- Brotas, V., and F. Catarino. 1995. Microphytobenthos primary production of Tagus estuary intertidal flats (Portugal). *Aquatic Ecology* **29**: 333–339.
- De Brouwe, J. F. C., and L. J. Stal. 2001. Short-term dynamics in microphytobenthos distribution and associated extracellular carbohydrates in surface sediments of an intertidal mudflat. *Marine Ecology Progress Series* **218**: 33–44.
- De Brouwer, J. F. C., G. K. Ruddy, T. E. R. Jones, and L. J. Stal. 2002. Sorption of EPS to sediment particles and the effect on the rheology of sediment slurries. *Biogeochemistry*

- 61**: 57–71.
- Buesseler, K. O. 1998. The decoupling of production and particulate export in the surface ocean. *Global Biogeochemical Cycles* **12**: 297–310.
- Burford, M. A., I. T. Webster, A. T. Revill, R. A. Kenyon, M. Whittle, and G. Curwen. 2012. Controls on phytoplankton productivity in a wet-dry tropical estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **113**: 141–151.
- Caddy, J. F. 2000. Marine catchment basin effects versus impacts of fisheries on semi-enclosed seas. *ICES Journal of Marine Science* **57**: 628–640.
- Cahoon, L. B. 1999. The role of benthic microalgae in neritic ecosystems. *Oceanography and marine biology: an annual review* **37**: 47–86.
- Cai, W.-J. 2011. Estuarine and Coastal Ocean Carbon Paradox: CO₂ Sinks or Sites of Terrestrial Carbon Incineration? *Annual Review of Marine Science* **3**: 123–145.
- Cai, W.-J., M. Dai, Y. Wang, W. Zhai, T. Huang, S. Chen, F. Zhang, Z. Chen, and Z. Wang. 2004. The biogeochemistry of inorganic carbon and nutrients in the Pearl River estuary and the adjacent Northern South China Sea. *Continental Shelf Research* **24**: 1301–1319.
- Cailleaud, K., J. Forget-Leray, S. Souissi, S. Lardy, S. Augagneur, and H. Budzinski. 2007. Seasonal variation of hydrophobic organic contaminant concentrations in the water-column of the Seine Estuary and their transfer to a planktonic species *Eurytemora affinis* (Calanoïd, copepod). Part 2: Alkylphenol-polyethoxylates. *Chemosphere* **70**: 281–287.
- Campbell, D. A., V. Hurry, a K. Clarke, P. Gustafsson, and G. Oquist. 1998. Chlorophyll fluorescence analysis of cyanobacterial photosynthesis and acclimation. *Microbiology and molecular biology reviews* : *MMBR* **62**: 667–683.
- Caraco, N. F., J. J. Cole, and D. L. Strayer. 2006. Top down control from the bottom: Regulation of eutrophication in a large river by benthic grazing. *Limnology and Oceanography* **51**: 664–670.
- Cartaxana, P., N. Domingues, S. Cruz, B. Jesus, M. Laviale, J. Serôdio, and J. M. Da Silva. 2013. Photoinhibition in benthic diatom assemblages under light stress. *Aquatic Microbial Ecology* **70**: 87–92.
- Cartaxana, P., B. Jesus, and V. Brotas. 2003. Pheophorbide and pheophytin a-like pigments as useful markers for intertidal microphytobenthos grazing by *Hydrobia ulvae*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **58**: 293–297.
- Cartaxana, P., M. Ruivo, C. Hubas, I. Davidson, J. Serôdio, and B. Jesus. 2011. Physiological versus behavioral photoprotection in intertidal epipelagic and epipsammic benthic diatom communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **405**: 120–127.
- Chen, C.-T. A., and A. V. Borges. 2009. Reconciling opposing views on carbon cycling in the coastal ocean: continental shelves as sinks and near-shore ecosystems as sources of atmospheric CO₂. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* **56**: 578–590.
- Chessel, D., A. B. Dufour, and J. Thioulouse. 2004. The ade4 package - I : One-table methods. *R News* **4**: 5–10.
- Chiovitti, A., P. Molino, S. A. Crawford, R. Teng, T. Spurck, and R. Wetherbee. 2004. The

- glucans extracted with warm water from diatoms are mainly derived from intracellular chrysolaminaran and not extracellular polysaccharides. *European Journal of Phycology* **39**: 117–128.
- Chowdhury, C., N. Majumder, and T. K. Jana. 2016. Seasonal distribution and correlates of transparent exopolymer particles (TEP) in the waters surrounding mangroves in the Sundarbans. *Journal of Sea Research* **112**: 65–74.
- Chukhutsina, V. U., C. Büchel, and H. van Amerongen. 2014. Disentangling two non-photochemical quenching processes in *Cyclotella meneghiniana* by spectrally-resolved picosecond fluorescence at 77K. *Biochimica et biophysica acta* **1837**: 899–907.
- Claquin, P., J. C. Kromkamp, and V. Martin-Jezequel. 2004. Relationship between photosynthetic metabolism and cell cycle in a synchronized culture of the marine alga *Cylindrotheca fusiformis* (Bacillariophyceae). *European Journal of Phycology* **39**: 33–41.
- Claquin, P., S. Ní Longphuirt, P. Foullaron, P. Huonnic, O. Ragueneau, C. Klein, and A. Leynaert. 2010. Effects of simulated benthic fluxes on phytoplankton dynamic and photosynthetic parameters in a mesocosm experiment (Bay of Brest, France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **86**: 93–101.
- Claquin, P., I. Probert, S. Lefebvre, and B. Veron. 2008. Effects of temperature on photosynthetic parameters and TEP production in eight species of marine microalgae. *Aquatic Microbial Ecology* **51**: 1–11.
- Cloern, J., and R. Dufford. 2005. Phytoplankton community ecology: Principles applied in San Francisco Bay. *Marine Ecology Progress Series* **285**: 11.
- Cloern, J. E. 1991. Tidal stirring and phytoplankton bloom dynamics in an estuary. *Journal of Marine Research* **49**: 203–221.
- Cloern, J. E. 1996. Phytoplankton bloom dynamics in coastal ecosystems: A review with some general lessons from sustained investigation of San Francisco Bay, California. *Reviews of Geophysics* **34**: 127–168.
- Cloern, J. E., a E. Alpine, B. E. Cole, R. L. J. Wong, J. Arthur, and M. Ball. 1983. River discharge controls phytoplankton dynamics in the Northern San Francisco Bay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **16**: 415–429.
- Cloern, J. E., B. E. Cole, R. L. J. Wong, and A. E. Alpine. 1985. Temporal dynamics of estuarine phytoplankton: A case study of San Francisco Bay. *Hydrobiologia* **129**: 153–176.
- Cloern, J. E., S. Q. Foster, and a. E. Kleckner. 2014. Phytoplankton primary production in the world's estuarine-coastal ecosystems. *Biogeosciences* **11**: 2477–2501.
- Cloern, J. E., and A. D. Jassby. 2010. Patterns and Scales of Phytoplankton Variability in Estuarine–Coastal Ecosystems. *Estuaries and coasts* **33**: 230–241.
- Cole, B. E., and J. E. Cloern. 1987. An empirical model for estimating phytoplankton productivity in estuaries. *Marine Ecology Progress Series* **36**: 299–305.
- Cole, J. J., N. F. Caraco, and B. L. Peierls. 1992. Can phytoplankton maintain a positive carbon balance in a turbid, freshwater, tidal estuary? *Limnology and Oceanography* **37**: 1608–1617.
- Colijn, F., V. de Jonge, and V. De Jonge. 1984. Primary production of microphytobenthos in the Ems-Dollard Estuary. *Marine Ecology Progress Series* **14**: 185–196.

- Cortelezzi, A., A. R. Capítulo, L. Boccardi, and R. Arocena. 2007. Benthic assemblages of a temperate estuarine system in South America: Transition from a freshwater to an estuarine zone. *Journal of Marine Systems* **68**: 569–580.
- Corzo, A., J. A. Morillo, and S. Rodríguez. 2000. Production of transparent exopolymer particles (TEP) in cultures of *Chaetoceros calcitrans* under nitrogen limitation. *Aquatic Microbial Ecology* **23**: 63–72.
- Corzo, A., S. Rodriguez-Galvez, L. Lubian, P. Sangra, A. Martinez, and J. A. Morillo. 2005. Spatial distribution of transparent exopolymer particles in the Bransfield Strait, Antarctica. *Journal of Plankton Research* **27**: 635–646.
- Costanza, R., R. Arge, R. De Groot, S. Farberk, M. Grasso, B. Hannon, K. Limburg, S. Naeem, R. V O'Neill, J. Paruelo, R. G. Raskin, P. Suttonkk, and M. van den Belt. 1997. The value of the world ' s ecosystem services and natural capital. *Nature* **387**: 253–260.
- Côté, B., and T. Platt. 1983. Day-to-day parameters variations in the spring-summer of coastal marine phytoplankton photosynthetic. *Limnology and Oceanography* **28**: 320–344.
- Cullen, J. J., and E. H. Renger. 1979. Continuous Measurement of the DCMU-Induced Fluorescence Response of Natural Phytoplankton Populations. *Marine Biology* **20**: 13–20.
- Davis, K. a, N. S. Banas, S. N. Giddings, S. a Siedlecki, P. Maccready, E. J. Lessard, R. M. Kudela, and B. M. Hickey. 2014. Estuary-enhanced upwelling ofmarine nutrients fuels coastal productivity in the U.S. Pacific Northwest. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 8778–8799.
- Davison, I. R. 1991. Environmental Effects on Algal Photosynthesis: Temperature. *Journal of Phycology* **27**: 2–8.
- Decho, A. W. 1990. Microbial exopolymer secretions in ocean environments: their role(s) in food webs and marine processes. *Oceanogr. Mar. Annu. Rev.* **28**: 73–153.
- Decho, A. W. 2000. Microbial biofilms in intertidal systems: an overview. *Cont. Shelf Res.* **20**: 1257–1273.
- Demmig-Adams, B. 1990. Carotenoids and photoprotection in plants: A role for the xanthophyll zeaxanthin. *BBA - Bioenergetics* **1020**: 1–24.
- Descy, J.-P., F. Darchambeau, T. Lambert, M. P. Stoyneva-Gaertner, S. Bouillon, and A. V. Borges. 2016. Phytoplankton dynamics in the Congo River. *Freshwater Biology* , doi:10.1111/fwb.12851
- Desmit, X., J. P. Vanderborght, P. Regnier, and R. Wollast. 2005. Control of phytoplankton production by physical forcing in a strongly tidal, well-mixed estuary. *Biogeosciences Discussions* **2**: 37–75.
- Dimier, C., F. Corato, F. Tramontano, and C. Brunet. 2007. Photoprotection and xanthophyll-cycle activity in three marine diatoms. *Journal of Phycology* **43**: 937–947.
- Dimier, C., S. Giovanni, T. Ferdinando, and C. Brunet. 2009. Comparative Ecophysiology of the Xanthophyll Cycle in Six Marine Phytoplanktonic Species. *Protist* **160**: 397–411.
- Dortch, Q., and T. E. Whitledge. 1992. Does nitrogen or silicon limit phytoplankton production in the Mississippi River plume and nearby regions? *Continental Shelf Research* **12**: 1293–1309.

- Dray, S., and A. B. Dufour. 2007. The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *Journal of Statistical Software* **22**: 1–20.
- Du, G., H. Yna, C. Liu, and Y. Mao. 2017. Behavioral and physiological photoresponses to light intensity by intertidal microphytobenthos. *Chinese Journal of Oceanology and limnology*
- Duarte, P., M. F. Macedo, and L. Cancela da Fonseca. 2006. The relationship between phytoplankton diversity and community function in a coastal lagoon. *Hydrobiologia* **555**: 3–18.
- Dubinsky, Z. 1992. The Functional and Optical Absorption Cross-Sections of Phytoplankton Photosynthesis, p. 31–45. *In* P.G. Falkowski, A.D. Woodhead, and K. Vivirito [eds.], *Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea*. Springer US.
- Dubinsky, Z., P. G. Falkowski, and K. Wyman. 1986. Light Harvesting and Utilization by Phytoplankton. *Plant Cell Physiology* **27**: 1335–1349.
- Dubinsky, Z., and N. Stambler. 2009. Photoacclimation processes in phytoplankton: Mechanisms, consequences, and applications. *Aquatic Microbial Ecology* **56**: 163–176.
- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, Pa. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry* **28**: 350–356.
- Ducklow, H. W., D. K. Steinberg, and K. O. Buesseler. 2001. Upper ocean carbon export and the biological pump. *Oceanography* **14**: 50–58.
- Dupuy, C., C. Mallet, K. Guizien, H. Montanié, M. Bréret, F. Mornet, C. Fontaine, C. Nérot, and F. Orvain. 2014. Sequential resuspension of biofilm components (viruses, prokaryotes and protists) as measured by erodimetry experiments in the Brouage mudflat (French Atlantic coast). *Journal of Sea Research* **92**: 56–65.
- Edgar, L. A., and J. D. Pickett- Heaps. 1984. Valve morphogenesis in the pennate diatom *Navicula cuspidata*. *Journal of Phycology* **20**: 47–61.
- Eilers, P. H. C., and J. C. H. Peeters. 1988. A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton. *Ecological Modelling* **42**: 199–215.
- Endo, T., and K. Asada. 2008. Photosystem I and Photoprotection: Cyclic Electron Flow and Water-Water Cycle, p. 205–221. *In* *Photoprotection, Photoinhibition, Gene Regulation, and Environment*.
- Engel, A. 2000. The role of transparent exopolymer particles (TEP) in the increase in apparent particle stickiness (α) during the decline of a diatom bloom. *Journal of Plankton Research* **22**: 485–497.
- Engel, A., and U. Passow. 2001. Carbon and nitrogen content of transparent exopolymer particles (TEP) in relation to their Alcian Blue adsorption. *Marine Ecology Progress Series* **219**: 1–10.
- Etcheber, H., A. Taillez, G. Abril, J. Garnier, P. Servais, F. Moatar, and M. V. Commarieu. 2007. Particulate organic carbon in the estuarine turbidity maxima of the Gironde, Loire and Seine estuaries: Origin and lability. *Hydrobiologia* **588**: 245–259.
- Even, S., J. M. Mouchel, P. Servais, N. Flipo, M. Poulin, S. Blanc, M. Chabanel, and C. Paffoni. 2007. Modelling the impacts of Combined Sewer Overflows on the river Seine water quality. *Science of the Total Environment* **375**: 140–151.

- Eyre, B., and P. Balls. 1999. A Comparative Study of Nutrient Behavior along the Salinity Gradient of Tropical and Temperate Estuaries. *Estuaries* **22**: 313–326.
- Fagherazzi, S., G. Mariotti, A. T. Banks, E. J. Morgan, and R. W. Fulweiler. 2014. The relationships among hydrodynamics, sediment distribution, and chlorophyll in a mesotidal estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **144**: 54–64.
- Falkowski, P. G. 1984. Physiological responses of phytoplankton to natural light regimes. **6**: 295–307.
- Falkowski, P. G. 1998. Biogeochemical Controls and Feedbacks on Ocean Primary Production. *Science* **281**: 200–206.
- Falkowski, P. G., Y. Fujita, a Ley, and D. Mauzerall. 1986. Evidence for Cyclic Electron Flow around Photosystem II in *Chlorella pyrenoidosa*. *Plant physiology* **81**: 310–312.
- Falkowski, P. G., R. M. Greene, and R. J. Geider. 1992. Physiological limitations on phytoplankton productivity in the ocean. *Oceanography* **5**: 84–91.
- Falkowski, P. G., and J. Raven. 2007a. *Aquatic photosynthesis* 2nd edition Princeton University Press. New Jersey, USA
- Falkowski, P. G., and J. A. Raven. 1997. Carbon acquisition and assimilation. *Aquatic photosynthesis* 128–162.
- Falkowski, P. G., and J. A. Raven. 2007b. *Aquatic photosynthesis*, 2, illustr ed. 2007 Princeton University Press [ed.]. Princeton University Press.
- Field, C., M. Behrenfeld, J. Randerson, and P. Falkowski. 1998. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science* **281**: 237–240.
- Figueiras, F. G., U. Labarta, and M. J. Fernandez Reiriz. 2002. Coastal upwelling, primary production and mussel growth in the R??as Baixas of Galicia. *Hydrobiologia* **484**: 121–131.
- Folke, C., S. Carpenter, T. Elmqvist, L. Gunderson, and B. Walker. 2002. Resilience and Sustainable Development : Building Adaptive Capacity in a World of. *Ambio* **31**: 437–440.
- Forster, R. M., V. Créach, K. Sabbe, W. Vyverman, and L. J. Stal. 2006. Biodiversity-ecosystem function relationship in microphytobenthic diatoms of the Westerschelde estuary. *Marine Ecology Progress Series* **311**: 191–201.
- Forster, R. M., and J. C. Kromkamp. 2004. Modelling the effects of chlorophyll fluorescence from subsurface layers on photosynthetic efficiency measurements in microphytobenthic algae. *Marine Ecology Progress Series* **284**: 9–22.
- Fritz, L., M. A. Quilliam, J. L. C. Wright, A. M. Beale, and T. M. Work. 1992. An outbreak of domoic acid poisoning attributed to the pennate diatom *Pseudonitzschia australis*. *Journal of Phycology* **28**: 439–442.
- Fuhrman, J. A. 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature* **399**: 541–8.
- Fujiki, T., and S. Taguchi. 2002. Variability in chlorophyll a specific absorption coefficient in marine phytoplankton as a function of cell size and irradiance.

- Fukao, T., K. Kimoto, T. Yamatogi, K. I. Yamamoto, Y. Yoshida, and Y. Kotani. 2009. Marine mucilage in Ariake Sound, Japan, is composed of transparent exopolymer particles produced by the diatom *Coscinodiscus granii*. *Fisheries Science* **75**: 1007–1014.
- Gallegos, C. L. 2012. Phytoplankton photosynthetic capacity in a shallow estuary: Environmental correlates and interannual variation. *Marine Ecology Progress Series* **463**: 23–37.
- Gameiro, C., and V. Brotas. 2010. Patterns of Phytoplankton variability in the Tagus estuary (Portugal). *Estuaries and Coasts* **33**: 311–323.
- Gameiro, C., J. Zwolinski, and V. Brotas. 2011. Light control on phytoplankton production in a shallow and turbid estuarine system. *Hydrobiologia* **669**: 249–263.
- Gamfeldt, L., and H. Hillebrand. 2011. Effects of total resources, resource ratios, and species richness on algal productivity and evenness at both metacommunity and local scales. *PLoS ONE* **6**.
- Garcia, C. M. 2002. Hydrodynamics and the spatial distribution of plankton and TEP in the Gulf of Cadiz (SW Iberian Peninsula). *Journal of Plankton Research* **24**: 817–833.
- Garnier, J., G. Billen, J. Némery, and M. Sebilo. 2010. Transformations of nutrients (N, P, Si) in the turbidity maximum zone of the Seine estuary and export to the sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **90**: 129–141.
- Garnier, J., P. Servais, G. Billen, M. Akopian, and N. Brion. 2001a. Lower Seine River and Estuary (France) Carbon and Oxygen Budgets during Low Flow. *Estuaries* **24**: 964–976.
- Garnier, J., P. Servais, G. Billen, M. Akopian, and N. Brion. 2001b. The oxygen budget in the Seine estuary: balance between photosynthesis and degradation of organic matter. *Estuaries* **24**: 964–977.
- Gattuso, J.-P., M. Frankignoulle, and R. Wollast. 1998. Carbon and carbonate metabolism in coastal aquatic ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics* **29**: 405–434.
- Gaulke, A. K., M. S. Wetz, and H. W. Paerl. 2010. Picophytoplankton: A major contributor to planktonic biomass and primary production in a eutrophic, river-dominated estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **90**: 45–54.
- Gaxiola-Castro, G., S. Álvarez-Borrego, M. F. Lavín, a. Zirino, and S. Nájera-Martínez. 1999. Spatial variability of the photosynthetic parameters and biomass of the Gulf of California phytoplankton. *Journal of Plankton Research* **21**: 231–245.
- Gazeau, F., J. Gattuso, J. J. Middelburg, N. Brion, S. Schiettecatte, M. Frankignoulle, and A. V. Borges. 2005. Planktonic and Whole System Metabolism in a Nutrient-rich (the Scheldt Estuary) Estuary. *Estuaries* **28**: 868–883.
- Geider, R. J., E. H. Delucia, P. G. Falkowski, A. C. Finzi, J. P. Grime, J. Grace, T. M. Kana, J. L. A. Roche, S. P. Long, B. A. Osborne, T. Platt, I. C. Prentice, J. A. Raven, W. H. Schlesinger, V. Smetacek, V. Stuart, and P. O. Box. 2001. Primary productivity of planet earth : biological determinants and physical constraints in terrestrial and aquatic habitats.
- Geider, R. J., R. M. Greene, Z. Kolber, H. L. MacIntyre, and P. G. Falkowski. 1993. Fluorescence assessment of the maximum quantum efficiency of photosynthesis in the western North Atlantic. *Deep-Sea Research Part I* **40**: 1205–1224.
- Geider, R. J., H. L. MacIntyre, and T. M. Kana. 1997. Dynamic model of phytoplankton growth

- and acclimation: Responses of the balanced growth rate and the chlorophyll a:carbon ratio to light, nutrient-limitation and temperature. *Marine Ecology Progress Series* **148**: 187–200.
- Genty, B., J. Harbinson, J. Briantais, N. R. Baker, and C. Lane. 1989. The relationship between non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence and the rate of photosystem 2 photochemistry in leaves. *Photosynthesis research* **25**: 249–257.
- Gévaert, F., A. Créach, D. Davoult, A. Migné, G. Levavasseur, P. Arzel, A.-C. Holl, and Y. Lemoine. 2003. *Laminaria saccharina* photosynthesis measured in situ: photoinhibition and xanthophyll cycle during a tidal cycle. *Marine ecology progress series [Mar. Ecol. Prog. Ser.]*. **247**: 43–50.
- Glover, H. E., D. A. Phinney, and C. S. Yentsch. 1985. Photosynthetic characteristics of picoplankton compared with those of larger phytoplankton populations, in various water masses in the Gulf of Maine. *Deep Sea Research Part B. Oceanographic Literature Review* **32**: 759.
- Goosen, N. K., J. Kromkamp, J. Peene, P. Van Rijswijk, and P. Van Breugel. 1999. Bacterial and phytoplankton production in the maximum turbidity zone of three European estuaries: The Elbe, Westerschelde and Gironde. *Journal of Marine Systems* **22**: 151–171.
- Goosen, N. K., P. Van Rijswijk, J. Kromkamp, and J. Peene. 1997. Regulation of annual variation in heterotrophic bacterial production in the Schelde estuary.
- Goss, R., and T. Jakob. 2010. Regulation and function of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in algae. *Photosynthesis research* **106**: 103–22.
- Gosselain, V., J. P. Descy, and E. Everbecq. 1994. The phytoplankton community of the River Meuse, Belgium: seasonal dynamics (year 1992) and the possible incidence of zooplankton grazing. *Hydrobiologia* **289**: 179–191.
- Goto, N., T. Kawamura, O. Mitamura, and H. Terai. 1999. Importance of extracellular organic carbon production in the total primary production by tidal-flat diatoms in comparison to phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* **190**: 289–295.
- Granum, E., S. Kirkvold, and S. M. Mykkestad. 2002. Cellular and extracellular production of carbohydrates and amino acids by the marine diatom *Skeletonema costatum*: Diel variations and effects of N depletion. *Marine Ecology Progress Series* **242**: 83–94.
- Greene, R. M., Z. S. Kolber, D. G. Swift, N. W. Tindale, and P. G. Falkowski. 1994. Physiological Limitation of Phytoplankton Photosynthesis in the Eastern Equatorial Pacific Determined from Variability in the Quantum Yield of Fluorescence. *Limnology and Oceanography* **39**: 1061–1074.
- Grenz, C., J. E. Cloern, S. W. Hager, and B. E. Cole. 2000. Nutrient and Oxygen Fluxes During a Spring Phyto-. *Marine Ecology Progress Series* **197**: 67–80.
- Guarini, J.-M., G. F. Blanchard, and P. Gros. 2000. Quantification of the microphytobenthic primary production in European intertidal mudflats – a modelling approach. *Continental Shelf Research* **20**: 1771–1788.
- Guarini, J. M., G. F. Blanchard, C. Bacher, P. Gros, P. Riera, P. Richard, D. Gouleau, R. Galois, J. Prou, and P. G. Sauriau. 1998. Dynamics of spatial patterns of microphytobenthic biomass: Inferences from a geostatistical analysis of two comprehensive surveys in Marennes-Oleron Bay (France). *Marine Ecology Progress Series* **166**: 131–141.

- Guerrini, F., M. Cangini, L. Boni, P. Trost, and R. Pistocchi. 2000. Metabolic responses of the diatom *Achnanthes brevipes* (Bacillariophyceae) to nutrient limitation. *Journal of Phycology* **36**: 882–890.
- Guillard, R. R. L., and J. H. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology* **8**: 229–239.
- Hama, J., and N. Handa. 1994. Variability of the biomass, chemical-composition and productivity of phytoplankton in kinu-ura bay, Japan during the rainy-season. *Estuarine Coastal and Shelf Science* **39**: 497–509.
- Hama, T., T. Miyazaki, Y. Ogawa, T. Iwakuma, M. Takahashi, A. Otsuki, and S. Ichimura. 1983. Measurement of Photosynthetic Production of a Marine Phytoplankton Population Using a Stable ^{13}C Isotope. *Marine Biology* **73**: 31–36.
- Hammer, A., R. Schumann, and H. Schubert. 2002. Light and temperature acclimation of *Rhodomonas salina* (Cryptophyceae): photosynthetic performance Light and temperature acclimation of *Rhodomonas salina* (Cryptophyceae): photosynthetic performance. *Aquatic Microbial Ecology* **29**: 287–296.
- Hammes, F., M. Vital, and T. Egli. 2010. Critical evaluation of the volumetric “bottle effect” on microbial batch growth. *Applied and Environmental Microbiology* **76**: 1278–1281.
- Hancke, K., T. Dalsgaard, M. K. Sejr, S. Markager, and R. N. Glud. 2015. Phytoplankton Productivity in an arctic fjord (West Greenland): Estimating electron requirements for carbon fixation and oxygen production. *PLoS ONE* **10**: 1–23.
- Hancke, K., T. B. Hancke, M. Lasse, L. M. Olsen, G. Johnsen, and N. Ronnie. 2008a. Temperature effects on Microalgal Photosynthesis-Light responses measured by O_2 production, Pulse-Amplitude-Modulated Fluorescence, and ^{14}C assimilation. *Journal of Phycology* **44**: 501–514.
- Hancke, K., T. B. Hancke, L. M. Olsen, G. Johnsen, and R. N. Glud. 2008b. Temperature effects on microalgal photosynthesis-light responses measured by O_2 production, pulse-amplitued-modelated fluorescence and ^{14}C assimilation. **514**: 501–514.
- Hartig, P., K. Wolfstein, S. Lippemeier, and F. Colijn. 1998. Photosynthetic activity of natural microphytobenthos populations measured by fluorescence (PAM) and ^{14}C -tracer methods: A comparison. *Marine Ecology Progress Series* **166**: 53–62.
- Hay, S. I., T. C. Maitland, and D. M. Paterson. 1993. The speed of diatom migration through natural and artificial substrata. *Diatom Research* **8**: 371–384.
- Heip, C. H. R., N. K. Goosen, P. M. J. Herman, J. Kromkamp, J. J. Middelburg, and K. Soetaert. 1995. Production and consumption of biological particles in temperate tidal estuaries,. 1995. Production and consumption of biological particles in temperate tidal estuaries,.
- Helbling, E. W., and V. E. Villafañe. 2009. Phytoplankton and primary productivity, p. 206–226. *In* Fisheries and Aquaculture.
- Henson, S. A., R. Sanders, and E. Madsen. 2012. Global patterns in efficiency of particulate organic carbon export and transfer to the deep ocean. *Global Biogeochemical Cycles* **26**: 1–14.
- Herman, P. M. J., J. J. Middelburg, J. Widdows, C. H. Lucas, and C. H. R. Heip. 2000. Stable Isotopes as Trophic Tracers: Combining Field/rSampling and Manipulative Labelling of

- Food Resources for Macrobenthos. *Mar Ecol Prog Ser* **204**: 79–92.
- Hernando, M., I. R. Schloss, G. Malanga, G. O. Almandoz, G. A. Ferreyra, M. B. Aguiar, and S. Puntarulo. 2015. Effects of salinity changes on coastal Antarctic phytoplankton physiology and assemblage composition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **466**: 110–119.
- Hessing-Lewis, M. L., S. D. Hacker, B. A. Menge, S. O. McConville, and J. Henderson. 2015. Are large macroalgal blooms necessarily bad? Nutrient impacts on seagrass in upwelling-influenced estuaries. *Ecological Applications* **25**: 1330–1347.
- Hickey, B. M., and N. S. Banas. 2003. Oceanography of the U.S. Pacific Northwest Coastal Ocean and estuaries with application to coastal ecology. *Estuaries* **26**: 1010–1031.
- Higgins, T. G. O., S. P. Ferraro, D. D. Dantin, and S. J. Jordan. 2010. Habitat Scale Mapping of Fisheries Ecosystem Service Values in. *Ecology and Society* **15**(4).
- Le Hir, P., A. Ficht, R. S. Jacinto, P. Lesueur, J.-P. Dupont, R. Lafite, I. Brenon, B. Thouvenin, and P. Cugier. 2001a. Fine Sediment Transport and Accumulations at the Mouth of the Seine Estuary (France). *Estuaries* **24**: 950.
- Le Hir, P., R. Silva Jacinto, B. Thouvenin, L. Guézennec, P. Bassoulet, P. Cugier, F. Leboulenger, R. Hocdé, P. Lesueur, and L. A. Romana. 2001b. Courants , vagues et marées : les mouvements de l ' eau. Fascicule Seine-Aval **1.2**: 1–31.
- Hobson, L. A., and M. R. McQuoid. 1997. Temporal variations among planktonic diatom assemblages in a turbulent environment of the southern Strait of Georgia, British Columbia, Canada. *Marine Ecology Progress Series* **150**: 263–274.
- Hochard, S., C. Pinazo, C. Grenz, J. L. B. Evans, and O. Pringault. 2010. Impact of microphytobenthos on the sediment biogeochemical cycles: A modeling approach. *Ecological Modelling* **221**: 1687–1701.
- Holm-Hansen, O., A. F. Amos, and C. D. Hewes. 2000. Reliability of estimating chlorophyll a concentrations in Antarctic waters by measurement of in situ chlorophyll a fluorescence. *Marine Ecology Progress Series* **196**: 103–110.
- Hong, Y. 1997. Studies on Transparent Exopolymer Particles (Tep) Produced in the Ross Sea (Antarctica) and By Phaeocystis Antarctica (Prymnesiophyceae). **376**: 368–376.
- Houliez, E., S. Simis, S. Nenonen, P. Ylöstalo, and J. Seppälä. 2017. Basin-scale spatio-temporal variability and control of phytoplankton photosynthesis in the Baltic Sea: The first multiwavelength fast repetition rate fluorescence study operated on a ship-of-opportunity. *Journal of Marine Systems* **169**: 40–51.
- Howarth, R. W. 1988. Nutrient Limitation of Net Primary Production in Marine Ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics* **19**: 89–110.
- Huang, L., W. Jian, X. Song, X. Huang, S. Liu, P. Qian, K. Yin, and M. Wu. 2004. Species diversity and distribution for phytoplankton of the Pearl River estuary during rainy and dry seasons. *Marine Pollution Bulletin* **49**: 588–596.
- Huisman, J., J. Sharples, J. M. Stroom, P. M. Visser, W. E. A. Kardinaal, J. Verspagen, and B. Sommeijer. 2004. Changes in turbulent mixing shift competition for light between phytoplankton species. **85**: 2960–2970.

- Hunter-Cevera, K. R., M. G. Neubert, R. J. Olson, A. R. Solow, A. Shalapyonok, and H. M. Sosik. 2016. Physiological and ecological drivers of early spring blooms of a coastal phytoplankter. *Science* **354**: 326–329.
- Huston, M. A., and D. L. DeAngelis. 1994. Competition and coexistence: the effects of resource transport and supply rates. *The American Naturalist* **144**: 954–977.
- Hydes, D., M. Aoyama, A. Aminot, K. Bakker, S. Becker, S. Coverly, A. Daniel, A. G. Dickson, O. Grosso, R. Kerouel, J. van Ooijen, K. Sato, T. Tanhua, E. M. S. Woodward, and J. Z. Zhang. 2010. Determination of dissolved nutrients (N, P, Si) in seawater with high precision and inter-comparability using gas-segmented continuous flow analysers. *The GO-SHIP Repeat Hydrography Manual IOCCP Report* **134**: 1–87.
- Iriarte, A. 1993. Size-fractionated chlorophyll a biomass and picophytoplankton cell density along a longitudinal axis of a temperate estuary (Southampton Water). *Journal of Plankton Research* **15**: 485–500.
- Iriarte, A., and D. A. Purdie. 1994. Size distribution of chlorophyll a biomass and primary production in a temperate estuary (Southampton Water): the contribution of photosynthetic picoplankton. *Marine Ecology Progress Series* **115**: 283–297.
- Irigoin, X., and J. Castel. 1997. Light limitation and distribution of chlorophyll pigments in a highly turbid estuary: The Gironde (SW France). *Estuar Coast Shelf Sci* **44**: 507–517.
- Jassby, A. D., J. E. Cloern, and B. E. Cole. 2002. Annual primary production: patterns and mechanisms of change in a nutrient-rich tidal ecosystem. *Limnology and Oceanography* **47**: 698–712.
- Jassby, A. D., J. E. Cloern, and T. M. Powell. 1993. Organic carbon sources and sinks in San Francisco Bay : variability induced by river flow. *Marine Ecology Progress Series* **95**: 39–54.
- Jeffrey, S. W., and M. Vesk. 1997. Introduction to marine phytoplankton and their pigment signatures, p. 74–75. *In* Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods. Mantoura RFC, Wright SW (eds) *Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods*.
- Jesus, B., V. Brotas, M. Marani, and D. M. Paterson. 2005. Spatial dynamics of microphytobenthos determined by PAM fluorescence. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **65**: 30–42.
- Jesus, B., C. R. Mendes, V. Brotas, and D. M. Paterson. 2006. Effect of sediment type on microphytobenthos vertical distribution: Modelling the productive biomass and improving ground truth measurements. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **332**: 60–74.
- Johnsen, G., and E. Sakshaug. 2007. Biooptical characteristics of PSII and PSI in 33 species (13 pigment groups) of marine phytoplankton, and the relevance for pulse-amplitude-modulated and fast-repetition-rate fluorometry 1. *Journal of Phycology* **43**: 1236–1251.
- Johnson, X., and J. Alric. 2013. Central carbon metabolism and electron transport in *Chlamydomonas reinhardtii*: Metabolic constraints for carbon partitioning between oil and starch. *Eukaryotic Cell* **12**: 776–793.
- De Jong, D. J., and V. N. De Jonge. 1995. Dynamics and distribution of microphytobenthic chlorophyll-a in the Western Scheldt estuary (SW Netherlands). *Hydrobiologia* **311**: 21–

30.

- De Jonge, V. N., and J. E. E. Van Beuselom. 1992. Contribution of resuspended microphytobenthos to total phytoplankton in the EMS estuary and its possible role for grazers. *Netherlands Journal of Sea Research* **30**: 91–105.
- Jönsson, B., K. Sundbäck, and C. Nilsson. 1994. An upright life-form of an epipellic motile diatom: on the behaviour of *Gyrosigma balticum*. *European Journal of Phycology* **29**: 11–15.
- Josselyn, M. N., and J. A. West. 1985. Temporal Dynamics of an Estuary: San Francisco Bay, p. 139–152. *In* J.E. Cloern and F.H. Nichols [eds.]. Springer Netherlands.
- Jouenne, F., S. Lefebvre, B. Véron, and Y. Lagadeuc. 2005. Biological and physicochemical factors controlling short-term variability in phytoplankton primary production and photosynthetic parameters in a macrotidal ecosystem (eastern English Channel). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **65**: 421–439.
- Jouenne, F., S. Lefebvre, B. Véron, and Y. Lagadeuc. 2007. Phytoplankton community structure and primary production in small intertidal estuarine-bay ecosystem (eastern English Channel, France). *Marine Biology* **151**: 805–825.
- Juneau, P., A. Barnett, V. Méléder, C. Dupuy, and J. Lavaud. 2015. Combined effect of high light and high salinity on the regulation of photosynthesis in three diatom species belonging to the main growth forms of intertidal flat inhabiting microphytobenthos. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **463**: 95–104.
- Juneau, P., and P. J. Harrison. 2005. Comparison by PAM Fluorometry of Photosynthetic Activity of Nine Marine Phytoplankton Grown Under Identical Conditions. *photochemistry and photobiology* 649–653.
- Kaiblinger, C., and M. T. Dokulil. 2006. Application of fast repetition rate fluorometry to phytoplankton photosynthetic parameters in freshwaters. *Photosynthesis research* **88**: 19–30.
- Kaiser, M. J. 2011. *Marine ecology: processes, systems, and impacts*, Oxford University Press.
- Kang, C.-K., H. J. Park, E. J. Choy, K.-S. Choi, K. Hwang, and J. Kim. 2015. Linking intertidal and subtidal food webs : consumer-mediated transport of intertidal benthic microalgal carbon. *PloS one*
- Karentz, D. 1994. *Ultraviolet tolerance mechanisms in Antarctic marine organisms*, Wiley Online Library.
- Karl, D. M. 2002. Microbiological oceanography: Hidden in a sea of microbes. *Nature* **415**: 590–591.
- Kelly, J. A., C. Honeywill, and D. M. Paterson. 2001. Microscale analysis of chlorophyll-a in cohesive, intertidal sediments: the implications of microphytobenthos distribution. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* **81**: 151–162.
- Kennish, M. J. 2016. *encyclopedia of estuaries*, M.J. Kennish [ed.]. Springer Netherlands.
- Kennish, M. J., M. J. Brush, and K. A. Moore. 2014. Drivers of Change in Shallow Coastal Photic Systems: An Introduction to a Special Issue. *Estuaries and Coasts* **37**: 3–19.
- Key, T., A. McCarthy, D. A. Campbell, C. Six, S. Roy, and Z. V. Finkel. 2010. Cell size trade-

- offs govern light exploitation strategies in marine phytoplankton. *Environmental Microbiology* **12**: 95–104.
- Kimmerer, W. J., A. E. Parker, U. E. Lidström, and E. J. Carpenter. 2012. Short-Term and Interannual Variability in Primary Production in the Low-Salinity Zone of the San Francisco Estuary. *Estuaries and Coasts* **35**: 913–929.
- Kiorboe, T. 1993. Turbulence, phytoplankton cell size, and the structure of pelagic food webs. *Advances in Marine Biology* **29**: 2–72.
- Kiorboe, T., and T. G. Nielsen. 1994. Regulation of zooplankton biomass and production in a temperate coastal ecosystem. 1. Copepods. *Limnology and Oceanography* **39**: 493–507.
- Kirk, J. 1983. *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Klaveness, D. 1988. Ecology of the Cryptomonadida: a first review. Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge 105–133.
- Klein, C., P. Claquin, P. Alexandrine, C. Napoléon, B. Le Roy, and B. Véron. 2011. Dynamics of soluble extracellular polymeric substances and transparent exopolymer particle pools in coastal ecosystems. *Marine Ecology Progress Series* **427**: 13–27.
- Kocum, E., D. B. Nedwell, and G. J. C. Underwood. 2002. Regulation of phytoplankton primary production along a hypernutrified estuary. *Marine Ecology Progress Series* **231**: 13–22.
- Kolber, Z., and P. G. Falkowski. 1993. Use of active fluorescence to estimate phytoplankton photosynthesis in situ. *Limnology and Oceanography* **38**: 1646–1665.
- Kolber, Z. S., O. Prášil, and P. G. Falkowski. 1998. Measurements of variable chlorophyll fluorescence using fast repetition rate techniques: Defining methodology and experimental protocols. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* **1367**: 88–106.
- Kolber, Z., J. Zehr, and P. Falkowski. 1988. Effects of Growth Irradiance and Nitrogen Limitation on Photosynthetic Energy Conversion in Photosystem II. *Plant physiology* **88**: 923–929.
- Van Kooten, O., and J. F. H. Snel. 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research* **25**: 147–150.
- Krause, G. H., and E. Weis. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual review of plant biology* **42**: 313–349.
- Kromkamp, J., C. Barranguet, and J. Peene. 1998. Determination of microphytobenthos PSII quantum efficiency and photosynthetic activity by means of variable chlorophyll fluorescence. *Marine Ecology Progress Series* **162**: 45–55.
- Kromkamp, J. C., and R. M. Forster. 2003. The use of variable fluorescence measurements in aquatic ecosystems: differences between multiple and single turnover measuring protocols and suggested terminology. *European Journal of Phycology* **38**: 103–112.
- Kromkamp, J. C., and J. Peene. 2005. Changes in phytoplankton biomass and primary production between 1991 and 2001 in the Westerschelde estuary (Belgium/The Netherlands). *Hydrobiologia* **540**: 117–126.
- Kromkamp, J., and J. Peene. 1999. Estimation of phytoplankton photosynthesis and nutrient

- limitation in the Eastern Scheldt estuary using variable fluorescence. *Aquatic Ecology* **33**: 101–104.
- Kromkamp, J., J. Peene, P. van Rijswijk, A. Sandee, and N. Goosen. 1995. Nutrients, light and primary production by phytoplankton and microphytobenthos in the eutrophic, turbid Westerschelde estuary (The Netherlands). *Hydrobiologia* **311**: 9–19.
- Kühl, M., and B. B. Jørgensen. 1992. Spectral light measurements in microbenthic phototrophic communities with a fiber-optic microprobe coupled to a sensitive diode array detector. *Limnology And Oceanography* **37**: 1813–1823.
- Kühl, M., and B. B. Jørgensen. 1994. The light-field of microbenthic communities- radiance distribution and microscale optics of sandy coastal sediments. *Limnology and Oceanography* **39**: 1368–1398.
- Kühl, M., C. Lassen, and B. B. Jørgensen. 1994. Light penetration and light intensity in sandy marine sediments measured with irradiance and scalar irradiance fiber-optic microprobes. *Marine Ecology Progress Series* **105**: 139–148.
- Kwon, B.-O., Y. Lee, J. Park, J. Ryu, S. Hong, S. Son, S. Y. Lee, J. Nam, C.-H. Koh, and J. S. Khim. 2016. Temporal dynamics and spatial heterogeneity of microalgal biomass in recently reclaimed intertidal flats of the Saemangeum area, Korea. *Journal of Sea Research* **116**: 1–11.
- Kwon, B., C. Koh, J. S. Khim, J. Park, S. Kang, and J. H. Hwang. 2014. The Relationship between Primary Production of Microphytobenthos and Tidal Cycle on the Hwaseong Mudflat, West Coast of Korea. *Journal of Coastal Research* **298**: 1188–1196.
- Lancelot, C., and K. Muylaert. 2012. *Trends in Estuarine Phytoplankton Ecology*, Elsevier Inc.
- Laurion, I., A. Lami, and R. Sommaruga. 2002. Distribution of mycosporine-like amino acids and photoprotective carotenoids among freshwater phytoplankton assemblages. *Aquat. Microb. Ecol.* **26**: 293–294.
- Lavaud, J. 2007. *Fast Regulation of Photosynthesis in Diatoms: Mechanisms, Evolution and Ecophysiology*,.
- Lavaud, J., B. Rousseau, and A.-L. Etienne. 2004. General Features of Photoprotection By Energy Dissipation in Planktonic Diatoms (Bacillariophyceae)1. *Journal of Phycology* **40**: 130–137.
- Lavaud, J., R. F. Strzepek, and P. G. Kroth. 2007. Photoprotection capacity differs among diatoms: Possible consequences on the spatial distribution of diatoms related to fluctuations in the underwater light climate. *Limnology and Oceanography* **52**: 1188–1194.
- Lavergne, J., and H. W. Trissl. 1995. Theory of fluorescence induction in photosystem II: derivation of analytical expressions in a model including exciton-radical-pair equilibrium and restricted energy transfer between photosynthetic units. *Biophysical journal* **68**: 2474–2492.
- Laviale, M., J. Ezequiel, C. Pais, P. Cartaxana, and J. Serôdio. 2015. The “crème brûlée” sampler: A new high-resolution method for the fast vertical sampling of intertidal fine sediments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **468**: 37–44.
- Laviale, M., S. Frankenbach, and J. Serôdio. 2016. The importance of being fast: comparative

- kinetics of vertical migration and non-photochemical quenching of benthic diatoms under light stress. *Marine Biology* **163**: 1–12.
- Lawrenz, E., G. Silsbe, E. Capuzzo, P. Ylöstalo, R. M. Forster, S. G. H. Simis, O. Prášil, J. C. Kromkamp, A. E. Hickman, C. M. Moore, M.-H. Forget, R. J. Geider, and D. J. Suggett. 2013. Predicting the electron requirement for carbon fixation in seas and oceans. *PloS one* **8**: e58137.
- Lefebvre, S., J. C. Marín Leal, S. Dubois, F. Orvain, J. L. Blin, M. P. Bataillé, A. Ourry, and R. Galois. 2009. Seasonal dynamics of trophic relationships among co-occurring suspension-feeders in two shellfish culture dominated ecosystems. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **82**: 415–425.
- Legendre, L., and R. B. Rivkin. 2002. Fluxes of carbon in the upper ocean: Regulation by food-web control nodes. *Marine Ecology Progress Series* **242**: 95–109.
- Lehman, P. W. 2007. The influence of phytoplankton community composition on primary productivity along the riverine to freshwater tidal continuum in the San Joaquin River, California. *Estuaries and Coasts* **30**: 82–93.
- Lemley, D. A., J. B. Adams, S. Taljaard, and N. A. Strydom. 2015. Towards the classification of eutrophic condition in estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **164**: 221–232.
- Lesourd, S., P. Lesueur, J. C. Brun-Cottan, S. Garnaud, and N. Poupinet. 2003. Seasonal variations in the characteristics of superficial sediments in a macrotidal estuary (the Seine inlet, France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **58**: 3–16.
- Leynaert, A., S. N. Longphurt, S. An, J. H. Lim, P. Claquin, J. Grall, B. O. Kwon, and C. H. Koh. 2011. Tidal variability in benthic silicic acid fluxes and microphytobenthos uptake in intertidal sediment. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **95**: 59–66.
- Li, W. K. W. 1994. Primary Production of Prochlorophytes, Cyanobacteria, and Eukaryotic Ultraphytoplankton - Measurements from Flow Cytometric Sorting. *Limnology and Oceanography* **39**: 169–175.
- Lionard, M., K. Muylaert, D. Van Gansbeke, and W. Vyverman. 2005. Influence of changes in salinity and light intensity on growth of phytoplankton communities from the Schelde river and estuary (Belgium/The Netherlands). *Hydrobiologia* **540**: 105–115.
- Lionard, M., K. Muylaert, A. Hanoutti, T. Maris, M. Tackx, and W. Vyverman. 2008. Inter-annual variability in phytoplankton summer blooms in the freshwater tidal reaches of the Schelde estuary (Belgium). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **79**: 694–700.
- Litchman, E. 1998. Population and community responses of phytoplankton to fluctuating light. *oecologia* **117**: 247–257.
- Liu, H., and E. J. Buskey. 2000. Hypersalinity Enhances the Production of Extracellular Polymeric. *Production* **77**: 71–77.
- Liu, H., M. Dagg, L. Campbell, and J. Urban-Rich. 2004. Picophytoplankton and bacterioplankton in the Mississippi River plume and its adjacent waters. *Estuaries* **27**: 147–156.
- Lohrenz, S. E., G. L. Fahnenstiel, D. G. Redalje, G. A. Lang, M. J. Dagg, T. E. Whitledge, and Q. Dortch. 1999. Nutrients, irradiance, and mixing as factors regulating primary production in coastal waters impacted by the Mississippi River plume. *Continental Shelf*

- Research **19**: 1113–1141.
- Loman, N. J., R. . Misra, T. J. Dallman, C. Constantinidou, S. E. Gharbia, J. Wain, and M. J. Pallen. 2012. Performance Comparison of Benchtop High-Throughput Sequencing Platforms. *Nature Biotechnology* **30**: 434–9.
- Longphurt, S. N., J. H. Lim, A. Leynaert, P. Claquin, E. J. Choy, C. K. Kang, and S. An. 2009. Dissolved inorganic nitrogen uptake by intertidal microphytobenthos: Nutrient concentrations, light availability and migration. *Marine Ecology Progress Series* **379**: 33–44.
- Loreau, M. 1998. Biodiversity and ecosystem functioning: a mechanistic model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **95**: 5632–5636.
- Lorenzen, C. J. 1966. A method for the continuous measurement of in vivo chlorophyll concentration. *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts* **13**: 223–227.
- Lubarsky, H. V, C. Hubas, M. Chocholek, F. Larson, W. Manz, D. M. Paterson, and S. U. Gerbersdorf. 2010. The stabilisation potential of individual and mixed assemblages of natural bacteria and microalgae. *PloS one* **5**: e13794.
- Lucas, C. H., and P. M. Holligan. 1999. Nature and ecological implications of algal pigment diversity on the Molenplaat tidal flat (Westerschelde estuary, SW Netherlands). *Marine Ecology Progress Series* **180**: 51–64.
- Lucas, L. V., J. E. Cloern, J. R. Koseff, S. G. Monismith, and J. K. Thompson. 1998. Does the Sverdrup critical depth model explain bloom dynamics in estuaries? *Journal of Marine Research* **56**: 375–415.
- Lucas, L. V, J. K. Thompson, and L. R. Brown. 2009. Why are diverse relationships observed between phytoplankton biomass and transport time? *Limnology and Oceanography* **54**: 381–390.
- Lund, J. W. G., C. Kipling, and E. D. Le Cren. 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* **11**: 143–170.
- Lynn, S. G., S. S. Kilham, D. A. Kreeger, and S. J. Interlandi. 2000. Effect of nutrient availability on the biochemical and elemental stoichiometry in the freshwater diatom *Stephanodiscus minutulus* (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology* **36**: 510–522.
- Van Der Maarel, E. 1990. Ecotones and ecoclines are different van. *journal of vegetation Science* 135–138.
- MacIntyre, H., and J. Cullen. 1996. Primary production by suspended and benthic microalgae in a turbid estuary: time-scales of variability in San Antonio Bay, Texas. *Marine Ecology Progress Series* **145**: 245–268.
- MacIntyre, H. L., and J. J. Cullen. 1995. Fine-scale vertical resolution of chlorophyll and photosynthetic parameters in shallow-water benthos. *Marine Ecology Progress Series* **122**: 227–238.
- MacIntyre, H. L., R. J. Geider, and D. C. Miller. 1996. Microphytobenthos: The Ecological Role of the “Secret Garden” of Unvegetated, Shallow-Water Marine Habitats. I. Distribution, Abundance and Primary Production. *Estuaries* **19**: 186.

- Macintyre, H. L., T. M. Kana, T. Anning, and R. J. Geider. 2002. Review Photoacclimation of photosynthesis Irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria. *Journal of Phycology* **38**: 17–38.
- Magni, P., and S. Montani. 2006. Seasonal patterns of pore-water nutrients, benthic chlorophyll a and sedimentary AVS in a macrobenthos-rich tidal flat. *Hydrobiologia* **571**: 297–311.
- Magnien, R. E., R. M. Summers, and K. G. Sellner. 1992. External Nutrient Sources, Internal Nutrient Pools, and Phytoplankton Production in Chesapeake Bay. *Estuaries* **15**: 497.
- Majchrowski, R., and M. Ostrowska. 2000. Influence of photo- and chromatic acclimation on pigment composition in the sea. *Oceanologia* **42**: 157–175.
- Mallin, M. A., H. W. Paerl, J. Rudek, and P. W. Bates. 1993. Regulation of estuarine primary production by watershed rainfall and river flow. *Marine Ecology Progress Series* **93**: 199–203.
- Malone, T. C., and P. J. Neale. 1981. Parameters of light-dependent photosynthesis for phytoplankton size fractions in temperate estuarine and coastal environments. *Marine Biology* **61**: 289–297.
- Malpezzi, M. A., L. P. Sanford, and B. C. Crump. 2013. Abundance and distribution of transparent exopolymer particles in the estuarine turbidity maximum of Chesapeake Bay. *Marine Ecology Progress Series* **486**: 23–35.
- Mangoni, O., M. Saggiomo, M. Modigh, G. Catalano, A. Zingone, and V. Saggiomo. 2009. The role of platelet ice microalgae in seeding phytoplankton blooms in Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica): A mesocosm experiment. *Polar Biology* **32**: 311–323.
- Marchetti, A., P. Juneau, F. A. Whitney, C. S. Wong, and P. J. Harrison. 2006. Phytoplankton processes during a mesoscale iron enrichment in the NE subarctic Pacific: Part II-Nutrient utilization. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* **53**: 2114–2130.
- Marie, D., F. Partensky, D. Vaultot, and C. Brussaard. 1999. Enumeration of phytoplankton, bacteria, and viruses in marine samples. *Current protocols in cytometry* **11**.
- Marinov, I., S. C. Doney, and I. D. Lima. 2010. Response of ocean phytoplankton community structure to climate change over the 21st century: Partitioning the effects of nutrients, temperature and light. *Biogeosciences* **7**: 3941–3959.
- Marra, J. 2002. Approaches to the Measurement of Plankton Production, p. 78–108. *In* *Phytoplankton Productivity*. Blackwell Science Ltd.
- Martin, M. A., J. P. Fram, and M. T. Stacey. 2007. Seasonal chlorophyll a fluxes between the coastal Pacific Ocean and San Francisco Bay. *Marine Ecology Progress Series* **337**: 51–61.
- Masojidek, J., J. Grobbelaar, L. Pechar, and M. Koblizek. 2001. Photosystem II electron transport rates and oxygen production in natural waterblooms of freshwater cyanobacteria during a diel cycle. *Journal of Plankton Research* **23**: 57–66.
- Massana, R., and C. Pedrós-Alió. 2008. Unveiling new microbial eukaryotes in the surface ocean. *Current opinion in microbiology* **11**: 213–218.
- May, C. L., J. R. Koseff, L. V. Lucas, J. E. Cloern, and D. H. Schoellhamer. 2003. Effects of spatial and temporal variability of turbidity on phytoplankton blooms. *Marine Ecology Progress Series* **254**: 111–128.

- McCallister, S. L., J. E. Bauer, and E. a. Canuel. 2006. Bioreactivity of estuarine dissolved organic matter: A combined geochemical and microbiological approach. *Limnology and Oceanography* **51**: 94–100.
- McQuoid, M. R., and K. Nordberg. 2003. The diatom *Paralia sulcata* as an environmental indicator species in coastal sediments. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **56**: 339–354.
- Meeuwig, J. J. 1999. Predicting coastal eutrophication from land-use: an empirical approach to small non-stratified estuaries. *Marine Ecology Progress Series* **176**: 231–241.
- Mélédér, V., L. Barillé, P. Launeau, V. Carrère, and Y. Rincé. 2003. Spectrometric constraint in analysis of benthic diatom biomass using monospecific cultures. *Remote Sensing of Environment* **88**: 386–400.
- Mélédér, V., L. Barillé, Y. Rincé, M. Moranchais, P. Rosa, and P. Gaudin. 2005. Spatiotemporal changes in microphytobenthos structure analysed by pigment composition in a macrotidal flat (Bourgneuf Bay, France). *Marine Ecology Progress Series* **297**: 83–99.
- Meybeck, M. 1982. Carbon, nitrogen, and phosphorous transport by world rivers. *Am. J. Sci.* **282**: 401–450.
- Meybeck, M. 1998. Man and river interface: multiple impacts on water and particulates chemistry illustrated in the Seine river basin. *Hydrobiologia* **373**: 1–20.
- Middelburg, J. J., C. Barranguet, H. T. S. Boschker, P. M. J. Herman, T. Moens, and C. H. R. Heip. 2000. The fate of intertidal microphytobenthos carbon: An in situ ¹³C-labeling study. *Limnology and Oceanography* **45**: 1224–1234.
- Middelburg, J. J., and P. M. J. Herman. 2007. Organic matter processing in tidal estuaries. *Marine Chemistry* **106**: 127–147.
- Migné, A., N. Spilmont, and D. Davoult. 2004. In situ measurements of benthic primary production during emersion: Seasonal variations and annual production in the Bay of Somme (eastern English Channel, France). *Continental Shelf Research* **24**: 1437–1449.
- Mignolet, C., C. Schott, and M. Benoît. 2007. Spatial dynamics of farming practices in the Seine basin: Methods for agronomic approaches on a regional scale. *Science of The Total Environment* **375**: 13–32.
- Milligan, A. J., K. H. Halsey, and M. J. Behrenfeld. 2014. HORIZONS: Advancing interpretations of ¹⁴C-uptake measurements in the context of phytoplankton physiology and ecology. *Journal of Plankton Research* **37**: 692–698.
- Mitbavkar, S., and a. C. Anil. 2004. Vertical migratory rhythms of benthic diatoms in a tropical intertidal sand flat: influence of irradiance and tides. *Marine Biology* **145**: 9–20.
- Mitbavkar, S., K. M. Rajaneesh, A. C. Anil, and D. Sundar. 2012. Picophytoplankton community in a tropical estuary: Detection of *Prochlorococcus*-like populations. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **107**: 159–164.
- Mittelbach, G. G., C. F. Steiner, S. M. Scheiner, K. L. Gross, H. L. Reynolds, R. B. Waide, M. R. Willig, D. S. I., and L. Gough. 2001. What Is the Observed Relationship between species richness and productivity? *Ecology* **82**: 2381–2396.
- Monbet, Y. 1992. Control of Phytoplankton Biomass in Estuaries: A Comparative Analysis of Microtidal and Macrotidal Estuaries. *Estuaries* **15**: 563.

- Montecino, V., and D. Quiroz. 2000. Specific primary production and phytoplankton cell size structure in an upwelling area off the coast of Chile (30 degrees S). *Aquatic Sciences* **62**: 364–380.
- Morelle, J., M. Schapira, and P. Claquin. 2017. Dynamics of phytoplankton productivity and exopolysaccharides (EPS and TEP) pools in the Seine Estuary (France, Normandy) over tidal cycles and over two contrasting seasons. *Marine Environmental Research* , doi:<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.09.007>
- Moreno-Madrinan, and A. Fischer. 2013. Performance of the MODIS FLH algorithm in estuarine waters: A multi-year (2003-2010) analysis from Tampa Bay, Florida (USA). 1–19.
- Morgan-Kiss, R. M., J. C. Priscu, T. Pocock, L. Gudynaite-Savitch, and N. P. A. Huner. 2006. Adaptation and Acclimation of Photosynthetic Microorganisms to Permanently Cold Environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **70**: 222–252.
- Morris, A. W., A. J. Bale, and R. J. M. Howland. 1981. Nutrient distributions in an estuary: Evidence of chemical precipitation of dissolved silicate and phosphate. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **12**: 205–216.
- Morris, E. P., and J. C. Kromkamp. 2003. Influence of temperature on the relationship between oxygen- and fluorescence-based estimates of photosynthetic parameters in a marine benthic diatom (*Cylindrotheca closterium*). *European Journal of Phycology* **38**: 133–142.
- Morse, R. E., M. R. Mulholland, T. A. Egerton, and H. G. Marshall. 2014. Phytoplankton and nutrient dynamics in a tidally dominated eutrophic estuary: Daily variability and controls on bloom formation. *Marine Ecology Progress Series* **503**: 59–74.
- Mulholland, P. J., and J. A. Watts. 1982. Transport of organic carbon to the oceans by rivers of North America: a synthesis of existing data. *Tellus, Series A, Dynamic Meteorology and Oceanography* **34**: 176–186.
- Murrell, M. C., and E. M. Loes. 2004. Phytoplankton and zooplankton seasonal dynamics in a subtropical estuary: Importance of cyanobacteria. *Journal of Plankton Research* **26**: 371–382.
- Muylaert, K., K. Sabbe, and W. Vyverman. 2000a. Spatial and temporal patterns of phytoplankton communities in a freshwater tidal estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **50**: 673–687.
- Muylaert, K., K. Sabbe, and W. Vyverman. 2000b. Spatial and temporal dynamics of phytoplankton communities in a freshwater tidal estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **50**: 673–687.
- Muylaert, K., K. Sabbe, and W. Vyverman. 2009. Changes in phytoplankton diversity and community composition along the salinity gradient of the Schelde estuary (Belgium/The Netherlands). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **82**: 335–340.
- Napoléon, C., and P. Claquin. 2012. Multi-Parametric Relationships between PAM Measurements and Carbon Incorporation , an In Situ Approach. *PloS one* **7**: 1–12.
- Napoléon, C., L. Fiant, V. Raimbault, and P. Claquin. 2013a. Study of dynamics of phytoplankton and photosynthetic parameters using opportunity ships in the western English Channel. *Journal of Marine Systems* **128**: 146–158.

- Napoléon, C., L. Fiant, V. Raimbault, P. Riou, and P. Claquin. 2014. Dynamics of phytoplankton diversity structure and primary productivity in the english channel. *Marine Ecology Progress Series* **505**: 49–64.
- Napoléon, C., V. Raimbault, and P. Claquin. 2013b. Influence of Nutrient Stress on the Relationships between PAM Measurements and Carbon Incorporation in Four Phytoplankton Species. *PLoS ONE* **8**, doi:10.1371/journal.pone.0066423
- Napoleon, C., V. Raimbault, L. Fiant, P. Riou, S. Lefebvre, L. Lampert, and P. Claquin. 2012. Spatiotemporal dynamics of physicochemical and photosynthetic parameters in the central English Channel. *Journal of Sea Research* **69**: 43–52.
- Nelder, J. A., and R. Mead. 1965. A simplex method for function minimization. *The computer journal* **7**: 308–313.
- Nelson, D. M., P. Tréguer, M. A. Brzezinski, A. Leynaert, and B. Quéguiner. 1995. Production and dissolution of biogenic silica in the ocean: Revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation. *Global biogeochemical cycle* **9**: 359–372.
- Némery, J., and J. Garnier. 2007. Origin and fate of phosphorus in the Seine watershed (France): Agricultural and hydrographic P budgets. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* **112**: 1–14.
- Ning, X., J. E. Cloern, and B. E. Cole. 2000. Spatial and temporal variability of picocyanobacteria *Synechococcus* sp. in San Francisco Bay. *Limnology and Oceanography* **45**: 695–702.
- Ning, X., D. Vaultot, Z. Liu, and Z. Liu. 1988. Standing stock and production of phytoplankton in the estuary of the Chang-jiang (Yangste River) and the adjacent East China Sea . *Marine Ecology Progress Series* **49**: 141–150.
- Nixon, S. W. 1988. Physical energy inputs and the comparative ecology of lake and marine ecosystems. *Limnology and Oceanography* **33**: 1005–1025.
- Nixon, S. W. 1995. Coastal marine eutrophication: a definition, social causes, and future concerns. *Ophelia* **41**: 199–219.
- Nixon, S. W., and B. A. Buckley. 2002. “A strikingly rich zone”—Nutrient enrichment and secondary production in coastal marine ecosystems. *Estuaries* **4**: 782–796.
- Nogales, J., S. Gudmundsson, E. M. Knight, B. O. Palsson, and I. Thiele. 2011. Detailing the optimality of photosynthesis in cyanobacteria through systems biology analysis. *PNAS* **109**: 2678_2683.
- Not, F., R. Siano, and W. Kooistra. 2012. Diversity and Ecology of Eukaryotic Marine Phytoplankton, p. 1–53. *In* *Advances in Botanical Research, Genomic insights into the biology of algae*, vol.64.
- Olsen, S., and E. Paasche. 1986. (Bacillariophyceae) in response to changed chemical composition of the growth medium. *British Phycological Journal* **21**: 183–190.
- Olson, R. J., E. R. Zettler, and M. D. DuRand. 1993. Phytoplankton analysis using flow cytometry. *Handbook of methods in aquatic microbial ecology* 175–186.
- Orvain, F., M. De Crignis, K. Guizien, S. Lefebvre, C. Mallet, E. Takahashi, and C. Dupuy.

2014. Tidal and seasonal effects on the short-term temporal patterns of bacteria, microphytobenthos and exopolymers in natural intertidal biofilms (Brouage, France). *Journal of Sea Research*
- Orvain, F., R. Galois, C. Barnard, A. Sylvestre, G. Blanchard, and P.-G. Sauriau. 2003. Carbohydrate production in relation to microphytobenthic biofilm development: an integrated approach in a tidal mesocosm. *Microbial ecology* **45**: 237–251.
- Orvain, F., P. Le Hir, S. Israël, J. Morelle, G. Meynard, C. Rakotomalala, B. Thouvenin, S. Lesourd, O. Maire, M. Ferney-Paris, V. Méléder, B. Jesus, C. Dancie, B. Chouquet, F. Grasso, T. Lecarpentier, and P. Claquin. 2017. BARBES project: Biological Association in Relation with sediment transport : Development of a new model of Bioturbation caused by ecosystem Engineers in Seine estuary.
- Orvain, F., S. Lefebvre, J. Montepini, M. Sébire, A. Gangnery, and B. Sylvand. 2012. Spatial and temporal interaction between sediment and microphytobenthos in a temperate estuarine macro-intertidal bay. *Marine Ecology Progress Series* **458**: 53–68.
- Österblom, H., S. Hansson, U. Larsson, O. Hjerne, F. Wulff, R. Elmgren, and C. Folke. 2007. Human-induced trophic cascades and ecological regime shifts in the Baltic Sea. *Ecosystems (New York. Print)* **10**: 877–889.
- Oviatt, C. A., K. J. W. Hyde, A. A. Keller, and J. T. Turner. 2007. Production patterns in Massachusetts Bay with outfall relocation. *Estuaries and Coasts* **30**: 35–46.
- Oxborough, K., C. M. Moore, D. J. Suggett, T. Lawson, H. G. Chan, and R. J. Geider. 2012. Direct estimation of functional PSII reaction center concentration and PSII electron flux on a volume basis: a new approach to the analysis of Fast Repetition Rate fluorometry (FRRf) data. *Limnology and Oceanography: Methods* **10**: 142–154.
- Palmer, J. D., and F. E. Round. 1965. Persistent, vertical-migration rhythms in benthic microflora. I. The effect of light and temperature on the rhythmic behavior of *Euglena obtusa*. *Journ. mar. bio. ass.* **45**: 567–582.
- Pan, L. A., J. Zhang, and L. H. Zhang. 2007. Picophytoplankton, nanophytoplankton, heterotrophic bacteria and viruses in the Changjiang Estuary and adjacent coastal waters. *Journal of Plankton Research* **29**: 187–197.
- Pan, L. A., L. H. Zhang, J. Zhang, J. M. Gasol, and M. Chao. 2005. On-board flow cytometric observation of picoplankton community structure in the East China Sea during the fall of different years. *FEMS Microbiology Ecology* **52**: 243–253.
- Pannard, A., P. Claquin, C. Klein, B. Le Roy, and B. Véron. 2008. Short-term variability of the phytoplankton community in coastal ecosystem in response to physical and chemical conditions' changes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **80**: 212–224.
- Parizzi, R. A., E. Da, C. Machado, C. Prestes, D. Santos, L. F. Fernandes, M. G. De Camargo, L. Laureno, and M. Jr. 2016. Primary productivity and phytoplankton dynamics in a subtropical estuary : a multiple timescale approach. *Scientia Marina* **80**: 1–13.
- Parkhill, J. P., G. Maillet, and J. J. Cullen. 2001. Fluorescence-based maximal quantum yield for PSII as a diagnostic of nutrient stress. *Journal of Phycology* **37**: 517–529.
- Partensky, F., J. Blanchot, and D. Vaultot. 1999. Differential distribution and ecology of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* in oceanic waters : a review. *Bulletin de l'Institut océanographique* **19**: 457–475.

- Passow, U. 2002. Transparent exopolymer particles (TEP) in aquatic environments. *Progress in Oceanography* **55**: 287–333.
- Passow, U., and A. L. Alldredge. 1994. Distribution, size and bacterial colonization of transparent exopolymer particles (TEP) in the ocean. *Marine Ecology Progress Series* **185**–198.
- Passow, U., and A. L. Alldredge. 1995. A dye-binding assay for the spectrophotometric measurement of transparent exopolymer particles (TEP). *Limnology and Oceanography* **40**: 1326–1335.
- Passow, U., R. F. Shipe, A. Murray, D. K. Pak, M. A. Brzezinski, and A. L. Alldredge. 2001. The origin of transparent exopolymer particles (TEP) and their role in the sedimentation of particulate matter. *Continental Shelf Research* **21**: 327–346.
- Passy, P., R. Le Gendre, J. Garnier, P. Cugier, J. Callens, F. Paris, G. Billen, P. Riou, and E. Romero. 2016. Eutrophication modelling chain for improved management strategies to prevent algal blooms in the Bay of Seine. *Marine Ecology Progress Series* **543**: 107–125.
- Paterson, D. M., T. J. Tolhurst, J. a. Kelly, C. Honeywill, E. M. G. T. De Deckere, V. Huet, S. a. Shayler, K. S. Black, J. De Brouwer, and I. Davidson. 2000. Variations in sediment properties, Skeffling mudflat, Humber Estuary, UK. *Continental Shelf Research* **20**: 1373–1396.
- Paterson, D. M., K. H. Wiltshire, A. Miles, J. Blackburn, I. Davidson, M. G. Yates, S. Mcgrorty, and J. A. Eastwood. 1998. Microbiological mediation of spectral reflectance from intertidal cohesive sediments. *Limnology and Oceanography* **43**: 1207–1221.
- Pauly, D., and V. Christensen. 1995. Primary production required to sustain global fisheries. *374*: 255–257.
- Pedrotti, M. L., F. Peters, S. Beauvais, M. Vidal, J. Egge, A. Jacobsen, and C. Marrasé. 2010. Effects of nutrients and turbulence on the production of transparent exopolymer particles: A mesocosm study. *Marine Ecology Progress Series* **419**: 57–69.
- Pei, S., and E. A. Laws. 2013. Does the ¹⁴C method estimate net photosynthesis? Implications from batch and continuous culture studies of marine phytoplankton. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* **82**: 1–9.
- Peierls, B. L., N. S. Hall, and H. W. Paerl. 2012. Non-monotonic responses of phytoplankton biomass accumulation to hydrologic variability: a comparison of two coastal plain North Carolina estuaries. *Estuaries and coasts* **35**: 1376–1392.
- Penna, a, S. Berluti, N. Penna, and M. Magnani. 1999. Influence of nutrient ratios on the extracellular polysaccharide production by marine diatoms from the Adriatic Sea. *Journal Of Plankton Research* **21**: 1681–1690.
- Pennock, J., and J. Sharp. 1986. Phytoplankton production in the Delaware Estuary: temporal and spatial variability . *Marine Ecology Progress Series* **34**: 143–155.
- Perkins, R. G., C. Honeywill, M. Consalvey, H. A. Austin, T. J. Tolhurst, and D. M. Paterson. 2003. Changes in microphytobenthic chlorophyll a and EPS resulting from sediment compaction due to de-watering: opposing patterns in concentration and content. *Continental Shelf Research* **23**: 575–586.
- Perkins, R. G., J. C. Kromkamp, J. Serôdio, J. Lavaud, B. Jesus, J.-L. Mouget, S. Lefebvre, and

- R. M. Forster. 2011. The application of variable chlorophyll fluorescence to microphytobenthic biofilms, *In* Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences: Methods and Applications.
- Perkins, R. G., G. J. C. Underwood, V. Brotas, G. C. Snow, B. Jesus, and L. Ribeiro. 2001. Responses of microphytobenthos to light: Primary production and carbohydrate allocation over an emersion period. *Marine Ecology Progress Series* **223**: 101–112.
- Pernthaler, J., and R. I. Amann. 2005. Fate of heterotrophic microbes in pelagic habitats: focus on populations. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **69**: 440–461.
- Pierre, G., M. Graber, B. A. Rafiliposon, C. Dupuy, F. Orvain, M. de Crignis, and T. Maugard. 2012. Biochemical Composition and Changes of Extracellular Polysaccharides (ECPS) Produced during Microphytobenthic Biofilm Development (Marennes-Oléron, France). *Microbial Ecology* **63**: 157–169.
- Pinckney, J., and R. Zingmark. 1991. Effects of tidal stage and sun angles on intertidal benthic microalgal productivity. *Marine Ecology Progress Series* **76**: 81–89.
- Pinckney, J., and R. G. Zingmark. 1993a. Modeling the Annual Production of Intertidal Benthic Microalgae in Estuarine Ecosystems. *Journal of Phycology* **29**: 396–407.
- Pinckney, J., and R. G. Zingmark. 1993b. Biomass and Production of Benthic Microalgal Communities in Estuarine Habitats. *Estuaries* **16**: 887.
- Platt, T., S. Sathyendranath, M. H. Forget, G. N. White, C. Caverhill, H. Bouman, E. Devred, and S. Son. 2008. Operational estimation of primary production at large geographical scales. *Remote Sensing of Environment* **112**: 3437–3448.
- Ploug, H., C. Lassen, and B. B. Jørgensen. 1993. Action spectra of microalgal photosynthesis and depth distribution of spectral scalar irradiance in a coastal marine sediment of Limfjorden, Denmark. *FEMS Microbiology Ecology* **11**: 261–270.
- Van De Poll, W. H., P. J. Janknegt, M. A. Van Leeuwe, R. J. W. Visser, and A. G. J. Buma. 2009. Excessive irradiance and antioxidant responses of an Antarctic marine diatom exposed to iron limitation and to dynamic irradiance. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology* **94**: 32–37.
- Porter, E. M., W. D. Bowman, C. M. Clark, J. E. Compton, L. H. Pardo, and J. L. Soong. 2013. Interactive effects of anthropogenic nitrogen enrichment and climate change on terrestrial and aquatic biodiversity. *Biogeochemistry* **114**: 93–120.
- Prézelin, B. B. 1992. Diel periodicity in phytoplankton productivity. *Hydrobiologia* **238**: 1–35.
- Radić, T., R. Kraus, D. Fuks, J. Radić, and O. Pečar. 2005. Transparent exopolymeric particles' distribution in the northern Adriatic and their relation to microphytoplankton biomass and composition. *Science of the Total Environment* **353**: 151–161.
- Ramaiah, N., T. Yoshikawa, and K. Furuya. 2001. Temporal variations in transparent exopolymer particles (TEP) associated with a diatom spring bloom in a subarctic ria in Japan. *Marine Ecology Progress Series* **212**: 79–88.
- Raven, J. A. 1998. The twelfth Tansley Lecture. Small is beautiful: The picophytoplankton. *Functional Ecology* **12**: 503–513.
- Raven, J. A., and R. J. Geider. 2003. Adaptation, Acclimation and Regulation in Algal Photosynthesis, p. 385–412. *In* A.W.D. Larkum, S.E. Douglas, and J.A. Raven [eds.],

- Photosynthesis in algae. Springer Netherlands.
- Raven, J., and R. J. Geider. 1988. Temperature and algal growth. *New Phytologist* **110**: 441–461.
- Raven, P. H., R. F. Evert, and S. E. Eichhorn. 2007. *Biologia vegetal*, In *Biologia vegetal*. Guanabara.
- Ray, R. T., L. W. Haas, and M. E. Sieracki. 1989. Autotrophic picoplankton dynamics in a Chesapeake Bay sub-estuary. *Marine Ecology Progress Series* **52**: 273–285.
- Reynolds, C. S. 2012. Environmental requirements and habitat preferences of phytoplankton: Chance and certainty in species selection. *Botanica Marina* **55**: 1–17.
- Ribalet, F., A. Marchetti, K. A. Hubbard, K. Brown, C. A. Durkin, R. Morales, M. Robert, J. E. Swallow, P. D. Tortell, and E. V. Armbrust. 2010. Unveiling a phytoplankton hotspot at a narrow boundary between coastal and offshore waters. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**: 16571–16576.
- Rowan, K. S. 1989. Photosynthetic pigments of algae, CUP Archive.
- Samuelsson, G., and G. Oquist. 1977. A Method for Studying Photosynthetic Capacities of Unicellular Algae Based on in vivo Chlorophyll Fluorescence. *Physiologia Plantarum* **40**: 315–319.
- Sanford, L. P., S. E. Suttles, and J. P. Halka. 2001. Reconsidering the Physics of the Chesapeake Bay Estuarine Turbidity Maximum. *Estuaries* **24**: 655.
- Santos, P., J. Castel, and L. Souzasantos. 1997. Spatial distribution and dynamics of microphytobenthos biomass in the Gironde estuary (France). *Oceanologica Acta* **20**: 549–556.
- Sarma, V., S. N. M. Gupta, P. V. R. Babu, T. Acharya, N. Harikrishnachari, K. Vishnuvardhan, N. S. Rao, N. P. C. Reddy, V. V. Sarma, and Y. Sadhuram. 2009. Influence of river discharge on plankton metabolic rates in the tropical monsoon driven Godavari estuary, India. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **85**: 515–524.
- Sarthou, G., K. R. Timmermans, S. Blain, and P. Tréguer. 2005. Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: a review. *Journal of sea* **53**: 25–42.
- Schapira, M., M.-J. Buscot, T. Pollet, S. C. Leterme, and L. Seuront. 2010. Distribution of picophytoplankton communities from brackish to hypersaline waters in a South Australian coastal lagoon. *Saline systems* **6**: 2.
- Schapira, M., M. J. Buscot, S. C. Leterme, T. Pollet, C. Chaperon, and L. Seuront. 2009. Distribution of heterotrophic bacteria and virus-like particles along a salinity gradient in a hypersaline coastal lagoon. *Aquatic Microbial Ecology* **54**: 171–183.
- Schlesinger, W. H., and J. M. Melack. 1981. Transport of organic carbon in the world's rivers. *Tellus A* 172–187.
- Schreiber, U., C. Klughammer, and J. Kolbowski. 2011. High-end chlorophyll fluorescence analysis with the MULTI-COLOR-PAM . I. Various light qualities and their applications . 1–21.
- Schreiber, U., C. Klughammer, and J. Kolbowski. 2012. Assessment of wavelength-dependent parameters of photosynthetic electron transport with a new type of multi-color PAM

- chlorophyll fluorometer. *Photosynthesis research* **113**: 127–44.
- Schreiber, U., U. Schliwa, and W. Bilger. 1986. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynthesis research* **10**: 51–62.
- Schuback, N., C. J. M. Hoppe, J.-É. Tremblay, M. T. Maldonado, and P. D. Tortell. 2017. Primary productivity and the coupling of photosynthetic electron transport and carbon fixation in the Arctic Ocean. *Limnology and Oceanography* 898–921.
- Schuback, N., C. Schallenberg, C. Duckham, M. T. Maldonado, and P. D. Tortell. 2015. Interacting Effects of Light and Iron Availability on the Coupling of Photosynthetic Electron Transport and CO₂-Assimilation in Marine Phytoplankton. *Plos One* **10**: e0133235.
- Schubert, W. D., O. Klukas, W. Saenger, H. T. Witt, P. Fromme, and N. Krauss. 1998. A common ancestor for oxygenic and anoxygenic photosynthetic systems: a comparison based on the structural model of photosystem I. *Journal of molecular biology* **280**: 297–314.
- Serôdio, J. 2003. A chlorophyll fluorescence index to estimate short-term rates of photosynthesis by intertidal microphytobenthos. *Journal of Phycology* **39**: 33–46.
- Serôdio, J. 2004. Analysis of variable chlorophyll fluorescence in microphytobenthos assemblages: Implications of the use of depth-integrated measurements. *Aquatic Microbial Ecology* **36**: 137–152.
- Serôdio, J., and F. Catarino. 1999. Fortnightly light and temperature variability in estuarine intertidal sediments and implications for microphytobenthos primary productivity. *Aquatic Ecology* **33**: 235–241.
- Serôdio, J., and F. Catarino. 2000. Modelling the primary productivity of intertidal microphytobenthos: time scales of variability and effects of migratory rhythms. *Marine Ecology Progress Series* **192**: 13–30.
- Serôdio, J., J. Ezequiel, A. Barnett, J. L. Mouget, V. Meléder, M. Laviale, and J. Lavaud. 2012. Efficiency of photoprotection in microphytobenthos: Role of vertical migration and the xanthophyll cycle against photoinhibition. *Aquatic Microbial Ecology* **67**: 161–175.
- Serôdio, J., and J. Lavaud. 2011. A model for describing the light response of the nonphotochemical quenching of chlorophyll fluorescence. *Photosynthesis Research* **108**: 61–76.
- Serôdio, J., J. M. Da Silva, and F. Catarino. 1997. Nondestructive tracing of migratory rhythms of intertidal benthic microalgae using in vivo chlorophyll a fluorescence. *Journal of Phycology* **33**: 542–553.
- Serôdio, J., S. Vieira, and F. Barroso. 2007. Relationship of variable chlorophyll fluorescence indices to photosynthetic rates in microphytobenthos. *Aquatic Microbial Ecology* **49**: 71–85.
- Servais, P., and J. Garnier. 2006. Organic carbon and bacterial heterotrophic activity in the maximum turbidity zone of the Seine estuary (France). *Aquatic Sciences* **68**: 78–85.
- Sferratore, A., J. Garnier, G. Billen, D. J. Conley, and S. Pinault. 2006. Diffuse and point sources of silica in the Seine River Watershed. *Environmental Science and Technology*

- 40**: 6630–6635.
- Shaffer, G. P., and C. P. Onuf. 1985. Reducing the error in estimating annual production of benthic microflora: Hourly to monthly rates, patchiness in space and time. *Marine Ecology Progress Series* **26**: 221–231.
- Sharp, J. H., C. H. Culberson, and T. M. Church. 1982. The chemistry of the Delaware estuary. General considerations. *Limnology and Oceanography* **27**: 1015–1028.
- Shaw, P. J., and D. A. Purdie. 2001. Phytoplankton photosynthesis-irradiance parameters in the near-shore UK coastal waters of the North Sea: Temporal variation and environmental control. *Marine Ecology Progress Series* **216**: 83–94.
- Shelly, K., P. Heraud, J. Beardall, and E. T. Al. 2003. note interactive effects of PAR and uv-b radiation on PSII electron transport in the marine alga *dunaliella tertiolecta* (chlorophyceae) To better understand the interactions between PAR and UV-B radiation in microalgae. *Journal of Phycology* **512**: 509–512.
- Shniukova, E. I., and E. K. Zolotareva. 2015. Diatom Exopolysaccharides: a Review. *International Journal on Algae* **17**: 50–67.
- Silsbe, G. M., K. Oxborough, D. J. Suggett, R. M. Forster, S. Ihnken, O. Komárek, E. Lawrenz, O. Prášil, R. Röttgers, M. Šicner, S. G. H. Simis, M. A. Van Dijk, and J. C. Kromkamp. 2015. Toward autonomous measurements of photosynthetic electron transport rates: An evaluation of active fluorescence-based measurements of photochemistry. *Limnology and Oceanography: Methods* **13**: 138–155.
- Sinclair, M., D. V. S. Rao, and R. Couture. 1981. Phytoplankton temporal distributions in estuaries. *Oceanologica Acta* **4**: 239–246.
- Smith, E. M., and W. M. Kemp. 1995. Seasonal and regional variations in plankton community production and respiration for Chesapeake Bay. *Marine Ecology Progress Series* **116**: 217–232.
- Smith, R. C., and C. D. Mobley. 2008. Underwater Light, p. 131–138. *In* L.O. Björn [ed.], *Photobiology: The Science of Life and Light*. Springer New York.
- Smith, S. V, and J. T. Hollibaugh. 1997. Annual cycle and interannual variability of ecosystem metabolism in a temperate climate embayment. *Ecological monographs* **67**: 509–533.
- Sommer, U., and F. Sommer. 2006. Cladocerans versus copepods: The cause of contrasting top-down controls on freshwater and marine phytoplankton. *Oecologia* **147**: 183–194.
- Sommer, U., and H. Stibor. 2002. Copepoda - Cladocera - Tunicata: The role of three major mesozooplankton groups in pelagic food webs. *Ecological Research* **17**: 161–174.
- Sorokin, Y. I., and P. Y. Sorokin. 1996. Plankton and primary production in the Lena River estuary and in the south-eastern Laptev Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **43**: 399–418.
- Souissi, S. 2017. ZOOGLOBAL project : Etude du ZOOplancton et de ses habitats estuariens dans un contexte de changement GLOBAL.
- De Sousa, E. C. P. M., L. R. Tommasi, and C. J. David. 1998. Microphytobenthic primary production, biomass, nutrients and pollutants of Santos Estuary (24degreeS, 46degree20'W). Sao Paulo, Brazil. **41**: 27–36.

- van Spaendonk, J. C. M., J. C. Kromkamp, and P. R. M. de Visscher. 1993. Primary production of phytoplankton in a turbid coastal plain estuary, the Westerschelde (The Netherlands). *Netherlands Journal of Sea Research* **31**: 267–279.
- Spilmont, N., D. Davoult, and A. Migné. 2006. Benthic primary production during emersion: In situ measurements and potential primary production in the Seine Estuary (English Channel, France). *Marine Pollution Bulletin*, doi:10.1016/j.marpolbul.2005.09.016
- Staats, N., L. J. Stal, and L. R. Mur. 2000. Exopolysaccharide production by the epipellic diatom *Cylindrotheca closterium*: Effects of nutrient conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **249**: 13–27.
- Statham, P. J. 2012. Nutrients in estuaries - An overview and the potential impacts of climate change. *Science of the Total Environment* **434**: 213–227.
- Steeman-Nielsen, E. 1952. The use of radioactive carbon (C14) for measuring organic production in the sea. *J. Conseil, Conseil Perm. Intern. Exploration Mer.* **18**: 117-140.. 1965. On the determination of the activity in 14C-ampoules for measuring primary production. *Limnol. Oceanog.* **10** (suppl.): R247 **252**.
- Suggett, D. J., H. L. MacIntyre, and R. J. Geider. 2004. Evaluation of biophysical and optical determinations of light absorption by photosystem II in phytoplankton. *Limnology and Oceanography: Methods* **2**: 316–332.
- Sun, C., Y. Wang, Q. P. Li, W. Yue, Y. Wang, F. Sun, and Y. Peng. 2012. Distribution characteristics of transparent exopolymer particles in the Pearl River estuary, China. **117**: 1–12.
- Sutherland, T. F., J. Grant, and C. L. Amos. 1998. The effect of carbohydrate production by the diatom *Nitzschia curvilineata* on the erodibility of sediment. *Limnology and Oceanography* **43**: 65–72.
- Suttle, C. a., A. M. Chan, and M. T. Cottrell. 1990. Infection of phytoplankton by viruses and reduction of primary productivity. *Nature* **347**: 467–469.
- Sverdrup, H. U. 1952. On conditions for the Vernal Blooming of Phytoplankton. *Journal du Conseil International pour l'Exploration de la Mer* **18**: 287–295.
- Takahashi, E., J. Ledauphin, D. Goux, and F. Orvain. 2009. Optimising extraction of extracellular polymeric substances (EPS) from benthic diatoms: comparison of the efficiency of six EPS extraction methods. *Marine and Freshwater Research* **60**: 1201–1210.
- Tan, S.-C., and G.-Y. Shi. 2009. Spatiotemporal variability of satellite-derived primary production in the South China Sea, 1998–2006. *Journal of Geophysical Research* **114**: G03015.
- Taylor, W. R. 1964. Light and photosynthesis in intertidal benthic diatoms. *Helgolander Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* **10**: 29–37.
- Thompson, P. 2006. Effects of temperature and irradiance on marine microalgal growth and physiology, p. 571–638. *In* *Algal cultures, analogues of blooms and applications*.
- Thompson, P. a. 1998. Spatial and Temporal Patterns of Factors Influencing Phytoplankton in a Salt Wedge Estuary, the Swan River, Western Australia. *Estuaries* **21**: 801.
- Thorel, M., J. Fauchot, J. Morelle, V. Raimbault, B. Le Roy, C. Miossec, V. Kientz-Bouchart,

- and P. Claquin. 2014. Interactive effects of irradiance and temperature on growth and domoic acid production of the toxic diatom *Pseudo-nitzschia australis* (Bacillariophyceae). *Harmful Algae* **39**: 232–241.
- Thornton, D. 2002. Diatom aggregation in the sea: mechanisms and ecological implications. *European Journal of Phycology* **37**: 149–161.
- Thrush, S. F., J. E. Hewitt, and A. M. Lohrer. 2012. Interaction networks in coastal soft-sediments highlight the potential for change in ecological resilience. *Ecological Applications* **22**: 1213–1223.
- Thrush, S. F., J. E. Hewitt, A. M. Lohrer, and L. D. Chiaroni. 2013. When small changes matter: the role of cross-scale interactions between habitat and ecological connectivity in recovery. *Ecological Applications* **23**: 226–238.
- Thyssen, M., B. Beker, D. Ediger, D. Yilmaz, N. Garcia, and M. Denis. 2011. Phytoplankton distribution during two contrasted summers in a Mediterranean harbour: Combining automated submersible flow cytometry with conventional techniques. *Environmental Monitoring and Assessment* **173**: 1–16.
- Tillmann, U., K.-J. Hesse, and F. Colijn. 2000. Planktonic primary production in the German Wadden Sea. *Journal of Plankton Research* **22**: 1253–1276.
- Tilman, D., J. Knops, D. Wedin, P. Reich, M. Ritchie, and E. Siemann. 1997. The influence of functional diversity and composition on ecosystem processes. *Science* **277**: 1300–1302.
- Tolhurst, T. J., M. Consalvey, and D. M. Paterson. 2008. Changes in cohesive sediment properties associated with the growth of a diatom biofilm. *Hydrobiologia* **596**: 225–239.
- Tolhurst, T. J., E. C. Defew, J. F. C. De Brouwer, K. Wolfstein, L. J. Stal, and D. M. Paterson. 2006. Small-scale temporal and spatial variability in the erosion threshold and properties of cohesive intertidal sediments. *Continental Shelf Research* **26**: 351–362.
- Tolhurst, T. J., B. Jesus, V. Brotas, and D. M. Paterson. 2003. Diatom migration and sediment armouring? an example from the Tagus Estuary, Portugal. *Hydrobiologia* **503**: 183–193.
- Trigueros, J. M., and E. Orive. 2000. Tidally driven distribution of phytoplankton blooms in a shallow, macrotidal estuary. *Journal of Plankton Research* **22**: 969–986.
- Ubertini, M., S. Lefebvre, A. Gangnery, K. Grangeré, R. Le Gendre, and F. Orvain. 2012. Spatial variability of benthic-pelagic coupling in an estuary ecosystem: consequences for microphytobenthos resuspension phenomenon. *PloS one* **7**: e44155.
- Ubertini, M., S. Lefebvre, C. Rakotomalala, and F. Orvain. 2015. Impact of sediment grain-size and biofilm age on epipellic microphytobenthos resuspension. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **467**: 52–64.
- Uncles, R. J., and J. A. Stephens. 1993. The freshwater-saltwater interface and its relationship to the turbidity maximum in the Tamar Estuary, United Kingdom. *Estuaries* **16**: 126–141.
- Underwood, G. J. C., M. Boulcott, C. A. Raines, and K. Waldron. 2004. environmental effects on exopolymer production by marine benthic diatoms: dynamics, changes in composition, and pathways of production. *Journal of Phycology* **40**: 293–304.
- Underwood, G. J. C., and J. Kromkamp. 1999. Primary Production by Phytoplankton and Microphytobenthos in Estuaries. *Advances in Ecological Research* **29**: 93–153.

- Underwood, G. J. C., C. Nilsson, K. Sundbäck, and A. Wulff. 1999. Short-Term Effects of Uvb Radiation on Chlorophyll Fluorescence, Biomass, Pigments, and Carbohydrate Fractions in a Benthic Diatom Mat 1. *J. Phycol* **35**: 656–666.
- Underwood, G. J. C., D. M. Paterson, and R. J. Parkes. 1995. The measurement of microbial carbohydrate exopolymers from intertidal sediments. *Limnol. Oceanogr* **40**: 1243–1253.
- Underwood, G. J. C., and D. J. Smith. 1998. Predicting Epipellic Diatom Exopolymer Concentrations in Intertidal Sediments from Sediment Chlorophyll a. *Microbial Ecology* **35**: 116–125.
- Underwood, G., J. Phillips, and K. Saunders. 1998. Distribution of estuarine benthic diatom species along salinity and nutrient gradients. *European Journal of Phycology* **33**: 173–183.
- Urbani, R., E. Magaletti, P. Sist, and A. M. Cicero. 2005. Extracellular carbohydrates released by the marine diatoms *Cylindrotheca closterium*, *Thalassiosira pseudonana* and *Skeletonema costatum*: Effect of P-depletion and growth status. *Science of the Total Environment* **353**: 300–306.
- Vaulot, D., C. Courties, and F. Partensky. 1989. A simple method to preserve oceanic phytoplankton for flow cytometric analyses. *Cytometry* **10**: 629–635.
- Vaulot, D., W. Eikrem, M. Viprey, and H. Moreau. 2008. The diversity of small eukaryotic phytoplankton ($\leq 3 \mu\text{m}$) in marine ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews* **32**: 795–820.
- Vegter, F. 1977. The closure of the grenvelingen estuary: its influence on phytoplankton primary production and nutrient content. *Hydro* **52**: 67–71.
- Verney, R., R. Lafite, and J. C. Brun-Cottan. 2009. Flocculation potential of estuarine particles: The importance of environmental factors and of the spatial and seasonal variability of suspended particulate matter. *Estuaries and Coasts* **32**: 678–693.
- Videau, C., M. Ryckaert, and S. Helguen. 1998. Phytoplankton en Baie de Seine. Influence du panache fluvial sur la production primaire. *Oceanologica Acta* **21**: 907–921.
- Vieira, S., L. Ribeiro, B. Jesus, P. Cartaxana, and J. M. Da Silva. 2013. Photosynthesis assessment in microphytobenthos using conventional and imaging pulse amplitude modulation fluorometry. *Photochemistry and Photobiology* **89**: 97–102.
- Vigil, P., P. D. Countway, J. Rose, D. J. Lonsdale, C. J. Gobler, and D. A. Caron. 2009. Rapid shifts in dominant taxa among microbial eukaryotes in estuarine ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology* **54**: 83–100.
- Viles, H., and T. Spencer. 1995. *Coastal Problems: Geomorphology, Ecology and Society at the coast*, Edward Arn.
- Villacorte, L. O., Y. Ekowati, H. N. Calix-Ponce, J. C. Schippers, G. L. Amy, and M. D. Kennedy. 2015. Improved method for measuring transparent exopolymer particles (TEP) and their precursors infresh and saline water. *Water Research* **70**: 300–312.
- Vincent, W. F., P. J. Neale, and P. J. Richerson. 1984. Photoinhibition: algae responses to bright light during diel\stratification and mixing in a tropical alpine lake. *J. Phycol.* **20**: 201–211.
- Wang, K., K. E. Wommack, and F. Chen. 2011. Abundance and distribution of *Synechococcus* spp. and cyanophages in the Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology* **77**: 7459–7468.

- Wang, Z. B., M. C. J. L. Jeuken, H. Gerritsen, H. J. De Vriend, and B. A. Kornman. 2002. Morphology and asymmetry of the vertical tide in the Westerschelde estuary. *Continental Shelf Research* **22**: 2599–2609.
- Webb, W. L., M. Newton, and D. Starr. 1974. Carbon dioxide exchange of *Alnus rubra*. *Oecologia* **17**: 281–291.
- Weerman, E. J., P. M. J. Herman, and J. Van De Koppel. 2011. Macrobenthos abundance and distribution on a spatially patterned intertidal flat. *Marine Ecology Progress Series* **440**: 95–103.
- Weerman, E. J., J. van de Koppel, M. B. Eppinga, F. Montserrat, Q. Liu, and P. M. J. Herman. 2010. Spatial Self- Organization on Intertidal Mudflats through Biophysical Stress Divergence. *The American Naturalist* **176**: E15–E32.
- Weis, E., and J. A. Berry. 1987. Quantum efficiency of Photosystem {II} in relation to “energy”-dependent quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **894**: 198–208.
- Welschmeyer, N. A. 1994. Fluorometric analysis of chlorophyll a in the presence of chlorophyll b and pheopigments. *Limnology and Oceanography* **39**: 1985–1992.
- Wetz, M. S., M. C. Robbins, and H. W. Paerl. 2009. Transparent exopolymer particles (TEP) in a river-dominated estuary: Spatial-temporal distributions and an assessment of controls upon TEP formation. *Estuaries and Coasts* **32**: 447–455.
- Williams, P. J. B., C. Robinson, M. Sndergaard, T. L. Bentley, D. Lefevre, and K. Richardson. 1996. observations with the diatom *Skeletonema costatum*. *Journal of Plankton Research* **18**: 1961–1974.
- Wiltshire, K. H., J. Blackburn, and D. M. Paterson. 1997. The cryolander: a new method for fine-scale in situ sampling of intertidal surface sediments. *Journal of Sedimentary Research* **67**.
- Winder, M., J. Carstensen, A. W. E. Galloway, H. H. Jakobsen, and J. E. Cloern. 2017. The land-sea interface: A source of high-quality phytoplankton to support secondary production. *Limnology and Oceanography* , doi:10.1002/lno.10650
- Wolanski, E., L. Boorman, L. Chicharo, E. Langlois-Saliou, R. Lara, A. Plater, R. Uncles, and M. Zalewski. 2004. Ecohydrology as a new tool for sustainable management of estuaries and coastal waters. *Wetlands ecol. manag.* **12**: 235–276.
- Wolanski, E., and M. Elliot. 2015. *Estuarine Ecohydrology*, Elsevier.
- Wolfstein, K., J. F. C. De Brouwer, and L. J. Stal. 2002. Biochemical partitioning of photosynthetically fixed carbon by benthic diatoms during short-term incubations at different irradiances. *Marine Ecology Progress Series* **245**: 21–31.
- Wollast, R., and J. J. Peters. 1978. Biogeochemical properties of an estuarine system: the River Scheldt. *Unesco* 279–293.
- Worden, A. Z., J. K. Nolan, and B. Palenik. 2004. Assessing the dynamics and ecology of marine picophytoplankton: The importance of the eukaryotic component. *Limnology and Oceanography* **49**: 168–179.
- Wotton, R. S. 2004. The essential role of exopolymers (EPS) in aquatic systems. *Oceanography*

- and marine biology: an annual review **42**: 57–94.
- Wu, H., S. Roy, M. Alami, B. R. Green, and D. A. Campbell. 2012. Photosystem II Photoinactivation, Repair, and Protection in Marine Centric Diatoms. *Plant Physiology* **160**: 464–476.
- Wurl, O., and M. Holmes. 2008. The gelatinous nature of the sea-surface microlayer. *Marine Chemistry* **110**: 89–97.
- Yamaguchi, Y., H. Satoh, and Y. Aruga. 1991. Seasonal-Changes of Organic-Carbon and Nitrogen-Production by Phytoplankton in the Estuary of River Tamagawa. *Marine Pollution Bulletin* **23**: 723–725.
- Young, E. B., and J. Beardall. 2003. Photosynthetic function in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyta) during a nitrogen starvation and recovery cycle. *Journal of Phycology* **39**: 897–905.
- Zapata, M., J. L. Garrido, and S. W. Jeffrey. 2006. Chlorophyll c Pigments: Current Status, p. 39–53. *In* B. Grimm, R.J. Porra, W. Rüdiger, and H. Scheer [eds.], *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Biochemistry, Biophysics, Functions and Applications*. Springer Netherlands.
- Zhu, Y., J. Ishizaka, S. C. Tripathy, S. Wang, Y. Mino, T. Matsuno, and D. J. Suggett. 2016. Variation of the photosynthetic electron transfer rate and electron requirement for daily net carbon fixation in Ariake Bay, Japan. *Journal of Oceanography* **72**: 761–776.
- Zinger, L., A. Gobet, and T. Pommier. 2012. Two decades of describing the unseen majority of aquatic microbial diversity. *Molecular Ecology* **21**: 1878–1896.

Liste des figures

Figure 1. Représentation schématique de la section transversale d'une membrane photosynthétique (i.e. thylakoïde) montrant l'orientation et certains des principaux composants de l'appareil photosynthétique. Le transport des électrons (e^-) est indiqué par des flèches rouges et le transport des protons (H^+) par les flèches violettes. Les électrons, extraits de l'eau dans le photosystème II (PSII), sont transférés au cytochrome b_6/f (Cyt b_6/F) et de là, via la plastocyanine (PC) au photosystème I (PSI), où ils sont utilisés pour réduire NADP en NADPH. **Abréviation :** LHC, antenne collectrice de la lumière (flèches jaunes) ; RCII : centre réactionnel de la molécule de chlorophylle a du PSII (P680) et du PSI (P700) ; Pheo, une molécule de phéophytine a ; Q_A et Q_B , des quinones liées ; PQ, des plastoquinones libres ; F_d , ferrédoxine ; FNR, ferrédoxine/NADP réductase ; P_i , phosphore inorganique. 19

Figure 2. Arbre phylogénétique représentant la distribution des taxa de microalgues au sein des lignées eucaryotes. Illustrations : (a) Chlorophyceae, (b) Pseudoscurfieldia sp, (c) Porphyridium cruentum, (d) Gymnochlora dimorpha, (e) Dinoflagellés, (f) Odontella sp, (g) Bolidomonas pacifica, (h) Dictyocha sp, (i) Aureococcus anophagefferens, (j) Heterosigma akashiwa, (k) Pinguiochrysis pyriformis, (l) Ochromonas sp, (m) Nannochloropsis salina, (n) Calcidiscus sp, (o) Cryptomonas sp, (p) Euglenoides. Le symbole « ? » indique que l'arbre n'est pas enraciné (d'après Not *et al.* 2012)..... 20

Figure 3. La productivité primaire est le produit de la biomasse des cellules photosynthétiques (régulée notamment par son import et son export, sa mortalité par broutage ou sénescence, sa sédimentation en profondeur ou la disponibilité des nutriments) par le taux de croissance de ces cellules (régulé par la lumière, la température et les concentrations en sels nutritifs de l'environnement). D'après Cloern *et al.* (2014). 21

Figure 4. Modèle résumant les transferts d'énergie au niveau du PSII. La lumière incidente (E) est absorbée par les antennes collectrices (LHC) d'une chlorophylle avec une section d'absorption (σ_{PSII}) et va migrer par résonnance en excitant les molécules de cette chlorophylle (Chl^*) jusqu'à un centre réactionnel (RC). Si le centre réactionnel est ouvert (A), P_{680} va être oxydée (P_{680}^+) et le premier accepteur d'électron (Q_A) sera réduit (Q_A^-). Sous ces conditions, la fluorescence est minimale (F_0). Si au moment où le photon est absorbé, Q_A est réduit [i.e. le RC est fermé (B)], l'énergie absorbée peut être renvoyée sous forme de fluorescence, augmentant la fluorescence jusqu'à un niveau maximal (F_M). La valeur de fluorescence F observée à un niveau d'irradiance E est une moyenne de F_0 et F_M pondérée par la fraction de RC ouverts et fermés et correspond au quenching photochimique (q_P). D'après Kolber & Falkowski (1993). 23

Figure 5. Conceptualisation de l'influence de la lumière et des nutriments sur l'efficacité de l'utilisation de la lumière par les pigments. Dans chaque cadre, le pool de pigments représente la capacité de collecte de la lumière pour l'ensemble des unités photosynthétiques, qui varie en parallèle avec la somme du pouvoir réducteur nécessaire à l'assimilation de l'azote (N), la fixation du carbone et la synthèse de l'ATP. Une augmentation de la lumière diminue les besoins de la cellule en pigment pour une demande de pouvoir réducteur donnée, ce qui augmente le rapport carbone/pigment. Une diminution des nutriments provoque une diminution

du pouvoir réducteur pour les trois voies de synthèse mais la diminution de l'ATP est proportionnellement inférieure à la diminution du N ou du C. D'après Behrenfeld *et al.* (2004).
..... 28

Figure 6. Pourcentages des différentes classes de taille de phytoplancton calculés selon le modèle présenté par Brewin *et al.* (2010) avec des données de mai 2005. Les pixels gris clairs se réfèrent à des pixels non identifiés en raison de la couverture nuageuse ou des angles avec de la lumière solaire élevés. Les pixels blancs représentent des eaux côtières et des eaux intérieures (<200 m de profondeur) où l'algorithme s'est révélé surestimer la chlorophylle en raison de la présence de matière particulaire en suspension et/ou de matière organique dissoute colorée. 32

Figure 7. Variété des EPS produits par les diatomées (Shniukova and Zolotareva 2015)
..... 34

Figure 8. Ensemble des interactions et processus biogéochimiques au sein des écosystèmes estuariens et à leurs interfaces. Un grand nombre de processus physiques contribuent à la variabilité spatiale et temporelle du système estuarien (apport fluvial, anthropiques, courants et amplitude de marée). Echanges eau douce/eau salée avec les zones côtières adjacentes. ROFI = Region of Freshwater Influence. D'après Statham (2012). 36

Figure 9. Schéma des flux dominants de l'eau, des sédiments, des nutriments et du plancton dans un estuaire. D'après Wolanski *et al.* (2004). 39

Figure 10. Schématisation du nombre d'études de la diversité réalisées par approche moléculaire. Les zones estuariennes ont été encadrées en rouge. D'après Zinger *et al.* (2012).
..... 45

Figure 11. Carte de l'estuaire de Seine, des vasières intertidales et délimitation des différentes zones de l'estuaire (Estuaire aval, moyen et amont). Source : ouvrage collectif « La Seine en Normandie », GIP Seine-Aval. 48

Figure 12. Courbe de marée dans l'estuaire de Seine le 20 mars 2010 pour un débit à Poses de $397 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$ et un coefficient de marée de 83. Les courbes marégraphiques présentées correspondent à la hauteur d'eau mesurée par les marégraphes situés en différents points de l'estuaire de Seine. Données GIP-Seine-Aval (2012). 49

Figure 13. Localisation des stations d'échantillonnage sur l'estuaire de Seine pour les campagnes mensuelles (points noirs ; stations 1 à 8) échantillonnées en transect (ligne pointillée) et les campagnes journalières (points rouges avec 1 : La Carosse, 2 : Fatouville et 3 : Tancarville) échantillonnées au cours d'un cycle de marée. 58

Figure 14. Principe de la fluorescence modulée « PAM ». Sous une très faible lumière détectrice (LD), l'activité photosynthétique est insignifiante. Le premier accepteur d'électron du PSII, Q_A , est alors complètement oxydé, la fluorescence émise est par conséquent minimale. Ce niveau de fluorescence obtenu après un passage à l'obscurité est appelé le niveau minimum de fluorescence F_0 . Ensuite un flash lumineux de haute intensité est émis. Le PSII est saturé,

Q_A est complètement réduit. La fluorescence atteint alors un maximum (F_M). Une gamme de lumière actinique (LA1, LA2 etc.) d'intensités croissantes est appliquée sur l'échantillon. Chaque intensité lumineuse (flux de photons) est appliquée pendant 30 secondes dans cette étude. Pour chaque intensité, une fluorescence de base stable F_S est atteinte. Toutes les 30 secondes un flash de lumière saturante (LS) est émis et F_M' est alors déterminée. 64

Figure 15. Localisation des stations d'échantillonnage sur l'estuaire de Seine pour les campagnes d'étude du microphytobenthos en association avec le projet GIP Seine-Aval 5 : « BARBES ». Avec en Vasière Nord, 9 sites nommés de A à I, en vasière Sud 3 sites nommés de N à P et au niveau du chenal environnemental 3 sites nommés de K à M. 70

Figure 16. Daily dynamics of (A) specific absorption of the chlorophyll pigment (a^* ; $m^2.mgChl\ a^{-1}$) and (B) functional absorption cross-section of the PSII (σ_{PSII} , nm^2) in the three species studied. The white circle represents *T.pseudonana*, the black circle represents *S.marinoï*, and the black triangle represents *P.australis*. The grey bar plot represents irradiance dynamics ($\mu mol\ photons.m^{-2}.s^{-1}$) over the course of the day (times). 90

Figure 17. Dynamics of $Y(II)_{max}$ (fluorescence ratio), F_M (or F_0)/ $chl\ a$ (left panel), and F_M (or F_0)/($chl\ a.\sigma_{PSII440}$) (right panel) for each studied species studied: *T.pseudonana* (A&B), *S. marinoï* (C&D) and *P. australis* (E&F). The black circle represents F_M and the white circle F_0 . The grey bar plot shows irradiance ($\mu mol\ photons.m^{-2}.s^{-1}$) dynamics over the course of the day (times). 91

Figure 18. Dynamics of the photosynthetic efficiency of the PSII (α ; rel. unit) calculated using (A) a^* (α^*) and (B) $\sigma_{PSII440}$ ($\alpha(II)$) for each species studied. The black circle represents *S.marinoï*, the white circle represents *T.pseudonana* and the black triangle represents *P.australis*. The grey bar plot shows irradiance ($\mu mol\ photons.m^{-2}.s^{-1}$) dynamics over the course of the day (times). 92

Figure 19. Dynamics of the maximum electron transport rate (ETR_{max} ; relative unit) calculated using (A) a^* ($ETR^{a^*}_{max}$) and (B) $\sigma_{PSII440}$ ($ETR(II)_{max}$) for each species studied: *Thalassiosira pseudonana* (empty circles); *Skeletonema marinoï* (black circles) and *Pseudonitzschia australis* (black triangles). The grey bar plot shows irradiance ($\mu mol\ photons.m^{-2}.s^{-1}$) dynamics over the course of the day (times). 93

Figure 20. Linear relationship between $ETR(E)$ ($ETR(II)$ or ETR^{a^*} ; $mmole^{-1}.mgChl\ a^{-1}.h^{-1}$) and $P^{chl}(E)$ ($mmolC.mgChl\ a^{-1}.h^{-1}$) for each species studied: (*T. pseudonana* (A & B), *S. marinoï* (C & D) and *P. australis* (E & F)) at each sampling time (9:30 am: white triangle; 2:00 pm: black circles; 7:30 pm: black triangles). 94

Figure 21. Map of the Seine estuary (Longitude: 0.2327, latitude: 49.4326 (WGS84) - Normandy, France) showing the study area. Poses is the upper limit of tidal propagation. The sampling transect from site 1 to site 8 followed the salinity gradient from the euhaline zone (Site 1) to the oligohaline zone (site 8). The sites were sampled monthly throughout 2015. 103

Figure 22. Interstructure analysis of the partial triadic analysis (PTA) performed on physical-chemical parameters in the sub-surface layer: (A) Histogram of eigenvalues based on the diagonalization of the RV matrix, (B) ordination of the sites given by the two first

eigenvectors of the vector correlation matrix and (C) tree topology obtained by Ward's clustering method **and for the bottom layer:** (D) Histogram of eigenvalues based on the diagonalization of the RV matrix and (E) ordination of the sites given by the two first eigenvectors of the vector correlation matrix..... 110

Figure 23. Compromise analysis of the partial triadic analysis (PTA) performed on physical-chemical parameters in the sub-surface waters: Histogram of eigenvalues (A), projection of the variables (B) and the sampling dates (C) in the plane defined by the two first axes **and for bottom waters:** Histogram of eigenvalues (D), projection of the variables (E) and the sampling dates (F) in the plane defined by the two first axes 112

Figure 24. Variations in biomass (chl *a* concentration; $\mu\text{g.L}^{-1}$) and the effective quantum efficiency of PSII ($F_v:F_m$; rel.unit) representing the physiological state of the cells in the Seine estuary from January to December, 2015. The sub-surface layer (1 m) is shown in the left panel and the bottom layer (1 m above the WSI) in the right panel 114

Figure 25. Variations in the low maximum light utilization efficiency ($\alpha(II)$; $\text{mgC.m}^{-3}.\text{h}^{-1} .(\mu\text{mol photon m}^{-2}.\text{s}^{-1})^{-1}$) in the Seine estuary from January to December, 2015. This parameter was measured at high frequency in the sub-surface layer of water all along the sampling transect at monthly intervals 115

Figure 26. Variations in the maximum electron transport rate ($\text{ETR}(II)_{\text{max}}$; $\text{mmol electron.mgchl}^{-1}.\text{h}^{-1}$) in the Seine estuary from January to December, 2015. The $\text{ETR}(II)_{\text{max}}$ was measured at five minute intervals in the sub-surface layer of water all along the sampling transect at monthly intervals 115

Figure 27. Dynamics of electron requirements for C fixation ($\phi_{e,c}$) in the Seine estuary from January to December, 2015..... 116

Figure 28. Dynamics of daily phytoplankton primary production (left; $\text{mgC.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) and P:B ratio (right; $\text{mgC.mgchl } a^{-1}.\text{d}^{-1}$) along the Seine estuary from “Le Havre” (longitude 0.09) to “Tancarville” (Longitude 0.51) in 2015. PP was estimated as a function of hourly irradiance and integrated over depth 118

Figure 29. Principal component analysis factor loading plot in the plane defined by the two axes for sub-surface waters. (A) zone A (sites 1 to 4) and (B) zone B (sites 5 to 8) and for bottom waters with (D) zone A and (E) zone B. White labels show active variables and grey labels illustrative variables 119

Figure 30. Study area, the Seine Estuary, Normandy, France ($49^{\circ}26'09''\text{N}$; $0^{\circ}16'28''\text{E}$). Location of the 3 sampling sites (white stars): (i) La Carosse ($49^{\circ}28'985''\text{N}$; $0^{\circ}01'807''\text{E}$), located in the euhaline zone and sampled on February 3 and July 18, (ii) Fatouville ($49^{\circ}26'202''\text{N}$; $0^{\circ}19'274''\text{E}$), located in the polyhaline zone and sampled on February 4 and July 20, (iii) Tancarville ($49^{\circ}24'444''\text{N}$; $0^{\circ}28'200''\text{E}$), located in the oligohaline zone and sampled on February 5 and July. Black dots represent major cities along the Seine Estuary. 136

Figure 31. Phytoplankton biomass ([chl *a*], µg/L - triangles) **and** F_v/F_m (relative units - circles) **measured over a tidal cycle at the three sampling sites** (La Carosse, Fatouville and Tancarville), **in winter** (left panel) **and in summer** (right panel). Values measured 1 m below the surface are represented by empty circles and values measured 1 m above the water sediment interface (WSI) by black dots. The dashed lines represent tidal height (m) measured 1 m above the WSI (cf. Fig. 32)..... 143

Figure 32. High frequency measurements of the maximum rate of electron transport ($rETR_{max}$; µmol electron/m²/s – solid line) **measured over a tidal cycle at the three sampling sites** (La Carosse, Fatouville and Tancarville), **in winter** (left panel) **and in summer** (right panel). The dots represent values during low frequency sampling. The dashed lines represent tidal height (m) measured 1 m above the water sediment interface. 144

Figure 33. Concentrations of transparent exopolymeric substances ([TEP]; mgXGeq/L; mean ± standard error) over a tidal cycle at the three sampling sites La Carosse, Fatouville & Tancarville, **in winter** (left panel) **and in summer** (right panel). Values recorded 1 m below the surface are represented by empty circles and values measured 1 m above the WSI by black dots. The dashed lines represent the tidal height (m). 146

Figure 34. Concentrations of soluble extracellular polymeric substances ([S-EPS]; mgGeq/L; mean ± standard error) over a tidal cycle at the three sampling sites La Carosse, Fatouville & Tancarville, **in winter** (left panel) **and in summer** (right panel). Values recorded 1 m below the surface are represented by empty circles and values measured 1 m above the WSI by black dots. The dashed lines represent the tidal height (m). 147

Figure 35. Representation of Principal Component Analysis (PCA) using the abiotic parameters (PAR (J/cm²); temperature (°C), salinity (PSU), SPM (g/L) and nutrients (µmol/L): DIN, P and Si) and as qualitative variables the biological parameters (chl *a* (µg/L), F_v/F_m (rel.unit), Transparent exopolymeric particles (TEP) & exopolymeric substances (EPS) concentrations (mgXGeq/L and mgEPS/L) and TEP & EPS per chl *a* unit (mgXGeq/mgchl *a* and mgEPS/mgchl *a*) as quantitative variables. Dimensions 1 & 2 (65.26%) in the left panel and the dimensions 1 & 3 (59.40%) in the right panel..... 150

Figure 36. Map of the Seine estuary (Longitude: 0.2327, latitude: 49.4326 (WGS84) - Normandy, France) showing the study area. Poses is the upper limit of tidal propagation. The sampling transect from site 1 to site 8 followed the salinity gradient from the euhaline zone (Site 1- L: 0.1116, l: 49.4335) to the oligohaline zone (site 8 - L: 0.5149, l: 49.4841). The sites were sampled monthly throughout 2015. 167

Figure 37. Variations in the parameters in the sub-surface layer (1 m under the surface) of the Seine estuary from January to December, 2015. With total, small cell and large cell chl *a* concentrations (µgchl *a*.L⁻¹); S-EPS, B-EPS (mgG.L⁻¹) and TEP concentrations (mgXGeq.L⁻¹); Synechococcus, Pico-eukaryotes, Cryptophyceae, diatom and dinoflagellate abundance (cells.L⁻¹). The dinoflagellate:diatom abundance ratio is also given. Values were previously smoothed using the Loess non-parametric regression method..... 171

Figure 38. Variations in the parameters close to the water/sediment interface (1 m above the sediment) in the Seine estuary from January to December, 2015. With total, small cell and large cell chl *a* concentrations ($\mu\text{gchl } a.L^{-1}$); S-EPS, B-EPS (mgG.L^{-1}) and TEP concentrations (mgXGeq.L^{-1}); and *Synechococcus*, Pico-eukaryotes, and Cryptophyceae abundances (cells.L^{-1}). Values were previously smoothed using the Loess non-parametric regression method. 172

Figure 39. Cytometric signatures of the different populations observed in 2015 along the Seine estuary. A 1 μm self-fluorescent latex marble was added to each sample as a size and fluorescence reference. The graphs show the FL3 median (phycoerythrin), FL4 median (chlorophyll) and SSC median (size). With the two *Synechococcus* populations (A), the two pico-eukaryote populations that were not significantly differentiated (B) and the six Cryptophyceae populations (C). 175

Figure 40. Primary production as a function of the species richness of the Seine estuary. All the spatial (sites 1, 3, 5 & 7) and temporal (from January to December) data were used in this plot. Species richness was calculated as a function of the microscopic observations made in this study (table 15) and expressed in $\log_{10}+1$. The primary production data ($\text{gC.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) are detailed in Morelle *et al.* (submitted). The dynamic fit was performed on SigmaPlot 12.5 after 200 iterations of fits and the final equation was $\text{PP} = e^{2.5 \times \text{SR}}$ ($p < 0.001$; $R^2=0.35$). 178

Figure 41. Plot of the stable (F_S ; black circles) and maximum (F_M ; empty circles) fluorescence values as a function of the different irradiance values sent by the PAM device (ordinates). Values were chosen as a function of the curve profile and obtained from PAM measurement performed on MPB biofilm from an intertidal mudflat (Baie des Veys, France). The relations were fitted using a polynomial trend ($y = ax^3 + bx^2 + cx + d$) in order to estimate the F_{SE} and F_{ME} values using the real irradiance received by the cells (I_{zi}). 195

Figure 42. Illustration of terms used in equations 3 and 7. The irradiance received at each depth z_i (I_{zi}) by the microphytobenthic cells is an attenuated value from the real irradiance at the surface (I_0) following a light attenuation coefficient (k_d) which can differs with light, biomass repartition and sediment type. In the same way, the level of fluorescence, $F_{SR}(I_{zi}; z_i)$, at the surface is an attenuated values from the real fluorescence emitted by undisturbed microphytobenthos biofilms $F_{SE}(I_{zi}; z_i)$ from depth following the same attenuation coefficient (figure directly taken and modified from Serôdio (2004)). 196

Figure 43. Plot of the steady state fluorescence (F_{SE} ; black circles) emitted as a function of the different irradiance values sent by the PAM device (ordinates) for a defined depth ($z = -0.2$ mm on top and $z = -0.4$ mm on down). The relations were fitted using a polynomial trend ($y = ax^3 + bx^2 + cx + d$) in order to estimate the F_{SE} values for $I=0$ considered as equal to the coefficient d from the polynomial trend. 197

Figure 44. Profiles of the vertical repartition of chlorophyll *a* used in the theoretical simulation of the fluorescence correction with a linear profile (1), a profile with a peak of chl *a* at -2 mm of the surface (2), and a profile with an established MPB biofilm in surface (3). 200

Figure 45. Comparison of the general effects of depth integration model on light-response curves of rETR (circle; $\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and NPQ (square; fluorescence yield) curves between 6 scenarios. The 6 scenarios were organized to compare the effect of the type of sediment (scenarios 1, 2, and 3 with sand ($k_d = 1 \text{ mm}^{-1}$), and scenarios 4, 5, and 6 with mud ($k_d = 4 \text{ mm}^{-1}$) and the type of vertical profile of chl *a* biomass with a homogeneous profile (scenarios 1&4), a vertical profile with chl *a* peaking at subsurface layers (scenarios 2&5) and a constituted MPB biofilm peaking at the surface (scenario 3&6). The curves are plotted to show the difference before (empty symbols) and after (filled symbols) correction by the light-fluorescence attenuation model. 202

Figure 46. Fine scale vertical pattern of light curves of rETR curves for an established biofilm and a moderate attenuation coefficient ($k_{d(\text{sed})}^* = 2 \text{ mm}^{-1}$). Values of rETR (relative units) were plotted against the irradiance ($\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) at different depths intervals from 0 – 0.2 mm to 2.0 – 4.0 mm (see legend). 204

Figure 47. Location of the Seine estuary (Normandy, English Chanel, France) with the 15 sampling sites in the three respective zones: (1) the Northern mudflat (three radials: A, B, C - D, E, F - G, H, I), (ii) the Environmental channel (K, L, & M) (iii) the Southern mudflat (N, O, & P). 215

Figure 48. Vertical profile of chl *a* ($\mu\text{g.gDW}^{-1}$) for each sampling site in September 2014 ordered with the fine content (%). (Horizontal bars represent the standard deviation; $n = 3$). 225

Figure 49. Vertical profile of chl *a* ($\mu\text{g.gDW}^{-1}$) for each sampling site in April 2015 ordered with the fine content (%). (Horizontal bars represent the standard deviation; $n = 3$). 225

Figure 50. Diagrammes en boîte de la variation du débit de la Seine à Poses ($\text{m}^3.\text{s}^{-1}$) pour les années 2000 à 2016. Chaque boîte représente l'ensemble des données mesurées quotidiennement au cours de l'année concernée. La boîte à moustache est délimitée par les quartiles 1 et 3 et la barre centrale représente la médiane de la série de données. Les barres externes représentent 1.5 fois l'écart interquartiles avec les valeurs extrêmes et les points situés au-delà représentent les points fuyards (outliers). L'année 2015 est identifiée dans un rectangle rouge. 241

Figure 51. Variations de la biomasse en chl *a* ($\mu\text{g.L}^{-1}$) en sub-surface (-1m) pour chaque mois de l'année 2015. Les points blancs sur les cartes représentent les stations d'échantillonnage. 243

Figure 52. Variations de la biomasse en chl *a* ($\mu\text{g.L}^{-1}$) en profondeur (1m au-dessus du sédiment) pour chaque mois de l'année 2015. Les points blancs sur les cartes représentent les stations d'échantillonnage. 244

Figure 53. Diagrammes en boîte de la variation de la concentration en chl *a* ($\mu\text{g.L}^{-1}$) mesurée en aval (Honfleur) et en amont (Tancarville) de l'estuaire de Seine pour les années 2008 à 2015. Chaque boîte représente l'ensemble des données mesurées quotidiennement au cours de l'année concernée. La boîte à moustache est délimitée par les quartiles 1 et 3 et la barre centrale

représente la médiane de la série de données. Les barres externes représentent 1.5 fois l'écart interquartiles avec les valeurs extrêmes et les points situés au-delà représentent les points fuyards (outliers). L'année 2015 est identifiée dans un rectangle rouge..... 245

Figure 54. Evolution de l'abondance en terme de cellules.L⁻¹ (à gauche, exprimée en %) et de la diversité en nombre d'OTU (à droite, exprimée en %) des espèces eucaryotes (18S) au cours de l'année 2015. L'axe des abscisses réuni de gauche à droite les mois de l'année (de janvier à décembre) avec pour chaque mois les différentes stations (de 1 à 8). Avec des assignations taxonomiques par classe : Stramenopiles (bleu clair), Alveolata (orange), Opisthokonta (gris), Hacrobia (jaune), Rhizaria (bleu), Eukaryota_unclassified (vert), Archaeplastida (bleu foncé), Apusozoa (maron), Amoebozoa, Excavata et Eukaryota_X..... 248

Figure 55. Evolution de l'abondance en terme de cellules.L⁻¹ (à gauche, exprimée en %) et de la diversité en nombre d'OTU (à droite, exprimée en %) des espèces bactériennes au cours de l'année 2015. L'axe des abscisses réuni de gauche à droite les mois de l'année (de janvier à décembre) avec pour chaque mois les différentes stations (de 1 à 8). Avec de bas en haut, correspondant aux différentes couleurs, les assignations taxonomiques de plus de 46 classes de rang: Proteobacteria (bleu ciel), Actinobacteria (orange), Bacteroidetes (gris), Firmicutes (jaune), Verrucomicrobia (bleu), Bacteria_unclassified (vert) 248

Figure 56. Evolution de la concentration en chl *a* (triangles vides ; µg.L⁻¹) et du taux relatif maximal de transport des électrons au niveau du PSII (rETR_{max} ; triangles pleins : µmol electrons.m⁻².s⁻¹) en Seine de Honfleur (WGS84 : 49.2557 ; 0.1358) à Rouen (WGS84 : 49.4429 ; 1.0698). La limite du gradient salin (ligne rouge) représente également la limite de l'étude réalisée dans ce manuscrit. 253

Figure 57. Variations de la production primaire (gC.m⁻²) pour chaque mois de l'année 2015. Les points blancs sur les cartes représentent les stations d'échantillonnage..... 256

Figure 58. Variations des concentrations en TEP (mgXGeq.L⁻¹) mesurée en sub-surface (-1 m) pour chaque mois de l'année 2015. Les points blancs sur les cartes représentent les stations d'échantillonnage. 259

Figure 59. Variations des concentrations en TEP (mgXGeq.L⁻¹) mesurées en profondeur (1m au-dessus du sédiment) pour chaque mois de l'année 2015. Les points blancs sur les cartes représentent les stations d'échantillonnage. 260

Figure 60. Variations des concentrations en EPS (mgGeq.L⁻¹) mesurée en sub-surface (-1 m) pour chaque mois de l'année 2015. Les points blancs sur les cartes représentent les stations d'échantillonnage. 264

Figure 61. Variations des concentrations en EPS (mgGeq.L⁻¹) mesurées en profondeur (1m au-dessus du sédiment) pour chaque mois de l'année 2015. Les points blancs sur les cartes représentent les stations d'échantillonnage. 265

Figure 62. Cartes des composantes microphytobenthiques dans le 1er cm superficiel. Avec la biomasse chlorophyllienne (en µg.g⁻¹ de sédiment sec), la granulométrie (fractions de particules

finer >63 μm ; %), et les fractions des Substances Exopolymériques (EPS en $\mu\text{g.g}^{-1}$ de sédiment sec) qui sont composées des carbohydrates des EPS colloïdaux (« Coll carb EPS ») et liés (« Bound carb EPS »). Les cartes ont été réalisées par krigeage ordinaire (Orvain *et al.* 2017).
..... 267

Figure S 1. Daily irradiance level (grey – $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) and river flow (black – $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$) in the Seine estuary during the sampling year (2015). 125

Figure S 2 Salinity (PSU) and temperature ($^{\circ}\text{C}$) of the Seine estuary from January to December, 2015. The sub-surface layer (1 m) is shown in the left panel and the bottom layer (1 m above the WSI) in the right panel. 126

Figure S 3. Suspended particulate matter (g.L^{-1}) and turbidity (NTU) in the Seine estuary from January to December, 2015. The sub-surface layer (1 m) is shown in the left panel and the bottom layer (1 m above the WSI) in the right panel. 127

Figure S 4. Variations in nutrient concentrations (DIN ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- + \text{NH}_4^+$), silicates (Si(OH)_4) and phosphates (PO_4^{3-}) in $\mu\text{mol.L}^{-1}$) in the Seine estuary from January to December, 2015. The sub-surface layer (1 m) is shown in the left panel and the bottom layer (1 m above the WSI) in the right panel. 128

Figure S 5. Temperature ($^{\circ}\text{C}$; triangles) and salinity (circles) over a tidal cycle at the three sampling sites “La Carosse”, “Fatouville” & “Tancarville”, in winter (left panel) and in summer (right panel). Sub-surface (1 m) values are represented by empty symbols and values measured close to the bottom (1 m above the WSI) by black symbols. Dotted lines represent the tidal height (1 m above the WSI) in the legend it should be Time (UT). 158

Figure S 6. Nutrient dynamics ($\mu\text{mol/L}$) with the dissolved inorganic nitrogen (DIN= $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- + \text{NH}_4^+$; circles), phosphate (PO_4^{3-} ; squares) and silicate (Si(OH)_4 ; triangles) measured over a tidal cycle at the three sampling sites (“La Carosse”, “Fatouville” and “Tancarville”), in winter (left panel) and in summer (right panel). Sub-surface values (1 m below the surface) are represented by open symbols and values measured close to the bottom (1 m above the WSI) by black symbols. Dotted lines represent the tidal height (i.e. 1 m above the WSI). 159

Figure S 7. Suspended Particle Matter (SPM: g/L) measured over a tidal cycle at the three sampling sites (La Carosse, Fatouville and Tancarville), in winter (left panel) and in summer (right panel). Values recorded 1 m below the surface are represented by empty symbols and values measured close to the bottom (1 m above the water sediment interface) by black symbols. The dashed lines represent the tidal height (m). 160

Figure S 8. TEP:chl a ratios (mgXGeq/mg chl a ; mean $\pm$ standard error) over a tidal cycle at the three sampling sites shown in logarithmic scale ($\log_{10}$) La Carosse, Fatouville & Tancarville, in winter (left panel) and in summer (right panel). Values recorded 1 m below the surface are represented by empty symbols and values measured 1 m above the WSI by black symbols. The dashed lines represent the tidal height (m). 161

Figure S 9. Variations in S-EPS:chl a ratios (mgGeq/mg chl a; mean $\pm$ standard error)) over a tidal cycle at the three sampling sites La Carosse, Fatouville & Tancarville, in winter (left panel) and in summer (right panel). Values recorded 1 m below the surface are represented by empty symbols and values measured 1 m above the WSI by black symbols. The dashed lines represent tidal height measured 1 m above the WSI. 162

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification des écosystèmes en fonction des apports de matière organique ($\text{gC.m}^{-2}.\text{an}^{-1}$).	37
Tableau 2. Coordonnées géographiques des stations d'échantillonnage.	59
Tableau 3. Dates d'échantillonnage et coefficients de marée lors des campagnes PROUESSE et SUSPENS-SYNAPSES.....	59
Tableau 4. Incertitudes et limites de quantification pour l'analyse des différents sels nutritifs (μmol) : nitrates (NO_3^-), nitrites (NO_2^-), ammonium (NH_4^+), phosphates (PO_4^{3-}) et silicates (Si(OH)_4^-). Les limites de quantification ont été établies pour les différents domaines de concentration.	61
Tableau 5. Amorces utilisées pour l'amplification des différentes régions de l'ADN ribosomal (18S et 16S).	69
Tableau 6. Coordonnées géographiques des sites d'échantillonnage des campagnes d'étude sur le microphytobenthos en association avec le projet GIPSA BARBES.	70
Table 7. Linear regression and Spearman correlation between the two ETR estimations using a^* ($\text{ETR}^{a^*}_{\text{max}}$) and σ_{PSII440} ($\text{ETR(II)}_{\text{max}}$) for each species studied. The correlation coefficient, the p-value and the headcount (n) are given for each analysis. The maximum values of each ETR are given with the recording time. The plot represents the $\text{ETR(II)}_{\text{max}}$ values (Y axis) as a function of the $\text{ETR}^{a^*}_{\text{max}}$ values (X axis) fitted to the linear regression whose equation is given.	93
Table 8. Hourly and daily $\phi_e, C.$ values (mean $\pm$ SD) estimated from the linear regressions ($y = ax + b$) between ETR(E) ($\text{mmole} \cdot \text{mgChl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) and $\text{P}^{\text{chl}}(\text{E})$ ($\text{mmolC} \cdot \text{mgChl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) for each species studied (three replicates per species). With $y = \text{ETR(E)}$ (ETR(II) or ETR^{a^*}), $x = \text{P}^{\text{chl}}(\text{E})$ and R^2 the correlation coefficient of the relationship all replicates pooled.	94
Table 9. Results of the one way Repeated Measures Analysis of Variance (RM ANOVA) for the $\phi_e, C.$ values which were estimated from the linear regressions between ETR(E) (ETR(II) or ETR^{a^*}) and $\text{P}^{\text{chl}}(\text{E})$ for each species studied (three replicates per species). The difference was considered as significant when p-value < 0.05 . If difference was significant, an all pairwise multiple comparison procedure was performed using the Holm-Sidak method. The differences between sampling times (H1, H2 or H3) are given by a group name (a, b or c) in exponent.	95
Table 10. Matrix of the RV-coefficients between the sub-matrix and the weight of each sub-matrix in the construction of the compromise	111

Table 11. Estimation of phytoplankton primary production ($\text{gC.m}^{-2}.\text{m}^{-1}$) for each month (from January to December) and at each site (from 1 to 8). The minimum and maximum daily PP ($\text{gC.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) are given and an annual PP (in $\text{gC.m}^{-2}.\text{y}^{-1}$ and in tC.y^{-1}) was calculated for each site (bottom row). A mean PP ($\text{gC.m}^{-2}.\text{m}^{-1}$) was calculated for each month (last column on the right) and on average for the estuary (last cell on the bottom right)..... 117

Table 12. Minimum and maximum values of the sampling parameters recorded at each of the three sites (La Carosse (LC), Fatouville (Fat.) and Tancarville (Tan.)) in sub-surface (1 m below the surface (S)) and close to the bottom (1 m above the water sediment interface (B)) in February (winter) and in July (summer) 2015. The S-EPS concentrations are expressed in glucose equivalent (mgGeq) and the TEP concentrations in Xanthan gum equivalent (mgXGeq). ... 142

Table 13. Variations in mass of soluble extracellular polymeric substances per m^2 (mgEPS/m^2) and in EPS:chl *a* ratios ($\text{mgEPS}/\text{mgchl } a$) at the 15 sites sampled on the Seine estuary mudflats (Morelle *et al*, in prep.). The S-EPS concentrations are expressed in glucose equivalent (mgGeq) and the TEP concentrations in Xanthan gum equivalent (mgXGeq). ... 148

Table 14. Eigenvalues, total variance and cumulative variance of the three factors of the principal component analysis...... 149

Table 15. Presence and absence of the diatoms, dinoflagellates and other algal group taxa observed by optic microscopy from January to December 2015 in the sub-surface layer at sites 1, 3, 5 and 7. XXX represent unidentified taxonomic units. 173

Table 16. Spearman correlation coefficients obtained between the exopolysaccharides (TEP, S-EPS and B-EPS) and the biological, physical and chemical parameters ($n=96$ in the sub-surface layer, and $n=48$ close to the WSI), the pico/nano abundances (*Synechococcus*, Pico-eukaryotes and Cryptophyceae; $n=72$ in the sub-surface layer and $n=48$ close to the WSI) and the diatom and dinoflagellate abundances ($n=48$ in the sub-surface layer only). The coefficients were considered significant when the p-value was < 0.05 , if not, it was noted “NS”). 177

Table 17. Explanations of the photophysiological parameters and notations used in this study...... 193

Table 18. Reference data set from PAM measurements exhibiting an apparent decrease at high irradiance level ($> 400 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Values were choose as a function of the curve profile and obtained from PAM measurement performed on MPB biofilms from an intertidal mudflat (Baie des Veys, France). **I** is the irradiance submitted to the sample, **F_s** the steady-state fluorescence and **F_M** the maximal fluorescence measured at each irradiance 199

Table 19. Characterization of the six different scenarios used in the sensitivity exercises on the correction model. With potential minimal (1 mm^{-1}) and maximal (4 mm^{-1}) values for the sediment specific attenuation coefficient ($k_{d(\text{sed})}^*$) and three typical profiles of chl *a* content (fig. 44). 201

Table 20. Values of the photosynthetic parameters extract using the Eilers & Peeters (1988) fit with photosynthetic efficiency (α), relative maximum electron transport rate ($rETR_{max}$) and the optimal light for photosynthesis (I_{opt} ; $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) before and after application of our corrective model. Variation coefficients (δ in %) of each parameter are given to evaluate the difference before and after correction and their average values ($\pm$ SD).....	202
Table 21. Percentage of difference between the corrected values in sand ($k_d = 1$) and the corrected values in mud ($k_d=4$). The percentages were calculated by subtraction of the variation coefficient in mud (δ in %) to the one in sand (table 4).	202
Table 22. Values of the photosynthetic parameters extract using the Eilers & Peeters (1988) fit with photosynthetic efficiency (α), relative maximum electron transport rate ($rETR_{max}$) and the optimal light for photosynthesis (I_{opt} ; $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) after application of our corrective model on each interval of depth (mm).	204
Table 23. GPS coordinates (WGS84) of the 15 sampling sites. The three different zone were differentiate in terms of substratum with a sandy zone (the southern mudflat), a muddy site (the environmental channel) and a sand-mud mixture zone (the Northern mudflat). In the Northern mudflat, the sampling sites could be regrouped per 3 from their position from downstream to upstream of the estuary and from the upper to the lower limit of the foreshore.	214
Table 24. Values of the sedimentary parameters (mean $\pm$ SD) calculate in triplicate samples for each site.	221
Table 25. Pearson correlation coefficient between sediment parameters. With $n=81$ for September and $n=36$ for April. All p-values were lower than 0.001.	221
Table 26. Values of the biological parameters (mean $\pm$ SD) calculated in triplicate samples for each site. With the chl <i>a</i> content ($\mu\text{g.g}^{-1}$), the chl <i>a</i> concentration (mg.m^{-2}), the phéopigments content (%), the organic matter content (%) and the biofilm structuration index (BSI).....	223
Table 27. Pearson correlation coefficient between parameters. With the correction for April data set in the upper matrix and for September data set in the lower matrix. Correlation were assumed to be not significant (NS) when p-values were lower than 0.05.....	224
Table 28. Values of the photosynthetic parameters (mean $\pm$ SD) calculated in triplicate samples for each site. With the effective quantum yield of the PSII (F_v/F_m), the photosynthetic efficiency (α ; ...), and the relative maximal electron transport rate ($rETR_{max}$; ...). The variation coefficients (δ in %) of the photosynthetic parameters were given to evaluate the difference before and after application of the depth-integrated fluorescence correction (Morelle <i>et al.</i> under review).....	227
Table 29. Microphytobenthic primary productivity (P_{max} ; $\text{mgC.mgchl } a^{-1}.\text{h}^{-1}$) and daily ($\text{mgC.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) and monthly ($\text{gC.m}^{-2}.\text{m}^{-1}$) production for each sampling sites of the Seine estuary in September 2014 and in April 2015.	228

Table 30. Microphytobenthic primary production expressed in $\text{gC.m}^{-2}.\text{month}^{-1}$ and in $\text{tC.m}^{-2}.\text{month}^{-1}$ calculated from the surface of each mudflat sampled in the Seine estuary in September 2014 and in April 2015.....	229

Tableau 31. Synthèse des estimations de production primaire et d'excrétion de carbone (TEP, EPS) des compartiments phytoplanctonique et microphytobenthique de l'estuaire de Seine. Les données sur la production microphytobenthique ont été estimées en calculant la moyenne des mois d'Avril et Septembre.	268

Liste des communications

Communications orales

5 Avr. 2017 – « Production primaire dans l'estuaire de la Seine ». J. Morelle, ***Finale régionale ma thèse en 180 secondes***. Caen, France.

27 Fév. 2017 – « Annual Phytoplankton Primary Production at high frequencies in the Seine Estuary (English Channel, France) ». J. Morelle, M. Schapira, O. Pierre-Duplessix, E. Rabiller, F. Maheux, B. Simon, F. Orvain, P. Riou, P. Claquin. ***ASLO 2017 Ocean Sciences Meeting: Mountains to the Sea***. Honolulu, Hawaii, USA.

5 Sept. 2016 – « Dynamic of the phytoplankton population in the Seine estuary at spatial and temporal scales ». J. Morelle, M. Schapira, P. Claquin. ***ECSA 56 Coastal systems in transition: From a 'natural' to an 'anthropogenically-modified' states***. Bremen, Allemagne.

19 Mai 2016 – « Production primaire dans l'estuaire de la Seine ». J. Morelle, M. Schapira, P. Claquin. ***28e forum des jeunes océanographes***. Cherbourg, France.

Communications écrites

26 mars 2015 - Poster. « Primary production in the Seine estuary ». J. Morelle, F. Orvain, M. Schapira, P. Claquin. ***Journée de l'école doctorale 2015***. Université de Rouen, France.

15 Oct. 2015 - Poster. « Production primaire dans l'estuaire de la Seine ». J. Morelle, F. Orvain, M. Schapira, P. Claquin. ***3e colloque des Zones Ateliers***. CNRS, Paris, France.

Dynamique spatiale et temporelle de la production primaire dans l'estuaire de Seine

Résumé

Les estuaires, de par leur position stratégique à l'interface entre les eaux continentales et les eaux marines jouent un rôle écologique de première importance et sont le siège de nombreuses activités humaines. L'estuaire de Seine est caractéristique des grands estuaires anthropisés. Le management à long terme de ces écosystèmes soumis à des pressions croissantes réside notamment en une meilleure connaissance de la dynamique spatiale et temporelle des réseaux trophiques estuariens. Le phytoplancton et le microphytobenthos sont les principaux contributeurs de la production primaire (PP) dans ces écosystèmes et sont à la base des réseaux trophiques. Ces compartiments sont souvent réduits à la teneur en chlorophylle du milieu et leur productivité n'a jamais été mesurée à l'échelle de l'estuaire de Seine. L'objectif de ces travaux a été d'estimer la PP de ces compartiments le long du gradient halin. Afin d'accéder à des mesures à une haute résolution spatiale, des mesures de fluorescence modulée (PAM) à haute fréquence ont été couplées à des mesures d'incorporation de carbone (^{13}C) à basse fréquence. Les mesures de production primaire ont été mises en perspective avec la dynamique des paramètres physico-chimiques du milieu et la structure communautés phytoplanctoniques déterminés par différentes techniques (microscopie, cytométrie, biologie moléculaire). La dynamique du carbone excrété sous forme de TEP (Transparent Exopolymeric Particules) et EPS (Exopolymeric substances) a également été étudiée pour chacun des compartiments. Au-delà des méthodologies innovantes mises en place qui montre l'intérêt des mesures à haute fréquence dans ces écosystèmes très dynamiques, ce travail apporte une nouvelle vision de la dynamique du phytoplancton et de la richesse spécifique du microbiome estuarien et apporte une estimation fiable de la production primaire.

Mots clés : Phytoplancton, microphytobenthos, PAM, ETR, ^{13}C , TEP, EPS.

Spatial and temporal dynamics of the primary production in the Seine estuary

Abstract

The estuaries play an important ecological role and are the site of many human activities because of their strategic position at the interface between continental and marine waters. Seine estuary is characteristic of large anthropized estuaries. Long-term management requires better knowledge of the spatial and temporal dynamics of the estuarine food webs. Phytoplankton and microphytobenthos are the main contributor of primary production (PP) in these ecosystems and are at the basis of trophic food webs. These compartments are often reduced to the chlorophyll concentration and their productivity has never been measured along the Seine estuary. The objective of this study was to estimate the PP of these compartments along the salinity gradient. In order to access to measurements at high spatial resolution, high-frequency measurements of modulated fluorescence (PAM) were coupled to low-frequency carbon (^{13}C) incorporation measurements. The primary production measurements have been put into perspective with the dynamics of the physical and chemical parameters and the structure of phytoplankton communities determined by different techniques (microscopy, cytometry, molecular biology). The dynamics of carbon excreted as TEP (Transparent Exopolymeric Particles) and EPS (Exopolymeric substances) were also studied for each compartment. Beyond the innovative methodologies which demonstrate the interest of high-frequency measurements in these highly dynamic ecosystems, this work provides a new insight into the phytoplankton dynamics and the specific richness of the estuarine microbiome and provides a reliable estimate of primary production.

Keywords: Phytoplankton, microphytobenthos, PAM, ETR, ^{13}C , TEP (Transparent Exopolymeric Particles), EPS (Exopolymeric substances).