ANNÉE 2013

THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1

sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

pour le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Biologie

Ecole doctorale Vie Agro Santé

Présentée par

Stéphane FRAISSE

Préparée à l'unité de recherche UMR 6553 ECOBIO

Rôle de la Biodiversité dans les Processus Ecologiques

UFR Sciences de la Vie et de l'Environnement

Structure de la communauté phytoplanctonique des fleuves côtiers en réponse aux contraintes hydrodynamiques : une approche basée sur les traits morpho-fonctionnels

Thèse soutenue à Rennes 1

Le 16 Juillet 2013

Devant le jury composé de :

Elisa BERDALET

PhD, Institut des Sciences de la Mer de Barcelone : *rapporteur*

Frances PICK

Professeur, Université d'Ottawa : *rapporteur*

Orlane ANNEVILLE

Chargée de Recherche, UMR CARRTEL INRA : *examinateur*

Thierry CAQUET

Directeur de Recherche, UMR INRA Agrocampus ESE : *examinateur*

Myriam BORMANS

Directeur de Recherche CNRS, Université de Rennes 1 : co-*directrice de thèse*

Yvan LAGADEUC

Professeur, Université de Rennes 1 : *directeur de thèse*

Remerciements

Aucun signe de lui pour la rédaction du manuscrit, et là, pour la partie que je souhaite d'écrire depuis environ 3 ans et demi, le voilà, prenant la forme d'un clignotement incessant et immobile du curseur de mon logiciel de traitement de texte : le syndrome de la page blanche. Ce qui est écrit dans la plupart des thèses est donc vrai, il s'agit bien de l'une des parties les plus difficiles à rédiger. J'ai pourtant bien en tête la liste des personnes que je tiens à remercier, tant leur aide et leur soutien m'ont été précieux (il semble que le syndrome de la page blanche m'ait finalement permis de commencer cette partie…).

Je tiens en premier lieu à remercier mes directeurs de thèse, Myriam Bormans et Yvan Lagadeuc pour m'avoir donné l'opportunité de mener ce travail. Malgré la charge énorme de travail inhérente à leur fonction, ils ont toujours su se rendre disponibles pour que je leur fasse part de mes résultats, de mes questions, et des difficultés que je rencontrais. Lors de la rédaction du manuscrit, ils ont été particulièrement réactifs, et je les en remercie sincèrement. Myriam, ton soutien moral et scientifique pour la soumission, la re-, puis la rere- puis la rerere-soumission (et j'en oublie…) a été crucial et m'a aidé à ne pas baisser les bras. Yvan, merci pour les discussions sur ma thèse que nous avons pu avoir, et ce, malgré les quelques km entre nous pendant la dernière année. Ton humour (enfin, quand tu es drôle ☺) ont permis d'avoir des sessions de travail toujours très agréables. Merci à tous les deux !

Merci à Frances Pick et à Elisa Berdalet d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse, et à Orlane Anneville et Thierry Caquet pour avoir endossé le rôle d'examinateur.

Je remercie également les membres de mes deux comités de thèse : Josette Garnier, Olivier le Pape, Aude Leynaert, et André Croq. Merci pour les discussions que nous avons pu avoir qui ont permis d'apporter un regard extérieur essentiel à la bonne conduite de ce travail.

J'ai pu réaliser cette thèse grâce à l'aide de nombreuses personnes. La première personne qui me vient à l'esprit est Alexandrine Pannard, qui par son ouverture d'esprit, ses connaissances, la rigueur de son raisonnement, m'a beaucoup apporté pendant mon doctorat. J'espère que l'on aura un jour l'occasion de travailler ensemble !

Une partie de cette thèse a consisté en une étude *in situ*, je tiens donc à remercier toutes les personnes qui m'ont aidé sur le terrain, pour les campagnes d'échantillonnage : Guillaume Bouger (à l'affût de la moindre scène de vie pouvant être numériquement capturée), Enora Briand, Philippe Louâpre (digne même en cuissarde !), Bertrand Le Rouzic et Myriam Bormans.

Je tiens également à remercier Nathalie Le Bris, Marie-Paule Briand, Frédérique Pallois pour les analyses physicochimiques. Merci pour votre bonne humeur permanente, et pour avoir fait preuve d'une extrême gentillesse à mon égard, allant jusqu'à repousser vos jours de congé pour m'aider dans les périodes de rush !

Je tiens à remercier Mélanie Raimonet pour ses nombreux coups de pouces pendant la phase de terrain, me permettant d'avoir accès au labo, récupérant des données oubliées dans des ordinateurs, mais aussi pour son aide scientifique !

Suite aux campagnes de terrain, j'ai consacré une grande partie de mon temps à l'identification et au comptage des différentes espèces de phytoplancton. Je souhaite donc remercier toutes les personnes qui m'ont aidé dans ce processus de détermination taxonomique : Denis Sargos, Fabien Jouenne (merci pour m'avoir laissé utiliser ton super microscope !), Alexandrine Pannard, Béatriz Beker, Véronique Martin-Jézequel, Marion Lengrone et Luc Brient.

Certaines de mes questions de recherche ont nécessité une approche physique, avec notamment la construction d'un dispositif générateur de turbulence. Je remercie Alain Faisan de l'Institut de Physique de Rennes pour cette réalisation. Merci pour ta réactivité face aux nombreux problèmes que nous avons pu rencontrer, merci pour ton implication et ton intérêt pour ce projet. Je remercie également Alexandre Valence du même institut, qui m'a aidé (ou plutôt que j'ai aidé) pour la PIV. Merci pour le temps que tu m'as consacré, pour la validation de mes différents calculs, et pour le point de vue physique que tu as apporté sur ce volet de ma thèse.

Je tiens à remercier toutes les personnes de l'UMR qui gèrent le côté administratif pour leur disponibilité notamment Sandra Rigaud, Jocelyne Beven, Tifenn Donguy, Valérie Haubertin et Fabienne Defrance. Merci pour votre précieuse aide.

Merci également à Valérie Briand (pour les publi et livres impossibles à trouver), à Isabelle Picouays (merci pour les stylos et surtout, le marqueur 2 en 1, une pointe fine, une pointe moyenne) et Virginie (la première thèse que tu as relié, merci !).

Je remercie tous les membres de l'équipe RBPE à laquelle j'ai appartenu pendant ma thèse. Je remercie plus particulièrement Achim Quaiser (toujours au taquet pour un bad, suivi de la précieuse bière), Alexis Dufresne (dont les bonds font encore trembler les murs du 14B, merci d'avoir été là dans mes moments de doute), Philippe Vandenkoornhuyse (pour tes moments d'effroi lorsque j'entrainais Marie dans de stupides défis !), André Jean Francez (pour tous les bouquins que je t'ai empruntés !) et Alexandrine Pannard. Merci pour toutes les pauses café et les verres en ville.

Un grand merci à Apostolos Koussoroplis, la personne qui a fait naitre en moi cette envie de travailler dans la recherche. Je crois que c'est surtout la phase de rédaction/corrections du rapport M1 avec toi qui m'a ouvert les yeux et donné la motivation de m'engager dans cette voie.

Je remercie Benoît pour les multiples discussions de sciences que nous avons pu avoir mais aussi pour tous les autres moments que ce soit par skype, ou lorsque nous avons pu nous déplacer. Ton soutien a été indispensable pour moi. Merci. Maintenant, il faut qu'on trouve un moyen de bosser ensemble. Merci également à Mel, pour nos sessions interrogations microscopiques : mais qu'est que c'est que ce truc ?! mais aussi pour ton soutien.

Je remercie également toutes les personnes que j'ai pu côtoyer dans le bureau p. 216 Bât. 14A, num. 5057 (pour toi Flore !) : Steph' (merci pour tous les délires au bureau, des TLMVPSP aux soirées dans Rennes, en passant par les pauses clopes), Nico (merci pour notre collaboration dans l'organisation du JC, mais aussi pour les sessions micro-mach, et ton côté ché-per qui m'aura bien fait marrer !), Aurélien (merci pour la bière maison), Marie (pour les sessions déco du mur de Nico, et le défi phasme source de transpiration des genoux), Flore (merci pour ton côté ringard qui je crois, est encore plus prononcé que chez moi), Elo (merci pour ton enthousiasme permanent, ou en tout cas jamais très loin, qui a grandement contribué à la déconnade dans ce bureau).

Je tiens à remercier l'ensemble des (ex-) thésards et des (ex-) post-docs de l'UMR, et plus particulièrement Benjamin (spécialiste de la vanne gueulante, l'ensemble de ton panel de voix improbables – qui sont malgré tout toutes dans la même veine – m'a vraiment aidé dans l'analyse de mes résultats), Philippe (spécialiste de la vanne bien placée, quand elle parvient à se frayer un chemin dans ton esprit, ça a toujours été un plaisir de me marrer avec toi !), Amandine (pour ton sens de l'odorat ultra développé) et Dung (tard le soir, ou bien le we, tes rouleaux de printemps et autres délices culinaires ont été salvateurs). Je n'oublie pas Sarah (qui peut se présenter en se trompant de prénom), Xavier (fournisseur de cantal, crocodiles, chocolat, comté et parfois même d'humour) mais aussi toute la bande des anciens habitués du JC et des apéros 2009-2011 Anne-Kristel, Joffrey, Pierre, Charlène, Lise, Julie, Mathieu, Thiago…

Je remercie aussi Manu qui m'a accueilli à Rennes dès mon arrivée, m'a hébergé et nourri pendant une semaine !

Mon passage à Rennes m'a également permis de rencontrer des personnes en dehors du labo, qui sont devenus de vrais amis, et qui m'ont d'une manière indirecte permis de mener à bien mon travail en étant un soutien permanent. Je pense surtout à Guillaume et Céline. Merci à vous deux pour toutes les soirées et tous les festivals qu'on a pu faire tous les 4.

Merci également à mes potes de plus longue date : Philotte, Boes, Tsar (allez, courage !), Dav, Martin, Guite et Ju de veau pour leurs venues en terre bretonne et nos bringues en terre sainte ! Merci à Pierre-Jean pour tes conseils et ton soutien.

Un énorme merci à Lee Chong Wei, Guillaume Forget, Lin Dan, Maël Fily, Chen Long, Achim Quaiser, Boonsak Ponsana, Benjamin Hornoy, Taufik Hidayat, Julien Galichet, Brice Leverdez et Philippe Louâpre. A bientôt sur un 13.40 x 5.18.

Je tiens également à remercier ma sœur Charlène et mon frère Nicolas. Merci d'être venu à Rennes, merci de m'avoir aidé sur le terrain, merci d'être toujours là pour moi, merci d'être vous !

Je remercie du fond de mon cœur mes parents qui m'ont toujours soutenu. Sans vos sacrifices, je n'en serai pas là, et je ne vous en remercierai jamais assez. Merci à toi P'pa pour ton aide pour les mesures de phyto, et pour l'intérêt que tu portes à mon travail. Merci à toi M'man, pour toutes les petites attentions dont tu es la spécialiste, des tablettes de chocolat aux fromages de Jussac, le tout envoyé par colis !!!

Je souhaite enfin te remercier toi, Marie. Merci pour tout, pour nos craquages, nos défis, nos fous rires, nos discussions sérieuses, nos danses, nos bouffes, nos soirées. Ton amour, tes conseils, ta personnalité, ton soutien sans faille m'ont permis d'évoluer et ont grandement contribué à la réalisation de cette thèse. Merci pour tout !

Table des matières

Résumé ..... **II**

Abstract ..... **III**

Liste des figures ..... **IV**

Chapitre 1 : Introduction Générale **1**

I) Le phytoplancton : principaux rôles dans les écosystèmes aquatiques **2**

II) Structure de la communauté phytoplanctonique **3**

III) Le concept de traits fonctionnels **4**

1) Les traits écophysiologiques 5

2) Les traits morphofonctionnels 6

IV) L'approche morpho-fonctionnelle dans l'étude de la structure communauté phytoplanctonique **9**

V) La communauté phytoplanctonique en rivière **10**

VI) La communauté phytoplanctonique en estuaires **12**

VII) Objectifs de la thèse **13**

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes **17**

I) Présentation des sites d'études **18**

II) Analyses physicochimiques et biologiques **20**

1) Sur le terrain 20

2) En laboratoire 21

III) Approche expérimentale 23

1) La turbulence et les différentes échelles associées 24

2) Le dispositif expérimental 25

3) Calibration du niveau de turbulence en fonction de la vitesse d'oscillation des grilles 27

4) L'expérimentation 29

IV) Analyses statistiques 30

Chapitre 3 : Morpho-functional traits reflect differences in phytoplankton community between rivers of contrasted flow regimes 33

Abstract 34

Introduction 35

Materials and methods 37

1) Morphofunctional traits selection 37

2) Study area 39

3) Sampling and physicochemical analyses 40

4) Phytoplankton biomass and community structure 41

5) Statistical analyses 41

Results 41

1) Environmental conditions 41

2) Phytoplankton biomass and community structure 44

Discussion 49

References **52**

Chapitre 4 : Turbulence effect on phytoplankton structure by a morpho-functional traits based laboratory approach..... 58

Abstract **59**

Introduction **60**

Material & Methods **62**

1) Morphofunctional traits of selected species 62

2) Experimental device and turbulence calibration 64

3) Sampling protocol, community structure and physicochemical analyses 67

4) Statistical analyses 68

Results **68**

1) Experimental conditions 69

2) Phytoplankton community under different turbulence intensities 69

Discussion **73**

1) Morphological traits functional traits relationship 74

2) Turbulence effect on community structure 74

3) Conclusion 77

References **78**

Chapitre 5 : Structuration spatiale de la communauté phytoplanctonique en estuaire 85

Introduction **86**

Matériel et Méthodes **89**

1) Description des sites 89

2) Campagne d'échantillonnage 89

3) Analyses physicochimiques 89

4) Structure de la communauté 90

5) Analyses statistiques 93

Résultats **94**

1) Caractéristiques physicochimiques 94

2) La communauté phytoplanctonique 99

Discussion **106**

Bibliographie **109**

Chapitre 6 : Discussion générale **115**

Annexes **128**

Annexe 1 : Composition du milieu de culture utilisé dans l'expérimentation en conditions contrôlées. **129**

Annexe 2 : proportions des différents groupes dans l'estuaire de l'Aulne et dans l'estuaire de l'Elorn **130**

Bibliographie **131**

Résumé : Les traits fonctionnels sont de plus en plus utilisés en écologie pour expliquer les changements de composition et de structure de la communauté phytoplanctonique en fonction des contraintes environnementales. Ce succès tient au fait que les traits fonctionnels sont des caractéristiques reliées aux processus de croissance et de perte des organismes, et qu'ils déterminent ainsi l'occurrence, la dominance ou l'absence d'une espèce dans des conditions environnementales données. Parmi les traits fonctionnels, on distingue les traits morpho-fonctionnels qui présentent l'avantage d'être facilement observables et mesurables. Les approches basées sur les traits morpho-fonctionnels ont majoritairement été utilisées en lac mais pourraient toutefois s'avérer pertinentes en rivière où l'importance relative des contraintes environnementales agissant sur la communauté phytoplanctonique est très variable d'un système à l'autre. L'objectif de cette thèse a donc été de tester l'hypothèse selon laquelle la communauté phytoplanctonique en rivière pouvait être structurée selon les traits morpho-fonctionnels. Dans les rivières étudiées, nous avons montré que la communauté est structurée selon les traits morpho-fonctionnels reliés à la vitesse de sédimentation, en mettant en évidence le rôle clé de la forme des organismes, mais aussi de leur motilité et de leur densité *via* la présence de mucilage. A travers la sélection de différentes valeurs pour ces traits morpho-fonctionnels, nous avons pu mettre en évidence l'impact majeur de la turbulence sur la communauté phytoplanctonique de ces rivières. L'effet de ce paramètre a été testé expérimentalement en conditions contrôlées sur une communauté simplifiée afin de tester l'hypothèse selon laquelle sous l'effet de la turbulence, la composition de la structure de la communauté pouvait être prédite par les traits morpho-fonctionnels. Les résultats de cette approche expérimentale ont permis de réitérer le rôle clé de la forme dans la structure de la communauté corroborant ainsi les résultats de rivières et ont également souligné le rôle de la plasticité phénotypique. L'approche basée sur les traits a également été testée en estuaires, mais s'est cependant montré infructueuse. Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer ce résultat, notamment l'absence de trait identifié comme étant relié à la salinité.

Mots clés: Traits morpho-fonctionnels ; Structure de communauté ; Phytoplancton ; Rivière ; Turbulence ; Estuaire *; continuum* terre/mer

Abstract: Functional traits are increasingly used in ecology to explain changes in the composition and structure of phytoplankton community in relation to environmental constraints. Functional traits are related to growth and loss processes, and thus they determine the occurrence, dominance or absence of species in given environmental conditions. Among the functional traits, morpho-functional traits display the advantage of their ease to be measured. Approaches based on morpho-functional traits were mainly used in lakes, but could however be relevant in rivers where the relative significance of environmental constraints acting on the phytoplankton community varies from one system to another. The aim of this thesis was therefore to test the hypothesis that riverine phytoplankton community could be structured according to morpho-functional features. In the rivers studied, we showed that the community is structured according to morpho-functional traits related to sedimentation rate, highlighting the key role of the shape of organisms, but also of their motility and density *via* the presence of mucilage. Through the selection of different values for these morpho-functional traits, we highlighted the main impact of turbulence on the phytoplankton community within these rivers. The effect of this parameter has been tested experimentally on a simplified community under controlled conditions in order to test the hypothesis that as a result of turbulence, the composition of community structure could be predicted through morpho-functional traits. The results of this experimental approach helped to reiterate the key role of the shape in community structure thus corroborating the results found in rivers. It also stressed the role of phenotypic plasticity. This approach based on features was also tested in estuaries, but was, however, unsuccessful. Several hypotheses have been proposed to explain this result, including the lack of traits identified as related to salinity.

Keywords: Morpho-functional traits; Community structure; Phytoplankton; River; Turbulence; Estuary; Land/sea *continuum*

Liste des figures

Fig. 1.2 Courbe P-I représentant la relation entre le taux de photosynthèse et l'intensité lumineuse et où apparaissent les différents trais écophysiologiques reliés à l'efficacité de la photosynthèse α, $P_{max,}$ et I_{opt} (D'après Litchman & Klausmeier, 2008)

Fig.1 3 Fonction décrivant (a) la vitesse d'acquisition des ressources en fonction de la concentration externe d'un nutriment donné (Michaelis-Menten) et (b) le taux de croissance en fonction de la concentration interne d'un nutriment donné (Droop). Les différents traits écophysiologiques sont représentés.

Fig. 1.4 Les différents groupes morpho-fonctionnels *MBFG* conçus par Kruk *et al.* en 2010 (d'après Kruk & Segura, 2012)

Fig. 2.1 Situation géographique de l'Aulne et de l'Elorn et des différents sites de prélèvement

Fig. 2.2 Variations annuelles du débit journalier de l'Aulne et de l'Elorn de janvier 2009 à décembre 2010

Fig. 2.3 Photos illustrant la préparation de la bouteille fermante pour le prélèvement d'eau (photo de gauche), et l'ensemble de dispositif de filtration.

Fig. 2.4 *a)* Représentation schématique du dispositif de génération de la turbulence et *b)* photo représentant le dispositif pendant la modalité de faible turbulence. "Nut" indique la source en nutriments et "P" la pompe péristaltique qui contrôle l'apport de ces nutriments.

Fig. 2.5 Configuration de la caméra digitale (C) et du faisceau Laser (L) pour calibrer la turbulence en fonction de la vitesse d'oscillation de la grille, par la technique de PIV. La photo de droite représente le système pendant l'acquisition des paires d'images. Le faisceau LASER de couleur vert est facilement distinguable.

Fig. 2.6 Les différentes espèces phytoplanctoniques choisis pour l'approche expérimentale. A: *Asterionella formosa* ; B : *Pediastrum boryanum* ; C : *Spondylosium pulchellum* ; D : *Nephroselmis olivacea* ; E : *Cryptomonas curvata* ; F : *Aulacoseira granulata*

Table 3.1 Selected traits combinations. For each combination, two examples of dominant species are given (MLD, Maximum Linear Dimension (µm) of the unicellular, the colony or the filament).

Fig. 3.1 Location of sampling stations. Au corresponds to sites along the Aulne river and El to sites along the Elorn river. The smallest numbers correspond to upstream sites and the highest numbers correspond to downstream sites.

Fig.3 2 Spatial and temporal variations of measured values of (a) flow velocities, (b) TSS, (c) vegetation cover (white histogram, left axis) and Zeu/Zm ratio (black square, right axis), (d) nitrate, (e) TP and (f) chlrophyll *a* concentration in the Aulne and the Elorn rivers.Grey, black and empty circles correspond to data sampled in May, July and September respectively.

Fig. 3.3 Hierarchical clustering (Ward method) on the distance matrix (Hellinger distance) of Aulne and Elorn sites based on their morphofunctional group composition. Au1 correspond to the Aulne most upstream site, Au4 to the Aulne most downstream site, El1 to the Elorn upstream site and El2 to the Elorn downstream site; d1M, day 1 in May; d1J, day 1 in July; d1S, day 1 in September. Regulated sites are written in black script and unregulated sites in grey script.

Fig. 3.4 Correspondence analysis (CA) showing the explanatory variables (functional groups) of the sites dispersion. Axis 1 and Axis 2 explained 50.5% of the total inertia.

Fig. 3.5 The same CA that in Fig 3.4 showing the sites dispersion according to their functional groups composition.Au1 correspond to the Aulne most upstream site, Au4 to the Aulne most downstream site, El1 to the Elorn upstream site and El2 to the Elorn downstream site; d1M, day 1 in May; d1J, day 1 in July; d1S, day 1 in September. Regulated sites are written in black script and unregulated sites in grey script.

Fig. 3.6 Correspondence analysis using the most relevant morphofunctional traits explaining the phytoplankton community structure. Axis 1 and Axis 2 explained 77% of the total inertia.

Table 4.1 Morpho-functional and functional traits values for the different selected species

Fig. 4.1 The turbulence generating device is composed of three grids, each fixed on an arm connected to a moving frame. The translation motion controlled by an electric motor (not shown) of this moving frame results in a horizontally oscillation of grids. The velocity of the grids oscillation depends on the electric voltage intensity supplied to the motor. Hence, the same turbulence intensity is generated in each tank, which constitute three replicates. Each tank also constitutes a chemostat, since new medium is constantly supplied through a peristaltic pump. A same volume is also removed (tubes not shown) to keep the total volume constant (4.9L). This results in a dilution rate of 0.07 per day.

Fig.4.2 Hierarchical clustering (Ward method) on the distance matrix (Hellinger distance) of HT (High Turbulence) and LT (Low turbulence) replicates based on their species composition, were HT20_2 is the sample of high Turbulence modality, at day 20 from replicate 2.

Fig. 4.3 Total phytoplankton biomass at the end of the experiment (T20) in top (full bars) and bottom samples (hatched bars) under LT (ε= 7.9 10^{-1} $cm^2.s^{-3}$) and HT (ε= 7.8 10^{1} $cm^2.s^{-3}$).

Fig. 4.4 Dynamic of phytoplankton community (% of biovolume) under LT (ε= 7.9 10^{-1} $cm^2.s^{-3}$) and HT (ε= 7.8 10^1 $cm^2.s^{-3}$).

Fig. 4.5 Filament size of *Aulacoseira granulata* under High Turbulence in three replicates (HTR1, HTR2, HTR3) and under Low Turbulence (LTR1, LTR2, LTR3) at T0 and T20. * indicates significative differences ($p<0.05$; Mann-Whitney test).

Fig. 4.5 Filament size of *Aulacoseira granulata* under High Turbulence in three replicates (HTR1, HTR2, HTR3) and under Low Turbulence (LTR1, LTR2, LTR3) at T0 and T20. * indicates significative differences ($p<0.05$; Mann-Whitney test).

Table 5.1 Selected traits combinations. For each combination, two examples of dominant species are given (MLD, Maximum Linear Dimension (µm) of the unicellular, the colony or the filament).

Fig.5 1 Variations spatiales et saisonnières de la salinité, et des concentrations en MES ($mg.L^{-1}$) en Phosphore total dissous (en $\mu g.L^{-1}$) dans l'estuaire de l'Aulne (à gauche) et de l'Elorn (à droite). En juillet, le phosphore total (dissous + particulaire) est représenté (le phosphore total dissous n'a pas pu être dosé). Sur chaque graphique, le point situé à gauche du trait en pointillé représente la valeur du site en rivière pour chaque paramètre. Les flèches bleus représentent le débit des rivières, les flèches oranges le marnage de la marée.

Fig.5 2 Variations spatiales et saisonnières de la salinité et des concentrations en nitrates en silice dissoute (en $mg.L^{-1}$) dans l'estuaire de l'Aulne (à gauche) et de l'Elorn (à droite). Les concentrations en silice ne sont disponibles que pour les campagnes de juillet et de septembre. Sur chaque graphique, le point situé à gauche du trait en pointillé représente la valeur du site en rivière pour chaque paramètre.

Fig. 5.3 Variations spatiales et saisonnières de la salinité et de la concentration en MES (en $mg.L^{-1}$) et en chlorophylle a (en μg chl $a.L^{-1}$) dans l'estuaire de l'Aulne (à gauche) et de l'Elorn (à droite). Les concentrations en silice ne sont disponibles que pour les campagnes de juillet et de septembre.

Fig.5 4 AFC réalisée à partir des biovolumes des groupes fonctionnels présents dans le long de l'estuaire de l'Aulne et de l'Elorn. Les deux premiers axes expliquent 64% de l'inertie totale. Une synthèse des groupes de sites (en noir) ainsi que les traits fonctionnels qui les caractérisent (en rouge) est représentée. Explication des codes : A pour Aulne, E pour Elorn, les chiffres de 1 à 7 rendent compte de la salinité (l'augmentation d'une unité correspond à une augmentation de 5 de salinité, 1 étant la salinité 0 et 7 la salinité 30), M pour Mai, J pour Juillet et S pour Septembre.

Fig. 5.5 Dendrogramme effectué sur la matrice obtenue à partir du calcul de la distance de Hellinger entre les différents sites sur les biovolumes de différentes espèces. Une première séparation (voire chapitre 1 pour la méthode) permet de séparer un groupe constitué exclusivement de stations fluviales (GF) du deuxième groupe seulement composé de stations estuariennes (GE). Une deuxième séparation a été effectuée (en ne considérant que GE) et a permis d'obtenir huit clusters.

Fig. 5.6 Evolution de la diversité β normalisée par la distance en km entre deux stations, le long des deux estuaires pour les différentes saisons.

Fig. 5.7 AFC réalisée à partir des biovolumes des différentes espèces présentes dans le long de l'estuaire de l'Aulne et de l'Elorn. Les deux premiers axes expliquent 31.1% de l'inertie totale. Les ellipses correspondent aux huit clusters identifiés à partir du dendrogramme et de la distance d'Hellinger. Une synthèse des groupes de sites (en noir) ainsi que les traits fonctionnels qui les caractérisent (en rouge) est représentée. Explication des codes : A pour Aulne, E pour Elorn, les chiffres de 1 à 7 rendent compte de la salinité (l'augmentation d'une unité correspond à une augmentation de 5 de salinité, 1 étant la salinité 0 et 7 la salinité 30), M pour Mai, J pour Juillet et S pour Septembre.

Fig. 6.1 Exemple de mise en évidence du mucilage par la technique basée sur la coloration au bleu alcian (photo : Alexandrine Pannard).

Chapitre 1 :

Introduction Générale

I) Le phytoplancton : principaux rôles dans les écosystèmes aquatiques

Le terme phytoplancton désigne l'ensemble des microorganismes photosynthétiques unicellulaires. Ces organismes vivent en suspension dans la masse d'eau et de par leur capacité de déplacement limitée, leur distribution est en grande partie conditionnée par le mouvement des masses d'eau. Le phytoplancton forme un ensemble de microorganismes très diversifié en termes de taille (s'échelonnant du micromètre au 10^{e} de millimètre), d'organisation (solitaire, coloniale, filament), et de forme (Fig. 1.1). Il s'agit d'un groupe polyphylétique composé d'espèces qui appartiennent à différents groupes taxonomiques : les Bacillariophycées (encore appelées Diatomées), les Chlorophycées, les Chrysophycées, les Dinophycées, les Cryptophycées, les Chrysophycées, les Euglénophycées et les Cyanobactéries. Tous à l'exception des cyanobactéries sont des organismes eucaryotes.

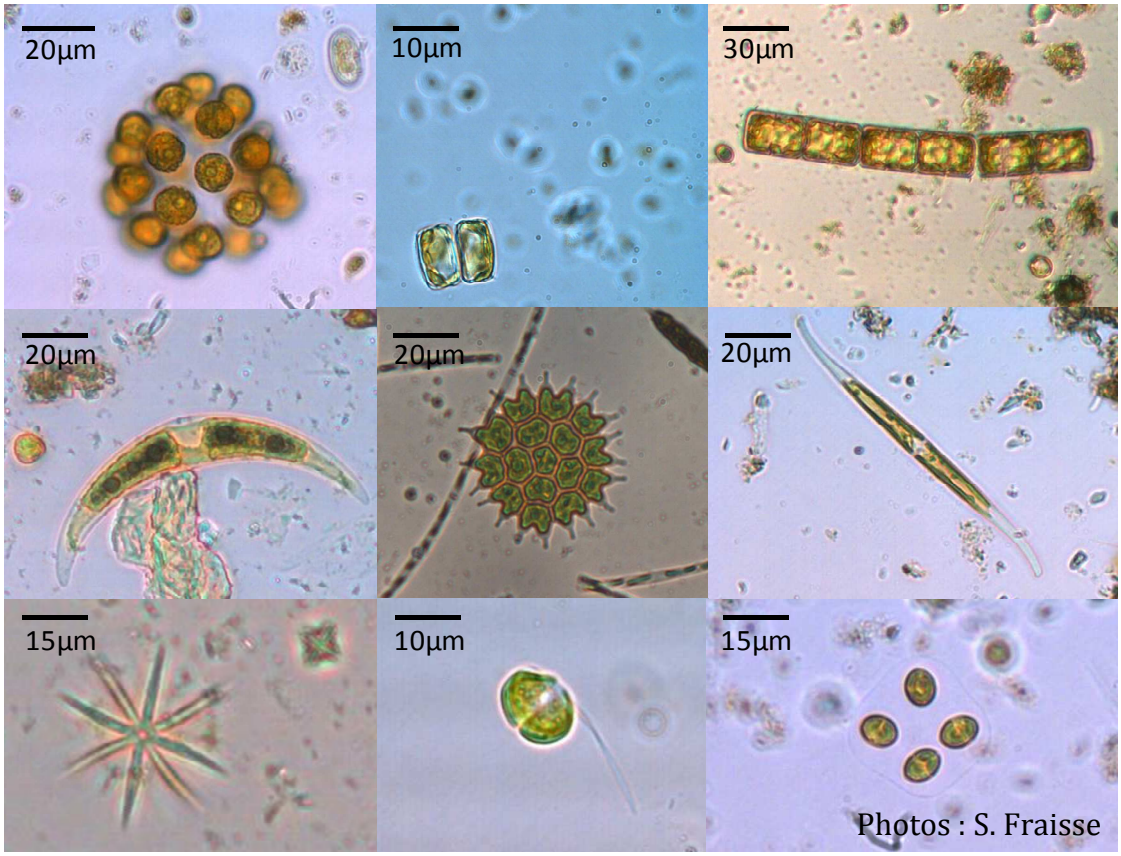


Fig. 1.1 Exemple de la diversité de taille et de formes chez les espèces phytoplanctoniques

Le phytoplancton joue un rôle crucial dans le fonctionnement des écosystèmes, en conditionnant notamment les cycles biogéochimiques d'éléments majeurs tels que le

carbone, l'azote, le phosphore et la silice. Représentant la moitié de la production primaire à l'échelle planétaire, il est responsable de la fixation de 50Gt de carbone par an (Falkowski *et al.*, 1998). En sa qualité de producteur primaire, le phytoplancton conditionne également la structure des réseaux trophiques. En effet, les organismes phytoplanctoniques sont très diversifiés, et présentent des différences en termes de qualité nutritive pour le zooplancton (Dickman *et al.*, 2008). En fonction de la stœchiométrie (rapport N/P notamment), de la composition en acides gras (Ahlgren *et al.*, 1990; Brett & Müller-Navarra, 1997) mais aussi de la taille et de la forme (Waite *et al.*, 1997; Litchman & Klausmeier, 2008) des espèces phytoplanctoniques présentes, l'efficience de transfert de matière vers les niveaux trophiques supérieurs peut être variable. La production de toxines par certaines espèces phytoplanctoniques a également un impact majeur sur le fonctionnement des écosystèmes aquatiques puisque celles-ci peuvent s'accumuler dans les organismes des niveaux trophiques supérieurs (Sotton *et al.*, 2012) et avoir un effet délétère sur la reproduction et la survie de ces espèces (Lance *et al.*, 2011). Par ailleurs, des phénomènes d'efflorescences (ou *blooms*) peuvent provoquer une anoxie de la colonne d'eau et aboutir à une mortalité massive de poissons (Havens, 2008).

II) Structure de la communauté phytoplanctonique

En écologie, une communauté est l'ensemble des populations de plusieurs espèces qui sous l'effet des contraintes environnementales coexistent de manière transitoire ou permanent dans l'espace et dans le temps (Gleason, 1939; Levin, 1999). Le regroupement en communauté de plusieurs espèces peut se faire sur la base de nombreux critères pouvant être liés à la taxonomie, à la position trophique, au mode de vie, à de multiples échelles spatiales. Parmi les contraintes agissant sur la communauté, on distingue les facteurs ascendants ou *bottom-up* des facteurs descendants ou *top-down*. Les premiers limitent la production de biomasse comme l'intensité lumineuse, les concentrations en nutriments, l'intensité de mélange de la colonne d'eau et la température. Les seconds agissent comme des suppresseurs de biomasse et englobent la prédation et le parasitisme par les protozoaires, les bactéries et les virus (Tilman *et al.*, 1982; Sommer *et al.*, 1986, 2012; Raven *et al.*, 2005). Certains de ces facteurs peuvent avoir une influence indirecte sur la communauté phytoplanctonique en agissant

sur d'autres facteurs comme c'est le cas par exemple de la turbulence qui peut augmenter l'effet de la prédation (Rothschild & Osborn, 1988).

Les espèces ont chacune des tolérances et un optimum de croissance pour des gammes de valeurs spécifiques de ces facteurs, définissant ainsi leur niche écologique[1]. Dans le cas de chevauchement de niches, c'est-à-dire de la présence d'espèces adaptées à des gammes de valeurs similaires d'une contrainte donnée, des phénomènes de compétition et d'exclusion compétitive se mettent en place et aboutissent à la sélection de l'espèce la plus adaptée (Gause, 1934). Cependant, les temps de réponses très courts du phytoplancton et les fréquentes fluctuations des paramètres environnementaux limitent ces phénomènes d'exclusion, et conduisent à la coexistence d'un grand nombre d'espèces (Hutchinson, 1961). Les contraintes environnementales et leurs variations vont ainsi définir structure de la communauté phytoplanctonique en contrôlant l'assemblage des différentes espèces.

A l'échelle annuelle, des variations de la structure de la communauté sont donc observées en réponse aux variations de l'importance relative des contraintes environnementales. Des motifs (*patterns*) saisonniers généraux de successions des espèces ont ainsi pu être identifiés, le plus connu d'entre eux étant le *Plankton Ecology Group (PEG) model* (Sommer *et al.*, 1986). Ce modèle conceptuel permet d'expliquer les changements de la communauté en réponse aux variations des conditions écologiques en utilisant les groupes taxonomiques. Cependant, l'utilisation seule de ces groupes taxonomiques peut s'avérer inappropriée puisqu'ils peuvent être constitués d'espèces caractéristiques de contraintes environnementales contrastées.

III) Le concept de traits fonctionnels

Les groupes taxonomiques sont composés d'espèces qui peuvent avoir des caractéristiques physiologiques et/ou morphologiques différentes. Certaines de ces caractéristiques déterminent leur interaction avec les contraintes environnementales et contribuent ainsi à l'occurrence, la dominance ou l'absence d'une espèce donnée : ils

[1] Hutchinson définit la niche d'une espèce comme le volume, dans l'espace des variables environnementales où l'espèce peut survivre indéfiniment (niche fondamentale), ou bien le volume, restreint du fait des interactions avec les compétiteurs présents, où l'espèce survit effectivement (niche réalisée).

sont alors qualifiés de traits fonctionnels (McGill *et al.*, 2006; Violle *et al.*, 2007). Les traits fonctionnels déterminent ainsi les processus de croissance et de perte. Ils sont de deux types : les traits fonctionnels physiologiques (ou écophysiologiques) et les traits fonctionnels morphologiques (ou morpho-fonctionnels).

1) Les traits écophysiologiques

Les traits écophysiologiques sont reliés aux processus de croissance et déterminent l'efficacité de la photosynthèse *via* la fixation de carbone et de l'acquisition des nutriments. Les traits reliés à l'efficience de la photosynthèse sont fondamentaux pour expliquer la structure de la communauté phytoplanctonique (Richardson *et al.*, 1983). Ils sont déterminés à partir de la relation existante entre le taux de photosynthèse et l'intensité lumineuse modélisée par les courbes P-E (*photosynthesis-energy*) (Fig. 1.2). Les valeurs que prennent ces traits sont variables en fonction des espèces et de leur historique lumineux, et vont conditionner la forme des courbes P-E. Il s'agit de l'efficience photosynthétique (α, pente à l'origine), du taux maximal de la photosynthèse (P_{max}) et de l'intensité lumineuse optimale (I_{opt}) pour laquelle P_{max} est atteint (Falkowski & Raven, 2007).

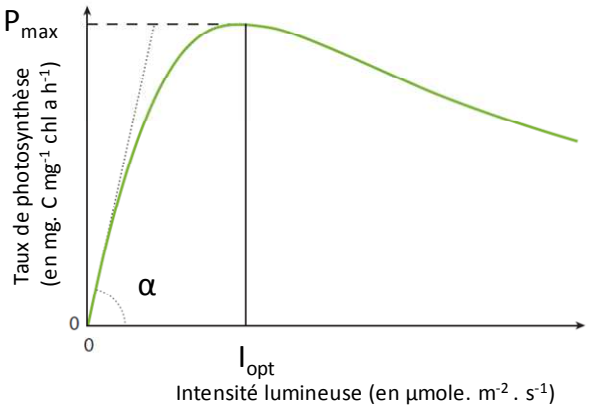


Fig. 1.2 Courbe P-I représentant la relation entre le taux de photosynthèse et l'intensité lumineuse et où apparaissent les différents trais écophysiologiques reliés à l'efficacité de la photosynthèse α, $P_{max,}$ et I_{opt} (D'après Litchman & Klausmeier, 2008)

Les autres traits écophysiologiques majeurs sont reliés à la prise de nutriments et au taux de croissance. La façon selon laquelle ils influencent ces deux paramètres peut être respectivement formalisée par les modèles de Michaelis-Menten et de Droop (Fig. 1.3).

Pour un nutriment donné, on distingue ainsi la constante de demi-saturation (K_s), le taux d'acquisition maximal (V_{max}), le quota minimum en deçà duquel la croissance de l'espèce considérée est nulle (Q_{min}) et le taux de croissance maximum (μ_{max}). Une façon de prendre en considération l'ensemble de ces traits est d'utiliser le ratio $V_{max}/(K_sQ_{min})$ qui correspond à l'affinité d'acquisition normalisée par le quota minimum (Tambi *et al.*, 2009). Plus ce ratio est élevé chez une espèce donnée, plus cette espèce est compétitive pour l'utilisation du nutriment considéré (Litchman *et al.*, 2007; Edwards *et al.*, 2011).

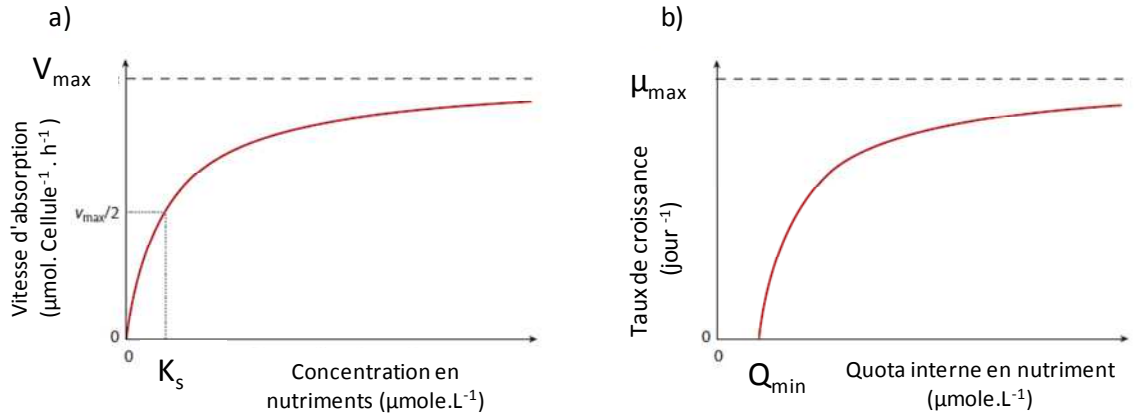


Fig. 1.3 Fonction décrivant (a) la vitesse d'acquisition des ressources en fonction de la concentration externe d'un nutriment donné (Michaelis-Menten) et (b) le taux de croissance en fonction de la concentration interne d'un nutriment donné (Droop). Les différents traits écophysiologiques sont représentés.

A partir de ces traits, l'issue de la compétition entre plusieurs espèces phytoplanctoniques en conditions contrôlées peut être prédite avec succès (Tilman, 1977; Passarge *et al.*, 2006). L'utilisation des traits écophysiologiques a également permis de prédire les abondances relatives des espèces dominantes *in situ*, le long de gradients environnementaux (Tilman, 1977; Elliott *et al.*, 1999; Lewis *et al.*, 2002; Huisman *et al.*, 2004). Les approches par les traits écophysiologiques présentent néanmoins des inconvénients majeurs. Ils ne sont renseignés que pour une petite fraction des espèces phytoplanctoniques et leur mesure nécessite la mise en place d'expérimentations en monoculture chronophages.

2) Les traits morphofonctionnels

Le phytoplancton présente une grande variété de traits morphologiques (Fig. 1). La plupart de ces traits influencent directement les processus de croissance et de perte en

conférant un avantage ou un désavantage en fonction de contraintes environnementales. Ils contrôlent par exemple les vitesses de sédimentation. Par ailleurs, ils constituent de bons proxys des traits écophysiologiques précédemment évoqués. L'ensemble de ces traits sont qualifiés de traits morpho-fonctionnels. Par opposition aux traits écophysiologiques, les traits morpho-fonctionnels sont facilement mesurables (Weithoff, 2003) et constituent ainsi une alternative pertinente et adaptée à l'étude de la communauté phytoplanctonique (Weithoff, 2003; Kruk *et al.*, 2010, 2011).

La taille cellulaire est un trait morpho-fonctionnel relié directement ou indirectement à de nombreuses fonctions écologiques. A ce titre, elle a été très utilisée pour comprendre la structure de la communauté phytoplanctonique (Cermeno, 2005; Kruk *et al.*, 2010; Barton *et al.*, 2013; Marañón *et al.*, 2013). Elle constitue par exemple un proxy des traits écophysiologiques reliés à l'acquisition des nutriments en étant négativement corrélée au ratio $V_{max}/(K_sQ_{min})$ (Edwards *et al.*, 2012), et de ceux reliés à l'efficacité photosynthétique en étant négativement corrélée à la concentration en chlorophylle (Ciotti *et al.*, 2002; Bricaud *et al.*, 2004). Il existe également une relation allométrique décroissante avec le taux de croissance maximum : plus une cellule est petite plus en moyenne son taux de croissance maximum est grand (Tang, 1995; Kruk *et al.*, 2010; Edwards *et al.*, 2012). Les réseaux trophiques aquatiques se structurent par la taille. En effet, on assiste généralement à une augmentation de la taille en fonction du niveau trophique. L'augmentation de la taille par la formation de colonies ou de filaments par exemple constitue donc un refuge vis-à-vis de la prédation (Kiorboe, 1993) mais présente l'inconvénient majeur d'augmenter la vitesse de sédimentation (Litchman & Klausmeier, 2008).

D'autres traits morphologiques sont également reliés à la vitesse de sédimentation et sont synthétisés dans la loi de Stokes[2] qui décrit la vitesse de sédimentation (V_s) d'une particule en milieu stagnant pour des faibles nombres de Reynolds[3] :

$$V_s = \frac{2gr^2(\rho' - \rho)}{9\eta\Phi} \qquad (1.1)$$

[2] Plusieurs paramètres sont ici complètement indépendants des traits morpho-fonctionnels. Il s'agit de l'accélération gravitationnelle (g), de la densité de l'eau (ρ) et de sa viscosité (η).

[3] Le nombre de Reynolds caractérise le rapport des forces inertielles et des forces visqueuses. A l'échelle du phytoplancton, et en conditions stagnantes, le nombre de Reynolds est très inférieur à 1, traduisant une nette dominance des forces de viscosité sur les forces inertielles.

Outre la taille de la particule (dont *r* symbolise le rayon), la vitesse de sédimentation dépend de sa densité (ρ'). Plusieurs traits conditionnent ce paramètre, certains augmentant sa valeur comme la présence de silice (Raven & Waite, 2004), d'autres la diminuant comme la présence de mucilage et/ou de vésicules à gaz (Walsby, 1994; Reynolds, 2007). L'effet de la forme des cellules ou des colonies sur la vitesse de sédimentation est représenté dans cette équation par le coefficient de résistance lié à la forme Φ. Il correspond au rapport entre la vitesse d'une sphère d'un volume équivalent à celui de la particule en question, et la vitesse de cette particule. Deux études majeures ont contribué à caractériser les différentes formes et à quantifier les coefficients Φ associés (Padisák *et al.*, 2003; Walsby & Holland, 2006) soulignant l'impact majeur de ce paramètre sur la vitesse de sédimentation.

La présence de flagelles chez certaines espèces est un trait morpho-fonctionnel relié à la motilité, qui permet aux espèces d'exploiter des zones où les nutriments sont plus concentrés comme cela a été montré chez les bactéries (Taylor & Stocker, 2012). La présence de flagelles peut, en conditions de faible turbulence, permettre aux cellules d'ajuster leur position dans la colonne d'eau et d'éviter ainsi la perte par sédimentation (Cózar & Echevarría, 2005).

Les groupes taxonomiques regroupent des espèces qui présentent des traits morpho-fonctionnels aux valeurs très contrastées. Les Chlorophycées sont par exemple composées d'espèces de tailles variables (de quelques micromètres, ex : *Chlamydomonas reinhardtii* ; à plusieurs centaines de micromètres ex : *Zygnema circumcarrinatum*), flagellés (ex : *Nephroselmis olivacea*) ou non (ex: *Scenedesmus dimorphus*), sphériques (ex : *Chlorella vulgaris*), filamenteuses (ex : *Spondylosium pulchellum*) ou en plan (ex : *Pediastrum duplex*). Les mêmes traits morpho-fonctionnels peuvent également être observés chez des groupes taxonomiques différents. Ainsi, les approches basées sur la taxonomie peuvent se révéler moins efficaces que celles basées sur les traits morpho-fonctionnels pour expliquer la structure de la communauté phytoplanctonique en réponse aux contraintes environnementales (Kruk *et al.*, 2010).

IV) L'approche morpho-fonctionnelle dans l'étude de la structure communauté phytoplanctonique

Margalef en 1978 est l'un des premiers à utiliser les traits morpho-fonctionnels pour expliquer la structure de la communauté phytoplanctonique. Il met en évidence le rôle des facteurs physiques sur la sélection des "formes de vie du phytoplancton"[4] en milieu marin. Quelques années plus tard, (Reynolds, 1980, 1984) propose une classification fonctionnelle en eau douce qui définit des ensembles regroupant des espèces coexistant sous certaines contraintes environnementales (milieux carencé en nutriments, stratifiés ou mélangés…), qu'il complète avec la prise en compte de traits morpho-fonctionnels en 2002 (Reynolds *et al.*, 2002). Il faut attendre 2010 pour qu'une classification basée uniquement sur les trait morpho-fonctionnels soit publiée, la MBFC ou *Morphologically Based Functional Classification* (Fig. 1.4) qui comprend sept MBFG ou *Morphologically Based Functional Groups* (Kruk *et al.*, 2010).

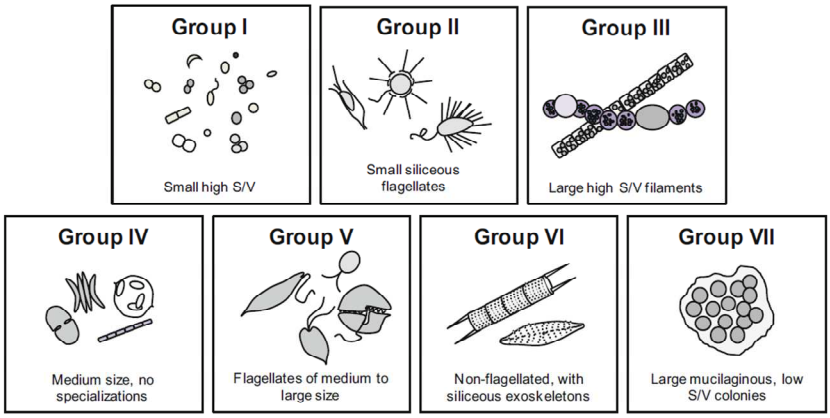


Fig. 1.4 Les différents groupes morpho-fonctionnels *MBFG* définis par Kruk *et al.* en 2010 (d'après Kruk & Segura, 2012)

Contrairement aux groupes de Reynolds *et al.* (2002), les MBFG sont basés sur un regroupement *a priori*, uniquement à partir des fonctions découlant des traits morphologiques. L'utilisation de cette approche s'est révélée plus performante qu'une approche taxonomique et que les groupes fonctionnels de Reynolds *et al.* (2002) pour

[4] De l'anglais "*life forms of phytoplankton*" traduit dans l'article de Margalef (1978) par "type biologique du phytoplancton". Nous avons opté pour une traduction plus littérale reflétant mieux l'aspect morphologique qui revêt une importance capitale dans l'article de Margalef (1978).

expliquer les variations de la structure de la communauté phytoplanctonique sur un grand nombre de lacs (Kruk *et al.*, 2011).

L'ensemble des études de structure de la communauté phytoplanctonique par des approches morpho-fonctionnels ont essentiellement été conduites en milieu marin ou en lacs (Kruk *et al.*, 2011; Segura *et al.*, 2011; Stanca *et al.*, 2013). Les approches morpho-fonctionnelles en rivière sont rares (Centis *et al.*, 2009; Stanković *et al.*, 2012). Par ailleurs, elles présentent certaines limites. En effet, l'étude de Centis *et al.* (2009) n'est basée que sur des groupes composés de diatomées, alors que les autres groupes taxonomiques peuvent constituer une part importante de la biomasse (eg. Rojo *et al.*, 1994). L'étude conduite par Stanković *et al.* (2012) compare la pertinence des groupes fonctionnels de Reynolds (2002) et des MBFG pour expliquer la structure de la communauté phytoplanctonique en rivière. Les auteurs montrent que l'approche basée sur les MBFG n'est pas appropriée puisque les regroupements de traits morpho-fonctionnels ont été effectués à partir des contraintes majeures agissant sur la communauté phytoplanctonique en lacs. Or, l'importance relative de ces contraintes en rivières peut s'avérer très différente.

V) La communauté phytoplanctonique en rivière

Sous l'effet des contraintes hydrodynamiques, le phytoplancton en rivière peut avoir plusieurs origines. On distingue le tychophytoplantcton (phytoplancton accidentel, ou allochtone) du phytoplancton autochtone ou potamoplancton (Reynolds *et al.*, 1994; Reynolds & Descy, 1996). Le tychophytoplancton désigne les espèces benthiques et épiphytiques remises en suspension, mais également des espèces provenant d'écosystèmes aquatiques adjacents, qui ont été importées dans la colonne d'eau sous l'effet des contraintes hydrodynamiques. Il peut représenter une fraction importante de la biomasse totale (Rojo *et al.*, 1994).

Les contraintes environnementales majeures agissant sur la communauté phytoplanctonique peuvent être scindées en deux catégories : les facteurs physiques

(temps de résidence, turbulence, lumière et température), et les facteurs chimiques[5]. Selon les systèmes considérés, l'importance relative de ces facteurs sur la communauté phytoplanctonique est variable. Les systèmes lotiques peuvent être vus comme un gradient continu de contraintes physiques engendrant des ajustements biologiques de la source jusqu'à l'estuaire. Cette considération inhérente au *River Continuum Concept* (Vannote *et al.*, 1980) s'applique aussi à la communauté phytoplanctonique. La biomasse totale tout comme la proportion du phytoplancton autochtone est plus élevée en aval qu'en amont (Vannote *et al.*, 1980). Le temps de résidence conditionné par le débit influence le phytoplancton qui atteint une biomasse plus forte quand le temps de résidence est élevé (Reynolds *et al.*, 1994; Stevenson & White, 1995; Lavoie *et al.*, 2010; Tavernini *et al.*, 2011). Le débit influence aussi le niveau de turbulence qui, lorsqu'il est insuffisant, limite le développement de phytoplancton, notamment des espèces présentant de fortes vitesses de sédimentation (Bormans & Condie, 1998; Balbi, 2000). La disponibilité en lumière constitue également un facteur de régulation du phytoplancton (Gosselain *et al.*, 1994; Devercelli, 2006). Elle dépend en partie des facteurs hydrodynamiques puisqu'ils influencent la charge de matière en suspension et donc la turbidité. Des *patterns* saisonniers de la biomasse du phytoplancton ont pu être observés identifiant ainsi une biomasse plus importante au printemps et en été, reliée à une augmentation de la température et du temps de résidence (Gosselain *et al.*, 1994; Bormans & Webster, 1999; Neal *et al.*, 2006; Kennedy & Whalen, 2007).

Dans d'autres systèmes, la concentration en nutriments est le facteur majeur de contrôle de la communauté (Moss & Balls, 1989; Basu & Pick, 1996; Smith, 2003; Dodds, 2007). Ha et *al.* (1998) avancent l'hypothèse selon laquelle les conditions hydrodynamiques seraient le principal facteur de régulation du phytoplancton. La concentration en nutriments ne jouerait un rôle majeur que lorsque le temps de résidence serait suffisamment long[6]. Cependant, à travers une étude basée sur 31 rivières dont certaines présentent des temps de résidence relativement courts (1 jour), Chételat *et al.* (2006) montrent toutefois que la biomasse du phytoplancton dépend principalement de la concentration en phosphore. Cette observation va à l'encontre de la

[5] A la différence des lacs, les facteurs biologique (prédation par le zooplancton) affectent peu la communauté phytoplanctonique à cause des temps de résidence relativement courts par rapport au taux de croissance des espèces zooplanctoniques (Reynolds & Descy, 1996)

[6] Les auteurs ne donnent cependant aucune valeur de temps de résidence.

hiérarchisation entre les paramètres physiques et chimiques proposée par Hal *et al*. (1998). D'autres études montrent une contribution identique des facteurs hydrodynamiques et de la concentration en nutriments (Wu *et al.*, 2010).

En fonction de l'influence relative de l'ensemble de ces contraintes, plusieurs traits morpho-fonctionnels peuvent ainsi être attendus dans la communauté. Par exemple dans le cas où le temps de résidence représenterait la contrainte majeure, une structuration de la communauté par la taille pourrait être attendue, avec les plus petites cellules (au taux de croissance plus élevé) caractéristiques des sites où le temps de résidence serait court (Chetelat *et al.*, 2006). Lorsque les conditions hydrodynamiques contrôlent la structure de la communauté à travers la turbulence, la communauté pourrait être structurée en fonction des traits relatifs à la résistance à la sédimentation (taille, forme, motilité). S'il s'agissait des nutriments, alors de nouveau une structuration par la taille pourrait être observée.

VI) La communauté phytoplanctonique en estuaires

Les estuaires constituent certainement le lieu où le gradient continu des contraintes environnementales se manifestant le long du *continuum* terre/mer est le plus marqué. A l'interface océan continent, ils conditionnent le passage dans le milieu océanique de la matière provenant des écosystèmes continentaux. Ce sont des systèmes où les paramètres hydrodynamiques jouent un rôle prépondérant puisque leur fonctionnement est influencé par le débit fluvial et les courants de marée quand ils existent. L'importance relative de ces facteurs, contraints entre autres par la géomorphologie (Lesourd *et al.*, 2003), varie entre les estuaires. On distingue ainsi, en fonction de l'amplitude de la marée, les estuaires microtidaux, mésotidaux et macrotidaux (Hayes, 1975). L'importance relative de ces facteurs varie également d'un point de vue temporel au sein d'un même estuaire, *via* la variation saisonnière du débit fluvial mais aussi *via* les différents cycles de la marée (montante/descendante ; vives-eaux/mortes-eaux). Dans les estuaires macrotidaux, la colonne d'eau peut être stratifiée verticalement sous l'effet des différences de densité entre eau douce et eau salée. Ceci engendre une double circulation dans les estuaires, les eaux douces s'écoulant en surface dans le sens amont-aval, et les eaux salées en profondeur dans le sens aval-amont. Cette double circulation peut engendrer une forte remise en suspension des

sédiments. Par ailleurs, la rencontre de masses d'eau aux propriétés contrastées résulte en des phénomènes de floculation qui donnent naissance au bouchon vaseux (Allen *et al.*, 1980; Eyre, 1998). La localisation de cette zone de très forte turbidité dépend des conditions hydrologiques.

La communauté phytoplanctonique est donc soumise à des gradients de contraintes très marqués en estuaire. Certaines de ces contraintes peuvent être les mêmes que celles des rivières comme le temps de résidence (Costa *et al.*, 2009; Butrón *et al.*, 2009), le niveau de turbulence (Lauria *et al.*, 1999; Lehman, 2007) ou la disponibilité en nutriments (Heip *et al.*, 1995) ou en lumière (Kromkamp & Peene, 1995; Gameiro *et al.*, 2007). En revanche, le gradient de salinité rencontré en estuaire est une contrainte supplémentaire dans le *continuum* terre/mer connue pour avoir des répercussions sur les cellules phytoplanctoniques notamment *via* les processus d'osmorégulation (Flöder *et al.*, 2010). La communauté phytoplanctonique de rivière va ainsi subir des transformations significatives le long de l'estuaire (Muylaert *et al.*, 2000; Brogueira *et al.*, 2007).

VII) Objectifs de la thèse

Comme nous l'avons évoqué, certains traits morphologiques confèrent un avantage sélectif (une meilleur *fitness*) aux espèces qui les possèdent, et sont alors qualifiés de traits morpho-fonctionnels. Cet avantage dépend des contraintes environnementales majeures agissant sur la communauté, et un trait avantageux dans des conditions données peut être désavantageux lorsque ces conditions changent. Inversement, un trait conférant un désavantage peut devenir avantageux.

Les premières questions auxquelles nous avons tenté de répondre dans cette thèse sont : *(i)* la communauté phytoplanctonique de rivière peut-elle être structurée selon les traits morpho-fonctionnels ? *(ii)* Emerge-t-il, à partir de différentes combinaisons de traits morpho-fonctionnels, des traits morpho-fonctionnels majeurs qui permettraient d'identifier les principales contraintes agissant sur la communauté phytoplanctonique ? Pour répondre à ces questions, nous avons opté pour une approche *in situ* et nous avons choisi deux petits fleuves côtiers où les concentrations en nutriments étaient suffisamment élevées pour ne pas limiter la croissance phytoplanctonique. Ces deux

fleuves présentaient des conditions hydrodynamiques contrastées conséquentes au degré de régulation différent entre les deux systèmes. Les différents sites que nous avons choisis présentaient des différences de niveaux de turbulence et de temps de résidence. Les réponses à ces questions constituent l'objet du chapitre 3 accepté dans la revue internationale à comité de lecture *Aquatic Ecology*. Ce chapitre est donc écrit en anglais.

Les contraintes hydrodynamiques, et notamment la turbulence, jouent un rôle majeur sur la structure de la communauté phytoplanctonique. Les traits morpho-fonctionnels en relation avec la vitesse de sédimentation peuvent donc jouer un rôle crucial. Deux questions principales émergent donc : *(i)* la structure de la communauté en fonction du niveau de turbulence peut-elle être prédite uniquement par les traits morpho-fonctionnels en relation avec la vitesse de sédimentation et le taux de croissance maximum ? *(ii)* Existe-t-il une plasticité des traits morpho-fonctionnel pour une même espèce lui permettant d'être adaptée à des niveaux de turbulence contrastés? Nous avons adopté une approche expérimentale en conditions contrôlées complémentaire de celle conduite *in situ*. Ceci nous a permis d'évaluer l'évolution de la structure de la communauté en fonction de différents niveaux de turbulence. Ces différents points seront développés dans le chapitre 4. Cette partie, en préparation pour la revue internationale à comité de lecture *Limnology and Oceanography: Fluid and Environment* est écrite en anglais.

Si des différences de contraintes hydrodynamiques peuvent conduire à la sélection de communautés phytoplanctoniques différentes, se pose la question de l'impact sur l'estuaire. Ainsi, dans le chapitre 5, nous nous sommes placés dans le cadre du *continuum* terre/mer en nous intéressant aux changements de la communauté survenant dans les estuaires. Deux questions majeures caractérisent ce chapitre : *(i)* la structuration de la communauté phytoplanctonique en estuaire peut-elle être expliquée par les traits morpho-fonctionnels ? *(ii)* quelle est l'influence de la communauté fluviale sur la structuration de la communauté estuarienne ? les différences entre une communauté phytoplanctonique sélectionnée dans une rivière régulée et celle provenant d'une rivière non régulée ont-elles un impact sur la communauté estuarienne? Pour répondre à ces questions, nous avons choisi les estuaires de l'Aulne et

de l'Elorn dont les parties fluviales présentent des différences dans leur degré de régulation. Cette partie est en préparation pour une soumission dans un numéro spécial sur la rade de Brest de la revue internationale à comité de lecture *Journal of Marine Science*.

Avant de répondre à ces différentes questions, les différentes méthodes de prélèvement, d'analyses physicochimiques et statistiques ainsi qu'une description du dispositif utilisé pour générer la turbulence sont synthétisées dans le chapitre 2.

Chapitre 2 :

Matériel et Méthodes

I) Présentation des sites d'études

L'Aulne et l'Elorn sont deux fleuves côtiers des départements du Finistère et des Côtes d'Armor, qui partagent le même exutoire, la Rade de Brest (Fig. 2.1). L'Aulne prend sa source dans les Monts d'Arrée sur la commune de Lohuec, et l'Elorn au pied du Tuchenn Kador. Ces deux rivières évoluent dans un même contexte géo-climatique, et leur bassin versant sont tous deux le siège d'une intense activité agricole. La nature lithosphérique similaire de leur bassin versant est dominée par des roches riches en silice, principalement des schistes et des granites (Lague *et al.*, 2000).

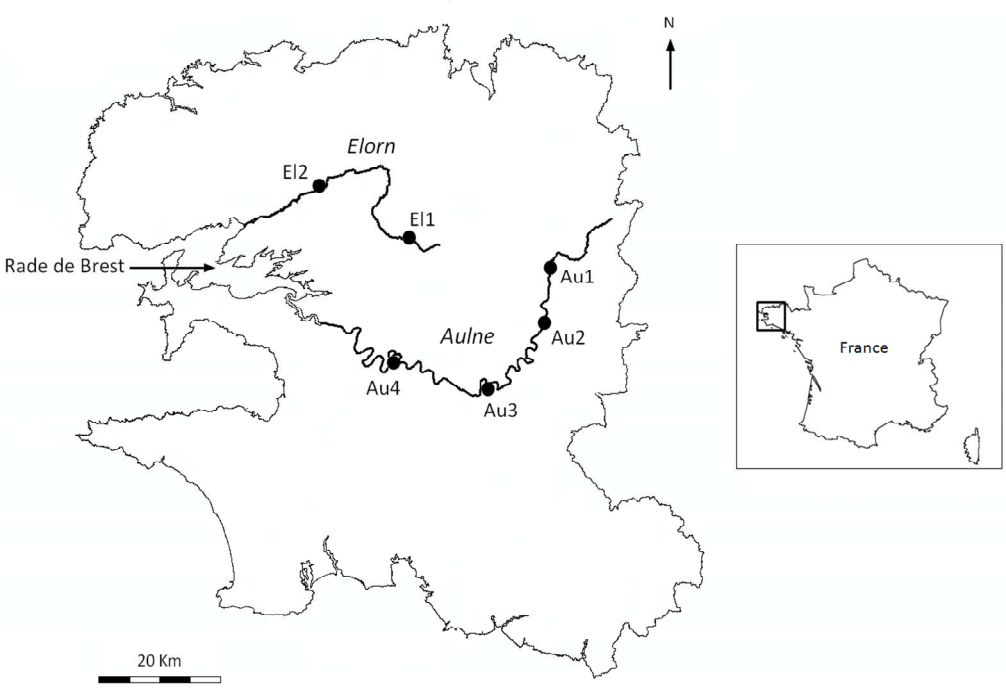


Fig. 2.1 Situation géographique de l'Aulne et de l'Elorn et des différents sites de prélèvement.

Les deux rivières se différencient néanmoins sur différents points. L'Aulne constitue la rivière la plus longue (140 km) et draine un bassin versant de 1 875 km^2. Son débit journalier oscille entre 24.3 $m^3.s^{-1}$ en été et 214 $m^3.s^{-1}$ en hiver pour une moyenne de 24.3 $m^3.s^{-1}$ sur les années 2009-2010 (débit mesuré à Plouédern, situé entre les deux sites de prélèvement définis dans le prochain paragraphe). L'Elorn (45 km) est alimentée par un bassin versant sept fois moins étendu (252 km^2). Son débit journalier oscille entre 1.5 $m^3.s^{-1}$ en été et 50.7 $m^3.s^{-1}$ en hiver pour une moyenne de 5.78 $m^3.s^{-1}$ sur

les années 2009-2010 (débit mesuré à Châteauneuf du Faou) (Fig. 2.2). La différence majeure qui a orienté le choix de ces sites porte sur l'hydrodynamisme. L'Aulne possède un grand nombre d'écluses, notamment dans sa partie aval, ce qui n'est pas le cas de l'Elorn. Cette différence dans l'intensité de régulation du débit résulte en des conditions hydrodynamiques bien différentes.

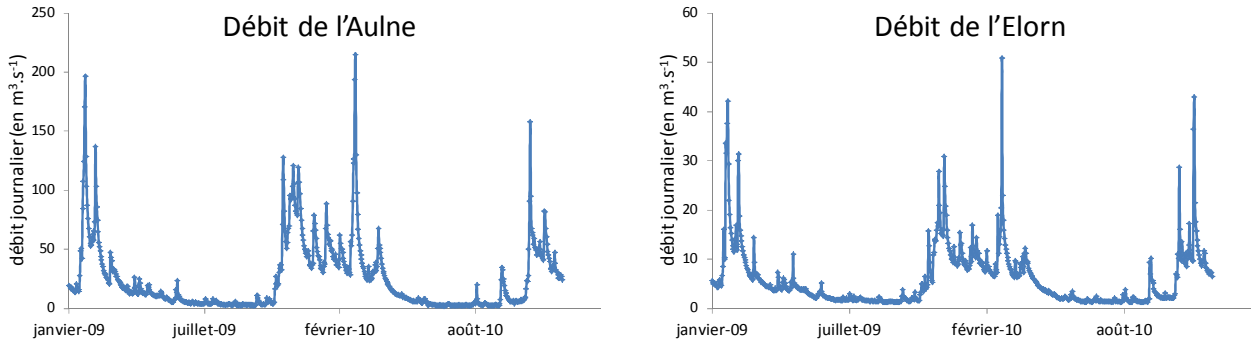


Fig. 2.2 Variations annuelles du débit journalier de l'Aulne et de l'Elorn de janvier 2009 à décembre 2010 (http://www.hydro.eaufrance.fr/selection.php).

Pour l'étude en rivière, deux sites non régulés (Kerlac'h Guen, Au1 et Locmaria-Berrien, Au2) situés en amont et 4 sites régulés (Château neuf du Faou, Au3 ; Chateaulin, Au4) ont été choisis sur l'Aulne, et deux sites (Sizun, El1 ; Landerneau, El2) sur l'Elorn (Fig. 2.1). Dans la suite de ce manuscrit, les différents sites seront désignés par les abréviations suivantes (Au1, Au2, Au3, Au4, El1, et El2) avec "Au" pour Aulne et "El" pour Elorn, les chiffres représentant l'ordre des stations dans le sens amont aval.

Chacune de ces rivières débouche sur un estuaire de type macrotidal, d'un marnage moyen de 4.2m. Les deux estuaires se différencient par leur morphologie (sinueux pour celui de l'Aulne, rectiligne pour celui de l'Elorn) et par des apports d'eau douce plus élevés dans l'estuaire de l'Aulne. Pour l'étude en estuaire, les sites de prélèvement ont été choisis en fonction de leur salinité. Sept stations toutes les 5 unités de salinité (de salinité 0 à salinité 30) ont été échantillonnées.

II) Analyses physicochimiques et biologiques

1) Sur le terrain

Trois campagnes d'échantillonnage (mai 2009, juillet et septembre 2010) d'une durée de trois semaines chacune ont été effectuées afin de rendre compte de la variabilité saisonnière. Pendant ces trois semaines, les différents sites de rivière ont été échantillonnés entre 4 et 5 fois afin de rendre compte de la variabilité court terme (Pannard *et al.*, 2007). Les sites estuariens ont été échantillonnés à la fin de chaque campagne.

Les prélèvements d'eau ont été effectués grâce à une bouteille fermante horizontale (capacité 3L), 50 cm en dessous de la surface (Fig. 2.3). Parallèlement, les profils verticaux de température, pH, conductivité, PAR (*Photosynthetically Active Radiation*), oxygène dissous, turbidité et fluorescence (chlorophylle) ont été effectués grâce à une sonde Idronaut (Fig. 2.3).



Fig. 2.3 Photos illustrant la préparation de la bouteille fermante pour le prélèvement d'eau (photo de gauche), et l'ensemble de dispositif de filtration (photo de droite).

Une partie de l'eau prélevée a été filtrée sur filtre Whatman GF/F (0.7µm) pour les dosages de nutriments dissous et de chorophylle a (*Chl a*). Une partie de l'eau brute (non filtrée) a été fixée au lugol pour les comptages de phytoplancton et une autre partie a été conservée en l'état pour une identification taxonomique effectuée dans les 24h. L'ensemble de ces prélèvements a été conservé au froid (4°C) avant analyses.

2) En laboratoire

Les concentrations des différents éléments ci-dessous (phosphore, azote, et silice) ont été obtenues grâce à des dosages colorimétriques. Pour chacun de ces dosages, une gamme de solutions de concentrations connues a permis d'obtenir des courbes de calibration reliant l'absorbance et la concentration. Ces analyses ont été conduites sur les prélèvements issus des rivières, des estuaires et des différentes modalités réalisées dans le cadre de l'expérimentation en laboratoire.

Phosphore total dissous

La concentration en phosphore total dissous a été mesurée à partir des échantillons filtrés. Après une étape de minéralisation au persulfate de potassium en milieu acide, les ortho-phosphates résultant sont dosés en flux continu (Bran & Luebbe AA III) suivant la méthode développée par Murphy & Riley (1962). Les ortho-phosphates réagissent avec les ions molybdate et antimoine. La réduction de ce complexe par de l'acide ascorbique forme un composé bleu dont l'intensité de coloration mesurée à 880 nm dépend de la concentration en ortho-phosphates.

Nitrites et Nitrates

Les nitrites et nitrates ont été dosés en flux continu (Bran & Luebbe AA III). En condition acide, les nitrites réagissent avec le sulfanilamide pour former un composé diazoté qui, combiné au N-1-naphtylethylenediamine dihydrochloride, forme un composé rose dont l'absorbance est mesurée à 543 nm (Barnes & Folkard, 1951). Les nitrates ont été dosés de la même façon après qu'ils aient été réduits en nitrites dans une colonne de Cadmium.

Phosphore et Azote totaux

Les dosages de phosphore total et azote total ont été effectués à partir des échantillons non filtrés. Ces échantillons ont, dans un premier temps, subi une étape de minéralisation au persulfate de potassium à 115°C. Les ortho-phosphates et nitrates résultant de cette minéralisation ont été dosés selon les mêmes protocoles que décrits précédemment pour le phosphore total dissous et les nitrates.

Silice

Les ions silicates ont été mesurés dans un environnement acide (acide chlorhydrique) avec du molybdate d'ammonium (Rodier, 1978). L'absorbance du composé jaune issu de cette réaction a été mesurée à 410 nm, permettant d'en déduire la concentration en silicates.

Matières en suspension (MES)

La concentration en matière en suspension (MES) a également été évaluée à partir de filtrations sur des filtres Whatman GF/F pré-pesés. Les filtres ont ensuite été séchés à 105°C pendant une nuit et pesés une seconde fois, la différence permettant de déduire la concentration en MES. Une calcination complète à 550°C a ensuite été réalisée afin d'éliminer la fraction organique. Une troisième et dernière pesée a permis de calculer les concentrations en matière inorganique particulaire (MIP) et matière organique particulaire (MOP).

Chlorophylle a

Les dosages de chlorophylle a (Chl a) ont été réalisés selon la méthode de Lorenzen (1967) à partir de filtres Whatman GF/F ayant permis de filtrer un volume connu d'échantillon. Les filtres sont placés à 4°C dans de l'acétone à 90 % à l'obscurité pendant une nuit pour permettre l'extraction des pigments. Les échantillons sont de nouveau filtrés sur des filtres Whatman GF/F afin de retirer les particules. L'absorbance des différents extraits a été mesurée à 750 et 665nm, avant puis après acidification avec 10 µl d'acide chlorhydrique (1N). L'acidification permet de transformer la chlorophylle a en phéopigments. La concentration en chlorophylle a est alors calculée (Lorenzen, 1967) :

$$[Chl\ a] = \frac{26.7\ (A^{na} - A^{a})V_a}{V_f l} \qquad (2.1)$$

où : $$A^{na} = A^{na}_{665} - A^{na}_{750} \qquad (2.2)$$

et : $$A^{a} = A^{a}_{665} - A^{na}_{750} \qquad (2.3)$$

V_a est le volume d'acétone en millilitres (5mL), V_f est le volume filtré en litres (0.25 à 0.5L), et l la largeur de la cuve en centimètres du spectrophotomètre (1cm). A^{na} et A^{a} désignent respectivement les absorbances de l'échantillon non acidifié et acidifié aux différentes longueurs d'onde notées en indice.

La communauté phytoplanctonique

L'identification et les comptages des cellules phytoplanctoniques ont été réalisés en cuves Utermöhl à l'aide d'un microscope inversé (Lund *et al.*, 1958). Pour chaque échantillon, 45 champs au grossissement de x400 ont été comptés, correspondant à un nombre total de cellules supérieur à 200. Un balayage de la cuve complète a été effectué pour le dénombrement des espèces de tailles supérieures à 40µm. En estuaire, du fait des fortes concentrations en MES comparativement à la concentration en phytoplancton dans certains échantillons (notamment en juillet et septembre dans les zones amonts, photo en annexe), des dilutions très fortes ont dû être effectuées (250µL dans 10mL) et le nombre de 200 cellules dénombrées n'a pas pu être atteint. Ainsi, pour un même échantillon, plusieures cuves Utermöhl ont été comptées selon le même protocole précédemment évoqué, de façon à ce que le volume total soit supérieur ou égal à un millilitre.

Pour chaque échantillon, les mesures des différentes espèces ont été réalisées grâce au logiciel ImageJ sur 20 individus lorsque l'abondance était suffisante, et leur biovolume a été calculé (Hillebrand *et al.*, 1999; Sun & Liu, 2003).

III) Approche expérimentale

Une approche expérimentale a été mise en place pour tester si la structure de la communauté phytoplanctonique pouvait être prédite par les traits morpho-fonctionnels en fonction du niveau de turbulence. Avant de décrire le dispositif qui nous a permis de générer un niveau de turbulence donné, nous proposons un petit rappel sur la turbulence.

1) La turbulence et les différentes échelles associées

La turbulence est l'état de l'écoulement d'un fluide caractérisé par des mouvements tourbillonnant et résultant en des fluctuations aléatoires de sa vitesse. La turbulence engendre la formation de tourbillons de différentes tailles. La vitesse peut être décomposée en deux termes (décomposition de Reynolds) : la vitesse moyenne et la vitesse fluctuante reliée à la nature chaotique du mouvement turbulent. Un nombre sans dimension, le nombre de Reynolds (Re), permet de caractériser si l'écoulement d'un fluide est turbulent. Il représente le rapport des forces inertielles sur les forces visqueuses.

$$Re = \frac{UL}{\upsilon} \qquad (2.4)$$

où U représente la vitesse moyenne (en $cm.s^{-1}$), L une taille caractéristique (en cm) (généralement la taille du plus grand tourbillon) et υ la viscosité cinématique du fluide (en $cm^2.s^{-1}$). L'état turbulent est caractérisé par un nombre de Reynolds (*Re*) largement supérieur à 1, traduisant une nette dominance des forces d'inertie sur les forces de viscosité.

Les mouvements turbulents sont générés par des phénomènes de grande échelle (vent, marée, ondes internes…). L'énergie introduite à ces grandes échelles est ensuite transmise sous forme d'énergie cinétique aux plus petites échelles. Cette cascade d'énergie (Richardson, 1922) suit une pente en -5/3 et s'effectuent des tourbillons de grande taille vers les tourbillons de taille plus réduite. Aux plus petites échelles, les forces visqueuses deviennent prédominantes et induisent la dissipation de l'énergie cinétique sous forme de chaleur. Le taux de dissipation de l'énergie cinétique turbulente ε (*Turbulent Kinetic Energy*-ou TKE- *dissipation rate*) détermine la quantité d'énergie qui cascade des grandes échelles, et est généralement utilisé pour quantifier le niveau de turbulence. L'échelle à laquelle l'énergie cinétique est dissipée est nommée l'échelle de Kolomogorov (η_k) et dépend de la quantité d'énergie introduite dans le système. Plus la quantité d'énergie introduite est élevée, plus l'échelle de Kolmogorov est petite. Elle se calcule comme suit :

$$\eta_k = \sqrt[4]{\frac{\upsilon^3}{\varepsilon}} \qquad (2.5)$$

où υ représente la viscosité cinématique du fluide (en $cm^2.s^{-1}$) et ε le taux de dissipation d'énergie cinétique ($cm^3.s^{-1}$).

Bien qu'en dessous de cette échelle, les mouvements d'eau soient inexistants, des gradients de concentration de différents solutés peuvent subsister. Ceci amène à la définition de l'échelle de Batchelor (η_b) qui définit la plus petite échelle spatiale pour laquelle des gradients de concentration peuvent être maintenus malgré la diffusion moléculaire (qui tend à homogénéiser la concentration). Elle est calculée de la façon suivante :

$$\eta_b = \sqrt[4]{\frac{D^2.\upsilon}{\varepsilon}} \qquad (2.6)$$

où D représente la diffusion moléculaire du composé considéré (en $cm^2.s^{-1}$, généralement de l'ordre de 10^{-5} $cm^2.s^{-1}$ pour des composées comme le nitrate ou les orthophosphates), υ la viscosité cinématique du fluide (en $cm^2.s^{-1}$) et ε le taux de dissipation d'énergie cinétique ($cm^3.s^{-1}$).

2) Le dispositif expérimental

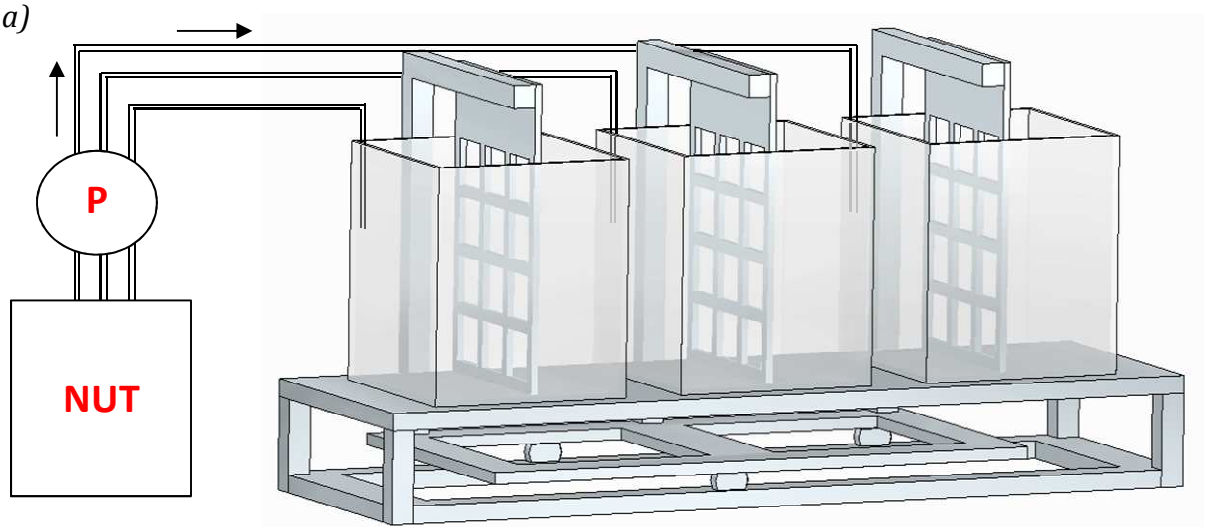
La génération de niveaux de turbulence a été permise grâce à un dispositif conçu et construit à l'IPR[7] (Fig. 2.4). Il est composé de trois grilles oscillant dans trois cuves en verre de dimension identique (17cm x 17cm x 23cm) permettant ainsi de conduire des expérimentations en triplicat. Pour la calibration de la turbulence et l'expérimentation, le niveau de liquide dans les trois cuves est de 17cm (soit 4.9L). Les grilles en polycarbonates (de 16 cm de larges) sont munies d'ouvertures de 4 cm x 4 cm séparées par un espace plein de 1 cm. Les grilles sont immergées de façon à ce que leur base soit positionnée à 5mm au-dessus du fond des cuves. Le rapport entre la surface ouverte immergée et la surface totale immergée est de 0.57. La turbulence est générée à partir du mouvement d'oscillation des grilles qui est permis grâce à un moteur électrique. En

[7] Institut de Physique de Rennes, UMR CNRS 6251

fonction de la tension électrique transmise au moteur, la vitesse d'oscillation des grilles et donc le niveau de turbulence seront variables.

Chaque cuve constitue un chémostat dont le taux de dilution a été fixé à 7% du volume total par jour.

a)



b)



Fig. 2.4 *a)* Représentation schématique du dispositif de génération de la turbulence et *b)* photo représentant le dispositif pendant la modalité de faible turbulence. "Nut" indique la source en nutriments et "P" la pompe péristaltique qui contrôle l'apport de ces nutriments.

3) Calibration du niveau de turbulence en fonction de la vitesse d'oscillation des grilles

Les niveaux de turbulence ont été calibrés par une technique de PIV (*Particle Imagery Velocimetry* (Fig. 2.5). Le principe de cette technique repose sur le calcul de la vitesse de traceurs qui matérialisent les mouvements d'eau. Dans notre étude, les traceurs utilisés sont des billes creuses en verre de 10µm de diamètre, recouvertes d'une fine couche d'argent. Un faisceau LASER a permis d'éclairer une section de la cuve. A l'intérieur de cette section, dans une fenêtre d'observation de 4cm x 4cm, les positions successives des particules ont été enregistrées à l'aide d'une caméra haute définition à une fréquence de 15Hz pendant 17secondes (soit 256 paires d'images). L'intervalle de temps entre deux paires d'images a été ajusté entre 4 et 10ms afin qu'il soit assez long pour permettre le déplacement d'une particule entre deux images successives mais suffisamment court pour que le déplacement ne soit pas trop grand et engendre une perte de corrélation entre les deux positions. Les mesures par PIV ont été effectuées pour deux configurations de positionnement de la caméra et du faisceau LASER afin obtenir les mesures de vitesses pour les trois dimensions de l'espace.

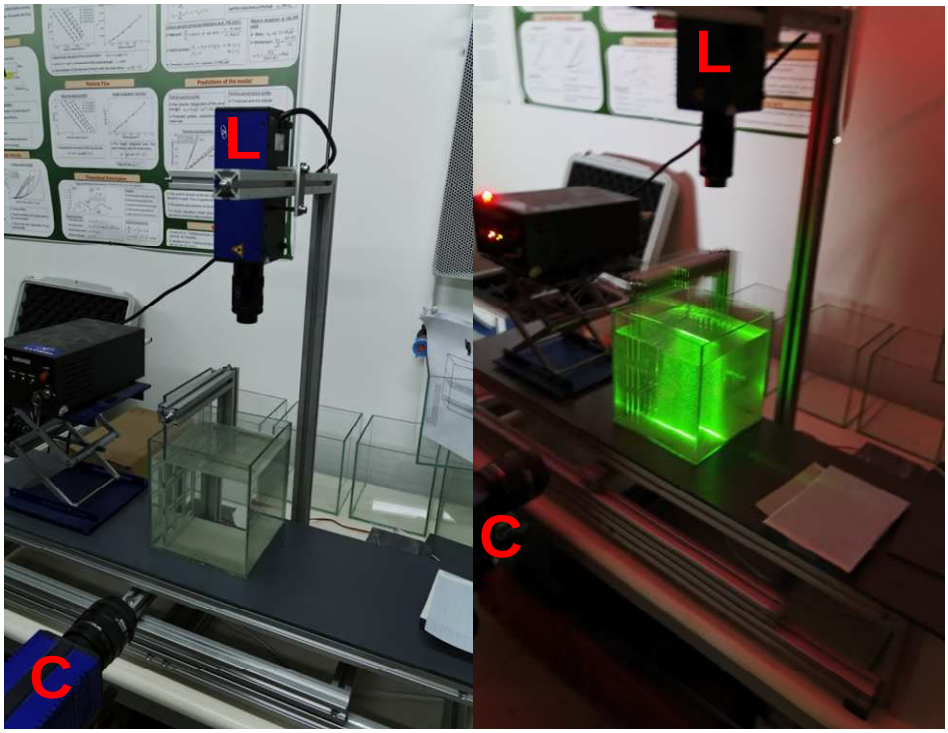


Fig. 2.5 Configuration de la caméra digitale (C) et du faisceau Laser (L) pour calibrer la turbulence en fonction de la vitesse d'oscillation de la grille, par la technique de PIV. La photo de droite représente le système pendant l'acquisition des paires d'images. Le faisceau LASER de couleur vert est facilement distinguable.

Pour chaque paire d'images, la vitesse moyenne quadratique ou RMS (pour Root Mean Squared) dans les différentes directions a été calculée et moyennée sur les 256 paires d'images :

$$RMS\ V_x = \frac{1}{256} \sum_{j=1}^{256} \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^{N} (v'_{ij} - \overline{v_j})^2} \qquad (2.7)$$

où $RMS\ V_x$ représente la vitesse moyenne quadratique moyennée sur les 256 paires d'images, N le nombre de déplacements enregistrés sur une paire d'image j, v_{ij}' la vitesse instantanée d'une particule i pour une paire d'image j, et $\overline{v_j}$ la vitesse moyenne pour une paire d'image j.

A partir de $RMS\ V_x$ $RMS\ V_y$ et $RMS\ V_z$ nous avons pu calculer la moyenne quadratique de la vitesse turbulente u définie de la façon suivante (Peters & Gross, 1994) :

$$u = \sqrt{RMS\ V_x{}^2 + RMS\ V_y{}^2 + RMS\ V_z{}^2} \qquad (2.8)$$

à partir de laquelle nous avons pu calculer un taux de dissipation d'énergie cinétique :

$$\varepsilon = \frac{Au^3}{l} \qquad (2.9)$$

où A est une constant de l'ordre de 1, et l est la taille du plus grand tourbillon, considéré comme étant la taille de la maille soit 4 cm (Peters & Redondo, 1997). En fonction de la vitesse d'oscillation de la grille, différentes valeurs de ε ont ainsi pu être calculées.

4) L'expérimentation

Deux niveaux de turbulence ont été testés sur une communauté phytoplanctonique "expérimentale" composée d'espèces issues de culture en laboratoire[8]. Il s'agit de :

- *Nephroselmis olivacea* (CCAP1960/4B), classe des Prasinophycées
- *Cryptomonas curvata* (CCAP979/62) classe des Cryptophycées
- *Aulacoseira granulata* (CCAP1002/1) classe des Bacillariophycées
- *Spondylosium pulchellum* (CCAP680/1) classe des Conjugatophycées
- *Pediastrum boryanum* (CCAP261/20) classe des Chlorophycées
- *Asterionella formosa*(CCAP1005/17) classe des Bacillariophycées

Ces espèces ont été choisies car disposant de valeurs contrastées pour les différents traits morpho-fonctionnels comme la taille, la densité, la forme, et la motilité (Fig. 2.6).

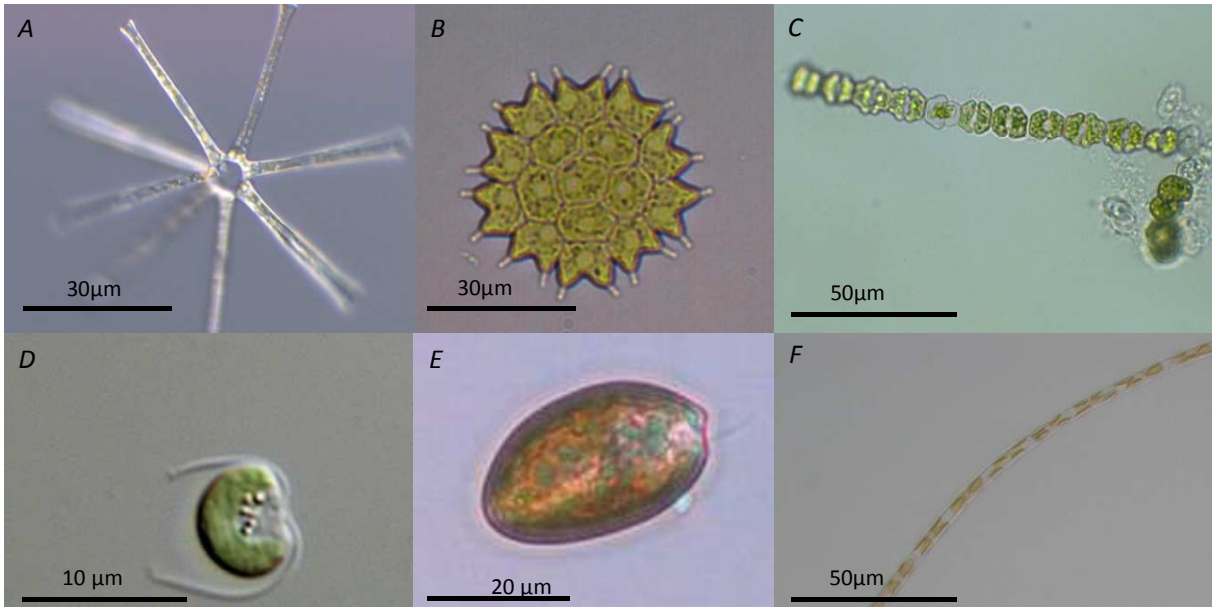


Fig. 2.6 Les différentes espèces phytoplanctoniques choisis pour l'approche expérimentale. A: *Asterionella formosa* ; B : *Pediastrum boryanum* ; C : *Spondylosium pulchellum* ; D : *Nephroselmis olivacea* ; E : *Cryptomonas curvata* ; F : *Aulacoseira granulata*

[8] Algobanque CCAP (Culture Collection of Algae and Protozoa)

IV) Analyses statistiques

Afin de mettre en évidence les différences de structure de communauté entre les différents sites (pour les campagnes sur le terrain) ou entre les réplicats des différentes modalités (expérimentation en laboratoire), nous avons calculé la distance de Hellinger (Legendre & Legendre, 1998). Elle s'affranchit des différences de biomasse et se calcule comme suit :

$$d_{site1_site2} = \sqrt{\sum_{j=1}^{p} \left[\sqrt{\frac{y_{1j}}{y_{1+}}} - \sqrt{\frac{y_{2j}}{y_{2+}}}\right]^2} \qquad (2.10)$$

où y_{1j} et y_{2j} représentent respectivement la biomasse de l'espèce j dans le site 1 et dans le site 2; y_{1+} et y_{2+} représentent la biomasse totale dans le site 1 et dans le site 2 A partir de la matrice des distances des sites deux à deux, une classification ascendante hiérarchique présentée sous la forme d'un dendrogramme a été réalisée selon la méthode de regroupement de Ward afin d'identifier les sites (ou les réplicats) présentant le plus de différences dans la structure de leur communauté. La méthode de Ward consiste à choisir à chaque étape le regroupement de classes tel que l'augmentation de l'inertie intraclasse, utilisée comme indice de niveau, soit minimum. Le recoupement pour identifier les différents groupes a été effectué grâce à l'histogramme des indices des niveaux de nœuds qui représente l'ensemble des distances classées par ordre décroissant. Le dendrogramme est coupé au niveau de la distance qui correspond au plus grand saut de distance identifié sur le graphique, et défini ainsi plusieurs groupes homogènes dans la structure de leur communauté.

Des analyses factorielles des correspondances ont également été réalisées. Ce type d'analyse permet de partitionner la variance (ou inertie) contenue dans des tableaux de contingence où les lignes représentent l'abondance des différentes espèces pour chaque site, et les colonnes l'abondance d'une espèce dans les différents sites. Elles résultent en la création de variables de synthèse (ou axes), chacun permettant d'expliquer une partie de l'inertie totale. La représentation graphique de l'AFC se fait selon deux axes (généralement ceux qui expliquent la plus grande fraction de l'inertie totale) et effectue une ordination des espèces et des sites simultanément, permettant de placer une espèce

à la moyenne des sites qu'elle occupe et inversement de placer un site à la moyenne des espèces qu'il contient. L'AFC est basée sur une distance du χ^2. Sur toutes les AFC effectuées, nous avons représenté sous la forme d'ellipse les groupes identifiés sur le dendrogramme à partir de la distance d'Hellinger. Le couplage de ces deux analyses permet d'augmenter la puissance de nos conclusions lorsque ces ellipses se recoupent peu sur la représentation graphique de l'AFC.

Chapitre 3 :

Morpho-functional traits reflect differences in phytoplankton community between rivers of contrasted flow regimes

Title: Authors: Stéphane Fraisse, Myriam Bormans and Yvan Lagadeuc

Morpho-functional traits reflect differences in phytoplankton community between rivers of contrasted flow regime.

Address: Université de Rennes 1, UMR CNRS 6553 ECOBIO, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex FRANCE

Corresponding author: steph.fraisse@gmail.com

Telephone: (+33)-2.23.23.50.57

Abstract

A morphofunctional traits approach has been adopted to identify how environmental factors shape the phytoplankton community. This approach has been applied in two rivers where hydrodynamical conditions are expected to be the main factor acting on the phytoplankton community. Hence, morphological traits (motility, shape, size, mucilage and silica) related to sedimentation resistance have been chosen. We have shown that differences in flow regulation through differences in flow velocities induce shifts in phytoplankton community. These shifts depend mostly on shape, buoyancy regulation and motility of phytoplankton cells. Elongated shapes are characteristic of unregulated sites with high flow velocities while cells able to regulate actively their position or to reduce their density (mucilaginous colonies) are found in regulated sites with low flow velocities. Flattened shapes are also characteristic of sites with rather low flow velocities. These results highlight the key role of flow velocity as a driving factor controlling the structure of phytoplankton community. In this study, flow velocity also structures phytoplankton community according to location rather than seasonality.

Key words: morphofunctional traits; shape; flow velocity; buoyancy; phytoplankton community structure.

Introduction

To explain and predict phytoplankton community composition, functional approaches are increasingly adopted. They are based on the assumptions that (i) phytoplankton is composed of several groups of species responding similarly to environmental conditions; (ii) their occurrence depends on the dynamic and relative importance of environmental factors (Weithoff, 2003). Groups originally developed by Reynolds (1980) and subsequently refined (Reynolds *et al.*, 2002; Padisák *et al.*, 2009) constitute one of the most famous functional approach and have been extensively used to explain phytoplankton community structure (eg. Gurbuz *et al.*, 2003; Becker *et al.*, 2009; Bovo-Scomparin *et al.*, 2012). Functional groups are constituted of species typically found at given environmental conditions and sharing similar functional traits (Reynolds *et al.*, 2002) which are any morphological, physiological or phenological features affecting ecological performance (McGill *et al.*, 2006; Violle *et al.*, 2007). Complementary functional approaches are springing up, aiming to build *a priori* functional groups only based on functional traits (Weithoff, 2003; Kruk *et al.*, 2010). Hence, a key step to adopt such approach is the identification of the relevant functional traits depending on environmental conditions acting on the community. However, physiological functional traits are not always easily measurable, inducing some difficulties to build *a priori* functional classification for community composition prediction (Kruk *et al.*, 2010). By contrast, morphological traits are more accessible because of their ease to be measured (Weithoff, 2003). Although they do not reflect all the ecological phytoplankton cells properties, they constitute great proxy for physiological traits. Indeed, several authors have shown a positive correlation between size and nutrient uptake (Reynolds, 2006; Litchman & Klausmeier, 2008), shape and resistance to sedimentation (Padisák *et al.*, 2003) or between size and light acquisition (Finkel *et al.*, 2004; Schwaderer *et al.*, 2011). Recently, Zhang et al. (2011) even showed that the photosynthetic efficiency within the same species varied with its morphology. Hence, some functional approaches based on morphological (or morphofunctional) traits have been built and successfully applied (Salmaso & Padisák, 2007; Mieleitner *et al.*, 2008; Kruk *et al.*, 2010; Longhi & Beisner, 2010). Recently, Kruk et al. (2011) tested their Morphology-Based Functional Groups (MBFC) against environmental conditions for a large dataset (211 lakes) covering a wide range of conditions. They showed that

more variation in phytoplankton community attributed mainly to nutrients (Silica and Nitrogen) and grazer abundance differences can be explained using MBFG than using Reynolds Functional Groups (Reynolds *et al.*, 2002).

In rivers, some functional studies have recently been conducted explaining for instance the natural changes of phytoplankton in the Loire River (Abonyi *et al.*, 2012) or the phytoplankton community response to extreme hydrological event in Paraná River (Devercelli, 2010). They were performed using Reynolds Functional Groups (Reynolds *et al.*, 2002) but other studies have also been conducted using morphofunctional approaches (Centis *et al.*, 2009; Stanković *et al.*, 2012). However, both reported studies based on morphological approaches had some limitations. On one hand, the morphofunctional classification of Centis *et al.* (2009)only considered diatoms while other groups can constitute a significant part of the community. On the other hand, the Morphological Based Functional Classification used by Stanković *et al.* (2012)in four rivers in Croatia was originally designed for lakes, the authors showed that it was not applicable for rivers since the relative importance of driving forces controlling the phytoplankton community is different in rivers than in lakes. Hence, an approach with morphofunctional traits that are related to the dominant factors in rivers is still lacking.

Physical factors, in particular flow often show a continuous gradient from upstream to downstream resulting in a continuum of biotic adjustments described as the River Continuum Concept (Vannote *et al.*, 1980). Thus, physical factors are known to play a key role on river phytoplankton community and are moreover impacted by river regulation which enhances their range of values (Stevenson & White, 1995; Reynolds & Descy, 1996; Bormans & Condie, 1998; Salmaso & Zignin, 2010). Numerous morphological traits responding to flow and affecting the sinking velocity then could be key traits that could explain phytoplankton differences under contrasting hydrodynamical conditions. Motility and in particular the presence of flagella confers an advantage in less turbulent conditions since cells are able to regulate their position in the water column (Tam & Hosoi, 2011). Buoyancy regulation by reducing cell density through the presence of gas vesicles or large amount of mucilage (Peperzak *et al.*, 2003; Reynolds, 2007) is also an advantage in such environmental condition. The presence of silica, which increases density and sinking rate, is a disadvantage in stagnant water

(Sommer, 1996). Shape plays a key role, as Padisák *et al.* (2003) demonstrated its impact on the sinking velocity and in particular, that the symmetrical localization of cells in a flattened colony could reduce the sedimentation rate by increasing the form resistance (φ). Three types of shape can be distinguished: flattened, spherical, and elongated shape. Size is also a key trait involved in settling velocity since larger cell sink faster than smaller ones (Pannard *et al.*, 2007). In this contest of sedimentation, it is the size of the entire colony or filament which is relevant.

The aim of this study is to show whether an approach based on morphofunctional traits could be used in rivers to predict phytoplankton community composition. As this approach is scarcely used in rivers, we chose simple systems diverging in terms of flow regulation and where hydrodynamical conditions are expected to be the main factor acting on the community. Hence, we hypothesized that morphofunctional traits mentioned above (motility, shape, density and size) related to sedimentation resistance could be used to differentiate phytoplankton community structures in these rivers. We first chose a wide selection of traits and attempted to identify the most relevant ones.

Materials and methods

1) Morphofunctional traits selection

We chose morphofunctional traits related to sedimentation resistance mentioned in the introduction: motility, shape, density and size. Combination of these traits resulted in 14 groups used to test our hypothesis (Table 3.1). Considering these traits, more than 14 groups could have been constituted, but corresponding species did no not occur at the sampling sites. Through these groups, we do not aim to propose a generalizable classification, but just to test if morphological traits can be used to explain phytoplankton community in rivers.

We made the choice to gather unidentified two Nostocales and Oscillatoriales species in Group N. Indeed, depending on their taxonomical affiliation, they can be pelagic (and display gas vesicles) or benthic. We considered the two possible origins to explain our results.

Table 3.1 Selected traits combinations. For each combination, two examples of dominant species are given (MLD, Maximum Linear Dimension (µm) of the unicellular, the colony or the filament).

Absence of motility structure	Colonial form	Flattened shape	Presence of silica	MLD >25µm	**Group A** (*Asterionella formosa*; *Nitzschia fruticosa*)
			Absence of silica	MLD >25µm	**Group B** (*Pediastrum boryanum*; *Pediastrum duplex*)
				MLD <25µm	**Group D** (*Actinastrum hantzschii; Pediastrum tetras*)
		Spherical shape (3D)	Presence of large amount of mucilage	MLD >25µm	**Group E** (*Eudorina elegans; Sphaerocystis* sp.)
	Filamentous species (elongated shape)	MLD >25µm			**Group F** (*Melosira varians; Spondylosium pulchellum*)
	Solitary form	Flattened shape	Presence of silica	MLD <25µm	**Group G** (*Cyclotella* sp.; *Stephanodiscus* sp.)
		Spherical shape	Absence of silica	MLD <25µm	**Group H** (*Tetraedron* sp.; *Cosmarium* sp.)
		Elongated shape	Presence of silica	MLD <25µm	**Group I** (*Craticula* sp.)
				MLD >25µm	**Group J** *(Nitzschia acicularis; Navicula lanceolata)*
			Absence of silica	MLD <25µm	**Group K** (*Hyaloraphidium* sp.; *Selenastrum* sp.)
				MLD >25µm	**Group L** (*Closterium acutum; Closterium monoliferum*)
Presence of motility or buoyancy regulation structure	MLD >25µm	With flagella			**Group M** (*Trachelomonas oblonga*; *Cryptomonas* sp.)
		With aerotopes			**Group N** (*Woronichinia naegeliana*)
	MLD <25µm	With flagella			**Group O** (*Nephroselmis olivacea*; *Rhodomonas* sp.)

2) Study area

We investigated the phytoplankton community in two rivers, Aulne and Elorn. They are located in Brittany (France) and constitute the main river input in the coastal ecosystem of the Rade de Brest (Fig. 3.1). They are[2] in the same geological and geographical context and with the same agricultural pressure inducing similar nutrient inputs. The Aulne river is more developed than the Elorn river with flow regulation at its downstream end. Six sites displaying some differences in terms of flow regulation were chosen. In this paper, the term regulation is applied for sites where flow is controlled by locks. Conversely, unregulated sites are free of locks. We chose 4 sites on the Aulne river: Au1 (48°20' N, 3°41' W), Au2 (48°15' N, 3°42' W), Au3 (48°11' N, 3°48' W) and Au4 (48°11' N, 4°4' W) and two sites on the Elorn river: El1 (48°24' N, 4°4' W) and El2 (48°28' N, 4°13' W). Au1 and Au2, the upstream sites of the Aulne river are free of locks as are El1 and El2. These sites are rather shallow (0.4m to 0.75m). By contrast, Au3 and Au4 are more developed with several locks to increase depth (1.7m and 2m respectively).

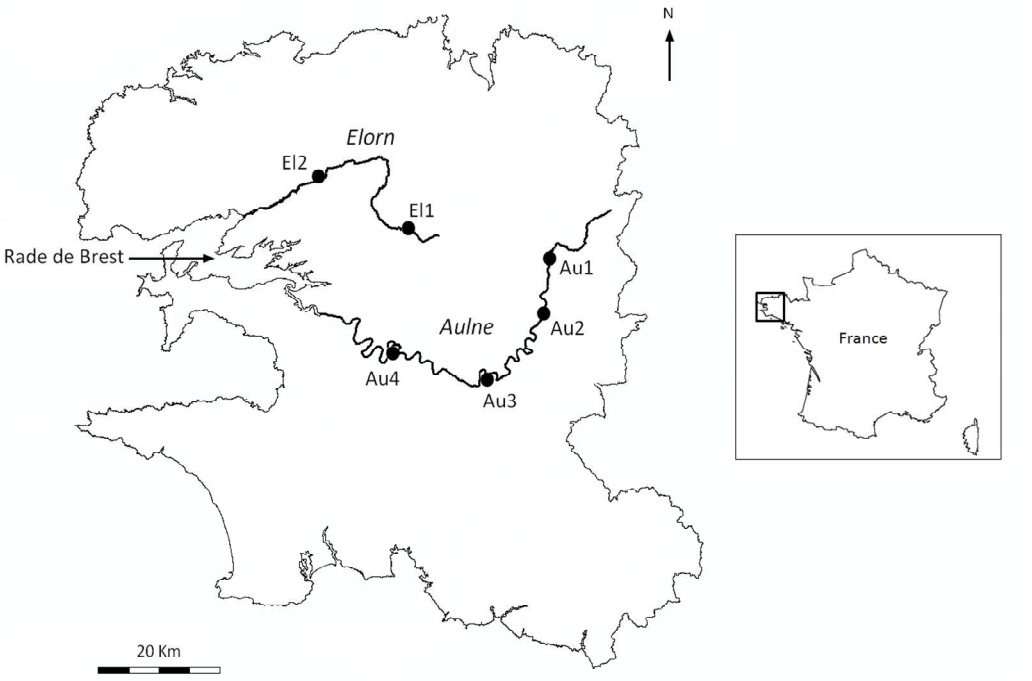


Fig. 3.1 Location of sampling stations. Au corresponds to sites along the Aulne river and El to sites along the Elorn river. The smallest numbers correspond to upstream sites and the highest numbers correspond to downstream sites.

3) Sampling and physicochemical analyses

Three field campaigns were carried out in May 2009, July and September 2010. Sites were sampled four (May and July) and five (September) times within three weeks. Temperature, pH, conductivity, dissolved oxygen, turbidity, PAR (Photosynthetically Active Radiation), chlorophyll fluorescence profiles were undertaken at each site using a Idronaut 316+ probe (Idronaut, Milan). Using PAR profiles, the Zeu/Zm (Zeu: euphotic zone depth; Zm: maximal depth) ratio was calculated. Samples of water were taken at 0.5m below the surface water with a horizontal 2-L Van Dorn bottle. Filtered (Whatman GF/F) water was analyzed by colorimetric methods for NO^-_3 (Barnes and Folkhard 1951) and Total Dissolved Phosphorus (TDP) (Murphy and Riley 1962) concentration. Due to dosage problem, TDP values for the July field campaign were not available. Unfiltered samples were also taken and analyzed for Total Nitrogen (TN) and Total Phosphorus (TP) by persulfate digestion. All nutrients determinations were performed by automated flow injection analyses (BRAN+LUEBBE, auto-analyser III). Two other filtrations were done to determine Total Suspended Solid (TSS) and phytoplankton biomass as chlorophyll *a* (described below). TSS filters were dried at 105°C and weighted. Ashing to 550°C was also done to determine the organic part.

Flow velocities were measured *in situ* and we calculated at each site the Froude number (Fr) which is a dimensionless number ($Fr = V/(gh)^{1/2}$) where V is the water velocity ($m.s^{-1}$), g the acceleration due to gravity ($9.81 m.s^{-1}$) and h the water depth (m) and reflect the hydrodynamical conditions. It has been used in rivers to distinguish pool, run and riffles habitats (Jowett, 1993). The residence time between each site was also estimated using flow velocities values, distance between sites and river section. Vegetation cover was estimated by a GIS approach (ArcGis 9.2) to evaluate the shading effect. An index was calculated integrating an upstream zone corresponding to a residence time of three days at each site. For the most upstream site Au1 and El1, the river upstream limit constrained the residence time to one day. For the index determination, a buffer zone of 10m on both sides of the river was drawn to calculate the ratio of the buffer surface intersecting vegetation to the total surface (river and buffer zone) to obtain a percentage of vegetation cover. While it is a simple index, it was sufficiently accurate to reveal differences between sites.

4) Phytoplankton biomass and community structure

For chlorophyll *a* extraction, filters were placed in 90% acetone at 4°C in dark vials during 24h. Then, concentration was determined spectrophotometrically before and after acidification with hydrochloric acid (Lorenzen, 1967). From chlorophyll *a* concentrations, we estimated phytoplankton cell carbon values following a 60:1 ratio. Phytoplankton samples were fixed with Lugol's acidified solution (1%) and kept in the dark before counting. Fresh samples were also collected to perform taxonomical identification. Algal counts and taxonomical identification were conducted with inverted microscope (Lund *et al.*, 1958) and biovolumes were calculated from the measurement of at least 10 individual cells of each species in each sample following Hillebrand *et al.* (1999) and Sun & Liu, (2003). According to the combination of their morphofunctional traits, phytoplankton taxa were distributed into the different functional groups (table 3.1).

5) Statistical analyses

To show differences in phytoplankton structure between sites, we calculated the Hellinger distance between each pair of sites according to the biovolume of morphofunctional groups. Hellinger distance was chosen because it is not influenced by the double zero and by total biomass differences (Lagadeuc *et al.*, 1997; Legendre & Legendre, 1998). We obtained a distance matrix on which we applied the Ward clusterisation method to obtain a dendrogram quantifying differences between sites according to their phytoplankton structure. A correspondence analysis (CA) was also done to show how functional groups characterized the clusters of sites. All statistical analyses were performed with the R software (R Development Core Team, 2010); Hellinger distance and multivariate analysis were performed with Vegan (Oksanen *et al.*, 2011) and Ade4 (Dray & Dufour, 2007) package respectively.

Results

1) Environmental conditions

As expected, regulated and unregulated sites clearly showed different physical conditions. Calculated daily flow velocities from the water discharge values are shown in

Fig. 3.2a. Two groups of sites can be drawn: those with low flow velocity (Au2, Au3 and Au4, mean ± SD=0.08± 0.09 $m.s^{-1}$, n=39) and the others with high flow velocity (Au1, El1 and El2, mean=0.52 ± 0.42 $m.s^{-1}$, n=39). These flow velocities corresponded to a Froude number varying between 0 and 0.07 for sites Au2, Au3, and Au4 and between 0.05 and 1.07 with most values above 0.1 in sites Au1, El1 and El2. Higher values in these sites reflect that they were more turbulent than Au2, Au3 and Au4. Seasonal variations in flow velocities occurred, with higher values in May for sites Au2, Au3, and Au4 (0.13 ± 0.04 $m.s^{-1}$ (n=12) versus 0.02 ± 0.01 $m.s^{-1}$ (n=12) in July and 0.09 ± 0.12 $m.s^{-1}$ (n=15) in September) and the lowest values in July for both groups. The water residence time is longer at regulated sites (range 1.5 to 11.4 days, Table 3.2) than at unregulated sites. At the latters, water residence time was particularly short, especially in May when it never excessed 0.5 days. The last days of the September campaign were two heavy rainy days inducing higher values in flow velocities. Total Suspended Solids (TSS) concentrations were low and exhibiting values never exceeding 15 $mg.L^{-1}$ (Fig. 3.2b) These low TSS concentrations resulted in high Zeu/Zm ratio (>1) (Fig. 3.2c) indicating that underwater light availability was high enough to sustain photosynthesis through the entire water column. However, unregulated sites displayed higher Zeu/Zm ratio (3.17±0.8) than regulated sites (2.06±0.7). They also exhibited differences in vegetation cover (Fig. 3.2c). In narrow rivers, the vegetative cover can affect the light climate in the water column through shading. In this study, sites Au1, El1 and El2 had a high vegetation cover (> 60%) while sites Au2, Au3 and Au4 had a vegetation cover which never exceeded 30%.

Table 3.2 The water residence time (days) between sites in May, July and September.

Residence time	Au1-Au2	Au2-Au3	Au3-Au4	El1-El2
May	0.36	1.61	1.96	0.28
July	1.63	7.69	9.78	0.63
September	1.20	6.58	11.41	0.88

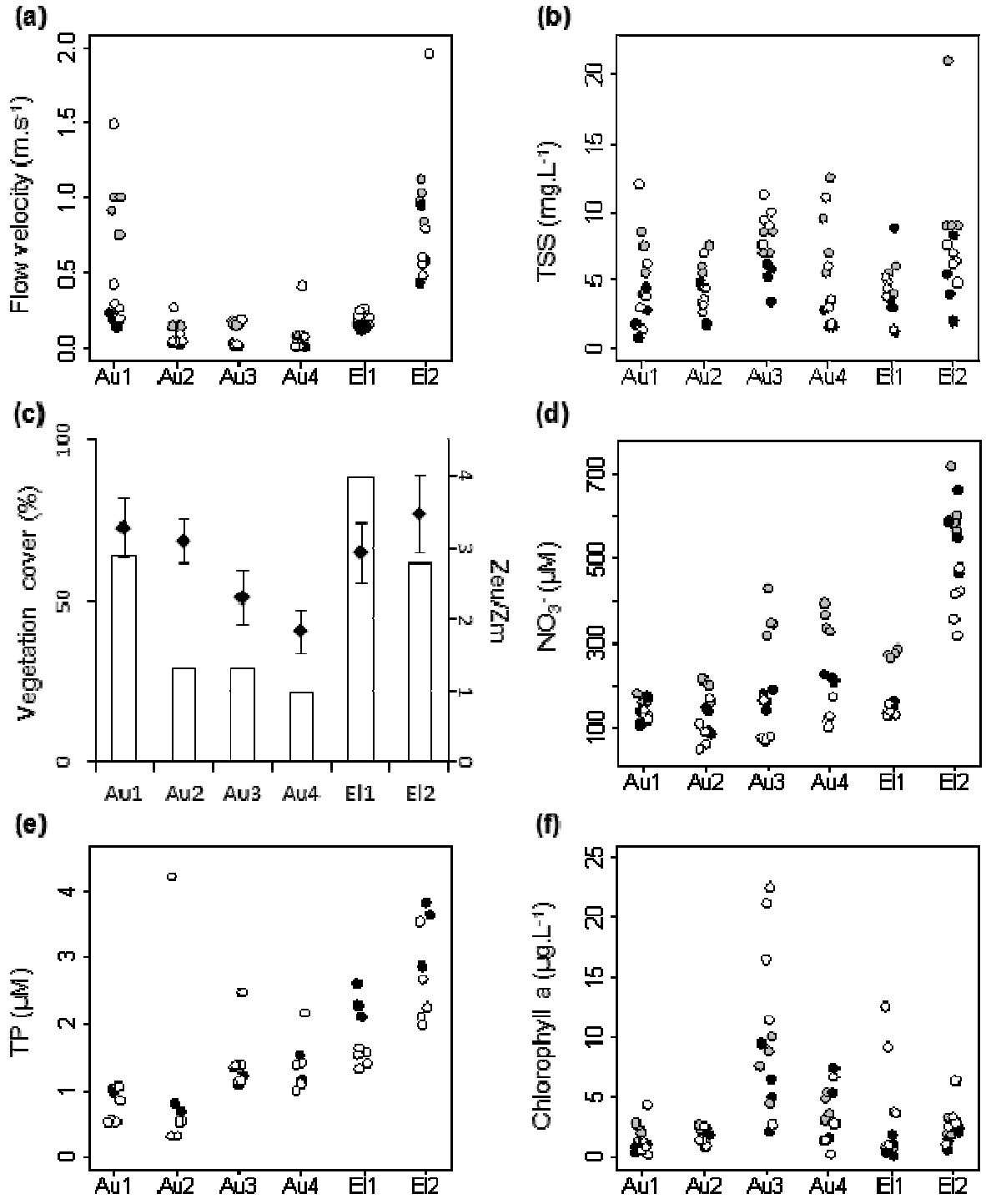


Fig. 3.2 Spatial and temporal variations of measured values of (a) flow velocities, (b) TSS, (c) vegetation cover (white histogram, left axis) and Zeu/Zm ratio (black square, right axis), (d) nitrate, (e) TP and (f) chlrophyll *a* concentration in the Aulne and the Elorn rivers.Grey, black and empty circles correspond to data sampled in May, July and September respectively.

Through all sampling periods, the unregulated site El2 on the Elorn River showed the highest concentration of nitrate (Fig. 3.2d). Along the Aulne River, nitrate concentration was homogeneous across sites (155.4 ± 41.5 µM (n=16); 110.7 ± 36.2 µM (n=20) in July and September respectively), except in May when regulated sites Au3 and Au4 exhibited higher values (357.2 ± 37.5 µM (n=8) versus 162.9 ± 64.7 µM (n=8) in Au1 and Au2). TP concentrations (Fig. 3.2e) showed similar spatiotemporal variations to nitrate concentrations with the highest values in site El2 3.4 ± 0.36 µM (n=4) in July and 2.5 ± 0.56 µM (n=4) in September. In the light of the generally low chlorophyll-a concentration (mean = 3.63 ± 4.29 $\mu g.L^{-1}$, n=78), it appears that nutrients were not limiting for phytoplankton growth either in the regulated or unregulated sites since phytoplankton carbon to total dissolved phosphorus ratio and to total dissolved nitrogen ratio never exceed 106 and 6.25 respectively (Reynolds, 2006).

2) Phytoplankton biomass and community structure

Average phytoplankton biomass, measured as chlorophyll *a* concentration was higher in regulated sites (6.4±5.8$\mu g.L^{-1}$; n=26) than in unregulated sites (2.1±2.2$\mu g.L^{-1}$; n=52) during the three sampling periods.

Taxonomic analysis showed that benthic species did not exceed 20% of the whole community biomass for 44 of the total 54 samples (20% to 30% for 6 of them and 30% to 50% for the last ones).

Sites' clustering using the Ward method showed that they could be split into 6 groups according to the biovolume of their functional groups (Fig. 3.3). Among these, there are three groups of unregulated sites and three groups of regulated sites. The largest differences obtained in the phytoplankton structure are based on location (regulated versus unregulated sites). For regulated sites, seasonal variation occurs at a lower clustering level discriminating sites sampled in May and sites sampled in July and in September.

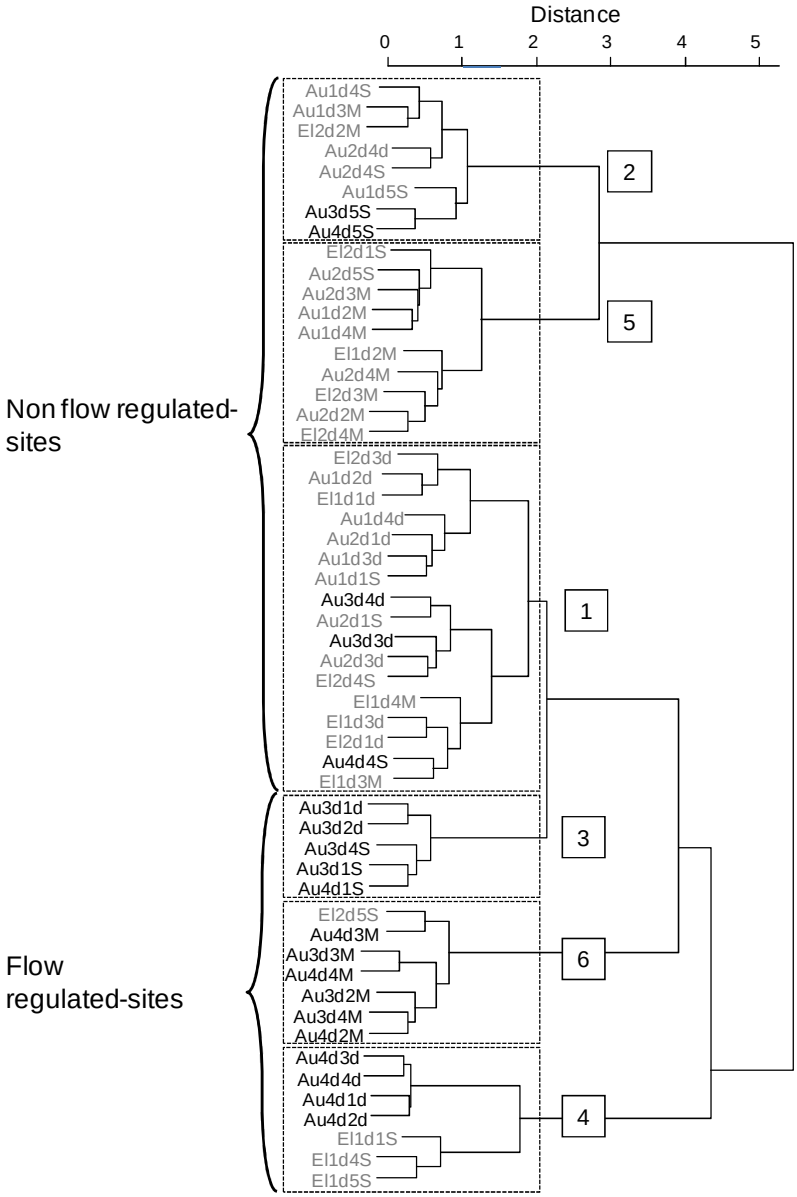


Fig. 3.3 Hierarchical clustering (Ward method) on the distance matrix (Hellinger distance) of Aulne and Elorn sites based on their morphofunctional group composition. Au1 correspond to the Aulne most upstream site, Au4 to the Aulne most downstream site, El1 to the Elorn upstream site and El2 to the Elorn downstream site; d1M, day 1 in May; d1J, day 1 in July; d1S, day 1 in September. Regulated sites are written in black script and unregulated sites in grey script.

The correspondence analysis (CA) also suggests that phytoplankton variability between sites can be explained in terms of morphofunctional traits (Fig. 3.4 (sites were hidden to increase the readability) and Fig. 3.5). The two first axes explained 50% of the total variation. Axis 1 discriminates functional group G from groups E, O and M (Fig. 3.4). Flagellated cells (group O and group M) were associated with group E, which gathers species organized in spherical colonies and displaying a large amount of mucilage. At the

opposite of axis 1, the group G is constituted by spherical cells with silica. Hence, in terms of functional traits, Axis 1 separates cells with silica from flagellated cells and mucilaginous colonies and therefore seems to be associated to the presence of structure reducing sinking velocities (flagellate and large amount of mucilage). Axis 2 allows the discrimination of three groups: *(i)* flagellated cells and colonies with mucilage, *(ii)* flattened shape (group D, group B and group A), and *(iii)* elongated shape (group F, group I, group J and group L) suggesting shape variation gradient. Size does not appear as a key factor structuring the community because the four largest groups identified in the CA were mainly related to motility and shape. Group N is composed of cells which can actively regulate their buoyancy, and the fact that it is associated with filamentous and elongated shape is a surprising result which will be discussed later.

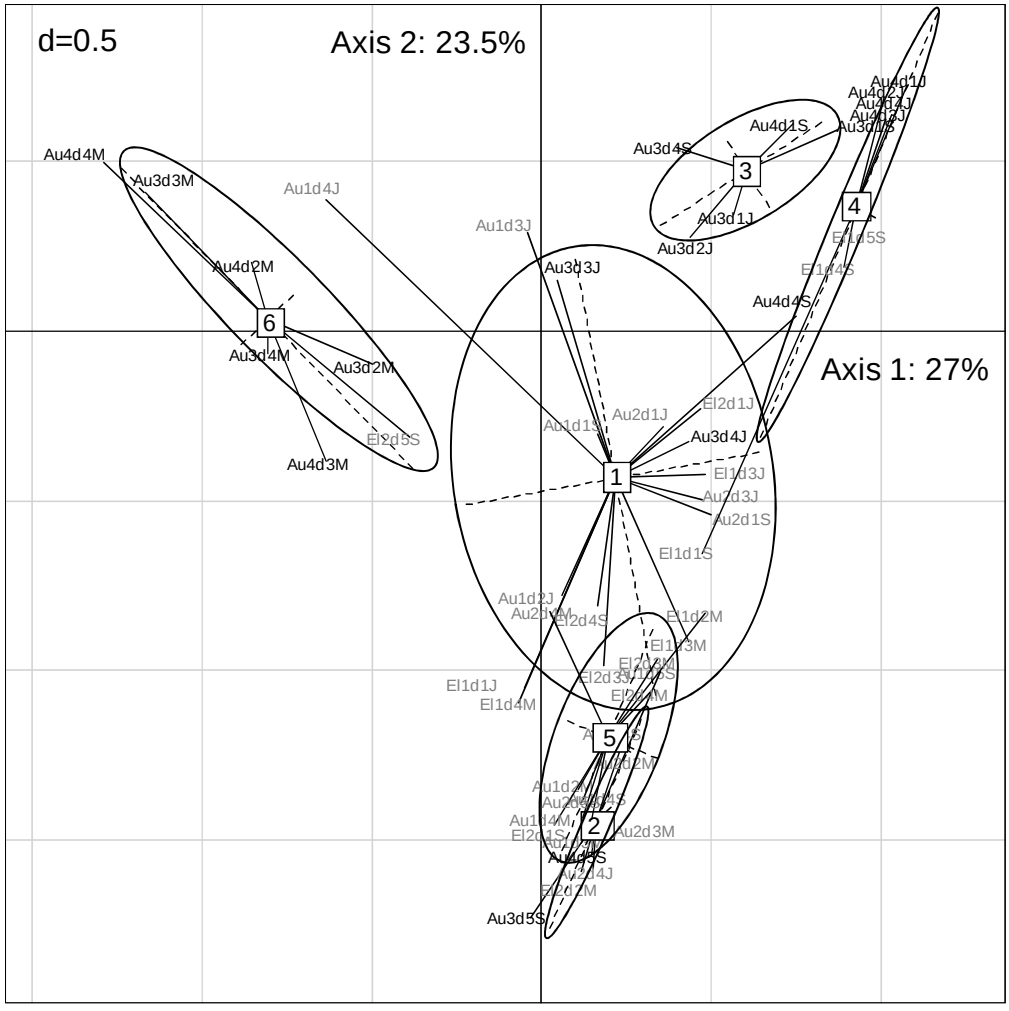


Fig. 3.4 Correspondence analysis (CA) showing the sites dispersion according to their functional groups composition. Au1 correspond to the Aulne most upstream site, Au4 to the Aulne most downstream site, El1 to the Elorn upstream site and El2 to the Elorn downstream site; d1M, day 1 in May; d1J, day 1 in July; d1S, day 1 in September. Regulated sites are written in

black script and unregulated sites in grey script.Axis 1 and Axis 2 explained 50.5% of the total inertia.

The sites' clusters from Figure 3.3 were positioned on the CA (Fig. 3.4). Their location in the factorial space shows that overlapping between clusters of unregulated sites (ellipse 1, 2 and 5) and clusters of regulated sites (ellipse 3, 4 and 6) is limited, displaying differences in community structure in terms of morphofunctional traits related to flow regulation (Fig. 3.4). Fig. 3.5 shows how functional groups explain the variability between unregulated and regulated sites. Regulated sites in May are associated with spherical cells with silica while they are dominated by flagellated cells and mucilaginous colonies in July and September. Clusters of unregulated sites are dispersed along Axis 2. Two clusters (5 and 2) are associated with filamentous, elongated shape, and cells with gas vesicles. However, the other one (cluster 1) gathering regulated and unregulated sites is associated with flattened colonies. Among these unregulated sites gathered by this cluster, we find a high proportion of data collected in site Au2 displaying low flow velocities (Fig. 3.2a) especially where vectors embodying flattened shape are present on the CA.

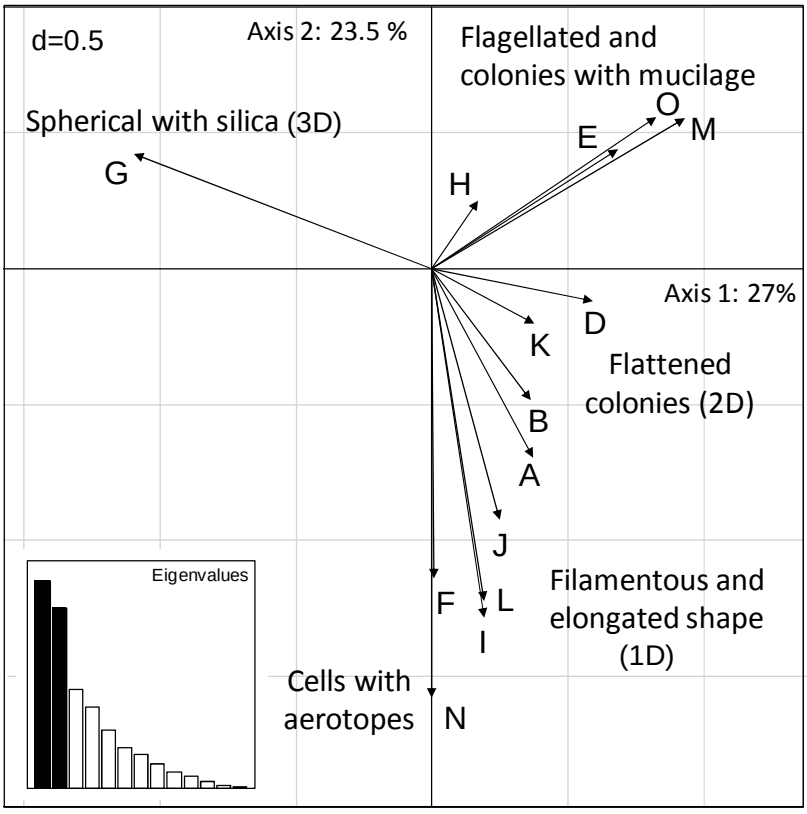


Fig. 3.5 The same CA that in Fig 3.4 showing the explanatory variables (functional groups). Axis 1 and Axis 2 explained 50.5% of the total inertia.

The goal of our approach was to select the most relevant morphofunctional traits which explain phytoplankton community structure. Thus, from this initial analysis, we retain 4 traits: flagella, mucilage, gas vesicles and shape. A new CA was performed based on these 5 traits combinations (Fig. 3.6). The main difference with the previous one is that more than 75% compared to 50% of the total variation is now explained by the first two axes. In addition, this new CA reduces overlapping between clusters 1, 2, 3 (regulated sites) and clusters 4, 5, 6, 7 (unregulated sites). This result highlights the relevance of these four traits to explain the differences of community structure we detected. By contrast, when the CA was conducted using taxonomic data (genus or class), all sites clusters overlapped. Neither genus nor class led to discriminate cluster sites as they are homogenously distributed in the CA projection.

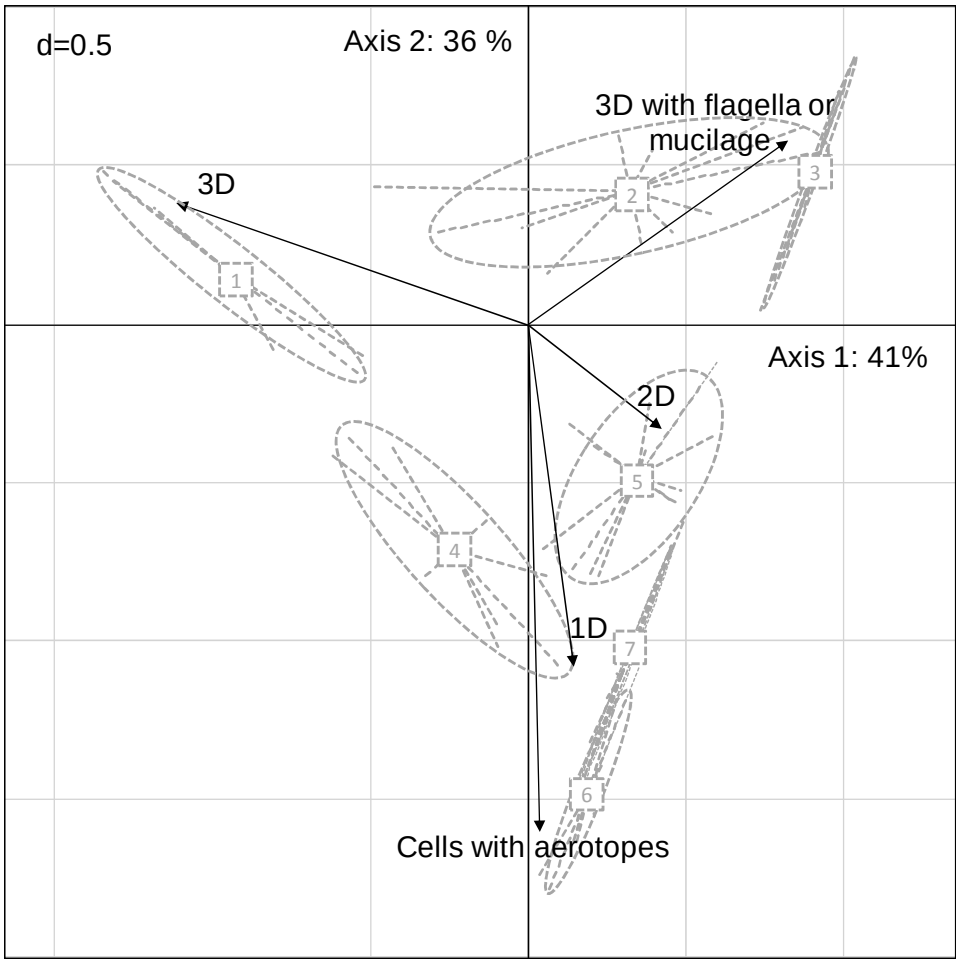


Fig. 3.6 Correspondence analysis using the most relevant morphofunctional traits explaining the phytoplankton community structure. Axis 1 and Axis 2 explained 77% of the total inertia.

Discussion

Phytoplankton biomass was found to increase from upstream to downstream which is probably linked to the increase of water residence time (WRT) which is in accordance with many others studies (Reynolds, 1994; Stevenson & White, 1995; Basu & Pick, 1996; Tavernini *et al.*, 2011). The phytoplankton community structure also varied across sampling sites that differed in terms of flow regulation resulting in differences in flow velocities and light availability. When we used taxonomy (class or genus level) to explain these observations, neither clear seasonal nor location distribution patterns could be identified. By contrast, these differences in community structure could be explained using morphofunctional traits as Kruk *et al.* (2011) showed.

Flow velocity, closely related to turbulence level, seemed to play a key role in structuring the phytoplankton community. In regulated systems, turbulence is low and species able to regulate their buoyancy have a competitive advantage over sinking species (Dokulil, 1994; Descy & Gosselain, 1994; Bormans & Condie, 1998). In particular, our results showed that regulated sites were associated with flagellated cells which can actively regulate their position in the water column. Colonial species displaying large amount of mucilage, reducing their density and thus their sinking velocity (Reynolds, 2006) were also associated with regulated sites. During May, these sites exhibited higher flow velocities values and were more turbulent than in July and September, resulting in the clear separation in phytoplankton structure. The phytoplankton community was dominated by small spherical siliceous cells maintained in the water column by the higher turbulence level. By contrast, in unregulated sites, phytoplankton community was characterized by species showing morphological features not adapted to sedimentation resistance. The similar trait that they shared is their elongated shape, highlighting the key role of shape. These results are in accordance with our expectations that elongated shapes are characteristic of turbulent sites maybe because they sink faster. Hence, they require a turbulence intensity high enough to maintain them in the water column (Condie & Bormans, 1997; Sherman *et al.*, 1998; Huisman *et al.*, 2002).

Group N is characteristic of species able to regulate their buoyancy with gas vesicles. However it is associated with groups showing a low resistance to sedimentation. As we previously stated, Group N also gathers cyanobacteria which were not identified at the

species level. These cyanobacteria belong to Nostocales, a taxonomical group constituted of pelagic (displaying gas vesicles) and benthic species. Hence, if these species are pelagic this unexpected result can be explained by a potential flushing of allochtonous cells. Indeed, the highest contribution to this group occurred after high precipitations causing possible overflowing of ponds located nearby. On the other end, if these species are benthic, they may have been torn from the substratum due to higher turbulence level caused by these high precipitations.

Between these two extremes types of traits (elongated shape and cells reducing their sinking velocity with flagella or large mucilage amount), another group is constituted by flattened shape. This shape confers a high resistance to sinking (Padisák *et al.*, 2003), and should therefore be characteristic of sites with rather low turbulence level. This is consistent with our results since it was associated with some regulated sites and several samples of an unregulated site displaying relatively low flow velocities (Au2).

Besides affecting turbulence level, flow may also play a role on phytoplankton community through water residence time (WRT). As we previously stated, WRT acts on phytoplankton biomass, but the question arises whether it can affect the community structure. WRT should act on morphofunctional traits related to growth rate, selecting species able to grow faster at sites displaying shorter values (Chetelat *et al.*, 2006). However, we do not know any phytoplankton species able to double its population in less than two days (Edwards *et al.*, 2012). Hence, at the low residence times observed at unregulated sites, we do not expect any morphological trait to respond. Nevertheless, residence time can indirectly affect the observed community structure since species sampled at a given site could be advected from upstream. In this case, traits selection also reflects upstream conditions. It is the case of Au2 for instance which is characterized by low flow velocity and low vegetation cover but grouped with other unregulated site according to community structure. This highlights that such approach has to be adopted carefully in rivers as upstream reaches cannot be ignored since they can explain a part of the phytoplankton community structure.

Regulated and unregulated sites also display differences in light availability reflected by two indexes: Zeu/Zm (positively correlated with light availability) and

vegetation cover (negatively correlated with light availability). However, depending on the index, different light availability patterns arise since regulated sites display lower vegetation cover but lower Zeu/Zm than unregulated sites. Relative importance of these two features in the light intensity was not quantified in our study. Hence, even though cell size is a morphofunctional trait generally related to light acquisition (Finkel *et al.*, 2004; Schwaderer *et al.*, 2011), in our study it may not have displayed a clear distribution pattern. A continuous measurement of light intensity at each site would have provided real differences between sites and incorporation of cell size in our analyses would have been relevant.

Many studies have shown changes in phytoplankton biomass and community structure according to physical constraints. Here, we present a study in rivers that can explain these variations in terms of morphofunctional traits. Following this approach and choosing a wide selection of traits, we identified the most relevant traits explaining the phytoplankton community structure in these rivers (flagella, buoyancy regulation and shape). As a morphofunctional approach reflects the main constraints in a given environment, which do not necessarily change according to seasonality, location can explain more variations in phytoplankton community structure than seasonality as was found in this study. However, although such an approach seems to be relevant in rivers, our results are solely based on two rivers. Further studies conducted with a larger dataset are essential to validate and generalize of this approach, in a same trend as Kruk *et al.* (2011) did in lakes. This larger dataset should include rivers where phytoplankton is impacted by hydrodynamical conditions, light and nutrient availability and grazing. It will imply to considerer morphological traits related to all these environmental conditions. Therefore, we expect that additional trait will be necessary. Individual cell size (MLD, volume) will be a key trait for both light (Finkel *et al.*, 2004; Schwaderer *et al.*, 2011) and nutrient acquisition (Litchman *et al.*, 2007; Litchman & Klausmeier, 2008; Tambi *et al.*, 2009) while colony/filament size and possibly the presence of spines will reflect grazing pressure (Barton *et al.*, 2013). Cell size is also a key feature in turbulent nutrient depleted environment, since increase of nutrient uptake due to water motion depend on cell radius (Karp-Boss *et al.*, 1996). However, (Edwards *et al.*, 2012) recently showed that there was no correlation between size and the half saturation constant for phosphate uptake, or the phosphate uptake affinity in freshwater species highlighting

some limits of morphofunctional traits approaches. By contrast, these physiological traits differ across taxonomic groups (Edwards *et al.*, 2012). Hence, morphofunctional approach in rivers still need to be combined with a taxonomic approach since it also brings crucial information on the benthic or pelagic origin of species.

Acknowledgements

This work was supporting by a grant from CNRS and Veolia Environment to Stéphane Fraisse. The authors thank Guillaume Bouger, Enora Briand and Philippe Louâpre for their great help during field campaigns, and Marie-Paule Briand and Nathalie Josselin-Lebris for physicochemical analyses done in ABGC center in ECOBIO. Help for species identification was provided by Luc Brient, Katia Pobis, and Frédéric Rimet. The authors also thank the three referees for their fruitful corrections.

References

Abonyi A, Leitão M, Lançon AM, Padisák J. 2012. Phytoplankton functional groups as indicators of human impacts along the River Loire (France). *Hydrobiologia* 698: 233–249.

Barton AD, Pershing AJ, Litchman E, Record NR, Edwards KF, Finkel Z V, Kiørboe T, Ward BA. 2013. The biogeography of marine plankton traits. *Ecology letters* 16: 522–534.

Basu B, Pick F. 1996. Factors regulating phytoplankton and zooplankton biomass in temperate rivers. *Limnology & Oceanography* 41: 1572–1577.

Becker V, Huszar VLM, Crossetti LO. 2009. Responses of phytoplankton functional groups to the mixing regime in a deep subtropical reservoir. *Hydrobiologia* 628: 137–151.

Bormans M, Condie SA. 1998. Modelling the distribution of Anabaena and Melosira in a stratified river weir pool. *Hydrobiologia* 364: 3–13.

Bovo-Scomparin VM, Train S, Rodrigues LC. 2012. Influence of reservoirs on phytoplankton dispersion and functional traits: a case study in the Upper Paraná River, Brazil. *Hydrobiologia* 702: 115–127.

Centis B, Tolotti M, Salmaso N. 2009. Structure of the diatom community of the River Adige (North-Eastern Italy) along a hydrological gradient. *Hydrobiologia* 639: 37–42.

Chetelat J, Pick F, Hamilton PB. 2006. Potamoplankton size structure and taxonomic composition: influence of river size and nutrients concentrations. *Limnology and Oceanography* 51: 681–689.

Condie SA, Bormans M. 1997. The Influence of Density Stratification on Particle Settling, Dispersion and Population Growth. *Journal of Theorical Biology* 187: 65–75.

Descy J-P, Gosselain V. 1994. Development and ecological importance of phytoplankton in a large lowland river (River Meuse, Belgium). *Hydrobiologia* 289: 139–155.

Devercelli M. 2010. Changes in phytoplankton morpho-functional groups induced by extreme hydroclimatic events in the Middle Paraná River (Argentina). *Hydrobiologia* 639: 5–19.

Dokulil MT. 1994. Environmental control of phytoplankton productivity in turbulent turbid systems. *Hydrobiologia* 289: 65–72.

Dray S, Dufour AB. 2007. The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *Journal of Statistical Software* 22: 1–20.

Edwards KF, Thomas MK, Klausmeier CA, Litchman E. 2012. Allometric scaling and taxonomic variation in nutrient utilization traits and maximum growth rate of phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 57: 554–566.

Finkel ZV, Irwin AJ, Schofield O. 2004. Resource limitation alters the 3 / 4 size scaling of metabolic rates in phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 273: 269–279.

Gurbuz H, Kivrak E, Soyupak S, Yerli SV. 2003. Predicting dominant phytoplankton quantities in a reservoir by using neural networks. *Hydrobiologia* 504: 133–141.

Hillebrand H, Dürselen CD, Kirschtel D, Pollingher U, Zohary T. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35: 403–424.

Huisman J, Arrayás M, Ebert U, Sommeijer B. 2002. How do sinking phytoplankton species manage to persist? *The American naturalist* 159: 245–54.

Jowett IG. 1993. A method for objectively identifying pool, run , and riffle habitats from physical measurements. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 27: 241–248.

Karp-Boss L, Boss E, Jumars PA. 1996. Nutrient fluxes to planktonic osmotrophs in the presence of fluid motion. *Oceanography and Marine Biology: an annual review* 34: 71–107.

Kruk C, Huszar VLM, Peeters ETHM, Bonilla S, Costa L, Lürling M, Reynolds CS, Scheffer M. 2010. A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater Biology* 55: 614–627.

Kruk C, Peeters ETHM, Van Nes EH, Huszar VLM, Costa LS, Scheffer M. 2011. Phytoplankton community composition can be predicted best in terms of morphological groups. *Limnology and Oceanography* 56: 110–118.

Lagadeuc Y, Brylinski JM, Aelbrecht D. 1997. Temporal vari- ability of the vertical stratification of a front in a tidal region of freshwater influence (ROFI) system. *Journal of Marine Research* 12: 147–155.

Legendre L, Legendre P. 1998. *Numerical Ecology.* Amsterdam: Elsevier.

Litchman E, Klausmeier CA. 2008. Trait-based community ecology of phytoplankton. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39: 615–639.

Litchman E, Klausmeier CA, Schofield OM, Falkowski PG. 2007. The role of functional traits and trade-offs in structuring phytoplankton communities: scaling from cellular to ecosystem level. *Ecology letters* 10: 1170–81.

Longhi ML, Beisner BE. 2010. Patterns in taxonomic and functional diversity of lake phytoplankton. *Freshwater Biology* 55: 1349–1366.

Lorenzen CJ. 1967. Determination of chlorophyll and phaeopigments: spec-trophotometric equations. *Limnology and Oceanography* 12: 343–346.

Lund JWG, Kipling C, Le Cren ED. 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* 11: 143–170.

McGill B, Enquist B, Weiher E. 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology and Evolution* 21: 178–185.

Mieleitner J, Borsuk M, Bürgi H, Reichert P. 2008. Identifying functional groups of phytoplankton using data from three lakes of different trophic state. *Aquatic Sciences* 70: 30 – 46.

Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R, Legendre P, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Wagner H. 2011. Vegan: community ecology package.

Padisák J, Crossetti LO, Naselli-Flores L. 2009. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia* 621: 1–19.

Padisák J, Soróczki-Pintér E, Rezner Z. 2003. Sinking properties of some phytoplankton shapes and the relation of form resistance to morphological diversity of plankton – an experimental study. *Hydrobiologia* 500: 243–257.

Pannard A, Bormans M, Lagadeuc Y. 2007. Short-term variability in physical forcing in temperate reservoirs: effects on phytoplankton dynamics and sedimentary fluxes. *Freshwater Biology* 52: 12–27.

Peperzak L, Colijn F, Koeman R, Gieskes WWC, Joordens JCA. 2003. Phytoplankton sinking rates in the Rhine region of freshwater influence. *Journal of Plankton Research* 25: 365–383.

R Development Core Team. 2010. R: A language and environ- ment for statistical computing.

Reynolds CS. 1980. Phytoplankton assemblages and their periodicity in stratifying lake systems. *Holarctic Ecology* 3: 141–159.

Reynolds CS. 1994. The long, the short and the stalled: on the attributes of phytoplankton selected by physical mixing in lakes and rivers. *Hydrobiologia* 289: 9–21.

Reynolds CS. 2000. Hydroecology of river plankton : the role of variability in channel flow. *Hydrological Processes* 14: 3119–3132.

Reynolds CS. 2006. *Ecology of Phytoplankton*. Cambridge: Cambridge University Press.

Reynolds C, Descy J-P. 1996. The production, biomass and structure of phytoplankton in large rivers. *Archiv fuer Hyrobiologie Supplementband* 113: 161–187.

Reynolds CS, Huszar VLM, Kruk C, Naselli-Flores L, Melo S. 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24: 417–428.

Salmaso N, Padisák J. 2007. Morpho-functional groups and phytoplankton development in two deep lakes (Lake Garda, Italy and Lake Stechlin, Germany). *Hydrobiologia* 578: 97–112.

Salmaso N, Zignin A. 2010. At the extreme of physical gradients: phytoplankton in highly flushed, large rivers. *Hydrobiologia* 639: 21–36.

Schwaderer AS, Yoshiyama K, De Tezanos Pinto P, Swenson NG, Klausmeier CA, Litchman E. 2011. Eco-evolutionary differences in light utilization traits and distributions of freshwater phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 56: 589–598.

Sherman BS, Webster IT, Jones GJ, Oliver RL. 1998. Transitions between Aulacoseira and Anabaena dominance in a turbid river weir pool. *Limnology & Oceanography* 43: 1902–1915.

Sommer U. 1996. Plankton ecology: the past two decades of progress. *Naturwissenschaften* 83: 293–301.

Stanković I, Vlahović T, Gligora Udovič M, Várbíró G, Borics G. 2012. Phytoplankton functional and morpho-functional approach in large floodplain rivers. *Hydrobiologia* 698: 217–231.

Stevenson RJ, White KD. 1995. A comparison of natural and human determinants of phytoplankton communities in the Kentucky River basin, USA. *Hydrobiologia* 297: 201–216.

Sun J, Liu D. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 25: 1331–1346.

Tam D, Hosoi AE. 2011. Optimal kinematics and morphologies for spermatozoa. *Physical Review Letters* 83: 045303.

Tambi H, Flaten G, Egge J, Bødtker G, Jacobsen A, Thingstad TF. 2009. Relationship between phosphate affinities and cell size and shape in various bacteria and phytoplankton. *Aquatic Microbial Ecology* 57: 311–320.

Tavernini S, Pierobon E, Viaroli P. 2011. Physical factors and dissolved reactive silica affect phytoplankton community structure and dynamics in a lowland eutrophic river (Po river, Italy). *Hydrobiologia* 669: 213–225.

Vannote RL, Minshall GW, Cummins KW, Sedell JR, Cushing CE. 1980. The River Continuum Concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37: 130–137.

Violle C, Navas M-L, Vile D, Kazakou E, Fortunel C, Hummel I, Garnier E. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116: 882–892.

Weithoff G. 2003. The concepts of “plant functional types” and “functional diversity” in lake phytoplankton - a new understanding of phytoplankton ecology? *Freshwater Biology* 48: 1669–1675.

Zhang M, Shi X, Yu Y, Kong F. 2011. The acclimative changes in photochemistry after colony formation of the cyanobacteria Microcystis aeruginosa. *Journal of Phycology* 47: 524–532.

Chapitre 4 :

Turbulence effect on phytoplankton structure by a morpho-functional traits based laboratory approach

Authors: Stéphane Fraisse, Myriam Bormans and Yvan Lagadeuc

Turbulence effect on phytoplankton structure by a morpho-functional traits based laboratory approach

Address: Université de Rennes 1, UMR CNRS 6553 ECOBIO, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex FRANCE

Corresponding author: steph.fraisse@gmail.com

Telephone: (+33)-2.23.23.50.57

Abstract

Turbulence plays a key role on phytoplankton community structure affecting both sedimentation and nutrient acquisition in aquatic ecosystems. In rivers, nutrients concentrations are often high enough to sustain phytoplankton growth without limitation. Hence, turbulence in lotic systems, acts mainly on phytoplankton through controlling vertical position. We conducted a laboratory experiment to test if phytoplankton community structure in response to turbulence could be predicted using morpho-functional traits related to settling velocity and maximum growth rate. Two turbulence levels were generated by horizontally oscillating grid systems in a three 5L tanks. These two turbulence levels were tested on an experimental community composed of six species displaying different values of five morpho-functional traits related to settling velocity and maximum growth rate (S:V ratio, algal unit size (cell, filament or colony), density, shape and motility). We showed that community structure can be partly predicted using morpho-functional traits. Under low turbulence levels, species displaying a large size, elongated shape or high density were not able to sustain steady population, conversely to species displaying opposite traits (flattened shape, or low density). Nevertheless, in this study, some limits of morpho-functional traits based approaches were highlithing since they do not always fully reflects functional traits inducing some biases in predicting community structure.

Introduction

In aquatic systems, turbulence is one of the dominant physical processes controlling the distribution of dissolved and particulate matter (Thorpe 2007). Hence, turbulence plays a key role on the phytoplankton community structure, maintaining negatively buoyant taxa in the water column while homogenizing positively buoyant ones (Smith 1982; Bormans and Condie 1998; Huisman et al. 1999, 2002; Lauria et al. 1999; Peeters et al. 2007). Turbulence can also affect phytoplankton growth rate through an increase of nutrients fluxes to the vicinity of the cell (Lazier and Mann 1989; Karp-Boss et al. 1996). This increase is linked to the turbulent diffusion occurring at rates far higher than molecular diffusion processes. It depends on cell size, and is only significant for large species, (>60µm) (Lazier and Mann 1989; Karp-Boss et al. 1996), illustrated for instance by experiment conducted by Peters *et al.* (2006). Other experiments conducted in microcosms on natural community shared similar results (Arin et al. 2002; Delaney and Knoechel 2004; Metcalfe et al. 2004; Warnaars and Hondzo 2006). Turbulence could nevertheless have the exact opposite effect inducing a decrease of growth rate due to flagella loss, mechanical destruction or cell division inhibition (Thomas and Gibson 1990; Berdalet 1992; Hondzo and Lyn 1999; Sullivan and Swift 2003; Regel et al. 2004; Berdalet et al. 2007). Hence, through both positive and negative effect, turbulence plays a key role in structuring phytoplankton community (Estrada and Berdalet 1997; Smayda and Reynolds 2001).

Functional traits are increasingly used to understand phytoplankton community response to environmental factors (Litchman and Klausmeier 2008; Kruk et al. 2011; Fraisse et al. 2013; Stanca et al. 2013). These physiological and morphological features give competitive advantages depending on environmental conditions (McGill et al. 2006; Violle et al. 2007). Among functional traits, morphological ones are of particular interest since they are easily measurable and constitute good proxies for physiological traits (Weithoff 2003; Kruk et al. 2010). Cell size is for instance related to physiological traits controlling nutrient acquisition such as μ_{max} (maximum growh rate), Vmax (maximum uptake rate) and Ks (half saturation constant), resulting in a competitive advantage for small species in nutrient limited environment (Aksnes and Egge 1991; Litchman and Klausmeier 2008; Edwards et al. 2012; Marañón et al. 2013). Phytoplankton species also exhibit different shapes such as sphere, chains, or flattened forms. Some species are able

to swim and actively regulate their vertical position (Gervais 1997; Pithart 1997), whereas others tend to sink at velocities which depend on their shape (Padisák et al. 2003), or their faculty to reduce their density (Walsby, 1994; Reynolds, 2007). Organization in colonies or filaments plays also a key role as increasing organization size, it makes species less sensitive to grazing (Smetacek et al. 2004; Thingstad et al. 2005) but more sensitive to sinking depending on their shape (Padisák et al. 2003).

Previous studies on the role of turbulence on phytoplankton mainly investigated marine species and those conducted on freshwater species were related to lakes (Hondzo and Lyn 1999; Hondzo and Warnaars 2008). However, in rivers, turbulence also plays a key role on phytoplankton community especially affecting vertical distribution (Descy and Gosselain 1994; Reynolds 2000; Tavernini et al. 2011). Hence, according to turbulence intensity, different morpho-functional traits related to sedimentation rate may be selected (Cózar and Echevarría 2005; Fraisse et al. 2013). Variations in turbulence level usually co-occur with other environmental factors (like residence time, temperature, nutrient availability), highlighting the necessity of controlled experimental studies where all these confounding factors can be kept constant to isolate the effect of turbulence.

Hence, the aim of this study is to test experimentally if a phytoplankton community structure in contrasted turbulence scenario could be predicted using morpho-functional traits. The phytoplankton community retained was a simplified one, composed of a small number of river species. They were chosen according to morpho-functional traits related to settling velocity but also related to maximum growth rate μ_{max} since community structure should be affected by this physiological trait. A first step was to test if the chosen morpho-functional traits reflect well settling velocity and maximum growth rate. Two levels of turbulence were tested on the phytoplankton community and nutrient concentrations were not limiting for phytoplankton growth. We hypothesized that under low turbulence, morpho-functional traits associated with low sinking velocity will be selected whereas under high turbulence, phytoplankton community will be structured according to morpho-functional related to μ_{max}. We also hypothesized that for a given morpho-functional trait, intra-specific morphological plasticity could occur in response to turbulence.

Material & Methods

1) Morphofunctional traits of selected species

Experiments were conducted on six freshwater phytoplankton species observed in rivers, and displaying different morpho-functional traits related to settling and maximum growth rate (Table 1.1)

a) Morpho-functional traits related to settling

Two of them are flagellated (*Nephroselmis olivacea*-CCAP1960/4B and *Cryptomonas curvata*-CCAP979/62) and the four others are organized either in filament (*Aulacoseira granulata*-CCAP1002/1 and *Spondylosium pulchellum*-CCAP680/1) or flattened colonies (*Pediastrum boryanum*-CCAP261/20 and *Asterionella formosa*-CCAP1005/17). According to their shapes, the non-flagellated species are expected to display different sinking velocities, with higher values for elongated shapes. *A. formosa* and *A. granulata* are diatom species, and hence have higher density (1290 $kg.m^{-3}$) than other species (1040 $kg.\ m^{-3}$) (Reynolds 2006) which is also related to sinking velocity. The selected species also display different size ranging from 2µm to 17.5 µm. In this study, we considered the whole algal unit size (unicellular, filament or colony depending on the species). Since they display complex form, size is expressed as Equivalent Sphere Radius (ESR) which corresponds to the radius of a sphere with equivalent volume.

Due to their size range, the surrounding environment of phytoplankton species is characterized by low Reynolds number (<0.1). In such viscous conditions, settling velocity of inert spherical particles can be estimated by Stokes equation (Clift et al. 1978). However species we chose do not display such spherical shape. Hence, we used Stokes modified equation which is adapted to the calculation of complex shapes settling velocity $V_{s\ theo}$ ($m.s^{-1}$) (Jaworski et al. 1988):

$$V_{s\ theo} = \frac{2gr^2(\rho' - \rho)}{9\eta\Phi} \qquad (4.1)$$

where g is the gravitational acceleration (9.81 $m.s^{-2}$), r (m) the equivalent sphere radius of the particle and ρ' ($kg.m^{-3}$) is its density (Table 1). ρ is the water density (998 $kg.m^{-3}$ at 18°C) and η its viscosity(~ 1.002 $kg.m.s^{-1}$ at 18°C). ϕ (dimension-less number) is the

form resistance coefficient which depends on the shape and reflects the factor by which the sinking velocity of the particles differs from that of a sphere of identical volume and density (Jaworski *et al.*, 1988; Padisák *et al.*, 2003; Walsby & Holland, 2006). Form resistance coefficient for *P. boryanum* and *A. formosa* was calculated from Padisák *et al.* (2003). For elongated shape (*S. pulchellum* and *A. granulata*), ϕ depends on the orientation relative to the direction of the movement (McNown & Malaika, 1950):

$$\phi = \frac{16}{3D\ (\alpha+\beta)} \qquad (4.2)$$

Hence, we calculated ϕ for vertical and horizontal position. In this equation, β is a shape factor depending on settling orientation (for details, see Walsby & Holland, 2006). Two boundaries theoretical velocities corresponding to vertical and horizontal positions were calculated.

To assess values of $V_{s\ theo}$, the settling velocity ($V_{s\ measured}$) of each species was measured in still water following Smith (1982).

$$C_t = C_0(1 - \frac{V_s\, t}{z}) \qquad (4.3)$$

where C_t (cells.mL^{-1}) is the phytoplankton concentration in the water column at time t (s), C_0 (cells.mL^{-1}) is the phytoplankton concentration at t=0(uniform with depth), V_s is the sinking velocity (m.s^{-1}) and z is the height of the chamber. Using an inverted microscope and an Utermöhl chamber, we counted phytoplankton cells at frequent time intervals (5 min) to estimate the time t_x at which C_t=0 (when the number of cells we counted at the bottom of the chamber stopped varying). Hence equation (4.3) becomes:

$$V_{s\ measured} = \frac{z}{t_x} \qquad (4.4)$$

We then calculated $V_{s\ measured}$.

Table 4.1 Morpho-functional and functional traits values for the different selected species

	Elongated shape		Flattened shape		Flagellated cell	
	S. pulchellum	*A. granulata*	*A. formosa*	*P. boryanum*	*C. curvata*	*N. olivacea*
S:V ratio	0.8	1.23	1.20	1	0.3	1.3
Shape	Elongated	Elongated	Flattened	Flattened	Spherical	Spherical
Motility	X	X	X	X	Flagellated	Flagellated
ϕ	1.17-1.76	1.45-2.2	5	1.857	X	X
Density	1040	1290	1290	1040	1040	1040
ESR (µm)	17.5	6.1	4.3	5.5	12.9	2.1
$V_{s\ theo}$ (µm.s^{-1})	16.1-10.3	12.7-8.4	2.4	1.5	X	X
$V_{s\ measured}$ (µm.s^{-1})	8.3 (0.7)	1.7 (0.5)	4.5 (0.8)	1.02 (0.18)	X	X
μ_{max} (day^{-1})	0.12 (0.02)	0.50 (0.07)	0.42 (0.01)	0.18 (0.08)	0.10 (0.05)	0.17 (0.02)

b) Maximum Growth rate

Species we chose display different surface to volume ratio (S:V ratio) which is known to be related to maximum growth rate (Banse 1976). They exhibit S:V ratio larger (*Asterionella formosa*, *Aulacoseira granulata*, *Nephroselmis olivacea*, *Pediastrum boryanum*) or lower than 1 (*Cryptomonas curvata*, *Spodylosium pulchellum*).

We calculated S:V ratio following Hillebrand *et al.* (1999) and Sun & Liu (2003). Specific maximum growth rate (μ_m) was also determined in triplicates, at constant temperature (18°C) and light intensity (30µmoles.m^{-2}) assessing each culture every second day, and using the exponential growth equation (Pirt 1975).

$$\mu_{measured} = \frac{\ln C_2 - \ln C_1}{\Delta t} \qquad (4.5)$$

where C_1 and C_2 are the cell concentration (cell.mL^{-1}) at time t_1 and t_2 respectively and Δt is the time interval between t_1 and t_2.

2) Experimental device and turbulence calibration

] Several devices exist to generate controlled turbulent conditions. Oscillating grid and orbital shakers tables are the most widely used systems, but it has been shown that

turbulence was not homogenous in the latter (Guadayol et al. 2009) A horizontally oscillating grid system was adopted to produce homogeneous, stationary (stable over time) and isotropic (identical in all three dimensions of space) turbulence similarly to the device used by Schapira *et al.* (2006). Since filamentous species were used in our experiments, such a device avoids accidental resuspension of filament stranded in the mesh as opposed to vertically grid systems. Turbulence was generated by the movement of grids in three glass chambers constituting three replicates called R1, R2 and R3 (Fig. 1). Each chamber with internal length, width and height measuring 17x17x23 cm was filled with 4.9L culture medium (height=17cm) and constitute a chemostat. Indeed, new medium was continuously added (15 $mL.h^{-1}$) resulting in a dilution rate of 0.07 per day. This dilution rate was controlled by a peristaltic pump. The grid is a polycarbonate plate with a mesh size of 4cm corresponding to a solid area of 114 cm^2.

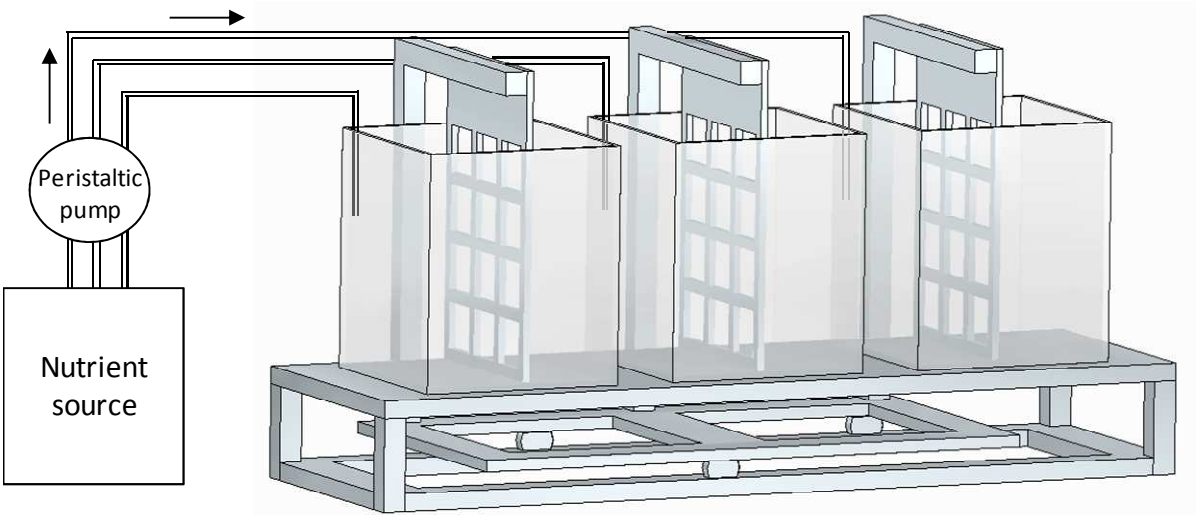


Fig. 4.1 The turbulence generating device is composed of three grids, each fixed on an arm connected to a moving frame. The translation motion controlled by an electric motor (not shown) of this moving frame results in a horizontally oscillation of grids. The velocity of the grids oscillation depends on the electric voltage intensity supplied to the motor. Hence, the same turbulence intensity is generated in each tank, constituting three replicates. Each tank also constitutes a chemostat, since new medium is constantly supplied through a peristaltic pump. A same volume is also removed (tubes not shown) to keep the total volume constant (4.9L). This results in a dilution rate of 0.07 per day.

Depending on its velocity, the grid motion produces different turbulence levels that we quantified through particle imagery velocimetry (PIV). In a chamber, the fluid was seeded with particle tracers (silver coated hollow glass sphere, 10µm diameter) that follow the water movement. In 4x4 cm windows, successive positions of particles

illuminated by a laser sheet were recorded at 15Hz during 17s (256 pairs of images) using a digital camera (Imager pro x2M). A time interval between two images acquisition ranging from 4 to 10ms was chosen. This lag time was low enough to avoid particles leaving or entering in the camera field, but high enough to lead a record of particles displacement between two acquisitions. For each images pair, root mean square (RMS) velocity of particles was calculated using LAVISION software and averaged over the 256 pairs of images. Two sets of measurements with different configurations in the position of Laser and camera position were conducted to obtain x, y and z velocities of particles. Then we calculated the root mean squared turbulent velocity u ($m.s^{-1}$) (Peters and Gross 1994):

$$u = \sqrt{RMS\ V_x{}^2 + RMS\ V_y{}^2 + RMS\ V_z{}^2} \qquad (4.6)$$

For each grid oscillation velocity, we calculate a turbulent dissipation rate (ε):

$$\varepsilon = \frac{Au^3}{l} \qquad (4.7)$$

with u is the root mean squared turbulent velocity, A is a constant assumed to be of order 1 (Tennekes & Lumley, 1972) and l is the characteristic size of the largest eddy, commonly assumed to the mesh size in oscillating grid system (Peters & Redondo, 1997). Experiments were conducted at two turbulence intensities, high (ε = 78 $cm^2.s^{-3}$; HT) and low (ε = 7.9 10^{-1} $cm^2.s^{-3}$), which are realistic levels compared to the range from 10^{-2} to 10^{1} reported in a straight lowland river (Sukhodolov *et al.*, 1998). These turbulence intensities correspond to different values of characteristic length scale:

Kolmogorov scale $$\eta_k = \sqrt[4]{\frac{\upsilon^3}{\varepsilon}} \qquad (4.8)$$

Batchelor scale $$\eta_b = \sqrt[4]{\frac{D^2.\upsilon}{\varepsilon}} \qquad (4.9)$$

where υ is the kinematic viscosity of the fluid 0.01 $cm^2.s^{-1}$ and D is the molecular diffusion of inorganic nutrient such as nitrate or orthophosphate ($10^{-5}cm^2.s^{-1}$). The two turbulence intensities correspond to Kolmogorov scales of 334 µm (LT) and 106 µm (HT) and Batchelor scales of 10.6 µm (LT) and 3.3µm (HT).

3) Sampling protocol, community structure and physicochemical analyses

Cells were acclimated at 18°C, 30µmoles.$m^{-2}.s^{-1}$ in a 14L:10N photoperiod, by several transfers of exponentially growing stock cultures to new media before the experiment started. Phytoplankton species were grown in the same nutrient replete medium, which was a mix of Diatom medium, Bold-Basal Medium with 3-fold Nitrogen and Vitamins, and Jaworski's medium. Each chamber was seeded with the six species at day 0 (T0), the initial biomass of each one (expressed as biovolume) was evaluated by cells counting and measurements. Initial biomasses ranged from 2.4 10^4 μm^3 to 7.8 10^5 μm^3 and were not evenly distributed, as a consequence of biovolume calculation biases magnified for low concentration values. Then a given turbulence level (HT or LT) was applied and kept constant during 20 days (end of the experiment T=20). LT experiment was conducted only during 9 days for one of the replicate (R3) due to a contamination by an unknown ciliated protozoan. It was not observed in R1 and R2. Nutrient limitation was prevented due to the continuous input of nutrients. Each chamber was sampled seven times during 20 days, four centimeters below the surface at the center of the tank and analyzed for nutrient and phytoplankton species composition and biomass. The total volume was kept constant by adjusting the inflow after each sampling. The bottom of each tank (3cm above the bottom) was also sampled at the end of the experiment (T=20). At T20, we also measured light intensity at the top (4cm below the surface) and at the bottom (3cm above the bottom) of each tank. Filtered samples (Whatman GF/F) were analyzed by colorimetric methods for Total Dissolved Nitrogen (TDN) (Barnes and Folkard 1951) and Total Dissolved Phosphorus (TDP) (Murphy and Riley 1962) concentration determination. Unfiltered samples were also taken and analyzed for Total Nitrogen (TN) and Total Phosphorus (TP) by persulfate digestion. All nutrients determinations were performed by automated flow injection analyses (BRAN+LUEBBE, auto-analyseur III). Phytoplankton samples were fixed with glutaraldehyde (final concentration 2%) for cells counts and size measurements. Algal counts were performed with inverted

microscope and more than 200 cells per species were counted for each sample (Lund et al. 1958). Biovolumes were calculated from the measurement of at least 20 individual cells of each species in each sample following Hillebrand *et al.* (1999) and Sun & Liu (2003). We also monitored size evolution of the different species.

4) Statistical analyses

Temporal differences in phytoplankton structure between the two modalities were assessed by the calculation of the Hellinger distance between each sample pairs. The Hellinger distance was chosen because it is not influenced by total biomass differences (Legendre and Legendre 1998). We obtained a distance matrix on which we applied the Ward clusterisation method to get a dendrogram quantifying differences between samples according to their phytoplankton structure. This statistical analysis was performed with the R software (R Development Core Team 2010) using Vegan package (Oksanen et al. 2011). Cells, filaments and colonies size were compared between modalities for each species through a Kruskal Wallis test followed by a post hoc Nemenyi test.

Results

Depending on size, shape and density, the four non motile species are expected to exhibit different settling velocity in still water (Table 4.1). Indeed, according to the results of the modified Stoke's equation, species displaying elongated shapes and the largest size (6-17.5µm, expressed as ESR) are expected to sink faster (at least 5 fold higher) than flattened colonies. However, the measured sinking velocities $V_{s\ measured}$ resulted in a different pattern. Indeed, when $V_{s\ theo}$ and $V_{s\ measured}$ were compared, some differences emerged especially for diatoms species; *A. granulata* sank at least 5 folds slower than predicted and *A. formosa* 2 folds faster. As a result, the two species displaying the highest measured sinking velocity were *S. pulchellum* (large size, elongated shape, low density) and *A. formosa* (intermediate size, flattened colony, high density).

According to their respective S:V ratio, species were also expected to display different maximum growth rates (μ_{max}): species with the higher S:V ratio should grow faster. The

relative maximum growth rates measured almost followed our expectations except for *N. olivacea* which, despite having the highest S:V ratio exhibited one of the lowest μ_{max}. ($0.17 day^{-1}$). By contrast, *A. formosa* and *A. granulata* which had similar S:V ratio than *N. olivacea* exhibited growth rate reaching 1.2 day^{-1} (Table 4.1). Since morphological traits did not fully reflected μ_{max} and settling velocity, $\mu_{measured}$ and $V_{s\ measured}$ will be used to explain our results.

1) Experimental conditions

Nutrient concentrations were not limiting for phytoplankton growth during the entire experiment through a constant input of new medium by a chemostat. Under LT, TDN and TDP concentrations respectively increased from 81.4 $mg.L^{-1}$ to 101.9 $mg.L^{-1}$ and from 53.5 $mg.L^{-1}$ to 58.1 $mg.L^{-1}$ at the end of the experiment. TDN and TDP followed the same trend during HT modality, increasing from 131.1 $mg.L^{-1}$ to 148.6 $mg.L^{-1}$ and from 53.9 to 60.6 $mg.L^{-1}$ respectively. Regarding to the growth rate of the phytoplankton species we selected, the dilution rate of the chemostat was low enough to allow steady population establishment of each species. At the beginning of both modalities (LT and HT), light intensity at 4 cm below the surface was 30$\mu moles.m^{-2}.s^{-1}$. At T20, whereas no differences were observed between the two modalities (30 $\mu moles.m^{-2}.s^{-1}$) near the surface, light intensity near the bottom under LT was higher (9.8 $\mu moles.m^{-2}.s^{-1}$) than that measured at the bottom under HT (5.8 $\mu moles.m^{-2}.s^{-1}$).

2) Phytoplankton community under different turbulence intensities

While initial phytoplankton community structure was similar in both LT and HT, it displayed differences between the two modalities occurring at T3 (three days after the beginning) and persisting until the end of the experiment (Fig. 4.2). The community structure was different between T0 and T20, in both experiments. While the bottom samples under HT at T20 (HT20_bottom_R1, HT20_bottom_R2 and HT20_bottom_R3) were similar to HT from the surface samples (4 cm below the surface) at T20 (Hellinger distance <1), it was not the case under LT. Indeed, bottom samples under LT at T20 and surface samples at T20 (LT20_1 and LT20_2) displayed one of the highest distance (Fig. 4.2).

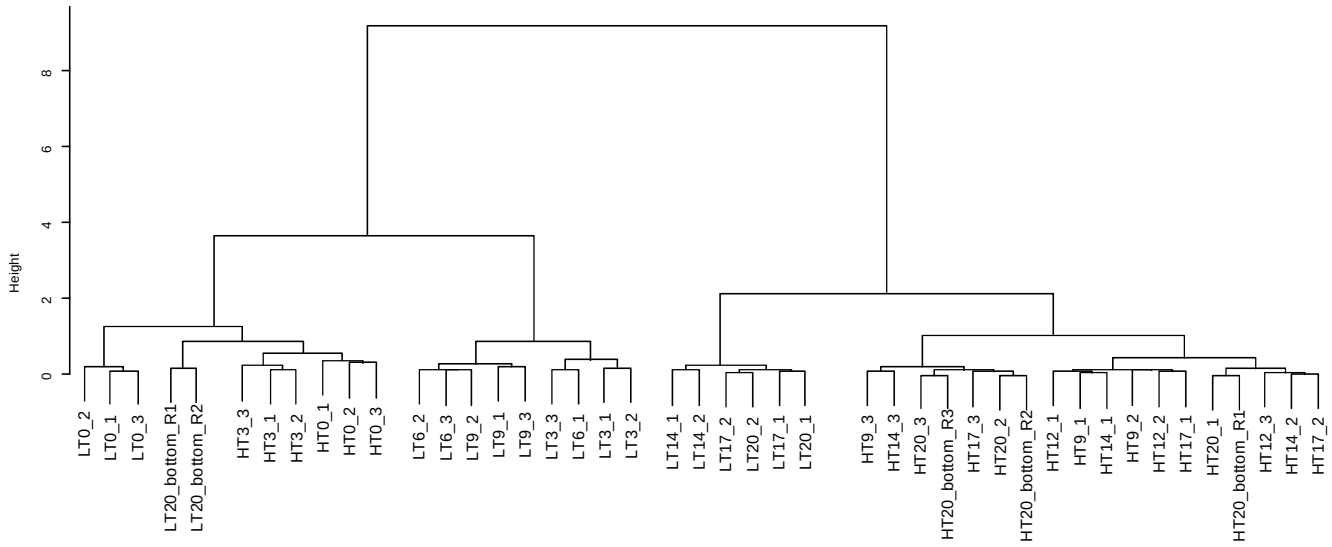


Fig.4.2 Hierarchical clustering (Ward method) on the distance matrix (Hellinger distance) of HT (High Turbulence) and LT (Low turbulence) replicates based on their species composition, were HT20_2 is the sample of high Turbulence modality, at day 20 from replicate 2.

Furthermore, phytoplankton biomass in bottom samples was two and three folds (R1 and R2 respectively) higher than biomass in the surface samples at T20 under LT although biomass was similar between top and bottom samples under HT (Fig. 4.3). LT and HT exhibited dissimilarities in total phytoplankton biomass (Fig. 4.3). At the end of both experiments, phytoplankton reached a biomass almost six folds higher in HT (5.7 10^7 $\mu m^3.mL^{-1}$) than in LT (9.5 10^6 $\mu m^3.mL^{-1}$).

LT and HT also displayed differences in phytoplankton community structure as the hierarchical clusterisation based on the Hellinger distance shows that LT and HT replicates are gathered in distinct clusters (Fig. 4.2).

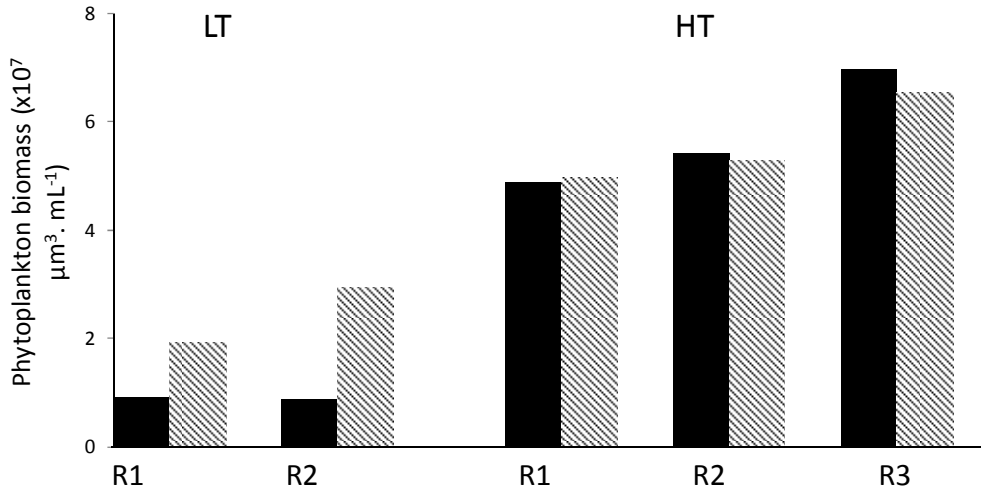


Fig. 4.3 Total phytoplankton biomass at the end of the experiment (T20) in top (full bars) and bottom samples (hatched bars) under LT (ε= 7.9 10^{-1} $cm^2.s^{-3}$) and HT (ε= 7.8 10^{1} $cm^2.s^{-3}$).

Under LT, *S. pulchellum* which displayed the higher sinking velocity ($V_{s\ measured}$ = 8.3µm.s^{-1}) rapidly disappeared from the water column (Fig. 4.4). At T=9 days, no filaments of this species have been observed in the surface samples although it represented between 33 and 50% of the total biomass at the beginning of the experiment. The other species which also sank faster than the others was *A. formosa*. While it was still present in the surface samples, its biomass was two folds lower than the initial biomass. It represented less than 0.4% of the total biomass at the end of the experiment (versus between 3 and 5% at the beginning) despite having one of the highest maximum growth rates (μ_{max}=0.42 d^{-1}). Although *C. curvata* was expected to regulate its vertical position since it is flagellated, it was one of the rarest species, reaching at the end of the experiment a biomass which did not account for more than 5% of the total biomass (versus 30-35% at T=0). Sinking species as *A. granulata* and *P. boryanum* display relatively similar sinking velocities ($V_{s\ measured}$ = 1.7 and 1.02 µm.s^{-1} respectively), but differ in their growth rate (0.5 d^{-1} and 0.18 d^{-1}). Hence, they reached quite different final proportions of the total biomass, 25% (8% at T=0) for the former and 12% (14% at T=0) for the latter. *N. olivacea*, the small flagellated cell dominated the community accounting for more than 50% at the end of the experiment versus 2% at the beginning. Under LT, four (*A. granulata C. curvata, N. olivacea* and *P. boryanum*) of the six species displayed an increase of their biomass.

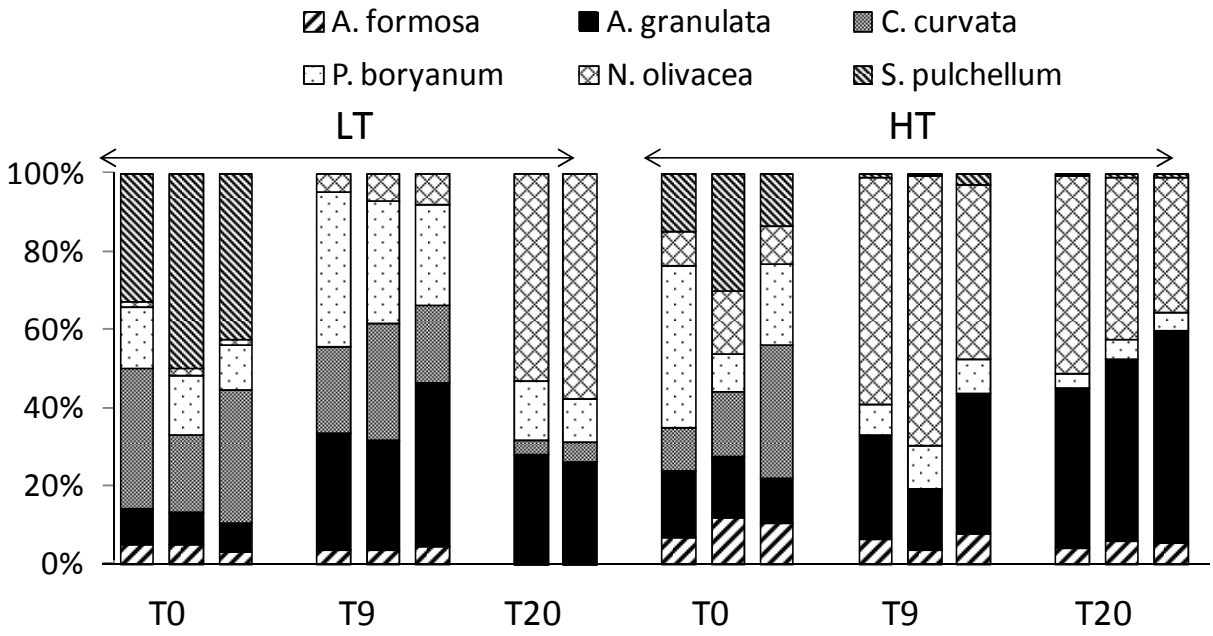


Fig. 4.4 Dynamic of phytoplankton community (% of biovolume) under LT (ε= 7.9 10^{-1} $cm^2.s^{-3}$) and HT (ε= 7.8 10^1 $cm^2.s^{-3}$).

Under HT, *C. curvata*, the larger flagellate, completely disappeared three days after the beginning (Fig. 4.4). By contrast, even if *S. pulchellum* reached a small proportion of the total biomass (~1% versus between 14 and 30% at T0), it was still present in the water column after 3 weeks in all replicates. *A. formosa* which represented a very low proportion of the total biomass under LT, reached 5% of the total biomass under HT at T20 (7-14% at T0); *P. boryanum* reached similar biomass level accounting for 4-5% at T20. The phytoplankton community was still dominated by *N. olivacea*, but also by *A. granulata* which reached similar biomass level than the small flagellate. Both species accounted for nearly 90% of the total phytoplankton biomass at the end of the experiment. Under HT, all species (except *C. curvata*) increased their biomass.

We also assessed if a given species displayed different values for a given morphofunctional trait under LT and HT. Variations of filament size for *A. granulata* occurred between the two modalities (Fig. 5). While the size of filaments was similar at initial conditions with a mean value of 79±36µm under LT and 84±37µm under HT, a significant increase of this trait was observed under HT where the mean (151±76µm) was almost two fold higher than under LT (85±38µm).

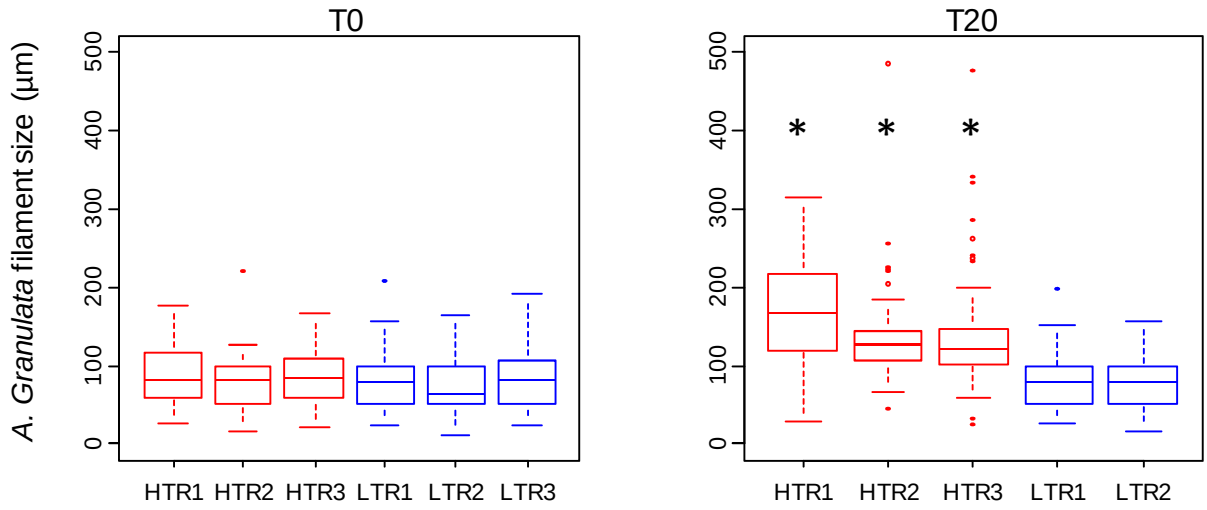


Fig. 4.5 Filament size of *Aulacoseira granulata* under High Turbulence in three replicates (HTR1, HTR2, HTR3) and under Low Turbulence (LTR1, LTR2, LTR3) at T0 and T20. * indicates significative differences ($p<0.05$; Mann-Whitney test).

Discussion

There is an increasing interest on using morpho-functional traits to explain phytoplankton community structure as they are directly or indirectly related to growth and loss processes. In this study, we focused on five morphological traits, motility, size, shape, (density-presence or absence of silica frustules) and S:V ratio which are related to settling velocity and maximum growth rate to explain phytoplankton community structure at different turbulence levels.

1) Morphological traits functional traits relationship

A first step was to test if these morphological traits reflect well settling velocity and maximum growth rate and thereby can by themselves be sufficient to predict these functional traits. Settling velocity calculations from modified Stoke's equation seemed to be in good agreement with the measured values for only two species (*S. pulchellum*; *P. boryanum*), some differences emerged for the others (underestimated by a factor two for *A. formosa*), and especially for *A. granulata* which sank five folds slower than predicted. This could be explained by some mechanisms not reflected by shape and size. Indeed, differences in sinking velocity between dead and alive cells suggest that some mechanisms related to metabolic activity could be involved (Smayda 1970; Reynolds 2006). For instance, some diatoms are known to achieve neutral or positive buoyancy thanks to a high proportion of their protoplasm occupied by the vacuole (Smetacek 1985). Although this buoyancy regulation occurs in large (>300µm^3) marine diatom species and it is not observed in freshwater species (Waite et al. 1997; Raven and Waite 2004), it is less investigated in smaller species (Miklasz and Denny, 2010) and may explain our results. Furthermore, it has been shown that frustule silica content could vary from 10 to 70%, and then may explain differences since the same density was chosen between the two diatoms in our predictions using Stokes law.

We also investigated the S:V ratio to predict which species will have the highest maximum growth rate. Divergences from our expectations seem to be related to taxonomic affiliations since in our study diatoms species grew faster than other species displaying similar S:V ratio. This means that morphological traits do not always reflect functional traits. Through a literature analyze of different functional traits measured on 64 marine species, Edwards *et al.* (2012) also highlighted this limit. They used cell volume as a proxy of maximum growth rate and show that diatoms of similar volume display higher maximum growth rate than other taxa.

2) Turbulence effect on community structure

The two levels of turbulence intensity tested induced differences in phytoplankton biomass and community structure. These differences were independent of the initial biomass. Indeed, *S. pulchellum* sustained a steady population under HT although its

initial biomass was lower than the initial biomass under LT where the population declined. Moreover, although *N. olivacea* displayed low initial concentration under LT, it dominated the community at the end of the experiment. Under LT, the two species with the fastest sinking rate either disappeared (*S. pulchellum*) or reached a lower biomass (*A. formosa*) than all other species sinking more slower. By contrast and as expected, these species sustained steady population over time in the water column and reached a higher biomass under HT. This result suggests that higher turbulence level will keep these species in water column, despite their high sinking velocity (Lauria et al. 1999; Serra et al. 2003; Peeters et al. 2007; Fraisse et al. 2013). Furthermore, under LT, phytoplankton biomass differed between the top (4cm below the surface) and the bottom of the tank, although it was homogeneous through the water column under HT, which corroborates the resuspension hypothesis.

During the experiment, the filament size of *A. granulata* displayed significant differences ($p<0.01$; Mann-Whitney test) doubling its initial size 9 days after the beginning of HT modality while cell size was similar. It has been already shown that turbulence could increase filament size (Arin et al. 2002), but no explanation has been put forward. Our results suggest that it could be linked to sedimentation resistance. Indeed, according to the Stoke's equation, sinking velocity should be higher when filament size increases. *A. granulata* would reach higher size under HT since the higher turbulent diffusion could keep longer filaments in suspension. This suggests a potential trait adjustment to lead the species more adapted to its environment, highlighting the necessity to consider morphofunctional traits to explain phytoplankton community structure.

However, generalization of this result, that an increase of turbulence induces an increase of chain length, is quite difficult. Indeed, interaction of filamentous species with turbulent flow is a complex one since chain motion depends on its flexibility and orientation (Musielak et al. 2009). Indeed, differences in flexibility among filamentous diatoms species occurs and are related to connection between cells (Young et al. 2012). We did not measure the flexibility of our species, and our study was conducted on only two types of filaments. Hence, this feature should be included to fully understand the evolution of sinking velocity in different turbulent intensities. Furthermore, it should

bring some indications of the main position (horizontal or vertical) of a filament (Musielak et al. 2009) which influences its sinking velocity (Walsby and Holland 2006).

Turbulence is also known to act on phytoplankton growth rate, but contrasted effects have been shown (e.g. Berdalet *et al.*, 2007). Indeed, it may have negative effect on phytoplankton growth through several mechanisms including inhibition of cell division in several species of Dinoflagellates (Berdalet 1992; Sullivan and Swift 2003). Nevertheless, these negative effects do not occur in some others dinoflagellates and no pattern linked to morphology (size, presence of thecal plates) or taxonomy has been shown yet (Berdalet et al. 2007). We observed a negative effect on the large flagellated species *C. curvata* (Cryptophyceae). Microscopic observations did not lead us to conclude that mechanical destruction such as flagella loss, as Thomas & Gibson (1990) found on Dinoflagellates, could explain these results. To our knowledge, no such effect on Cryptophyceae has been reported in previous studies. This result highlights that others phyla than Dinoflagellates can be negatively affected by turbulence, as Hondzo & Lyn (1999) showed for Chlorophyta (*Scenedesmus quadricauda*), Regel *et al.* (2004) for Cyanobacteria (*Microcystis aeruginosa*) and Wang *et al.* (2012) for Diatoms (*Stephanodiscus hantzschii*, *Cyclotella meneghiniana*, *Melosira varians*, *Stephanodiscus minutulus*). Since negative effect due to turbulence occurs across phyla, it suggests that it is taxonomic independent, but these species may share a common trait which is disadvantageous under high turbulent environments.

Turbulence could also have a positive effect on growth rate depending on the cell size through increasing nutrient concentration in the vicinity of the cell (Karp-Boss et al. 1996; Delaney and Knoechel 2004; Peters et al. 2006). Enhancement of growth rate by turbulence is only effective when nutrients are limited. Indeed, growth rate depends on two phenomena: nutrient delivery to the cell (Q) and to the transport across the membrane (V). Turbulence induces an increase of growth rate through an increase of Q. However, when nutrients are not limiting, Q overcomes V inducing that V is the phenomenon which limits the nutrient uptake (Karp-Boss et al. 1996). Nevertheless, even if mechanisms are not known yet, increase of phytoplankton growth rate has already been reported under replete nutrients conditions (Hondzo and Wüest 2009; Iversen et al. 2009; Wang et al. 2012). In our experiment, growth rate of the flagellated

N. olivacea under LT and HT are very different, and after three weeks, it reached a biomass four times higher under HT. Regardless of the turbulence level, growth was always higher than those measured in batch (still water) for this species. Since nutrients concentrations were never limited, and hypothesis of *(i)* an increase of nutrients concentration or, *(ii)* since it is flagellated species it can forage patch of higher nutrients concentration do not hold since Q was far higher than V. This enhancement of growth rate may be due to different light intensities experimented by *N. olivaecea* (Litchman 2000) through its displacements through the water column due to turbulence diffusion. Even low, the higher light gradient under HT than under LT could explain the growth rate between the two modalities.

3) Conclusion

The aim of this study was to test if a phytoplankton community structure could be predicted under different turbulence levels using morpho-functional traits. A first step was to test morphological (size, shape, density and S:V ratio) and functional traits (maximum growth rate and settling velocity) relationships. Measured and predicted settling velocities were in accordance with our expectation except for one diatom species (*A. granulata*) highlighting that some physiological traits affecting sedimentation velocity were not reflected by the chosen morphological traits. S:V ratio and maximum growth rate relationships displayed differences according to taxonomic affiliation reiterating the results showed by Edwards *et al.* (2012). Through the turbulence experiment, we showed that species displaying high settling velocities due to their large size or to their high density disappeared from the community except when turbulence level was high enough to keep them in the water column. However, despites its high density and its filamentous shape, a diatom (the one which sank slower than predicted) managed to establish steady population under low turbulence level. This species also displayed a phenotypic plasticity decreasing its size under low turbulence. Hence, our results showed that morpho-functional traits can be used to explain phytoplankton community structure, especially when phenotypic plasticity occurs. Nevertheless, some taxonomical biases can occur highlighting that taxonomy cannot be ignored.

References

Aksnes DL, Egge JK. 1991. A theoretical model for nutrient uptake in phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 70: 65–72.

Arin L, Marrasé C, Maar M, Peters F, Sala M, Alcaraz M. 2002. Combined effects of nutrients and small-scale turbulence in a microcosm experiment. I. Dynamics and size distribution of osmotrophic plankton. *Aquatic Microbial Ecology* 29: 51–61.

Banse K. 1976. Rates of growth, respiration and photosynthesis of unicellular algae as related to cell size: a review. *Journal of Phycology* 12: 135–140.

Barnes H, Folkard AR. 1951. The determination of nitrite. *Analyst* 76: 599–603.

Berdalet E. 1992. Effects of turbulence on the marine dinoflagellate Gymnodinium nelsonii. *Journal of Phycology* 28: 267–272.

Berdalet E, Peters F, Koumandou VL, Roldán C, Guadayol Ò, Estrada M. 2007. Species-specific physiological response of dinoflagellates to quantified small-scale turbulence 1. *Journal of Phycology* 43: 965–977.

Bormans M, Condie SA. 1998. Modelling the distribution of Anabaena and Melosira in a stratified river weir pool. *Hydrobiologia* 364: 3–13.

Clift R, Grace JR, Weber ME. 1978. *Bubbles, Drops, and Particles*. New York: Academic press incorporation.

Cózar A, Echevarría F. 2005. Size structure of the planktonic community in microcosms with different levels of turbulence. *Scientia Marina* 69: 187–197.

Delaney MP, Knoechel R. 2004. Turbulence effects on cold ocean microbial communities: an enclosure study. *Journal of Marine Systems* 49: 123–131.

Descy J-P, Gosselain V. 1994. Development and ecological importance of phytoplankton in a large lowland river (River Meuse, Belgium). *Hydrobiologia* 289: 139–155.

Edwards KF, Thomas MK, Klausmeier CA, Litchman E. 2012. Allometric scaling and taxonomic variation in nutrient utilization traits and maximum growth rate of phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 57: 554–566.

Estrada M, Berdalet E. 1997. Phytoplankton in a turbulent world. *Scientia Marina* 61: 125–140.

Fraisse S, Bormans M, Lagadeuc Y. 2013. Morpho-functional traits reflect differences in phytoplankton community between rivers of contrasted flow regime. *Aquatic Ecology* 47:315–327.

Gervais F. 1997. Diel vertical migration of Cryptomonas and Chromatium in the deep chlorophyll maximum of a eutrophic lake. *Journal of Plankton Research* 19: 533–550.

Guadayol O, Marrasé C, Peters F, Berdalet E, Roldan C, Sabata A. 2009. Responses of coastal osmotrophic planktonic communities to simulated events of turbulence and nutrient load throughout a year. *Journal of Plankton Research* 31: 583–600.

Hillebrand H, Dürselen CD, Kirschtel D, Pollingher U, Zohary T. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35: 403–424.

Hondzo M, Lyn D. 1999. Quantified small-scale turbulence inhibits the growth of a green alga. *Freshwater Biology* 41: 51–61.

Hondzo M, Warnaars TA. 2008. Coupled Effects of Small-Scale Turbulence and Phytoplankton Biomass in a Small Stratified Lake. *Journal of Environmental Engineering* 134: 954–961.

Hondzo M, Wüest A. 2009. Do microscopic organisms feel turbulent flows? *Environmental Science & Technology* 43: 764–8.

Huisman J, Arrayás M, Ebert U, Sommeijer B. 2002. How do sinking phytoplankton species manage to persist? *The American naturalist* 159: 245–54.

Huisman J, Oostveen P van, Weissing FJ. 1999. Critical depth and critical turbulence: two different mechanisms for the development of phytoplankton blooms. *Limnology & Oceanography* 44: 1781–1787.

Iversen KR, Primicerio R, Larsen A, Egge JK, Peters F, Guadayol O, Jacobsen A, Havskum H, Marrase C. 2009. Effects of small-scale turbulence on lower trophic levels under different nutrient conditions. *Journal of Plankton Research* 32: 197–208.

Jaworski GHM, Wiseman SW, Reynolds CS. 1988. Variability in sinking rate of the freshwater diatom Asterionella formosa: the influence of colony morphology. *British Phycological Journal* 23: 167–176.

Karp-Boss L, Boss E, Jumars PA. 1996. Nutrient fluxes to planktonic osmotrophs in the presence of fluid motion. *Oceanography and Marine Biology: an annual review* 34: 71–107.

Kruk C, Huszar VLM, Peeters ETHM, Bonilla S, Costa L, Lürling M, Reynolds CS, Scheffer M. 2010. A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater Biology* 55: 614–627.

Kruk C, Peeters ETHM, Van Nes EH, Huszar VLM, Costa LS, Scheffer M. 2011. Phytoplankton community composition can be predicted best in terms of morphological groups. *Limnology and Oceanography* 56: 110–118.

Lauria M Lou, Purdie D a., Sharples J. 1999. Contrasting phytoplankton distributions controlled by tidal turbulence in an estuary. *Journal of Marine Systems* 21: 189–197.

Lazier JRN, Mann KH. 1989. Turbulence and the diffusive layers around small organisms. *Deep Sea Research* 36: 1721–1733.

Legendre L, Legendre P. 1998. *Numerical Ecology.* Amsterdam: Elsevier.

Litchman E. 2000. Growth rates of phytoplankton under fluctuating light. *Freshwater Biology* 44: 223–235.

Litchman E, Klausmeier CA. 2008. Trait-based community ecology of phytoplankton. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39: 615–639.

Lund JWG, Kipling C, Le Cren ED. 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* 11: 143–170.

Marañón E, Cermeño P, López-Sandoval DC, Rodríguez-Ramos T, Sobrino C, Huete-Ortega M, Blanco JM, Rodríguez J. 2013. Unimodal size scaling of phytoplankton growth and the size dependence of nutrient uptake and use. *Ecology letters* 16: 371–9.

McGill B, Enquist B, Weiher E. 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology and Evolution* 21: 178–185.

McNown J, Malaika J. 1950. Effects of particle shape on settling velocity at low reynolds numbers. *Transcations, American Geophysicla Union* 31: 74–81.

Metcalfe AM, Pedley TJ, Thingstad TF. 2004. Incorporating turbulence into a plankton foodweb model. *Journal of Marine Systems* 49: 105–122.

Murphy J, Riley JP. 1962. A modified simple solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27: 31–36.

Musielak MM, Karp-Boss L, Jumars PA, Fauci LJ. 2009. Nutrient transport and acquisition by diatom chains in a moving fluid. *Journal of Fluid Mechanics* 638: 401–421.

Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R, Legendre P, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Wagner H. 2011. Vegan: community ecology package.

Padisák J, Soróczki-Pintér E, Rezner Z. 2003. Sinking properties of some phytoplankton shapes and the relation of form resistance to morphological diversity of plankton – an experimental study. *Hydrobiologia* 500: 243–257.

Peeters F, Straile D, Lorke A, Ollinger D. 2007. Turbulent mixing and phytoplankton spring bloom development in a deep lake. *Limnology and Oceanography* 52: 286–298.

Peters F, Arin L, Marrasé C, Berdalet E, Sala MM. 2006. Effects of small-scale turbulence on the growth of two diatoms of different size in a phosphorus-limited medium. *Journal of Marine Systems* 61: 134–148.

Peters F, Gross T. 1994. Increased grazing rates of microplankton in response to small-scale turbulence. *Marine Ecology Progress Series* 115: 299–307.

Peters F, Redondo JM. 1997. Turbulence generation and measurement: application to studies on plankton. *Scientia Marina* 61: 205–228.

Pirt SJ. 1975. *Principles of microbe and cell cultivation.* (Black- well Scientific, Ed.). Oxford: Black- well Scientific.

Pithart D. 1997. Diurnal Vertical Migration Study during a Winter Bloom of Cryptophyceae in a foodplain pool. *Internationale Revue Der Gesamten Hydrobiologie* 82: 33–46.

R Development Core Team. 2010. R: A language and environ- ment for statistical computing.

Raven JA, Waite AM. 2004. The evolution of silicification in diatoms: inescapable sinking and sinking as escape? *New Phytologist* 162: 45–61.

Regel RH, Brookes JD, Ganf GG, Griffiths RW. 2004. The influence of experimentally generated turbulence on the Mash01 unicellular Microcystis aeruginosa strain. *Hydrobiologia* 517: 107–120.

Reynolds CS. 1984. *The ecology of freshwater phytoplankton.* (Cambridge University Press, Ed.). Cambridge.

Reynolds CS. 2000. Hydroecology of river plankton : the role of variability in channel flow. *Hydrological Processes* 14: 3119–3132.

Reynolds CS. 2007. Variability in the provision and function of mucilage in phytoplankton: facultative responses to the environment. *Hydrobiologia* 578: 37–45.

Schapira M, Seuront L, Gentilhomme V. 2006. Effects of small-scale turbulence on Phaeocystis globosa (Prymnesiophyceae) growth and life cycle. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 335: 27–38.

Serra T, Granata T, Colomer J, Stips a., Møhlenberg F, Casamitjana X. 2003. The role of advection and turbulent mixing in the vertical distribution of phytoplankton. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 56: 53–62.

Smayda TJ. 1970. The suspension and sinking of phytoplankton in the sea. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* 8: 353–414.

Smayda TJ, Reynolds CS. 2001. Community assembly in marine phytoplankton: application of recent models to harmful dinoflagellate blooms. *Journal of Plankton Research* 23: 447–461.

Smetacek VS. 1985. Role of sinking in diatom life-history cycles: ecological, evolutionary and geological significance. *Marine Biology* 84: 239–251.

Smetacek V, Assmy P, Henjes J. 2004. The role of grazing in structuring Southern Ocean pelagic ecosystems and biogeochemical cycles. *Antarctic Science* 16: 541–558.

Smith IR. 1982. A simple theory of algal deposition. *Freshwater Biology* 12: 445–449.

Stanca E, Cellamare M, Basset A. 2013. Geometric shape as a trait to study phytoplankton distributions in aquatic ecosystems. *Hydrobiologia* 701: 99–116.

Sukhodolov A, Thiele M, Bungartz H. 1998. Turbulence structure in a river reach with sand bed. *Water Resources Research, AGU,*34: 1317–1334.

Sullivan JM, Swift E. 2003. Effects of small-scale turbulence on net growth rate and size species of marine dinoflagellates. *Journal of Phycology* 94: 83–94.

Sun J, Liu D. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 25: 1331–1346.

Tavernini S, Pierobon E, Viaroli P. 2011. Physical factors and dissolved reactive silica affect phytoplankton community structure and dynamics in a lowland eutrophic river (Po river, Italy). *Hydrobiologia* 669: 213–225.

Tennekes HH, Lumley JL. 1972. *A first course in turbu- lence.* (M Press, Ed.). Cambridge, MA.: MIT Press.

Thingstad TF, Øvreås L, Egge JK, Løvdal T, Heldal M. 2005. Use of non-limiting substrates to increase size; a generic strategy to simultaneously optimize uptake and minimize predation in pelagic osmotrophs? *Ecology Letters* 8: 675–682.

Thomas WH, Gibson CH. 1990. Effects of small-scale turbulence on microalgae. *Journal of Applied Phycology* 2: 71–77.

Thorpe SA. 2007. *An introduction to ocean turbulence*. Cambridge: Cambridge University Press.

Violle C, Navas M-L, Vile D, Kazakou E, Fortunel C, Hummel I, Garnier E. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116: 882–892.

Waite A, Fisher A, Thompson PA, Harrison P. 1997. Sinking rate versus cell volume relationships illuminate sinking rate control mechanisms in marine diatoms. *Marine Ecology Progress Series* 157: 97–108.

Walsby AE. 1994. Gas vesicles. *Microbiological reviews* 58: 94–144.

Walsby AE, Holland DP. 2006. Sinking velocities of phytoplankton measured on a stable density gradient by laser scanning. *Journal of the Royal Society, Interface* 3: 429–39.

Wang P, Shen H, Xie P. 2012. Can hydrodynamics change phosphorus strategies of diatoms? Nutrient levels and diatom blooms in lotic and lentic ecosystems. *Microbial Ecology* 63: 369–82.

Warnaars TA, Hondzo M. 2006. Small-scale fluid motion mediates growth and nutrient uptake of Selenastrum capricornutum. *Freshwater Biology* 51: 999–1015.

Weithoff G. 2003. The concepts of "plant functional types" and "functional diversity" in lake phytoplankton - a new understanding of phytoplankton ecology? *Freshwater Biology* 48: 1669–1675.

Young AM, Karp-Boss L, Jumars PA, Landis EN. 2012. Quantifying diatom aspirations: Mechanical properties of chain-forming species. *Limnology & Oceanography* 57: 1789–1801.

Chapitre 5 :

Structuration spatiale de la communauté phytoplanctonique en estuaire

Introduction

Nous avons vu dans le Chapitre 3 que les rivières de l'Aulne et de l'Elorn charriaient un stock de matière différent aussi bien en termes de quantité (charge en nutriments et en phytoplancton) que de qualité (structure de la communauté phytoplanctonique). En adoptant une approche morphofonctionnelle, nous avons pu mettre en évidence que les conditions hydrodynamiques à travers les différentes intensités de turbulence en étaient la cause, facteur dont nous avons évalué l'impact en conditions contrôlées dans le Chapitre 4. Dans ce Chapitre, l'objectif est maintenant d'évaluer l'impact de ces différences sur la communauté phytoplanctonique en estuaire.

Les estuaires constituent une interface clé entre le système continental et le système marin puisque les processus biogéochimiques dont ils sont le siège conditionnent aussi bien quantitativement que qualitativement les transferts de matière organique et inorganique le long du *continuum* terre mer. Les estuaires sont caractérisés par un mélange entre les eaux douces et les eaux marines dont l'intensité varie dans le temps en fonction des débits fluviaux et des forces de marées. La rencontre de ces masses d'eaux aux propriétés très contrastées résulte en la mise en place de gradients physiques, chimiques et biologiques beaucoup plus marqués au sein des estuaires que dans les systèmes fluvial et marin adjacents (Becker et al. 2010). Se différenciant de ces systèmes par une biocénose, des fonctions écosystémiques et une dynamique temporelle qui leur sont propres, les estuaires sont des zones de transition répondant à la définition de frontière écologique (Cadenasso *et al.*, 2003; Yarrow & Marín, 2007).

Les frontières écologiques peuvent être de plusieurs types selon les gradients de contraintes environnementales qui les caractérisent et leurs conséquences sur la structuration spatiale d'une communauté donnée. Van der Maarel (1990) distingue *(i)* l'écotone, zone de transition dans laquelle une communauté donnée change de façon abrupte par rapport aux écosystèmes adjacents, sous l'effet de fortes fluctuations des contraintes environnementales, *(ii)* de l'écocline, où les changements de la communauté en question sont graduels. Les estuaires ont souvent été considérés comme des écotones, sans justification particulière s'appuyant sur les changements des communautés (Modéran, 2010). Quelques auteurs ont donc tenté d'identifier si, selon un axe terre/mer, un estuaire était un écosystème se comportant plutôt comme un écotone

ou une écocline. Attrill and Rundle (2002) montrent que la succession spatiale de la communauté de macroinvertébrés dans l'estuaire de la Tamise est graduelle suggérant un mode de fonctionnement du type écocline. Des études conduites dans les estuaires de l'Escaut (Muylaert *et al.*, 2009) et du fleuve Suwannee (Quinlan & Phlips, 2007) sur la communauté phytoplanctonique aboutissent à la même conclusion, avec une transition progressive des espèces d'eau douce vers des espèces marines.

Parmi les contraintes environnementales, le changement de salinité est un facteur déterminant dans la structuration spatiale de la communauté phytoplanctonique en estuaire (Rijstenbil, 1987; Muylaert *et al.*, 2000; Brogueira *et al.*, 2007; Flöder *et al.*, 2010). En engendrant un choc osmotique au niveau cellulaire, il va conduire à une diminution du taux de croissance qui sera variable selon les espèces (Kies, 1997; Flöder *et al.*, 2010). Cependant, la structure de la communauté est également contrôlée par la turbulence (Smayda & Reynolds, 2001; Pannard *et al.*, 2008), le temps de résidence (Ferreira *et al.*, 2005; Lucas *et al.*, 2009), la disponibilité en lumière (Underwood & Kromkamp, 1994; Gameiro *et al.*, 2007) et en nutriments (Del Amo et al. 1997; Revilla et al. 2000), la prédation (Alpine & Cloern, 1992; Anderson & Rengefors, 2006) et la température (Muylaert *et al.*, 2000; Seoane *et al.*, 2011), ces différents facteurs étant pour la plupart conditionnés par l'action combinée du débit fluvial et de la marée.

Comme nous l'avons montré dans les chapitres précédents, c'est l'importance relative de ces contraintes environnementales qui va conditionner la sélection des espèces présentant les traits fonctionnels physiologiques et morphologiques (définition chapitre 1, chapitre 3 et chapitre 4) les plus adaptés. Les différences de turbulence joue par exemple un rôle majeur sur la structure de la communauté dans l'estuaire du fleuve San Joaquim (Lehman, 2007). En amont de l'estuaire, des diatomées de grande taille dominent la communauté, et sont maintenues dans la colonne d'eau grâce à une turbulence élevée, alors qu'en aval, où le niveau de turbulence est faible, ce sont les flagellés qui dominent, avantagés par leur capacité à contrôler leur position verticale. En revanche, dans l'estuaire Paraíba, le temps de résidence structure la communauté en sélectionnant des espèces à fort taux de croissance quand celui-ci est faible (Costa *et al.*, 2009). Au contraire, les temps de résidence longs associés aux débits fluviaux faibles favorisent des espèces au taux de croissance plus lent. Dans certains estuaires, c'est la

disponibilité en lumière qui impacte le plus la communauté. Elle dépend de la concentration en matière en suspension qui peut être très élevée notamment dans le bouchon vaseux, sous l'effet du débit fluvial, de la marée (Vale & Sundby, 1987) et de la morphologie de l'estuaire (Kromkamp & Peene, 1995). En conditions de faible luminosité les cellules de petites tailles ont un taux de croissance plus élevé que les cellules de grande taille (Finkel *et al.*, 2009; Key *et al.*, 2010). Il a ainsi été montré dans les estuaires du fleuve Suwannee (Bledsoe & Phlips, 2000) et de la Vire (Jouenne *et al.*, 2005) que la communauté phytoplanctonique était dominée par des cellules de petite taille au niveau des zones de forte turbidité alors que les zones plus avales où l'intensité lumineuse est plus forte étaient caractérisées par des cellules de grandes tailles. A travers ces quelques exemples, il apparait que pour un trait donné, des valeurs opposées peuvent être sélectionnés en fonction de l'importance relative des contraintes environnementales.

La structure de la communauté phytoplanctonique fluviale est également conditionnée par les facteurs environnementaux, et de la même manière, l'importance relative de chacun d'entre eux conditionne la sélection de différents traits fonctionnels comme nous avons pu le voir dans le cas de l'Aulne et de l'Elorn (Chapitre 3). Ces deux rivières ont le même exutoire, mais transportent des communautés bien distinctes, aussi bien en termes d'espèces que de traits fonctionnels. Elles se différencient également par la charge de matière qu'elles transportent (matière organique plus élevée dans l'Aulne, alors que l'Elorn charrie plus d'éléments dissous), leur débit (environ cinq fois plus fort dans l'Aulne) et ont des estuaires aux morphologies différentes (celui de l'Aulne est méandriforme alors que l'Elorn est rectiligne). Dans ce contexte se pose la question du devenir de communautés différentes dans les estuaires respectifs des deux rivières. Une des deux communautés pourrait par exemple présenter des traits fonctionnels plus adaptés aux conditions estuariennes. Cela pourrait engendrer des différences de fonctionnement des deux estuaires à travers les concepts précédemment évoqués d'écotone et d'écocline. Au cours de ce chapitre nous avons donc cherché à identifier les facteurs qui contrôlent la structure des communautés estuariennes, en répondant plus particulièrement à deux questions : *(i)* la structuration des communautés peut-elle être décrite, comme nous l'avons vu précédemment, au moyen de traits morpho-

fonctionnels, et *(ii)* quel est l'influence de la structure des communautés fluviales sur la structure des communautés estuariennes.

Matériel et Méthodes

1) Description des sites

L'Aulne et l'Elorn sont situés dans le même contexte géoclimatique et reçoivent des apports fluviaux bien différents en termes de quantité et de qualité de matière. Ils constituent les principaux estuaires de la rade de Brest en assurant plus de 85% des apports en eau douce. Ce sont des systèmes macrotidaux, expérimentant donc de fortes amplitudes de marée. Cependant, la morphologie plus sinueuse de l'estuaire de l'Aulne le rend moins sensible à l'effet de la marée par rapport à celui de l'Elorn qui est rectiligne (Raimonet *et al.*, 2013). L'influence de la marée est également plus forte dans l'estuaire de l'Elorn puisque son débit annuel moyen enregistré sur 2009 et 2010 (5.78 $m^3.s^{-1}$) est environ quatre fois plus faible que celui de l'Aulne (24.32 $m^3.s^{-1}$) (http://www.hydro.eaufrance.fr/selection.php).

2) Campagne d'échantillonnage

Trois campagnes d'échantillonnages ont été conduites sur différentes périodes de l'année (mai 2009, juillet 2010, septembre 2010) afin de rendre compte de la variabilité saisonnière. Ces campagnes de prélèvements ont fait suite à celles réalisées en rivière (Chapitre 3). Sept stations réparties selon un gradient de salinité (toutes les 5 unités de salinités, de la salinité 0 à la salinité 30) ont été échantillonnées dans chaque estuaire. Ce type de suivi a été préféré à un suivi à station fixe afin d'éviter les variations dues au mouvement des masses d'eaux sous l'action du débit fluvial et des marées (Modéran *et al.*, 2010).

3) Analyses physicochimiques

In situ

Des profils verticaux de salinité, pH, température, oxygène dissous, turbidité et de lumière ont été réalisés grâce à une sonde Idronaut 316+. A partir des profils de lumière

le rapport entre la profondeur de la zone euphotique (Z_{eu}) et la profondeur totale (Z) a pu être calculé afin d'estimer la disponibilité en lumière.

En laboratoire

Afin de mesurer les concentrations en phosphore total dissous et en nitrates l'eau échantillonnée a été filtrée (moins de 6h après le prélèvement) sur des filtres en fibre de verre Whatman GF/F (0.7 µm). La fraction de prélèvement dédiée au dosage de silice a été filtrée sur des filtres nucléopores en polycarbonates (0.6 µm). Les dosages ont également été réalisés sur des échantillons non filtrés, afin de connaitre la concentration totale (dissoute et particulaire) en phosphore et en azote. Pour une raison indéterminée, les analyses de phosphore dissous n'ont pas donné de résultats cohérents sur les échantillons de la campagne de Juillet. Ces résultats ne sont donc pas pris en compte dans notre étude.

Les concentrations en matière en suspension (MES), en matière inorganique particulaire (MIP) et matière organique particulaire (MOP) ont aussi été déterminées par pesée de la matière retenue sur filtres GF/F avant et après calcination (méthode décrite dans le Chapitre 2).

Les dosages de chlorophylle a (Chl a) ont été réalisé selon la méthode de Lorenzen (1967) à partir des filtres GF/F sur lesquels ont été filtrés les échantillons.

4) Structure de la communauté

L'identification et le comptage de phytoplancton ont été effectués sur les échantillons d'eau brute (non filtrée) préalablement fixés au Lugol et maintenus au noir à 4°C. L'identification taxonomique a été conduite jusqu'à l'espèce dans la mesure du possible, et jusqu'au genre le cas non échéant. Une espèce n'a cependant pas pu être identifiée à un niveau taxonomique inférieur que la Classe (Cryptophycée).[9]

Seules les cellules phytoplanctoniques des échantillons correspondants aux salinités 0, 5, 10, 20 et 30 (à l'exception des échantillons "salinité 0" des deux estuaires en mai et

[9] Les identifications des différentes espèces ont été possibles grâce à l'aide de Béatriz Beker (Université de Brest), Fabien Jouenne (Université de Caen) et Véronique Martin-Jézéquel (CNRS, Université de Nantes)

"salinité 20" de l'estuaire de l'Elorn) ont été comptées en cuves Utermöhl à l'aide d'un microscope inversé (Lund *et al.*, 1958).

Les mesures de taille des différentes espèces ont été effectuées pour chaque échantillon sur 20 individus lorsque l'abondance était suffisante, et leur biovolume a été calculé (Hillebrand *et al.*, 1999; Sun & Liu, 2003). Seules les espèces représentant plus de 1% de la biomasse totale ont été prise en compte dans l'analyse.

Les abondances des différentes espèces ont ensuite été réparties dans les différents groupes fonctionnels définis dans le chapitre 3 rappelés dans la table 5.1 ci-après. Un nouveau groupe a dû être créé, (correspondant à la combinaison des traits fonctionnels : absence de structure de mobilité, forme solitaire, sphérique de taille supérieur à 25µm avec présence de silice) puisqu'aucune des combinaisons définies dans le chapitre 1 ne correspondait à *Odontella* sp. (ce groupe est a donc était nommé "*Odon*" et non par une lettre pour souligner le fait qu'il n'est composé que d'une seule espèce). Elle n'a été observée que sous une forme solitaire, bien qu'elle puisse être organisée en filaments.

Table 5.1 Selected traits combinations. For each combination, two examples of dominant species are given (MLD, Maximum Linear Dimension (µm) of the unicellular, the colony or the filament).

Absence of motility structure	Colonial form	Flattened shape	Presence of silica	MLD >25µm	**Group A**
			Absence of silica	MLD >25µm	**Group B**
				MLD <25µm	**Group D**
		Spherical shape (3D)	Presence of large amount of mucilage	MLD >25µm	**Group E**
	Filamentous species (elongated shape)	MLD >25µm			**Group F**
	Solitary form	Flattened shape	Presence of silica	MLD <25µm	**Group G**
		Spherical shape	Absence of silica	MLD <25µm	**Group H**
			Presence of silica	MLD >25µm	**Group Odon**
		Elongated shape	Presence of silica	MLD <25µm	**Group I**
				MLD >25µm	**Group J**
			Absence of silica	MLD <25µm	**Group K**
				MLD >25µm	**Group L**
Presence of motility or buoyancy regulation structure	MLD >25µm	With flagella			**Group M**
		With aerotopes			**Group N**
	MLD <25µm	With flagella			**Group O**

5) Analyses statistiques

La mise en évidence de la corrélation entre les différentes variables est effectuée *via* le calcul du coefficient de Spearman. Les valeurs moyennées sont suivies de la déviation standard et sont donc présentées sous la forme : moyenne ± déviation standard.

Afin de rendre compte des modifications de la communauté entre les différentes stations, un indice de diversité β correspondant à une distance de Sørensen (Koleff *et al.*, 2003) a été calculé. Cette distance est basée sur la présence/absence des espèces :

$$\beta_{site1_site2} = \frac{b+c}{2a+b+c} \qquad (5.1)$$

où b et c correspondent respectivement au nombre d'espèces retrouvées spécifiquement dans les sites 1 et 2, et a correspond au nombre d'espèce en commun entre les deux sites. L'indice a ensuite été normalisé par la distance (en km) séparant les deux sites (Muylaert *et al.*, 2009). Cet indice a été calculé pour chaque paire de stations adjacentes.

Une distance de Hellinger (chapitre 2) a également été calculée afin de mettre en évidence les différences de structure de la communauté (Legendre & Legendre, 1998). A partir de la matrice des distances des sites deux à deux, une classification ascendante hiérarchique présentée sous la forme d'un dendrogramme a été réalisée (méthode de regroupement de Ward) afin d'identifier les sites présentant le plus de différences dans la structure de leur communauté.

Une analyse factorielle des correspondances (AFC) a permis d'identifier la façon selon laquelle les abondances des espèces expliquaient le regroupement des différents sites. Les clusters identifiés sur le dendrogramme effectué à partir de la distance de Hellinger ont été représentés sous la forme d'ellipses sur la représentation graphique de l'AFC.

Résultats

1) Caractéristiques physicochimiques

Les débits mesurés pendant les périodes d'échantillonnage sont toujours plus élevés dans l'Aulne (1.6 à 32.5 $m^3.s^{-1}$) que dans l'Elorn (1.2 à 12.1 $m^3.s^{-1}$). Ces différences expliquent en partie un gradient de salinité moins marqué dans l'estuaire de l'Aulne avec une distance entre la plus faible à la plus forte salinité variant entre 20 et 33 km. Cette distance varie entre 9 et 12km dans l'estuaire de l'Elorn (Fig. 5.1). Le marnage du au mouvement de marée varie 2.7m à 4.8m dans l'Aulne et de 2m à 4.9m dans l'Elorn. Ainsi, les estuaires présentent des caractéristiques hydrodynamiques très contrastées entre les différentes campagnes, que l'on peut synthétiser de la façon suivante :

- Faible débit (<2 $m^3.s^{-1}$), forte marée (marnage > 4.5m)
- Fort débit (>30 m^3 dans l'Aulne et >10 $m^3.s^{-1}$ dans l'Elorn), marée intermédiaire (marnage Aulne : 2.8m - marnage Elorn : 3.3m)
- Débit intermédiaire (5 m^3 dans l'Aulne et 3.8 $m^3.s^{-1}$ dans l'Elorn), marée intermédiaire (marnage Aulne : 2.7m – marnage Elorn : 33)

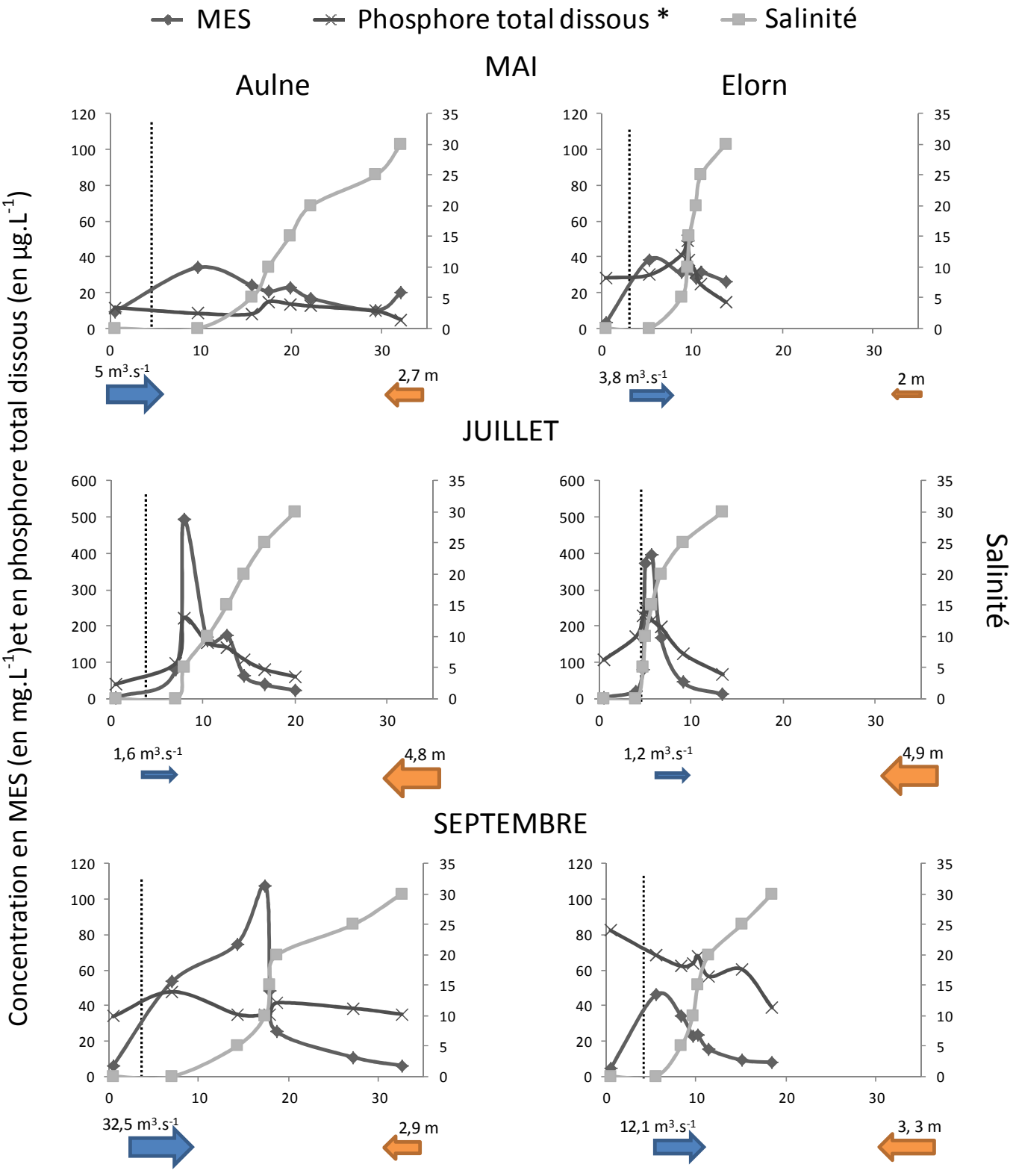


Fig.5 1 Variations spatiales et saisonnières de la salinité, et des concentrations en MES ($mg.L^{-1}$) en Phosphore total dissous (en $\mu g.L^{-1}$) dans l'estuaire de l'Aulne (à gauche) et de l'Elorn (à droite). En juillet, le phosphore total (dissous + particulaire) est représenté (le phosphore total dissous n'a pas pu être dosé). Sur chaque graphique, le point situé à gauche du trait en pointillé représente la valeur du site en rivière pour chaque paramètre. Les flèches bleus représentent le débit des rivières, les flèches oranges le marnage de la marée.

Ces différences de conditions hydrodynamiques influencent les concentrations en MES (Fig. 5.1). Elles sont maximales lors des forts coefficients de marée survenant en Juillet (jusqu'à plus de 500mg.L^{-1} dans le bouchon vaseux) et semblent donc être la conséquence d'une remise en suspension sous l'effet de la marée (Vale & Sundby, 1987) plutôt que le résultat d'une advection par les rivières dont le débit est faible à cette période de l'année. De plus, la concentration en MES est de 3.5 à 50 fois plus faible en rivière qu'en estuaire. Au sein d'un estuaire donné, pour une saison donnée, la concentration maximale en MES survient toujours dans les zones de salinité inférieur à 20. La partie inorganique des MES représente la fraction la plus élevée de la matière en suspension totale. Elle constitue plus de 80% des MES en mai et dans les stations de salinité inférieure à 20 (juillet et septembre).

Les MES influencent la disponibilité en lumière dans la colonne d'eau et le rapport Z_{eu}/Z est donc inversement corrélé avec leur concentration ($r= -0.8$, $p<0.01$; coefficient de corrélation de Spearman). Ce rapport est toujours inférieur à 1 dans l'estuaire, surtout dans les sites de faible salinité (<20) où il est inférieur à 0.5. Il est toujours supérieur à 0.8 dans les stations fluviales.

Les concentrations en orthophosphates (données seulement disponibles pour la campagne de mai) et en phosphore total dissous (données seulement disponibles pour la campagne de septembre) ne diminuent avec la salinité que dans l'estuaire de l'Elorn en septembre (Fig. 1). Dans les autres cas, la concentration reste stable (Aulne Septembre, moyenne=38.3 ± 4.9 µg.L^{-1}), ou atteint des valeurs plus élevées aux salinités intermédiaires (Aulne mai, valeur maximale à la salinité 10, 15.0 µg.L^{-1}), et peuvent être reliés à des concentrations plus fortes en MES (Elorn mai, valeur maximale 49.0 µg.L^{-1} correspondant à la concentration maximale en MES). Puisque nous ne disposons pas de ces données en juillet, ce sont les concentrations en phosphore total qui sont représentées sur la figure 5.1. Celles-ci sont reliées à la dynamique spatiale des MES, en atteignant les plus fortes valeurs dans les zones ou la concentration en MES est maximale.

Les concentrations en nitrate sont plus élevées dans l'Elorn, variant en fonction de la saison dans le début de l'estuaire entre 5.0 mg.L^{-1} (septembre) et 7.4 mg.L^{-1} (mai et juillet), contre 1.9 mg.L^{-1} (septembre) et 2.5 et 5.3 mg.L^{-1} (mai et juillet respectivement)

dans l'Aulne (Fig. 5.2). Les concentrations à la salinité 30 sont comparables entre les estuaires et entre les saisons n'excédant jamais 1mg.L^{1}. Les concentrations en silice sont également plus élevées dans le début de l'estuaire de l'Elorn (11.4 mg.L^{-1} en juillet et 8.0 mg.L^{-1} en septembre) que dans celui de l'Aulne (5.6 mg.L^{-1} en juillet et 7.0 mg.L^{-1} en septembre), cette différence s'atténuant le long de l'estuaire (concentrations comprises entre 0.8 et 1.4 mg.L^{-1} à la salinité 30). Les plus fortes concentrations en nitrates et en silice dissoute en rivière et leur diminution le long du gradient de salinité (corrélation respective (Spearman) avec la salinité : $r = -0.8$, $p<0.01$; $r = -0.8$, $p<0.01$) indiquent que l'Aulne et l'Elorn sont les principales sources d'apport de ces nutriments en estuaire.

Au regard des rapports C/N, C/Si et C/P, les nutriments ne sont jamais limitant pour la croissance du phytoplancton, puisqu'ils n'excèdent jamais les valeurs respectives de 6.62, 6.62 et 106 à l'exception des sites de l'estuaire de l'Aulne de salinité 0 et 5 où survient une limitation en phosphore au mois de mai.

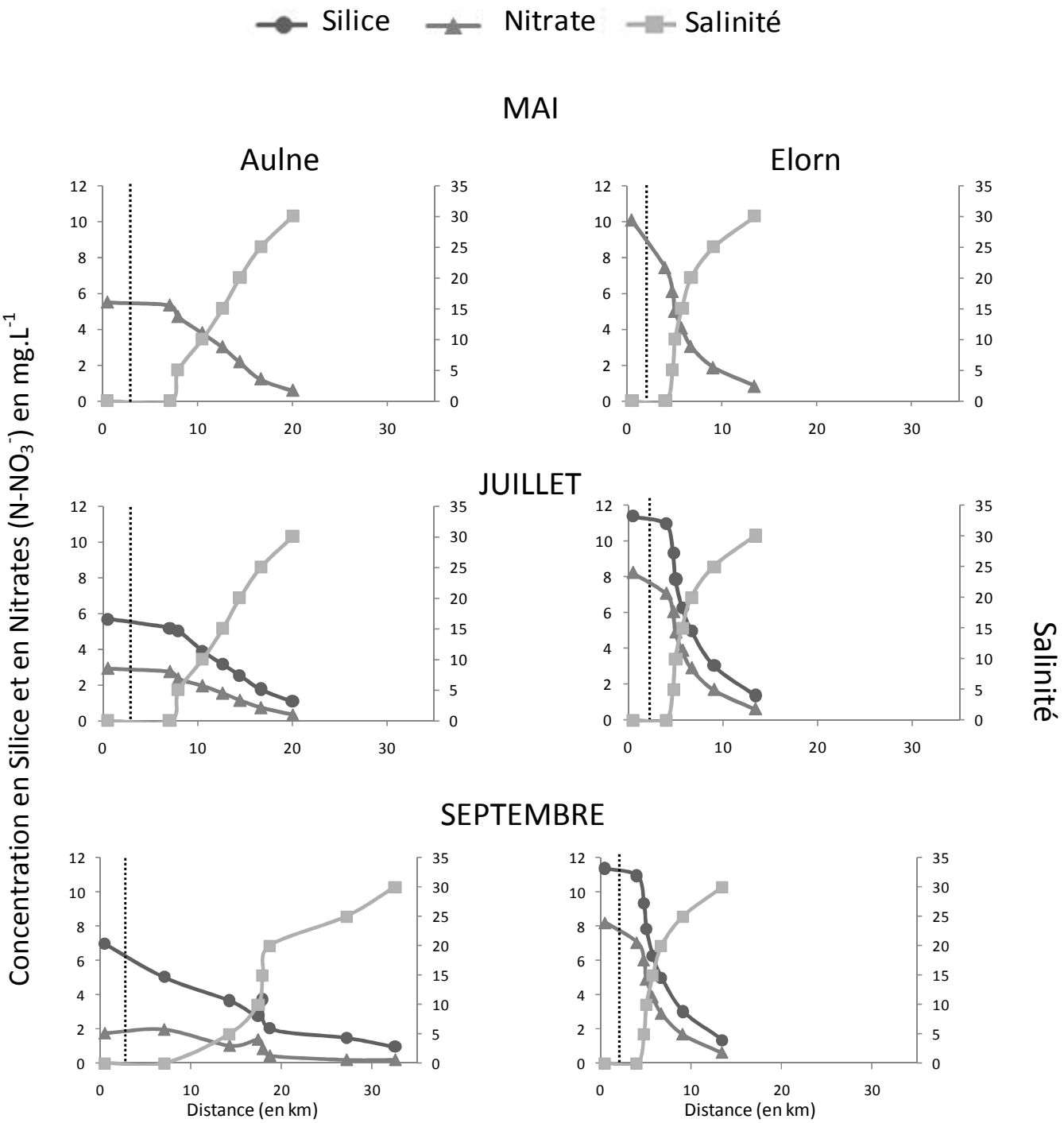


Fig.5 2 Variations spatiales et saisonnières de la salinité et des concentrations en nitrates en silice dissoute (en $mg.L^{-1}$) dans l'estuaire de l'Aulne (à gauche) et de l'Elorn (à droite). Les concentrations en silice ne sont disponibles que pour les campagnes de juillet et de septembre. Sur chaque graphique, le point situé à gauche du trait en pointillé représente la valeur du site en rivière pour chaque paramètre.

2) La communauté phytoplanctonique

Biomasse

La biomasse phytoplanctonique est minimale dans les stations fluviales (moyenne : 2.4 ± 2.3) et à l'embouchure des estuaires (2.4 ± 1.6) quelle que soit la saison (Fig. 5.3). Sa dynamique spatiale dans l'estuaire semble liée à la concentration en MES, pour les campagnes de mai et de juillet. Elle est maximale en juillet (18 µg chla.L^{-1} dans l'Aulne et 31 µg chla.L^{-1} dans l'Elorn) dans la zone de concentration maximale en MES. La biomasse est relativement stable en septembre et n'est supérieure à 5 µg chla.L^{-1} que dans l'Elorn aux salinités 10 (6.4 µg chla.L^{-1}) et 15 (5.9 µg chla.L^{-1}).

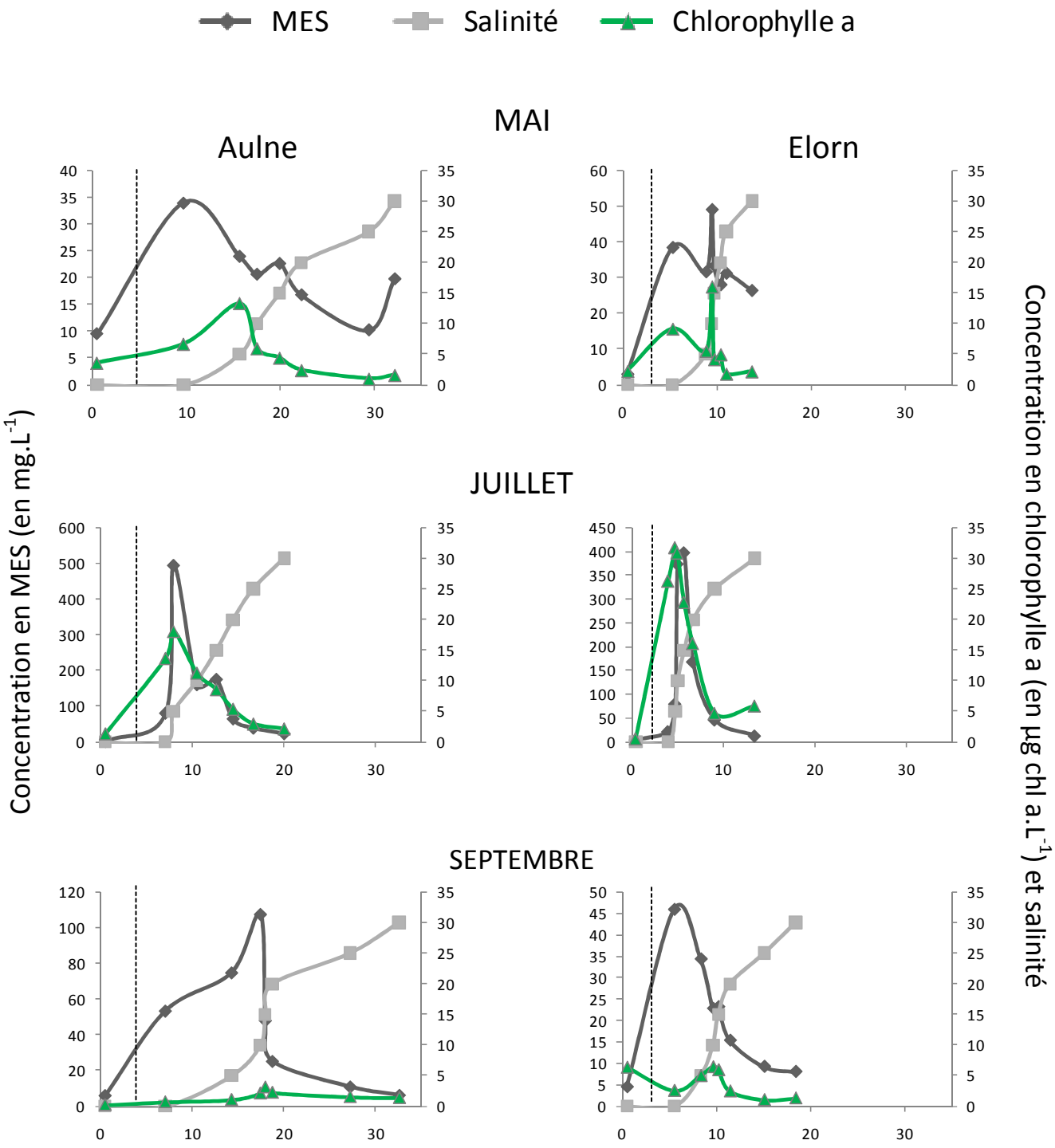


Fig. 5.3 Variations spatiales et saisonnières de la salinité et de la concentration en MES (en mg.L^{-1}) et en chlorophylle a (en µg chl a.L^{-1}) dans l'estuaire de l'Aulne (à gauche) et de l'Elorn (à droite). Les concentrations en silice ne sont disponibles que pour les campagnes de juillet et de septembre.

Structure de la communauté

Une approche basée sur les traits morpho-fonctionnels a été adoptée afin d'identifier les patrons de la structure de la communauté en estuaire. Les différentes combinaisons de traits réalisées pour l'étude en rivières ont été utilisées. Quatre combinaisons de traits morpho-fonctionnels présents dans la partie fluviale disparaissent dans l'estuaire. Il s'agit des combinaisons E (colonies mucilagineuses), D et H (cellules <25µm sans silice) et N (cyanobactérie avec vésicules à gaz). Cependant, cette approche s'est révélée infructueuse malgré un pourcentage d'inertie totale expliquée par les deux premiers axes supérieur à 60% (Fig. 5.4). Les groupes de stations formés ne présentent ni d'homogénéité saisonnière ni d'homogénéité spatiale. En effet, les sites correspondant à un estuaire ne sont pas regroupés, et aucune structuration amont aval claire n'émerge de l'analyse. Par ailleurs, les groupes morpho-fonctionnels ne se regroupent jamais en une combinaison fonctionnellement homogène. En d'autres termes, il est impossible d'affecter à un groupe de sites un trait fonctionnel comme nous avons pu le faire en rivières. Avant d'en expliquer les causes potentielles un peu plus loin dans ce manuscrit, nous avons adopté une approche taxonomique plus classique.

Nous avons donc utilisé la composition taxonomique pour évaluer les changements dans la structure de la communauté. Un des principaux résultats est la différence très marquée entre la communauté observée en rivière et la communauté présente en estuaire (Fig. 5.5), puisque la plus grande distance survient entre un groupe composé exclusivement des stations fluviales (Groupe Rivière GR) et un autre groupe composé exclusivement des stations estuariennes (Groupe Estuaire GE). Cette différence de structure survient même pour les sites estuariens de salinité 0. L'évolution de la diversité β le long du continuum terre mer reflète également ce changement drastique de la communauté phytoplanctonique dès les premières stations estuariennes, quelle que soit la saison ou la rivière considérée caractéristique d'un système de type écotone (Fig. 5.6). Après cette abrupte transition, les changements sont plus progressifs le long du gradient de salinité traduisant plutôt un fonctionnement du type écocline.

Dans le groupe GE défini dans la figure 5.5, il existe un effet spatial sur la structure de la communauté, mais qui ne dépend pas de l'appartenance à l'un des deux estuaires mais plutôt à une structuration amont/aval. En effet, la distance qui sépare les stations

d'un même estuaire au sein d'une saison est toujours plus grande que la distance qui sépare les deux estuaires. Vis-à-vis de la saisonnalité, six des huit groupes obtenus sont homogènes.

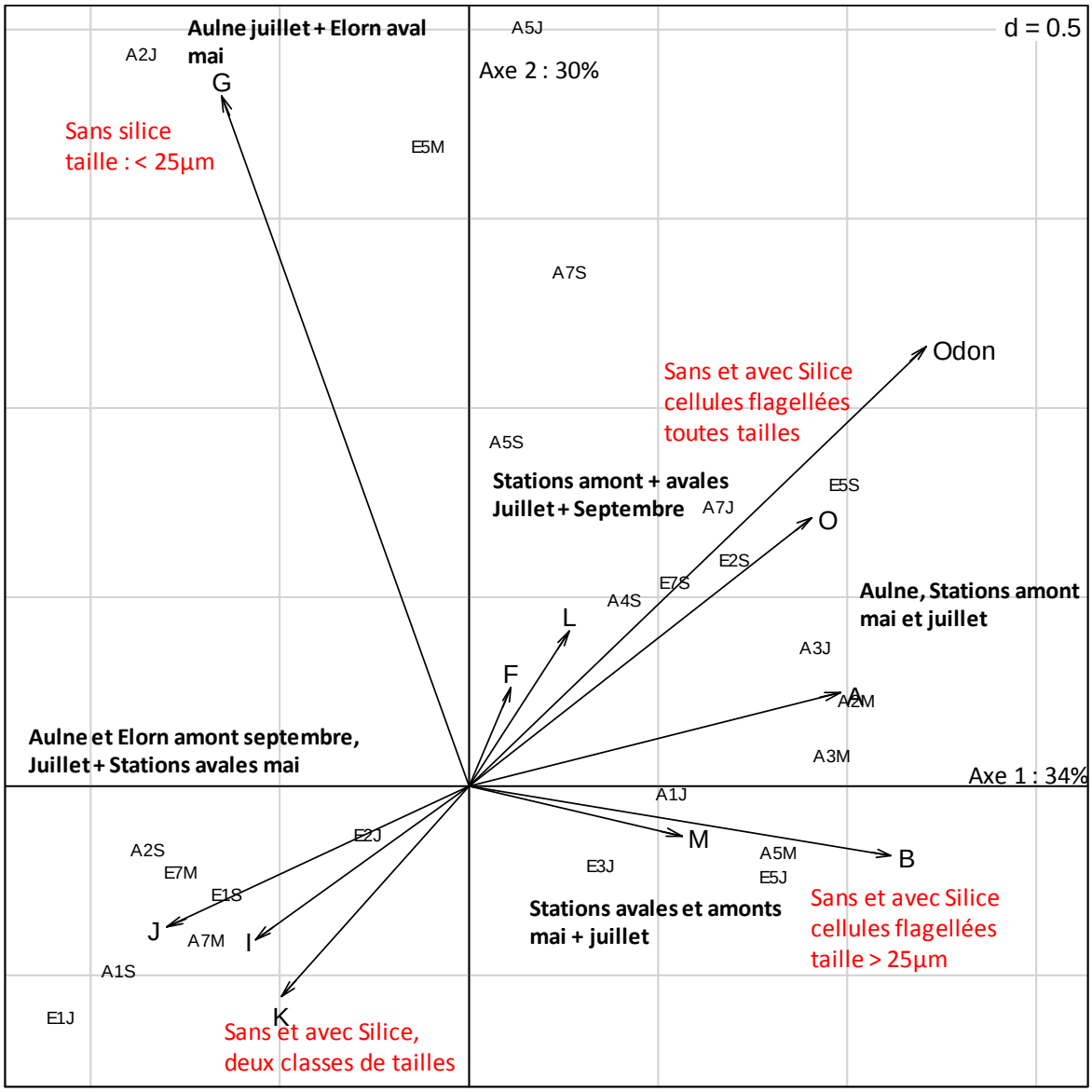


Fig.5 4 AFC réalisée à partir des biovolumes des groupes fonctionnels présents dans le long de l'estuaire de l'Aulne et de l'Elorn. Les deux premiers axes expliquent 64% de l'inertie totale. Une synthèse des groupes de sites (en noir) ainsi que les traits fonctionnels qui les caractérisent (en rouge) est représentée. Explication des codes : A pour Aulne, E pour Elorn, les chiffres de 1 à 7 rendent compte de la salinité (l'augmentation d'une unité correspond à une augmentation de 5 de salinité, 1 étant la salinité 0 et 7 la salinité 30), M pour Mai, J pour Juillet et S pour Septembre.

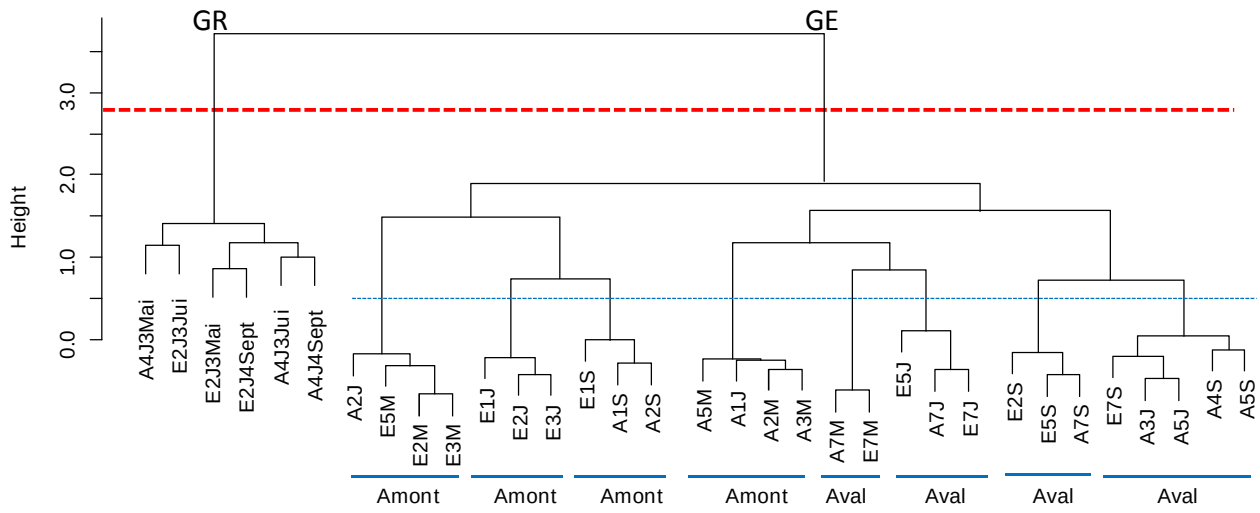


Fig. 5.5 Dendrogramme effectué sur la matrice obtenue à partir du calcul de la distance de Hellinger entre les différents sites sur les biovolumes de différentes espèces. Une première séparation (voir chapitre 2 pour la méthode) permet de séparer un groupe constitué exclusivement de stations rivières (GR) du deuxième groupe seulement composé de stations estuariennes (GE). Une deuxième séparation a été effectuée (en ne considérant que GE) et a permis d'obtenir huit clusters.

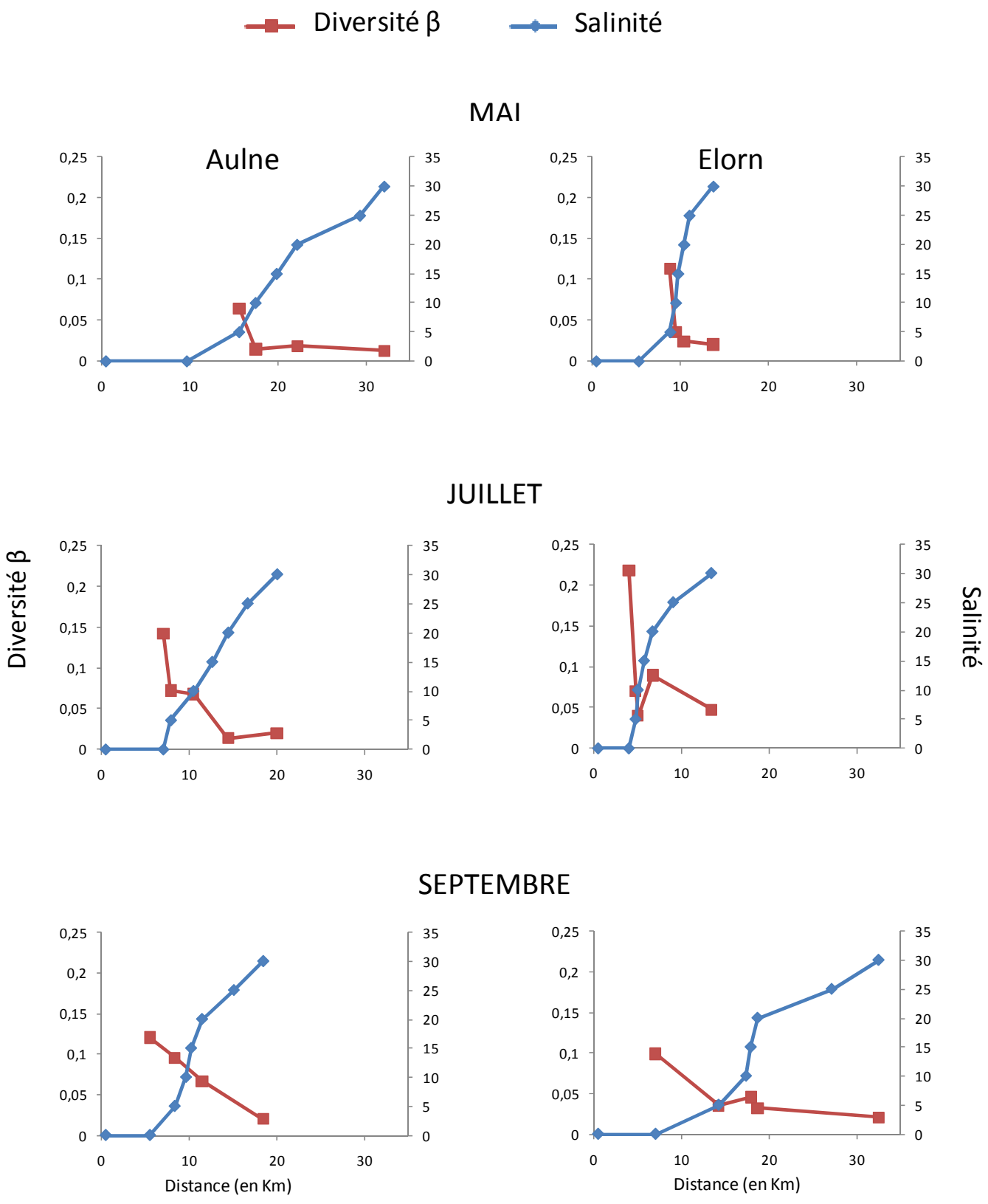


Fig. 5.6 Evolution de la diversité β normalisée par la distance en km entre deux stations, le long des deux estuaires pour les différentes saisons.

Parmi les 27 échantillons comptés couvrant les différents sites des différentes campagnes, 12 sont dominés par les diatomées, 10 par les cryptohycées, et 3 par les dinophycées (annexe 2). Dans les deux échantillons restants, les diatomées et les cryptophycées représentent une fraction similaire de la biomasse totale. Des espèces benthiques et des espèces pélagiques sont présentes dans tous les échantillons. L'AFC permet d'identifier les groupes d'espèces caractéristiques des différents groupes de sites (Fig. 5.7).

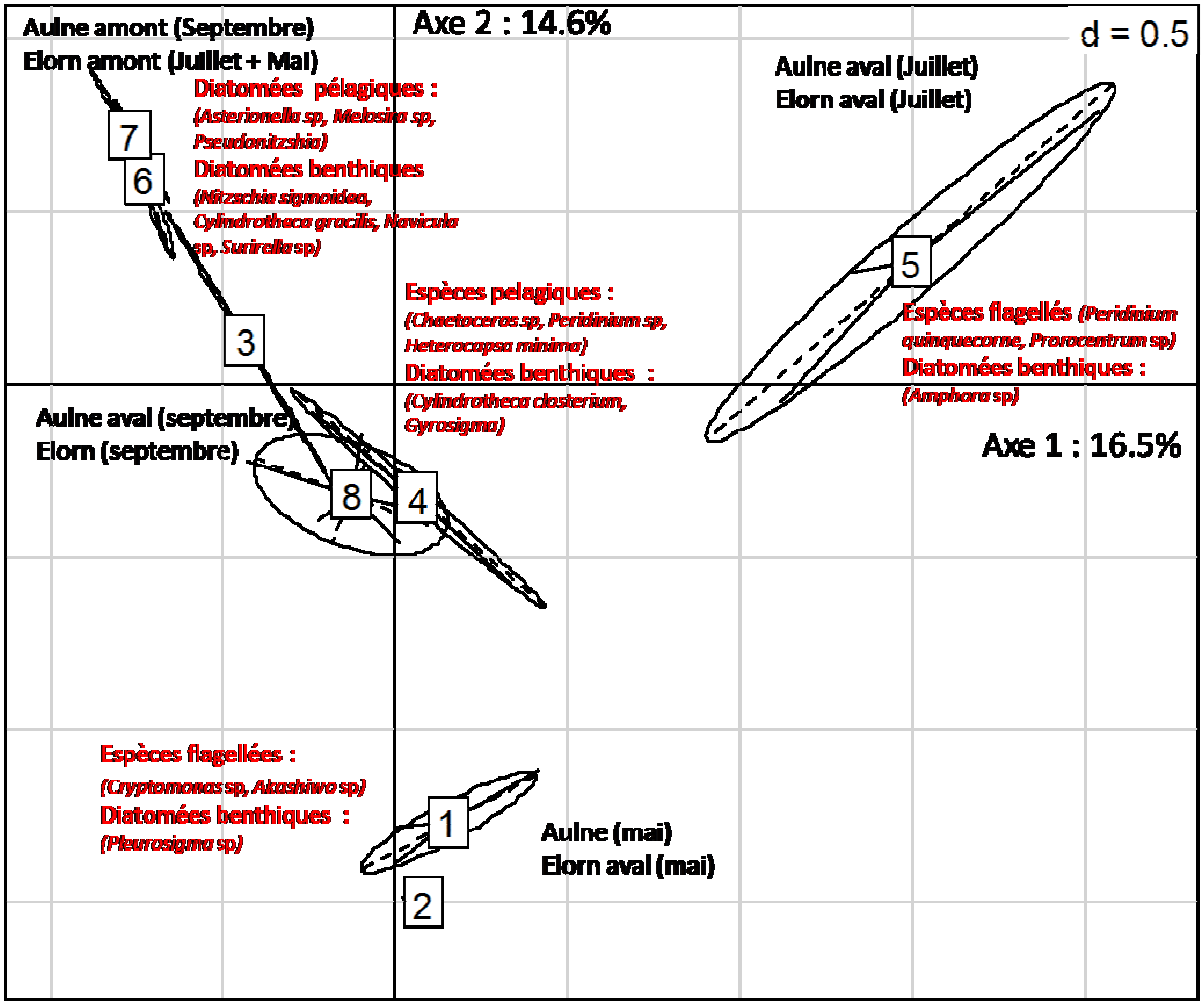


Fig. 5.7 AFC réalisée à partir des biovolumes des différentes espèces présentes dans le long de l'estuaire de l'Aulne et de l'Elorn. Les deux premiers axes expliquent 31.1% de l'inertie totale. Les ellipses correspondent aux huit clusters identifiés à partir du dendrogramme et de la distance d'Hellinger. Une synthèse des groupes de sites (en noir) ainsi que les traits fonctionnels qui les caractérisent (en rouge) est représentée. Explication des codes : A pour Aulne, E pour Elorn, les chiffres de 1 à 7 rendent compte de la salinité (l'augmentation d'une unité correspond à une augmentation de 5 de salinité, 1 étant la salinité 0 et 7 la salinité 30), M pour Mai, J pour Juillet et S pour Septembre.

31.1 % de l'inertie totale sont expliqués par les deux premiers axes. Les groupes identifiés dans le dendrogramme (Fig. 5.5) représentés sous la forme d'ellipses se recoupent peu, indiquant des regroupements congruents entre les deux analyses et renforçant donc leur puissance. Les stations amont et avales des deux estuaires aux différentes saisons sont séparées sur ces deux axes sauf pour l'estuaire de l'Aulne en mai (stations amont et avales séparées sur l'axe 3) et l'Elorn en septembre (stations amont et avales séparées sur l'axe 4). L'analyse confirme la séparation amont/aval, mais ne permet pas de mettre en évidence de patrons saisonniers, ou liés à l'appartenance à un des deux estuaires.

Discussion

L'objectif de ce chapitre était d'identifier si la structure de la communauté en estuaire pouvait être expliquée à l'aide des traits fonctionnels et si des apports différents des rivières avaient un impact sur la communauté phytoplanctonique en estuaire.

L'approche morpho-fonctionnelle s'est montrée infructueuse pour comprendre la structuration spatiale et temporelle de la communauté. Les échantillonnages ont pourtant été conduits dans les estuaires pendant trois campagnes aux conditions physicochimiques contrastées, donc supposées sélectionner des combinaisons de traits morpho-fonctionnels différents. Deux paramètres ont montré des variations de grande amplitude : le débit (variation spatiale (entre les deux rivières) et saisonnière) et la disponibilité en lumière (variabilité spatiales (le long des estuaires) et saisonnière). Les concentrations en nutriments n'étant pas limitant, nous ne nous attendions pas à ce que leurs variations expliquent la structure de la communauté.

Le débit conditionne le temps de résidence en estuaire. Ce dernier paramètre n'a pas été mesuré, cependant les variations du gradient de salinité en fonction de la distance indiquent qu'il est différent entre les deux rivières mais aussi entre les campagnes. Le temps de résidence est généralement positivement corrélé avec la biomasse en phytoplancton (Cloern *et al.*, 1983; Howarth *et al.*, 2000; Jassby, 2008; Lionard *et al.*, 2008). Lorsque les temps de résidence sont trop courts, la production *in situ* pélagique est rendue impossible et le phytoplancton observé est le résultat de l'advection des cellules provenant de l'amont (Muylaert & Raine, 1999). Dans les estuaires de l'Aulne et

l'Elorn, les temps de résidence correspondant aux débits fluviaux enregistrés lors de nos campagnes de prélèvement semblent être suffisamment longs pour permettre le développement du phytoplancton. En effet, en utilisant le rapport des isotopes stables du carbone organique particulaire, Savoye (2001) montre que le phytoplancton observé dans ces estuaires est le résultat d'une production autochtone pour des débits similaires à ceux enregistré pendant la campagne de septembre présentant les valeurs de débit les plus élevées ($33 m^3.s^{-1}$). Dans ces conditions, le temps de résidence peut influencer la structure de la communauté en exerçant une contrainte sur le taux de croissance : s'il est court, les espèces avec un taux de croissance élevé seront dominantes (Ferreira *et al.*, 2005). Puisque les temps de résidence sont spatialement (entre les deux rivières) et temporellement différents, une structuration de la communauté par la taille, proxy du taux de croissance (eg. Litchman & Klausmeier 2008) aurait donc par exemple pu être observée, avec des espèces de petite taille dominant dans l'estuaire de l'Aulne qui présente des débits fluviaux plus élevés.

Les concentrations en MES montrent également de fortes différences selon les saisons, et selon la partie de l'estuaire considérée. L'amplitude de leurs variations engendre de grandes différences dans la disponibilité en lumière. Là encore, ces gradients très marqués laissaient penser que la taille serait un trait permettant d'expliquer la structure de la communauté. Cependant, aucune tendance de la sorte n'émerge de nos analyses. Dans les estuaires, les gradients des paramètres physicochimiques sont soumis à une grande variabilité court terme. Ceci est d'autant plus vrai pour les estuaires de l'Aulne et de l'Elorn qui subissent une forte influence de la marée en leur qualité d'estuaires macrotidaux (Revilla *et al.*, 2000). Cette variabilité court terme pourrait conduire, pour un trait donné, à la sélection de valeurs opposées, avec par exemple des cellules de petites tailles en cas de forte turbidité et de grande taille en conditions de faible turbidité. Ces traits coexisteraient sous l'effet des fluctuations (Hutchinson, 1961), biaisant ainsi l'interprétation de leur occurrence.

Une autre explication possible des limites de l'approche morpho-fonctionnelle dans notre étude est fournie par l'analyse taxonomique qui nous informe de la part significative d'espèces benthiques au niveau de tous les sites. Généralement, elles sont présentes dans la colonne d'eau en automne et en hiver : les vitesses de vent plus

élevées lors de ces saisons induisent une remise en suspension de ces espèces (De Jonge & Van Beusekom, 1995; Quinlan & Phlips, 2007; Choudhury & Pal, 2011). Dans le cas de l'Aulne et de l'Elorn, les espèces benthiques sont présentes quelle que soit la saison, malgré la stratification verticale survenant pendant la campagne de mai et de septembre dans les parties amont des deux estuaires. Si on admet l'hypothèse selon laquelle les traits fonctionnels déterminent l'interaction des organismes avec leur environnement, alors des espèces allochtones peuvent constituer une limite à l'adoption de l'approche morpho-fonctionnelle. Effectivement, ces espèces présentent des traits caractéristiques des contraintes agissant dans les milieux où elles se sont développées (le benthos). Expliquer la structure de la communauté phytoplanctonique en utilisant ces traits peut donc être une source d'erreur.

Par ailleurs, la salinité agit comme un facteur déterminant dans la structure de la communauté (Dijkman & Kromkamp, 2006). Les changements de salinités induisent des phénomènes d'osmorégulation qui ont pour conséquence une augmentation de la respiration et donc une diminution du taux de croissance (Rijstenbil, 1987). Bien qu'ayant un effet toujours négatif sur le taux de croissance, son intensité peut être variable selon les groupes phytoplanctoniques (Lionard *et al.*, 2005). Aucun des traits morphologiques (taille, motilité, densité et forme) pris en compte dans notre étude ne reflète ces variations puisqu'à notre connaissance, aucun trait en lien avec de tels processus physiologiques n'a pour l'heure été identifié. Ceci explique probablement que la seule étude qui, à notre connaissance, ait utilisé avec succès des groupes fonctionnels pour expliquer la structure de la communauté ait été conduite dans un estuaire (estuaire de Paraíba) où l'influence de la rivière était majeure, et donc où les masses d'eau étudiées n'excédaient jamais la salinité 3 (Costa *et al.*, 2009).

La disparition abrupte des espèces d'eau douce dès leur arrivée dans l'estuaire est un élément qui souligne le rôle clé joué par la salinité et de son impact différent selon les groupes considérées. Lionard *et al*. (2005) montrent par exemple que les variations de salinité ont un effet délétère sur le taux de croissance des espèces phytoplanctonique. Cet effet est plus marqué chez les espèces d'eau douce que chez les espèces estuariennes. La diminution du taux de croissance due au changement de salinité est similaire entre les espèces d'eau douce, mais variable entre les espèces estuariennes

(Lionard *et al.*, 2005). Par ailleurs, des études de terrain ont montré que toutes les espèces d'eau douce disparaissait entre les salinités 0.5 et 10 et étaient remplacées par des espèces marines (Muylaert & Sabbe, 1999; Muylaert *et al.*, 2000). Dans le cas des estuaires de l'Aulne et de l'Elorn, la disparation des espèces d'eau douce est quasiment complète pour des salinités inférieures à 0.5.

Ainsi, dans notre étude, quelle que soit la nature de la communauté phytoplanctonique advectée par la rivière, la transition rivière/estuaire présente les caractéristiques d'un écotone. A l'inverse, les changements progressifs de communautés que nous avons observés survenant le long de l'estuaire caractérisent plutôt un fonctionnement du type écocline. Ce type de fonctionnement ecotone/ecocline a également été mis en évidence dans l'estuaire de la Charente pour la communauté zooplanctonique (Modéran *et al.*, 2010). En revanche, les changements progressifs de la communauté phytoplanctonique dans l'estuaire du fleuve Sunwannee et l'Escault suggèrent plutôt un fonctionnement type écocline/écocline (Quinlan & Phlips, 2007; Muylaert *et al.*, 2009). Si la salinité est le facteur de contrôle dominant, alors la différence de distance sur laquelle s'étend le gradient de salinité dans l'estuaire de l'Escault (0 à 30 en 180km) et dans ceux choisis pour cette étude (0 à 30 en moins de 35km) pourrait expliquer les changements plus progressifs observés par Muylaert et al. (2009). Ainsi, la nature de la frontière écologique peut varier selon l'estuaire considéré. La vitesse des changements que subit la communauté phytoplanctonique au niveau de l'interface estuarien, et qui définit donc la notion d'écotone ou d'écocline, détermine l'impact que peuvent avoir les rivières sur le fonctionnement des écosystèmes côtiers. Bien que les résultats de cette étude ne montrent aucun lien entre la communauté de rivière et celle de l'estuaire, cette étude ne nous permet pas de rejeter l'hypothèse d'une influence différente en l'Aulne et l'Elorn sur leurs estuaires respectifs *via* par exemple, un effet indirect lié à la disponibilité de la matière importée.

Bibliographie

Alpine AE, Cloern JE. 1992. Trophic interactions and direct physical effects control phytoplankton biomass and production in an estuary. *Limnology and Oceanography* 37: 946–955.

Del Amo Y, Quéguiner B, Tréguer P, Breton H, Lampert L. 1997. Impacts of high-nitrate freshwater inputs on macrotidal ecosystems. II. Specific role of the silicic acid

pump in the year-round dominance of diatoms in the Bay of Brest (France). *Marine Ecology Progress Series* 161: 225–237.

Anderson DM, Rengefors K. 2006. Community assembly and seasonal succession of marine dinoflagellates in a temperate estuary: The importance of life cycle events. *Limnology and Oceanography* 51: 860–873.

Attrill M, Rundle S. 2002. Ecotone or Ecocline: Ecological Boundaries in Estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 55: 929–936.

Becker ML, Luettich Jr. RA, Mallin MA. 2010. Hydrodynamic behavior of the Cape Fear River and estuarine system: A synthesis and observational investigation of discharge–salinity intrusion relationships. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 88: 407–418.

Bledsoe EL, Phlips EJ. 2000. Relationships between phytoplankton standing crop and physical, chemical, and biological gradients in the Suwannee river and plume region, U. S. A. *Estuaries* 23: 458.

Brogueira MJ, Oliveira MDR, Cabeçadas G. 2007. Phytoplankton community structure defined by key environmental variables in Tagus estuary, Portugal. *Marine environmental research* 64: 616–28.

Cadenasso ML, Pickett STA, Weathers KC, Jones CG. 2003. A framework for a theory of ecological boundaries. *Bioscience* 53: 750–758.

Choudhury AK, Pal R. 2011. Variations in seasonal phytoplankton assemblages as a response to environmental changes in the surface waters of a hypo saline coastal station along the Bhagirathi-Hooghly estuary. *Environmental monitoring and assessment* 179: 531–53.

Cloern JE, Alpine AE, Cole BE, Wong RL, Arthur JF, Ball MD. 1983. River discharge controls phytoplankton dynamics in the northen San Francisco Bay estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*: 415–429.

Costa LS, Huszar VLM, Ovalle AR. 2009. Phytoplankton functional groups in a tropical estuary: hydrological control and nutrient limitation. *Estuaries and Coasts* 32: 508–521.

Dijkman N a., Kromkamp JC. 2006. Photosynthetic characteristics of the phytoplankton in the Scheldt estuary: community and single-cell fluorescence measurements. *European Journal of Phycology* 41: 425–434.

Ferreira JG, Wolff WJ, Simas TC, Bricker SB. 2005. Does biodiversity of estuarine phytoplankton depend on hydrology? *Ecological Modelling* 187: 513–523.

Finkel Z V, Vaillancourt CJ, Irwin AJ, Reavie ED, Smol JP. 2009. Environmental control of diatom community size structure varies across aquatic ecosystems. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 276: 1627–34.

Flöder S, Jaschinski S, Wells G, Burns CW. 2010. Dominance and compensatory growth in phytoplankton communities under salinity stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 395: 223–231.

Gameiro C, Cartaxana P, Brotas V. 2007. Environmental drivers of phytoplankton distribution and composition in Tagus Estuary, Portugal. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 75: 21–34.

Hillebrand H, Dürselen CD, Kirschtel D, Pollingher U, Zohary T. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35: 403–424.

Howarth RW, Swaney DP, Butler TJ, R M. 2000. Climatic control on eutrophication of the Hudson River Estuary. *Ecosystems* 3: 210–215.

Hutchinson GE. 1961. The Paradox of the Plankton. *The American naturalist* 95: 137–145.

Jassby AD. 2008. Phytoplankton in the upper San Francisco Estuary: recent biomass trends, their causes and their trophic significance. *San Francisco Estuary Watershed Sciences* 6: 1–24.

De Jonge VN, Van Beusekom JEE. 1995. Wind- and tide-induced resuspension of sediment and microphytobenthos from tidal flats in the Ems estuary. *Limnology & Oceanography* 40: 766–778.

Jouenne F, Lefebvre S, Véron B, Lagadeuc Y. 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.

Key T, McCarthy A, Campbell D a, Six C, Roy S, Finkel Z V. 2010. Cell size trade-offs govern light exploitation strategies in marine phytoplankton. *Environmental microbiology* 12: 95–104.

Kies L. 1997. Distribution, biomass and production of planktonic and benthic algae in the Elbe Estuary. *Limnologica* 27: 55–64.

Koleff P, Gaston KJ, Lennon JJ. 2003. Measuring beta diversity for presence-absence data. *Journal of Animal Ecology* 72: 367–382.

Kromkamp J, Peene J. 1995. Possibility of net phytoplankton primary production in the turbid Schelde estuary (SW Netherlands). *Marine Ecology Progress Series* 121: 249–259.

Legendre L, Legendre P. 1998. *Numerical Ecology.* Amsterdam: Elsevier.

Lehman PW. 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.

Lionard M, Muylaert K, Van Gansbeke D, Vyverman W. 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, Muylaert K, Hanoutti A, Maris T, Tackx M, Vyvermana W. 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, Klausmeier CA. 2008. Trait-based community ecology of phytoplankton. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39: 615–639.

Lucas LV, Thompson JK, Brown LR. 2009. Why are diverse relationships observed between phytoplankton biomass and transport time? *Limnology and Oceanography* 54: 381–390.

Lund JWG, Kipling C, Le Cren ED. 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* 11: 143–170.

Modéran J. 2010. L'estuaire de la Charente : structure de communauté et écologie trophique planctonique, approche écosystémique de la contamination métallique. Thèse de Doctorat, Université de La Rochelle.

Modéran J, Bouvais P, David V, Le Noc S, Simon-Bouhet B, Niquil N, Miramand P, Fichet D. 2010. Zooplankton community structure in a highly turbid environment (Charente estuary, France): Spatio-temporal patterns and environmental control. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 88: 219–232.

Muylaert K, Raine R. 1999. Import, mortality and accumulation of coastal phytoplankton in a partially mixed estuary (Kinsale harbour, Ireland). *Hydrobiologia* 53: 53–65.

Muylaert K, Sabbe K. 1999. Spring phytoplankton assemblages in and around the maximum turbidity zone of the estuaries of the Elbe (Germany), the Schelde (Belgiumr/The Netherlands) and the Gironde (France). *Journal of Marine Systems* 22: 133–149.

Muylaert K, Sabbe K, Vyverman W. 2000. Spatial and temporal dynamics of phytoplankton communities in a freshwater tidal estuary (Schelde, Belgium). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 50: 673–687.

Muylaert K, Sabbe K, Vyverman W. 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.

Pannard a, Claquin P, Klein C, Leroy B, Veron B. 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.

Quinlan EL, Phlips EJ. 2007. Phytoplankton assemblages across the marine to low-salinity transition zone in a blackwater dominated estuary. *Journal of Plankton Research* 29: 401–416.

Raimonet M, Ragueneau O, Andrieux-Loyer F, Philippon X, Kerouel R, Le Goff M, Mémery L. 2013. Spatio-temporal variability in benthic silica cycling in two macrotidal estuaries: Causes and consequences for local to global studies. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 119: 31–43.

Revilla M, Iriarte A, Madariaga I, Orive E. 2000. Bacterial and phytoplankton dynamics along a trophic gradient in a shallow temperate estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 50: 297–313.

Reynolds CS, Huszar VLM, Kruk C, Naselli-Flores L, Melo S. 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24: 417–428.

Rijstenbil JW. 1987. Phytoplankton composition of stagnant and tidal ecosystems in relation to salinity, nutrients, light and turbulence. *Netherland Journal of Sea Research* 21: 113–123.

Savoye N. 2001. Origine et transfert de la matière organique particulaire dans les écosystèmes littoraux macrotidaux. Thèse de Doctorat. Université de Bretagne Occidentale.

Seoane S, Garmendia M, Revilla M, Borja A, Franco J, Orive E, Valencia V. 2011. Phytoplankton pigments and epifluorescence microscopy as tools for ecological status assessment in coastal and estuarine waters, within the Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin* 62: 1484–97.

Smayda TJ, Reynolds CS. 2001. Community assembly in marine phytoplankton: application of recent models to harmful dinoflagellate blooms. *Journal of Plankton Research* 23: 447–461.

Sun J, Liu D. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 25: 1331–1346.

Underwood GJC, Kromkamp J. 1994. Primary production by phytoplankton and microphytobenthos in estuaries. *Advances in Ecological Research* 29: 93–153.

Vale C, Sundby B. 1987. Suspended sediment fluctuations in the Tagus estuary on semi-diurnal and fortnightly time scales. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 25: 495–508.

Yarrow MM, Marín VH. 2007. Toward Conceptual Cohesiveness: a Historical Analysis of the Theory and Utility of Ecological Boundaries and Transition Zones. *Ecosystems* 10: 462–476.

Chapitre 6 :
Discussion générale

Un enjeu majeur de l'écologie est de comprendre et d'être ainsi en mesure de prédire la composition et la structure des communautés en réponse aux facteurs environnementaux (biotiques et abiotiques). Dans le cas de la communauté phytoplanctonique, le très grand nombre d'espèces rend cet objectif complexe à réaliser, la communauté est alors simplifiée par des regroupements d'espèces. Bien que des regroupements basés sur la taxonomie aient été beaucoup utilisés, il a été montré que des regroupements basés sur les traits fonctionnels pouvaient être plus efficaces pour expliquer la structure de la communauté et pour prédire ses changements en réponse aux variations des contraintes environnementales (McGill *et al.*, 2006; Litchman *et al.*, 2007; Kruk *et al.*, 2011; Edwards *et al.*, 2013; Barton *et al.*, 2013). Cette thèse se place ainsi dans un cadre général de compréhension de l'influence des facteurs environnementaux sur la composition de la communauté du phytoplancton, sous l'angle des traits fonctionnels et plus spécifiquement des traits morpho-fonctionnels. Une des hypothèses principales est que la communauté phytoplanctonique en rivière et en estuaire peut être structurée par les traits morpho-fonctionnels.

Une approche *in situ* a été conduite dans deux rivières (Chapitre 3) choisies pour deux raisons : premièrement, elles présentent des degrés de régulation de leur débit différents entrainant des niveaux de turbulences contrastés et deuxièmement les concentrations en nutriments sont suffisamment élevées pour ne pas limiter la croissance du phytoplancton et donc pour ne pas exercer une pression de sélection sur les traits reliés à l'acquisition de nutriments. Dans ces deux rivières, l'hypothèse testée a été validée : la communauté phytoplanctonique est structurée selon les traits morpho-fonctionnels reliés à leur vitesse de sédimentation alors qu'aucun patron spatial ou temporel n'a pu être mis en évidence en utilisant la taxonomie. Les traits qui influencent la vitesse de sédimentation sont la taille (de l'unité phytoplanctonique globale, c'est-à-dire la colonie, le filament), la densité, et la forme (Padisák *et al.*, 2003; Peperzak *et al.*, 2003; Walsby & Holland, 2006). La motilité quant à elle est un trait qui confère un avantage en condition de faible turbulence (Gervais, 1997) et ainsi considérée comme un trait relié à la résistance à la sédimentation. Dans notre étude, la motilité est caractérisée par la présence de flagelles et constitue un des traits permettant d'expliquer la structure de la communauté en rivière. Les espèces disposant de ce trait sont observées dans les sites régulés, où le niveau de turbulence est faible. La densité et

la forme des espèces phytoplanctoniques sont les deux autres traits qui structurent la communauté dans ces deux rivières, la taille (de l'unité phytoplanctonique globale) quant à elle est peu structurante. Les variations de densité qui jouent un rôle majeur sont reliées à la présence d'une quantité élevée de mucilage, et non pas à la présence ou l'absence de silice comme ce qui est montré dans de nombreuses études[10] (eg. Margalef, 1978; García de Emiliani, 1993; Abonyi *et al.*, 2012; Stanković *et al.*, 2012). Cette quantité élevée de mucilage est présente chez des formes coloniales et constitue un avantage dans les zones de faible turbulence puisqu'elle permet une diminution de la vitesse de sédimentation *via* une diminution de la densité (Reynolds, 2007). Ces sites sont également caractérisés par des formes planes, alors que ceux où le niveau de turbulence est élevé sont caractérisés par des formes allongées (filaments ou cellules solitaires). Celles-ci présentant des vitesses de sédimentation élevées sont maintenues dans la colonne d'eau grâce à la turbulence. Notre étude met donc l'accent sur le rôle clé de la forme, rarement pris en compte dans les études *in situ* (Salmaso & Padisák, 2007), ou seulement *via* le rapport Surface/Volume (Reynolds, 2006; Kruk *et al.*, 2011).

Dans le chapitre 3, nous avons montré le rôle clé de la turbulence sur la communauté phytoplanctonique *via* la sélection de traits morpho-fonctionnels reliés à la sédimentation. Afin d'isoler les effets de ce facteur de ceux des autres paramètres environnementaux, nous avons adopté une approche expérimentale en conditions contrôlées (chapitre 4). Nous avons testé les effets de deux niveaux de turbulence sur une "communauté phytoplanctonique expérimentale", par opposition à une communauté naturelle où le contrôle des traits morpho-fonctionnels de départ est limité. Ici, nous avons choisi des espèces provenant de culture et présentant des valeurs contrastées pour les traits morpho-fonctionnels reliés à la sédimentation (forme, densité, taille du filament ou de la colonie entière, et motilité). La plupart des études expérimentales sont conduites sur des communautés naturelles mettent en évidence une structuration de la communauté par la taille cellulaire. Les auteurs montrent sous l'effet de la turbulence une augmentation des espèces de grande taille dans la communauté conséquente à une augmentation de la diffusion des nutriments vers ces cellules (Arin *et al.*, 2002; Cózar & Echevarría, 2005; Iversen *et al.*, 2009). A travers notre

[10] D'autres études montrent également le rôle de la densité dans la structure de la communauté *via* la présence de vésicules à gaz présentes chez certaines cyanobactéries (Walsby et al., 1997). Cependant ce trait est peu représenté dans notre étude et présent chez des espèces provenant d'écosystèmes adjacents.

étude, nous montrons que selon le niveau de turbulence, la communauté phytoplanctonique est également structurée selon un paramètre proche de la taille cellulaire, le rapport S:V (proxy du taux de croissance maximum) mais aussi selon d'autres traits morpho-fonctionnels qui sont reliés à la sédimentation. La taille et la silice qui jouaient un rôle mineur dans l'étude *in situ* font ici partie des traits structurant la communauté au même titre que la forme et la motilité.

Dans les estuaires des deux rivières retenues, une approche basée sur les traits morpho-fonctionnels s'est toutefois révélée infructueuse (chapitre 5). Aucun patron spatial ou saisonnier de structuration de la communauté phytoplanctonique n'a pu être mis en évidence en utilisant les traits morpho-fonctionnels. Ce résultat soulève ainsi la question des limites de l'approche morpho-fonctionnelle. En effet, dans le cas de l'estuaire, une contrainte environnementale majeure agissant sur le phytoplancton est la salinité. Les changements de salinité liés au mélange plus ou moins intense des masses d'eau douce et d'eau marine sont à l'origine de processus d'osmorégulation qui engendre une diminution du taux de croissance des cellules phytoplantoniques. Cette diminution est variable selon les espèces considérées (Lionard *et al.*, 2005). Aucun des traits morpho-fonctionnels que nous avons choisis ne reflète cette variabilité de la diminution du taux de croissance en fonction des changements de salinité, puisqu'à notre connaissance, de tels traits n'ont jusqu'à présent jamais été identifiés. Ces résultats mettent en évidence la limite de l'utilisation d'une telle approche en estuaire, et constituent un élément d'explication de la rareté d'une telle approche en estuaire. Une des rares étude basée sur une approche fonctionnelle conduite avec succès en estuaire (Costa *et al.*, 2009) s'est appuyée sur les groupes fonctionnels de Reynolds (Reynolds *et al.*, 2002). Bien qu'il ait été montré que ces groupes étaient moins efficaces pour prédire les changements de communautés en réponse aux contraintes environnementales en lacs (Kruk *et al.*, 2011), ils pourraient constituer une bonne alternative en estuaire.

Ce type d'approche uniquement basée sur les traits morpho-fonctionnels peut également montrer certaines limites lorsque d'autres contraintes environnementales sont considérées. Il s'agit par exemple du temps de résidence. En rivière, c'est une contrainte majeure qui est dans certains systèmes positivement corrélée avec la biomasse en phytoplancton (Reynolds, 1994; Bormans & Webster, 1999; Lavoie *et al.*,

2010). Il peut également contrôler la structure de la communauté en sélectionnant des espèces au taux de croissance maximum (μ_{max}) élevé lorsque ses valeurs sont faibles (Reynolds & Descy, 1996). Il a été montré que la taille cellulaire (la dimension linéaire maximum ou le volume) était un bon proxy de μ_{max} (Tang, 1995; Reynolds, 2006; Kruk *et al.*, 2010). Une étude récente met cependant en évidence des différences liés aux groupes taxonomiques (Edwards *et al.*, 2012). Ces auteurs montrent qu'à volume identique, une Diatomée a un μ_{max} plus élevé qu'une Chlorophycée ou qu'une Cryptophycée. Ceci est montré chez des espèces marines, et les auteurs soulignent eux-même le manque de données pour les espèces d'eau douce intégrées dans leur étude. Pour les espèces d'eau douce, les auteurs ne montrent des différences de μ_{max} (à volume cellulaire identique) qu'entre les Cyanobactéries et les autres groupes taxonomiques. Cependant, rien ne permet d'affirmer que ce type de différences ne se répète pas entre les autres groupes. Notre étude en conditions contrôlées, où nous avons vérifié le lien entre le rapport S:V et μ_{max} a également montré des différences reliées à la taxonomie. Pour un rapport S:V équivalent, les Diatomées présentent un μ_{max} plus élevé que les Prasinophycées. L'approche morpho-fonctionnelle doit donc être adoptée avec vigilance, en gardant à l'esprit ces différences liées à la taxonomie.

L'étude *in situ* menée en rivière, bien que validant l'hypothèse selon laquelle la communauté est structurée selon les traits morpho-fonctionnels, souligne une autre limite de cette approche. Cette limite est liée à la présence de tychoplancton. Qu'il soit benthique, ou provenant de systèmes adjacents ou de l'amont, le tychoplancton est par définition composé d'espèces allochtones, dont les traits morpho-fonctionnels ne reflètent donc pas nécessairement les contraintes majeures de l'endroit où elles sont prélevées. Ainsi, la prise en compte de ces traits peut biaiser les conclusions sur les facteurs agissant sur la communauté. Dans le cas où il s'agit d'espèces benthiques, un couplage de l'approche morpho-fonctionnelle avec l'identification taxonomique s'avère donc nécessaire, pour pouvoir différencier ces espèces et connaitre leur fraction dans la communauté globale. La part des traits qui ne reflète pas les conditions locales peut donc être éliminée. En revanche, dans le cas où le tychoplancton est d'origine pélagique et résulte de l'advection des portions amont ou de systèmes adjacents, l'identification taxonomique ne permet pas de contourner le biais lié à la présence de traits ne reflétant pas les conditions locales. Les traits morpho-fonctionnels peuvent néanmoins permettre

de mettre en évidence ces phénomènes, comme nous le soulignons dans le chapitre 3, si par exemple des traits apparaissent comme très structurants alors qu'ils ne sont pas adaptés aux conditions locales.

Malgré ces limites, l'approche morpho-fonctionnelle s'est avérée pertinente pour expliquer la structure de la communauté phytoplanctonique en rivière. Cependant, certains traits doivent toutefois être mieux caractérisés pour de prochaines études. Il s'agit en premier lieu de la forme, un des traits majeurs mis en évidence dans deux chapitres de cette thèse. Dans notre étude, nous avons distingué trois types de formes (sphérique, allongée, plane). Une caractérisation géométrique *via* le calcul de plusieurs ratios des différentes dimensions des espèces pourrait être adoptée. Ce type de caractérisation de la forme a par ailleurs été adopté dans une étude récente pour expliquer la structure de la communauté phytoplanctonique en milieu côtier (Stanca *et al.*, 2013). Ces auteurs distinguent 27 formes différentes. Bien que certaines nouvelles formes puissent être prises en compte dans de futures études, il ne serait pas judicieux d'en considérer un si grand nombre. En effet, 27 valeurs pour ce trait, combiné aux autres traits morpho-fonctionnels aboutiraient à un nombre trop élevé de groupes, alors qu'un des objectifs de ces approches est de simplifier la communauté afin d'en prédire les changements (Weithoff, 2003; Kruk *et al.*, 2010).

La quantité de mucilage est un autre trait qui pourrait être mieux caractérisé. Nous avons fait le choix de ne distinguer que deux catégories : "mucilage abondant" et "pas de mucilage observé". Cependant la production de mucilage n'a pas été quantifiée, et cette distinction apparait donc comme trop subjective. Par ailleurs, la quasi-totalité des espèces phytoplanctonique produisent du mucilage (Reynolds, 2007). Le critère "pas de mucilage observé" peut ainsi regrouper des espèces dont la quantité en mucilage est bien différente. Le mucilage est une matrice constituée de polysaccharides. Une technique de marquage au bleu alcian (composé qui colore les sucres acides) suivi d'un examen microscopique serait une façon de quantifier plus précisément la production de mucilage à l'échelle de l'espèce (Fig. 6.1)(Engel & Passow, 2001). Le rapport de la surface occupée par le mucilage sur la surface de la cellule pourrait ainsi être calculé et constituerait donc un bon indice quantitatif de ce trait. Dans notre étude, nous avons relié ce trait à la densité, et donc à la vitesse de sédimentation. Son implication dans

d'autres processus comme l'aide à l'acquisition des nutriments (rétention d'exoenzymes) ou la résistance à la digestion (Reynolds, 2007) en font un trait clé qui doit être pris en compte de manière rigoureuse dans les études basées sur les traits fonctionnels.

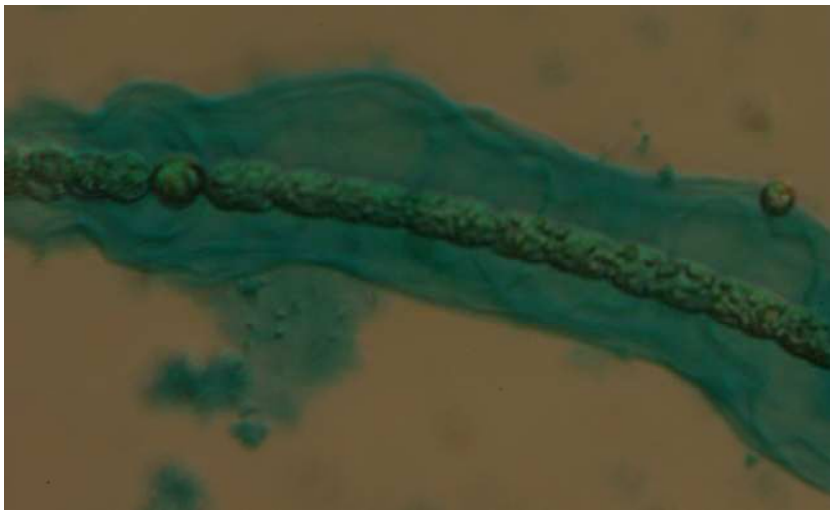


Fig. 6.1 Exemple de mise en évidence du mucilage par la technique basée sur la coloration au bleu alcian (photo : Alexandrine Pannard).

Afin de prendre en compte les aspects liés au temps de résidence, à la limitation en nutriments et la disponibilité en lumière, la taille cellulaire (à travers le volume par exemple) est également un paramètre à intégrer dans de futures études. En effet, ce trait est relié à l'acquisition de l'énergie lumineuse, les cellules de petites tailles étant avantagées en condition de faible disponibilité en lumière (Finkel *et al.*, 2009). La taille est également reliée au $\mu_{max,}$ mais aussi à un trait dit "composite" reflétant l'affinité de la cellule pour un nutriment donné (Tambi *et al.*, 2009) et résultant de la combinaison de trois traits écophysiologiques : K_s, Q_{min} et V_{max} (qui sont respectivement la constante de demi-saturation, la concentration interne nécessaire à la survie de la cellule, et la vitesse d'acquisition maximale). La taille est inversement corrélée au μ_{max} et à l'affinité. Cependant, nous l'avons précédemment évoqué, l'appartenance à certains groupes taxonomiques peut biaiser la relation qui existe entre la taille et le μ_{max} mais aussi entre la taille et l'affinité pour le phosphore (Edwards *et al.*, 2012). Les analyses sur la taille doivent donc être menées sur l'ensemble de la communauté mais aussi à l'intérieur des différents groupes taxonomiques.

Dans cette thèse, l'approche morpho-fonctionnelle a été conduite avec succès dans deux rivières, où les conditions hydrodynamiques constituaient les contraintes majeures agissant sur le phytoplancton. Cependant, il existe des systèmes lotiques où ce sont les contraintes chimiques, *via* la concentration en nutriments, qui sont les facteurs principaux agissant sur le phytoplancton. Une étude de plus grande ampleur basée sur une approche morpho-fonctionnelle (prenant en compte les améliorations précédemment évoquées) intégrant à la fois des systèmes où la communauté est contrôlée soit par les concentrations en nutriments, soit par les niveaux de turbulence, soit par les temps de résidence, soit par la disponibilité en lumière devrait être menée. Une telle étude nécessiterait d'être combinée à une approche expérimentale. En effet, une des difficultés en rivière réside dans le couplage des différents paramètres. Un tel phénomène peut amener à la sélection de traits identiques ne permettant pas d'identifier le paramètre majeur agissant sur la communauté. Par exemple, dans le cas d'un couplage du temps de résidence avec la concentration en nutriments, les deux paramètres vont agir sur la sélection de petites tailles lorsqu'ils présentent de faibles valeurs, rendant impossible l'identification du paramètre majeur. L'expérimentation, *via* l'utilisation de chémostats, pourrait rendre possible le découplage des différentes contraintes environnementales, et ainsi permettre d'identifier, pour les différents paramètres, des seuils à partir desquels les traits morpho-fonctionnels adaptés seraient sélectionnés dans la communauté. Le découplage pourrait également être effectué sur la turbulence et le temps de résidence. L'utilisation de chémostats pourrait par exemple permettre la réalisation de ce découplage entre les temps de résidence et les concentrations en nutriments mais aussi entre les niveaux de turbulence. Les deux approches (approche *in situ* basée sur un grand nombre de rivière et approche expérimentale) permettraient ainsi de hiérarchiser l'impact de ces facteurs sur la communauté phytoplanctonique.

Dans cette thèse nous montrons que les traits morpho-fonctionnels sont pertinents pour expliquer la structure de communauté phytoplanctonique puisqu'ils confèrent des avantages ou des désavantages en fonction des contraintes environnementales, et permettent ainsi d'expliquer l'occurrence, la dominance ou l'absence des espèces. Pour

un trait donné, au sein d'une même espèce, des phénomènes de plasticité phénotypique peuvent se manifester élargissant ainsi la tolérance de l'espèce considérée à la variation de la contrainte environnementale associée au trait en question. Un tel phénomène est mis en évidence dans le chapitre 4. De manière générale, la plasticité phénotypique se définit comme étant le potentiel d'un génotype donné à produire plusieurs phénotypes dans des conditions environnementales variables (Dewitt *et al.*, 1998). Elle se manifeste chez de nombreux organismes et joue un rôle essentiel dans la structure des communautés en ayant pour effet d'élargir la niche écologique de l'espèce considérée (Albert *et al.*, 2011). Ce phénomène est aussi observé chez les organismes phytoplanctoniques. Dans le cas d'une augmentation de la pression de prédation, il a par exemple été montré une augmentation de la taille des cellules ou de la longueur des filaments rendant les espèces moins assimilables et donc moins sensibles à ce facteur (Van Donk, 1997; Van Donk *et al.*, 2011; Bergkvist *et al.*, 2012). La plasticité de la taille cellulaire a également été observée en relation avec les variations de la concentration en nutriments : une diminution de taille rendant les espèces plus efficaces dans l'acquisition de ces nutriments survient lorsque les concentrations baissent (Morabito *et al.*, 2007). Dans cette thèse, nous montrons une plasticité phénotypique reliée à différents niveaux de turbulence. Ce phénomène se produit chez *Aulacoseira granulata* dont la taille des filaments diminue lorsque la turbulence est plus faible, réduisant ainsi sa vitesse de sédimentation et lui permettant donc de se maintenir dans la colonne d'eau. A partir de cette observation se posent plusieurs questions en relation avec le coût induit par cette plasticité :

(i) Quels coûts la plasticité phénotypique représente-t-elle pour l'organisme ? Différents auteurs ont étudiés les *trade offs* entre acquisition des nutriments et résistance à la sédimentation découlant de la plasticité phénotypique (Van Donk, 1997; Lürling & Van Donk, 2000; Bergkvist *et al.*, 2012). L'augmentation de la taille (cellulaire ou globale) diminue l'impact de la prédation, et le coût associé est relié à l'augmentation de la vitesse de sédimentation, désavantageuse pour l'espèce considéré en cas de forte turbidité par exemple (Lürling & Van Donk, 2000). Dans le cas d'une diminution de la taille des filaments, le coût pourrait justement être associé à une augmentation de la sensibilité à la prédation.

(ii) Dans notre expérimentation, la plasticité de la longueur des filaments est survenue dans des conditions où les nutriments n'étaient pas limitant. Pourrait-elle être observée dans un environnement limité en nutriments ? Si tel était le cas, quel serait son impact sur l'acquisition des nutriments ?

Des expérimentations en conditions contrôlées en faisant varier les paramètres tels que la prédation et les concentrations en nutriments pourraient ainsi être menées pour répondre à ces questions.

Le travail que nous avons mené, en particulier lors des deux études *in situ* présentées dans le chapitre 3 et le chapitre 5, constitue également un élément de réflexion en écologie fonctionnelle dans le cadre de la problématique du transfert de matière le long du *continuum* terre/mer. Au travers du chapitre 3, nous avons vu que les deux rivières ont un fonctionnement différent, lié notamment à leur degré de régulation, engendrant la sélection de deux communautés phytoplanctoniques distinctes en termes de composition mais aussi de biomasse totale. Ces différences concernent également la matière minérale dissoute, puisque les concentrations en nutriments sont plus élevées dans l'Elorn que dans l'Aulne. L'objectif était donc de tester si ces différences pouvaient se répercuter sur la communauté phytoplanctonique de leur estuaire respectif, permettant ainsi de contribuer à la réflexion générale de l'influence du fonctionnement des écosystèmes amont (les rivières) sur la structuration et le fonctionnement de l'estuaire. Dans le cas présent nous disposions donc de deux rivières dont les fonctionnements étaient différents. Toutefois aucun effet n'a pu être mis en évidence, laissant penser que vis-à-vis de la structuration de la communauté phytoplanctonique, ces estuaires sont en partie indépendants des apports des rivières. Nous avons en effet observé la disparition de quasiment l'ensemble des espèces d'eau douce dès leur arrivée dans l'estuaire. Ces observations corroborent les résultats de Savoye (2001) qui met en évidence une compartimentation entre les différentes sous-unités de la rade de Brest vis-à-vis du transfert de matière organique particulaire, en montrant que le matériel continental ne franchit pas en l'état la barrière estuarienne. Il observe également des fonctionnements différents entre ces deux estuaires avec des contributions variables de la production de matière autochtone par rapport à la matière allochtone selon la saison

et l'estuaire considéré. Dans notre étude nous observons également des différences dans la composition de la communauté phytoplanctonique de ces deux estuaires venant ainsi suggérer l'existence d'un fonctionnement différent entre les deux estuaires. Ces différences ne nous permettent donc pas de rejeter l'existence d'une influence des écosystèmes en amont sur le fonctionnement des estuaires. La disparition des communautés d'eau douce ne nous permet pas non plus de rejeter un effet indirect via la disponibilité ou la qualité de la matière organique apportée. Toutefois nos travaux et les méthodes mises en œuvre ne nous permettent pas de répondre à cette problématique. Il se pose ainsi la question du devenir de cette matière continentale ? Que deviennent les espèces phytoplanctoniques d'eau douce ? Une des hypothèses qui pourrait être avancée, est que sous l'effet du changement de salinité, les espèces d'eau douce subissent des changements physiologiques engendrant une sédimentation massive de leur part. Une telle hypothèse semble cependant en contradiction avec la présence d'espèces benthiques dans les premiers sites estuariens où survient la disparition d'espèce d'eau douces. Une autre hypothèse pourrait tout simplement être une plasmolyse des cellules par une sortie d'eau massive sous l'effet du choc osmotique. Il a cependant été montré qu'au prix d'une augmentation de la respiration cellulaire, les espèces d'eau douce étaient capables d'osmorégulation (Lionard *et al.*, 2005). La disparition de ces espèces et leur impact potentiel reste encore à définir en mettant en œuvre des stratégies d'échantillonnage adaptées.

Annexes

Annexe 1 : Composition du milieu de culture utilisé dans l'expérimentation en conditions contrôlées.

Concentration en $mg.L^{-1}$ dans un litre de milieu de culture	
$NaNO_3$	750
$CaCl2.2H_2O$	25
MgSO4.7H2O	75
$K2HPO_4.3H_2O$	75
KH_2PO_4	175
NaCl	25
$Ca(NO_3)_2.4H_20$	20
$NaHCO_3$	15.9
Elément trace	
$EDTANa_2$	4.5
$FeCl_3.6H_2O$	0.582
$MnCl_2.4H_2O$	0.246
$ZnCl_2.6H_2O$	0.03
$CoCl_2.6H_2O$	0.012
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.024
Vitamine B1	
Thiaminhydrochloride	1.2
Sol 6	
H_3BO_3	2.48
$MnCl_2.4H_2O$	1.39
$(NH_4)6Mo7O_{24}.4H_2O$	1
sol 7	
Cyanocobalamine	0.04
Thiamine HCl	0.04
Biotin	0.04
Solution EDTA	
EDTAFeNa	2.25
$EDTANa_2$	2.25
NaSiO3.9H2O	57
$Na_2HPO_4.12H_2O$	36

Ce milieu permet la croissance des Diatomées, des Chlorophycées, des Prasinohycées, des Conjugatophycées et des Crytpophycées.

Annexe 2 : proportions des différents groupes dans l'estuaire de l'Aulne et dans l'estuaire de l'Elorn

Sites	Chlorophycées	Cryptophycées	Cyanobactéries	Diatomées	Dinophycées	Euglénophycées
A2M	0.0%	74.3%	0.0%	0.3%	24.9%	0.6%
A3M	0.0%	72.1%	0.0%	0.5%	25.6%	1.7%
A5M	0.5%	64.2%	0.0%	2.5%	9.3%	23.4%
A7M	0.0%	15.5%	0.0%	78.0%	0.0%	6.5%
E2M	0.0%	1.4%	0.0%	98.6%	0.0%	0.0%
E3M	0.3%	0.9%	0.0%	92.0%	6.9%	0.0%
E5M	0.0%	29.2%	0.0%	57.7%	13.1%	0.0%
E7M	0.0%	16.2%	0.0%	81.3%	0.8%	1.7%
A1J	6.5%	73.0%	0.0%	20.6%	0.0%	0.0%
A2J	0.0%	2.0%	0.0%	98.0%	0.0%	0.0%
A3J	0.0%	94.7%	0.0%	5.3%	0.0%	0.0%
A5J	0.0%	48.5%	0.0%	51.5%	0.0%	0.0%
A7J	0.0%	42.6%	0.0%	17.7%	39.7%	0.0%
E1J	2.6%	2.0%	0.1%	95.3%	0.0%	0.0%
E2J	0.2%	49.3%	0.0%	49.0%	1.6%	0.0%
E3J	0.0%	70.2%	1.6%	20.5%	7.6%	0.0%
E5J	0.0%	73.8%	0.0%	2.5%	9.7%	14.1%
E7J	0.0%	7.8%	0.0%	2.3%	90.0%	0.0%
E1S	12.6%	0.0%	6.1%	81.3%	0.0%	0.0%
E2S	15.5%	0.0%	0.0%	31.2%	53.3%	0.0%
E5S	0.0%	3.5%	0.0%	13.5%	76.6%	6.3%
E7S	0.0%	22.4%	0.0%	65.1%	12.5%	0.0%
A1S	1.9%	0.0%	3.9%	94.2%	0.0%	0.0%
A2S	0.0%	0.0%	1.3%	98.7%	0.0%	0.0%
A4S	0.0%	48.0%	0.0%	37.1%	14.8%	0.0%
A5S	0.0%	31.7%	0.0%	47.8%	20.5%	0.0%
A7S	0.0%	89.3%	0.0%	0.9%	9.8%	0.0%

Explication des codes : A pour Aulne, E pour Elorn, les chiffres de 1 à 7 rendent compte de la salinité (l'augmentation d'une unité correspond à une augmentation de 5 de salinité, 1 étant la salinité 0 et 7 la salinité 30), M pour Mai, J pour Juillet et S pour Septembre.

Bibliographie

Abonyi A, Leitão M, Lançon AM, Padisák J. 2012. Phytoplankton functional groups as indicators of human impacts along the River Loire (France). *Hydrobiologia* 698: 233–249.

Ahlgren G, Lundstedt L, Brett M, Forsberg C. 1990. Lipid composition and food quality of some freshwater phytoplankton for cladoceran zooplankters. *Journal of Plankton Research* 12: 809–818.

Aksnes DL, Egge JK. 1991. A theoretical model for nutrient uptake in phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 70: 65–72.

Albert CH, Grassein F, Schurr FM, Vieilledent G, Violle C. 2011. When and how should intraspecific variability be considered in trait-based plant ecology? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 13: 217–225.

Allen GP, Salomon JC, Bassoullet P, Du Penhoat Y, De Grandpré C. 1980. Effects of tides on mixing and suspended sediment transport in macrotidal estuaries. *Sedimentary Geology* 26: 69–90.

Alpine AE, Cloern JE. 1992. Trophic interactions and direct physical effects control phytoplankton biomass and production in an estuary. *Limnology and Oceanography* 37: 946–955.

Del Amo Y, Quéguiner B, Tréguer P, Breton H, Lampert L. 1997. Impacts of high-nitrate freshwater inputs on macrotidal ecosystems. II. Specific role of the silicic acid pump in the year-round dominance of diatoms in the Bay of Brest (France). *Marine Ecology Progress Series* 161: 225–237.

Anderson DM, Rengefors K. 2006. Community assembly and seasonal succession of marine dinoflagellates in a temperate estuary: The importance of life cycle events. *Limnology and Oceanography* 51: 860–873.

Arin L, Marrasé C, Maar M, Peters F, Sala M, Alcaraz M. 2002. Combined effects of nutrients and small-scale turbulence in a microcosm experiment. I. Dynamics and size distribution of osmotrophic plankton. *Aquatic Microbial Ecology* 29: 51–61.

Attrill M, Rundle S. 2002. Ecotone or Ecocline: Ecological Boundaries in Estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 55: 929–936.

Balbi DM. 2000. Suspended chlorophyll in the River Nene, a small nutrient-rich river in eastern England: long-term and spatial trends. *The Science of the Total Environment* 251/252: 401–421.

Banse K. 1976. Rates of growth, respiration and photosynthesis of unicellular algae as related to cell size: a review. *Journal of Phycology* 12: 135–140.

Barnes H, Folkard AR. 1951. The determination of nitrite. *Analyst* 76: 599–603.

Barton AD, Pershing AJ, Litchman E, Record NR, Edwards KF, Finkel Z V, Kiørboe T, Ward BA. 2013. The biogeography of marine plankton traits. *Ecology letters* 16: 522–534.

Basu B, Pick F. 1996. Factors regulating phytoplankton and zooplankton biomass in temperate rivers. *Limnology & Oceanography* 41: 1572–1577.

Becker V, Huszar VLM, Crossetti LO. 2009. Responses of phytoplankton functional groups to the mixing regime in a deep subtropical reservoir. *Hydrobiologia* 628: 137–151.

Becker ML, Luettich Jr. RA, Mallin MA. 2010. Hydrodynamic behavior of the Cape Fear River and estuarine system: A synthesis and observational investigation of discharge–salinity intrusion relationships. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 88: 407–418.

Berdalet E. 1992. Effects of turbulence on the marine dinoflagellate Gymnodinium nelsonii. *Journal of Phycology* 28: 267–272.

Berdalet E, Peters F, Koumandou VL, Roldán C, Guadayol Ò, Estrada M. 2007. Species-specific physiological response of dinoflagellates to quantified small-scale turbulence 1. *Journal of Phycology* 43: 965–977.

Bergkvist J, Thor P, Jakobsen HH, Selander E. 2012. Grazer-induced chain length plasticity reduces grazing risk in a marine diatom. *Limnology & Oceanography* 57: 318–324.

Bledsoe EL, Phlips EJ. 2000. Relationships between phytoplankton standing crop and physical, chemical, and biological gradients in the Suwannee river and plume region, U. S. A. *Estuaries* 23: 458.

Bormans M, Condie SA. 1998. Modelling the distribution of Anabaena and Melosira in a stratified river weir pool. *Hydrobiologia* 364: 3–13.

Bormans M, Webster IT. 1999. Modelling the spatial and temporal variability of diatoms in the River Murray. *Journal of Plankton Research* 21: 581–598.

Bovo-Scomparin VM, Train S, Rodrigues LC. 2012. Influence of reservoirs on phytoplankton dispersion and functional traits: a case study in the Upper Paraná River, Brazil. *Hydrobiologia* 702: 115–127.

Brett M, Müller-Navarra D. 1997. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes. *Freshwater Biology* 38: 483–499.

Bricaud A, Claustre H, Ras J, Oubelkheir K. 2004. Natural variability of phytoplanktonic absorption in oceanic waters: Influence of the size structure of algal populations. *Journal of Geophysical Research* 109: C11010.

Brogueira MJ, Oliveira MDR, Cabeçadas G. 2007. Phytoplankton community structure defined by key environmental variables in Tagus estuary, Portugal. *Marine environmental research* 64: 616–28.

Butrón A, Iriarte A, Madariaga I. 2009. Size-fractionated phytoplankton biomass, primary production and respiration in the Nervión–Ibaizabal estuary: A comparison with other nearshore coastal and estuarine ecosystems from the Bay of Biscay. *Continental Shelf Research* 29: 1088–1102.

Cadenasso ML, Pickett STA, Weathers KC, Jones CG. 2003. A framework for a theory of ecological boundaries. *Bioscience* 53: 750–758.

Centis B, Tolotti M, Salmaso N. 2009. Structure of the diatom community of the River Adige (North-Eastern Italy) along a hydrological gradient. *Hydrobiologia* 639: 37–42.

Cermeno P. 2005. Size dependence of coastal phytoplankton photosynthesis under vertical mixing conditions. *Journal of Plankton Research* 27: 473–483.

Chetelat J, Pick F, Hamilton PB. 2006. Potamoplankton size structure and taxonomic composition: influence of river size and nutrients concentrations. *Limnology and Oceanography* 51: 681–689.

Choudhury AK, Pal R. 2011. Variations in seasonal phytoplankton assemblages as a response to environmental changes in the surface waters of a hypo saline coastal station along the Bhagirathi-Hooghly estuary. *Environmental monitoring and assessment* 179: 531–53.

Ciotti AM, Lewis MR, Cullen JJ. 2002. Assessment of the relationships between dominant cell size in natural phytoplankton communities and the spectral shape of the absorption coefficient. *Limnology and Oceanography* 47: 404–417.

Clift R, Grace JR, Weber ME. 1978. *Bubbles, Drops, and Particles*. New York: Academic press incorporation.

Cloern JE, Alpine AE, Cole BE, Wong RL, Arthur JF, Ball MD. 1983. River discharge controls phytoplankton dynamics in the northen San Francisco Bay estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 16: 415–429.

Condie SA, Bormans M. 1997. The Influence of Density Stratification on Particle Settling, Dispersion and Population Growth. *Journal of Theoritical Biology* 187: 65–75.

Costa LS, Huszar VLM, Ovalle AR. 2009. Phytoplankton functional groups in a tropical estuary: hydrological control and nutrient limitation. *Estuaries and Coasts* 32: 508–521.

Cózar A, Echevarría F. 2005. Size structure of the planktonic community in microcosms with different levels of turbulence. *Scientia Marina* 69: 187–197.

Delaney MP, Knoechel R. 2004. Turbulence effects on cold ocean microbial communities: an enclosure study. *Journal of Marine Systems* 49: 123–131.

Descy J-P, Gosselain V. 1994. Development and ecological importance of phytoplankton in a large lowland river (River Meuse, Belgium). *Hydrobiologia* 289: 139–155.

Devercelli M. 2006. Phytoplankton of the middle Paraná river during an anomalous hydrological period: a morphological and functional approach. *Hydrobiologia* 563: 465–478.

Devercelli M. 2010. Changes in phytoplankton morpho-functional groups induced by extreme hydroclimatic events in the Middle Paraná River (Argentina). *Hydrobiologia* 639: 5–19.

Dewitt TJ, Sih A, Wilson DS. 1998. Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology & Evolution* 13: 77–81.

Dickman EM, Newell JM, González MJ, Vanni MJ. 2008. Light, nutrients, and food-chain length constrain planktonic energy transfer efficiency across multiple trophic levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 18408–12.

Dijkman N a., Kromkamp JC. 2006. Photosynthetic characteristics of the phytoplankton in the Scheldt estuary: community and single-cell fluorescence measurements. *European Journal of Phycology* 41: 425–434.

Dodds WK. 2007. Trophic state, eutrophication and nutrient criteria in streams. *Trends in Ecology and Evolution* 22: 669–76.

Dokulil MT. 1994. Environmental control of phytoplankton productivity in turbulent turbid systems. *Hydrobiologia* 289: 65–72.

Van Donk E. 1997. Defenses in phytoplankton against grazing induced by nutrient limitation , UV-B stress and infochemicals. *Aquatic Ecology*: 53–58.

Van Donk E, Ianora A, Vos M. 2011. Induced defences in marine and freshwater phytoplankton: a review. *Hydrobiologia* 668: 3–19.

Dray S, Dufour AB. 2007. The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *Journal of Statistical Software* 22: 1–20.

Edwards KF, Klausmeier CA, Litchman E. 2011. Evidence for a three-way trade-off between nitrogen and phosphorus competitive abilities and cell size in phytoplankton. *Ecology* 92: 2085–95.

Edwards KF, Litchman E, Klausmeier CA. 2013. Functional traits explain phytoplankton community structure and seasonal dynamics in a marine ecosystem. *Ecology letters* 16: 56–63.

Edwards KF, Thomas MK, Klausmeier CA, Litchman E. 2012. Allometric scaling and taxonomic variation in nutrient utilization traits and maximum growth rate of phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 57: 554–566.

Elliott JA, Irish AE, Reynolds CS, Tett P. 1999. Sensitivity analysis of PROTECH , a new approach in phytoplankton modelling. *Hydrobiologia* 414: 45–51.

Engel A, Passow U. 2001. Carbon and nitrogen content of transparent exopolymer particles (TEP) in relation to their Alcian Blue adsorption. *Marine Ecology Progress Series* 219: 1–10.

Estrada M, Berdalet E. 1997. Phytoplankton in a turbulent world. *Scientia Marina* 61: 125–140.

Eyre B. 1998. Transport, retention and transformation of material in Australian estuaries. *Estuaries and Coasts* 21: 540–551.

Falkowski PG, Barber RT, Smetacek V. 1998. Biogeochemical Controls and Feedbacks on Ocean Primary Production. *Science* 281: 200–206.

Falkowski PG, Raven JA. 2007. *Aquatic Photosynthesis.* Malden, USA: Blackwell Science Publishers.

Ferreira JG, Wolff WJ, Simas TC, Bricker SB. 2005. Does biodiversity of estuarine phytoplankton depend on hydrology? *Ecological Modelling* 187: 513–523.

Finkel ZV, Irwin AJ, Schofield O. 2004. Resource limitation alters the 3 / 4 size scaling of metabolic rates in phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 273: 269–279.

Finkel Z V, Vaillancourt CJ, Irwin AJ, Reavie ED, Smol JP. 2009. Environmental control of diatom community size structure varies across aquatic ecosystems. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 276: 1627–34.

Flöder S, Jaschinski S, Wells G, Burns CW. 2010. Dominance and compensatory growth in phytoplankton communities under salinity stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 395: 223–231.

Fraisse S, Bormans M, Lagadeuc Y. 2013. Morpho-functional traits reflect differences in phytoplankton community between rivers of contrasted flow regime. *Aquatic Ecology* 47: 315-327.

Gameiro C, Cartaxana P, Brotas V. 2007. Environmental drivers of phytoplankton distribution and composition in Tagus Estuary, Portugal. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 75: 21–34.

García de Emiliani M. 1993. Seasonal succession of phytoplankton in a lake of the Paraná River floodplain, Argentina. *Hydrobiologia* 264: 101–114.

Gause GF. 1934. *The struggle for existence IX* (W and Wilkins, Ed.). Baltimore, Md.

Gervais F. 1997. Diel vertical migration of Cryptomonas and Chromatium in the deep chlorophyll maximum of a eutrophic lake. *Journal of Plankton Research* 19: 533–550.

Gleason HA. 1939. The individualistic concept of the plant association. *American Midland Naturalist* 21: 92–110.

Gosselain V, Descy J-P, Everbecq E. 1994. The phytoplankton community of the River Meuse, Belgium: seasonal dynamics (year 1992) and the possible incidence of zooplankton grazing. *Hydrobiologia* 289: 179–191.

Guadayol O, Marrasé C, Peters F, Berdalet E, Roldan C, Sabata A. 2009. Responses of coastal osmotrophic planktonic communities to simulated events of turbulence and nutrient load throughout a year. *Journal of Plankton Research* 31: 583–600.

Gurbuz H, Kivrak E, Soyupak S, Yerli SV. 2003. Predicting dominant phytoplankton quantities in a reservoir by using neural networks. *Hydrobiologia* 504: 133–141.

Ha K, Kim H, Joo G. 1998. The phytoplankton succession in the lower part of hypertrophic Nakdong River (Mulgum), South Korea. *Hydrobiologia* 369/370: 217–227.

Havens KE. 2008. Chapter 33: Cyanobacteria blooms: effects on aquatic ecosystems. In: Hudnell HK, ed. Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs Advances in Experimental Medicine and Biology. North Caroline: Triangle Park, 733–747.

Hayes MO. 1975. Morphology of sand accumulation in estuaries: an introduction to the symposium. In: Cronin LE, ed. Estuarine Research, Vol. II. New York: Academic press, .

Heip CHR, Goosen NK, Herman PMJ, Kromkamp J, Middelburg JJ, Soetaert K. 1995. Production and consumption of biological particles in temperate tidal estuaries. *Review, Oceanography and Marine biology: an Annual Review* 33: 1–149.

Hillebrand H, Dürselen CD, Kirschtel D, Pollingher U, Zohary T. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35: 403–424.

Hondzo M, Lyn D. 1999. Quantified small-scale turbulence inhibits the growth of a green alga. *Freshwater Biology* 41: 51–61.

Hondzo M, Warnaars TA. 2008. Coupled Effects of Small-Scale Turbulence and Phytoplankton Biomass in a Small Stratified Lake. *Journal of Environmental Engenering* 134: 954–961.

Hondzo M, Wüest A. 2009. Do microscopic organisms feel turbulent flows? *Environmental science & technology* 43: 764–8.

Howarth RW, Swaney DP, Butler TJ, R M. 2000. Climatic control on eutrophication of the Hudson River Estuary. *Ecosystems* 3: 210–215.

Huisman J, Arrayás M, Ebert U, Sommeijer B. 2002. How do sinking phytoplankton species manage to persist? *The American naturalist* 159: 245–54.

Huisman J, Oostveen P van, Weissing FJ. 1999. Critical depth and critical turbulence: two different mechanisms for the development of phytoplankton blooms. *Limnology & Oceanography* 44: 1781–1787.

Huisman J, Sharples J, Stroom JM, Visser PM, Kardinaal WEA, Verspagen JMH, Sommeijer B. 2004. Changes in turbulent mixing shift competition for light. *Ecology* 85: 2960–2970.

Hutchinson GE. 1961. The Paradox of the Plankton. *The American naturalist* 95: 137–145.

Iversen KR, Primicerio R, Larsen A, Egge JK, Peters F, Guadayol O, Jacobsen A, Havskum H, Marrase C. 2009. Effects of small-scale turbulence on lower trophic levels under different nutrient conditions. *Journal of Plankton Research* 32: 197–208.

Jassby AD. 2008. Phytoplankton in the upper San Francisco Estuary: recent biomass trends, their causes and their trophic significance. *San Francisco Estuary Watershed Sciences* 6: 1–24.

Jaworski GHM, Wiseman SW, Reynolds CS. 1988. Variability in sinking rate of the freshwater diatom Asterionella formosa: the influence of colony morphology. *British Phycological Journal* 23: 167–176.

De Jonge VN, Van Beusekom JEE. 1995. Wind- and tide-induced resuspension of sediment and microphytobenthos from tidal flats in the Ems estuary. *Limnology & Oceanography* 40: 766–778.

Jouenne F, Lefebvre S, Véron B, Lagadeuc Y. 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.

Jowett IG. 1993. A method for objectively identifying pool, run , and riffle habitats from physical measurements. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 27: 241–248.

Karp-Boss L, Boss E, Jumars PA. 1996. Nutrient fluxes to planktonic osmotrophs in the presence of fluid motion. *Oceanography and Marine Biology: an annual review* 34: 71–107.

Kennedy JT, Whalen SC. 2007. Seasonality and controls of phytoplankton productivity in the middle Cape Fear River, USA. *Hydrobiologia* 598: 203–217.

Key T, McCarthy A, Campbell D a, Six C, Roy S, Finkel Z V. 2010. Cell size trade-offs govern light exploitation strategies in marine phytoplankton. *Environmental microbiology* 12: 95–104.

Kies L. 1997. Distribution, biomass and production of planktonic and benthic algae in the Elbe Estuary. *Limnologica* 27: 55–64.

Kiorboe T. 1993. *Turbulence, phytoplankton cell size, and the structure of pelagic food web*. Advances in Marine Biology.

Koleff P, Gaston KJ, Lennon JJ. 2003. Measuring beta diversity for presence-absence data. *Journal of Animal Ecology* 72: 367–382.

Kromkamp J, Peene J. 1995. Possibility of net phytoplankton primary production in the turbid Schelde estuary (SW Netherlands). *Marine Ecology Progress Series* 121: 249–259.

Kruk C, Huszar VLM, Peeters ETHM, Bonilla S, Costa L, Lürling M, Reynolds CS, Scheffer M. 2010. A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater Biology* 55: 614–627.

Kruk C, Peeters ETHM, Van Nes EH, Huszar VLM, Costa LS, Scheffer M. 2011. Phytoplankton community composition can be predicted best in terms of morphological groups. *Limnology and Oceanography* 56: 110–118.

Kruk C, Segura AM. 2012. The habitat template of phytoplankton morphology-based functional groups. *Hydrobiologia* 698: 191–202.

Lagadeuc Y, Brylinski JM, Aelbrecht D. 1997. Temporal vari- ability of the vertical stratification of a front in a tidal region of freshwater influence (ROFI) system. *Journal of Marine Research* 12: 147–155.

Lague D, Davy P, Crave A. 2000. Estimating uplift rate and erodibility from the area-slope examples from Brittany (France) and numerical modelling. *Physics and Chemistry of the Earth* 25: 543–548.

Lance E, Alonzo F, Tanguy M, Gerard C, Bormans M. 2011. Impact of microcystin-producing cyanobacteria on reproductive success of Lymnaea stagnalis (Gastropoda, Pulmonata) and predicted consequences at the population level. *Ecotoxicology* 20: 719–730.

Lauria M Lou, Purdie D a., Sharples J. 1999. Contrasting phytoplankton distributions controlled by tidal turbulence in an estuary. *Journal of Marine Systems* 21: 189–197.

Lavoie I, Hamilton PB, Poulin M. 2010. Phytoplankton community metrics based on absolute and relative abundance and biomass: implications for multivariate analyses. *Journal of Applied Phycology* 23: 735–743.

Lazier JRN, Mann KH. 1989. Turbulence and the diffusive layers around small organisms. *Deep Sea Research* 36: 1721–1733.

Legendre L, Legendre P. 1998. *Numerical Ecology.* Amsterdam: Elsevier.

Lehman PW. 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.

Lesourd S, Lesueur P, Brun-Cottan JC, Garnaud S, Poupinet N. 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.

Levin SA. 1999. *Fragile Dominion: Complexity and the Commons. Perseus Books, Reading, MA*.

Lewis DM, Elliott J a., Lambert MF, Reynolds CS. 2002. The simulation of an Australian reservoir using a phytoplankton community model: PROTECH. *Ecological Modelling* 150: 107–116.

Lionard M, Muylaert K, Van Gansbeke D, Vyverman W. 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, Muylaert K, Hanoutti A, Maris T, Tackx M, Vyvermana W. 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. 2000. Growth rates of phytoplankton under fluctuating light. *Freshwater Biology* 44: 223–235.

Litchman E, Klausmeier CA. 2008. Trait-based community ecology of phytoplankton. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39: 615–639.

Litchman E, Klausmeier CA, Schofield OM, Falkowski PG. 2007. The role of functional traits and trade-offs in structuring phytoplankton communities: scaling from cellular to ecosystem level. *Ecology letters* 10: 1170–81.

Longhi ML, Beisner BE. 2010. Patterns in taxonomic and functional diversity of lake phytoplankton. *Freshwater Biology* 55: 1349–1366.

Lorenzen CJ. 1967. Determination of chlorophyll and phaeopigments: spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography* 12: 343–346.

Lucas LV, Thompson JK, Brown LR. 2009. Why are diverse relationships observed between phytoplankton biomass and transport time? *Limnology and Oceanography* 54: 381–390.

Lund JWG, Kipling C, Le Cren ED. 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* 11: 143–170.

Lürling M, Van Donk E. 2000. Grazer-induced colony formation in Scenedesmus : are there costs to being colonial ? *Oikos* 88: 111–118.

Van der Maarel E. 1990. Ecotones and ecocline are different. *Journal of Vegetation Science* 1: 135–138.

Marañón E, Cermeño P, López-Sandoval DC, Rodríguez-Ramos T, Sobrino C, Huete-Ortega M, Blanco JM, Rodríguez J. 2013. Unimodal size scaling of phytoplankton growth and the size dependence of nutrient uptake and use. *Ecology letters* 16: 371–9.

Margalef R. 1978. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. *Oceanologica Acta* 1: 493–509.

McGill B, Enquist B, Weiher E. 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology and Evolution* 21: 178–185.

McNown J, Malaika J. 1950. Effects of particle shape on settling velocity at low reynolds numbers. *Transcations, American Geophysicla Union* 31: 74–81.

Metcalfe AM, Pedley TJ, Thingstad TF. 2004. Incorporating turbulence into a plankton foodweb model. *Journal of Marine Systems* 49: 105–122.

Mieleitner J, Borsuk M, Bürgi H, Reichert P. 2008. Identifying functional groups of phytoplankton using data from three lakes of different trophic state. *Aquatic Sciences* 70: 30 – 46.

Modéran J. 2010. L'estuaire de la Charente : structure de communauté et écologie trophique planctonique, approche écosystémique de la contamination métallique. Thèse de doctorat, Université de La Rochelle.

Modéran J, Bouvais P, David V, Le Noc S, Simon-Bouhet B, Niquil N, Miramand P, Fichet D. 2010. Zooplankton community structure in a highly turbid environment (Charente estuary, France): Spatio-temporal patterns and environmental control. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 88: 219–232.

Morabito G, Oggioni A, Caravati E, Panzani P. 2007. Seasonal morphological plasticity of phytoplankton in Lago Maggiore (N. Italy). *Hydrobiologia* 578: 47–57.

Moss B, Balls H. 1989. Phytoplankton distribution in a floodplain lake and river system. II Seasonal changes in the phytoplankton communities and their control by hydrology and nutrient availability. *Journal of Plankton Research* 11: 839–867.

Murphy J, Riley JP. 1962. A modified simple solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27: 31–36.

Musielak MM, Karp-Boss L, Jumars PA, Fauci LJ. 2009. Nutrient transport and acquisition by diatom chains in a moving fluid. *Journal of Fluid Mechanics* 638: 401–421.

Muylaert K, Raine R. 1999. Import, mortality and accumulation of coastal phytoplankton in a partially mixed estuary (Kinsale harbour, Ireland). *Hydrobiologia* 53: 53–65.

Muylaert K, Sabbe K. 1999. Spring phytoplankton assemblages in and around the maximum turbidity zone of the estuaries of the Elbe (Germany), the Schelde (Belgiumr/The Netherlands) and the Gironde (France). *Journal of Marine Systems* 22: 133–149.

Muylaert K, Sabbe K, Vyverman W. 2000. Spatial and temporal dynamics of phytoplankton communities in a freshwater tidal estuary (Schelde, Belgium). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 50: 673–687.

Muylaert K, Sabbe K, Vyverman W. 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.

Neal C, Hilton J, Wade AJ, Neal M, Wickham H. 2006. Chlorophyll-a in the rivers of eastern England. *The Science of the total environment* 365: 84–104.

Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R, Legendre P, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Wagner H. 2011. Vegan: community ecology package.

Padisák J, Crossetti LO, Naselli-Flores L. 2009. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia* 621: 1–19.

Padisák J, Soróczki-Pintér E, Rezner Z. 2003. Sinking properties of some phytoplankton shapes and the relation of form resistance to morphological diversity of plankton – an experimental study. *Hydrobiologia* 500: 243–257.

Pannard A, Bormans M, Lagadeuc Y. 2007. Short-term variability in physical forcing in temperate reservoirs: effects on phytoplankton dynamics and sedimentary fluxes. *Freshwater Biology* 52: 12–27.

Pannard a, Claquin P, Klein C, Leroy B, Veron B. 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.

Passarge J, Hol S, Escher M, Huisman J. 2006. Competition for nutrients and light: stable coexistence, alternative stable states, or competitive exclusion? *Ecological Monograph* 76: 57–72.

Peeters F, Straile D, Lorke A, Ollinger D. 2007. Turbulent mixing and phytoplankton spring bloom development in a deep lake. *Limnology and Oceanography* 52: 286–298.

Peperzak L, Colijn F, Koeman R, Gieskes WWC, Joordens JCA. 2003. Phytoplankton sinking rates in the Rhine region of freshwater influence. *Journal of Plankton Research* 25: 365–383.

Peters F, Arin L, Marrasé C, Berdalet E, Sala MM. 2006. Effects of small-scale turbulence on the growth of two diatoms of different size in a phosphorus-limited medium. *Journal of Marine Systems* 61: 134–148.

Peters F, Gross T. 1994. Increased grazing rates of microplankton in response to small-scale turbulence. *Marine Ecology Progress Series* 115: 299–307.

Peters F, Redondo JM. 1997. Turbulence generation and measurement: application to studies on plankton. *Scientia Marina* 61: 205–228.

Pirt SJ. 1975. *Principles of microbe and cell cultivation.* (Black- well Scientific, Ed.). Oxford: Black- well Scientific.

Pithart D. 1997. Diurnal Vertical Migration Study during a Winter Bloom of Cryptophyceae in a foodplain pool. *Internationale Revue Der Gesamten Hydrobiologie* 82: 33–46.

Quinlan EL, Phlips EJ. 2007. Phytoplankton assemblages across the marine to low-salinity transition zone in a blackwater dominated estuary. *Journal of Plankton Research* 29: 401–416.

R Development Core Team. 2010. R: A language and environ- ment for statistical computing.

Raimonet M, Ragueneau O, Andrieux-Loyer F, Philippon X, Kerouel R, Le Goff M, Mémery L. 2013. Spatio-temporal variability in benthic silica cycling in two macrotidal estuaries: Causes and consequences for local to global studies. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 119: 31–43.

Raven JA, Finkel ZV, Irwin AJ. 2005. Picophytoplankton : bottom-up and top-down controls on ecology and evolution. *Vie et Milieu* 55: 209–215.

Raven JA, Waite AM. 2004. The evolution of silicification in diatoms: inescapable sinking and sinking as escape? *New Phytologist* 162: 45–61.

Regel RH, Brookes JD, Ganf GG, Griffiths RW. 2004. The influence of experimentally generated turbulence on the Mash01 unicellular Microcystis aeruginosa strain. *Hydrobiologia* 517: 107–120.

Revilla M, Iriarte A, Madariaga I, Orive E. 2000. Bacterial and phytoplankton dynamics along a trophic gradient in a shallow temperate estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 50: 297–313.

Reynolds CS. 1980. Phytoplankton assemblages and their periodicity in stratifying lake systems. *Holarctic Ecology* 3: 141–159.

Reynolds CS. 1984. *The ecology of freshwater phytoplankton.* (Cambridge University Press, Ed.). Cambridge.

Reynolds CS. 1994. The long, the short and the stalled: on the attributes of phytoplankton selected by physical mixing in lakes and rivers. *Hydrobiologia* 289: 9–21.

Reynolds CS. 2000. Hydroecology of river plankton : the role of variability in channel flow. *Hydrological Processes* 14: 3119–3132.

Reynolds CS. 2006. *Ecology of Phytoplankton*. Cambridge: Cambridge University Press.

Reynolds CS. 2007. Variability in the provision and function of mucilage in phytoplankton: facultative responses to the environment. *Hydrobiologia* 578: 37–45.

Reynolds C, Descy J-P. 1996. The production, biomass and structure of phytoplankton in large rivers. *Archiv fuer Hyrobiologie Supplementband* 113: 161–187.

Reynolds CS, Descy JP, Padisák J. 1994. Are phytoplankton dynamics in rivers so different from those in shallow lakes ? *Hydrobiologia* 289: 1–7.

Reynolds CS, Huszar VLM, Kruk C, Naselli-Flores L, Melo S. 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24: 417–428.

Richardson LF. 1922. *Weather Prediction by Numerical Processes*. Cambridge: Cambridge University Press.

Richardson K, Beardall J, Raven JA. 1983. Adaptation of unicellular algae to irradiance-an analysis of strategies. *New Phytologist* 93: 157–191.

Rijstenbil JW. 1987. Phytoplankton composition of stagnant and tidal ecosystems in relation to salinity, nutrients, light and turbulence. *Netherland Journal of Sea Research* 21: 113–123.

Rodier J. 1978. *L'analyse de l'eau.* Paris.

Rojo C, Alvarez Cobelas M, Arauzo M. 1994. An elementary, structural analysis of river phytoplankton. *Hydrobiologia* 289: 43–55.

Rothschild BJ, Osborn TR. 1988. Small-scale turbulence and plankton contact rates. *Journal of Plankton Research* 10: 465–474.

Salmaso N, Padisák J. 2007. Morpho-functional groups and phytoplankton development in two deep lakes (Lake Garda, Italy and Lake Stechlin, Germany). *Hydrobiologia* 578: 97–112.

Salmaso N, Zignin A. 2010. At the extreme of physical gradients: phytoplankton in highly flushed, large rivers. *Hydrobiologia* 639: 21–36.

Savoye N. 2001. Origine et transfert de la matière organique particulaire dans les écosystèmes littoraux macrotidaux. Thèse de Doctorat, Université de Bretagne Occidentale

Schapira M, Seuront L, Gentilhomme V. 2006. Effects of small-scale turbulence on Phaeocystis globosa (Prymnesiophyceae) growth and life cycle. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 335: 27–38.

Schwaderer AS, Yoshiyama K, De Tezanos Pinto P, Swenson NG, Klausmeier CA, Litchman E. 2011. Eco-evolutionary differences in light utilization traits and distributions of freshwater phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 56: 589–598.

Segura AM, Calliari D, Kruk C, Conde D, Bonilla S, Fort H. 2011. Emergent neutrality drives phytoplankton species coexistence. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 278: 2355–61.

Seoane S, Garmendia M, Revilla M, Borja A, Franco J, Orive E, Valencia V. 2011. Phytoplankton pigments and epifluorescence microscopy as tools for ecological status assessment in coastal and estuarine waters, within the Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin* 62: 1484–97.

Serra T, Granata T, Colomer J, Stips a., Møhlenberg F, Casamitjana X. 2003. The role of advection and turbulent mixing in the vertical distribution of phytoplankton. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 56: 53–62.

Sherman BS, Webster IT, Jones GJ, Oliver RL. 1998. Transitions between Aulacoseira and Anabaena dominance in a turbid river weir pool. *Limnology & Oceanography* 43: 1902–1915.

Smayda TJ. 1970. The suspension and sinking of phytoplankton in the sea. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* 8: 353–414.

Smayda TJ, Reynolds CS. 2001. Community assembly in marine phytoplankton: application of recent models to harmful dinoflagellate blooms. *Journal of Plankton Research* 23: 447–461.

Smetacek VS. 1985. Role of sinking in diatom life-history cycles: ecological, evolutionary and geological significance. *Marine Biology* 84: 239–251.

Smetacek V, Assmy P, Henjes J. 2004. The role of grazing in structuring Southern Ocean pelagic ecosystems and biogeochemical cycles. *Antarctic Science* 16: 541–558.

Smith IR. 1982. A simple theory of algal deposition. *Freshwater Biology* 12: 445–449.

Smith VH. 2003. Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems: a global problem. *Environmental science and pollution research international* 10: 126–39.

Sommer U. 1996. Plankton ecology: the past two decades of progress. *Naturwissenschaften* 83: 293–301.

Sommer U, Adrian R, De Senerpont Domis L, Elser JJ, Gaedke U, Ibelings B, Jeppesen E, Lürling M, Molinero JC, Mooij WM, *et al.* 2012. Beyond the Plankton Ecology Group (PEG) Model: Mechanisms Driving Plankton Succession. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 43: 429–448.

Sommer U, Gliwicz ZM, Lampert W, Duncan A. 1986. The PEG-model of seasonal succession of planktonic event in freshwaters. *Archiv Fur Hydrobiologie* 106: 443–471.

Sotton B, Guillard J, Bony S, Devaux A, Domaizon I, Givaudan N, Crespeau F, Huet H, Anneville O. 2012. Impact of toxic cyanobacterial blooms on Eurasian perch (Perca fluviatilis): experimental study and in situ observations in a peri-alpine lake. *PloS One* 7: e52243.

Stanca E, Cellamare M, Basset A. 2013. Geometric shape as a trait to study phytoplankton distributions in aquatic ecosystems. *Hydrobiologia* 701: 99–116.

Stanković I, Vlahović T, Gligora Udovič M, Várbíró G, Borics G. 2012. Phytoplankton functional and morpho-functional approach in large floodplain rivers. *Hydrobiologia* 698: 217–231.

Stevenson RJ, White KD. 1995. A comparison of natural and human determinants of phytoplankton communities in the Kentucky River basin, USA. *Hydrobiologia* 297: 201–216.

Sukhodolov A, Thiele M, Bungartz H. 1998. Turbulence structure in a river reach with sand bed. *Water Resources Research, AGU,*34: 1317–1334.

Sullivan JM, Swift E. 2003. Effects of small-scale turbulence on net growth rate and size species of marine dinoflagellates. *Journal of Phycology* 94: 83–94.

Sun J, Liu D. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 25: 1331–1346.

Tam D, Hosoi AE. 2011. Optimal kinematics and morphologies for spermatozoa. *Physical Review Letters* 83: 045303.

Tambi H, Flaten G, Egge J, Bødtker G, Jacobsen A, Thingstad TF. 2009. Relationship between phosphate affinities and cell size and shape in various bacteria and phytoplankton. *Aquatic Microbial Ecology* 57: 311–320.

Tang EPY. 1995. The allometry of algal growth rates. *Journal of Plankton Research* 17: 1325–1335.

Tavernini S, Pierobon E, Viaroli P. 2011. Physical factors and dissolved reactive silica affect phytoplankton community structure and dynamics in a lowland eutrophic river (Po river, Italy). *Hydrobiologia* 669: 213–225.

Taylor JR, Stocker R. 2012. Trade-offs of chemotactic foraging in turbulent water. *Science (New York, N.Y.)* 338: 675–9.

Tennekes HH, Lumley JL. 1972. *A first course in turbu- lence.* (M Press, Ed.). Cambridge, MA.: MIT Press.

Thingstad TF, Øvreås L, Egge JK, Løvdal T, Heldal M. 2005. Use of non-limiting substrates to increase size; a generic strategy to simultaneously optimize uptake and minimize predation in pelagic osmotrophs? *Ecology Letters* 8: 675–682.

Thomas WH, Gibson CH. 1990. Effects of small-scale turbulence on microalgae. *Journal of Applied Phycology* 2: 71–77.

Thorpe SA. 2007. *An introduction to ocean turbulence*. Cambridge: Cambridge University Press.

Tilman D. 1977. Resource competition between plankton algae: an experimental and theoretical approach. *Ecology* 58: 338–348.

Tilman D, Kilham SS, Kilham P. 1982. Phytoplankton community ecology: the role of limiting nutrients. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13: 349–371.

Underwood GJC, Kromkamp J. 1994. Primary production by phytoplankton and microphytobenthos in estuaries. *Advances in Ecological Research* 29: 93–153.

Vale C, Sundby B. 1987. Suspended sediment fluctuations in the Tagus estuary on semi-diurnal and fortnightly time scales. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 25: 495–508.

Vannote RL, Minshall GW, Cummins KW, Sedell JR, Cushing CE. 1980. The River Continuum Concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37: 130–137.

Violle C, Navas M-L, Vile D, Kazakou E, Fortunel C, Hummel I, Garnier E. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116: 882–892.

Waite A, Fisher A, Thompson PA, Harrison P. 1997. Sinking rate versus cell volume relationships illuminate sinking rate control mechanisms in marine diatoms. *Marine Ecology Progress Series* 157: 97–108.

Walsby AE. 1994. Gas vesicles. *Microbiological reviews* 58: 94–144.

Walsby BYAE, Hayes PK, Stal DLJ, Kiel DU, Weg D. 1997. The selective advantage of buoyancy provided by gas vesicles for planktonic cyanobacteria in the Baltic Sea. *New Phytologist* 136: 407–417.

Walsby AE, Holland DP. 2006. Sinking velocities of phytoplankton measured on a stable density gradient by laser scanning. *Journal of the Royal Society, Interface* 3: 429–39.

Wang P, Shen H, Xie P. 2012. Can hydrodynamics change phosphorus strategies of diatoms? Nutrient levels and diatom blooms in lotic and lentic ecosystems. *Microbial Ecology* 63: 369–82.

Warnaars TA, Hondzo M. 2006. Small-scale fluid motion mediates growth and nutrient uptake of Selenastrum capricornutum. *Freshwater Biology* 51: 999–1015.

Weithoff G. 2003. The concepts of "plant functional types" and "functional diversity" in lake phytoplankton - a new understanding of phytoplankton ecology? *Freshwater Biology* 48: 1669–1675.

Wu N, Schmalz B, Fohrer N. 2010. Distribution of phytoplankton in a German lowland river in relation to environmental factors. *Journal of Plankton Research* 33: 807–820.

Yarrow MM, Marín VH. 2007. Toward Conceptual Cohesiveness: a Historical Analysis of the Theory and Utility of Ecological Boundaries and Transition Zones. *Ecosystems* 10: 462–476.

Young AM, Karp-Boss L, Jumars PA, Landis EN. 2012. Quantifying diatom aspirations: Mechanical properties of chain-forming species. *Limnology & Oceanography* 57: 1789–1801.

Zhang M, Shi X, Yu Y, Kong F. 2011. The acclimative changes in photochemistry after colony formation of the cyanobacteria Microcystis aeruginosa. *Journal of Phycology* 47: 524–532.