

## Rapport de stage individuel

4<sup>ème</sup> année

Évaluation de l'effet du dépôt d'aérosols sur la composition fonctionnelle du phytoplancton par l'analyse des biomarqueurs pigmentaires au cours d'une expérience en mésocosme réalisée avec les communautés planctoniques naturelles de la mer de Crète

UMR MARBEC – Marine Biodiversity Exploitation and Conservation  
93 Place Eugène Bataillon, 34090 Montpellier



Tuteur entreprise :  
Francesca Vidussi  
Chargé de recherches au CNRS

Enora Tregouët  
21804831  
UIT – ADAGE  
2021-2022

Tuteur académique :  
Sabine Greulich



# Remerciements

Je remercie en premier lieu Francesca VIDUSSI, ma tutrice de stage, qui m'a permis de réaliser ce stage très enrichissant et grâce à qui j'ai pu découvrir le monde de la recherche, de la biologie marine et surtout du phytoplancton. Je la remercie pour ses précieux conseils qui m'ont permis de réaliser ce stage mais également de sa confiance pour m'avoir proposé une expérience de mésocosme en Crète.

Je remercie également le chef du projet AEROSea en Crète, Iordanis MAGIOPOULOS ainsi que Paraskevi PITTA pour leur confiance, leur aide et leur bonne humeur tout au long de ce projet. Et merci évidemment à l'ensemble de l'équipe; Christos, Ariadna, Esther, Tomasa, Raquel, Mena, Guilia, Jose, etc. J'ai passé trois semaines absolument merveilleuses en leur compagnie dans cette île magnifique qu'est la Crète.

Je tiens également à remercier Elise HATEY, la technicienne de laboratoire, qui m'a appris à utiliser l'HPLC et sans qui je n'aurais jamais pu continuer mes analyses.

Et enfin, un grand merci à ma partenaire de laboratoire Axelle RIVOALLAN de son aide précieuse tout au long de ce stage et de sa bonne humeur au quotidien.

## Résumé

Les effets des dépôts atmosphériques sur la structure des communautés phytoplanctoniques ont été étudiés au cours d'une expérience de mésocosme en utilisant l'eau de la mer de Crète (Méditerranée orientale). Cette zone très oligotrophe reçoit très fréquemment des dépôts d'aérosols atmosphériques. Ces événements sont de plus en plus fréquents dû au changement climatique et peuvent modifier de manière significative la dynamique des phytoplanctons. C'est pour cette raison qu'il est important de les étudier et d'évaluer la réponse phytoplanctonique face à cette situation.

L'expérience a été réalisée dans des conditions printemps-été (mai/juin 2022). L'objectif principal était d'étudier les changements induits à partir d'événements de dépôts atmosphériques (poussières issues d'une tempête ou aérosols collectés) sur la composition fonctionnelle du phytoplancton. L'analyse a été faite à partir des biomarqueurs pigmentaires par HPLC (High-Performance Liquid Chromatography).

Cette expérience a montré que les effets des ajouts d'aérosols étaient variés en fonction des communautés phytoplanctoniques. Un effet positif a été montré sur les diatomées, les coccolithophores et les dinoflagellés. En revanche, la diadinoxanthine, un pigment photo-protecteur a été impacté négativement, ce qui pourrait montrer que le dépôt de poussière engendre un manque de luminosité qui peut être négatif ensuite pour certaines espèces.

Des conclusions concernant la réponse phytoplanctonique de la mer de Crète ne peuvent pas être émises seulement à partir de ces résultats. En effet, l'ensemble des chercheurs du projet ont leurs analyses à faire, notamment les résultats de la cytométrie et de la microscopie, qui permettront de mieux comprendre cette dynamique de réponse phytoplanctonique.

## Abstract

The effects of atmospheric deposition on phytoplankton community structure were studied in a mesocosm experiment using water from the Cretan Sea (eastern Mediterranean). This highly oligotrophic area receives very frequent atmospheric aerosol deposition. These events are becoming more frequent due to climate change and can significantly alter the dynamics of phytoplankton. For this reason, it is important to study them and evaluate the phytoplanktonic response to this situation.

The experiment was carried out under spring-summer conditions (May/June 2022). The main objective was to study the changes induced from atmospheric deposition events (storm dust or collected aerosols) on the functional composition of phytoplankton. The analysis was based on pigment biomarkers by HPLC (High-Performance Liquid Chromatography).

This experiment showed that the effects of aerosol additions were varied depending on the phytoplankton communities. A positive effect was shown on diatoms, coccolithophores and dinoflagellates. On the other hand, diadinoxanthin, a photo-protective pigment, was negatively impacted, which could show that the deposition of dust causes a lack of luminosity that can be negative for certain species.

Conclusions regarding the phytoplanktonic response of the Cretan Sea cannot be drawn from these results alone. Indeed, all the researchers in the project have their own analyses to do, in particular the results of cytometry and microscopy, which will allow a better understanding of this dynamic of phytoplanktonic response.

# Sommaire

Remerciements .....	
Résumé / Abstract .....	
Table des matières .....	
Table des figures .....	
Table des tableaux .....	
Glossaire .....	

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>1. Présentation générale.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1 Présentation des organismes d'accueil .....</b>	<b>3</b>
1.1.1 Laboratoire MARBEC.....	3
1.1.2 Centre HCMR.....	5
<b>1.2 Cadre du stage.....</b>	<b>6</b>
<b>1.3 Objectifs et déroulement du stage .....</b>	<b>7</b>
<b>2. Etat de l'art.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1 Le phytoplancton ; un rôle majeur dans les écosystèmes marins .....</b>	<b>9</b>
<b>2.2 Les aérosols ; une source de nutriments nécessaire pour la mer Méditerranée.....</b>	<b>10</b>
<b>2.3 Changement climatique : le devenir des aérosols .....</b>	<b>11</b>
<b>3. Matériels et méthodes .....</b>	<b>11</b>
<b>3.1 Expérience en mésocosme .....</b>	<b>11</b>
3.1.1 Site d'étude .....	11
3.1.2 Mise en place de l'expérience .....	12
3.1.2.1 Nettoyage et préparation du matériel .....	12
3.1.2.2 Conception des mésocosmes .....	13
3.1.2.3 Collecte de l'eau expérimentale.....	13
3.1.2.4 Remplissage des mésocosmes.....	13
3.1.2.5 Collecte des aérosols .....	14
3.1.3 Ajout d'aérosols .....	15
3.1.4 Echantillonnage.....	16
<b>3.2 Traitement des échantillons.....</b>	<b>17</b>
3.2.1 Filtration .....	17
3.2.2 Extraction .....	17
3.2.3 Analyse des pigments.....	17
3.2.4 Analyses statistiques .....	19
<b>4. Résultats.....</b>	<b>19</b>
<b>5. Limites de l'expérience .....</b>	<b>25</b>
<b>6. Discussion .....</b>	<b>26</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>28</b>

<b><i>Bilan personnel</i>.....</b>	<b>29</b>
<b><i>Bibliographie</i> .....</b>	<b>30</b>
<b><i>Tables des annexes</i> .....</b>	<b>33</b>
<b><i>Annexe</i> .....</b>	<b>34</b>

# Table des figures

Figure 1 : Autorités de tutelles de MARBEC .....	3
Figure 2 : Implantations de MARBEC dans le monde (umr-marbec.fr) .....	3
Figure 3 : Organigramme de MARBEC (umr-marbec.fr) .....	4
Figure 4 : Structure organisationnelle du centre HCMR (hcmr.fr) .....	5
Figure 5 : Partenaires du projet AQUACOSM Plus (aquacosm.eu) .....	6
Figure 6 : Site d'étude de l'expérience .....	12
Figure 7 : mésocosmes dans le bassin .....	12
Figure 8: récupération de l'eau de mer à 200m de la côte .....	13
Figure 9 : Tour pour faire transiter l'eau par gravité .....	14
Figure 10 : Remplissage des mésocosmes .....	14
Figure 11 : Aérosols de poussière .....	14
Figure 12 : Lieu de récolte des aérosols .....	15
Figure 13 : Disposition des mésocosmes .....	16
Figure 14 : Echantillons d'aérosols de poussière .....	16
Figure 15 : Echantillonnage dans les mésocosmes .....	16
Figure 16 : Dispositif pour récupérer l'eau dans le mésocosme .....	16
Figure 17 : Système de rampe de filtration .....	17
Figure 18 : filtre après la filtration de l'eau .....	17
Figure 19 : machine HPLC .....	18
Figure 20 : Chromatogramme d'un échantillon .....	18
Figure 21 : Spectre du pigment zéaxanthine d'un échantillon .....	18
Figure 22 : Planning de l'expérience .....	20
Figure 23: Concentration des nutriments dans les mésocosmes .....	21

## Table des tableaux

Tableau 1 : Groupes de phytoplanctons et leur(s) pigments(s) associé(s) .....	19
---	----

# Glossaire

HPLC	Chromatographie Liquide à Haute Performance
ZEA	Zéaxanthine
FUCO	Fucoxanthine
CHL C2	Chlorophylle C2
CHL C3	Chlorophylle C3
PERI	Péridinine
19HF	19'-hexanoyloxyfucoxanthine
DIADINO	Diadinoxanthine
CHL a	Chlorophylle a
LNLC	low chlorophyll, low nutrients



# Introduction

Les mers et océans recouvrent 70% de la planète et représentent 97% de l'eau sur Terre. Ils sont connus comme étant les « poumons bleus » de la planète. En effet, le phytoplancton (l'ensemble des végétaux microscopiques et unicellulaires présent dans les eaux de surface et qui dérivent au gré des courants), est un producteur primaire qui permet de produire la moitié de l'oxygène terrestre grâce à la photosynthèse. De plus, il est à la base de la chaîne trophique aquatique et approvisionne en nourriture la quasi-totalité des animaux marins. (Ifremer, 2015)

Les océans jouent un rôle très important dans le cycle du carbone, ils servent de pompe biologique, le CO<sub>2</sub> est dissous dans l'océan et le phytoplancton, par le processus de photosynthèse, vient fixer le CO<sub>2</sub> en le transformant en matière organique. Ce carbone peut être séquestré en profondeur, recyclé localement dans les couches superficielles ou encore exporté par le biais de la chaîne alimentaire vers les niveaux trophiques supérieurs (zooplancton-poissons).

De part ses différentes capacités, au fil des dernières années, les océans ont absorbé environ 30% des émissions de CO<sub>2</sub> d'origine anthropiques et ont ainsi permis de ralentir le changement climatique (Gruber et al. 2019).

Le phytoplancton pour survivre dépend de la lumière, de CO<sub>2</sub> et de sels minéraux. Cependant les nutriments dont il a besoin ne sont pas toujours présents naturellement dans l'eau. Dans les milieux marins à faible teneur en nutriments et en chlorophylle (LNLC : low nutrient, low chlorophyll), les apports d'éléments nutritifs par l'intermédiaire des aérosols atmosphériques sont considérés comme des sources importantes de macro et micro-nutriments. Le dépôt d'aérosols stimule la productivité primaire et secondaire et affecte la fonction et la diversité de l'écosystème jusqu'au niveau des copépodes (Ifremer, 2015). Dans la plupart des études publiées jusqu'à aujourd'hui, ces observations ont été attribuées uniquement à l'ajout de nutriments. Cependant, il est bien connu que les aérosols contiennent des microbes qui proviennent de la surface de la Terre (y compris le sol, l'eau douce et les systèmes marins) et peuvent voyager dans le monde entier via les courants d'air. En outre, des études récentes ont montré que les microbes sont capables de survivre dans l'atmosphère et présentent une activité métabolique et même une réplication. Finalement, les microbes en suspension dans l'air retournent à la surface de la terre ou se retrouvent dans la mer par les mécanismes de dépôts secs et principalement humides (précipitations de pluie, neige, grêle). Le phytoplancton en conditions oligotrophes dépend alors des apports en nutriments provenant du mélange profond ou des dépôts atmosphériques pour se développer.

La mer Méditerranée orientale et plus précisément la mer de Crète est considérée comme extrêmement oligotrophe et très influencée par les dépôts d'aérosols atmosphérique (naturels ou anthropiques). (Krom M., 2021)

Le changement climatique va rendre les dépôts d'aérosols de plus en plus importants, en effet, l'augmentation des températures et la diminution des pluies favorise le séchage des sols et provoque une augmentation des émissions de poussière dans la mer de Crète. Cela devrait alors par la suite augmenter la quantité de nutriments disponibles dans la mer de Crète.

Dans le cadre du diplôme d'ingénieur en Aménagement et Environnement, spécialité Aménagement durable et génie écologique, j'ai réalisé un stage de recherche au sein du laboratoire de l'UMR MARBEC (MARine Biodiversity, Exploitation and Conservation) à Montpellier. Ce stage s'inscrit dans le projet européen Horizon 2020 AQUACOSM Plus, il s'agit d'une expérience en mésocosme en Crète dont le projet se nomme AEROSea. Le but est d'étudier les effets des nutriments organiques et inorganiques dérivés des aérosols ainsi que le devenir et les effets des microbes atmosphériques après un dépôt épisodique dans l'écosystème marin LNLC de la Méditerranée orientale.

Mon stage se focalise sur une partie de ce projet qui concerne l'évaluation des dépôts épisodiques d'aérosols sur le milieu marin et leur effet sur la composition des communautés planctoniques naturelles de la mer de Crète déduite à partir de l'analyse des biomarqueurs pigmentaires.

# 1. Présentation générale

## 1.1 Présentation des organismes d'accueil

### 1.1.1 Laboratoire MARBEC

L'unité Mixte de Recherche (UMR) Marbec (MARine Biodiversity, Exploitation and Conservation) est l'un des plus importants laboratoires de France qui travaille sur la biodiversité marine et ses usages, principalement en Méditerranée et dans les écosystèmes tropicaux.

Créé le 1<sup>er</sup> janvier 2015, ses autorités de tutelles sont l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD), l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER), l'Université de Montpellier et le Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS).



Figure 1 : Autorités de tutelles de MARBEC

L'unité est implantée à Sète, Montpellier et Palavas-les-Flots, mais également dans l'océan Indien, en Asie, en Afrique et en Amérique du Sud (figure 2).



Figure 2 : Implantations de MARBEC dans le monde (umr-marbec.fr)

L'activité de recherche du laboratoire MARBEC se concentre autour de six ambitions, pour la période 2021-2025, qui ont été définies en fonction des enjeux de société liés à la biodiversité marine et ses usages. Les ambitions sont les suivantes ; dresser l'état des lieux de la biodiversité marine, comprendre et modéliser le fonctionnement et l'évolution des organismes et des écosystèmes marins, évaluer les causes de la perte de la biodiversité marine, proposer des outils de conservation de la biodiversité marine et anticiper les risques émergents, promouvoir une pêche et une aquaculture marines durables et enfin, développer un océan numérique pour protéger la biodiversité marine.

Le laboratoire a de nombreux dispositifs de recherche (figure 3) et s'appuie sur de nombreux observatoires (31 différents) qui sont à emprise internationale, nationale, régionale ou locale.

## GOUVERNANCE

### Directoire

Directeur : Laurent DAGORN (IRD)  
 Directeur adjoint : Jean-Marc FROMENTIN (Ifremer)  
 Directrice adjointe : Patricia CUCCHI (Université de Montpellier)  
 Directeur adjoint : Jean-Christophe AUGUET (CNRS)

### Comité de direction élargi (CDE)

4 du Directoire + 6 représentant(e)s des Ambitions et 4 des Dispositifs,  
 + 1 représentant des Observatoires + 5 chargé(e)s de mission

### Chargés de mission

- Formation : Béatrice BEC
- Appui aux politiques publiques : Thierry LAUGIER / Ophélie SÉRAIS
- Innovation : Fric FOUILLAND / Emmanuel REZZOUK
- Médiation Scientifique : Pierre-François BAISNÉE
- Frédérique CARCAILLET
- Éco-responsabilité : Claire CARRÉ / Olivier MAURY

### Conseil d'Unité (CU)

11 élu(e)s des collèges + 1 représentant(e) AP + 1 représentant(e) du BAR  
 + 1 chargé(e) de mission éco-responsabilité + 2 membres du Directoire

### Comité scientifique (CS)

4 membres du Directoire + 12 représentant(e)s des Ambitions + invité(e)s

### Appui à la recherche (BAR)

Co-administrateurs : Yann EVARISTE / Laurence VICENS /  
 Sandrine DEVOUASSOUD PEIRED

### Hygiène & Sécurité

Agents de prévention : Eva BLONDEAU-BIDET /  
 Corinne BOUVIER / Christine FÉLIX / Sophie HERMET /  
 Laurence VICENS

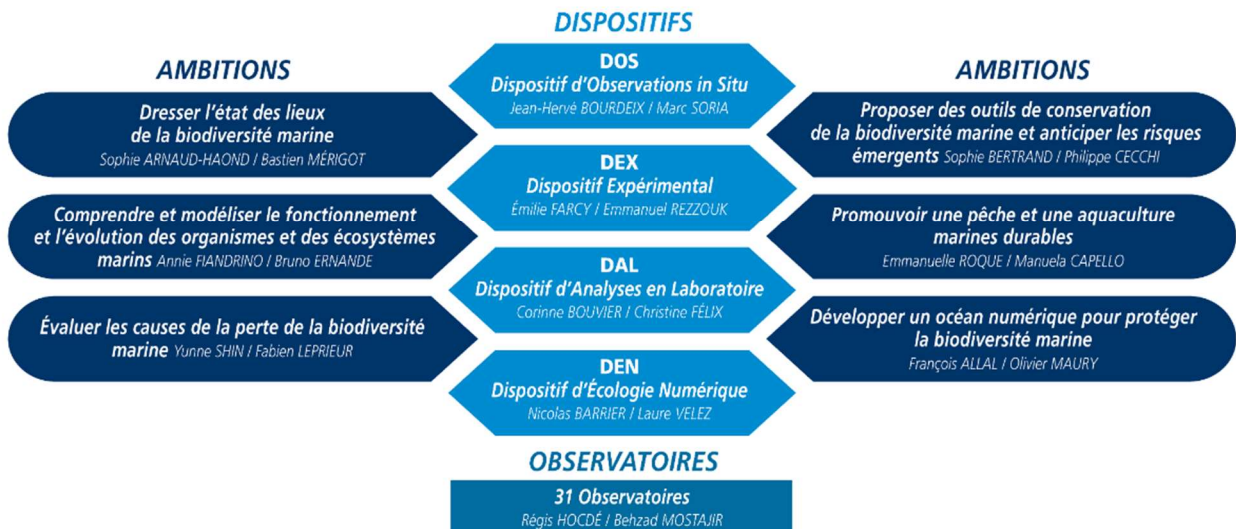


Figure 3 : Organigramme de MARBEC (umr-marbec.fr)

## 1.1.2 Centre HCMR



Le Hellenic Centre for Marine Research (HCMR) est le plus grand centre public de recherche marine en Grèce. Il s'agit d'un organisme de recherche gouvernemental opérant sous la supervision du Secrétariat Général pour la Recherche et l'Innovation (GSRI) du Ministère du développement et des investissements. Il se nomme HCMR depuis le 3 juin 2003 par suite du développement de l'Institut de Biologie Marine de Crète, créée en 1987. (HCMR, 2022)

Le HCMR est composé de trois instituts de recherche : L'Institut de biologie marine, de technologie et d'aquaculture (IMBBC), l'Institut des ressources biologiques marines et des eaux intérieures (IMBRIW) et l'Institut d'océanographie (IO).

Le centre se situe dans la ville de Gournes, dans le district régional d'Héraklion sur l'île de Crète en Grèce.

Il vise à mener des recherches scientifiques et technologiques, ainsi que le développement expérimental, la diffusion et la mise en œuvre des résultats produits, en particulier dans les domaines de l'étude et de la protection de l'hydrosphère, de ses organismes, de son interface avec l'atmosphère, la côte et le fond marin, des conditions physiques, chimiques, biologiques et géologiques qui prévalent et régulent les systèmes susmentionnés avec :

- la production de produits et la fourniture de services.
- le soutien à la prise de décision concernant le grand public, l'économie et la culture .
- leur exploitation économique soit par le HCMR et/ou par ses employés, soit par des tiers.

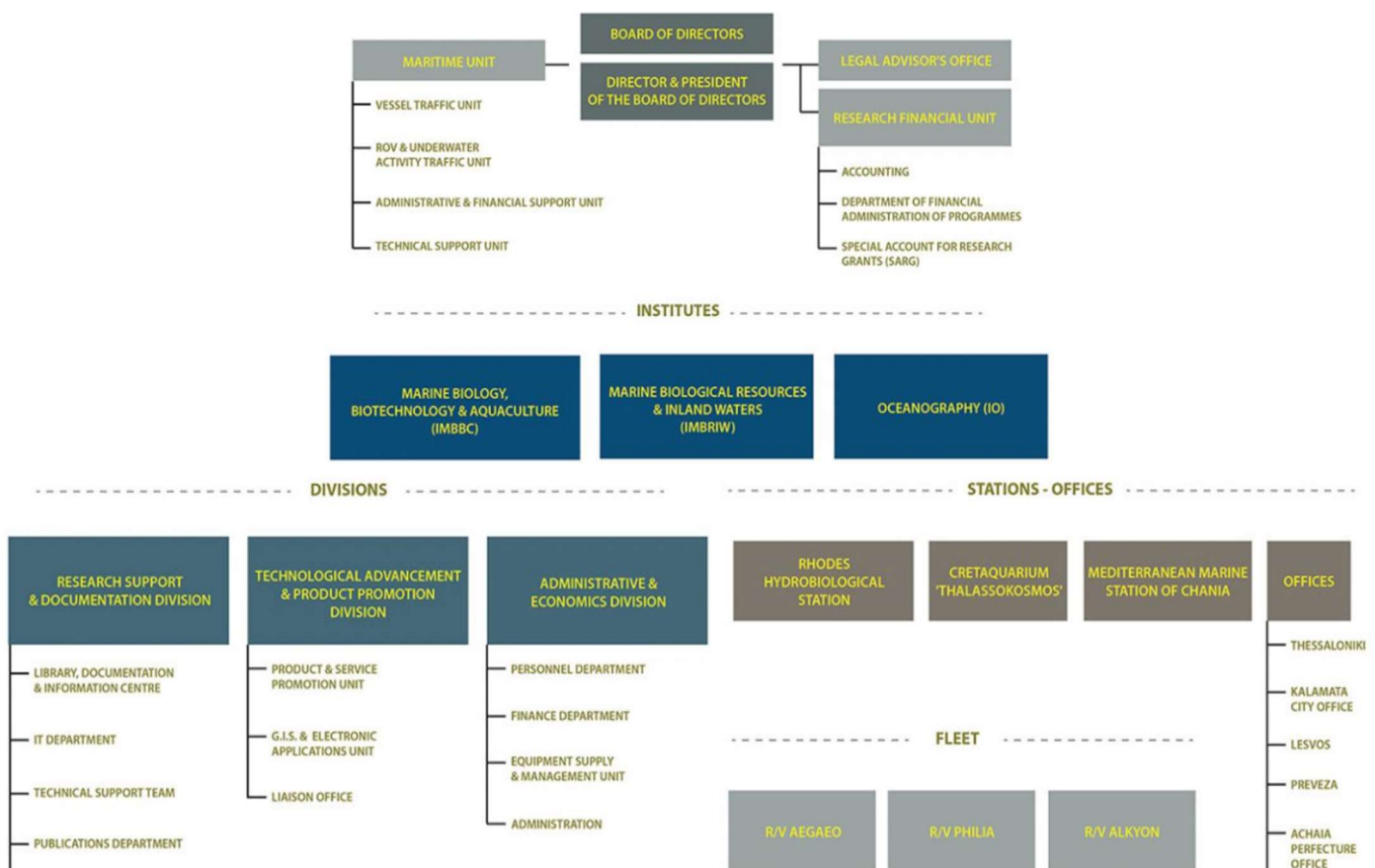


Figure 4 : Structure organisationnelle du centre HCMR (hcmr.fr)



## 1.2 Cadre du stage

Le projet AQUACOSM (mésoCOSMes AQUAtiques) correspond au réseau européen d'installations de mésocosmes pour la recherche sur les écosystèmes marins et d'eau douce ouvert à une collaboration mondiale. Il s'agit du premier projet avec cette collaboration spécifique (eau marine et douce) dans le but de relever les défis environnementaux internationaux du 21<sup>e</sup> siècle.

Les lacs, rivières, estuaires et l'océan ouvert sont connectés entre eux. Malgré cela, la recherche aquatique est toujours divisée en sciences marines et d'eau douce, avec des sources de financements distinctes et la science expérimentale est souvent menée sur des sites uniques sans coordination internationale. C'est pour répondre à ces problèmes que le projet AQUACOSM a été créé, dirigé par le FVB-IGB (Leibniz Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries) et financé par le premier appel international (EU H2020-INFRAIA) afin de coordonner la recherche, développer des meilleures pratiques communes et ouvrir des infrastructures de recherche à grande échelle (les mésocosmes) en eau douce et en mer pour une participation internationale interdisciplinaire. (aquacoscsm, 2020)

Aujourd'hui le projet s'est étendu et il se nomme AQUACOSM-Plus, de nombreux partenaires se sont ajoutés et des nouvelles activités ont été menées. Ce projet est nécessaire pour faire progresser la recherche scientifique aquatique en mettant en place un réseau cohérent d'infrastructures de mésocosmes interdisciplinaire et interopérable à travers toutes les écorégions d'Europe. Il y a 21 partenaires à travers 15 pays de l'Europe, dont l'unité MARBEC du CNRS et le centre HCMR.

AQUACOSM-plus développe de nouvelles capacités technologiques pour la recherche sur le mésocosme, afin d'exécuter efficacement des tests de scénarios pour les pressions liées au changement climatique sur les systèmes aquatiques, des eaux douces en amont à la mer. Ces développements comprennent des approches mobiles de mésocosme à grande échelle, des technologies d'imagerie de pointe et des méthodes abordables pour obtenir des données à haute fréquence sur les changements communautaires et les flux de gaz à effet de serre dans les environnements de mésocosme. Tout cela dans le but d'avoir une compréhension globale du fonctionnement des systèmes aquatiques (aquacoscsm-plus, 2020).

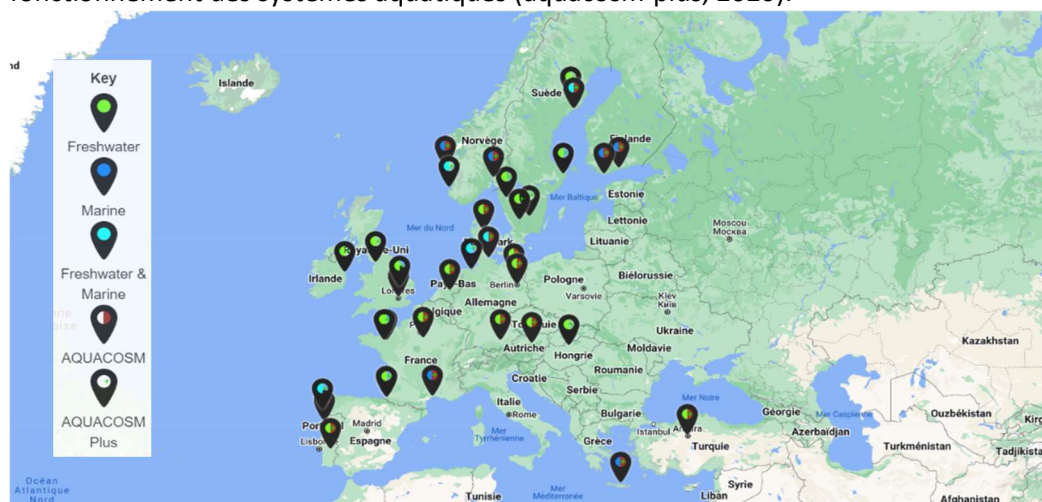


Figure 5 : Partenaires du projet AQUACOSM Plus (aquacoscsm.eu)

Ce stage s'inscrit dans le cadre du projet européen Horizon 2020 AQUACOSM-plus mais plus précisément, il fait partie plus précisément du projet AEROSea "Aerosols in the Sea: Manna from Heaven or a microbial colonization mechanism?".

L'objectif du projet AEROSea est d'étudier les effets des nutriments organiques et inorganiques dérivés d'aérosols ainsi que le devenir et les effets des microbes atmosphériques après un dépôt épisodique dans l'écosystème marin dit LNLC (low-nutrient low-chlorophyll), soit les régions à faible teneur en nutriments et chlorophylle, comme le cas le Méditerranée orientale ici.

Les travaux de recherches de ce projet sont axés autour de ces questions :

- L'écosystème marin est-il affecté après un fort événement de dépôt atmosphérique en termes de diversité microbienne et de structure de la communauté ?
- Comment l'ajout de nutriments organiques et inorganiques par l'atmosphère affecte-t-il l'écosystème marin ?
- Les microbes atmosphériques survivent-ils dans la mer ou servent-ils seulement de proies pour les niveaux trophiques supérieurs ? Et s'ils survivent, comment contribuent-ils au réseau alimentaire in-situ ?
- Après un fort événement de dépôt, la principale source de changement est-elle due à la chimie (ajout de nutriments), à la biologie (survie et activité des microbes atmosphériques) ou aux deux ?

Afin de répondre à ces questions, les biologistes marins du HCMR Crète, en collaboration avec des scientifiques de Grèce, d'Italie, d'Espagne, d'Autriche, de Norvège, de Suisse, de France et d'Argentine ont appliqués de nombreux tests différents. Comptage cellulaire (des virus aux copépodes) et diversité (via la métagénomique et l'identification phénotypique au microscope), production bactérienne, respiration, mesure du carbone total, particulaire et organique, nutriments inorganiques, concentration en chlorophylle, analyse photosynthétique des pigments, etc.

Pour ma part dans ce projet, mon but est d'évaluer les effets du dépôt d'aérosols sur la composition fonctionnelle du phytoplancton par l'analyse de biomarqueurs pigmentaires lors de cette expérience en mésocosme réalisée avec les communautés planctoniques naturelles de la mer de Crète.

### 1.3 Objectifs et déroulement du stage

Différentes missions m'ont été confiées au cours de ce stage. Cela m'a permis d'appréhender les différentes étapes d'un projet de recherche tout en y participant.

Le début de mon stage a été consacré à des études bibliographiques afin d'en apprendre plus sur les phytoplanctons, leurs pigments, les expériences en mésocosmes ; leur fonctionnement et les différentes étapes, mais également d'étudier des comptes rendus d'expériences similaires.

Ensuite, du 29 avril au 17 mai j'ai participé au projet HEATWAVES réalisé sur la lagune de Thau à Sète, afin d'évaluer les effets des vagues de chaleur successives sur la résistance, résilience et composition fonctionnelle des communautés phytoplanctoniques. Il s'agit d'une expérience en mésocosme *in situ* qui s'inscrit dans le cadre du projet européen Horizon 2020 AQUACOSM Plus.

J'ai appris les différentes étapes pour réaliser l'échantillonnage afin d'être compétente une fois que j'arrive en Crète pour réaliser la même chose mais dans des locaux/matériels/mésocosmes différents, car une fois là-bas, je vais devoir être autonome étant donné que je suis la seule personne de MARBEC à y aller. Pendant cet entraînement, avec une autre stagiaire, nous avons réalisé des filtrations pour l'analyse des pigments à l'HPLC, mais également pour les tests d'absorbance, de carbone organique particulaire, les matières en suspension et nous avons aussi fait les filtrations pour l'ADN.

Une fois cette première expérience terminée, du 20 mai au 10 juin j'ai participé à une autre expérience en mésocosme qui s'inscrit également dans le cadre du projet européen Horizon 2020 AQUACOSM Plus, le projet AEROSea. Cette fois-ci, cela se passait en Crète au sein du HCMR dans les locaux du CretaCosm. Dans le cadre de mon stage, je m'occupais seulement de la filtration des échantillons à analyser par HPLC. De plus, j'ai dû faire les filtrations pour un autre projet ; JERICO, qui avait lieu en parallèle de notre expérience, sur 2 mésocosmes. Finalement, j'avais la filtration des échantillons de 11 mésocosmes. Au total, il y avait 117 échantillons, 9 par jour pendant 11 jours (du J0 au J10) pour le projet AEROSea, et 2 par jour pendant pendant 9 jours (du J0 au J8) pour le projet JERICO.

Après la fin de cette expérience, je suis retournée à Montpellier dans les laboratoires de MARBEC où l'on m'a formé avec la machine HPLC en attendant de recevoir mes échantillons de Crète sous carboglace.

Quand j'ai reçu tous mes échantillons j'ai pu extraire les pigments, analyser les chromatogrammes, calculer les résultats et les interpréter, tout en les confrontant avec d'autres données issues de l'expérience.

Tout au long de ce stage, j'ai continué mes recherches bibliographiques et réaliser la rédaction du rapport final.



## 2. Etat de l'art

### 2.1 Le phytoplancton ; un rôle majeur dans les écosystèmes marins

Le plancton, du grec « planktos » signifiant « errant » a été défini en 1887 par le zoologiste allemand Victor Hensen en 1887. Il désigne l'ensemble des organismes qui flottent librement dans les eaux marines de surface et qui dérivent au gré des courants, leurs mouvements ne leur permettent pas de lutter contre ceux des masses d'eau les portants. C'est pour cette raison que la vie planctonique (croissance, reproduction, mortalité, etc.) et les interactions entre les organismes (compétition, mutualisme, prédation, etc.) est dirigé par paramètres physico-chimiques comme le mouvement des masses d'eau, la concentration en sels nutritifs ou matière organique, la température, la salinité ou la pénétration de la lumière. (Trombetta T. 2019)

Le plancton végétal, appelé phytoplancton, représente l'ensemble du plancton autotrophe. Il s'agit d'un producteur primaire, il réalise donc une photosynthèse afin de fabriquer de la matière organique et de l'oxygène en utilisant la lumière et en consommant du CO<sub>2</sub> et les sels nutritifs (azote, phosphore, potassium, fer, silice, etc.) contenus dans l'eau. (Ifremer, 2015)

L'apport de nutriments à l'océan se fait de plusieurs manières ; par l'atmosphère, les eaux des fleuves, par la diffusion à partir des eaux océaniques profondes très riches nutriments ou encore le transport direct de ces eaux vers la surface. (IPSL, 2012)

L'omniprésence des phytoplanctons dans les milieux marins permet au phytoplancton de participer à près de la moitié de la production primaire mondiale et pour 90% de celle des océans, alors qu'il représente seulement 1% de la biomasse des organismes photosynthétique du globe. (Trombetta T. 2019)

Le phytoplancton joue donc un rôle majeur dans les cycles biogéochimiques des éléments comme l'azote, le phosphore, la silice mais surtout pour le carbone, notamment dans l'assimilation du CO<sub>2</sub> et la séquestration sous forme carbonée dans les océans. Le phytoplancton représente alors un puit de carbone. Ainsi, les phytoplanctons peuvent réduire la concentration atmosphérique du gaz à effet de serre et permettent de réguler le climat à l'échelle mondiale. (Raven and Falkowski 1999)

De plus, ils produisent environ la moitié de l'oxygène de l'atmosphère terrestre, l'O<sub>2</sub> produit lors de la production primaire est libérée dans l'atmosphère et utilisé par les organismes terrestres.

Son rôle clé ne s'arrête pas là ; les communautés phytoplanctoniques représentent également le premier maillon des réseaux trophiques aquatiques. En effet, la production primaire phytoplanctonique est la source quasi exclusive de la matière organique à la base des chaînes alimentaires océaniques. Elle est toute aussi indispensable au développement des animaux marins que ne l'est la végétation continentale pour le développement des animaux terrestres. (Ifremer, 2018)

Les communautés phytoplanctoniques sont très diversifiées en termes de tailles et d'espèces. Comme tous les planctons, le phytoplancton est divisé en classes de tailles : le picophytoplancton (0.2-2µm), la nanophytoplancton (2-20µm) et le microphytoplancton (>20µm). (CNRS-Sorbonne, 2022) Aujourd'hui on estime environ plusieurs milliers d'espèces dont beaucoup ne sont pas encore identifiées. (De Varger C. et al., 2015)

Dans la mer Méditerranée, toutes les classes de phytoplanctons sont observées, cependant, dans le cadre de ce stage, 4 groupes de phytoplancton ont été étudiés. Il s'agit des Diatomées (Baccillariophyceae), des Dinoflagellés (Dinophyceae), des Coccolithophores (Prymnesiophyceae) et des Cyanobactéries (Cynophyceae). Chacun de ces groupes à ces propres caractéristiques et réagissent différemment au changement climatique.

## 2.2 Les aérosols ; une source de nutriments nécessaire pour la mer Méditerranée

Les aérosols atmosphériques sont de petites particules en suspension dans l'atmosphère autres que les gouttelettes et les cristaux des nuages. (Demoisson A., 2014)

Ces particules sont très différentes en termes de nature, forme, nombre ou taille. Elles évoluent dans l'environnement gazeux et peuvent se transformer, être transportées ou encore se déposer, ces processus dépendent de leurs caractéristiques et des conditions environnementales. (Demoisson A., 2014)

Ils sont très importants pour les cycles biogéochimiques dans l'océan et font partie intégrante du système terre-atmosphère-océan.

L'origine des aérosols que l'on retrouve dans l'atmosphère est très diverse ; les sources naturelles (sels marins, poussières désertiques, composés chimiques émis par la biosphère, volcans) représentent 75% des aérosols atmosphériques, et les sources anthropiques (pollution, conversion gaz-particules (substances carbonées, organiques, sulfates, nitrates), feux de forêts) représentent le reste. (Tsagaraki, T. M., 2017) Le désert du Sahara est la principale source d'aérosols naturels (poussière minérale) en contribuant à 55% des émissions mondiales. (Tsagaraki, T. M., 2017)

Ces particules retombent à la surface de la mer soit par gravité ou alors en étant entraînées par des gouttes de pluie. Elles se dissolvent ainsi totalement ou partiellement en modifiant la composition chimique de l'eau de mer. (INSU, 2021)

La mer Méditerranée est un bassin quasi fermé et entourée par trois continents contrastés, elle est située dans ce qu'on appelle la ceinture de poussière (Astitha et al., 2012), elle est considérée comme extrêmement oligotrophe. Chaque année, la Méditerranée reçoit des centaines de milliers de tonnes d'aérosols, en particulier au large, là où les apports par les rivières n'arrivent pas.

Cependant, en été, le réchauffement des eaux de surface les isole des eaux plus profondes et ainsi, la surface de la mer Méditerranée se vide naturellement en phosphore et en azote dissous. Ces deux nutriments sont néanmoins essentiels pour la croissance par photosynthèse des phytoplanctons, eux-mêmes à la base de la chaîne alimentaire marine. (INSU, 2021)

La Crète est une grande île de la Méditerranée orientale, l'eau de la mer est très transparente, presque incolore. En effet, la Méditerranée orientale, dont la mer de Crète, est l'une des zones marines les plus oligotrophe au monde, sinon la plus oligotrophe. (Krom M., 2021)

Il s'agit d'une région qui est définie comme étant pauvre en nutriments et en chlorophylle (LNLC : low chlorophyll, low nutrients) et où l'on pense que la productivité biologique est limitée par le phosphore (P).

Des observations et expériences (*in situ* et laboratoire) ont montré que le dépôt d'aérosols pouvait entraîner une augmentation de la quantité de nutriments disponible pour ces zones appauvries et ainsi favoriser la production biologique de la mer Méditerranée. (Richon C., 2017)

En effet, le dépôt d'aérosols stimule la productivité primaire et secondaire et affecte la fonction et la diversité de l'écosystème, depuis les bactéries et le phytoplancton jusqu'au zooplancton.

La mer de Crète est faible en nutriments et les apports atmosphériques, qu'ils soient naturels ou pollués, représentent une source importante de nutriments externes. Ces nutriments proviennent essentiellement du désert du Sahara, qui se trouve à proximité de la Crète, mais également des apports atmosphériques anthropiques majeur de l'Europe, au nord de la Méditerranée. Il a été estimé que ces

aérosols représentent 60% de l'apport extérieur total d'azote et 30% de l'apport de phosphate dans la mer Méditerranée orientale (Krom M., 2021).

Le désert du Sahara serait responsable de l'augmentation de certains nutriments, en effet, les poussières minérales augmentent les concentrations de Fe dissous (en empêchant alors la limitation du Fe dans les eaux de surface) et sont la source principale de phosphore.

Tandis que les sources anthropiques seraient la principale source d'azote atmosphérique en Méditerranée orientale (Myriokefalitakis et al., 2015), néanmoins, on peut retrouver d'autres composés liés à l'activité qui peuvent parfois être toxiques.

## 2.3 Changement climatique : le devenir des aérosols

Le changement climatique désigne l'ensemble des variations à long terme de la température et des modèles météorologiques.

Depuis les années 1800, les activités humaines sont la principale cause de ces changements, essentiellement en raison de la combustion des combustibles fossiles tels que le charbon, le pétrole et le gaz (United Nations, 2021).

Le changement climatique est global mais il touche de manière différenciée les différentes régions et espaces du monde (montagne, villes, côtes, etc.).

Le littoral change énormément et l'anthropisation de plus en plus importante sur les littoraux en est la cause. Cela provoque de nombreux impacts directs (eutrophisation, pollution des écosystèmes, etc.) et indirects (érosion, submersion marine, etc.) (Conservatoire du littoral, 2018).

La région de la mer Méditerranée orientale a été identifiée comme un point chaud du changement climatique qui montre une diminution des précipitations et une augmentation de la température et du nombre de jours exceptionnellement chauds (Herut, B., 2016)

Au cours de la dernière décennie, l'augmentation des températures et la diminution de l'humidité relative ont favorisé le séchage des sols en entraînant alors une augmentation des émissions de poussière dans la mer.

Bien que ces événements individuels soient généralement de courte durée, les simulations pour les prochaines décennies montrent que ce processus devrait voir sa fréquence des dépôts et son ampleur dans la région augmenter. Cela peut alors entraîner des changements plus persistants dans la structure de la communauté planctonique. Ces événements peuvent fournir plus de macro et micro-nutriments dans les eaux oligotrophes de surface (Herut, B., 2016). De plus, avec l'augmentation des températures des eaux de surface en été, la production biologique sera de plus en plus dépendante du dépôt d'aérosols. (INSU, 2021)

## 3. Matériels et méthodes

### 3.1 Expérience en mésocosme

#### 3.1.1 Site d'étude

Une expérience de mésocosme d'enrichissement en aérosol a été réalisée dans les installations CretaCosmos du Centre hellénique de recherche marine (HCMR) en Crète, en Grèce, du 20 mai au 10 juin 2022. Il s'agit du seul endroit en Europe où des conditions marines véritablement oligotrophes peuvent être étudiées dans une installation de mésocosme contrôlée (figure 6). (Cretacosmos, 2020)



Figure 6 : Site d'étude de l'expérience

### 3.1.2 Mise en place de l'expérience



Figure 7 : mésocosmes dans le bassin

Les mésocosmes sont des « enceintes expérimentales de grand volume > 1m<sup>3</sup>, permettant de réaliser des expérimentations avec la possibilité de manipuler et contrôler les forçages environnementaux (UVB, température, CO<sub>2</sub>, etc.) afin d'étudier, quantifier et qualifier l'impact de forçages naturels (réchauffement climatique) et anthropiques (pollution, tourisme, ...) sur le fonctionnement des écosystèmes marins côtiers (production, diversité, flux de matière, résistance, résilience, etc.) » (MEDIMEER, 2021)

L'installation est composée d'un bassin de 350m<sup>3</sup> en béton terrestre, de 5 m de profondeur, alimenté en eau de mer continue afin de maintenir la température ambiante de l'eau de surface.

Dans le cadre de notre expérience, on y trouve 11 mésocosmes (9 pour le projet AEROSea, 2 pour le projet JERICO).

#### 3.1.2.1 Nettoyage et préparation du matériel

Afin d'éviter toute contamination (notamment, quand on se trouve dans les zones oligotrophes), tous les équipements et pièces doivent être nettoyés. Cela concerne donc tous les équipements qui servent au remplissage des mésocosmes (réservoirs, tuyaux, etc.), les couvercles des mésocosmes, les bombonnes pour l'échantillonnage, etc.

Le nettoyage se fait en plusieurs étapes :

- Rinçage avec du HCl à 5%.
- Rinçage à l'eau distillée (3x)
- Emballage soigneux jusqu'à l'utilisation dans des sacs en plastiques noirs.

L'utilisation de gants est indispensable afin d'éviter toute contamination du matériel mais également pour se protéger de l'acide.

L'ensemble du matériel qui servira au stockage de l'eau des mésocosmes pendant le traitement doit être étiqueté de la même façon en respectant ce code couleur :

**C: Control**

**UA: Urban Aerosol**

**RA: Rural Aerosol**

**JC: Jerico Control**

**JA: Jerico Aerosol**

### 3.1.2.2 Conception des mésocosmes

Les mésocosmes ont été préparés à partir de sacs en film de polyéthylène transparent basse densité (comme ceux utilisés dans les serres) de 1,32m de diamètre et renferment 3 m<sup>3</sup> d'eau.

L'utilisation d'un tel matériau est idéale car il est transparent à la lumière dans toute la colonne d'eau, il a relativement une bonne résistance mécanique (200µm d'épaisseur de matériau), il est facile à installer et il ne nécessite pas de nettoyage donc c'est un gain de temps. Il est également résistant au chlore (150ppm) et il s'adapte au volume nécessaire pour le mésocosme en fonction des besoins et des conditions expérimentales.

Il y a cependant quelques désavantages, ce matériau est assez fragile, il faut alors une attention particulière pour ne pas le casser, et il peut également être délicat pour certains contacts avec des produits chimiques dû à son absorbance.

La création des mésocosmes s'est faite en différentes étapes.

Il faut dans un premier temps couper le film de polyéthylène dans la taille demandée, dans des conditions propres, la partie intérieure du mésocosme doit rester pliée afin d'être protégée de la poussière. Les mésocosmes coupés, il faut ensuite les monter sur des cadres en aluminium fixés aux parois de la piscine.

Les mésocosmes ont été recouverts d'un couvercle à deux couches (PVC et maille de nylon) afin de les protéger des dépôts naturels d'aérosols atmosphériques indésirables supplémentaires pendant l'expérience et d'imiter les conditions de lumière jusqu'à une profondeur d'eau de 10 m (conditions d'échantillonnage *in situ*). (Tsagaraki, T. M., 2017)

### 3.1.2.3 Collecte de l'eau expérimentale



Figure 8: récupération de l'eau de mer à 200m de la côte

L'expérience a été réalisée en utilisant de l'eau de mer côtière de surface qui a été recueillie à l'aide d'une pompe située sur un zodiac gonflable (à 200m de la côte).

L'eau pompée était envoyée dans des grands réservoirs posés sur un camion, via un tuyau provenant du zodiac. Cette eau était ensuite acheminée vers le lieu des mésocosmes pour pouvoir les remplir.

### 3.1.2.4 Remplissage des mésocosmes

Afin de remplir les mésocosmes, il a fallu construire une « tour » où sont posés les réservoirs afin de permettre un écoulement naturel de l'eau, par gravité.

Le but principal du remplissage est de remplir les mésocosmes avec la même eau et la même quantité de 3m<sup>3</sup>. Des hydromètres sont utilisés pour enregistrer le volume d'eau ajouté. L'homogénéité lors du remplissage a été assurée par la distribution d'eau répartie également dans chaque sac en utilisant des intervalles chronométrés afin d'atteindre les 3m<sup>3</sup>.



Cette étape longue est pourtant nécessaire afin d'assurer l'homogénéité de l'eau de mer recueillie entre les sacs. Elle a été réalisée sur deux jours, le 28 et 29 mai 2022.

Une fois remplis, les mésocosmes ont été recouverts par leur couvercle puis laissés reposer la nuit avant le début des traitements.

Cependant, lors du remplissage, il y a eu une tempête de poussière, donc des éléments sont rentrés dans l'eau des mésocosmes.



Figure 9 : Tour pour faire transiter l'eau par gravité



Figure 10 : Remplissage des mésocosmes

### 3.1.2.5 Collecte des aérosols

Au cours de cette expérience, deux types d'aérosols ont été utilisés, les « vivants » et les « poussières ».

Dans un premier temps, les aérosols de poussière ont été collectés sur des surfaces extérieures pré-nettoyées dans le centre-ville d'Héraklion, pendant une tempête de poussière, trois semaines avant le début de l'expérience et ont été stockés dans des flacons stériles à 4°C.



Figure 11 : Aérosols de poussière

Ensuite, les aérosols atmosphériques « vivants » ont été collectés dans des conditions atmosphériques sèches (c.-à-d. sans pluie). Un instrument nommé Coriolis et deux dispositifs d'aérosols Hi-Vol ont été utilisés.

Les aérosols urbains ont été collectés près du centre-ville d'Héraklion, sur le campus de l'université de Crète.

Les aérosols ruraux ont été collectés dans le village d'Orinon en Crète orientale. Il s'agit d'un village isolé en montagne à 700m d'altitude entouré d'oliveraies et de forêts de pins.

Les collecteurs à haut vol ont été utilisés en permanence pendant une période de 10 jours à un débit de 180m<sup>3</sup>/hr.

Les échantillons d'aérosols ont été collectés dans des filtres en polycarbonate PM10.

Le collecteur Coriolis a été utilisé par intervalles de 5 heures sur les sites ruraux et urbains à un débit constant de 20m<sup>3</sup>/hr.

Les particules d'aérosol et les microbes (jusqu'à 0,4µm de diamètre) provenant du Coriolis ont été piégés dans des WFI stériles de qualité médicale.

Tous les échantillons, ont été ouverts et mélangés dans des conditions stériles, à l'intérieur d'une hotte à flux laminaire. Les échantillons d'aérosols de chaque site ont été mélangés dans des bouteilles Dural de 500 ml autoclavées et nettoyées à l'acide (10 % HCl) avec 200 ml d'eau stérile de qualité médicale, et incubés à 4 °C/160 tr/min pendant 12 heures avant d'être ajoutés aux mésocosmes.

Les aérosols ont été ajoutés sous forme de doses uniques et les récipients ont été agités afin d'homogénéiser la distribution des particules. Ils seront ensuite ajoutés aux mésocosmes adaptés.

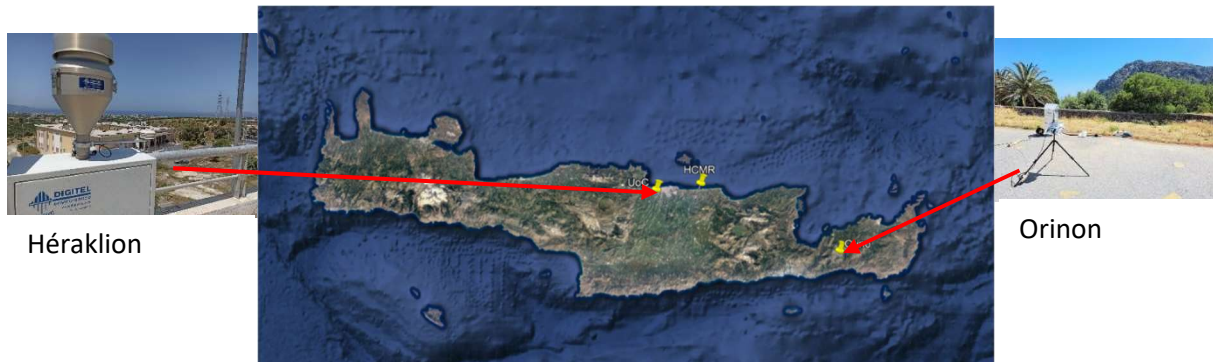


Figure 12 : Lieu de récolte des aérosols

Le choix de l'addition des poussières et des aérosols « vivants » permet d'envisager le plus de cas possible.

L'ajout d'aérosols « vivants » représente un événement constant mais en faible quantité. Tandis que l'ajout d'aérosols issus de tempête représente un événement ponctuel mais extrême.

Les fortes tempêtes sont de plus en plus attendues en raison du changement climatique. Lors de ces tempêtes, les particules d'aérosols qui aboutissent dans la mer peuvent provenir de différentes destinations en fonction des vents. Ainsi, s'il y a beaucoup de vents du sud, il y aura beaucoup de poussière, et si ça vient du nord ou de l'ouest, ce sera d'autres poussières de composition différente.

### 3.1.3 Ajout d'aérosols

#### Traitement des mésocosmes

Au cours de cette expérience AEROSea, trois mésocosmes sont utilisés comme témoin (sans ajout) et 6 autres comme traitement d'ajout d'aérosol (2 traitements avec 3 mésocosmes répliqués). Soit un total de 9 mésocosmes (plus deux autres pour le projet JERICO°), disposé après réflexion (figure 13).

Le jour 0 de l'expérience sert de conditions de référence des mésocosmes, car l'échantillonnage de ce groupe s'est fait avant de commencer tout traitement.

Le premier traitement était à blanc, il s'agissait d'un témoin nommé « Contrôle (C) ». Les mésocosmes avec ce traitement n'ont subi aucun changement du début à la fin de l'expérience, aucune particule n'ont été rajoutées. Ils ont été nommés : C1, C2 et C3

Le deuxième traitement est appelé « Urban Aerosol ». Les aérosols collectés sur le toit de l'université de Heraklion ont été ajoutés à ces mésocosmes UA1, UA2 et UA3.

- Jour 0 : après 48h de collecte
- Jour 2 : après 48h de collecte
- Jour 4 : après 48h de collecte

Le troisième traitement est appelé « Rural Aerosol ». Les aérosols collectés sur le parking du village d'Orino ont été ajoutés à ces mésocosmes RA1, RA2 et RA3.

- Jour 0 : après 72h de collecte
- Jour 2 : après 48h de collecte

- Jour 4 : après 48h de collecte

L'ajout des aérosols se faisait à 15h dans la journée, après l'échantillonnage du jour en question.

En parallèle, des échantillons de tempête de poussières ont été ajoutés aux mésocosmes avec les traitements d'aérosols.

Le jour 3, il s'agissait d'un échantillon de tempête de poussière moyenne. Le jour 5, il s'agissait d'un échantillon de tempête de poussière majeure.

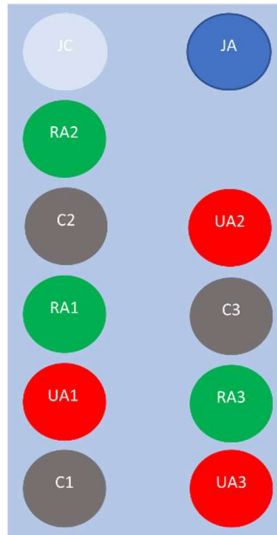


Figure 13 : Disposition des mésocosmes



Figure 14 : Echantillons d'aérosols de poussière

### 3.1.4 Echantillonnage

Chaque mésocosme a été échantillonné quotidiennement le matin (8h00) du 30 mai au 10 juin 2022. Les prélèvements ont été faits avec un tube préinstallé à l'intérieur qui permet de limiter toute contamination avec l'extérieur et l'eau était stockée dans des bonbonnes de 10L en polycarbonates rincées préalablement. En attendant la fin de l'échantillonnage, afin d'éviter toute photodégradation des pigments, les bonbonnes étaient recouvertes d'un sac plastique noir.

Des sous-échantillons ont ensuite été prélevés à partir de cette bonbonne en la mélangeant au préalable. Pour mon cas, j'ai utilisé des bouteilles de 2,860L en verre opaque afin d'éviter encore une fois la photodégradation. Ces bouteilles ont été étiquetées en respectant le nom et le code couleur dédié à chaque mésocosme et son traitement.



Figure 16 : Dispositif pour récupérer l'eau dans le mésocosme



Figure 15 : Echantillonnage dans les mésocosmes



## 3.2 Traitement des échantillons

### 3.2.1 Filtration



Figure 17 : Système de rampe de filtration

Afin d'analyser les pigments des phytoplanctons, les échantillons d'eau (maximum 2860mL) ont été filtrés sur un filtre GF/F (Whatman™) en fibre de verre de diamètre 25 mm et de porosité nominale 0,7  $\mu\text{m}$  à l'aide d'un système de rampes de filtration (6 positions différentes) avec une pompe à vide de faible pression (200 mbar maximum)

Après la filtration, le filtre est plié soigneusement sans toucher la matière filtrée, avec l'aide de pinces et placé dans un cryotube et ensuite, ils sont stockés dans de l'azote liquide jusqu'à la fin de l'expérience en Crète.

L'analyse des échantillons se faisant par HPLC sur le site de Montpellier, il a fallu envoyer les échantillons dans de la carboglace depuis la Crète, afin qu'ils restent congelés durant tout le trajet. Une fois arrivé au laboratoire à Montpellier, les échantillons ont été conservés dans un congélateur à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'à l'analyse par HPLC.

La quantité d'eau filtrée dépend de la concentration en pigment dans l'eau de mer et du temps que la filtration prend. Plus la concentration est importante, plus la filtration sera lente et le filtre peut même en être saturé, on décide donc d'arrêter d'essayer de filtrer le reste de l'eau après quelques heures de filtration. ). Différents volumes ont été relevés et noté (annexe 3).



Figure 18 : filtre après la filtration de l'eau

### 3.2.2 Extraction

L'extraction des pigments se fait à partir des filtres obtenus lors de la filtration vu précédemment. Les filtres sont déposés dans des tubes avec 2mL de méthanol à 95% et placés pendant 1h dans un congélateur à  $-20^{\circ}\text{C}$ . Ensuite, les échantillons sont broyés à l'aide d'un sonicateur à une fréquence de 100 Hz puis placés dans un réfrigérateur à  $4^{\circ}\text{C}$  pendant 1h. Lors de cette étape, le broyage ne doit pas dépasser les 25 secondes au risque de dégrader les pigments par la chaleur émise. Pour finir, les broyats sont filtrés sur des filtres GF/F (Whatman™) à l'aide d'un système multiple à vide où l'on récupère le filtrat qu'on analysera directement par HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance)

### 3.2.3 Analyse des pigments

Les pigments sont analysés par Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance (abréviation anglaise utilisée : HPLC) avec une chaîne HPLC Shimadzu série 40 selon la méthode Zapata et al, 2000 avec des adaptations liées à l'HPLC utilisée.

Le système est composé d'une pompe (LC-40D) équipée d'une boucle d'injection de 500  $\mu\text{L}$ , d'une unité de dégazage (GGU-405), d'un injecteur réfrigéré à  $4^{\circ}\text{C}$  (SIL- 40C), d'un détecteur à matrice de photodiodes mesurant l'absorption entre 200 et 800 nm (SPD -M40) et d'un fluorimètre (RF-20A).



Figure 19 : machine HPLC

La méthode Zapata et al., 2000 permet de séparer simultanément les pigments chlorophylles et caroténoïdes issus des phytoplanctons grâce à l'utilisation d'une colonne RP-C8 (150 x 4,6mm, taille de particule 3,5 um, taille de pore A, Sunfire Waters) thermostatée à 25°C et de phases mobiles nommées "éluant A" (Méthanol : Acétonitrile : Pyridine aqueuse, 50 :25 :25) et "éluant B" (Méthanol : Acétonitrile : Acétone, 20: 60 :20) (Annexe 1) Pour chaque échantillon, on prélève 500 µl à l'aide d'une micropipette et on les dépose dans des vials. Avant l'injection, l'échantillon est mélangé avec de l'eau ultrapure (eau MiliQ), soit 166,7 µL de l'échantillon et 33.3 µL d'eau ultrapure.

Des chromatogrammes sont donc obtenus et visualisés avec le logiciel LabSolutions (figure 20).

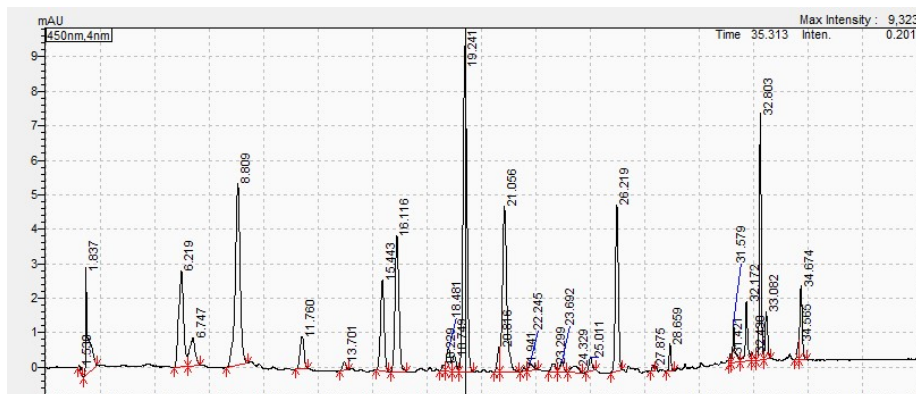


Figure 20 : Chromatogramme d'un échantillon

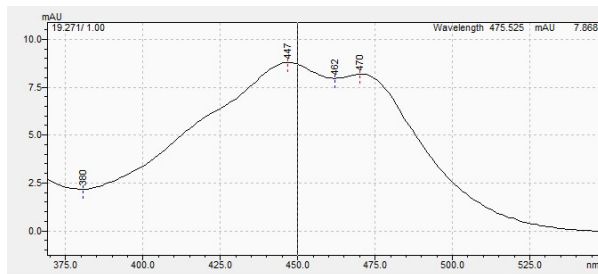


Figure 21 : Spectre du pigment zéaxanthine d'un échantillon

Les pigments sont identifiés en fonction du temps de rétention associé à leur pic sur les chromatogrammes extraits à 450nm, à l'aide de la table d'identification Zapata et al., 2000 (Annexe 2). Ils sont également identifiés à partir des caractéristiques de leur spectres d'absorbance visualisables avec le logiciel LabSolutions (figure 21), répertoriés dans les ouvrages de Suzanne Roy et al., 2011 et Jeffrey et al., 1997.

Une fois le pigment identifié, la concentration est calculée à partir des aires sous la courbe du pic du pigment et des standards (pigment de concentration connue analysés par HPLC dans les mêmes conditions que les échantillons). Les standards ont été passés à trois concentrations différentes afin d'obtenir le coefficient d'étalonnage à utiliser. L'HPLC a été calibrée avec des standards commerciaux (DHI).

Ainsi, la concentration de chaque pigment est obtenue par cette formule :

$$[\text{Pigment}] = \frac{\text{Coeff}_{\text{Standard}} \times (\text{Aire}_{\text{Pic}} \times 1000) \times V_{\text{extrait}}}{V_{\text{filtré}} \times 10^{-3}}$$

- Coeff<sub>Standard</sub> : coefficient de corrélation entre l'aire du pic et la concentration du pigment (µg.L<sup>-1</sup>)
- V<sub>extrait</sub> : volume extrait avec le méthanol, soit 2,2.10<sup>-3</sup> mL
- V<sub>filtré</sub> : volume d'eau filtré (annexe 3)

La concentration des pigments phytoplanctoniques est utilisée comme biomarqueur taxonomique (Vidussi et al 2000, Deninger et al 2016).

Les pigments ne sont pas forcément représentatifs d'un seul groupe taxonomique en particulier, en revanche ils peuvent être majoritaire ou secondaire dans un groupe. On utilise donc les concentrations des pigments pour caractériser le groupe dans lequel le pigment est dominant.

Dans le cadre de notre expérience, les chromatogrammes ont révélé la présence de 26 pigments différents (annexe 4) dont 3 inconnus.

Nous avons donc associé nos pigments majoritaires aux différents groupes de phytoplanctons (tableau 1).

Les pigments majoritaires, avec les concentrations les plus élevés sont la 19'-hexanoyloxyfucoxanthine, la fucoxanthine et la diadinoxanthine.

Certains pigments retrouvés caractérisent la photoacclimation, comme la  $\beta,\beta$ -Carotène ou la diadinoxanthine, ce qui permet d'évaluer l'adaptation de la communauté phytoplanctonique aux conditions de luminosité élevée et le pigment diadino pour les conditions de luminosité faible (Deininger et al., 2016).

*Tableau 1 : Groupes de phytoplanctons et leur(s) pigment(s) associé(s)*

Groupe de phytoplancton	Pigment(s) associé(s)
Bacillariophyceae (Diatomées)	Fucoxanthine Chlorophylle - c2 (chl-c2) Chlorophylle - c3 (chl-c3)
Dinophyceae (Dinoflagellés)	Péridinine Dinoxanthine
Prymnesiophyceae (Coccolithophores)	19' - hexanoyloxyfucoxanthine Chlorophylle - c3 (chl-c3)
Cynophyceae (Cyanobactéries)	Zéaxanthine

### 3.2.4 Analyses statistiques

Afin de tester l'effet des aérosols sur les concentrations des pigments phytoplanctoniques, une analyse de la variance à mesures répétées, RM-ANOVA, a été utilisée. Le seuil de significativité a été fixé pour une p-value = 0,05.

Cependant, les hypothèses de normalité et d'homoscédasticité n'ont pas pu être vérifiées malgré plusieurs tentatives. Un test non-paramétrique de Kruskal Wallis a donc été effectué. On cherche à savoir s'il y a des différences significatives sur les concentrations des pigments dans les différents mésocosmes.

Les valeurs utilisées correspondent aux moyennes de C1, C2 et C3 pour le contrôle ; de UA1, UA2 et UA3 pour le traitement urbain et enfin de RA1, RA2 et RA3 pour le traitement rural.

Suite à des difficultés rencontrées avec le logiciel R et l'impossibilité de traiter les données, les analyses statistiques ont été réalisées avec XLStat. Cependant, par manque de temps, elles n'ont pas pu être finies et ne se trouvent donc pas dans ce rapport.

## 4. Résultats

Au cours de cette expérience, les ajouts des différents aérosols ont été réalisés sur plusieurs jours. Tous ont été faits après l'échantillonnage du jour, et à 15h (figure 22)

Les aérosols de poussière issus d'une tempête ont été ajouté au jour 3 et 5 dans l'ensemble des mésocosmes avec le traitement urbain et rural.

Les aérosols urbains et ruraux ont été ajouté au jour 0, 2 et 4 respectivement aux mésocosmes qui ont ces traitements.

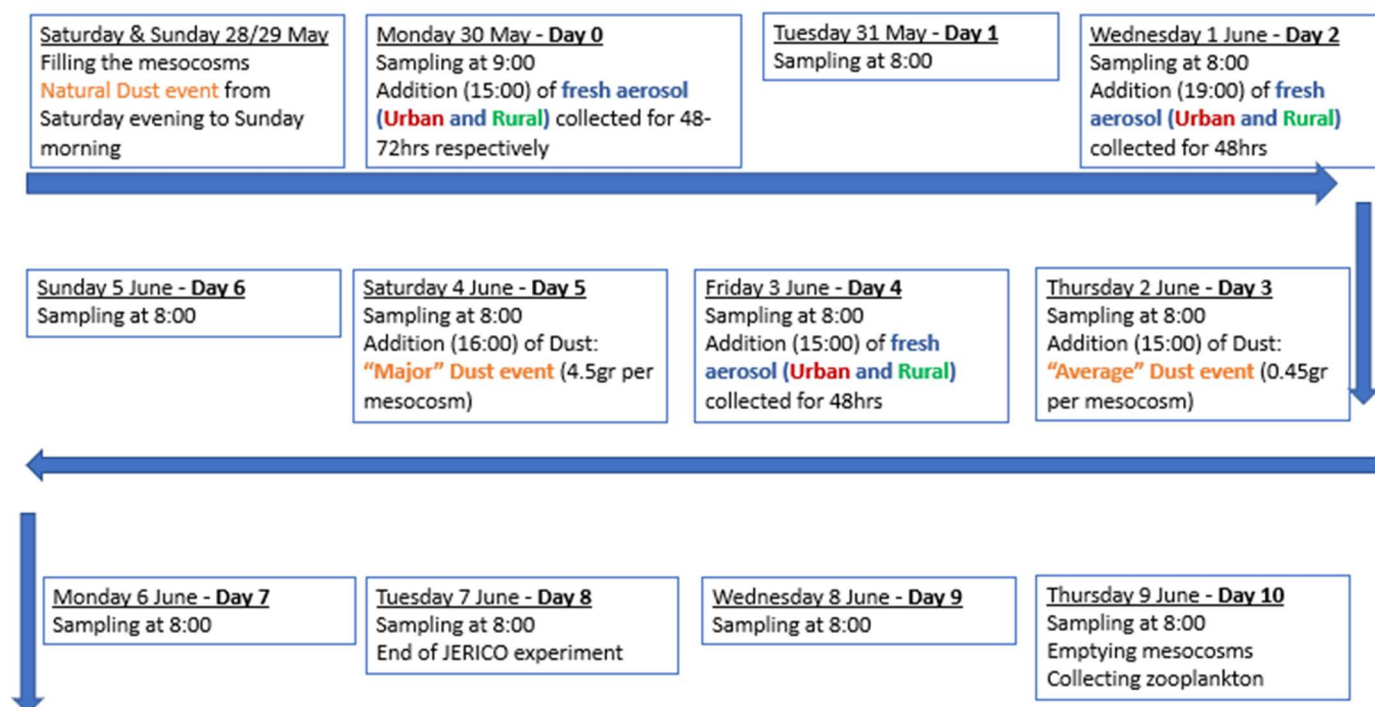


Figure 22 : Planning de l'expérience

Dans un premier temps, nous allons observer la concentration des nutriments dans les mésocosmes du jour 0 au jour 8. Ces graphiques ont été réalisé par les chercheurs présent lors de l'expérience en mésocosme, ils ne sont pas finis et n'ont pas les écart types, mais ils sont tout de même exploitables.

L'ensemble des graphiques qui vont suivre sont composés de la même légende, qui correspond au traitement du mésocosme :

- Contrôle C
- Aérosols urbains UA
- Aérosols ruraux RA

L'axe des abscisses est composé d'une légende qui montre le jour des ajouts.

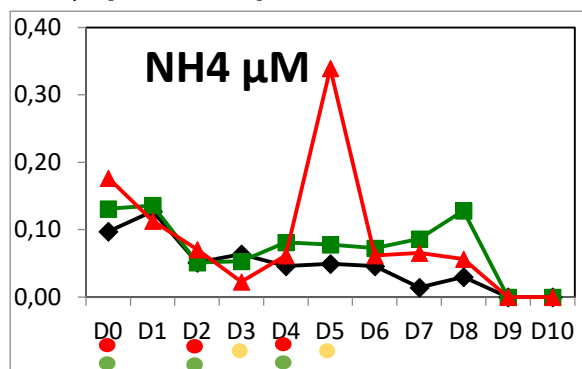
- Ajout d'aérosols urbains dans les mésocosmes adaptés (UA1, UA2, UA3)
- Ajout d'aérosols ruraux dans les mésocosmes adaptés (RA1, RA2, RA3)
- Ajout de poussières issus d'une tempête dans tous les mésocosmes avec traitement

Chaque mésocosme ayant 3 réplicas, les courbes correspondent à la moyenne des réplicas de chaque traitement, par jour, par exemple ; la moyenne de C1, C2 et C3 nous donne les valeurs de la courbe C.

Suite à certains soucis techniques, les analyses statistiques ne sont pas finies, elles n'ont donc pas été intégrées dans ce rapport. Cependant, elles seront nécessaires plus tard afin de mettre en commun l'ensemble des réponses obtenus au cours de cette expériences avec les chercheurs qui ont participé.

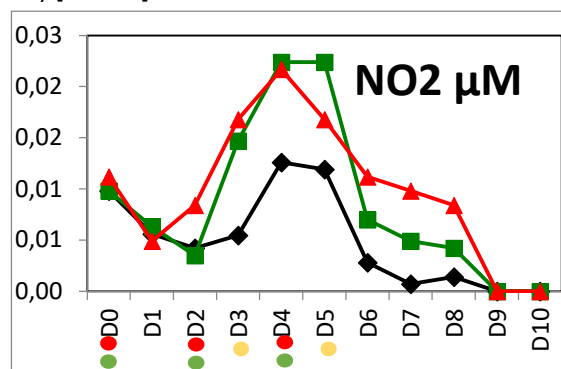
Figure 23: Concentration des nutriments dans les mésocosmes

a) [Ammonium]



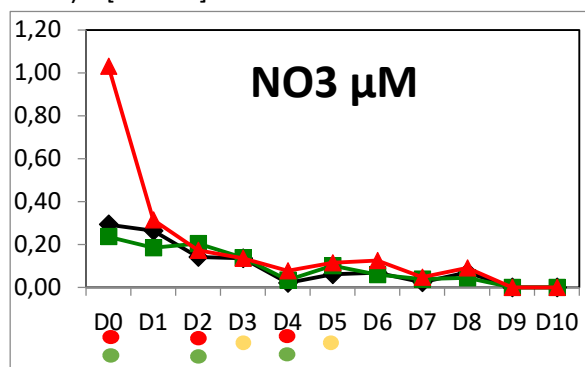
Effet positif pour les mésocosmes UA au jour 5 et RA à partir du jour 4.

b) [Nitrite]



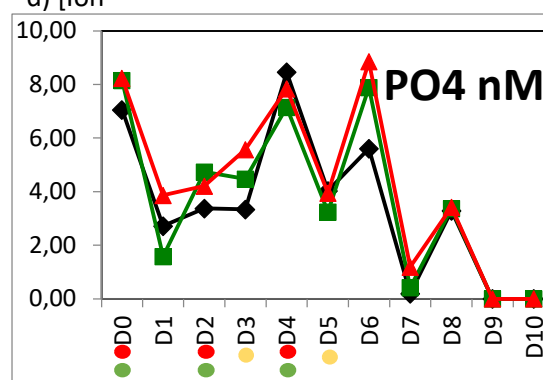
Effet positif pour les mésocosmes UA et RA dès le jour 3, avec des concentrations significativement plus élevées que celles du contrôle.

c) [Nitrate]



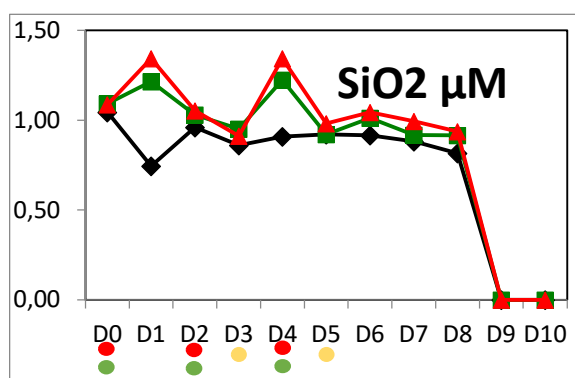
Aucun effet sur les nitrates.

d) [Ion



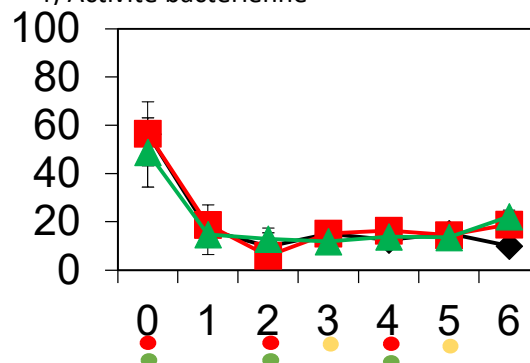
Effet positif pour les mésocosmes UA et RA du jour 2 au jour 4 puis au jour 7.

e) [Dioxyde de silicium]

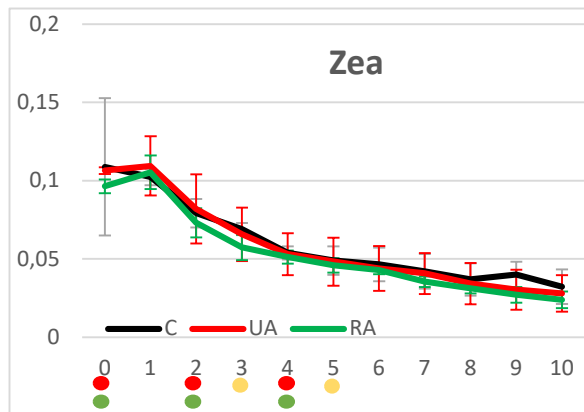


Effet positif pour les 2 traitements au jour 1 et 4. Le jour 7 semble être une erreur, il a été spécifié de ne pas la prendre en compte avant toute vérification.

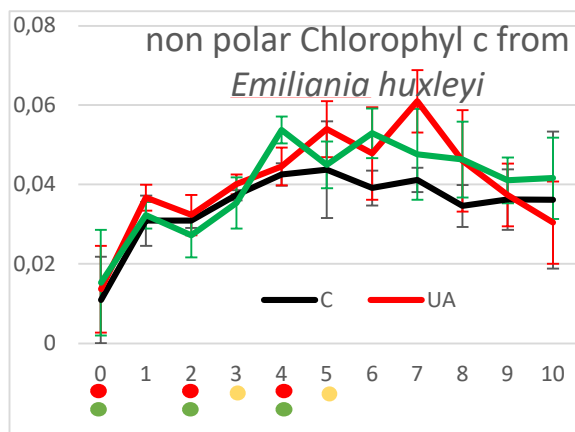
f) Activité bactérienne



Seulement les 6 premiers jours ont été analysés et on observe aucun effet sur l'activité bactérienne. En revanche, au jour 6, il y a un effet positif pour les traitements UA et RA, les aérosols commencent à agir.



La zéaxanthine est un pigment caractéristique des cyanobactéries. Il s'agit d'un pigment majoritaire dans les mésocosmes au début de l'expérience. Aucun effet positif ou négatif entre les mésocosmes avec traitement et les mésocosmes de contrôle n'est observé. On remarque que la concentration diminue en passant de  $0,1 \pm 0,01 \mu\text{g. L}^{-1}$  à  $0,025 \pm 0,01 \mu\text{g. L}^{-1}$ .

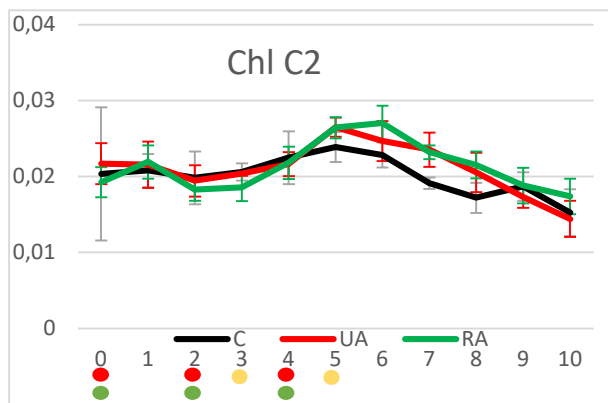
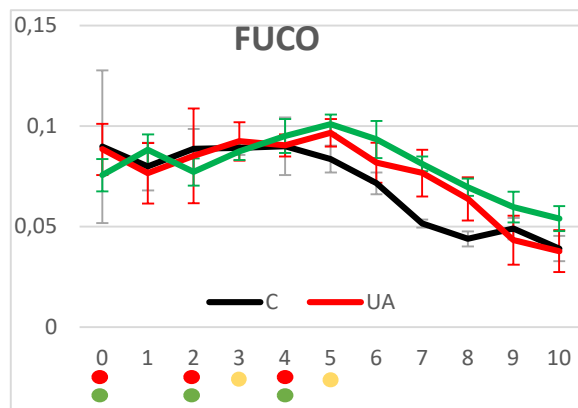


*Emiliana huxleyi* fait partie du groupe des coccolithophores. Les variations sont ponctuelles. Pour le traitement Urbain, les concentrations suivent les mêmes tendances que celles des contrôles, néanmoins, au jour 5 et 7 surtout les concentrations du traitement UA sont plus importantes que celles du contrôle.

Par exemple, pour le jour 7 :

$0,61 \pm 0,008 \mu\text{g. L}^{-1}$  pour le traitement urbain contre  $0,41 \pm 0,00 \mu\text{g. L}^{-1}$  pour le contrôle, une différence de  $0,2 \mu\text{g. L}^{-1}$  qui n'est pas négligeable au vu des faibles concentrations.

Pour le traitement Rural, du jour 5 au jour 9, les concentrations suivent des tendances inverses du contrôle.



La Fucoxanthine et la Chl c2 sont représentatifs du groupe de phytoplancton des diatomées.

On remarque un effet positif à partir du J5 pour les mésocosmes avec traitement (urbain et rural).

Dans le cas de la fucoxanthine, qui est un pigment majoritaire, on observe que le mésocosme contrôle et traitement urbain sont quasiment identiques du jour 0 ( $0,089 \pm 0,02 \mu\text{g. L}^{-1}$ ) au jour 4 ( $0,09 \pm 0,008 \mu\text{g. L}^{-1}$ ) et les concentrations restent stables sur ces premiers jours.

A partir du jour 4 jusqu'au jour 10, la concentration du contrôle diminue en passant de  $0,089 \pm 0,014 \mu\text{g. L}^{-1}$  à  $0,039 \pm 0,006 \mu\text{g. L}^{-1}$ .

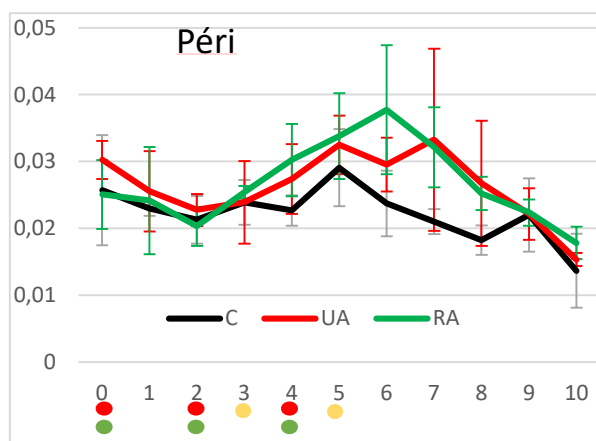
Tandis que la concentration des mésocosmes avec traitement (urbain et rural) augmente entre le jour 4 et 5 (environ  $0,1 \pm 0,007 \mu\text{g. L}^{-1}$ ), avant de diminuer jusqu'au jour 10 à  $0,05 \pm 0,006 \mu\text{g. L}^{-1}$  pour le



traitement rural et à  $0,039 \pm 0,01 \mu\text{g. L}^{-1}$  pour le traitement urbain. En revanche, les concentrations restent significativement plus importantes que le contrôle du jour 5 au jour 9.

Pour la chlorophylle c2, on obtient environ les mêmes tendances. Du jour 0 au jour 4, les concentrations dans tous les mésocosmes sont identiques et relativement stables (environ  $0,020 \pm 0,002 \mu\text{g. L}^{-1}$ ). A partir du jour 5, les concentrations des mésocosmes avec traitement (rural et urbain) sont significativement plus élevées que celles du contrôle, soit  $0,026 \pm 0,0015 \mu\text{g. L}^{-1}$ . Ensuite, les concentrations diminuent jusqu'au jour 10 mais c'est au jour 9 que tous les mésocosmes (contrôle et traitement) ont les mêmes concentrations d'environ  $0,015 \pm 0,002 \mu\text{g. L}^{-1}$ .

On a donc observé un petit bloom des diatomées dû à l'ajout des aérosols en début d'expérience.



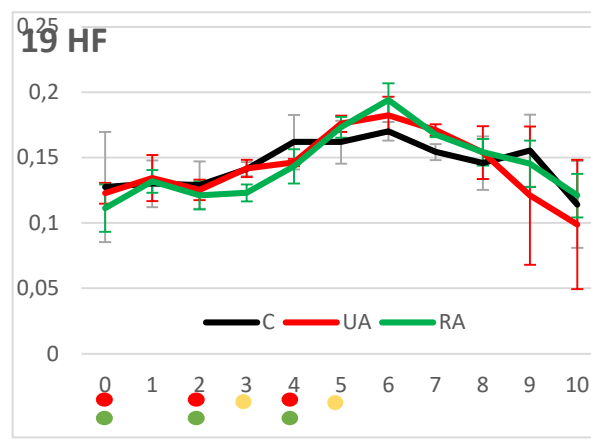
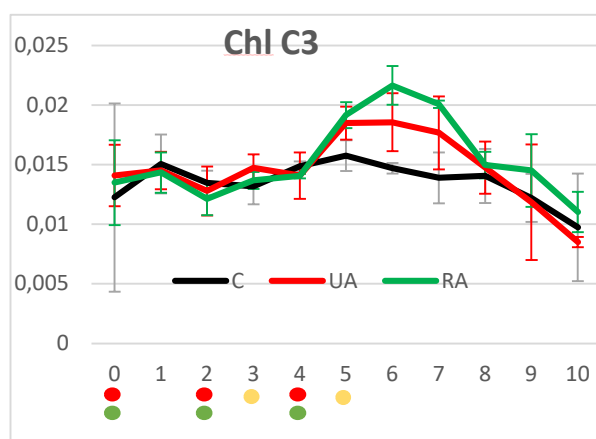
La périidine est un pigment caractéristique du groupe de phytoplancton des dinoflagellés.

On observe que du jour 0 au jour 2, les tendances des concentrations de tous les mésocosmes sont les mêmes, il y a une diminution.

En revanche, après le jour 3, on observe un effet positif sur les mésocosmes avec traitement (rural et urbain). Alors que la concentration du mésocosme de contrôle (à part au jour 5 et 9), les concentrations des mésocosmes de traitement augmentent et diminuent après le jour 6 pour le rural et après le jour 7 pour l'urbain.

Néanmoins, on peut émettre une critique sur ce

graphique, en effet, les concentrations de la périidine sont faibles et les écarts-types sont grands. Les valeurs trouvées sont donc peut-être un peu éloignées de la réalité, essentiellement au jour 6 pour le rural et au jour 7 pour l'urbain.



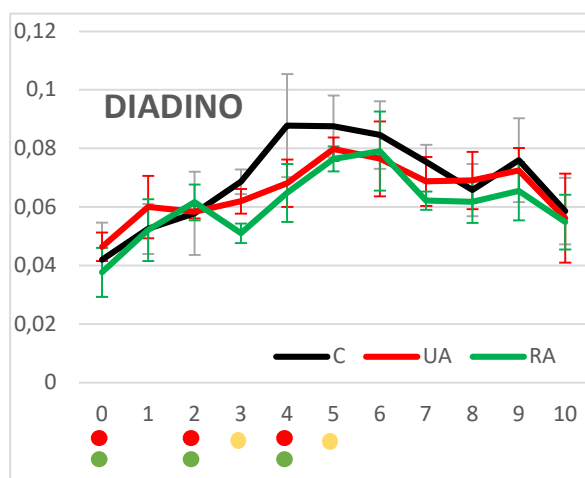
La *Chlorophylle c3* ainsi que la *19'-Hexanoyloxyfucoxanthine* sont des pigments caractéristiques du groupe de phytoplancton des coccolithophores. La 19 HF est un des pigments majoritaires au cours de cette expérience.

On remarque que les tendances de ces deux pigments sont les mêmes.

Entre le jour 0 et 4, les concentrations de chaque mésocosmes (contrôle et traitements) sont relativement les mêmes et assez stables. Après le jour 4, les mésocosmes avec les traitements ont effet positif, leurs concentrations est significativement plus élevée que celle du contrôle et atteignent un pic de concentration au jour 6. Cette différence s'observe d'autant plus avec le traitement rural (RA); au jour 6, la concentration en chl c3 est  $0,022 \pm 0,0016 \mu\text{g. L}^{-1}$  contre  $0,014 \pm 0,0004 \mu\text{g. L}^{-1}$  pour le contrôle, et la concentration en 19HF au jour 6 (toujours pour le traitement RA) est de  $0,0066 \pm 0,0015$

$\mu\text{g. L}^{-1}$  contre  $0,0062 \pm 0,0002 \mu\text{g. L}^{-1}$  pour le contrôle. On observe alors une légère efflorescence planctonique.

Ensuite, du jour 6 au jour 10, la concentration diminue en atteignant la même que celle du contrôle au jour 8.

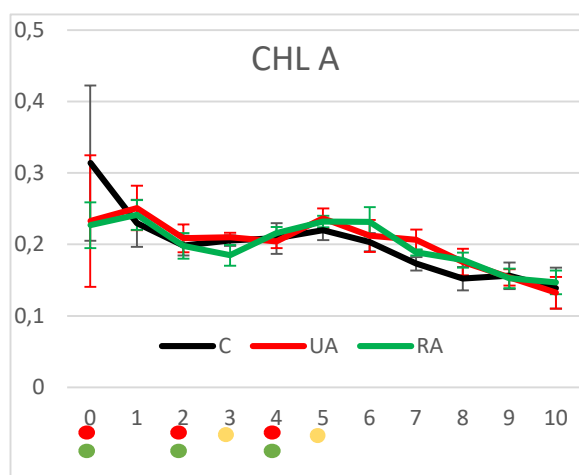


La *diadinoxanthine* est un pigment photo-protecteur qui varie en fonction de la lumière disponible.

Du jour 0 au jour 2, les concentrations dans tous les mésocosmes sont en légère augmentation et sont relativement les mêmes.

Mais après le jour 2, les mésocosmes avec traitements ne suivent plus la tendance du contrôle. En effet, on observe un effet négatif, les concentrations des mésocosmes UA et RA sont inférieures à celles du contrôle.

Et au jour 10, les trois différents mésocosmes sont quasiment identiques, avec une concentration d'environ  $0,055 \pm 0,01 \mu\text{g. L}^{-1}$ .



Le pigment *chlorophylle a* représente la biomasse chlorophyllienne totale.

On ne remarque pas de différence significative entre les mésocosmes avec et sans traitement jusqu'au J4.

En revanche, à partir du J5, on aperçoit un effet positif léger dans les mésocosmes avec traitement (urbain et rural). Les concentrations des traitements deviennent plus élevées que celle du contrôle. mais nous laissons cette interprétation car les concentrations étant faibles, des erreurs peuvent avoir lieu.

Tous les autres pigments ont été étudié (annexe 5), cependant, seuls les pigments les plus pertinents pour l'étude ont été gardé dans cette partie résultats. C'est justement après les avoir analysés un par un puis en groupe, que j'ai pu déterminer lesquels étaient les plus pertinents.



## 5. Limites de l'expérience

Afin de mieux comprendre les résultats obtenus lors de cette étude, quelques limites peuvent être émises.

Dans un premier temps, la mer de Crète étant extrêmement oligotrophe, les concentrations en pigments sont faibles et dur à identifier. Ainsi, sur les graphiques, on peut remarquer que certains écarts-types sont très importants, ce qui nous laisse penser qu'il y a encore beaucoup d'incertitudes sur les valeurs obtenues et analysées.

De plus, lors du jour 0 de l'expérience, très peu d'eau ont pu être filtré, probablement dû aux poussières issues d'une tempête qui a eu lieu pendant le remplissage des mésocosmes. Cela explique les grandes barres d'erreurs sur les graphiques des pigments au jour 0.

Ensuite, les autres analyses des autres membres de l'équipe pour cette expérience sont encore en cours, par exemple, nous n'avons pas la composition des aérosols qui ont été intégrés aux mésocosmes (traitements des données dans 2/3 mois) ou encore, nous ne savons pas quelles espèces de phytoplanctons ont été identifiés.

Le dépôt atmosphérique ne provoque pas d'effets immédiat sur les mésocosmes, on ne peut donc pas identifier si les variations de concentrations de certains pigments proviennent des ajouts d'aérosols « vivants » ou des aérosols de poussière issues de tempête.

Enfin, les analyses statistiques ont été retardées suite à des problèmes concernant les logiciels utilisés. J'ai pu faire les analyses sur quelques pigments, mais le temps m'a manqué pour tout faire, elles n'ont donc pas été intégrées à ce rapport.

## 6. Discussion

L'objectif de cette étude était d'étudier la réponse phytoplanctonique à un apport de dépôts atmosphérique en utilisant l'analyse des biomarqueurs pigmentaires.

Dans un premier temps, les concentrations de certains nutriments ont été impactées, notamment la silice, le nitrite, l'ammonium et très peu les ions phosphate. Seule la concentration en nitrate n'a pas été impactée.

D'après les études, les efflorescences de phytoplanctons sont généralement favorisées par des pollutions terrigènes comme les nitrates et les phosphates. Cependant, d'après les premiers graphiques sortis (figure 23), les dépôts atmosphériques n'ont pas eu d'effet sur les nitrates et très peu sur les phosphates (seulement au jour 6). (Diersling N., 2009)

De plus, d'après des expériences similaires, il a été observé que les dépôts atmosphériques augmentaient les concentrations des nutriments, notamment en phosphate (Tsagaraki, T. M., 2017), ce qui n'est pas le cas dans cette expérience. De plus, Rahav, E. et al., (2016) ont observé aucun effet sur la concentration en silice suite à l'ajout de dépôts atmosphériques, alors que dans notre expérience, il s'agit du nutriment qui diffère le plus par rapport aux mésocosmes de contrôle.

Dans une série de mésocosmes en Méditerranée occidentale, Ridame C. et al., (2014) ont constaté une augmentation de la production primaire et de la concentration en Chl-a en réponse aux dépôts. Cependant, dans notre cas, la biomasse phytoplanctonique totale n'a subi qu'un léger effet positif des dépôts atmosphériques.

La baisse de production générale pendant les 11 jours peut s'expliquer par la baisse de nutriments au fur et à mesure de l'avancée de l'expérience. C'est entre le jour 5 et 8 que les concentrations des mésocosmes des traitements, essentiellement RA, diffèrent de celles du contrôle. La biomasse phytoplanctonique réagit donc à l'ajout des aérosols qui ont été introduit dans la première partie de l'expérience, c'est à dire l'ajout des aérosols urbains et ruraux aux jours 0, 2 et 4 et à l'ajout des poussières du jour 3. En revanche, il nous est impossible de savoir quel événement a produit cette légère augmentation (cependant, non significative). Une petite efflorescence des phytoplanctons est donc estimée entre le jour 5 et 8.

En ce qui concerne la composition de la communauté phytoplanctonique, les aérosols ont plus ou moins joué un rôle sur les concentrations des pigments de certains groupes de phytoplanctons.

Les pigments fucoxanthine, chlorophylle-c2 (caractéristiques des diatomées), 19 HF et chlorophylle-c3 (caractéristiques des coccolitophores) ont une tendance similaire à la chlorophylle-a. En effet, à partir du jour 4, les dépôts atmosphériques ont un effet positif sur la concentration de ces pigments. Ces augmentations (plus ou moins importantes) sont donc dues aux ajouts des aérosols urbains et ruraux aux jours 0, 2 et 4 et à l'ajout des poussières du jour 3.

Les diatomées s'adaptent aux conditions de faible luminosité (Lebret et al., 2018), la présence de poussière qui pourrait limiter la pénétration de la lumière ne les empêche donc pas de croître.

Les dépôts atmosphériques ont également eu un effet positif sur les dinoflagellés, mais cette fois-ci, l'efflorescence a lieu entre le jour 4 et 9. Ce pigment a également été impacté par les ajouts des aérosols urbains et ruraux aux jours 0, 2 et 4 mais dans ce cas-là, l'ajout des poussières du jour 3 n'est pas inclus, car l'efflorescence commence au jour 4 et les poussières n'ont pas pu agir en quelques heures (ajout des poussières au jour 3 à 15h et échantillonnage du jour 4 à 8h).

Les cyanobactéries quant à elles ne sont pas affectées par les dépôts atmosphériques, aucune différence de tendance et de concentration sur le pigment de zéaxanthine n'a été identifié entre les mésocosmes de contrôle et de traitement (rural et urbain). De plus, ces phytoplanctons sont adaptés à des

conditions de faible luminosité (Lebret et al., 2018), la présence de poussière ne les a pas empêchés de poursuivre leur croissance, bien que les concentrations diminuent du début à la fin.

En revanche, les dépôts atmosphériques ont eu un effet négatif sur la diadinoxanthine, ce pigment photo-protecteur varie en fonction de la lumière disponible. L'ajout de poussière a provoqué une baisse de la pénétration de la lumière dans l'eau, ce qui a pu agir directement sur les phytoplanctons sensibles à la quantité de lumière.

Ainsi, cette expérience a pu démontrer que l'ajout de dépôts atmosphériques, provenant de poussières de tempête ou des aérosols qu'on a appelé « vivants », ont des impacts plus ou significatifs sur les phytoplanctons et les nutriments.

De nombreuses autres études sont encore en cours d'analyse afin d'en savoir plus sur les effets de ce phénomène sur la communauté phytoplanctonique, mais ces données nous donnent un premier aperçu des réponses des phytoplanctons face à ces particules.

## Conclusion

Dans les années qui arrivent, le changement climatique va provoquer une augmentation des températures et une diminution des précipitations, ce qui suggèrent que la tendance à l'augmentation des dépôts secs se poursuivra. (Tsagaraki T. M. et al., 2017)

Cette étude a montré que les dépôts atmosphériques ont impacté et déclenché les efflorescences de certains phytoplanctons ; les diatomées, les coccolithophores et les dinoflagellés. Les dépôts atmosphériques, notamment les poussières peuvent limiter l'introduction de lumière dans l'eau, ce qui peut avoir par la suite un effet néfaste sur des espèces de phytoplanctons.

L'analyse pigmentaire ne peut pas mettre en évidence les espèces qui sont présentes dans les mésocosmes, ce sont les analyses de microscopie et de biologie moléculaire qui permettront de connaître la diversité génétique.

Ces analyses sont en cours, et à la fin, les résultats permettront de savoir s'il y a quelconques risques dans la mer de Crète voire la mer Méditerranée orientale comme la diminution de nutriments (alors que c'est déjà très oligotrophe), des efflorescences toxiques, etc.

Ainsi, les résultats présentés indiquent que les réponses du système de la mer de Crète (mer Méditerranée orientale pour être plus large) aux événements de dépôts, bien qu'épisodiques par nature, peuvent modifier de manière significative la dynamique communautaire phytoplanctonique à long terme.

Le rôle que joue les dépôts atmosphériques dans l'influence de la dynamique du phytoplancton dans les régions LNLC est très important à comprendre le fonctionnement actuel et futurs de ces régions. (Herut, B., 2016) Ces études sont donc indispensables pour connaître tous les mécanismes et pouvoir ensuite développer des modèles explicatifs prédictifs des effets sur communautés phytoplanctoniques lors d'événements de dépôts d'aérosols.

## Bilan personnel

Cette expérience a été très instructive et très enrichissante pour moi, autant d'un point de vue professionnelle qu'humain.

Je suis très reconnaissante d'avoir pu réaliser ce stage, ce fut une chance unique. J'ai pu partir pendant trois semaines en Crète au sein d'une équipe internationale. J'ai dû être totalement autonome et me débrouiller en anglais. J'ai énormément appris et apprécié ce travail. J'ai eu la chance de rencontrer des chercheurs de toute l'Europe, tous passionnés par leur travail.

J'ai réalisé des tâches variées avec des équipes différentes ; que ce soit sur le terrain ou en laboratoire. J'ai pu participer aux différentes étapes de l'études comme la mise en place des mésocosmes, l'échantillonnage journalier que ce soit sur la lagune de Thau ou en Crète, le traitement des échantillons, l'analyse des chromatogrammes. Cela m'a permis de rédiger mon rapport comme un article scientifique ou encore d'utiliser l'HPLC.

Ce stage m'a permis de découvrir le monde de la biologie marine dans lequel je cherchais vraiment à avoir une expérience, pour avoir un premier aperçu, je n'ai pas été déçu. De plus, les connaissances que j'ai acquises au cours de ce stage me sont déjà utiles pour les cours que j'ai dans mon programme Erasmus en Norvège.

Enfin, malgré quelques difficultés rencontrées, je suis très satisfaite de ce stage. En effet, cette expérience professionnelle m'a permis de me confronter au monde de la recherche, voir ses avantages et ses inconvénients et surtout de me montrer les qualités nécessaires pour réussir et s'épanouir. J'en suis sortie plus responsable, autonome et plus confiante.

# Bibliographie

- Aquacosc. (2020) AQUACOSM. Aquacosc - . <https://www.aquacosc.eu/project-information/aquacosc/>
- Aquacosc.plus (2020) AQUACOSM-plus –. Aquacosc - Plus. <https://www.aquacosc.eu/project-information/aquacosc-plus/>
- Astitha et al ., 2012. *Parameterization of dust emissions in the global atmospheric chemistry-climate model EMAC: Impact of nudging and soil properties*. DOI:[10.5194/acp-12-11057-2012](https://doi.org/10.5194/acp-12-11057-2012)  
[https://www.researchgate.net/publication/233833101\\_Parameterization\\_of\\_dust\\_emissions\\_in\\_the\\_global\\_atmospheric\\_chemistry-climate\\_model\\_EMAC\\_Impact\\_of\\_nudging\\_and\\_soil\\_properties](https://www.researchgate.net/publication/233833101_Parameterization_of_dust_emissions_in_the_global_atmospheric_chemistry-climate_model_EMAC_Impact_of_nudging_and_soil_properties)
- Conservatoire du littoral, 2018. *Changement climatique* - Conservatoire du littoral. <https://www.conservatoire-du-littoral.fr/38-changement-climatique.htm>
- CRETACOSMOS 2020 – Aquacosc. <https://www.aquacosc.eu/mesocosm/cretacosmos/>
- Demoisson A., 2014. *Etude de la source et du transport des aérosols marins en zone côtière méditerranéenne*. Océan, Atmosphère. Université de Toulon. Français. ffNNT : 2014TOUL0018ff. fftel-01314438
- De Varger C. et al., 2015. *Eukaryotic plankton diversity in the sunlit ocean*  
[https://www.science.org/doi/10.1126/science.1261605?url\\_ver=Z39.88-2003&rft\\_id=ori:rid:crossref.org&rft\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://www.science.org/doi/10.1126/science.1261605?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%20%20pubmed)
- Diersling N., 2009 . "Phytoplankton Blooms: The Basics" (PDF). NOAA FKNMS : [Phytoplankton Blooms: The Basics \(windows.net\)](https://www.noaa.gov/oceans/education/phytoplankton-blooms-the-basics)
- Falkowski, P. (2012, 29 février). *Ocean Science : The power of plankton*. Nature.  
[https://www.nature.com/articles/483517a?error=cookies\\_not\\_supported&code=8d45bedf-f959-451f-8a49-e69eceb958d4](https://www.nature.com/articles/483517a?error=cookies_not_supported&code=8d45bedf-f959-451f-8a49-e69eceb958d4)
- Gruber N. et al. 2019. *The Variable Southern Ocean Carbon Sink*; Nicolas Gruber, Peter Landschützer, Nicole S. Lovenduski  
Annual Review of Marine Science 2019 11:1, 159-186
- HCMR, 2022. <https://www.hcmr.gr/en/about-us/organizational-structure/>
- Herut, B. (2016). *The Potential Impact of Saharan Dust and Polluted Aerosols on Microbial Populations in the East Mediterranean Sea, an Overview of a Mesocosm Experimental Approach*. Frontiers. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2016.00226/full>
- Krom, M. (2021, 10 octobre). *Why is the Eastern Mediterranean phosphorus limited?* Academia.Edu.  
[https://www.academia.edu/56951987/Why\\_is\\_the\\_Eastern\\_Mediterranean\\_phosphorus\\_limited](https://www.academia.edu/56951987/Why_is_the_Eastern_Mediterranean_phosphorus_limited)

Lebret et al, 2018; *High abundances of the nuisance raphidophyte Gonyostomum semen in brown water lakes are associated with high concentrations of iron*, Scientific Reports, Volume 8, Article number: 13463. Länk: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31892-7>

MEDIMEER. (2021). Observatoire des Sciences de l'Univers OREME.  
<https://oreme.org/plateformes/medimeer/>

Myriokefalitakis, S. (2015, 2 juillet). *BG - Changes in dissolved iron deposition to the oceans driven by human activity : a 3-D global modelling study*. 1.  
<https://bg.copernicus.org/articles/12/3973/2015/>

Ifremer, 2018. *Le Phytoplancton*. (2018). Environnement et Ressources des Pertuis Charentais.  
<https://www.ifremer.fr/lerpc/Environnement-des-Pertuis/Le-Phytoplancton>

Ifremer, 2015. *Production primaire du phytoplancton : vers une diminution globale ?*  
<https://www.ifremer.fr/L-ocean-pour-tous/Nos-ressources-pedagogiques/Comprendre-les-oceans/Ocean-et-climat/Production-primaire-du-phytoplancton-vers-une-diminution-globale>

INSU, 2021. *Ces aérosols qui fertilisent la mer Méditerranée*.  
<https://www.insu.cnrs.fr/fr/cnrsinfo/ces-aerosols-qui-fertilisent-la-mer-mediterranee>

IPSL. 2012. *Dépôt des aérosols minéraux au-dessus de l'océan Austral / Actualités scientifiques / Actualités / Accueil - IPSL*. <https://www.ipsl.fr/Actualites/Actualites-scientifiques/Depot-des-aerosols-mineraux-au-dessus-de-l-ocean-Austral>

Rahav, E. (2016). *Evaluating the Impact of Atmospheric Depositions on Springtime Dinitrogen Fixation in the Cretan Sea (Eastern Mediterranean)—A Mesocosm Approach*. Frontiers.  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2016.00180/full#B23>

Raven and Falkowski, 2002. *Oceanic sinks for atmospheric CO<sub>2</sub>*  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-3040.1999.00419.x>

Richon C., 2017. *Modélisation de l'impact du dépôt d'aérosols sur les cycles biogéochimiques de la mer Méditerranée*. Océan, Atmosphère. Université Paris-Saclay. Français.

Ridame C. et al., 2014 *Contrasted Saharan dust events in LNLC environments: impact on nutrient dynamics and primary production*  
[https://www.researchgate.net/publication/265520135\\_Ridame\\_et\\_al-2014-DUNE-PP](https://www.researchgate.net/publication/265520135_Ridame_et_al-2014-DUNE-PP)

Station Biologique de Roscoff, 2022. *Communautés pélagiques*. - CNRS - Sorbonne Université.  
<https://www.sb-roscoff.fr/fr/observation/communautes/phytoplancton>

Trombetta T. 2019. *Initiation des efflorescences phytoplanctoniques en zone côtière : le rôle de la température et des interactions biologiques*. Sciences agricoles. Université Montpellier, 2019. Français. ffnnt : 2019MONTG088ff. fftel-02868643f

Tsagaraki, T. M. (2017). *Atmospheric Deposition Effects on Plankton Communities in the Eastern Mediterranean : A Mesocosm Experimental Approach*. Frontiers.  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2017.00210/full>

United Nations. (2021). *En quoi consistent les changements climatiques ? | Nations Unies*.  
<https://www.un.org/fr/climatechange/what-is-climate->



change#:%7E:text=Les%20changements%20climatiques%20d%C3%A9signent%20les,%C3%A0%20celles%20du%20cycle%20solaire.

## Tables des annexes

Annexe 1 : Composant des éluants

Annexe 2 : table d'identification Zapata et al., 2000

Annexe 3 : exemples de volumes filtrés par échantillon

Annexe 4 : Liste des pigments présents dans les mésocosmes au cours de l'expérience

Annexe 5 : Graphiques des concentrations de chaque pigment par jour

# Annexe

## Annexe 1 : Composant des éluants

Composition de l'éluant A (1L) :

Méthanol	50 mL
Acétonitrile	25 mL
Pyridine aqueuse	25 mL

Préparation de la pyridine aqueuse :

La pyridine aqueuse a été préparée avec 10 mL d'acide acétique, 20 mL de pyridine et 970 mL d'eau milli-Q. Après avoir mélangé la solution avec un agitateur magnétique, la solution est filtrée avec un filtre de 0,2 µm.

Composition de l'éluant B (1L) :

Méthanol	20 mL
Acétonitrile	60 mL
Acétone	20 mL

## Annexe 2 : table d'identification Zapata et al., 2000

Zapata et al. ©, HPLC: phytoplankton pigment analysis 37

Table 2. Peak identification table. Resolution ( $R_s$ ) between pigment pairs is indicated when  $R_s < 1.40$ . Wavelengths given in parenthesis denote shoulders. MgDVP: Mg-3,8-divinyl-phosphoryl-pyrin a, monomethyl ester

Peak no.	Pigment	Retention	$R_s$ (peaks)	Maxima in eluent (nm)
0	(Solvent front)	1.93		496 601 648
1	Chlorophyllide b	5.43		483
2	Peridinin	6.06		601 647
3	Methyl-chlorophyllide b	7.19		464 596 628
4	Chlorophyll c <sub>1</sub>	7.94	0.82 (4/5)	457 596 633
5	Chlorophyll c from <i>Pavlova pyrans</i>	8.27	0.85 (5/6)	449 584 628
6	MV Chlorophyll c <sub>2</sub>	8.66		450 583 631
7	Unknown chlorophyll c	9.20		430 581 653
8	Chlorophyllide a	10.46		439 575 617
9	MgDVP	11.01		452 563 613
10	Chlorophyll c <sub>2</sub>	11.44		448 560 631
11	Chlorophyll c <sub>1</sub>	12.14		430 581 663
12	Methyl-chlorophyllide a	13.13		473
13	Peridinin	14.20		453
14	Siphonaxanthin	14.76		452 475
15	Urolidine	17.03		446 469
16	19'-butanoyloxyfucoxanthin	17.94		449
17	Fucoxanthin	18.67		437 465
18	2'-cis-neoxanthin	19.62		446 469
19	Unknown carotenoid from <i>Emiliania huxleyi</i>	19.72	<0.5 (18/19)	455
20	Prasinolaxanthin	20.46		447 470
21	4-keto-19'-hexanoyloxyfucoxanthin	20.92	1.27 (20/21)	429 454
22	Micromonol	20.99	<0.5 (21/22)	416 440 470
23	Violexanthin	21.37	1.08 (22/23)	445 465
24	19'-hexanoyloxyfucoxanthin	21.75	1.21 (23/24)	442
25	Micromonol	23.24		449 471
26	Diadinoxanthin	23.27	<0.5 (25/26)	449 471
27	Diadinoxanthin	24.11		417 441 471
28	Dinoxanthin	25.22		421 449 471
29	Aechmoxanthin	25.38	0.8 (28/29)	421 449 471
30	Alloxanthin	26.25		426 451 471
31	Diatxanthin	26.90		423 451 471
32	Monodioxanthin	27.07	0.80 (31/32)	423 451 471
33	Zeaxanthin	27.49		426 451 471
34	Lutein	27.65	0.80 (33/34)	422 450 471
35	Dihydroxylutein	28.00		429 452
36	Siphonaxanthin	29.37		423 449 476
37	Unknown carotenoid from <i>Tetraselmis suecica</i>	29.71		422 448 476
38	Unknown carotenoid from <i>T. suecica</i>	30.45		422 447 476
39	Crucioxanthin	31.11		462 596 644
40	Chlorophyll b allomer	31.26	0.8 (39/40)	422 447 476
41	Unknown carotenoid from <i>Prochlorococcus marinus</i>	31.42	1.02 (41/42)	470 600 648
42	DV chlorophyll b	31.58	<0.5 (42/43)	462 599 648
43	Chlorophyll b	31.87		462 599 650
44	Chlorophyll b epimer	32.39		584 633
45	Non-polar chlorophyll c from <i>E. huxleyi</i>	32.63		615 662
46	Chlorophyll a allomer	32.93		441 616 685
47	DV chlorophyll a	33.15		431 617 662
48	Chlorophyll a	33.48		430 615 664
49	Chlorophyll a epimer	34.25		446 461 492
50	$\beta$ -carotene	34.32	<0.5 (50/51)	442 470
51	Unknown carotenoid from <i>Micromonas pusilla</i>	35.32		420 441 470
52	$\alpha$ -carotene	35.74	0.88 (52/53)	447 475
53	$\beta$ -carotene	35.98	0.88 (53/54)	426 452 477
54	$\beta$ -carotene			

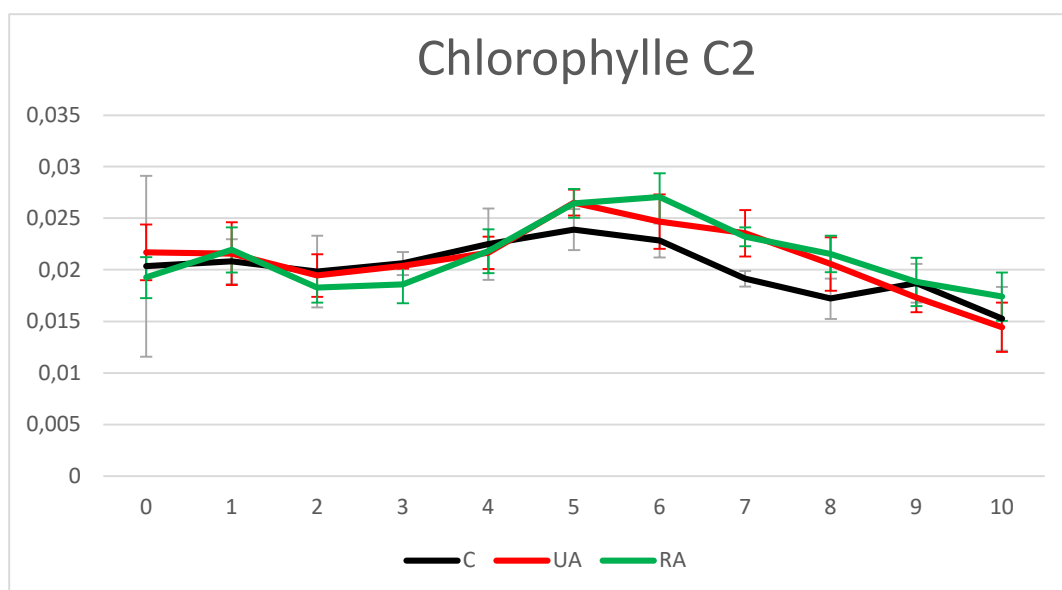
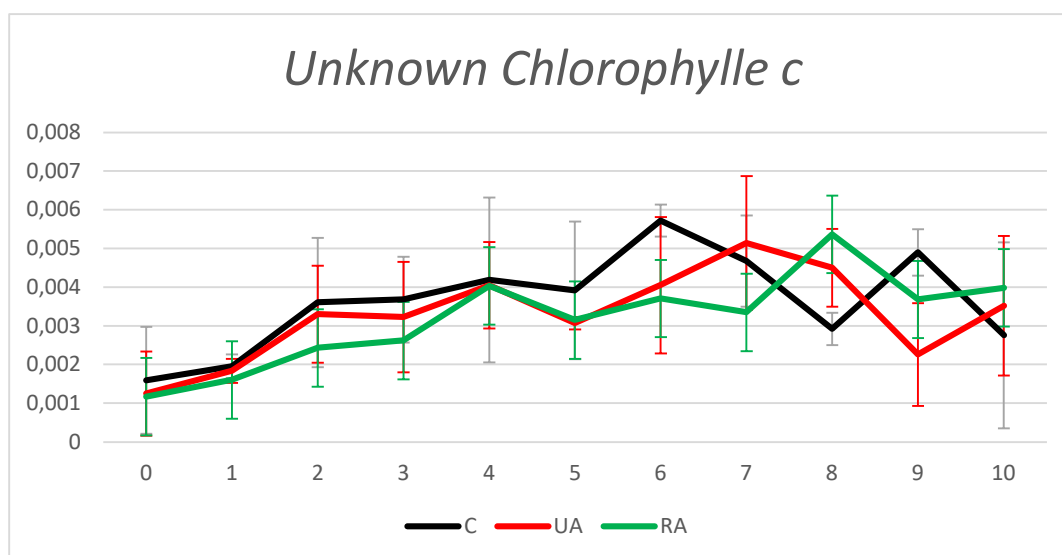
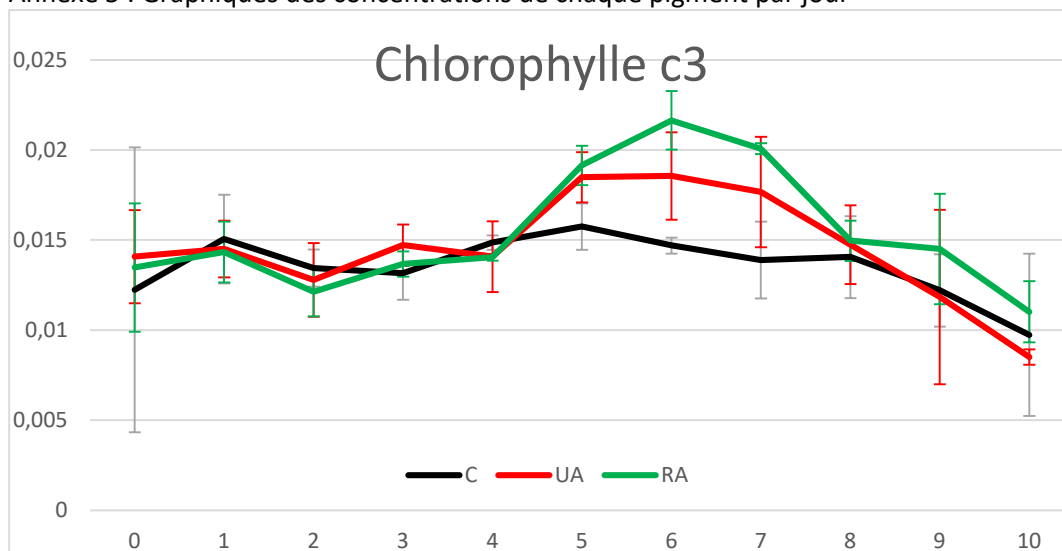
### Annexe 3 : exemples de volumes filtrés par échantillon

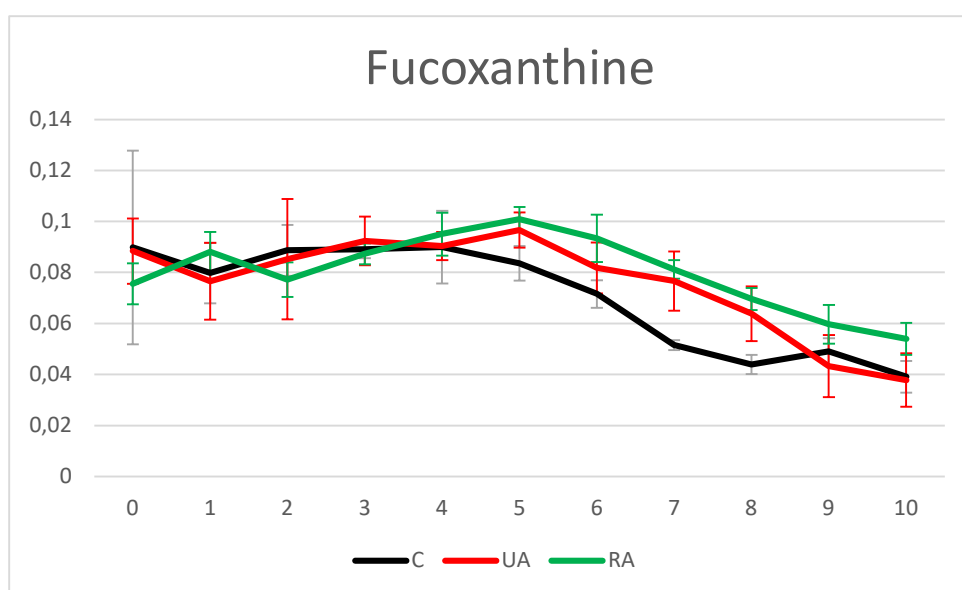
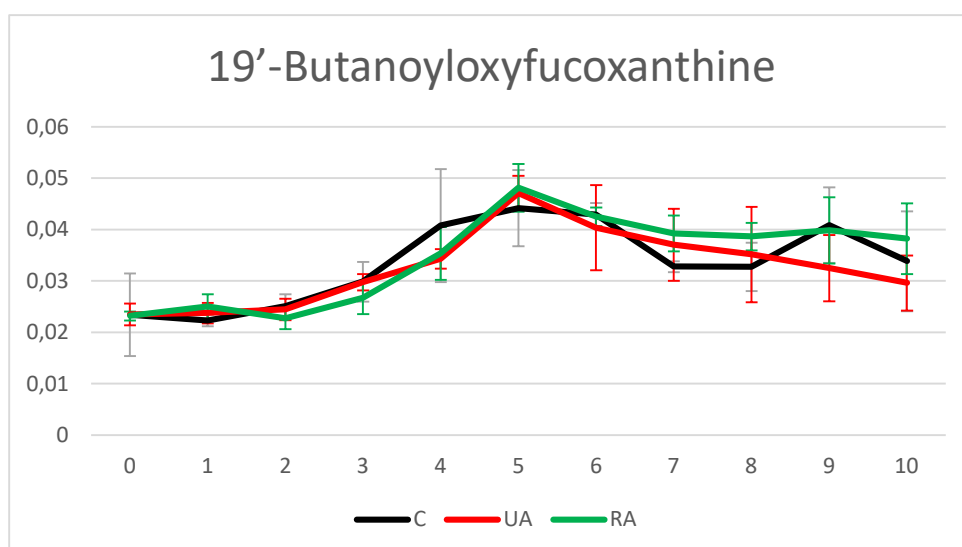
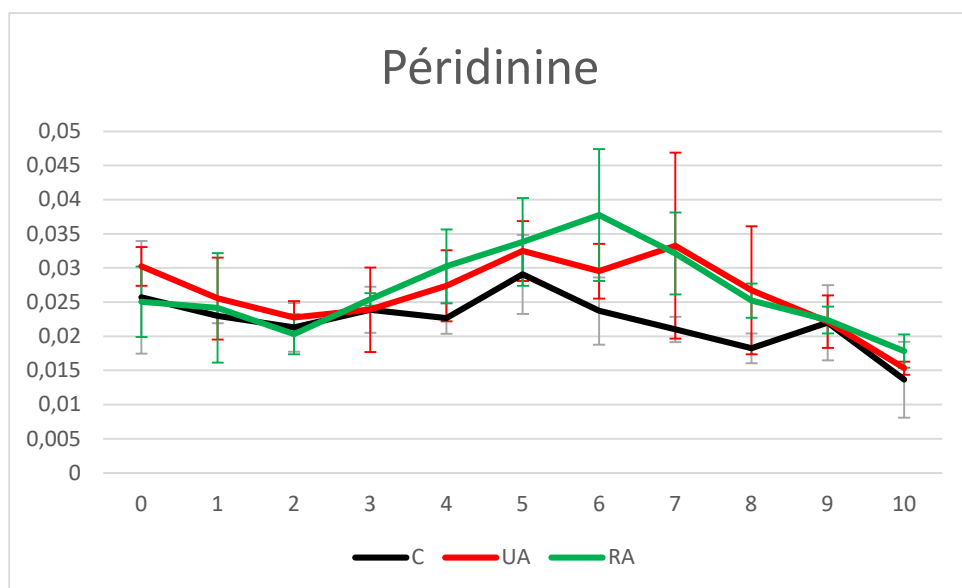
AEROSea		
Day	sample	filtered V (L)
0	C1	1,075
0	C2	1,12
0	C3	2,037
0	UA1	2,05
0	UA2	2
0	UA3	2,05
0	RA1	2
0	RA2	2,05
0	RA3	1,5
1	C1	2,56
1	C2	2,56
1	C3	2,56
1	UA1	2,56
1	UA2	2,56
1	UA3	2,56

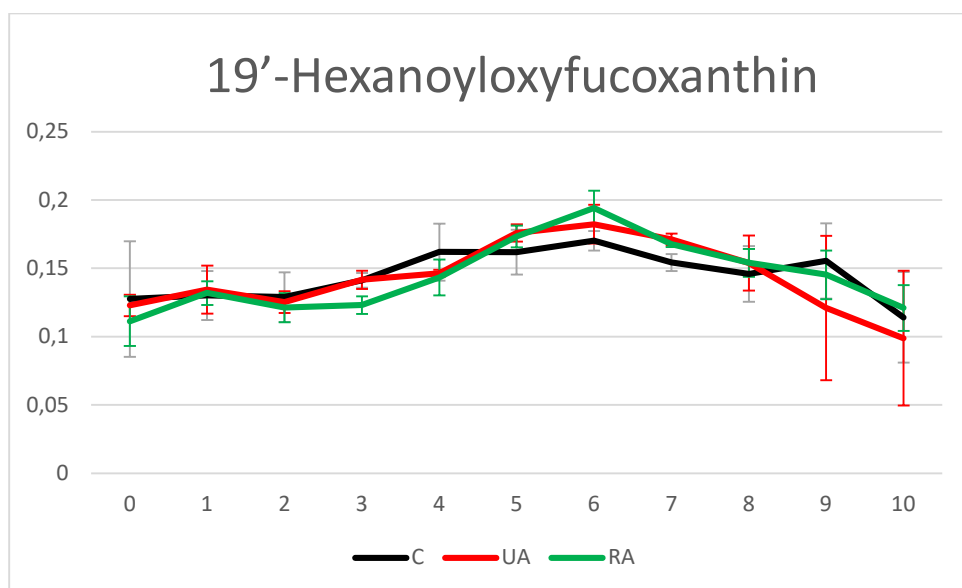
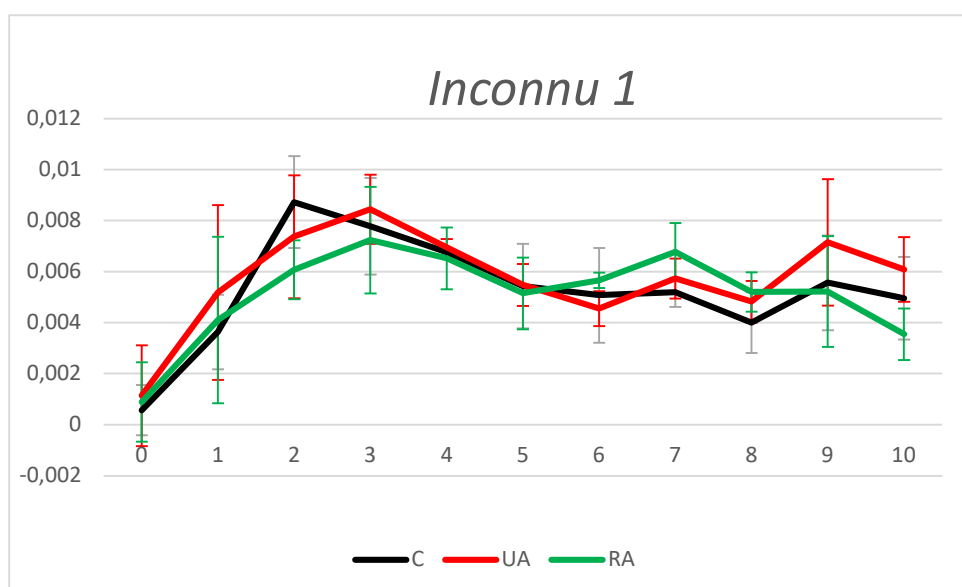
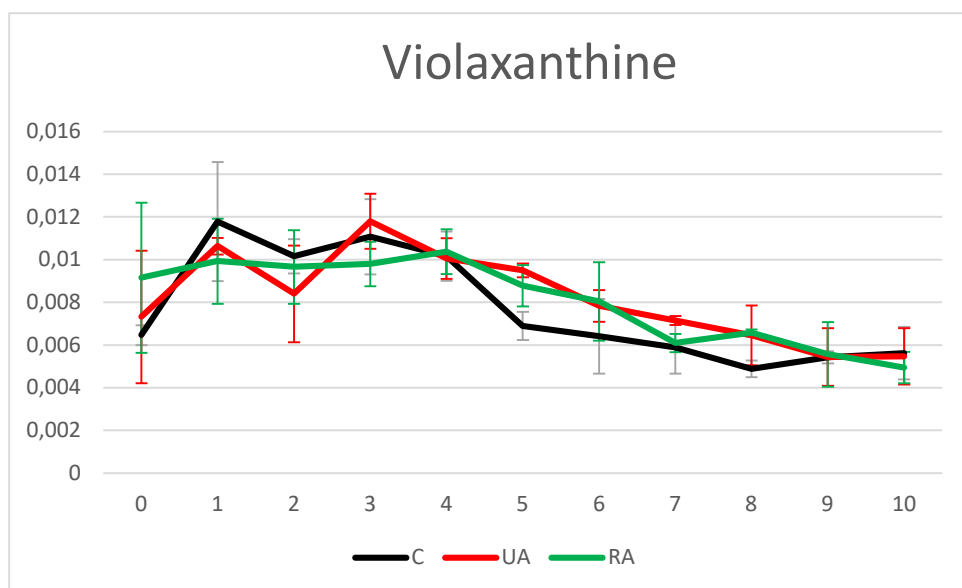
### Annexe 4 : Liste des pigments présents dans les mésocosmes au cours de l'expérience

- Chlorophylle c3 / Chl c3 (Cc3)
- *Unknown Chlorophylle c*
- Chlorophylle C2 / Chl c2 (Cc2)
- Péridinine / Peri (P)
- 19'-Butanoyloxyfucoxanthine / But-fuco (BF)
- Fucoxanthine / Fuco (F)
- Violaxanthine / Viola (V)
- *Inconnu 1*
- 19'-Hexanoyloxyfucoxanthin / Hex-fuco (HF)
- Myxol quinoside / Myxo (My)
- Diadinoxanthine / Diadino (Dd)
- Dincoxanthine / Dino (Dn)
- Antheraxanthine / Anth (An)
- Alloxanthine / Allo (A)
- Diatoxanthine / Diato (Dt)
- Zéaxanthine / Zea (Z)
- Lutéine / Lut (L)
- Gyroxanthine dodecanoate ethanoate / Gyro-de (Gd)
- Canthaxanthine / Cantha (Ct)
- Chlorophylle b / Chl b ((Cb)
- Non polar Chlorophylle c from E. Huxleyi
- Chlorophylle a allomer
- Chlorophylle a / Chl a (Ca)
- *Inconnu 2*
- $\beta,\epsilon$ -Carotène /  $\beta,\epsilon$ -Car ( $\beta,\epsilon$ )
- $\beta,\beta$ -Carotène /  $\beta,\beta$ -Car ( $\beta,\beta$ )

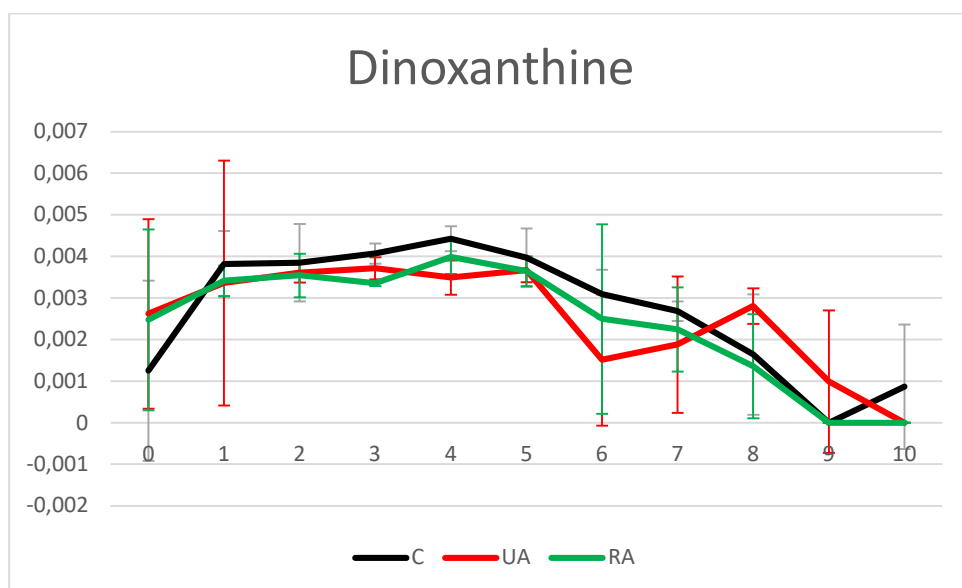
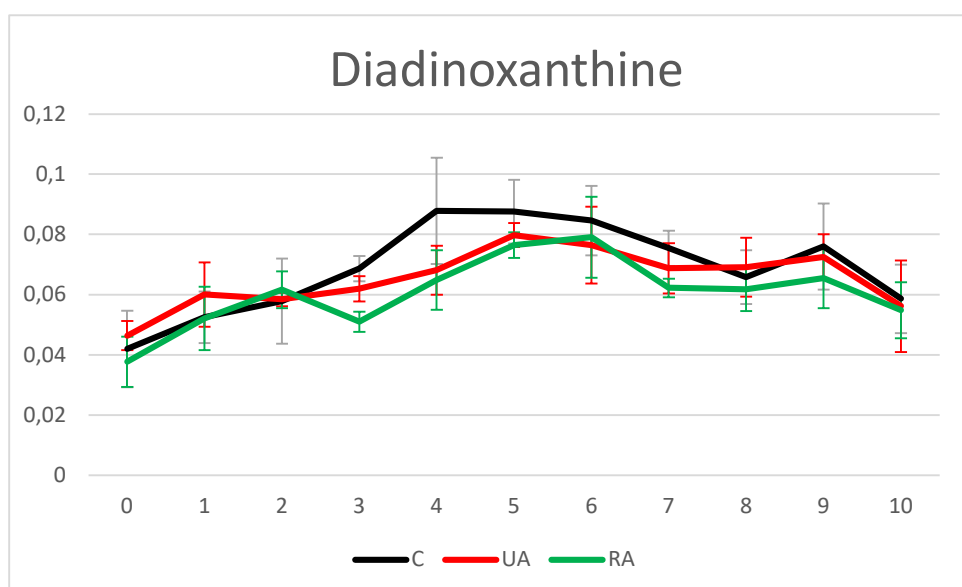
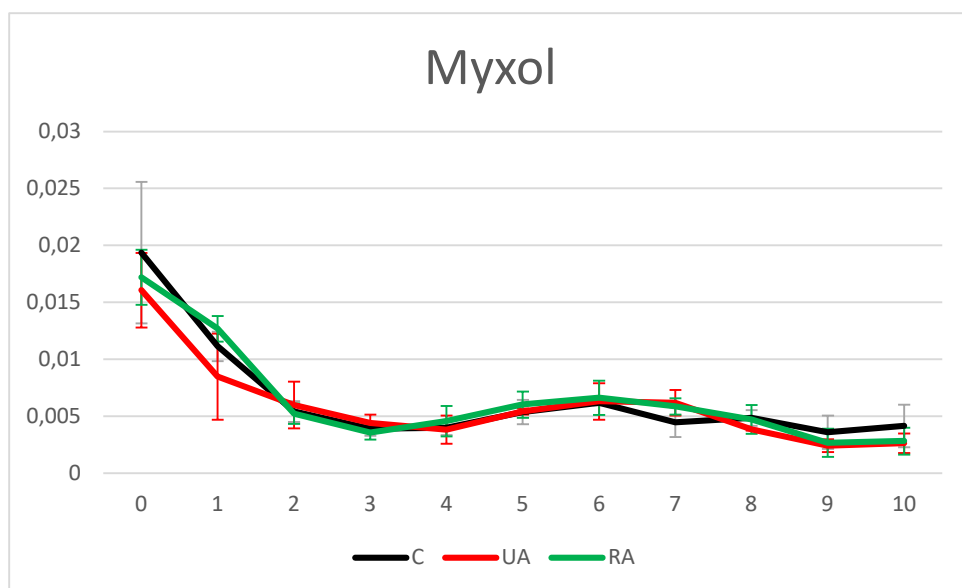
Annexe 5 : Graphiques des concentrations de chaque pigment par jour

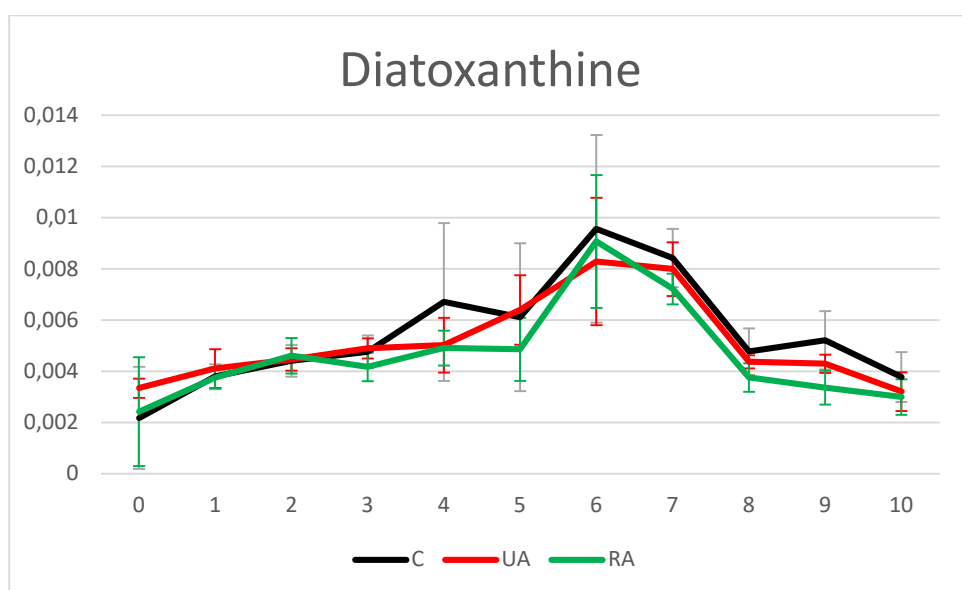
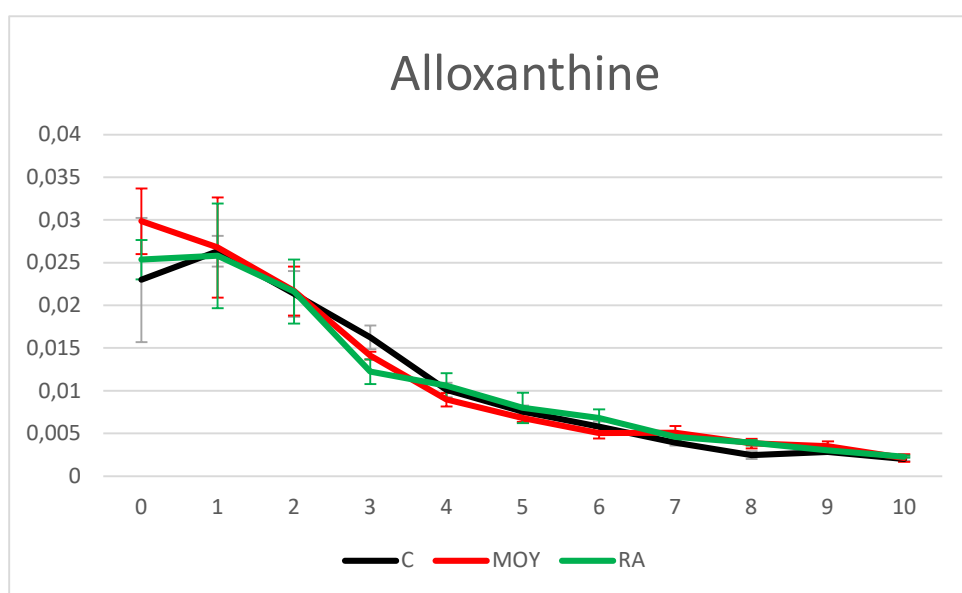
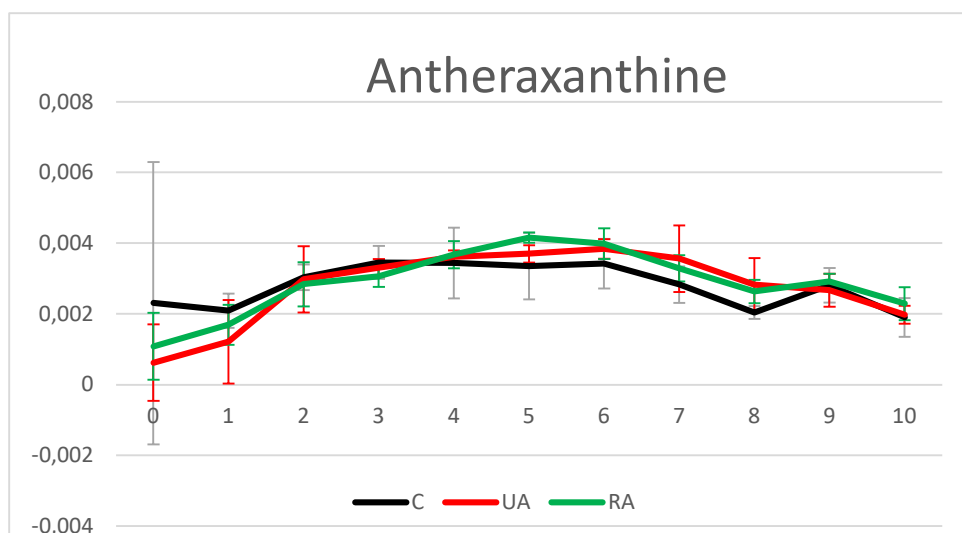


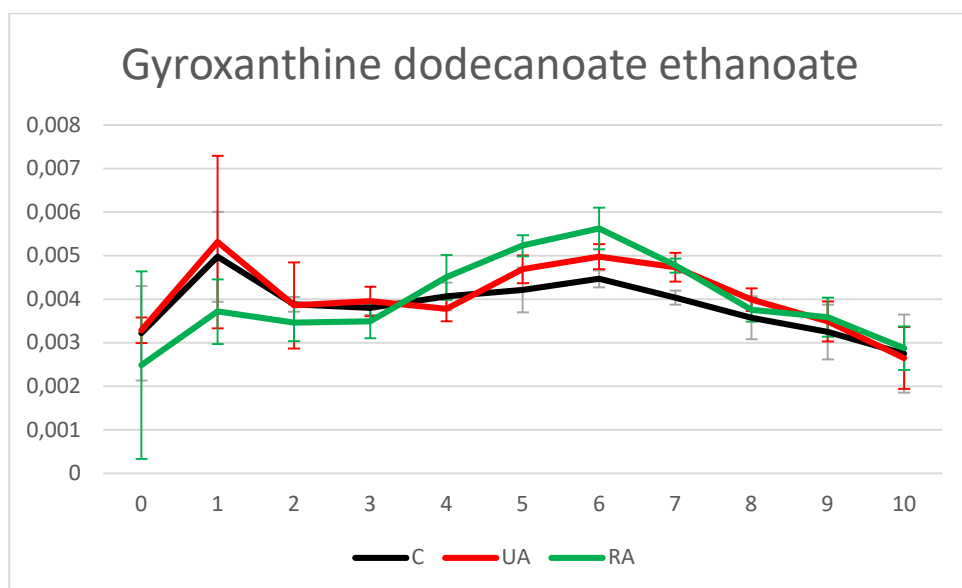
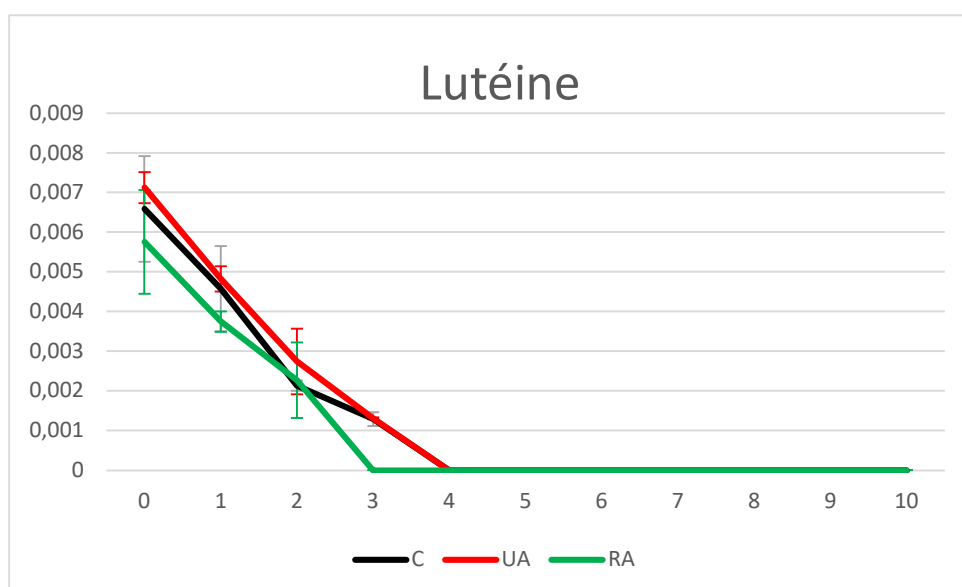
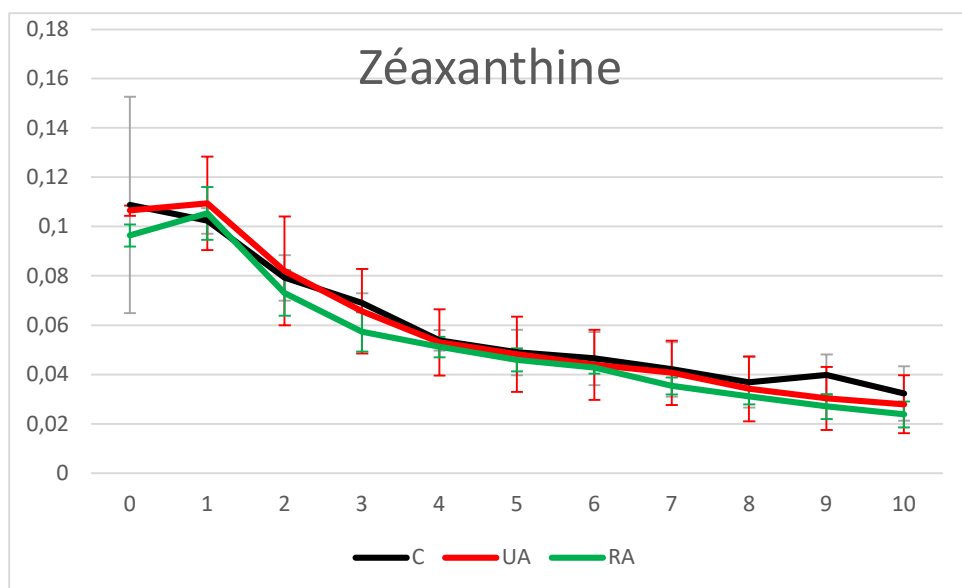


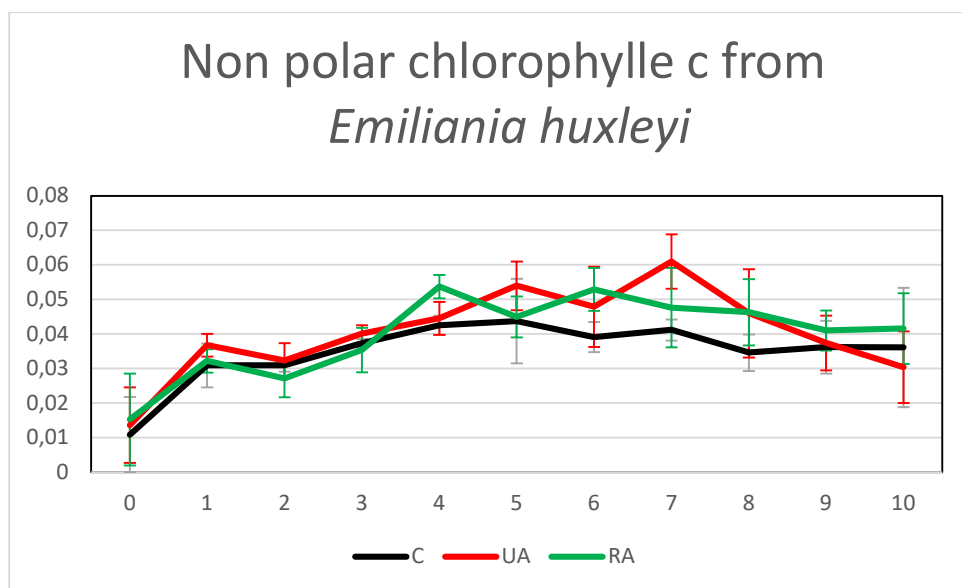
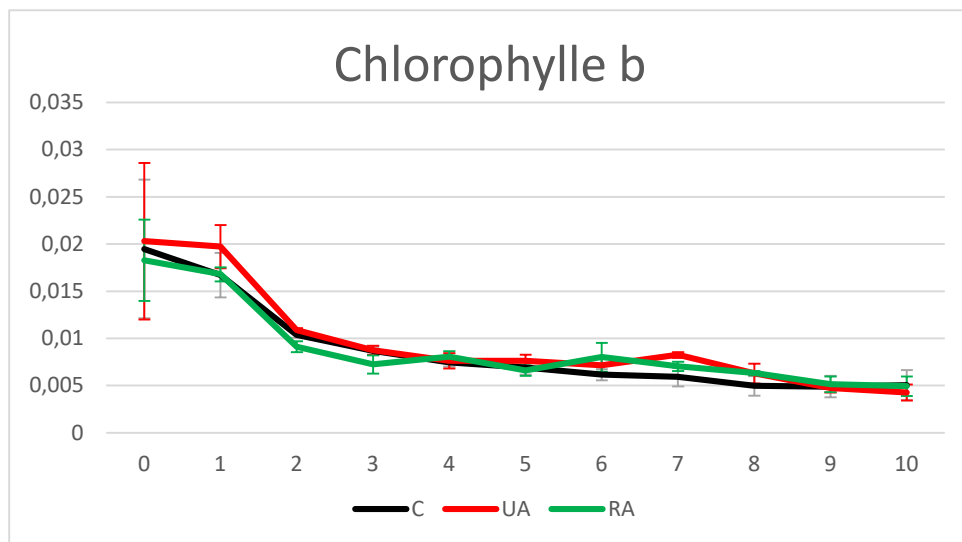
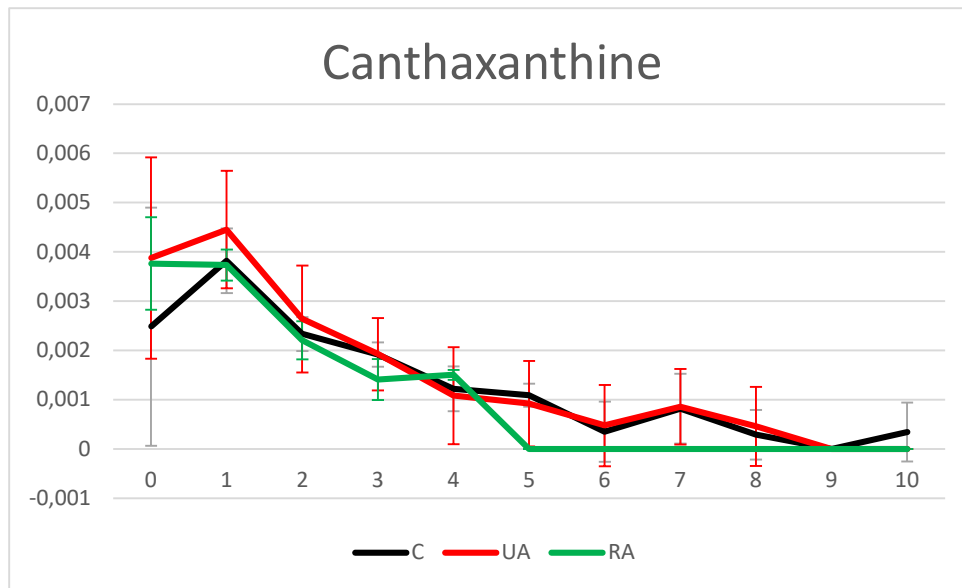


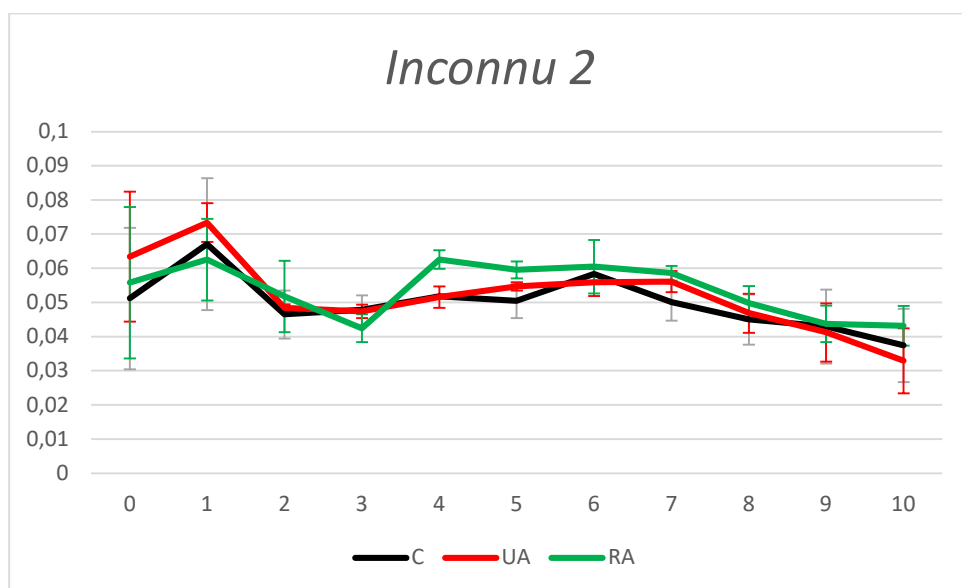
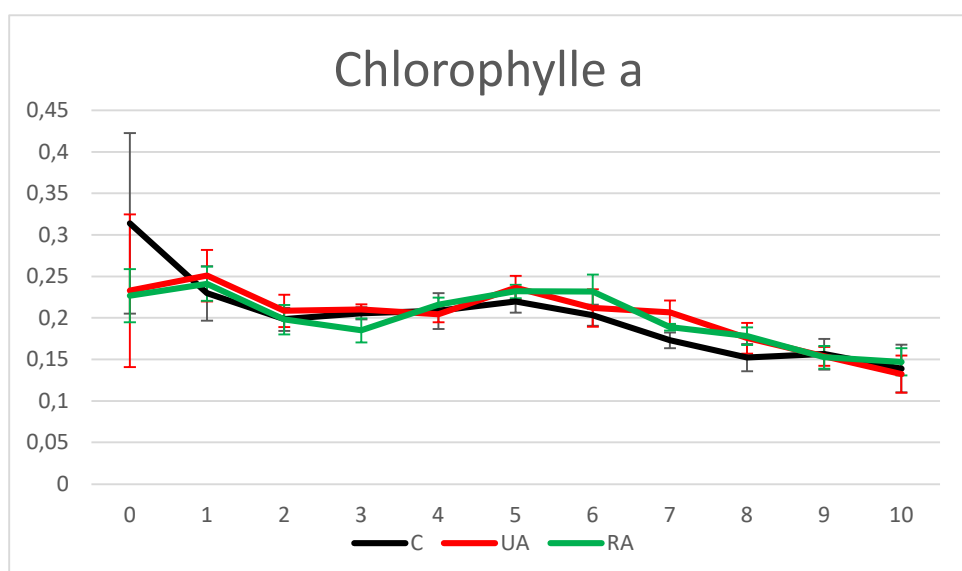
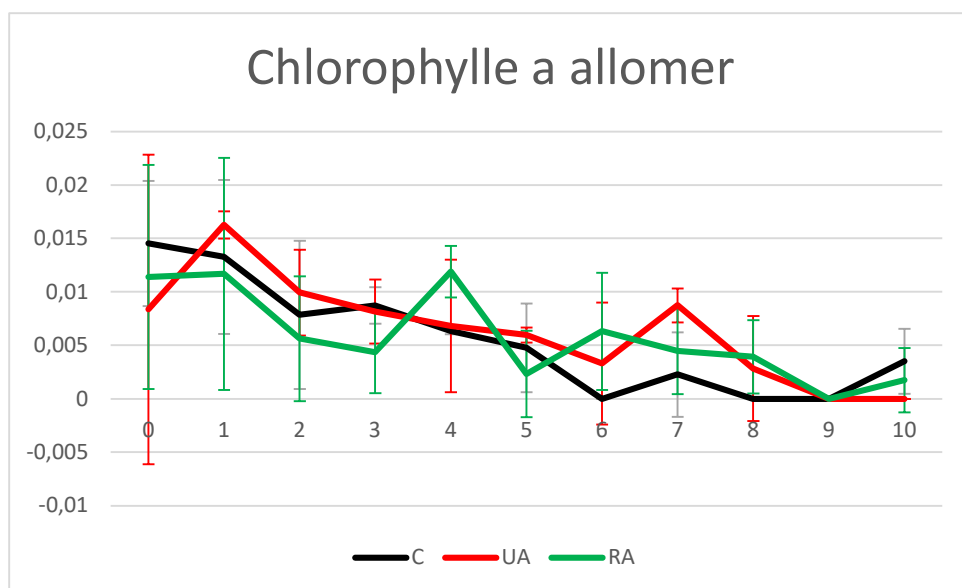


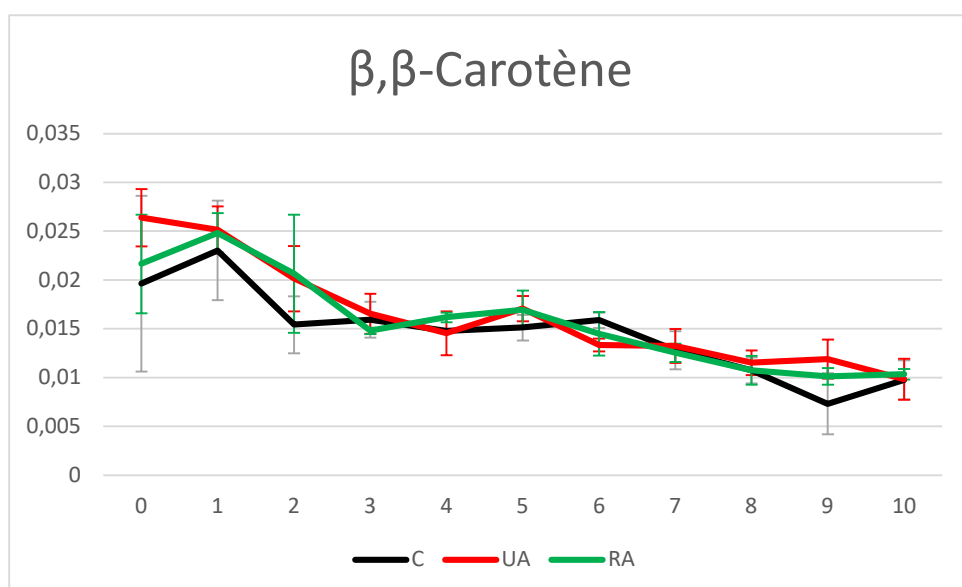
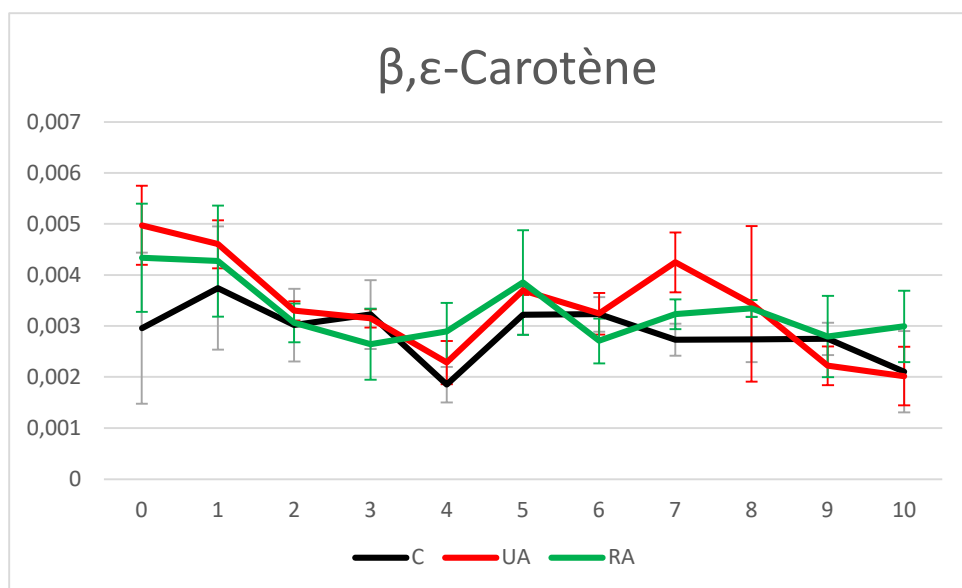












## Résumé

Les effets des dépôts atmosphériques sur la structure des communautés phytoplanctoniques ont été étudiés au cours d'une expérience de mésocosme en utilisant l'eau de la mer de Crète (Méditerranée orientale). Cette zone très oligotrophe reçoit très fréquemment des dépôts d'aérosols atmosphériques. Ces événements sont de plus en plus fréquents dû au changement climatique et peuvent modifier de manière significative la dynamique des phytoplanctons. C'est pour cette raison qu'il est important de les étudier et évaluer la réponse phytoplanctonique face à cette situation.

L'expérience a été réalisée dans des conditions printemps-été (mai/juin 2022). L'objectif principal était d'étudier les changements induits à partir d'événements de dépôts atmosphériques (poussières issues d'une tempête ou aérosols collectés) sur la composition fonctionnelle du phytoplancton. L'analyse a été faite à partir des biomarqueurs pigmentaires par HPLC (High-Performance Liquid Chromatography).

Cette expérience a montré que les effets des ajouts d'aérosols étaient variés en fonction des communautés phytoplanctoniques. Un effet positif a été montré sur les diatomées, les coccolithophores et les dinoflagellés. En revanche, la diadinoxanthine, un pigment photo protecteur a été impacté négativement, ce qui pourrait montrer que le dépôt de poussière engendre un manque de luminosité qui peut être négatif ensuite pour certaines espèces.

Des conclusions concernant la réponse phytoplanctonique de la mer de Crète ne peuvent pas être émises seulement à partir de ces résultats. En effet, l'ensemble des chercheurs du projet ont leurs analyses à faire, notamment les résultats de la cytométrie et de la microscopie, qui permettront de mieux comprendre cette dynamique de réponse phytoplanctonique.

## Abstract

The effects of atmospheric deposition on phytoplankton community structure were studied in a mesocosm experiment using water from the Cretan Sea (eastern Mediterranean). This highly oligotrophic area receives very frequent atmospheric aerosol deposition. These events are becoming more frequent due to climate change and can significantly alter the dynamics of phytoplankton. For this reason, it is important to study them and evaluate the phytoplanktonic response to this situation.

The experiment was carried out under spring-summer conditions (May/June 2022). The main objective was to study the changes induced from atmospheric deposition events (storm dust or collected aerosols) on the functional composition of phytoplankton. The analysis was based on pigment biomarkers by HPLC (High-Performance Liquid Chromatography).

This experiment showed that the effects of aerosol additions were varied depending on the phytoplankton communities. A positive effect was shown on diatoms, coccolithophores and dinoflagellates. On the other hand, diadinoxanthin, a photo-protective pigment, was negatively impacted, which could show that the deposition of dust causes a lack of luminosity that can be negative for certain species.

Conclusions regarding the phytoplanktonic response of the Cretan Sea cannot be drawn from these results alone. Indeed, all the researchers in the project have their own analyses to do, in particular the results of cytometry and microscopy, which will allow a better understanding of this dynamic of phytoplanktonic response.