

de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par : Université Toulouse III Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier)

Discipline ou spécialité :

Présentée et soutenue par :

Catherine DESROSIERS

le: 22 octobre 2014

Titre :

Les diatomées benthiques des zones côtières de Martinique: taxonomie, écologie et capacité bioindicatrice

Ecole doctorale : Sciences de l'Univers, de l'Environnement et de l'Espace (SDU2E)

> Unité de recherche : UMR 5245 Directeur(s) de Thèse :

> > Loïc TEN-HAGE

Rapporteurs : Sylvie GOBERT Cécile BERNARD

Membre(s) du jury : Alain DEJEAN, François DELMAS, Joséphine LEFLAIVE

Résumé

Le recours à un indicateur biologique apparaît comme le moyen d'intégrer les conditions fluctuantes du milieu sur un site donné. Le milieu marin est un environnement complexe dans lequel les brassages se font verticalement du fait de la profondeur et horizontalement par les courants. La caractérisation physico-chimique d'un site nécessite donc la multiplication des prélèvements dans le temps et l'espace. En milieu oligotrophe les concentrations en nutriments sont d'autant plus difficiles à doser qu'ils sont rapidement consommés par les organismes. La diversité des écosystèmes rencontrés en milieu marin multiplie les indicateurs biologiques pouvant être utilisés pour qualifier la qualité du milieu. Le recours à un indicateur commun à tous les milieux est une approche qui aurait l'avantage de simplifier la comparaison des différents milieux et de favoriser l'interprétation des interactions entre eux.

Le cadre réglementaire de suivi de la qualité de l'eau pour les milieux côtiers de la Martinique est fixé par la Directive Cadre sur l'Eau (DCE). Les indicateurs biologiques actuellement suivis sont pour la plupart spécifiques à chaque type d'écosystème et ne donnent pas de résultats satisfaisants. Dans ce contexte, la présente thèse se concentre sur les possibilités que peuvent offrir les diatomées marines benthiques en tant que nouvel indicateur pour le milieu marin.

La première partie du travail a consisté à la mise en place d'un protocole adapté à l'échantillonnage des diatomées marines sur substrat artificiel. La seconde partie s'est intéressée à la capacité bioindicatrice des espèces de diatomées, mettant en relation la physico-chimie de l'eau et les abondances d'espèces. Les comptages d'abondance ont nécessité un important travail de taxonomie impliquant la description des espèces et l'élaboration d'un guide d'identification.

Le protocole de croissance du biofilm, composé de diatomées et de divers organismes autotrophes et hétérotrophes, a été étudié sur cinq sites, pour trois types de substrats et un temps de croissance total de huit semaines, avec prélèvement toutes les semaines. Les paramètres mesurés étaient la matière sèche, la densité valvaire et la richesse spécifique de diatomées. Les substrats utilisés, soit le verre fritté, le plexiglas[®] déglacé et le carrelage non lisse, n'ont pas occasionné de différences significatives de croissance du biofilm. Le plexiglas[®] a été choisi de par sa manipulation plus aisée. Le temps de croissance pour obtenir une communauté de diatomées considérée à l'équilibre a été définit à 5 semaines, bien que les résultats oscillaient entre 3 et 8 semaines en fonction des paramètres et des sites. Pour l'échantillonnage des diatomées dans les eaux côtières oligotrophes tropicales, il est donc préconisé d'utiliser le plexiglas[®] en position verticale placé à trois mètres de profondeur pendant cinq semaines.

La capacité bioindicatrice des diatomées a été évaluée à partir de prélèvements réalisés sur 20 sites positionnés tout autour de la Martinique, comprenant les 15 sites du suivi DCE et 5 sites complémentaires représentant diverses pressions. Cinq campagnes de suivi, réparties sur l'année, ont permis le prélèvement du biofilm associé à deux mesures de physico-chimie de l'eau en début et fin de croissance. L'analyse des données a été conduite en trois phases : l'analyse spatiale des données abiotiques (ACP), l'analyse spatiale combinant les données abiotiques et biologiques (ACC) et la classification hiérarchique (CAH) des sites basée sur les données d'abondances d'espèces,

couplée à la définition d'espèces indicatrices. Les résultats obtenus par l'analyse spatiale (ACP, ACC) s'expliqueraient par le contexte dilutif et ouvert du milieu marin, avec d'une part des gradients globaux non rattachés à une chimie précise, du fait de la difficile caractérisation physico-chimique des sites, et d'autre part une flore commune à tous les sites associée à quelques taxons indicateurs de conditions particulières. La classification des sites en sept groupes (CAH), basée sur les assemblages d'espèces, concorde partiellement avec les résultats de l'analyse spatiale. Pour chacun des groupes de sites définis, des espèces indicatrices ont pu être identifiées.

L'utilisation des diatomées marines benthiques comme bioindicateur de la qualité du milieu semble être prometteuse via l'identification d'espèces cibles se distinguant de la flore commune et associées uniquement aux conditions de croissance qui leur sont favorables. Cette première approche devra être confirmée par l'acquisition de données physico-chimiques supplémentaires plus ciblées en fonction des pressions, et par l'identification de nouvelles métriques pour conforter ces données. Des prélèvements supplémentaires de biofilm permettront également de poursuivre le travail de taxonomie et de mieux cerner la biologie des taxons rares qui s'avèrent être les taxons cibles pour la bioindication.

Abstract

Fluctuating conditions occurring on a site can be synthetized in a good way by using biological indicators. The marine environment shows an important complexity due to vertical and horizontal mixing of the water column associated respectively to depth and currents. Thus, the chemical characterization of a site needs multiple samplings through time and space. In oligotrophe environments, nutrients are all the more difficult to quantify since they are quickly consumed by organisms. The panel of biological indicators that can be used to estimate water quality in marine environments is multiplied by the diversity of ecosystems that can be found. The use of a common indicator for all ecosystems would rather be advantageous as it helps to compare these ecosystems and helps to understand the relationships that can occur between them.

The Water Framework Directive (WFD) sets the legislation applied to water quality monitoring for coastal environments in Martinique. At this time, the biological indicators monitored for the WFD are different for each ecosystem encountered in the coastal area, and they do not give accurate results. In this context, the present work focuses on the abilities of marine benthic diatoms to traduce water quality and to become a new biological indicator for marine environment.

The first part of this PhD work was devoted to the development of a protocol for the sampling of marine diatoms on artificial substrates. The second part was dealing about bioindication abilities of species by studying the relationship between water chemistry and species abundances. The data set on species abundances has required a prior significant taxonomic work that includes species descriptions and the elaboration of an identification guide.

The protocol for biofilm growth, biofilm which is composed of diatoms and various autotrophic and heterotrophic organisms, was conducted on five sites, for three substrates types and for a growing time of height weeks with a sampling each week. Biofilm dry weight, diatom valve density and species richness were the measured parameters. The compared substrates types, frosted glass, frosted Plexiglas[®] and rough enameled tiles, did not give significant differences in biofilm growth. Plexiglas[®] was preferred because easier to manipulate. The optimal growth time allowing the diatom community to reach the climax stage was given to be five weeks, even though results were varying between three to eight weeks depending on the parameter and the site. For the sampling of diatom in tropical oligotrophic environments, the use of frosted Plexiglas[®] immersed vertically for a minimum of 5 weeks is recommended.

The bioindication ability of benthic diatoms was evaluated by sampling 20 sites distributed all around Martinique Island, 15 of them affiliated to the WFD network and five of them representing various impacted situations. Five samplings periods were spread over the year, giving five biofilms samples combined to two water chemistry measurements that were taken at the beginning and the end of the biofilm growing period. Results were analyzed in three steps: spatial analysis of abiotic data (PCA), spatial analysis combining abiotic and biological data (CCA) and hierarchical clustering (HCA) of sites using species abundances, combined with the determination of indicator species. Results provided by the spatial analysis (PCA, CCA) can be explained by the fact that the marine

environment is an open water body were dilution and mixing of the water column is high. In relation with this idea there is first, the presence of global gradients that are not related to a particular chemistry, due to the difficult characterization of sites water chemistry and second, a diatom flora common to all sites associated with few species indicator of special growth conditions. The site clustering in seven groups (HCA), based on species ecological preferenda, is partly consistent with the spatial analysis results. For each of the cluster defined, indicator species were identified.

The use of marine benthic diatoms as bioindicator of water quality seems to be promising through the consideration of target species which distinguish themselves from the common flora and are exclusively associated to their appropriate growth conditions. This first observation needs to be confirmed by a larger chemical data set, taken from a limited number of sites accurately chosen. New metrics are needed to strengthen the data set. Additional biofilm samplings will also be useful to go further on the taxonomic work and to acquire a better knowledge on unusual taxa which appears to be the target taxa for bioindication.

Remerciements

Je m'étais toujours dit que je ne me lancerais jamais dans cette folle aventure que représente une thèse, parce que travailler plus de trois ans sur le même sujet, c'est long. Mais finalement on se laisse emporter par le défi à relever et la thèse devient une grande aventure pleine d'expériences variées et de belles rencontres.

Je remercie tout d'abord Asconit Consultants et tout particulièrement Serge Rochepeau pour m'avoir proposé ce travail de thèse, avoir cru en son importance et insisté pour qu'il soit mené à bien. Un grand merci à Anne Eulin pour son encadrement dynamique, ses précieux conseils techniques et pour le temps passé sur les aspects administratifs et financiers essentiels au bon déroulement de la thèse. Merci également au pôle Recherche & Développement, Philippe et Florence, pour avoir assuré le lien avec Ecolab.

Je tiens à remercier tout particulièrement Loïc Ten-Hage pour avoir accepté d'encadrer cette thèse, même si la distance n'a pas toujours rendu les choses faciles. Mais avec un peu d'organisation on y arrive ! Je remercie également Joséphine Leflaive pour son implication dans la thèse et sa disponibilité. Merci à tous les deux pour votre compréhension et votre soutien.

Je remercie Sylvie Gobert et Cecile Bernard qui ont accepté d'être les rapporteurs de ce travail de thèse ainsi que XXX, d'avoir accepté de le juger.

Mes pensées vont également vers le Professeur Andrzej Witkowski, qui a été un pilier de ce travail de thèse pour tous les aspects taxonomie. Je lui adresse mes remerciements sincères pour le temps qu'il m'a accordé tout au long de ma thèse, pour sa précieuse expertise et pour son accueil chaleureux ainsi que celui de toute l'équipe du l'unité de palaeoceanology de l'University of Szczecin. Merci également à Przemek, Sławek, Iza, Sabina, Erkan pour les moments passés aux labos de Szczecin, Warsaw et à Gdansk. Cette aventure Polonaise m'a également permis de rencontrer l'illustre Professeur Horst Lange-Bertalot, que je remercie chaleureusement pour nos échanges sur les diatomées, les quelques mots de Français pendant ce mois Polonais, et aussi la découverte...des champignons ! Merci également à Kevin McCartney, américain parmi les Polonais, pour sa compagnie et son aide de traduction. Thank you all for your contribution to my PhD work.

Je remercie Rosa Trobajo et David Mann pour leur avis et conseils sur des points précis de taxonomie.

Un énorme merci à François Delmas et Sébastien Boutry de l'IRSTEA de Bordeaux pour leur contribution majeure à l'analyse des données, étape essentielle et de clôture de ce travail de thèse, et pour leurs efforts et le précieux temps qu'ils m'ont accordé pour tenir les délais du rush final.

Concernant la mise en place du plan d'échantillonnage, la faisabilité technique et l'expertise sur la chimie marine, j'adresse mes sincères remerciements à Rémi Garnier (Pareto) et Jean Turquet (Arvam), qui ont su se rendre disponibles et me prodiguer de précieux conseils. Je remercie également l'équipe d'Impact Mer pour avoir partagé leur expérience du terrain.

Je tiens à remercier chaleureusement et amicalement les deux indispensables de la Dream Team, Jérôme et Olivier, sans qui les sessions terrain auraient manqué d'efficacité et de bonne humeur. Merci pour leur implication dans mon travail, leur support technique et les bons moments passés au fil des différentes campagnes de prélèvement. Merci également à Davy, Thierry et à tous ceux qui ont pu participer de près ou de loin au terrain ou à sa préparation.

J'adresse mes remerciements à Jacques Denis pour avoir accepté de mettre à ma disposition le laboratoire de l'Ifremer et ses équipements. Certains dosages et mesures n'aurait pu être réalisés sans cet accord. Merci à Viviane et à Thierry pour le temps passé à résoudre les divers problèmes rencontrés.

Et parmi mes proches, je remercie Jean-Michel pour son enthousiasme à fabriquer les supports des substrats, pour ses bonnes idées et aussi pour sa patience.

A mes collègues de l'agence de Ducos, merci pour votre bonne humeur. L'équipe de thésard de l'agence a un peu remplacé l'ambiance de recherche d'un labo et a permis des échanges intéressants malgré notre isolement en contexte professionnel.

Aux copines de la régate au féminin, désolée de vous avoir abandonnées pour mes weekends de rédaction. En tout cas je vous remercie du fond du cœur pour votre soutien, votre compréhension, les bons moments de compétition et de joie passés ensemble. Je reviens bientôt, avec un petit délai, pleinement parmi vous !

Je remercie mes parents pour leurs encouragements et pour avoir tenté de comprendre mon sujet, ce qui n'est pas évident pour des non scientifiques.

Ces remerciements ne seraient pas complets sans une pensée pour mon doudou, Manu, pour ma deuxième famille, Elo, Sylvain et Manao et pour mes amis fidèles Serge, Karim et Steph, qui ont traversé avec moi toutes les étapes de ce long chemin, qui ont été là et m'ont supportée, encouragée et ont permis de moments de détente bien mérités !

Ce travail m'a appris beaucoup, m'a grandie et je pense que la prochaine aventure sera encore bien plus riche que celle qui se termine.

Sommaire

Résumé	i
Abstract	
Remercier	nentsv
LISTE DES FI LISTE DES TA	GURES
CHAPITRE	I. INTRODUCTION GENERALE
1.	Le biofilm et les diatomées
1.1.	Biofilm
1.2.	Les diatomées
1.3.	Taxonomie et classification
2. partir d	La bioindication en milieu marin et les perspectives de développement d'un nouvel outil à les diatomées marines benthiques19
2.1.	Résumé 19
2.2.	Manuscrit publié dans Ecological Indicators 32 (2013) : 25-34 22
CHAPITRE	II. MATERIEL ET METHODES
1.	Lieux d'étude
2.	Du prélèvement du matériel diatomique aux comptages d'abondances
2.1.	Prélèvement
2.2.	Traitement des échantillons et comptages 44
2.3.	Identification des espèces 49
2.4.	Saisie des inventaires
3.	Chimie marine
4.	Analyses statistiques
CHAPITRE	III. PROTOCOLE POUR L'ECHANTILLONNAGE D'UN PEUPLEMENT DIATOMIQUE A RE SUB SUBSTRAT ARTIFICIEL
<u> </u>	Présentation générale et résumé
2.	Manuscrit publié dans Journal of Applied Phycology 26 (2014) : 1759-1771

<u>CHAF</u>	PITRE	IV. DIATOMEES MARINES DE MARTINIQUE
1.		Composition des assemblages de diatomées87
2.		Description d'un nouveau genre : <i>Madinithidium</i> 95
	2.1.	Présentation générale et résumé95
	2.2.	Manuscrit accepté dans la revue Phycologia99
<u>CHAF</u>	PITRE	V. EVALUATION DE LA CAPACITE BIOINDICATRICE DES DIATOMEES MARINES EN EAUX
TROP	PICALI	ES OLIGOTROPHES116
1.		Calage du jeu de données pour l'analyse117
	1.1.	Données abiotiques 117
	1.2.	Données biologiques
2.		Caractérisation physico-chimique des sites
	2.1.	Éléments d'aide à l'interprétation des résultats de chimie 122
	2.2.	Analyse générale 123
	2.3.	Analyse spatiale : ACP 129
3.		Relation assemblages – environnement : ACC
	3.1.	Analyse sur l'ensemble des paramètres physico-chimiques132
	3.2.	Analyse sur un nombre restreint de paramètres136
4.		Caractérisation des assemblages d'espèces – biotypologies : CAH et IndVal multipattern 139
5.		Discussion
	5.1.	Caractérisation abiotique des sites143
	5.2.	Lien entre chimie et assemblages d'espèces 145
<u>CHAF</u>	PITRE	VI. DISCUSSION GENERALE
1.		Perspectives
2.		Conclusion 153
Biblic	OGRAP	HIE154
ANNE	XE 1. (GUIDE PRATIQUE POUR L'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES DE MARTINIQUE :
		PARTIE 1
ANNE	XE 2. F	RESULTATS BRUTS D'INTERCALIBRATION
ANNE	XE 3. F	RESULTATS BRUTS INDVAL MULTIPATTERN216

Liste des figures

Figure 0-1. Plan de thèse	9
Figure I-1. Les différents modes d'attachements et de croissances des diatomées benthiques	12
Figure I-2. Représentation schématique de la colonisation d'un substrat par une communauté	
algale	13
Figure I-3. Schéma du frustule d'une diatomée pennée	14
Figure I-4. Effet de la reproduction asexuée et sexuée sur la taille des frustules, règle de	
MacDonald & Pfitzer	15
Figure I-5. Photographies au microscope électronique à balayage d'un pédoncule mucilagineux	(a)
et de pores apicaux d'où sont excrétés les polysaccharides (b)	16
Figure I-6. Représentation schématique des trois principaux types de motifs chez les diatomées	s 17
Figure I-7. Représentation schématique d'une valve avec les types d'ornementations nécessaire	es à
l'identification	18
Figure II-1. Carte générale de la Martinique et du plateau insulaire	40
Figure II-2. Stations complémentaires Carrière et STEP Desmarinière	42
Figure II-3. Stations d'étude autour de la Martinique	43
Figure II-4. Procédure de traitement des échantillons, à chaud et à froid, en vue de l'observatio	n
des frustules de diatomées	45
Figure II-5. Pourcentage de nouveaux taxons par nombre d'unités diatomiques comptées	46
Figure II-6. Evolution des indices de diversité (H') et d'Equitabilité (E) en fonction du nombre	
d'unités diatomiques comptés sur une lame	47
Figure II-7. Richesse en espèce, Diversité (H') et Equitabilité (E) moyens pour les même	
échantillons traités à chaud et à froid	48
Figure II-8. Planche iconographique de l'espèce Mastogloia corsicana Grunow in Cl. & Möller	50
Figure II-9. Exemple de planche du guide des espèces	51
Figure II-10. Matériel et installation pour les prélèvements physico-chimiques	54
Figure II-11. Synthèse des étapes de l'analyse statistique des données	57
Figure III-1. Supports de substrats artificiel et plan d'échantillonnage pour l'élaboration du	
protocole de croissance	65
Figure IV-1. Genres représentés dans les inventaires par plus de dix espèces	89
Figure IV-2. Importance des genres vis-à-vis du nombre total d'espèces ou de l'abondance total	le
	89
Figure IV-3. Espèces les plus représentées par leur abondance relative moyenne	94
Figure IV-4. Extrait du Guide Iconographique des Espèces Marines de Martinique, Achnanthidiu	ım
	97
Figure IV-5. Abondance relative moyenne de <i>M.undulatum</i> aux sites d'échantillonnage	98
Figure V-1. Résultats de l'exercice d'intercalibration pour les paramètres phosphate, phosphore	е
total dissous, carbone organique dissous et total, sulfates et éléments azotés	120
Figure V-2. Valeurs moyennes des principaux paramètres physico-chimiques pour chacun des s	ites
échantillonnés	128
Figure V-3. Analyse en composantes principales sur l'ensemble des paramètres physico-chimiques des physico-chimiques	ues
	131

Figure V-4 Représentation vectorielle de l'ensemble des paramètres physico-chimique en ACP (a)
et ACC (b)
Figure V-5. Analyse canonique des correspondances sur 23 paramètres physico-chimiques et sur
la matrice de données biologiques seuillée, axes 3 et 4 135
Figure V-6. Analyse canonique des correspondances sur 19 paramètres physico-chimiques et sur
la matrice de données biologiques seuillée, axes 1 et 2 138
Figure V-7. Classification hiérarchique des sites à partir des données d'assemblages d'espèces,
avec définition de sept groupes de sites et précisions sur la chimie caractéristique et les espèces
indicatrices de chaque groupe 14:
Figure V-8. Valeurs de physico-chimie à chaque groupe de site défini par la CAH, pour 19
paramètres 142

Liste des tableaux

Tableau 0-1. Descripteurs de la directive Stratégie pour le milieu marin	5		
Tableau II-1. Liste des sites d'étude sur le littoral côtier martiniquais	41		
Tableau II-2. Paramètres chimiques analysés au laboratoire pour la phase d'acquisition des			
données et paramètres calculés	53		
Tableau II-3. Formules de conversions en μ mol l ⁻¹ et formules de calcul des nouveaux paramèti			
	54		
Tableau II-4. Laboratoires choisis et techniques utilisées pour l'exercice d'intercalibration	56		
Tableau III-1. Critères pris en compte pour la mise au point d'un protocole d'échantillonnage			
adapté aux diatomées marines benthiques, sur substrat artificiel	64		
Tableau V-1. Résultats des principaux paramètres pour chaque site	126		

Contexte

L'étude de la capacité bioindicatrice des diatomées marines benthiques constitue une nouveauté dans le domaine des bioindicateurs développés pour évaluer la qualité de l'eau et de l'environnement en milieu marin. Ce travail de thèse développé en particulier sur les assemblages de diatomées marines benthiques de Martinique est né d'une volonté locale des gestionnaires de l'environnement d'explorer de nouvelles pistes pour l'évaluation de la qualité biologique du milieu. Afin de protéger la ressource en eau, l'Europe a élaboré la Directive Cadre sur l'eau 2000/60/CE (DCE ou WFD) (Parlement européen & Conseil de l'union européenne 2000) qui établit le cadre de la politique communautaire pour les eaux intérieures de surfaces, les eaux de transition, les eaux côtières et les eaux souterraines et fixe pour les eaux estuariennes et côtières l'atteinte du bon état écologique pour 2015 au plus tard. Pour pallier aux contraintes spécifiques liées aux eaux côtières et élargir le domaine d'application au domaine maritime jusqu'à 200 miles nautiques, la directive cadre 2008/56/CE dite « Stratégie pour le milieu marin » (MSFD) (Parlement européen & Conseil de l'union européenne 2008) a été rédigée. Elle a pour objectif l'atteinte ou le maintien du bon état écologique du milieu marin pour 2020 au plus tard. La DCE exige une analyse intégrée de la qualité de l'eau, par le biais de nombreux éléments de qualité biologique (phytoplancton, macroalgues et phanérogames, faune benthique invertébrée, ichtyofaune) combinés à des éléments de qualité physico-chimique (transparence, oxygène dissous, nutriments, polluants). La MSFD présente 11 descripteurs (tableau 0-1) pour définir le bon état écologique, incluant l'eutrophisation d'origine anthropique, la diversité biologique et la concentration des contaminants.

Tableau 0-1. Descripteurs de la directive Stratégie pour le milieu marin

Descripteurs de la MSFD	
- eutrophisation d'origine anthropique	- déchets marins
 espèces non indigènes 	- modifications des conditions hydrographiques
 espèces de pêche commerciale 	- concentration des contaminants
- réseau trophique marin	- contamination des organismes destinés à la
- diversité biologique	consommation humaine
- intégrité des fonds marins	- énergies marines

En gras : descripteurs recoupant les exigences de la DCE.

Ces descripteurs impliquent les mêmes éléments de qualité que ceux évoqués dans la DCE. A partir des éléments biologiques désignés par la DCE, plusieurs paramètres et critères sont mesurés et observés pour aboutir à une valeur. Ces paramètres et critères sont autant d'indices auxquels sont attribués des notes servant à évaluer la qualité du milieu. Les indices multimétriques sont basés sur des descripteurs de la population et sont calculés à partir des données de richesse, abondance ou biomasse de taxons donnés. Ils vont évaluer l'effet des modifications du milieu sur la structure des communautés. Les indices fonctionnels ou biotiques sont basés sur la composition en espèces des échantillons, sachant que chaque espèce pourra avoir une sensibilité différente ou va répondre aux modifications du milieu par un changement fonctionnel comme la modification de l'activité photosynthétique, du taux de croissance ou de la fécondité (stratégie écologique r ou k) (Borja *et al.* 2009). Ils sont calculés en tenant compte de la valeur indicatrice et de la sensibilité des espèces composant le peuplement. Certains indices fonctionnels vont également intégrer des descripteurs de population dans leur calcul.

En Martinique, les éléments biologiques considérés pour le milieu marin dans le cadre du suivi DCE réalisé depuis 2007 sont le phytoplancton, les communautés benthiques coralliennes, les herbiers de phanérogames marines et la macrofaune des sédiments meubles (Impact Mer & Pareto Ecoconsult 2012). Pour le phytoplancton, la concentration en chlorophylle *a*, qui traduit la biomasse algale, est le paramètre utilisé pour évaluer la qualité du milieu. Pour les communautés coralliennes, les métriques considérées pour l'évaluation des sites sont en constante réévaluation et adaptation au fil des années de suivi, dans le but d'identifier les meilleures métriques à retenir. Ces dernières comprennent notamment la mesure de la couverture corallienne, du ratio corail/macroalgues, de la couverture algale et du type d'algue dominante. Pour les herbiers, la méthodologie à appliquer n'est pas non plus clairement établie et les résultats n'entrent pas pour l'instant dans l'évaluation de la qualité des masses d'eau de transition, zone où l'occurrence des substrats vaseux est plus importante. Cet élément biologique permet le calcul de l'indice M-AMBI qui combine richesse, diversité et indice fonctionnel AMBI (AZTI's Marine Biotic Index).

Malgré la considération d'un nombre important d'éléments biologiques, aucun d'eux n'est entièrement satisfaisant au regard de ses qualités de bioindicateur ou concernant le calcul d'un indice de qualité. Les résultats des indices de qualité basés sur des descripteurs de peuplement peuvent varier en fonction du type d'environnement, des conditions naturelles et ainsi masquer la pression anthropique que l'on souhaite réellement mesurer. Il s'avère que peu d'indicateurs biologiques sont ubiquistes en termes de répartition géographique et d'écosystèmes marins, c'est-à-dire que peu d'indicateurs peuvent être collectés ou mesurés dans toutes les zones littorales et traduire par un même indice la qualité au niveau de différents types d'écosystèmes. La DCE marine dans les DOM est encore à la recherche de meilleurs éléments biologiques et de meilleures métriques pour traduire la qualité des masses d'eau (CREOCEAN 2012; Impact Mer & Ginger Environnement 2012). Des travaux se poursuivent pour améliorer l'utilisation des éléments biologiques déjà suivis, tout en prospectant de nouveau outils qui pourraient s'avérer efficaces. En Europe, les métriques utilisées connaissent également des limites régionales et des recherches sont en cours notamment pour une meilleure utilisation du phytoplancton (Lopez y Royo et al. 2011; Pachés et al. 2012; Borja et al. 2013; Garmendia et al. 2013; Mascaro et al. 2013).

Cette étude sur les diatomées benthiques marines a été initiée dans l'objectif d'acquérir des connaissances taxonomiques et écologiques sur ce groupe en milieu marin, avec à l'esprit que ces organismes présentent des caractéristiques qui en font de bons bioindicateurs de la qualité des eaux. En effet, les diatomées benthiques sont largement utilisées en milieu dulçaquicole, depuis les années 1970, pour l'évaluation de la qualité du milieu à partir du calcul de divers indices biologiques (Descy 1979; Lange-Bertalot 1979; Prygiel & Coste 1996). Ces indices, dits fonctionnels, sont basés sur les traits écologiques des espèces de diatomées benthiques formant une communauté à l'équilibre. Ils ont nécessité un travail extensif tant sur la description des espèces au niveau taxonomique que sur la définition de leur *optima* de croissance par l'acquisition d'un jeu de données conséquent sur la physico-chimie de l'eau.

Notre hypothèse de départ stipule que les diatomées marines benthiques pourraient, au même titre que les espèces d'eau douce, servir d'indicateur de la qualité de l'eau. La principale différence entre le milieu marin et le milieu dulçaquicole vient du fait que le premier est complexe, de par son hétérogénéité morphologique (variabilité des fonds marins), mais aussi physique (courants, marées) et chimique (salinité, disponibilité des nutriments). Le milieu marin est un milieu ouvert dans lequel la circulation de la masse d'eau va différer en fonction de la distance à la côte du fait de l'impact de la profondeur sur l'effet de la marée, de l'effet de la côte sur la vitesse et la direction du courant, et des apports fluviaux. La physico-chimie de l'eau en un site donné est donc difficile à évaluer et peu contrastée du fait d'un important facteur dilution lié à cette circulation variable. De plus, les nutriments apportés dans le milieu sont rapidement consommés par les organismes (cf. § 2.1). Ainsi, la difficulté majeure liée à l'usage des diatomées benthiques marines comme bioindicateurs est avant tout de savoir si les espèces sont sensibles à de faibles variations de la physico-chimie de l'eau. En cas d'apports réguliers en nutriments, il est avéré que les communautés côtières sont affectées par ces enrichissements. Cela s'observe notamment par le développement des macroalgues et la modification des herbiers (Lapointe et al. 2004a; Burkholder et al. 2007). Quelques études, en milieux mésotrophes (Hillebrand & Sommer 1997; Agatz et al. 1999; Weckström & Juggins 2005) et oligotrophes (Frankovich et al. 2006; Vermeulen 2013), ont mis en avant la possible réponse des communautés de diatomées épilithiques, epipéliques et épiphytes face à des changements de concentrations en azote et phosphore du milieu. La seconde difficulté liée à l'étude des diatomées marines porte sur le manque de données sur la taxonomie des espèces et sur la faible connaissance des préférences et traits écologiques des espèces marines. Contrairement aux milieux dulçaquicoles où les diatomées sont depuis longtemps étudiées dans une perspective de bioindication, c'est-à-dire avec à la fois une prise en compte de la taxonomie et de la physico-chimie du milieu, les diatomées marines sont essentiellement étudiées d'un point de vue strictement taxonomique, pour un usage en paléoécologie (Gaiser et al. 2005) ou pour définir la productivité du milieu (Cahoon et al. 1999; Bucolo et al. 2008). L'aspect écologie des espèces est donc très peu abordé. Concernant la taxonomie, de nouvelles espèces et même de nouveaux genres sont régulièrement découverts, nécessitant un important travail de bibliographie et de photographie des spécimens avant de pouvoir entreprendre des comptages.

Ce travail de thèse a porté sur l'exploration de la capacité bioindicatrice des diatomées marines benthiques du milieu littoral martiniquais. La question de départ était : les assemblages d'espèces vont-ils varier en fonction des pressions subies par le milieu et si oui, ces assemblages seront-ils spécifiques en fonction du type de pression ? Etant donné que l'objectif était d'identifier un nouvel outil de suivi applicable à la Directive Cadre sur l'Eau en milieu littoral, la réponse à cette question a nécessité la mise au point d'un protocole permettant un suivi, et donc un échantillonnage, de routine.

Le présent manuscrit se découpe selon les chapitres suivants (Fig.0-1) :

- le Chapitre I est une introduction générale au sujet. Il décrit dans un premier temps l'organisation des diatomées au sein du biofilm, la biologie des diatomées, ainsi que les critères d'identification des espèces et la classification. Dans un second temps, le principe de la bioindication est introduit par un article qui passe en revue les critères définissant un bioindicateur et fait la distinction entre indice multimétrique et fonctionnel. Il fait un point sur la bioindication par les diatomées en eau douce et les indicateur utilisés en milieu côtier pour qualifier l'état du milieu (Article 1) ;

- le Chapitre II correspond au matériel et méthodes. Il décrit les sites d'études, le plan d'échantillonnage, les paramètres mesurés et les outils mis en place pour l'identification des espèces ;

- le Chapitre III expose à travers un article les résultats de la mise au point du protocole d'échantillonnage sur substrats artificiels. Cette partie a consisté à tester la croissance du biofilm et le développement des diatomées sur trois types de substrats, pendant huit semaines. L'objectif a été de déterminer le substrat permettant la meilleure croissance et le temps de pose minimal pour obtenir une communauté à l'équilibre (Article 2) ;

- le Chapitre IV porte sur la taxonomie des espèces et se découpe en deux parties. Il présente d'abord la composition en espèces des assemblages de diatomées benthiques retrouvés sur les sites d'étude. Ensuite il fait la description, à travers un article, d'un nouveau genre, *Madinithidium*, abondant dans nos échantillons (Article 3) ;

- le Chapitre V est consacré à l'évaluation de la capacité bioindicatrice des diatomées marines.
 Il expose les résultats de physico-chimie des sites d'étude et se penche sur les difficultés d'interprétation. Il détaille les étapes de la démarche analytique sur le jeu de données abiotiques et biologiques. Les résultats de physico-chimie sont détaillés et commentés et des gradients sont mis en avant. La classification hierarchique permet de définir des taxons cibles.

- le Chapitre VI constitue une discussion intégrée de l'ensemble des résultats et les perspectives quant aux possibilités de développement d'un indice diatomique marin pour les eaux côtières de Martinique.

Objectif:

Estimer la qualité de l'environnement côtier via des différences dans la composition des assemblages de diatomées

Comment y arriver?

- 1. Identifier les contraintes de la bioindication par les diatomées marines
- 2. Elaborer un protocole d'échantillonnage adapté à un usage en routine
- 3. Constituer un jeu de données ayant en parallèle des données d'inventaire et de chimie de l'eau
- 4. Etablir les relations espèces/qualité de l'eau

Chap I. Présentation générale des diatomées, bioindication marine et arguments pour l'utilisation des diatomées marines

- Diatomées benthiques présentes dans tous les types d'écosystèmes, des eaux eutrophes à oligotrophes

- Difficultés liées à la chimie marine et à la taxonomie des espèces Article 1

Chap II. Matériel et méthodes

Sites d'études ; matériel diatomique : traitement des échantillon, étapes d'identification des espèces ; chimie marine

Chap III. Protocole d'échantillonnage sur substrat artificiel

Mise au point d'un support de substrat, test de matériaux pour le substrat, détermination du temps de pose Article 2

Chap IV. Diatomées marines de Martinique

- Données générales sur les assemblages de Martinique - Description d'un nouveau genre de monoraphidés : *Madinithidium* Article 3

Chap V. Capacité bioindicatrice des diatomées

- Calage de la matrice de données chimie
- Physico-chimie générale des sites
- Gradients d'anthropisation et biotypologie des assemblages

Chap VI. Discussion générale

Figure 0-1. Plan de thèse

CHAPITRE I. INTRODUCTION GENERALE

1. Le biofilm et les diatomées

1.1. Biofilm

L'exposition de quasiment toute surface en milieu aquatique conduit à une colonisation rapide de celui-ci par des organismes vivants, suivant une séquence admise. Il y a en premier lieu formation d'un film primaire, composé de macromolécules organiques et inorganiques présentes dans le milieu ou sécrétées par les micro-organismes, et de bactéries, microalgues (microeucaryotes photosynthétiques dont les diatomées et cyanobactéries), microeucaryotes hétérotrophes, champignons et larves d'invertébrés (Compère 1999). Ces premiers éléments sont appelés biofilm, microsalissures (microfouling) microphytobenthos ou périphyton (Cooksey et al. 1984; Hillebrand & Sommer 1997 ; Lewis et al. 2002 ; Flemming & Wingender 2010). Si la surface est un substrat dur, la croissance du biofilm se poursuit par une phase de fixation et de développement des organismes de plus grande taille comprenant les macroalgues et la macrofaune (Diaz-Castaneda & Almeda-Jauregui 1999; Diaz-Pulido & McCook 2002; Azevado et al. 2006; Hutchinson et al. 2006). Les diatomées dominent généralement par leur abondance dans le biofilm (Hillebrand & Sommer 1997 ; Patil & Anil 2005b; Hutchinson et al. 2006). La vitesse de colonisation d'un substrat par les diatomées va dépendre des espèces et des conditions de température, salinité, lumière et concentrations en nutriments que ces microalgues vont rencontrer. Les diatomées ont un taux de croissance de 0,06 -0,4 divisions/jour, correspondant à un temps de génération, ou temps de doublement de la population de 1,7 - 15 jours (Eppley 1977 ; Furnas 1991 ; Morin et al. 2008a). Chaque espèce possède ses propres conditions optimales de croissance, définissant ses preferenda écologiques (Van Dam et al. 1994). Au sein du biofilm, la compétition pour les substances nutritives et la lumière est importante. Chaque espèce se caractérise par un mode d'attachement propre de façon à adapter les contraintes environnementales à ses propres exigences (Barber & Haworth 1994). L'arrangement des espèces entre elles donne au biofilm une structure tridimensionnelle (Fig. I-1). La colonisation d'un substrat par les diatomées présente des phases de successions qui s'apparentent d'après Hoagland et al. (1982) à la succession des plantes supérieures. Les deux critères de comparaisons sont l'évolution constante de la structure de la communauté passant d'espèce de petite stature vers des espèces de haute stature et le ralentissement progressif de la succession (croissance exponentielle suivie d'une phase plateau). D'une manière générale, les espèces fixées à plat au substrat -prostrées - et de petite taille sont les premières. Elles appartiennent notamment aux genres Amphora C.G. Ehrenberg ex F.T. Kützing, Cocconeis C.G. Ehrenberg, Navicula J.B.M. Bory de St. Vincent, Rhopalodia O Müller. Certains taxons sont fixés à la verticale par un coussin de mucilage et forment des rosettes, tels que des espèces des genres Achnanthes J.B.M. Bory de St. Vincent, Fragilaria H.C. Lyngbye, Grammatophora C.G. Ehrenberg, Licmophora C.A. Agardh, Nitzschia A.H. Hassall, Synedra C.G. Ehrenberg, Tabularia D.M. Williams et F.E. Round. D'autres se développent en s'éloignant du substrat par la formation d'un pédoncule mucilagineux court -espèces stipées- ou long (Gomphonema C.G. Ehrenberg) ou en formant des colonies en chaine (Melosira C.A. Agardh). Le biofilm contient également des taxons mobiles entremêlés à la matrice. Totti et al. (2007) identifie des espèces de Gyrosigma A. Hassall, Plagiotropis E. Pfitzer, Pleurosigma W.Smith, Navicula, Nitzschia et Tryblionella W. Smith, comme appartenant à ce type. Enfin, certaines cellules épiphytes vivent attachées à d'autres diatomées ou aux macroalgues qui sont présentes. Cela est souvent le cas des espèces appartenant aux genres Achnanthidium F.T. Kützing, Amphora, Cocconeis. Hoagland et al. (1982) ont observé un piégeage des éléments particulaires du milieu dans la matrice



mucilagineuse ou le long des pédoncules, suggérant une probable importance de ces particules dans la dynamique d'accès aux nutriments et dans la stabilisation du microhabitat.

Figure I-1. Les différents modes d'attachements et de croissances des diatomées benthiques

(a) prostrée;
 (b) verticales fixées par un coussin de mucilage;
 (c) stipée;
 (d) à pédoncule long;
 (e) mobile;
 (f) épiphytes;
 (g) colonies en chaine. Adapté de Lavoie 2008.

Les successions d'espèces de diatomées d'un biofilm sont conditionnées, entre autres, par les saisons (température, luminosité), l'érosion du biofilm par le courant, le broutage par les herbivores, et par la compétition interspécifique. Hoagland et al. (1982) mettent en évidence une compétition pour l'espace en deux phases au sein du biofilm, pouvant s'expliquer par l'existence de gradients de CO₂, de lumière et de nutriments. Dans un premier temps, la diminution des abondances spécifiques au fur et à mesure du recouvrement du substrat suggère une compétition pour l'espace horizontal. Dans un second temps après plusieurs semaines de colonisation du substrat, l'amplification des gradients induit un développement vertical à la recherche de nouvelles conditions de croissance. Tuji & Hino (2000) suggèrent, pour un biofilm développé en milieu lacustre et lotique, une succession en trois phases (Fig. I-2). La première phase se compose d'espèces en rosette qui ont un important pouvoir d'accroche et également d'espèce mobiles, toutes adaptées à une luminosité importante. La phase 2 est caractérisée par le développement d'espèces pédonculées, qui donnent de la hauteur au biofilm et diminue la pénétration de la lumière pour les espèces de la première couche. La phase 3 voit le développement d'espèces en rosette qui vont s'accrocher sur la partie haute des espèces à pédoncule long, et d'espèces enchevêtrées dans la partie haute du biofilm. Ces espèces sont de petites tailles et ont une croissance rapide. Le broutage ou l'action du courant sur la partie haute du substrat créent des zones de perturbations et ramènent le biofilm à une architecture similaire à la phase 1 mais avec un taux d'installation des espèces pédonculées plus important qu'à la phase 1. La

seconde succession sera ainsi plus riche en espèces pédonculées et les répétitions de ce cycle perturbation-reconstruction du biofilm joueront en faveur d'un type d'espèce. Même si il y a fort à penser que ce cycle concernera des types d'espèces différents au sein d'un biofilm de milieu marin tropical, le principe de la succession et de l'atteinte d'une stabilité évolutive (perpétuel renouvellement des phases 2 et 3) du biofilm est un paramètre à prendre en compte pour l'échantillonnage sur substrat artificiel.



Figure I-2. Représentation schématique de la colonisation d'un substrat par une communauté algale Phase 1 : Premières espèces colonisatrices, espèce mobiles et verticales en rosettes ; Phase 2 : espèces pédonculées ; Phase 3 : espèces enchevêtrées. (D'après Tuji & Hino 2000).

Les communautés benthiques sont classées selon le type de substrat auquel elles se fixent. Les communautés associées au sédiment fin (granulosité < 63 μ m) sont épipéliques et épipsamiques s'il s'agit de sable (granulosité > 63 μ m). Les espèces formant ces communautés sont pour la plupart mobiles et se déplacent en profondeur ou à la surface du sédiment car elles sont soumises à l'enfouissement par le dépôt de nouveaux sédiments, à la variabilité de la luminosité dans les zones intertidales où la variation de hauteur d'eau au-dessus du sédiment, au broutage par les organismes vivant au-dessus et au sein du sédiment. Les concentrations en nutriments de ces milieux sont élevées, de même qu'il peut y avoir de forts taux en macropolluants et métaux (Round et al. 1990). Les communautés épilithiques, fixées aux substrats durs, ne présentent généralement pas des assemblages strictement formés de diatomées mais comprenant aussi divers types d'algues, puisque pour des raisons physiques il s'agit d'un support inerte (vs. végétaux ou animaux) et offrant une large surface d'accroche (vs. sédiments). Les diatomées fixées aux végétaux sont dites épiphytes, et le type de support va influencer les espèces qui formeront le biofilm (Hernandez-Almeida & Sigueiros-Beltrones 2008). Enfin, les communautés épizoiques sont attachées à du zooplancton et des animaux tels que des ciliés, crustacés, mollusques, tortues, baleines, etc. (Holmes 1985 ; Fernandes & Calixto-Feres 2012).

1.2. Les diatomées

Les diatomées (Bacillariophyta) sont des algues unicellulaires étudiées par les naturalistes depuis environ 300 ans (Kelly, 2000). La raison de cette fascination provient de leur enveloppe cellulaire composée de dioxyde de silice (SiO₂), qui présente des ornementations particulières à chaque espèce. Ces algues microscopiques, dont la taille varie de 2 μ m à plusieurs millimètres (Round *et al.* 1990), peuvent être solitaires ou coloniales, planctoniques (libres) ou benthiques (accrochées au substrat). Il y aurait entre 10⁴ et 2 x 10⁵ espèces de diatomées (Mann & Droop 1996), appartenant à plus de 250 genres, colonisant les environnements marins, d'eaux douces et terrestres.

Les espèces de diatomées sont identifiées en microscopie optique et électronique grâce aux critères que présente leur enveloppe siliceuse, le frustule. Il est nécessaire de bien comprendre l'organisation de cette enveloppe avant d'entreprendre l'identification des espèces. L'ensemble des termes sont donnés en français et en anglais (si différents) puisque les ouvrages et les articles décrivant les espèces sont pour la plupart en anglais (ou en allemand). Le frustule se compose de deux parties - les valves - de taille légèrement différentes qui s'emboitent comme les deux parties d'une boite de Pétri. Les valves sont reliées entre elles par plusieurs bandes, les ceintures connectives (« girdle »). La valve la plus large - l'épivalve - associée à une ou plusieurs ceintures connectives, forment l'épithèque. La valve inférieure - l'hypovalve - également associée à une ou plusieurs ceintures connectives, forment l'hypothèque (Fig. I-3).



Figure I-3. Schéma du frustule d'une diatomée pennée

(1) Epivalve ; (1a) manteau de l'épivalve ; (2) Epicingulum ; (3) Hypocingulum ; (4) Hypovalve ; (4a) manteau de l'épivalve ; (5) Frustule formé de l'épithèque et de l'hypothèque ; (6) Vue connective (girdle view) montrant le chevauchement des ceintures connectives. (Source Barber & Haworth 1994).

Les diatomées se reproduisent principalement de façon asexuée par scission de la cellule mais peuvent avoir recours à la reproduction sexuée pour assurer leur survie en conditions extrêmes (Fig. I-4). La règle de MacDonald & Pfitzer explique la diminution progressive de la taille des cellules suite à des divisions cellulaires répétées et de ce fait met en avant l'importance de l'épivalve et de



l'hypovalve dans ce processus. Ainsi une espèce peut avoir un large continuum de hauteur de valve, mais la largeur quant à elle reste fixe. Le retour à la taille de départ se fait par reproduction sexuée.

Figure I-4. Effet de la reproduction asexuée et sexuée sur la taille des frustules, règle de MacDonald & Pfitzer

(a) Reproduction par scission : chaque division conserve une cellule de la même taille que la cellulemère (épivalve) et produit une cellule plus petite (hypovalve). (b) Réduction progressive de la taille du frustule, et rétablissement de la taille maximale par reproduction sexuée. (Source Lavoie *et al.* 2008).

L'enveloppe cellulaire des diatomées est essentiellement composée, entre 10 et 72% selon les espèces, de silice amorphe ou dioxyde de silice SiO₂ (Round et al. 1990). Les espèces marines contiennent en moyenne dix fois moins de silice que les espèces d'eau douce. La principale forme de silice en solution est l'acide orthosilicique $Si(OH)_4$ et sa concentration dans l'eau peut devenir très faible du fait de sa fixation par les diatomées présentes. En milieu marin, les concentrations en Si(OH)₄ dans la colonne d'eau sont naturellement faibles, expliquant la faible silicification, et plus particulièrement celle des espèces planctoniques. L'absorption du Si(OH)₄ par la cellule se fait essentiellement durant la phase de formation de nouvelles valves. Le Si(OH)₄ vient se stocker dans un organite particulier, les SDV (silica deposition vesicle). A l'intérieur des SDV, la polymérisation de l'acide orthosilicique en silice est contrôlée par des protéines appelées silafines. Durant la division cellulaire, chaque hypovalve est formée à l'intérieure d'une SDV qui se trouve entre les deux valves de la cellule mère. La membrane de la vésicule va contrôler la vitesse et la position des dépôts de silice. Les ornementations de la structure siliceuse (stries, pores, raphé, chambres, etc.) résultent donc de processus cellulaires inhérents à chaque espèce (Werner 1977 ; Julius & Theriot 2010). Le frustule présente plusieurs ouvertures qui permettent à la partie organique de la cellule de communiquer avec son environnement (Fig. I-5 b). Ces ouvertures vont des simples pores à des structures spécialisées ayant une microarchitecture extrêmement complexe (Hoagland et al. 1982).

Par certaines de ces extrémités, les diatomées vont excréter des polysaccharides qui formeront, en fonction du type d'attachement de la cellule, une matrice mucilagineuse autour des cellules ou un pédoncule (Fig.I-5 a) (Flemming & Wingender 2010).



Figure I-5. Photographies au microscope électronique à balayage d'un pédoncule mucilagineux (a) et de pores apicaux d'où sont excrétés les polysaccharides (b)

Adapté de Hoagland et al. (1982).

1.3. Taxonomie et classification

La systématique classique des diatomées est celle proposée par Round et al. (1990), qui les divise en deux groupes selon qu'elles ont une symétrie radiale - les Centrales - ou longitudinale - les Pennales. Cette classification historique a fait l'objet d'une révision, au sein des niveaux taxonomiques supérieurs (Classes, Ordres, Familles), basée sur des données moléculaires et proposée par Medlin & Kaczmarska (2004). Cette version reste largement controversée (Williams & Kociolek 2007 ; Sims et al. 2006 ; Medlin 2009). Au niveau des genres et espèces, la classification est en constante évolution. Des recombinaisons ont eu lieu au cours des dernières décennies du fait de l'accès à l'imagerie électronique à balayage (MEB), mettant en avant des détails ultra-structuraux souvent invisibles en imagerie optique, plus récemment par la génétique, et par la perpétuelle exploration de nouvelles zones ou de nouveaux types de milieux. Les analyses phylogénétiques sont de plus en plus utilisées pour appuyer les recombinaisons basées sur des critères morphologiques (Hoppenrath et al. 2007; Sato et al. 2008a; Sato et al. 2008b; Trobajo et al. 2009). La plupart des Centrales sont des formes libres appartenant au phytoplancton alors que les Pennales sont des formes benthiques, qui peuvent temporairement être remises en suspension dans la colonne d'eau. Le système de classification basé sur les données moléculaire n'étant pas totalement admis par les diatomistes, c'est le système de Round et al. (1990) qui fera référence dans la présente thèse. Ce système divise les diatomées (Division BACILLARIOPHYTA) en trois classes comprenant les taxons à symétrie radiale (Classe Coscinodiscophyceae), les taxons à symétrie bilatérale sans fente centrale pennés araphides (Classe Fragilariophyceae) - et les taxons à symétrie bilatérale avec fente centrale pennés à raphé (Classe Bacillariophyceae) -, suggérant une évolution liée au développement de la valve à partir d'une structure centrale. Il est important de noter que la distinction entre les Centrales et les Pennales est basée sur la nature de la structure centrale et non sur le forme du contour, avec en exemple les genres Ardisonnea G. De Notaris, Climacosphenia C.G. Ehrenberg et Toxarium J.W. Bailey de forme allongée qui sont des Centrales (Medlin et al. 2008). Chez les Centrales, les stries se développent autour d'un anneau ou annulus (Fig. I-6 a). Chez les Pennales, la forme la plus développée de la structure centrale comprend deux fentes - le raphé - qui partent de chacun des pôles et se rejoignent dans la partie centrale (Fig. I-6 c). Selon la classification de Round et al. (1990), les diatomées ayant une forme de raphé réduite sont plus proches des Centrales. Les araphides n'ont pas de fente centrale mais un sternum ou pseudoraphé qui est une interruption des stries dans l'axe longitudinal de la valve (Fig. I-6 b). On retrouve à un ou aux deux pôles une petite fente, le rimoportule, considéré comme la forme primitive du raphé (Mann 1984). Parmi les taxons pennés à raphé, les monoraphides ont une valve à sternum et une valve à raphé et les biraphides ont un raphé sur chaque valve, qui peut être en forme de fente comme précédemment décrit ou porté par un canal raphéen en marge de la valve. Les recherches pour établir une classification cohérente sont plus que jamais d'actualité (Medlin & Kaczmarska 2004 ; Williams & Kociolek 2007) et le recours à la phylogénétique a démontré que parmi les trois grandes classes de diatomées seul le groupe des pennées à raphé est monophylétique, c'est-à-dire ayant un lien ancestral unique qui relie toutes les espèces du groupe (Julius & Theriot 2010).



Figure I-6. Représentation schématique des trois principaux types de motifs chez les diatomées

(a) centrique, avec les stries radiante depuis un anneau central, (b) penné simple, les stries s'étendent de chaque côté d'un élément longitudinal (sternum), (c) penné à raphé, les stries s'étendent de chaque côté d'un élément longitudinal contenant un ou deux fentes (raphé-sternum). (Source Round *et al.* 1990).

Les critères d'identification des espèces sont basés sur la présence ou non d'un raphé, la position du raphé et la forme des terminaisons, la forme générale de la valve (type de symétrie et contours), la forme des extrémités, les caractéristiques des stries (forme des aréoles et orientation des stries) et la présence de structures spéciales (chambre marginale, cloison interne, fibule, stigma) (Fig. I-7). La forme générale de la valve s'observe selon deux axes de symétrie, l'axe apical ou longitudinal qui relie les deux pôles et l'axe transapical ou transversal qui est perpendiculaire aux pôles. Sur le plan apical, la valve a une symétrie latérale si elle est identique des deux côtés (ex. Navicula) et une symétrie bilatérale si les deux côtés diffèrent, voire dorsiventrale si un côté est beaucoup plus développé que l'autre (ex. Amphora, Seminavis D.G. Mann). Sur le pan transapical, une valve est dite isopolaire si les deux pôles sont similaires et hétéropolaire s'ils sont différents (ex. Licmophora, Opephora P.Petit). La forme des contours est décrite en plusieurs catégories (linéaire, lancéolé, elliptique, et leurs inter-combinaisons) de même que celles des pôles (rond, obtus, capité, rostré et leurs inter-combinaisons). Les stries sont formées d'aréoles pouvant avoir diverses formes : ponctuées, linéaires (linéole) ou regroupées en une seule grande (macroaréole). Une strie sera fine si elle est unisériée, c'est-à-dire formée d'une seule ligne d'aréoles, et plus épaisse si elle est bi ou multisériée. L'orientation des stries (radiales, convergentes, parallèles) et la régularité de leur espacement sont également des critères importants. Les structures spéciales permettent de caractériser certains genres, comme c'est le cas des chambres marginales (partecta) sur le pourtour des valves de Mastogloia G.H.K. Thwaites ex W. Smith, les aires hyalines interrompant les stries des Fallacia A.J. Stickle & D.G. Mann et Lyrella N.I. Karajeva, le stigma au niveau de l'aire centrale des Luticola D.G. Mann ou encore la margue en fer à cheval de certaines espèces de Planothidium Round & Bukhtiyarova. La description des critères relatifs à chaque genre rencontré dans les eaux littorales de Martinique sont apportés en Annexe 1.



Figure I-7. Représentation schématique d'une valve avec les types d'ornementations nécessaires à l'identification

D'après Taylor et al. 2007.

La méthode traditionnelle d'identification des espèces par les critères taxonomiques est exigeante sur de nombreux aspects. Elle requiert un important travail préalable de description des espèces, un opérateur ayant une bonne connaissance des critères discriminants et une bibliographie conséquente sur la taxonomie des espèces. Pour offrir une alternative aux contraintes de cette méthode, la technique du « barcoding » a été explorée pour l'identification des espèces de diatomées (Mann et al. 2010). Cette technique consiste à séquencer un fragment du génome nucléaire d'une espèce pour comparer sa séguence à une base de séguences de référence composée de spécimens connus. Pour différentier les espèces, le concept du « barcoding » suppose que les séquences provenant d'individus d'une même espèce soient plus semblables entre elles que les séquences provenant d'individus appartenant à des espèces différentes (Kermarrec 2012). Le « barcoding » environnemental est la technique permettant d'identifier les espèces présentes dans un échantillon. Les principaux points de divergence entre cette technique et les comptages taxonomiques classiques ont été identifiés par Kermarrec (2012) comme provenant de la représentativité des bases de séquences de référence, des écarts entre la taxonomie moléculaire et celle basée sur la morphologie et des différences de persistance des frustules et de l'ADN dans le milieu naturel.

2. La bioindication en milieu marin et les perspectives de développement d'un nouvel outil à partir des diatomées marines benthiques

2.1. Résumé

D'une manière générale, il y a deux grands types d'approches pour caractériser l'état d'une masse d'eau : soit par des mesures physico-chimiques qui permettront d'évaluer les effets directs d'une pollution, soit par le recours à des indicateurs biologiques. Un bioindicateur va intégrer la variabilité temporelle et transmettre de manière simple un message complexe, en apportant des informations sur des évènements qui ne peuvent être directement observés. Les qualités d'un bioindicateur sont : (i) d'avoir un cycle de vie court pour intégrer les déséquilibres survenus à court terme dans le milieu ; (ii) d'être abondant et facile à échantillonner, (iii) d'apporter une réponse spécifique au type de pression qu'il a subie. Ce dernier point va permettre d'identifier les sources de pression afin d'engager des mesures de gestion efficaces par la suite (Ferreira et al. 2011). L'évaluation de la qualité du milieu via l'usage des bioindicateurs va aboutir au calcul d'une note d'indice, qui pourra être comparée à la valeur de référence d'une région donnée. Il sera intéressant de distinguer les indices multimétriques (cf. définition Contexte), qui vont donner une note d'état de la communauté, et les indices fonctionnels dont la note intègrera la sensibilité des espèces. Les textes européens qui apportent un cadre réglementaire au suivi de la qualité de milieu listent les grandes catégories de bioindicateurs, aussi appelés éléments de qualité biologique, qui doivent être suivis. Ainsi la qualité écologique d'une masse d'eau est obtenue en combinant les résultats liés aux éléments de qualité biologique - phytoplancton, macroalgues, phanérogames, benthos et poissons - et les résultats des paramètres chimiques (transparence, oxygène dissous, nutriments, polluants).

Le milieu marin étant complexe, de par son hétérogénéité morphologique (variabilité des fonds marins), mais aussi physique (courants, marées) et chimique (salinité, disponibilité des nutriments), il est difficile de lier information apportée par les éléments biologiques et état de la masse d'eau. De plus, l'existence de nombreux types d'écosystèmes rend complexe l'emploi d'indicateurs de qualité biologique adaptés à toutes les régions. Parmi les éléments de qualité biologiques définis par la DCE, les invertébrés benthiques sont les seuls pour lesquels un indice biotique est développé : l'AZTI's Marine Biotic Index (AMBI) (Borja & Muxika 2005). Cet indice est utilisé en Europe (Guillaumont & Gauthier 2005), mais aussi dans l'océan Indien (Bigot et al. 2008) et depuis peu aux Antilles (Impact Mer & Pareto Ecoconsult 2010) avec quelques adaptations. La plupart des évaluations de qualité sont basées sur des indices multimétriques ou mixtes. Pour les macroalgues, les indices développés allient des données sur la structure des populations à des informations sur le statut écologique des espèces présentes (Bermejo et al. 2012). En ce qui concerne les angiospermes, les indices multimétriques existants sont basés sur des mesures morphologiques et physiologiques (Lopez y Royo et al. 2011). Le phytoplancton, quant à lui, fait l'objet d'un suivi au niveau spécifique et d'un dosage des pigments chlorophylliens (Lewis et al. 2002; Verlecar et al. 2006; Coelho et al. 2007). Son caractère planctonique ainsi que sa forte variabilité saisonnière et spatiale rendent difficile le développement d'un indice fonctionnel. D'autres indicateurs biologiques sortant du cadre définit par la DCE peuvent qualifier l'état du milieu (Linton & Warner 2003). Les foraminifères – eucaryotes unicellulaires à squelette minéral perforé -, retrouvés au niveau du substrat des zones récifales, sont classés en trois groupes fonctionnels liés à la charge en nutriments du milieu. Cette classification permet le calcul de l'indice FORAM. Les éponges et les tuniciers apparaissent comme des organismes potentiellement intéressant pour le développement d'un indice fonctionnel puisqu'ils sont sessile et filtreurs. Des assemblages d'espèces ont été définis en fonction de leurs sensibilités à la qualité de l'environnement, sans pour l'instant donner lieu à un indice (Carballo & Naranjo 2002). Le récif corallien est un écosystème qui peut être étudié sous plusieurs angles, de l'état d'une colonie de corail à la structure des communautés macrobenthiques. La proportion corail/macroalgues est un indicateur à long terme de l'enrichissement du milieu en nutriments (Cooper et al. 2009).

Les diatomées benthiques marines sont pressenties comme pouvant être un bioindicateur intéressant, de par (i) leur cycle de vie court traduisant en simultané les changements de qualité du milieu, (ii) leur sensibilité à de nombreux paramètres, (iii) leur caractère ubiquiste. Les diatomées benthiques sont largement utilisées en milieu dulçaquicole, depuis les années 1970, pour l'évaluation de la qualité du milieu à partir du calcul de divers indices biotiques (Kelly & Whitton 1995 ; Prygiel & Coste 1996 ; Lecointe et al. 2003). Les indices sont basés sur la sensibilité ou la tolérance des espèces à divers paramètres physico-chimiques liés à la qualité organique et trophique de l'eau. Les recherches pour le développement d'indices à partir des diatomées benthiques d'eau douce ont permis d'acquérir des connaissances sur l'autoécologie des espèces, leur taxonomie et sur les méthodologies d'échantillonnage. En milieu marin, peu d'études ont été consacrées à établir un lien entre les paramètres du milieu et les espèces de diatomées recensées. De cette lacune découle des connaissances taxonomiques restreintes ainsi qu'une faible connaissance de la physiologie et de l'écologie des espèces marines. Les diatomées benthiques des sédiments – épipéliques - sont les plus étudiées (Underwood et al. 1998 ; Agatz et al. 1999, Facca & Sfriso 2007), mais peu intéressantes en terme de bioindication puisque les assemblages qui s'y développent seront représentatifs de l'état du sédiment. L'étude de Frankovich et al. (2006) rapporte les variations des assemblages d'espèces épiphytes en relation avec la physico-chimie de l'eau et les caractéristiques physiques des sites. Les auteurs caractérisent d'une part les conditions chimiques des sites et attribuent d'autre part une valeur indicatrice aux espèces présentes sur le site, selon la méthode de Dufrêne et Legendre (1997). Cette étude en milieu oligotrophe démontre que la distribution spatiale des diatomées épiphytes est structurée par la salinité et la disponibilité en nutriments, et ce pour des concentrations en nutriments proche de la limite de détection. Les diatomées épilithiques - inféodées aux substrats durs - sont étudiées par Hillebrand et Sommer (1997, 2000b) en zone mesotrophe. Sans étudier dans sa globalité la composition en espèces de diatomées du biofilm, les auteurs démontrent que l'importance (concentration) et le type (N, P, N+P) d'enrichissement apporté influence les taxons dominants retrouvés sur les substrats. Sommer (1996), qui analyse la croissance du périphyton en mésocosme avec des concentrations variables en silice, azote et phosphore, conclu également que les différentes espèces retrouvées possèdent chacune des conditions optimales de croissance.

Pour envisager l'utilisation des diatomées marines benthiques comme bioindicateur de la qualité de l'eau, il semble intéressant d'avoir recours à des substrats artificiels. En effet, les supports naturels sur lesquels peuvent se développer les diatomées sont d'une grande diversité et la croissance sur substrat artificiel permet d'obtenir un biofilm influencé uniquement par la colonne d'eau, permet de réduire la variabilité entre les sites et le contrôle de la profondeur, et enfin permet de choisir l'orientation et la nature du substrat. L'identification des espèces est également un aspect important et le nettoyage d'échantillons provenant de milieux oligotrophes devra se faire de façon à réduire la fragmentation des organismes peu silicifiés.

En conclusion, pour l'évaluation de la qualité des eaux littorales, les diatomées benthiques marines présentent l'avantage de pouvoir être échantillonnées dans tous les types d'écosystèmes côtiers, elles sont sensibles aux variations mêmes faibles de la concentration en nutriments du milieu, ont un cycle de vie court traduisant les pressions subies à court terme par le milieu et son facile à échantillonner. Sur le même principe que les échantillons concernant les diatomées d'eau douce, un indice fonctionnel pourrait être développé après l'amélioration des connaissances sur les sensibilités/tolérances des espèces et sur leur taxonomie.

2.2. Manuscrit publié dans Ecological Indicators 32 (2013) : 25-34

Bio-indicators in marine waters: Benthic diatoms as a tool to assess water quality from eutrophic to oligotrophic coastal ecosystems

Catherine Desrosiers^{a,b}, Joséphine Leflaive^b, Anne Eulin^a, Loïc Ten-Hage^b

^a Asconit Consultants, ZI Champigny, 97 224 Ducos, Martinique, France
 catherine.desrosiers@asconit.com
 ^b Laboratoire Ecologie Fonctionnelle et Environnement, UMR 5245 CNRS-INP-UPS, Université de
 Toulouse, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse, France
 loic.tenhage@univ-tlse3.fr
 josephine.leflaive@univ-tlse3.fr

Abstract

Marine waters in general and coastal areas in particular suffer globally from stressing events. These events can be largely attributed to higher levels of human-induced eutrophication, contamination by pollutant, and siltation. The European Union and other countries have adopted legislation to guide monitoring efforts and set goals for good quality coastal environments. Few biological quality elements were identified by legislators for their ability to detect and identify sources of ecosystem perturbations. Research programs have developed indices calculation methods for benthic invertebrate fauna, phytoplankton, macroalgae and angiosperms. Most of these indices are multimetric, based on the richness, abundance and biomass of the community. Such indices determine the quality at one site after observational comparison with a reference situation. Functional indices, however, are based on species ecological preferenda and autoecology. Since species are generally response-specific, functional index allows the discernment of the stressing factor involved in the ecosystem perturbation. The final index value provides a direct appreciation of the ecological status of the study site. At the present time, there are few functional indices that can be used on a routine basis for monitoring coastal waters. Because biological quality elements cited below are not available in all areas, the range of monitoring is restricted to particular environments. This review paper suggests that marine benthic diatoms (Bacillariophyceae) may result in a functional index. Arguments for the use of these organisms as bio-indicators include knowledge from the past and present use of diatoms in freshwater environmental analysis. Marine benthic diatoms are abundant and ubiquitous in terms of ecosystems and water chemistry and are sensitive to nutrient variation, as revealed by two studies conducted in mesotrophic and oligotrophic areas. This review is focused on benthic diatoms and reveals that no study has yet been conducted on the use of these organisms as bio-indicators. Aspects of practical sampling and sample treatment for marine diatoms are considered. As the bio-indication role of diatoms is little explored in marine environments, the dataset on ecological indicator values of species is scarce. Future work that relates to taxonomic determination and physico-chemical description of sites are needed to better define species ecological preferenda, prior to the development of a marine diatom biotic index.

Keywords: Coastal management, Bio-indicators, Bacillariophyceae, Ecological preferenda, Functional indices, indicator value

1. Introduction

The ecological and chemical monitoring of coastal environments is necessity in many countries, to quantify the level and the nature of stress imposed on the environment. Numerous ecosystem components - biological or chemical – can be used to describe the ecological state or eutrophic conditions at sampling sites. Water chemistry measurements can identify causative factors that can explain further ecosystem perturbation (Ferreira *et al.*, 2011). However these sporadic measurements can be improper reflects of temporal variability. Environments facing stressing events will show both qualitative/functional changes and quantitative/structural changes in the structure and functioning of its community components. Bio-indicators can provide an integrative tool to measure these changes as they "relay a complex message in a simplified and useful manner providing insights about a trend or event that cannot be directly observed" (Linton & Warner, 2003). A good bio-indicator must have a short life span to integrate short-term environmental variability, be abundant and easy to sample, be sessile to reflect conditions at one site, and be response-specific to identify a particular impact on the ecosystem.

Measured data from biological indicators are converted into indices. Two major types of indices can be distinguished (Borja *et al.*, 2009b): (a) multimetric indices which integrate quantitative information at the community level and are built on parameters such as richness, abundance and biomass (Borja *et al.*, 2009a; Devlin *et al.*, 2011; Green & Webber, 2003; Jaanus *et al.*, 2009; Lopez y Royo *et al.*, 2011; (b) functional indices which focus on species composition of samples. Parameters considered for index calculation are species sensitivities or tolerances to different parameters, or the ecological strategies (r or k) used by species in reaction to chemical or physical stress (Borja *et al.*, 2000; Carballo *et al.*, 1996). As pointed out by Devlin *et al.* (2009), multimetric community indices appear to be problematic since the final calculated value must be judged on the deviation from a reference value. For functional indices, the final value provides a direct appreciation of the ecological stratus of the study site, but an important preliminary work must be done to describe species sensitivities.

Standards for environmental quality monitoring in Europe are presented by the Water Framework (WFD; 2000/60/EC) and the Marine Strategy Framework Directives (MSFD; 2008/56/EC). These Directives' overall goal is to achieve at least 'Good ecological status' for estuarine and coastal waters by 2015 for the WFD and 'Good environmental status' for offshore waters by 2020 for MSFD. WFD legislation requires an integrate analysis of water quality through use of several biological quality elements (phytoplankton, macroalgae, phanerogams, benthos, fishes), in combination with physico-chemical elements (transparency, dissolved oxygen, nutrients and pollutants). The MSFD defines 11 descriptors of good environmental status including human-induced eutrophication, biological diversity and concentrations of contaminants. In the United States, the main water protection law is the clean water act of 1972 which requires mainly water chemistry data (nutrient loads, nutrient concentrations, water clarity, dissolved oxygen, chlorophyll *a*) and new biological data (harmful algal blooms (HAB), macroalgal abundance, submerged aquatic vegetation (SAV)) (Devlin *et al.*, 2011).

To satisfy future management needs, several indices have been developed on the basis of biological and water chemistry parameters defined by legislation. Despite this extensive work on indices, few quality elements are suitable for an application in different geographic areas and for

oligotrophic waters and reef environments. In its first part, the present contribution describes the main biological indicators used for marine environment monitoring, to reveal positive aspects and weaknesses. Secondly, as an answer to the failings of the existing tools, the possibility of using benthic diatoms as a new bio-indicator in marine environments is explored. These organisms could represent an alternative solution since they possess many bio-indicators' criteria and are known in freshwater environments to be highly sensitive to water quality changes.

2. Assessment of the biological indicators mainly used in coastal waters

Marine waters are in constant movement due to the action of winds, currents and tides. This motion complicates the measurement of water chemistry at one location and many samplings in time and space are required to get representative values. Such methodology raises problems of analysis costs and imprecision. Another marine water specificity is low nutrient levels, particularly for the oligotrophic waters, with concentrations that approach the detection threshold of analytical methods. For all these reasons, bio-indicators use may be a more representative approach since organisms will integrate spatial and temporal changes in water quality. Among all the biological indicators used in marine environments, those performed in the context of the WFD are described (Section 2.1) along with more specific indicators used in tropical ecosystems or involving particular organisms (Section 2.2) (Fig. 1). Bioindication aptitudes are highlighted for each of those indicators, in order to point out their deficiencies. The various ecological and environmental characteristics of bio-indicators are compared in Table 2.

2.1. WFD indicators

Biological quality elements required by the WFD to describe the ecological quality of a coastal site are phytoplankton, aquatic flora that comprise macroalgae and angiosperms, and benthic invertebrate fauna (CIS-WFD, 2003). Metrics considered by the Directive to be measured are (i) for phytoplankton: taxa composition, abundance, biomass and planktonic blooms; (ii) for macroalgae and angiosperms: presence/absence of sensitive taxa, macroalgal cover, angiosperms abundance; (iii) for benthic invertebrate fauna: presence/absence of sensitive taxa, diversity, abundance. From this original legislative description, research programs from diverse European countries have developed different classification tools and indices (Table 1) in order to standardize methodologies (Bermejo *et al.*, 2012; Borja *et al.*, 2000; Jaanus *et al.*, 2009; Juanes *et al.*, 2008; Krause-Jensen *et al.*, 2005; Lopez y Royo *et al.*, 2011; Orfanidis *et al.*, 2003; Revilla *et al.*, 2009; Romero *et al.*, 2007; Simboura & Zenetos, 2002; Tett *et al.*, 2008; Wilkinson *et al.*, 2007).

Phytoplankton represents the base of the pyramid of productivity and any increase in nutrients leads directly to enhanced primary productivity. Chlorophyll *a* gives information about productivity level, despite it is a sporadic data (given by non-sessile organisms). Changes in concentrations of this parameter cannot be linked with a particular type of pollution. In some European countries, an integrated index is calculated from data on phytoplankton biomass (chlorophyll *a*) and phytoplankton abundance (Revilla *et al.*, 2009).



Fig.1. Biological indicators used for monitoring ecological state of coastal environments. Highlighted text: biological indicator; Surrounded text: multimetric or functional index associated (adapted from Domroese *et al.*, 2007).

Biological descriptor	Metrics	Index	Sources
Phytoplankton	Abundance, biomass, chlorophylle <i>a</i> concentration, species composition		Borja <i>et al.</i> (2009a), Devlin <i>et al</i> . (2009), Revilla <i>et al</i> .(2009)
Cyanobacteria	Abundance, diversity, cover		Kriwy & Uthicke (2011), Thacker and Paul (2001}
Macroalgae-seaweed	Richness, presence of opportunistic species, cover, physiological state	CFR, EEI, RSL	Bermejo <i>et al.</i> (2012), Guinda <i>et al.</i> (2008), Juanes <i>et al.</i> (2008)
Angiosperms-seagrass	Density, cover, foliar surface, leaf necrosis, rhizomes nutrients content	POMI, BiPo, PoSte	Burkholder <i>et al</i> . (2007), Green and Webber (2003), Lopez y Royo <i>et al.</i> (2011), Romero <i>et</i> <i>al.</i> (2007)
Benthic invertebrates	Species ecological groups, richness, diversity. Polychetes/amphipod ratio	BENTIX, AMBI, M-AMBI, BOPA	Bigot <i>et al.</i> (2008), Borja <i>et al.</i> (2000), Dauvin and Ruellet (2007), Simboura and Zenetos (2002), Teixeira <i>et al.</i> (2012)
Foraminifera	Species functionnal groups, abundance	FORAM	Hallock <i>et al.</i> (2003)
Corals	Cover, ratio live/dead, growth rate, productivity, recruitment		Cooper et al. (2009), Linton and Warner (2003)
Sponges and ascidians	Species assemblages, richness, diversity		Carballo and Naranjo (2002), Carballo <i>et al.</i> (1996)

Table 1	. A review	of marine	waters	biological	indicators	with	associated	metrics	for the	assessme	nt of
water quality											

The assessment of environmental quality using a methodology based on phytoplankton community composition has been explored by Devlin *et al.* (2009). The authors worked on the structure of community and established a list of community indicator species, nevertheless the development of an ecosystem metric is difficult since phytoplankton communities, composed of many types of organisms, are highly variable seasonally and spatially. To summarize, phytoplankton is widely used to evaluate eutrophication level of water because of its quick response to water pollution. However, its non-sessile character and the inability to develop a quality index based on a species list explain why this biological element remains a poor bio-indicator to point out causative factors of pollution.

Macroalgae are known to be suitable biological indicators for rocky shore environment. Shifts in communities occur after long-term exposure to nutrients and/or pollutants, which diminish the most sensitive species in favor of highly resistant species. Two different multimetric tools have been proposed for the assessment of macroalgae for Atlantic coastal waters, the RSL (reduced species list) index (Guinda et al., 2008) and the CFR (quality of rocky bottoms) index (Juanes et al., 2008). The CFR index is based on the analysis of intertidal and subtidal seaweed communities. Its calculation includes species richness, presence of opportunistic species, cover and physiological status of algae. The latter parameter is defined by an expert estimation of the entire macroalgae community health. The RSL index includes species richness of a reduced species list, the proportions of red algae, green algae, opportunistic species and ecological status group (ESG) ratio. ESG is a classification based on species growth rate and reproductive potential (late successional perennial species vs opportunistic annual species) (Littler et al., 1983; Orfanidis et al., 2001). Because of interregional biogeographical differences, an indicator designed in one region should be reassessed before applying in another. For instance, adaptation of the RSL index implies a review of the reduced species list and a reconsideration of the ecological status group of species (Bermejo et al., 2012). Finally this bioindicator presents the advantage of being sessile and species can be classified on functional criteria. Unfortunately it is only suitable for rocky shores quality assessment on a regional scale. Furthermore, the time-scale of the information transmitted by the macroalgae may be too large to detect sporadic perturbations.

Seagrass meadow is a particular biocenosis of coastal environments, formed by an angiosperm which species varies according to the geographical area (*Posidonia sp., Zostera sp., Thalassia sp.*, etc.). Nutrient enrichment of seawater is a major cause of seagrass disappearance, due to light reduction through the stimulation of high-biomass algal overgrowth as epiphytes and macroalgae (Burkholder *et al.*, 2007). Multimetric indices have been developed on the basis of morphological (shoot density and length, foliar surface, etc.) and physiological measurements (tissue nutrient content, amino acid concentrations) (Lopez y Royo *et al.*, 2011; Romero *et al.*, 2007). An ecological quality ratio (EQR) is calculated from the combination of several metrics values at one site, with a comparison of results to a reference site. Other studies consider only morphological parameters to evaluate seagrass status and changes over time without resulting in an index calculation (Green and Webber, 2003; Tomasko *et al.*, 1996). A monitoring program called Seagrass Net, uses a standard protocol to follow easily seagrass meadows evolution in time. It can be applied in several countries and includes some adaptations depending on seagrass species (Short *et al.*, 2006). Seagrass meadow appears to be a proper bio-indicator as it can be used inter-regionally and may give a short-time
response to environment perturbations. The weakness of this indicator is that it cannot be found in all coastal areas.

The benthic invertebrate fauna found in soft bottoms is the only biological quality element for which functional indices have been developed, based on the principle of species sensitivities to organic enrichment (Borja *et al.*, 2000; Simboura and Zenetos, 2002). The AZTI's Marine Biotic Index (AMBI) is recognized to be the most effective index for the assessment of biological quality using benthic invertebrates (Borja, 2004). This index is used in Europe (Borja *et al.*, 2009a; Guillaumont and Gauthier, 2005), in the United States (Teixeira, 2012), in the Indian Ocean (Bigot *et al.* 2008) and recently in the French West Indies after regional investigations on species preferenda and calibration work. Benthic invertebrates are interesting bio-indicators since species give similar responses to organic enrichment, whatever the studied area. These organisms react relatively rapidly to stress conditions, but not as fast as primary producers which are able to traduce sporadic events. Their exclusive presence in soft bottoms environments represents the major inconvenient of this bio-indicator, and means that they are unable to monitor rocky shores environments or coral reef ecosystems.

2.2. Other potential biological indicators

Many other biological quality elements can be used to assess ecological quality of coastal environments; particularly oligotrophic and tropical (Table 1). Coral reefs and mangrove forests are two tropical ecosystems that provide indicators for water quality monitoring in very specific areas. Other more globally widespread tools like cyanobacteria or sponges and tunicates have been explored for their utility as bio-indicators.

Coral reefs are complex ecosystems which flourish in areas of clean and oligotrophic waters. Corals are mixotrophic organisms; their growth depends on filter-feeding and on photosynthetic algal endosymbionts. Abnormal nutrient loads will gradually lead to macroalgal domination at the expense of reef-building coral, as coral algal symbiosis becomes less advantageous (Hallock *et al.*, 2003). Phytoplankton growth is also enhanced, limiting light penetration to the benthos which results in a progressive shift of the benthos composition towards non-symbiotic filter-feeding animals. Therefore, changes in the condition of coral reef ecosystem can be used to identify water quality degradation. Other sources of stress on this ecosystem include hypersedimentation, elevated water temperature and direct physical damage. A large number of coral reef bio-indicators have been elaborated at the level of individual colonies, populations and communities on coral reefs (Cooper *et al.*, 2003). Only one of these metrics has led to a synthetic functional index, focused on species classification depending on quality parameters.

The FORAM index formulated by Hallock *et al.* (2003) uses foraminiferal (calcareous protists) assemblages from surface reef sediments to assess changes in water quality. It is based on the proportions of genera belonging to three functional groups: symbiont-bearing large foraminifers (poor nutrient environment), herbivores/detritivorous smaller foraminifers (increase in nutrients supplies) and other small taxa. Calculation of FORAM index gives scores divided into three quality classes. This index seems quite adequate for the assessment of reef environment quality because it is

sessile and gives species-specific response to water enrichment. It cannot be used in ecosystems devoid of sediments. The life cycle of foraminifera is much longer than that of microalgae but relatively short as compared with long-lived colonial corals.

Mangrove forest is a transitional ecosystem between mainland and coastal environments, in an environment associated with extreme environmental conditions (salinity, suspended solids, temperature, etc.) depending on the importance of terrestrial inputs. The forest reacts to eutrophication of coastal waters by changes in productivity and species composition (Linton and Warner, 2003). Many studies have focused more specifically on mangrove root sessile community such as bryozoans, macroalgae, epiphytic diatoms and oysters (Lai and wang, 2004; Linton and Warner, 2003). Since the mangrove forest is a transitional environment, these bio-indicators reflect the state of marine/freshwater transition zone and allow monitoring of particular stresses such as metal contamination, oil pollution, or estuarine contamination.

Cyanobacteria are autotrophic organisms commonly forming blooms in eutrophic freshwater systems, and thus indicate abnormal concentrations of organic matter, nitrogen or phosphorous. In marine environments, most studies have focused on planktonic forms of cyanobacteria and the few taxa observed at bloom levels often dominate nutrient-poor surface waters (Sellner and Anderson, 1997). Benthic filamentous cyanobacteria also form blooms. In the study conducted by Thacker and Paul (2001), cyanobacteria do not seem to be associated to high nutrient availability but rather to be influenced by physical disturbances. In environments of different nutrient concentrations and turbidity, only changes in proportions between microbial biofilm organisms (alphaproteobacteria, cyanobacteria, diatoms, etc.) were observed by Kriwy and Uthicke (2011). Therefore cyanobacteria are still not proven to be good indicators of water quality for marine environment, even if suitable to assess freshwater quality.

Sponges and tunicates are filter-feeding heterotrophs often dominant in benthic communities. They present many bio-indicator characteristics as they are sessile, so will reflect quality at one site, and indicate, by their feeding mode, water quality and suspended matter contamination. Some species assemblages have been defined for their sensitivity to environmental changes (Carballo and Naranjo, 2002; Carballo *et al.*, 1996). Little is known about biotic and abiotic factors affecting community structure. Therefor species assemblages may not be the same for similar environmental conditions encountered in different geographic areas. The most interesting bio-indication characteristic of sponges and tunicates is their cosmopolite and sessile life forms. Further research is needed to define sensitivities or ecological status of species.

The biological elements described below are not all suitable for bio-indication uses. Some of them gather together a set of characteristics that makes their use interesting for water quality monitoring, but they present various disadvantages (see before) and they are not easy to use in all coastal areas. Considering the characteristics of marine benthic diatoms, it appears that these organisms present almost all characteristics required by a successful bio-indicator. The development of a functional index based on marine diatoms is discussed in the next section, with a review of the existing literature and of the difficulties linked with the use of those organisms.

Organism	Environment	Life form	Time scale	Spatial scale	Existing indice	Characteristics
Phytoplankton	All types	Non sessile	Days	Coastal and open sea	No	Detect nutrients input; seasonal variability
Macroalgae	Rocky shores	Sessile	Months	Coastal	Yes	Detect nutrients and pollutants input
Seagrass meadow	Seagrass meadow	Sessile	Year	Shallow and non turbid waters	Yes	Detect nutrients input
Benthic invertebrates	Soft-bottom	Sessile	Month	Coastal	Yes	Detect organic enrichment
Sponges/tunicates	All types	Sessile	Year	Coastal	No	Detect nutrients and MES inputs
Foraminifers	Fine and coarse sediments	Sessile	Months	Coastal	Yes	Detect nutrients inputs
Coral reef	Coral reef	Sessile	Years	Tropical oligotrophic	No	Detect nutrients input, changes in temperature and MES input
Mangrove forest and associated sessile community	Marine/ freshwater transition zone	Sessile	Varying	Tropical and sub-tropical	No	Detect metal contamination and soil pollution
Marine benthic diatoms	All types	Sessile	Days	Coastal	No	Detect nutrients inputs

Table 2.	The main	biological	elements	used for	marine	environmen	t monitoring:	bio-indicators
		characte	eristics an	d differe	nces wit	h benthic dia	atoms.	

3. Using benthic diatoms for assessing water quality of coastal environments

The diatoms (Bacillariophyceae) are primary producers and thus essential organisms in ecosystems. They present: (i) short life span as unicellular microalgae, that can capture short-term environmental fluctuations at sampling site; (ii) sensitivity to numerous environmental parameters and to organic and nutrients enrichment, which allows classification of species according to functional categories such as pH, salinity, nitrogen uptake metabolism, oxygen requirements and trophic state (Van Dam *et al.*, 1994). Benthic forms of diatoms are useful bio-indicators, being representative of the conditions at sampling site, ubiquitous and easy to sample.

3.1. The experience of freshwater environment

It is widely recognized that benthic diatoms are good biological indicators for the monitoring of freshwater environment quality (Kelly and Whitton, 1995; Lenoir and Coste, 1996; Potapova *et al.*, 2004; Van Dam *et al.*, 1994; Wu, 1999). The first diatom indices have arisen in Europe in the seventies (Lange-Bertalot, 1979). These indices could provide water quality managers a biological method for the assessment of water quality, applicable to large rivers and to artificialized aquatic environments (Prygiel and Coste, 1996). The elaboration of indices is based on ecological indicator values of species, defined by their ecological optima and tolerance for physico-chemical parameters related to organic pollution, eutrophication and salinity (Coste *et al.*, 2009; Potapova *et al.*, 2004; Van

Dam et al., 1994). Species' ecological preferenda for a parameter can be obtained by a graphical representation of species abundances repartition along concentrations gradient of water chemistry parameters (Fig 2). Species can show clear preferences for either oligotrophic or eutrophic conditions (inorganic nitrogen and phosphorous compounds) and be characterized by their own autoecology (pH, salinity, oxygen). For example, a species defined as acidophilous N-autotrophic will be found in waters with pH less than 7 and will tolerate elevated concentrations of organically bound nitrogen. Since the advent of diatoms as tools of water quality assessment, the datasets on physico-chemical parameters as well as taxonomic descriptions are expanding. This allows the elaboration of more precise curves for each species, which results in the determination of optimal growth conditions for each parameter and fixation of the corresponding indicator value (Van Dam et al., 1994). For routine use, such as in the WFD context, the OMNIDIA software has been developed (Lecointe et al., 1993) and includes thirteen diatom indices. Among these the polluo-sensibility index (PSI), the biological diatom index (BDI) and trophic diatom index (TDI) are the most widely used (Van der Molen and Verdonschot, 2004). Formulas for the calculation of these indices are different but all are based on the concepts of taxon sensitivity to pollution and taxon indicator value (Table 3). The principal differences between the thirteen indices are the number and types of taxa included in the calculation as well as the types of water quality parameters considered (Prygiel and Coste, 1993, 1996). The reason why several indices exist can be explained by variability of species assemblages and species ecological preferenda according to the geographical area. Some indices may not be suitable for some areas and give a result that does not reflect the water quality. In this case, it is necessary to adapt the formula in order to get values representing field conditions, which explains the existence of many different indices. Prior to the decision of which index can be used for an area, results might be compared with water chemistry values.

Benthic diatoms are collected on artificial or natural hard substrates after a colonization time that varies depending on environmental conditions. For bio-indication, benthic diatoms are studied from the point of view of species assemblages constituting the biofilm, the latter defined as the thin layer of microrganisms on a substrate. The biofilm development goes through several steps in the course of which diatoms of different life forms appears. Each of these forms is adapted to specific environmental conditions and the only way to get a true picture of conditions at one site is to sample a mature community. The time scale for floristic changes in an assemblage following environmental modifications depends on the growth rates of the species, which vary with biotic (competition, predation...) and abiotic (light, food, water chemistry...) factors. The minimum apparent doubling time for a diatom population in a study on the effect of current speed on communities was 14.4 days (Antoine and Benson-Evans, 1982). A four week delay before sampling is recommended after a high intensity hydrological event or for artificial substrates, in freshwater environments (AFNOR., 2007). A different time scale may be necessary to get a mature community in coastal environment, and this time scale should be fixed by quantitative sampling of the biofilm at regulate intervals over several weeks, to obtain a growth curve. Once the biofilm sampled, a chemical treatment is conducted to eliminate organic matter and obtain clean diatom silica skeletons, called frustules. Then species determinations are conducted under light microscopy by the observation of frustules patterns. Morphologically similar species are gathered into a single taxon and only key taxa are involved in the score calculation of the index (Borja and Dauer, 2008; Coste and Lenoir, 1995).



Fig. 2. Example of ecological preferenda for phosphorous and pH for two different species, graphically represented by a regression between relative abundances and parameters values. NAMP=*Nitzschia amphibia* Grunow *f.amphibia* ADMI=*Achnanthidium minutissimum* (Kützing) Czarnecki *sensus lato* (unpublished personal data).

Index abbreviation	Full name	Formula	Index specificity	Sources
IPS	Specific pollution sensitivity index	$\sum_{j=1}^{n} A_j v_j i_j / \sum_{j=1}^{n} A_j v_j$ A _j : relative abundance of the taxon j v _j : indicator value of the taxon j i _j : sensitivity to pollution of the taxon j.	Requires taxa identification at species level.	Lecointe <i>et al.</i> (2003), Zelinka and Marvan (1961)
BDI	Biological diatom index	$\sum_{x=1}^{n} A_x P_x(i) v_x / \sum_{x=1}^{n} A_x v_x$ F(i) = A _x : relative abundance of the taxon x P _x (i): presence probability of the taxon x for the quality class i v _x : indicator value of the taxon x and B= 1F ₍₁₎ + 2F ₍₂₎ + 3F ₍₃₎ + 4F ₍₄₎ + 5F ₍₃₎	Calculation based on a list of key species $(5) + 6F_{(6)} + 7F_{(7)}$	Coste t al. (2009)
ТЫ	Trophic diatom index	TDI= a: abundance of species in sample s: sensitivity of species v: indicator value of species	Considers taxa sensitive to organic pollution	Kelly and Whitton (1995)

Table 3. Formulas of the major diatom indices developed for freshwater monitoring

It is now accepted that the indicator value of key species should depend on ecoregional parameters such as relief, geology and climate (Coste *et al.*, 2009). Although these differences require adaptations of the diatom-based indices in order to integrate the variability of natural diatoms ecological profiles, diatom indices are suitable tools to detect organic and nutrients pollution. In contrast, the biomonitoring of toxic pollution remains difficult as species do not demonstrate clear sensitivities (Damasio *et al.*, 2007; Debenest *et al.*, 2009; Rimet and Bouchez, 2011). The presence of pollutants may be indicated by the observation of some abnormal cells and structural changes in the diatom community (Dickman, 1998; Morin *et al.*, 2008b).

Benthic diatoms of freshwater environments have shown their ability to react to physico-chemical changes of their habitat. This aspect is the most interesting quality of these organisms regarding bio-indication use, and need to be explored for marine species. Research on freshwater diatoms has improved knowledge on indices development (optimal growth conditions, indicator values) and on the use of artificial substrates (substrate type, colonization time). Both of these points need to be detailed on further works on benthic marine diatoms as bio-indicators.

3.2. Suitability of marine diatoms for bio-indication purposes

Diatoms are abundant in marine environment, especially in coastal waters. In the oceanic North Brazil Current, diatoms achieves 29% of the planktonic primary productivity in the coastal waters influenced by the Amazon plume, but only 3% in oceanic area (Shipe et al., 2006). Other studies of planktonic communities in the Caribbean coastal zone report that Baccillariophyceae count for 70 to 90 % of species diversity (Aké-Castillo and Vazquez, 2008; Alvarez-Gongora and Herrera-Silveira, 2006). One example for a temperate coastal zone is given by Coelho et al. (2007), who found that diatoms species represented about 60% of the phytoplankton composition in a coastal lagoon in Portugal. Regarding benthic forms of diatoms, cells can established on all types of mineral or vegetal substrates, but species assemblages will differ depending of the nature and the roughness of the substrate (Hernandez-Almeida and Sigueiros-Beltrones, 2008; Sekar et al., 2004). In temperate and tropical systems, the primary productivity of sand and mudflat intertidal habitats is assumed by diatom-dominated biofilms (epipsammon and epilithon) (MacIntyre et al., 1996; Mitbavkar and Anil, 2002; Underwood et al., 1998). On rocky or coralline substrates, surfaces are colonized by a diverse community of epilithic algae whose nature and composition vary according to succession stage (Diaz-Pulido and McCook, 2002). The biofilm also presents a well-developed microbial community (Kriwy and Uthicke, 2011). Depending on the geographic area, temperate or tropical, a stable biofilm community will not present the same structure. In the northern Adriatic Sea (Mediterranean Sea), epilithic microalgal assemblages are composed mainly of diatoms, with sporadic observations of green algae (Chlorophyceae), cyanobacteria and dinoflagellates (Munda, 2005; Totti et al., 2007). Another biofilm assemblage again dominated by diatoms was observed for the Western Baltic Sea (Hillebrand and Sommer, 1997), that includes filamentous brown algae (Phaeophyceae) and red algae (Rodophyceae). In reef ecosystems, the dynamics of colonization on mechanically damaged colonies of coral include mainly diatoms, cyanobacteria, filamentous green, brown and red algae (Diaz-Pulido and McCook, 2002; Titlyanov et al., 2008). Benthic diatom communities presents some seasonal variability in species composition in temperate areas (Hillebrand and Sommer, 1997; Totti *et al.*, 2007) and more or less variability in tropical or sub-tropical areas (Chen *et al.*, 2010; Frankovich *et al.*, 2006; Patil and Anil, 2005a). Dominant species can vary between diatom populations of different geographical areas while the global population is similar (Patil and Anil, 2005a; Totti *et al.*, 2007). A species associated to particular ecological conditions will generally keep his preferenda, with more or less intensity, wherever the geographic area (Moreno-Ruiz *et al.*, 2011).

Various studies treat of the global biofilm response (Hillebrand and Sommer, 1997; Kriwy and Uthicke, 2011) or the phytoplanktonic response (Aké-Castillo and Vazquez, 2008; Moreno-Ruiz *et al.*, 2011; Verlecar *et al.*, 2006) to water quality changes, but few focus on the composition of diatom assemblages in relation to environmental variables. This kind of fundamental data that associates diatom taxonomic descriptions and physico-chemicals monitoring is the basis of our knowledge on species ecological profile. This knowledge allows to define species autoecology and species sensitivities to organic and nutrients enrichment (Fig. 2). Studies specially oriented toward water chemistry and species composition of biofilm are scarce (Agatz *et al.*, 1999; Cibic and Blasutto, 2011; Facca and Sfriso, 2007; Gottschalk *et al.*, 2007; Underwood *et al.*, 1998; Weckström and Juggins, 2005), therefore information on benthic diatoms has to be extracted from more general studies on biofilms and phytobenthos (Table 4).

Most researches on benthic diatoms concerns surface-sediment (epipelic) diatoms. The most precise results for this life-form are given by Weckström and Juggins (2005), who defined species sensitivities to various environmental parameters by a graphical representation of relative abundances depending on variable concentrations. Cibic and Blassuto (2011) also presented results at the specific level by a principal component analysis on species and nutrients data, which revealed some nutrients-species degrees of membership. Other studies assess a physico-chemical description of sites and explore species assemblages, but do not orientate data analysis in a way that allows preferenda descriptions at specific level (Agatz et al., 1999; Facca and Sfriso, 2007; Gottschalk et al., 2007; Underwood et al., 1998). Concerning hard surface (epilithic) diatoms, the relationship between community composition and water nutrients variations is even less explored. It is possibly because rocky environments are not as much studied as intertidal ones. Nevertheless, benthic diatoms that grow on hard substrates represent the community type with promising potential for bio-indication, unlike epipelic and epipsammic diatoms. Indeed, sediments and sediment porewaters are nutrient pools that will influence the development of the diatom community that inhabits this substrate. Despite those favorable characteristics, the influence of water-column nutrients concentrations on the composition of hard substrates diatoms assemblages has never been investigated for coastal and marine environments. Experiments have been conducted on epilithic microalgae to understand nutrient competition in biofilm (Hillebrand and Sommer, 1997), but no research has focused on species ecological preferenda for bio-indication use. Others studies done on epilithic diatoms are not oriented towards the problematic of water enrichment but rather on seasonal or spatial influence on species assemblages. As most of these studies are conducted on artificial substrates, a part of the investigation consists in the evaluation of substrate effect. Regarding epiphytic diatoms, the only investigation linking species assemblages to water quality has been done by Frankovich et al. (2006) in Florida Bay, who were able to determine differences in species assemblages that depends on water quality, but could not evaluate species preferenda. This review of the contributions existing on marine benthic diatoms points out the need for further research that should be orientated more specifically on the relationship between species assemblages and nutrients enrichment.

To be suitable for bio-indication use and reflect site-specific water quality, species composition of diatom assemblages must be influenced by variations of water chemistry, even at very low (oligotrophic) nutrient concentrations. Hillebrand and Sommer (1997, 2000b) tested the effect of controlled nutrient enrichments on microphytobenthos growth on artificial substrates. This experiment, performed in a mesotrophic area of the western Baltic Sea, demonstrated that the epilithic microphytobenthos dominant species growing on substrates were influenced by both type and nutrient concentrations (N, P, N+P). Concentrations were comprised between 5 and 700 μ mol l⁻¹ for nitrogen and between 1 to 30 μ mol l⁻¹ for phosphorous. Response of microphytobenthos, dominated by diatom species, was significantly linked to the type of enrichment applied, and thus to N:P ratio. On the species level distinct shifts in dominance were observed in response to the supplied nutrients, thus revealing that each species possesses its own nutrient-specific growth optimum (Hillebrand and Sommer, 1997; Sommer, 1996). In the case of oligotrophic areas, a study of Frankovich et al. (2006) in Florida revealed that the spatial distribution of epiphytic diatom assemblages may be structured by salinity and nutrient availability, particularly phosphorous. In situ concentrations of total phosphorous (TP) and dissolved inorganic nitrogen (DIN) were respectively comprised between 0.05 and 1.75 µmol l⁻¹ and 0.5 and 4.7 µmol l⁻¹. Even with concentrations just above detection level (commonly 0.05 μ mol l⁻¹ for TP and 0.2 μ mol l⁻¹ for DIN), some indicator species can be attributed to specific nutrients concentrations. These results in mesotrophic and oligotrophic waters reflect the aptitude of benthic diatoms to emphasize water quality fluctuations in terms of phosphorous and nitrogen inputs.

Even if benthic marine diatoms are cosmopolitan and easy to sample, little is known on their bioindication ability. Two studies that show response by the diatom community to water quality changes indicate that the marine species can serve as bio-indicators as in freshwater. Further studies are needed on the relationship between taxonomical composition of biofilm and water chemistry to define species ecological preferenda. Investigations might be done in various trophic level areas, particularly in oligotrophic environments including reef ecosystems.

Diatom substrate type	Sources
Epilithic diatoms	Diaz-Pulido and McCook (2002), Hillebrand and Sommer (1997), Hillebrand and Sommer (2000a), Kriwy and Uthicke (2011), Munda (2005), Patil and Anil (2005a), Sommer (1996), Titlyanov <i>et al</i> . (2008), Totti <i>et al.</i> (2007)
Epipelic or epipsammic diatoms	Agatz et al. (1999), Cibic and Blasutto,(2011), Dziengo-Czaja et al. (2008), Facca and Sfiso (2007), Gaiser et al. (2005), Gottschalk et al. (2007), Siqueiros Beltrones and Sánchez Castrejón (1999), Underwood et al. (1998), Weckström and Juggins (2005)
Epiphytic diatoms	Chen et al.(2010), Frankovich et al. (2006)
Phytoplanktonic diatoms	Aké-Castillo and Vazquez (2008), Alvarez-Gongora and Herrera-Silveira (2006), Coelho <i>et al.</i> (2007), Moreno-Ruiz <i>et al.</i> (2011), Oviatt <i>et al.</i> (1989), Verlecar <i>et al.</i> (2006)

Table 4. Principal references including data on marine epilithic, epipelic, epipsammic, epiphytic andphytoplanktonic diatoms, in relation with water quality and/or environmental parameters

3.3. Technical aspects of bio-indication with marine diatoms

Natural substrates for benthic diatoms can be mud, sand, rock, macrophytes and macroalgae. For bio-indication purposes, it is more relevant to use artificial hard substrates placed in the water column. Indeed, such an approach produces a diatom community exclusively influenced by water column chemistry. This is not the case with epipelic or epipsammic diatoms that may also receive nutrients from sediment porewaters. Sediments are a pool of particulate silicate that can prevent Si limitation if transformed into dissolved Si assimilated by diatoms. Moreover, the use of artificial substrates reduces the variability between samples and allows the control of substrate surface properties, of sampling depth and of substrate orientation in space. The latter parameters have to be carefully chosen. For instance, both substrate type and substrate roughness can influence the nature of the colonizing species. These two parameters interfere on species development and cannot easily be disassociated. The adhesion of microalgae on titanium and iron plates of variable roughness was tested by Sekar et al. (2004) who showed that adhesion was greater on rough surfaces. Two types of mineral substratum of equal roughness were also tested by Totti et al. (2007), one containing calcium carbonate and the other silicium. No significant difference was revealed between diatoms community developed on each substrate. The microtexture appeared to be the most important parameter for cell fixation. In the case of epiphytic diatoms adhering on macroalgae, Hernandez-Almeida and Siqueiros-Beltrones (2008) observed different epiphytes assemblages depending on the five host macroalgae taxa chosen. By influencing light penetration and water chemistry, sampling depth can modify the composition of diatom communities. The experimentation of Santas et al. (1997) on Greek shore has shown that diatom species assemblages grown on artificial substrates placed at 0.5, 1 and 1.5 meters varied with depth during the first colonization stages. In contrast there was no difference between communities for incubation times greater than 15 days. Factors such as UV, waves, temperature and grazing, progressively influence the community structure and the productivity. In a study of the Adriatic Sea shore, Munda (2005) observed that concrete plates used as artificial substrate were less colonized beyond three meters depth and that bottom proximity favorised the establishment of epipelic and epipsammic species. These results reveal that biofilm development on artificial substrates is not optimal under three meters depth and the species composition is modified if too close to the sea bottom. Finally, orientation of substrates in the water column is also important to avoid sediments deposit on surface. A vertical position guarantees favorable light availability conditions and good biofilm quality for sampling (Lewis et al., 2002; Patil and Anil, 2005b).

Another technical issue is diatom identification. Microscopic identification of these microalgae is based upon the fine morphological details of their siliceous frustules. In order to remove organic matter in cells and insure the best visual quality of frustules, samples must undergo a cleaning treatment. Marine diatoms have been shown to be less silicified than freshwater diatoms because of the lower availability of silicic acid and of the interference of salinity in silica fixation (Conley *et al.*, 1989). This characteristic combined with a greater proportion of larger cells requires special caution in treatment procedure. For oligotrophic waters, such as pristine areas of the Mediterranean Sea, a special cleaning protocol has been tested to minimize frustules breakage (Vermeulen *et al.*, 2012). As cell counts focuses on entire or almost entire frustules, too much breakage may hamper identification and thus the utility of the sample for bio-indication purposes (AFNOR, 2004).

In conclusion, prior sampling benthic diatoms in marine coastal waters for bio-indication purposes, several technical aspects must be considered. Sampling should be done preferentially on hard artificial substrates with a pronounced microtexture, placed vertically between 0.5 and 3 m depth.

4. Conclusion

A large set of biological indicators are used to assess water quality in marine environment. This abundance is due to the presence of many ecosystems type such as rocky shores, mudflats, seagrass meadow, coral reefs, etc. Among all the biological quality elements, defined or not by legislative texts, none pools all the characteristics given by the definition of a bio-indicator. For example, some get large life-cycles so do not reflect real time situations while others are associated with only one ecosystem instead of being ubiquitous (Table 2). Multimetric and functional indices were developed for some bio-indicators. However, few indices offer a direct evaluation of the environmental quality of a study site, since there is no precise knowledge on species optimal growth conditions. Marine benthic diatoms are proposed here as a new potential marine biological indicator. These organisms present bio-indication characteristics not covered by other marine bio-indicators. Diatoms are growing on various types of substrates which allow those microalgae to be present in a large panel of ecosystems, from temperate to tropical waters. At the present time, studies on structural changes of species assemblages due to water quality are essentially the result of abundant freshwater investigations an inadequate for marine studies. Nevertheless, it has been demonstrated for mesotrophic and oligotrophic waters that benthic diatom species assemblages show variations in response to nitrogen and phosphorous enrichment. From these results, marine benthic diatoms are approached for being potentially good biological indicators to detect nutrient enrichment of the marine environment. Based on the same principle that existing freshwater diatom indices, a marine benthic diatom index could be developed after further investigations. Such a marine index requires extensive preliminary work to define species ecological preferenda. Taxonomic studies are also important to produce species descriptions, in order to facilitate species identification on a routine basis. This review conclude that while there is no unique bio-indicator that can be used in the whole coastal ecosystems for the assessment of water quality, this type of tool is required by coastal environmental managers, particularly to meet the requirements of the water framework directive.

Acknowledgment This work was funded by the DEAL Martinique (Direction de l'Environnement, de l'Agriculture et du Logement).

CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES

1. Lieux d'étude

Les prélèvements ont eu lieu dans la zone littorale de la Martinique, île des petites Antilles entourée à l'est par l'Océan Atlantique et à l'ouest par la mer des Caraïbes (14°4'N, 61°O) (Fig. II-1). Le climat y est tropical, avec une saison sèche de février à mai et une saison cyclonique de juillet à octobre. En saison sèche, les alizés soutenus soufflent d'est, l'air est sec et la température de la mer est plus fraîche (moyenne=26,6 °c \pm 0,6). En saison cyclonique, le vent est de force variable, les précipitations plus marquées et la température de la mer gagne quelques degrés (moyenne=29,5 °c ± 0,6). La côte ouest de l'île se caractérise par des fonds gagnant rapidement en profondeur, formés de gros blocs rocheux colonisés par des coraux, éponges et autres organismes benthiques fixés. Les récifs bioconstruits sont quasi absents de cette côte, excepté en Baie de Fort-de-France et à St-Luce. La côte sud-est de l'île est dotée d'une barrière récifale qui s'étend sur près de 25 km, coupée par de nombreuses passes. La partie nord-est est très exposée à la houle et arbore quelques plateaux peu profonds au large de la côte. Les grands types d'écosystèmes marins retrouvés sont donc le récif, la mangrove ou forêt littorale de palétuviers et les herbiers à Syringodium filiforme Kützing et à Thalassia testudinum Banks ex König. La courantologie autour de l'île tourne globalement dans le sens antihoraire en surface alors qu'au fond le sens est variable en fonction de la marée et de la zone côtière (Pujos et al. 1992). Les observations de terrain réalisées aux divers sites d'étude permettent de compléter ces données globales. La force et le sens du courant varient donc en fonction des marées, dont le marnage ne dépasse pas un mètre (Pujos et al. 1992), et des apports des rivières en période de forte pluie.

La zone littorale de l'île est soumise à des pressions de plusieurs types : l'apport sédimentaire par les rivières est important du fait d'un relief marqué et d'une mise à nue des sols par l'agriculture ; l'enrichissement en nutriments du milieu provient d'un assainissement autonome globalement peu conforme, de stations d'épuration mal dimensionnées et des intrants de l'agriculture ; la contamination par les produits phytosanitaires issus de l'agriculture est importante surtout dans les fonds de baie ; la surexploitation des fonds côtiers par la pêche n'est pas négligeable malgré la présence de cantonnements de pêche mis en place pour rétablir les populations de poissons.



Figure II-1. Carte générale de la Martinique et du plateau insulaire (Source Guennoc & Duclos 2007).

Les sites qui ont été étudiés dans le cadre de la thèse sont au nombre de 20, répartis autour de la Martinique. Ils sont représentatifs des différents environnements qui peuvent être retrouvés, des fonds de baie calmes aux côtes exposées à une mer forte, et des côtes rocheuses aux formations récifales (Tableau II-1 ; Fig. II-3). Sur la totalité des sites, quinze correspondent aux sites déjà étudiés dans le cadre de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) et appartiennent au réseau de référence, de surveillance ou parfois aux deux. Ils sont répartis dans les différentes masses d'eau définies par la DCE marine. Cinq sites complémentaires correspondent à des situations particulières :

- rejet de station d'épuration : au site Step Anse Marette (SAM) l'exutoire est à 11 m de profondeur, en zone exposée au vent, avec une courantologie variable. Au site Step Desmarinière (SDE) l'exutoire se situe à l'entrée de la Baie du Galion. La baie est exposée aux vents et connait des apports importants en alluvions organiques en provenance de la rivière du Galion (Fig. II-2) ;

- carénage : le site Carenantilles Marin (CAM) fait face à la zone de carénage et connait une contamination de l'eau par divers métaux, hydrocarbures, solvants, produits antifouling, etc. ;

- embouchure de rivière : le site Panache Lézarde (PLE) est situé à l'embouchure de la rivière Lézarde, plus important bassin versant de l'île en superficie. Il s'agit donc d'une importante zone d'apports en matériaux terrigènes (matière en suspension) et en polluants divers (zones agricoles, routes, etc.) ;

- zone de chargement de sable de carrière : le site Carrière (CAR) est au niveau de la zone d'appontement des barges pour le transport des matériaux de carrières. Les pertes de sable au moment du chargement favorisent une hyper sédimentation des fonds et une turbidité de l'eau au niveau du site (Fig. II-2).

Tableau II-1. Liste des sites d'étude sur le littoral côtier martiniquais

Noms et codes stations. En *italique* : sites complémentaires ; Réseau/finalité : ref = réseau de référence DCE, surv = réseau de surveillance DCE, ref-surv = à la fois un site de référence et surveillance, STEP= station d'épuration.

Masse d'eau DCE marine	Site	Code station	x	Y	Proto -cole	Acqui -sition	Réseau / finalité
Côte rocheuse expo., plateau insulaire Atl.	Cap St-Martin	CSM	692740	1643739		Х	ref
Nord Caraïbes	Carrières	CAR	694330	1632979		Х	carrière
Nord Caraïbes	Fond Boucher	FBO	698621	1621063		Х	surv
Baie de Fort-de-France	Panache Lézarde	PLE	712921	1614508		Х	rivière
Baie de Génipa	Banc Gamelle	BGA	711066	1612801	Х	Х	surv
Baie de Fort-de-France	STEP Anse Marette	SAM	708046	1609384	Х	Х	STEP
Anse d'Arlets	Cap Salomon	CSA	704741	1604613	Х	Х	ref-surv
Eaux côtières du Sud et Rocher du Diamant	Rocher du Diamant	RDI	711303	1597810		Х	ref-surv
Baie de St-Luce	Corps de Garde	CGA	721697	1599315	Х	Х	ref
Baie de St-Anne	Pointe Borgnèse	РВО	726141	1598494		Х	surv
Baie du Marin	Baie du Marin	BMA	728220	1599526		Х	surv
Baie du Marin	Carenantilles marin	CAM	728971	1600872		Х	carénage
Littoral du Vauclin à St-Anne	Caye Pariadis	СРА	736178	1608923		Х	surv
Littoral du François au Vauclin	Pinsonnelle	PIN	733478	1614966	Х	Х	ref
Récif barrière Atlantique	Loup Garou	LGA	731651	1624185		Х	ref-surv
Est de la biae du Robert	llets à rats	IRA	725930	1624522		Х	surv
Baie du Galion	STEP Desmarinière	SDE	722817	1629166		Х	STEP
Baie du Trésor	Baie du Trésor	BTR	727510	1632880		Х	ref-surv
Baie de la Trinité	Loup Ministre	LMI	721958	1635295		Х	surv
Nord Atlantique, plateau insulaire	Loup Caravelle	LCA	722720	1637600		Х	ref-surv



Figure II-2. Stations complémentaires Carrière et STEP Desmarinière

La phase de mise au point du protocole d'échantillonnage sur substrat artificiels a porté sur cinq sites (Tableau. II-1: Protocole) se distinguant par leurs caractéristiques physico-chimiques et hydromorphologiques. Le site PIN (Atl1), situé sur la côte Atlantique, présente des conditions agitées avec du vent et de la houle. Le fond est sablo-vaseux avec du récif à proximité. Le site BGA (Bay1) se trouve en fond de baie de Fort-de-France, une zone calme et relativement fermée qui reçoit les apports de quelques rivières importantes. Le fond est formé de zones de corail vivant et débris coralliens avec une tendance à l'envasement lié à une hyper sédimentation. Le site SAM (Bay2) est positionné en sortie de baie de Fort-de-France, au niveau d'un émissaire en mer de station d'épuration. Ce rejet est diffus, avec des sorties en plusieurs points le long de la canalisation. Le fond est formé de sable et d'herbiers marins. Le site CSA (Car1), situé sur la côte Caraïbes, présente un fond constitué de gros blocs colonisés par une importante faune fixée. Ce site connaît de forts courants, qui peuvent varier en un laps de temps très court et qui procurent au site une eau limpide. Le site CGA (Car2), situé sur la face sud de la côte Caraïbes, est exposé à la houle et les conditions de vent et de courant sont moyennes. Il se situe sur un plateau corallien formé de patates coralliennes et de zones sableuses. Les différentes conditions de croissance du biofilm ont ainsi été couvertes, de manière à définir un protocole final adapté à diverses situations.

La phase d'acquisition de données sur la composition des assemblages diatomiques et la physicochimie de l'eau s'est déroulée sur cinq campagnes et a porté sur les vingt sites présentés plus haut. Le site Loup Caravelle (LCA) n'a pu être prélevé (perte des substrats artificiels et du système d'ancrage) qu'aux campagnes 2 et 3, en conséquence pour trois des campagnes il n'y a que dix-neuf prélèvements. A chaque campagne ont été relevées les données sur les conditions climatologiques (ensoleillement, vent) et l'état de la mer (houle, courant), ainsi que la quantité de précipitation à la station pluviométrique la plus proche.



Figure II-3. Stations d'étude autour de la Martinique

Sites DCE existants, sites complémentaires et sites choisis pour la mise au point du protocole d'échantillonnage.

2. Du prélèvement du matériel diatomique aux comptages d'abondances

2.1. Prélèvement

Les échantillons de diatomées ont été prélevés sur un substrat artificiel d'une surface de 180 cm². La méthodologie pour l'utilisation de substrats artificiels (matériau des substrats, durée de colonisation, position dans la colonne d'eau, profondeur, etc.) a fait l'objet de la première partie du travail de thèse et est détaillée au Chapitre III. Une lame de rasoir, neuve et changée à chaque site, a été utilisée pour le grattage étant donné la présence d'un biofilm épais de plus de quelques millimètres. La lame a ainsi permis de hacher les plus gros éléments. Le matériel a ensuite été récupéré dans un récipient large préalablement nettoyé et rincé à l'eau de mer filtrée (filtration 1µm + lampe UV). Le récipient contenant de l'eau de mer filtrée a permis de diluer le biofilm puis de

l'homogénéiser par mélange avant qu'un sous-échantillon soit mis en flacon et formolé pour une concentration finale à 10% (v/v).

2.2. Traitement des échantillons et comptages

Le traitement chimique de l'échantillon élimine la partie organique de la cellule pour ne conserver que le frustule siliceux, qui va être observé pour l'identification des espèces. La qualité du traitement sera donc importante pour assurer un comptage représentatif de la communauté de diatomées présentes dans l'échantillon. Les situations suivantes peuvent résulter d'un traitement mal réalisé et compliquer l'identification : fragmentation des valves du fait d'une silicification de la cellule naturellement faible (Vermeulen *et al.* 2012), valves non séparées, valves contenant encore de la matière organique, débris divers recouvrant les valves.

Deux types de traitements ont été testés, inspirés de divers protocoles (Round *et al.* 1990 ; Kelly 2000 ; Witkowski *et al.* 2000 ; Julius & Theriot 2010). La présence de valves de grandes tailles nous a amené dans un premier temps vers un traitement à froid des échantillons, moins destructeur pour les cellules. Cependant il s'est avéré que certains échantillons contenaient essentiellement des taxons de petite ou très petite taille. Pour réaliser un comptage adéquat de ces taxons, il faut idéalement avoir un échantillon propre et des valves séparées. Nous avons donc dans un second temps procédé à un traitement à chaud. Les procédures suivantes ont été appliquées (Fig. II-4):

- Environ 25 ml d'échantillon placés dans un bécher ;

- Ajout d'environ 25 ml d'acide chlorhydrique à 33% v/v pour l'élimination des carbonates, puis environ 2,5 ml d'acide nitrique concentré (70% v/v) pour supprimer les éventuelles cyanobactéries présentes. On laisse agir et décanter au minimum 24 h, puis on retire le surnageant ;

 Dans le cas du traitement à froid, 1 à 3 mg de cristaux de dichromate de potassium sont ajoutés pour oxyder la matière organique, avec quelques gouttes d'eau oxygénée concentrée (30 % v/v) pour activer la réaction ;

 Pour le traitement à chaud, environ 25 ml d'eau oxygénée concentrée sont ajoutés. Le bécher est chauffé progressivement jusqu'à 200°c jusqu'à élimination complète de la matière organique.
De l'eau oxygénée peut être ajoutée en cours de traitement, en cas d'évaporation importante et/ou s'il reste de la matière organique à oxyder ;

- L'échantillon est laissé à décanter pendant 12 h, puis le surnageant remplacé par de l'eau déminéralisée. Pour l'échantillon traité à froid, le processus complet de traitement est répété jusqu'à trois fois si nécessaire ;

- En fin de traitement (à froid ou à chaud), lorsqu'il n'y a plus d'agents chimiques à ajouter, l'échantillon est rincé trois à quatre fois après décantation d'au minimum 6 h ;

- Une goutte d'échantillon est placée sur une lamelle et mise à sécher à l'air libre sous une protection anti-poussière. La concentration est vérifiée au microscope à grossissement X400, avec

pour objectif une densité de 6-10 valves par champ lorsqu'elle sera observée à grossissement X1000 (à immersion) ;

- Une résine à haut pouvoir réfringent, le Naphrax [™] (indice de réfraction=1,7), est utilisée pour le montage des lames. Une goutte est placée sur une lame et la lamelle posée face vers le bas dans la résine. La lame est chauffée jusqu'à la formation de grosses bulles, pour permettre une pénétration adéquate de la résine dans la silice. Une pression douce sur la lamelle permet d'éliminer le surplus de résine et les bulles d'air.



Figure II-4. Procédure de traitement des échantillons, à chaud et à froid, en vue de l'observation des frustules de diatomées

L'observation des lames s'est fait à grossissement X1000 (objectif X 100 à immersion) au microscope optique (Leica DMLB) équipé d'un objectif à contraste de phase. Le comptage des valves a été réalisé selon la procédure normalisée (AFNOR 2004) : les champs d'observation balayés successivement ne se chevauchent pas ; les diatomées brisées sont prises en compte seulement si les trois-quarts environ sont présents ou si au moins un pôle et l'aire centrale sont présents ; les diatomées difficilement identifiables (mal nettoyées ou couvertes par des débris) ne sont pas prises en compte, l'unité de base de dénombrement est la valve donc un frustule intact est considéré comme étant égal à deux unités.

Nombre minimal d'unités diatomiques

Afin de garantir un comptage représentatif de la population de diatomées dans l'échantillon, il est nécessaire de dénombrer un nombre minimal de valves sur une lame, toutes espèces confondues. Le nombre de valve pour chaque espèce servira ensuite à la détermination des abondances relatives des espèces. Ce nombre minimal a été fixé à 400 valves par la norme AFNOR (AFNOR 2007) relative au calcul de l'Indice Biologique Diatomée (IBD) pour les eaux douces continentales. Pour les eaux côtières de la zone caraïbe, cette valeur est à fixer avant d'entreprendre des comptages d'inventaires. La méthode appliquée, dite « à épuisement », a consisté à diviser le comptage par tranche de 100 unités pour une même lame. Cette méthode a été appliquée sur six lames différentes. Les peuplements de diatomées des eaux côtières de Martinique sont caractérisés par un nombre important d'espèces présentes en faibles abondances. Ainsi, la progression de la richesse reste importante même après un nombre élevé de valves comptées. Le pourcentage de nouveaux taxons par tranche de 100 valves comptées est calculé selon la formule suivante :

% de nouveaux taxons = n taxons en plus dans n+100 valves x 100/ n taxons identifiés sur n valves

Le pourcentage de nouveaux taxons par tranches de 100 valves diminue progressivement, en étant de 37,5% à 200 valves pour passer à 5,6% à 800 valves (Fig. II-5). Les résultats du test ANOVA 1-facteur révèlent une différence significative de la tranche 200 valves par rapport à toutes les autres tranches. A 300 valves, la différence de pourcentage de nouveaux taxons est significative par rapport à la tranche 200 valves. Puis les tranches 600, 700 et 800 valves sont différentes de la tranche 300 valves. Il y a donc un premier niveau, entre les tranches 300 et 400 valves, dans le gain de nouveaux taxons, puis un second niveau au-delà de 500 valves.



Figure II-5. Pourcentage de nouveaux taxons par nombre d'unités diatomiques comptées

n=6; barre d'erreur = écart-type ; p<0,05 pour le test ANOVA 1-facteur, les lettres indiquent les groupes statistiquement homogènes.

La structure de la population est évaluée par les indices de diversité de Shannon (H') dont la formule est la suivante :

$$\mathbf{H}' = -\sum_{n=1}^{Rich} {\binom{ni}{N}} * \log_2 {\binom{ni}{N}}$$

où Rich=nombre total d'espèces, N= effectif total et ni=effectif de l'espèce i

et d'Equitabilité (E) dont la formule est la suivante :

$$\mathbf{E} = \frac{H'}{\log_2 Rich}$$

où H'=indice de Shannon et Rich= nombre total d'espèces

L'indice H' varie de 0 à log₂ de la richesse totale et indique la répartition de l'effectif total entre les espèces. Une valeur d'indice H' élevée traduira une abondance totale répartie entre les taxons. L'Equitabilité, qui varie de 0 à 1, permet de comparer l'étalement des effectifs dans des populations ayant des richesses différentes (Scherrer 1984). E aura une note faible pour un peuplement contrasté, et une note élevée pour un peuplement plat. La combinaison d'une équitabilité faible et d'une diversité élevée indique un peuplement mature et structuré, contrairement à une équitabilité forte avec une faible diversité qui indique un peuplement perturbé ou récemment installé. La Fig. II-6 illustre une équitabilité qui est en diminution constante avec l'augmentation du nombre de valves et une diversité qui augmente de façon plus régulière au-delà de 300 valves.



Nombre d'unités diatomiques

Figure II-6. Evolution des indices de diversité (H') et d'Equitabilité (E) en fonction du nombre d'unités diatomiques comptés sur une lame

n=6 ; barre d'erreur=écart-type.

Tant la richesse que les indices démontrent un changement d'équilibre au-delà de 300 valves comptées. Cependant, aucun des indicateurs ne se stabilise dans la limite des 800 valves.

L'information apportée par le comptage de valves supplémentaires est difficile à évaluer car il ne s'agit que de quelques individus par espèce supplémentaire. On peut donc supposer que ces faibles abondances auront un poids minime lors du calcul de l'indice. Une limite de 500 valves a donc pu être raisonnablement fixée sans souffrir d'une perte majeure d'information sur le peuplement.

Comparaison entre traitement de l'échantillon à chaud et à froid

Les échantillons traités à chaud et à froid ont été comparés par comptage des abondances spécifiques, sur un site caractérisé par la présence d'espèces de grandes tailles (RDI) et deux sites pour lesquels les échantillons étaient difficiles à nettoyer (présence de MES) et contenaient des espèces de petites taille (CAM, SDE). Sur 500 valves comptées, la richesse pour le traitement à chaud est supérieure avec en moyenne 10 espèces supplémentaires prises en compte. L'indice de diversité (H') donne également de meilleurs résultats pour le traitement à chaud alors que l'Equitabilité (E) est similaire pour les deux traitements (Fig. II-7). Les résultats démontrent que le traitement à chaud, bien que théoriquement plus agressif, permet une meilleure évaluation du peuplement diatomique. L'impact s'avère mimine sur les espèces fragiles alors que le traitement à chaud améliore grandement le comptage pour les échantillons présentant des petites espèces qui sont souvent en amas. Les petits spécimens posent des difficultés d'identification du fait de leur taille, qui sont amplifiées si la cellule n'est pas parfaitement propre et isolée. Ainsi un traitement à chaud en douceur, en évitant une ébullition trop forte et prolongée, sera privilégié sur un traitement à froid donnant un nettoyage insuffisant de l'échantillon.



Figure II-7. Richesse en espèce, Diversité (H') et Equitabilité (E) moyens pour les même échantillons traités à chaud et à froid

n=3; barre d'erreur=écart-type.

2.3. Identification des espèces

Les espèces ont été photographiées au microscope optique (LM) par une Moticam 5 megapixels et aux microscopes électroniques (SEM) Hitachi S5500 et S8000 de la Warsaw University of Technology et Hitachi S4500 de la J.W. Goethe University à Frankfurt am Main. Les images ont été mesurées par le logiciel AxioVision et traitées par divers logiciel de retouche photographique (Office Picture Manager, GIMP, Photo filtre). Un atlas des espèces recensées dans les échantillons a été élaboré pour améliorer notre connaissance de la flore présente. Chaque planche iconographique de l'atlas illustre un taxon par des photographies au microscope optique et si possible au microscope électronique lorsque disponible, et décrit les dimensions des individus en comparant les valeurs de l'échantillon avec les valeurs de la référence (Fig. II-8). Les espèces qui ont pu être identifiées ont été nommées par leur nom scientifique et par leur code Omnidia (code à quatre caractères, cf. 1.4). Pour les espèces nouvelles, le nom de l'espèce a été remplacé par sp + numéro et leur codes composé du code genre à deux ou trois lettres + un ou deux numéros (par ex : OL04 pour Olifantiella sp4 ou TAS1 pour Thalassiosira sp1). Pour faciliter les identifications lors des comptages, un guide des espèces regroupe les diatomées similaires sur une même planche (Fig. II-9) (Desrosiers et al. 2014a). Ce guide offre, dans sa première partie, une description succincte de tous les genres rencontrés (correspondant à l'annexe 1), puis dans sa seconde partie, rassemble de façon concise par catégories (Centrales, Araphides, Monoraphides, Biraphides) l'ensemble des espèces codifiées au cours du travail de thèse.



Figure II-8. Planche iconographique de l'espèce Mastogloia corsicana Grunow in Cl. & Möller

Numéro de planche Pl. 15	Code genre Or СНАМ	nnidia Genre CHAMAEPINNULARIA
Chamaepinnularia sp2 CS05	Chamaepinnularia wiktoriae CW	
Chamaepinnularia alexandrowicz	ii CALD	
	OLIF	OLIFANT IELLA
Olifantiella sp1 OL01	Olifantiella sp2 OL02	Olifantiella sp3 OLO3
Olifantiella sp4 OL04	OlFantiella mascarenica OMAS	Olifantiella gorandensis OGOR
Olifantiella paucistriata OPAU		

Figure II-9. Exemple de planche du guide des espèces

Exemple des espèces appartenant aux genres *Chamaepinnularia* Lange-Bertalot & Krammer et *Olifantiella* Riaux-Gobin & Compere.

Les identifications à l'espèce ont été conduites avec :

- les ouvrages de détermination couramment utilisés par les diatomistes, de la collection Bibliotheca
Diatomologica, Iconographia Diatomologica, Diatoms of Europe et SüBwasserflora von Mitteleuropa
(Krammer & Lange-Bertalot 1991, 1997a, b; Metzeltin & Lange-Bertalot 1998; Lange-Bertalot 2001;
Metzeltin *et al.* 2005; Metzeltin & Lange-Bertalot 2007; Levkov 2009) ;

- des ouvrages dédiés spécialement aux diatomées marines (Hustedt 1955; Foged 1984; Witkowski *et al.* 2000; Hein *et al.* 2008; Riaux-Gobin *et al.* 2011; Stidolph *et al.* 2012) ;

- ainsi que de nombreuses publications scientifiques (Navarro 1981a, 1981b, 1982a; Navarro 1982b; Navarro 1982c, 1983a, 1983b; Navarro *et al.* 1989; Romero & Navarro 1999; Danielidis & Mann 2002; Danielidis & Mann 2003; Sar *et al.* 2003; Wachnicka & Gaiser 2007; De Stefano *et al.* 2008; Riaux-Gobin & Compère 2008; Lopez Fuerte *et al.* 2010; Lobban *et al.* 2012; Trobajo *et al.* 2012).

2.4. Saisie des inventaires

Le logiciel OMNIDIA, développé pour le calcul des indices en eau douce (Lecointe *et al.* 2003), a été utilisé pour saisir les résultats d'inventaires. OMNIDIA a pour avantage d'utiliser une base de données taxons évolutive. La base 2012 utilisée pour la saisie de nos inventaires comprend plus de 10 000 espèces, chacune codifiée par quatre lettres. Pour chaque espèce sont précisées les références bibliographiques dans lesquelles l'espèce est illustrée et décrite. Si l'espèce a été renommée, la dénomination couramment utilisée est accompagnée de l'ancienne dénomination. Bien qu'il s'agisse d'un logiciel destiné au calcul des indices d'eau douce, il intègre la plupart des espèces marines courantes notamment celles décrites par Witkowski *et al.* (2000). En cas de présence dans les inventaires d'espèces non listées dans la librairie, le logiciel offre la possibilité d'ajouter des espèces de façon manuelle. Cette caractéristique n'est pas négligeable dans le cas de la saisie de nos inventaires pour lesquels de nombreuses espèces décrites et nommées sont absentes de la librairie et doivent être ajoutées, ainsi que de nombreuses espèces nouvelles ou non identifiées.

3. Chimie marine

La description physico-chimique des sites comprend des mesures *in situ* et des analyses en laboratoire. La physico-chimie a été réalisée au moment de l'immersion des substrats et lors de la récolte du biofilm, ce qui totalise dix mesures par paramètre et par site.

Les mesures *in situ* ont été réalisées avec une sonde multi-paramètres Hanna HI9828 câble long et comprennent les paramètres oxygène dissous (O_2 en mg I^{-1}), saturation en oxygène (O_2 en %), pH (unité pH), température (T° en °C), salinité (en PSU). Un profil a été réalisé avec une mesure tous les deux mètres jusqu'au fond et un point fixe à trois mètres correspondant à la profondeur théorique de pose des substrats. La sonde a été étalonnée à chaque début et milieu de campagne. Dans un premier temps, une solution de conductivité à 1413 µS/cm a été utilisée puis a été remplacée par une solution TDS à 6,44 ppt vendue par le fabricant de la sonde comme un étalon de salinité. Toutefois malgré ce changement, les valeurs sont à prendre avec précaution. A chaque étalonnage, la valeur de lecture a été vérifiée avec une solution de salinité connue et l'étalonnage recommencé en cas de mesure aberrante. Etant donnée la particularité des données de salinité, leur exploitation a nécessité un travail particulier expliqué au chapitre 5.

Les prélèvements pour les analyses de l'eau en laboratoire ont été effectués à 3 mètres de profondeur à la bouteille Niskin. Le choix des paramètres physico-chimiques à analyser en laboratoire (Tableau II-2) a été basé sur i) les paramètres ayant une influence sur les diatomées d'eau douce dont le dosage est possible sur les eaux salées, ii) les paramètres déjà pris en compte dans le

cadre du suivi DCE marine, iii) les paramètres les plus couramment rencontrés dans la bibliographie (Hillebrand & Sommer 1997; Parnell 2003; Frankovich *et al.* 2006; Collado-Vides *et al.* 2007). Certains paramètres sont calculés et leur formule précisée dans le Tableau II-3. L'ensemble des résultats concernant les composés carbonés, azotés et phosphorés sont donnés en µmol I^{-1} dans le tableau de données final.

Paramètre	Traitement au prélèvement	Conser- vation	Méthode d'analyse	Limite de quantification (LQ)
Ammonium (NH ₄)	Filtration 1,2 μm	-20°C	Spectro UV-Vis	0,1 µmol l ⁻¹
Nitrites (NO ₂)	Filtration 1,2 μm	-20°C	NF EN ISO 13395	0,04 µmol l ⁻¹
Nitrates (NO ₃)	Filtration 1,2 μm	-20°C	NF EN ISO 13395	0,08 µmol l⁻¹
Azote kjeldahl (NKJ)	Filtration 1,2 μm	-20°C	NF EN 25666	0,2 mg l ⁻¹
Orthophosphates (PO ₄)	Filtration 1,2 µm	-20°C	Spectro UV-Vis	0,05 µmol l ⁻¹
Phosphore total dissous (PTD)	Filtration 1,2 μm	-20°C	NF EN ISO 6878	0,02 mg l ⁻¹
Silicate (Si(OH) ₄)	Filtration cellulose 0,45 µm	4°C	NF EN ISO 16264	0,32 µmol l ⁻¹
Carbone organique dissous (COD)	Filtration cellulose 0,45µm + HNO3	4°C	NF EN 1484	0,5 mg l ⁻¹
Carbone organique total (COT)	Filtration 200 µm + HNO3	4°C	NF EN 1484	0,5 mg l ⁻¹
Matière en suspension (MES)	Filtration 200 μm	4°C	NF EN 872	0,5 mg l ⁻¹
Turbidité	Filtration 200 μm	4°C	NF EN ISO 7027	0,2 NFU
Sulfates (SO ₄)	Filtration 200 μm	4°C	NF EN ISO 10304-2	0,30 mg l ⁻¹
Fer (Fe)	Filtration 200 μ m + HNO3	4°C	NF EN ISO 17294-2	5 μg l ⁻¹
Chlorophylle a (Chl a)	Prélèvement direct		Spectro Vis	0,1 μg l ⁻¹
Pheopigments (Phéo)	Prélèvement direct		Spectro Vis	0,1 μg l ⁻¹
Azote inorganique dissous (NID)	Calcul			
Azote organique dissous (NOD)	Calcul			
Azote total dissous (NTD)	Calcul			
Phosphore organique dissous (POD)	Calcul			

Tableau II-2. Paramètres chimiques analysés au laboratoire pour la phase d'acquisition des données et paramètres calculés

Paramètre	Conversion /Calcul	Formule	Unité
Carbone organique dissous (COD)	Conversion	COD/0,012	µmol l⁻¹
Carbone organique total (COT)	Conversion	СОТ/0,012	µmol l ^{⁻1}
Phosphore total dissous (PTD)	Conversion	PTD/0,031	µmol l ^{⁻1}
Azote inorganique dissous (NID)	Calcul	NID=N-NH4 + N-NO3 + N-NO2	µmol l ^{⁻1}
Azote organique dissous (NOD)	Calcul	NOD=(NKJ/0,014)-NH4	µmol l ^{⁻1}
Azote total dissous (NTD)	Calcul	NTD=NID+NOD	µmol l⁻¹
Phosphore organique dissous (POD)	Calcul	POD=(PTD/0,031)-PO4	µmol l ^{⁻1}

Tableau II-3. Formules de conversions en µmol l⁻¹ et formules de calcul des nouveaux paramètres

Les prélèvements d'eau ont été conduits selon les recommandations d'Aminot & Kérouel (2004). Certains paramètres tels que l'ammonium étant particulièrement sensibles à la contamination, le matériel nécessaire au prélèvement (seringues, portes-filtre) a été décontaminé au laboratoire dans un bain d'acide chlorhydrique (env. 0,1 mol l⁻¹) puis emballé séparément pour chaque site. Des gants à usage unique ont été portés par les préleveurs tout au long du prélèvement sur un site et le matériel en contact avec l'air ou le bateau (ouvertures et sortie de bouteille Niskin, porte bouteille) a été rincé à l'eau déminéralisée (Fig. II-10). Pour réduire l'altération des concentrations en nutriments sous l'effet de l'activité des organismes vivants, nous avons eu recours à la filtration et à l'acidification pour certains paramètres. Trois types de filtration différentes ont été appliqués - le filet à plancton de porosité 200 μ m, le filtre fibre de verre 1,2 μ m GF/C, le filtre cellulose 0,45 μ m - au remplissage des flacons, en fonction du paramètre à mesurer. De l'acide nitrique concentré (HNO₃) a été ajouté pour la préservation des paramètres COT, COD et Fe (Tableau II-2). Aussitôt le prélèvement achevé, les échantillons ont été placés au frais en glacière jusqu'à l'arrivée à terre. Pour les paramètres devant être analysés rapidement, les échantillons ont été soit déposés au laboratoire local pour analyse soit envoyé par transporteur pour les analyses devant être réalisées en France métropolitaine. Les paramètres supportant la congélation ont été stabilisés par cette méthode, en respectant les contraintes de congélation pour les échantillons marins (Aminot & Kérouel 2004).



Figure II-10. Matériel et installation pour les prélèvements physico-chimiques

Les laboratoires d'analyses ont été rigoureusement choisis en fonction des limites de quantification proposées, de leur expertise pour l'analyse des eaux de mer et du délai pour la réalisation de l'analyse. Le laboratoire départemental d'analyse de la Martinique (LDA972) a été choisi pour l'analyse de la chlorophylle *a*, qui doit être dosée rapidement après le prélèvement, et pour l'ammonium et les orthophosphates. Ces deux derniers paramètres sont d'une part sensibles, et d'autre part les limites de quantification proposées par ce laboratoire sont les plus basses. Il faut noter que le LDA972 a été choisi par les services de l'état pour les analyses du réseau de suivi DCE. L'ensemble des autres paramètres ont été analysés par le Laboratoire de Rouen, laboratoire privé non accrédité COFRAC pour les eaux salines, du fait de son expertise sur les eaux oligotrophes de la Réunion et sa collaboration avec le laboratoire de l'ARVAM qui gère le réseau DCE Réunion. Les orthophosphates présentent la particularité d'avoir été dosé par le LDA972 lors des premières campagnes d'échantillonnage puis par le laboratoire de Rouen, changement qui est intervenu suite à l'intercalibration réalisée (paragraphe suivant et chapitre 5).

Afin de vérifier l'exactitude des résultats physico-chimiques fournis par les deux laboratoires choisis (LDA972, Laboratoire de Rouen), des prélèvements à des fins d'intercalibration ont été réalisés. Une première comparaison entre le Laboratoire de Rouen et le LDA972 a été réalisée en cours d'étude sur trois sites (SAM, CGA, SDE) pour les paramètres NH₄ et PO₄, motivée par des résultats semblant suspects et par l'importance de ces deux paramètres. Cette comparaison, ainsi que le choix final des valeurs retenues sont présentés au chapitre 5.

L'exercice d'intercalibration portant sur la quasi-totalité des paramètres a été réalisé lors des deux dernières séries de prélèvements, sur cinq sites (SAM, CGA, SDE, BTR, LMI ; Fig. II-3) choisis en fonction des résultats obtenus aux précédentes campagnes. Les doublons ont été transmis à divers laboratoires en fonction de leurs spécialités : le laboratoire EcoLab à l'Université Paul Sabatier, le laboratoire ECOMAR de l'Université de la Réunion et le laboratoire de l'ARVAM (Agence pour la Recherche et la Valorisation Marine) (Tableau II-4). Les prélèvements destinés à l'intercalibration ont été conservés de la même manière et traités dans les mêmes délais par les deux laboratoires.

Un protocole spécifique a été utilisé pour la conservation des nutriments (pasteurisation), des MES (filtration sur place) et de la chlorophylle *a* (conservation à -80°c). La pasteurisation a consisté à chauffer les échantillons pendant 2 h à $80\pm$ 3°c. A la fin du processus, les bouchons des flacons ont été resserrés à la pince puis placés individuellement dans des sachets zip pour réduire encore les éventuels échanges avec l'air ambiant (Daniel *et al.* 2012). Les échantillons d'un litre destinés à la mesure des MES ont été filtrés dès le retour du terrain. Les filtres ont été rincés à l'eau déminéralisée pour l'élimination du sel, selon le protocole d'Aminot & Kérouel (2004), puis pliés en quatre et stockés ouverture vers le haut dans un tube conservé à 4°c. Pour la chlorophylle *a*, les filtres chargés de pigments ont été stockés à -80°c dans des tubes opaques pour garantir une conservation optimale.

Les résultats de l'intercalibration sont apportés au Chapitre V. Cet exercice a été réalisé dans le but d'avoir la possibilité de discuter la validité des données, ce qui explique qu'elle ait été réalisée sur les dernières campagnes. Une intercalibration en début de collecte des données aurait été justifié si le but avait été d'adapter les techniques, adaptation qui aurait conduit à un jeu de données peu homogène et difficilement interprétable dans sa globalité.

Paramètre mesuré	Nom lab. routine	Nom lab. intercalib	LQ routine	LQ intercalibration	Conservation/ Traitement avant envoi	Méthode d'analyse lab intercalibration
NH_4	LDA972	ARVAM	0,1 µmol l ⁻¹	0,02 µmol l ⁻¹	Pasteurisation	NF T 90-15 modifié Aminot et Kérouel, 2004
NO ₂	L. de Rouen	ECOMAR	0,04 μ mol l ⁻¹	0,02 µmol l⁻¹	Pasteurisation	Technicon
NO ₃	L. de Rouen	ECOMAR	0,08 μ mol l ⁻¹	0,02 µmol l ⁻¹	Pasteurisation	Technicon
PO ₄	L. de Rouen	ARVAM	0,05 µmol l⁻¹	0,02 μmol l ⁻¹	Pasteurisation	NF EN 1189 modifié Aminot et Kérouel, 2004
PTD	L. de Rouen	Ecolab	0,02 mg l ⁻¹	0,001 mg l ⁻¹ P	-20°c	Colorimétrie
Si	L. de Rouen	Ecolab	0,32 μmol l ⁻¹ Si(OH)₄	$1 \text{ mg I}^{-1} \text{ SiO}_2$	Pasteurisation	Colorimétrie
COD	L. de Rouen	Ecolab	0,5 mg l ⁻¹	0,5 mg l ⁻¹	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
СОТ	L. de Rouen	Ecolab	0,5 mg l ^{⁻1}	0,5 mg l ⁻¹ C	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
MES	L. de Rouen	Ecolab	0,5 mg l ⁻¹	0,1 mg l ⁻¹	Filtration sur place, stockage en tube à 4°c	Filtration GF/F
SO_4	L. de Rouen	Ecolab	0,3 mg l ⁻¹	0,3 mg l ⁻¹	4°c	Chromatographie ionique DIONEX
Chl <i>a</i>	LDA972	Ecolab	0,1 μg l ⁻¹	0,1 μg l ⁻¹	Filtration sur place, stockage à -80°c	Méthode colorimétrique + équation trichromatique

Tableau II-4. Laboratoires choisis et techniques utilisées pour l'exercice d'intercalibration

LQ=limite d	le quan	tification.
-------------	---------	-------------

4. Analyses statistiques

L'analyse des données physico-chimiques (abiotiques) et des données d'abondances relatives d'espèces (biologiques) a nécessité trois étapes, chacune utilisant une méthode statistique (Ramette 2007). Ces étapes sont présentées dans la fig. II-11. Le choix des méthodes a été arrêté après des essais avec diverses méthodes, notamment pour la classification hiérarchique et la définition d'espèces indicatrices. Le logiciel « R » a été utilisé pour effectuer les analyses statistiques.



Figure II-11. Synthèse des étapes de l'analyse statistique des données

Préparation du jeu de données

Les données abiotiques ont été transformées par la méthode de Yeo-Johnson, similaire à la méthode de Box-Cox, qui permet d'approcher le plus possible les données de la normalité et de réduire l'asymétrie (Yeo & Johnson 2000). Elle a été préférée à la transformation log (x + 1) qui permet également de tendre vers la normalité.

Les données biologiques ont été simplement normalisées pour procéder à l'analyse canonique des correspondances. Pour la classification hiérarchique, la distance Euclidienne a été appliquée ce qui revient sur des données normalisées à appliquer la distance de Corde. Cette distance est adaptée

aux données de composition des communautés comprenant de nombreux zéros et qui donne moins de poids aux espèces rares. La transformation de Hellinger possède les mêmes qualités, elle est une des méthodes la plus appropriée pour permettre une analyse consécutive des données par une méthode linéaire (Legendre & Gallagher 2001 ; Ramette 2007). Ces deux transformations ont été utilisées mais la transformation de Hellinger a finalement été écartée, donnant une représentation trop éclatée des sites dans l'analyse canonique et des résultats moins robustes pour la méthode de classification hiérarchique de Ward. La transformation de Chi-carré aurait pu être utilisée pour éviter de minimiser le poids des espèces rares qui, dans le cas présent, semblent importantes pour leur caractère bioindicateur. Mais malgré cet avantage, les données obtenues après transformation ne permettent pas d'obtenir des représentations graphiques et statistiques aussi satisfaisantes.

La matrice de données biologique a été réduite par l'application d'un seuil sur les abondances. Les espèces conservées sont celles ayant une occurrence significative, soit une abondance relative supérieure à 3,6 ‰ dans au moins un comptage, (équivalent à une abondance réelle de 2 individus) (cf.§ V-1.2)

Analyse des données abiotiques

L'analyse en composantes principales (ACP) est la méthode d'ordination dans l'espace la plus couramment utilisée pour les données environnementales. Le principe consiste à ajuster une droite de régression dans un nuage de points, en minimisant le carré des distances orthogonales à la droite de régression. Cette régression qui représente la composante principale des variables originales, devra représenter au mieux la variance contenue dans ces données. Cette variance est exprimée par la valeur propre des axes. Elle permet de représenter les objets (sites) sous forme de points et les descripteurs (paramètres physico-chimiques) sous forme de vecteur. Les angles entre les vecteurs dans l'espace représentent la corrélation entre eux, tandis que la longueur d'un vecteur correspond à sa contribution à la variance de l'axe. Plus le pourcentage de variance porté par un axe, ou sa valeur propre, est élevé, plus l'information portée par cet axe sera fidèle aux données d'origine. Si la plupart des descripteurs ont une contribution forte sur les premiers axes, l'analyse se limitera à ces axes. Dans le cas où les descripteurs (physico-chimie) sont peu adaptés à l'information qu'ils veulent transmettre (caractérisation des sites), ils seront alors porteurs d'une information diffuse qui se traduira par une variance assez bien répartie sur de nombreux axes plutôt que regroupée sur les premiers axes, et par une contribution peu significative de plusieurs descripteurs sur les premiers axes.

L'ACP a donc permis dans un premier temps de juger de la pertinence des variables en fonction de leur contribution sur les axes. Une matrice de corrélation de Pearson a également été réalisée afin de compléter l'analyse des relations entre les descripteurs. Dans un second temps, l'ACP a révélé les corrélations existantes entre les variables et mis en avant l'organisation des objets en fonction des variables.

Analyse des relations assemblages-environnement

L'analyse canonique des correspondances (ACC) est une méthode d'ordination dans l'espace particulièrement adaptée à l'analyse des relations entre la distribution des espèces et les variables environnementales. Cette méthode s'accommode de l'absence d'espèces sur certains sites et est sensible aux espèces rares. Il s'agit d'une approche à la fois d'ordination et de régression multiple dans laquelle les axes sont des combinaisons linéaires des variables environnementales, c'est-à-dire que la méthode cherche la combinaison de variables environnementales qui explique le mieux la dispersion de la matrice espèces (ter Braak & Verdonschot 1995 ; Legendre & Legendre 1998). Il s'agit de la forme contrainte de l'analyse factorielle des correspondances. Les données environnementales sont représentées par des vecteurs et les espèces par des points. En ce qui concerne l'interprétation, les vecteurs des variables environnementales s'analysent de la même façon que pour l'ACP. La distance des sites et des espèces par rapport à la perpendiculaire d'un vecteur n'apporte pas d'information, mais c'est la position parallèle au vecteur qui permettra de caractériser le site ou l'espèce. La proximité entre les points espèces et les points sites représente des affinités, mais la distance n'est pas proportionnelle au degré d'affinité. Les espèces au centre de l'espace d'ordination sont mal représentées sur les axes tandis que les espèces rares, qui contribuent peu à l'inertie totale, sont placées en marge proche des points des sites où elles se retrouvent.

En complément de l'ACC, un test de permutation a été réalisé afin de juger de la significativité des variables environnementales pour expliquer le positionnement des points espèce dans l'espace d'ordination. L'hypothèse nulle est la suivante : H_0 = il n'y a pas de relation linéaire entre la matrice réponse et la matrice explicative. En d'autres mots, plus l'hypothèse est rejetée avec une valeur de p faible (p < 0,001), plus la variable environnementale (matrice explicative) va influencer les espèces (matrice réponse).

Analyse des biotypologies

Classification des sites basée sur les données d'assemblages

De nombreuses méthodes de groupement existent. Elles visent à partitionner l'ensemble des objets en sous-ensembles, tel que chaque objet appartienne à une et une seule sous-collection. Les méthodes hiérarchiques forment de petits ensembles qui se regroupent en unités plus vastes, elles même membres de groupes de rang supérieur. Le résultat est représenté par un dendrogramme dans lequel le niveau de coupe donnera un nombre plus ou moins important de groupes. Les méthodes non-hiérarchiques produisent une seule partition qui optimise l'homogénéité intragroupe.

L'étude des assemblages s'est faite par la méthode de classification ascendante hiérarchique de Ward. Cette méthode favorise l'homogénéité intra-groupe en ne fusionnant les groupes que si cela augmente le moins possible la variation intra-groupe. La fonction Ward.D2 (Murtagh & Legendre 2013) a été utilisée sous R. Une classification des sites par la méthode non-hiérarchique k-means a également été réalisée mais n'a pas été retenue.

Plusieurs distances ont été testées avec la méthode de Ward, dont la distance de Hellinger aux propriétés décrites plus haut, la distance de Manhattan qui est adaptée aux mesures de dissimilarités entre communautés car elle accorde le même poids à chaque espèce, la distance de Bray-Curtis qui correspond à la distance de Manhattan en prenant en compte l'abondance totale des communautés et enfin la distance Euclidienne, qui appliquée sur des données normalisées revient à utiliser la distance de Corde. Cette dernière a donné la meilleure cohérence entre les groupes et les résultats statistiques les plus pertinents.

La fiabilité des groupements obtenus a été jugée par un diagramme des sauts indiquant les différences de hauteurs entre chaque niveau de coupe et par l'indice Silhouette de Rousseeuw (s_i). Cet indice compare la dissimilarité moyenne de chaque objet avec tous les objets de son groupe et avec les objets des groupes les plus proches. Une valeur de s_i proche de 1 signifie que l'objet est bien classé et inversement si proche de -1, et une valeur proche de 0 signifie que l'objet pourrait également être classé dans un autre groupe. Les valeurs des paramètres physico-chimiques ont été illustrées par de plots pour chaque groupe, permettant ainsi d'évaluer la discrimination des groupes en fonction de la chimie.

Les cartes auto-organisantes de Kohonen ou SOM (Self-Organizing Maps) est une méthode également adaptée à l'analyse de nos données d'assemblage. Il s'agit d'une technique de réseaux de neurones artificiels non-supervisés, où chaque neurone est lié aux données d'entrée et aux autres neurones par des valeurs numériques. Ces valeurs numériques sont ajustées pendant une phase d'apprentissage puis utilisées pour classer les données d'entrée de façon à ce que le réseau de neurones décrive au mieux les différences entre celles-ci. Cette technique à l'avantage, contrairement aux autres techniques à base multivariée, d'intégrer au mieux l'information apportée par chaque taxon, de la respecter en tant que telle et de la résumer d'une façon visuelle et intelligible. Une analyse de ce type sera menée sur les données lors d'une phase plus avancée du raisonnement global menant à un indice.

Espèces indicatrices

Les espèces indicatrices sont définies par l'analyse des relations entre les valeurs d'abondances d'une espèce sur une série de sites échantillonnés et la classification de ces sites en groupes. Ces groupes peuvent représenter des types d'habitats, de communautés, des perturbations du milieu, etc. Il y a deux types de données nécessaires pour la définition d'espèces indicatrices : une matrice de données d'abondances et les données de classification des sites en groupes.

La Valeur Indicatrice (IndVal) développée par Dufrêne et Legendre (1997) détermine quelles espèces peuvent être indicatrices de certains groupes de sites. Elle mesure l'association entre une espèce et un groupe de sites, puis cherche le groupe présentant la plus forte valeur d'association. Enfin, la valeur statistique de cette association est testée par un test de permutation. L'IndVal est calculé en faisant le produit de l'abondance moyenne d'une espèce dans les sites d'un groupe comparé à tous les groupes (A) et de la fréquence relative d'occurrence d'une espèce dans les sites d'un groupe (B). La formule est la suivante (Dufrêne et Legendre 1997)

A_{ij} = N individus_{ij} / N individus_i

B_{ij} = N sites_{ij} / N sites_j

 $IndVal_{ij} = A_{ij} \times B_{ij} \times 100$

avec i pour chaque espèce et j pour chaque groupe de sites.

La fonction *multipatt* du package « indicspecies » sous R a été utilisée pour le calcul de l'IndVal. Cette fonction est une extension de la méthode originale de l'IndVal dans la mesure où elle recherche à la fois les espèces indicatrices de chacun des groupes mais aussi dans les combinaisons de groupes de sites. Les résultats du calcul ont été extraits avec la fonction « IndVal.g » de façon à voir figurer les deux composantes « A » et « B » du calcul. La composante « A » équivaut à la spécificité, sa valeur est égale à un si l'espèce est présente uniquement dans un groupe. La composante « B » équivaut à la fidélité et sa valeur est égale à un lorsqu'une espèce est présente dans tous les sites du groupe. Autrement dit, « B » va être élevé pour une espèce adaptée à tous les types d'habitats et dont la probabilité d'être échantillonnée sera important, alors que la valeur sera faible pour les espèces plus rares (De Caceres & Legendre 2009). Les critères fixés par DeCaceres *et al.* (2012) pour sélectionner des espèces indicatrices pertinentes sont A > 0,6 et B > 0,25. Ces critères sont repris dans le présent travail dans la mesure où, dans le contexte étudié, les espèces indicatrices semblent être celles qui sont les plus rares, d'où l'intérêt de donner plus d'importance à la composante « A » de l'IndVal.

Pour chacune des espèces indicatrices d'un groupe, les valeurs des paramètres physico-chimiques correspondant aux relevés dans lesquels l'espèce a été trouvée ont été illustrées par des plots. Cela permet de juger de la valeur indicatrice de l'espèce pour un groupe en comparant avec les plots de physico-chimie du groupe et constitue également une première approche vers la définition des preferenda écologiques des espèces.

CHAPITRE III. PROTOCOLE POUR L'ECHANTILLONNAGE D'UN PEUPLEMENT DIATOMIQUE A L'EQUILIBRE SUR SUBSTRAT ARTIFICIEL

1. Présentation générale et résumé

L'étude des diatomées benthique marines à des fins de biomonitoring de la qualité des eaux côtières est une approche nouvelle. De ce fait, aucun protocole normalisé pour le prélèvement du biofilm n'existe à ce jour. Nous avons choisi de prélever le biofilm sur substrats artificiels afin de s'affranchir de la variabilité de profondeur inter-sites et de l'éventuel impact du substrat naturel sur la nature du biofilm obtenu. L'utilisation de substrats artificiels pour les prélèvements de diatomées en routine nécessite une étude préalable permettant d'identifier : (1) la durée de colonisation nécessaire à la communauté pour atteindre le climax (équilibre entre pertes et gains), (2) le matériau le plus adapté au développement d'un biofilm abondant, riche et diversifié. La croissance a été suivie de façon hebdomadaire, pendant 8 semaines, pour trois types de substrats. Les paramètres d'évaluation de la croissance du biofilm étaient la matière sèche mesurée sur la totalité du biofilm ainsi que la densité valvaire, la richesse en espèce et l'abondance relative des espèces de diatomées.

Lors de sa croissance, le biofilm est influencé par des facteurs physiques et chimiques liés à son environnement. Les espèces formant le biofilm vont résulter de ces forçages. Comprendre l'effet de certains de ces facteurs permet de révéler au mieux l'influence de la qualité de l'eau sur la composition du biofilm. Considérons un à un les facteurs qui ont un intérêt dans le cadre de l'utilisation de substrats artificiels : (1) La luminosité dont bénéficie le biofilm dépend de la profondeur à laquelle se trouve le substrat. Des assemblages d'espèces sur substrats placés à 0,5 ; 1 ou 1,5 mètres de profondeur sont différents du fait du rayonnement UV important et ce seulement durant les 15 premiers jours de croissance (Santas et al. 1997). Le nombre et la densité des algues (diatomées, cyanobactéries, algues vertes filamenteuses, algues rouges et brunes) formant le biofilm ont un développement optimal avec un rayonnement photosynthétiquement actif (RPA) entre 20% et 90% (Titlyanov et al. 2008). La profondeur ainsi qu'une forte turbidité réduisent ce rayonnement. (2) La rugosité et la nature du substrat influencent la croissance des espèces. L'établissement des premiers cortèges d'espèces dépend des aspérités du substrat, une surface irrégulière offrant une plus grande surface d'attachement qu'une surface plane (Blinn et al. 1980 ; Sekar et al. 2004). Des substrats minéraux tels que le quartz ou le marbre représentent des sources de silice minérale et organique. Leur composition n'étant pas neutre, ce type de substrat introduit un biais dans le développement de la communauté, tant au niveau qualitatif que quantitatif (Penna et al. 2003). Il est également démontré que sur support organique, par exemple les macroalgues en milieu marin, les espèces de diatomées fixées varient entre les algues de genres taxonomiques différents qui servent de support (Hernandez-Almeida & Siqueiros-Beltrones 2008). Mais les espèces de diatomées varient peu si les macroalgues sont différentes espèces d'un même genre. En zone tropicale, ces macroalgues colonisent une grande proportion des substrats durs. Choisir ces derniers pour le prélèvement des diatomées induit le risque d'avoir un effet des macroalgues également présentes. (3) L'état chimique de la masse d'eau est l'information que l'on souhaite extraire par l'examen de la composition en espèces des assemblages de diatomées. Chaque espèce possède un optimum de croissance correspondant à des conditions particulières. Ainsi la qualité et la quantité de nutriments présents dans le milieu influencent la densité du biofilm mais aussi le type de biofilm qui se développe. Le biofilm traduit au mieux l'état de son environnement lorsque les espèces qui le composent atteignent un équilibre entre elles. La communauté a alors atteint son climax (Wetzel 1979).
Les critères de choix et de pose des substrats artificiels ont été établis pour tirer les meilleurs atouts des informations apportées ci-dessus. De ces critères a découlé le plan d'échantillonnage utilisé pour la détermination du temps de croissance minimal nécessaire à l'obtention d'un biofilm à l'état stable, sur le substrat le plus adapté parmi les trois sélectionnés. Les critères et le protocole d'échantillonnage sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tab. III-1).

Paramètre	Critère	Raisons			
Profondour	+ 2 màtros	La proximité de la surface n'influence par la nature du biofilm. Une profondeur importante peut réduire la croissance, surtout en cas de forte turbidité.			
Profonded	T 2 metres	Position à au moins 3 m sous la surface pour diminuer les risques de collision par les bateaux et assurer une immersion totale des substrats en cas de forte houle.			
		Evite un dépôt trop important de particules à la surface du substrat.			
Inclinaison du substrat	Verticale	La plupart des auteurs travaillant avec des substrats artificiels utilisent ces critères de positionnement (Hillebrand & Sommer 1997 ; Lewis <i>et al.</i> 2002 ; Patil & Anil 2005b).			
	Plexiglass [®] déglacé	Le substrat choisit doit être chimiquement neutre et présenter une surface rugueuse.			
Substrats	Verre fritté Carrelage émaillé non lisse	Le substrat le plus utilisé, en mer comme en eau douce, est le verre (Lane <i>et al.</i> 2003 ; Patil & Anil 2005b ; Duong <i>et al.</i> 2007). Viennent ensuite le Plexiglass [®] et les tuiles de céramique. Des substrats tels que l'ardoise, le quartz et le marbre ont également été testés, mais leur composition n'est pas neutre et constitue une source de nutriments pour les cellules.			
Durée	1 prélèvement / semaine, pendant 8	Le temps de pose d'un substrat artificiel en rivière est de 4 semaines. En mer froide, Hillebrand & Sommer (1997) a défini un temps de 5 semaines.			
	semaines	Aucune donnée n'étant disponible en zone tropicale, une durée totale plus importante que la littérature a été testée.			
Physico-chimie	5 sites représentatifs de diverses conditions	Couvrir les diverses réponses de croissance du biofilm pour fixer un temps de pose correspondant aux conditions les plus difficiles.			
Résistance	Support aluminium soudé	Matériau léger et résistant.			

Tableau III-1. Critères pris en compte pour la mise au point d'un protocole d'échantillonnage adapté aux diatomées marines benthiques, sur substrat artificiel

L'utilisation de substrats artificiels a nécessité la réalisation de supports permettant de répondre, d'une part, aux critères de positionnement dans la colonne d'eau (profondeur, inclinaison) et de solidité (temps de pose, agitation des sites) et d'autre part, aux critères du plan d'échantillonnage (Fig. III-1). Le support en aluminium comporte huit faces, soit une par semaine de prélèvement. Un système de rails permet de glisser une plaque de Komacel [®], sur laquelle ont été fixés les substrats. Le système a été conçu pour avoir une flottabilité suffisant à le maintenir à la verticale en cas de courants moyens. Les substrats sont des plaques d'une surface de 180 cm² (15 x 12 cm) en verre fritté, plexiglass[®] poncé au grain 240 et carrelage émaillé non lisse. Sur chaque plaque de Komacel[°] ont été fixés quatre coupons du même type de substrat : deux conservés au frais pour la détermination de la matière sèche, un formolé pour l'observation des diatomées après traitement chimique. Le quatrième était un doublon de sauvegarde, permettant si besoin de laisser de côté un coupon trop différent des autres ou dont le biofilm aurait été abimé.



Figure III-1. Supports de substrats artificiel et plan d'échantillonnage pour l'élaboration du protocole de croissance

La croissance sur les trois types de substrats artificiels est apparue dès la première semaine d'immersion, donnant un biofilm essentiellement composé de diatomées et de bactéries. Au fil du développement sur les 8 semaines, le biofilm s'est densifié et diversifié par l'arrivée de macroalgues puis d'invertébrés, avec des disparités entre les sites. De manière générale pour les trois types de substrats et les cinq sites, la matière sèche (mg cm⁻²) - représentant le développement global du biofilm - a atteint des valeurs plus élevées (médiane entre 2 et 6 mg cm⁻²) à partir de la cinquième semaine de croissance, traduisant l'apparition d'un équilibre entre les espèces présentes. En ce qui concerne les diatomées du biofilm, leur densité (valves x 10³ cm⁻²) croît progressivement avec l'atteinte des densités maximales à la sixième semaine pour le plexiglass et le verre (valeur médiane autour 500-600 valves x 10³ cm⁻²) et à la septième semaine pour le carrelage (valeur médiane autour de 700 valves x 10³ cm⁻²). Cependant en termes d'espèces, la communauté de diatomées suit un

processus de colonisation différent avec une richesse maximale dès la troisième semaine (valeur médiane avoisinant 45 espèces pour les trois substrats). D'après Hillebrand & Sommer (2000a), le taux d'implantation de nouvelles espèces sur un substrat artificiel ne serait important que sur une courte période de temps après l'immersion des substrats. Le processus aboutissant à un biofilm mature s'expliquerait donc par la multiplication de chaque espèce formant la communauté initiale plutôt que par l'intégration de nouvelles espèces en cours de processus. Les résultats obtenus corroborent cette théorie. Cette dernière donne plus de valeur à la densité valvaire qu'à la richesse spécifique pour la détermination de la durée minimale de croissance nécessaire à l'obtention d'un biofilm mature, car ce dernier est évalué non pas en fonction du nombre d'espèces qu'il contient mais selon l'équilibre qui va s'établir entre les espèces. Les assemblages d'espèces sont comparés en début, milieu et fin de colonisation pour révéler qu'à la 1^{ème} semaine les espèces dominantes en abondance sont de grandes espèces formant des chaînes alors qu'aux 5^{ème} et 8^{ème} semaines les espèces sont de petite taille et solitaires. L'étude comparative du développement des diatomées sur les trois types de substrats à surface rugueuse n'a pas démontré de différence significative, ce qui confirme les résultats de différents auteurs (Cattaneo & Amireault 1992 ; Lane et al. 2003 ; Patil & Anil 2005a). Des différences entre les substrats sont apparues uniquement pour le paramètre matière sèche, traduisant la croissance du biofilm dans son ensemble.

Pour l'étude du biofilm à des fins de bioindication, et suite aux observations, une durée d'immersion minimale de cinq semaines est recommandée, avec un substrat positionné à la verticale à plus ou moins trois mètres sous la surface. Cette durée est adaptée au développement du biofilm dans un environnement tropical en conditions oligotrophes. Etant donné des résultats de croissance similaires entre les types de substrats, notre choix s'est porté sur le Plexiglass[®] qui s'avère être le matériau le plus pratique de par son faible poids et sa solidité.

2. Manuscrit publié dans Journal of Applied Phycology 26 (2014) : 1759-1771

Optimal colonization and growth of marine benthic diatoms on artificial substrata: protocol for a routine use in bioindication

Catherine Desrosiers^{a,b}, Joséphine Leflaive^a, Anne Eulin^b, Loïc Ten-Hage^a

^a Laboratory of Functional Ecology and Environment, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne
 UMR EcoLab bât 4R1, 31062 Toulouse Cedex 9, France
 catherine.desrosiers@asconit.com
 loic.tenhage@univ-tlse3.fr
 josephine.leflaive@univ-tlse3.fr
 ^b Asconit Consultants, ZI Champigny, 97 224 Ducos, Martinique, France
 anne.eulin@asconit.com

Abstract

Benthic diatoms growing on hard substrata are used for their bioindication ability in freshwater quality monitoring. Artificial substrata are needed in cases where any natural substrate is present or to achieve similar sampling conditions between sites. Prior to use marine benthic diatoms for monitoring, a standardized protocol for sampling on artificial substrata must be set up. Two major types of information are required: (1) the time needed for a diatom community to be well developed and mature (climax stage); (2) the optimal growth conditions, given that the substrataum nature and texture are important parameters for the initial phase of biofilm development and can influence the future diatom assemblage. Three substratum types were tested: frosted Plexiglass [®], frosted glass, and rough enameled tiles. They were submerged for 8 week and sampled weekly. The experiment was conducted at five sites of distinct morphology and water chemistry, along the coastal area of Martinique Island, French West Indies. Development of diatom community was studied through biofilm dry weight, valve density, species richness and species relative abundances. Globally, substratum type had no significant effect on any parameter. Frosted Plexiglass [®] was found to be the most interesting substratum because of higher valve densities and practical use. The asymptotic phase of biofilm development was encountered between 5 and 8 weeks depending on site and parameter. A compromise between community development and vandalism or loss through time was fixed to 5 weeks. This period is longer than for stream environments and is valid for tropical oligotrophic marine environments.

Keywords: artificial substrata, bioindication, Caribbean coast, colonization, diatoms

Introduction

Diatoms represent the greatest percentage of algae initially colonizing a surface submerged in the sea (Hendey 1951; Edyvean et al. 1985). Marine biofilms growing on hard substrata contain high densities of epilithic diatoms, belonging to a wide range of diverse species (Cooksey et al. 1984; Patil & Anil 2005b). Diatoms are primary producers with a short life cycle, abundant and easy to sample. Since the 1950s up to now –and even earlier with the Saprobic System of Kolkwitz and Marsson (1902)-studies conducted in freshwater environments revealed that species assemblages varyied depending on environment trophic level (Zelinka & Marvan 1961; Lange-Bertalot 1979; Prygiel & Coste 1996; Potapova & Charles 2007; Kelly et al. 2008). This sensitivity to environmental parameters has been explored for the use of diatoms as bioindicators of water quality and several indices were developed (Lecointe et al. 1993; Kelly & Whitton 1995; Lenoir & Coste 1996). Thus, sampling methods on natural and artificial substrata have been established for streams and lakes (Brown 1976; Siver 1977; CEN 2003; AFNOR 2007). Artificial substrata can be used to standardize sampling methods on sites of various natural bottom type or depth. In the case of water quality monitoring, the use of diatom community growing on mud -epipelic- or on sand - epipsammic- is excluded since its development is rather under the influence of nutrients from sediment pore waters (Agatz et al. 1999) and the diatom community is thus not representative of the water column conditions. The time needed for optimal growth conditions of biofilm on artificial substrata and the effect of substratum type on community structure are two factors that have already been studied for bioindication use in streams (Blinn et al. 1980; Acs & Kiss 1993; Kelly 2000; Lane et al. 2003). Exposure time of artificial substrata needs to be sufficient for the development of stable diatom communities.

In coastal environments, epilithic diatoms are studied principally for their role in biofouling and little has been done on their bioindication ability (Hillebrand & Sommer 1997; Vermeulen *et al.* 2011; Desrosiers *et al.* 2013). Investigations have been conducted on how the nature and roughness of artificial substrata could affect biofilm biomass. It appears that some metallic substrata, like copper, have toxic effects on organisms (Edyvean *et al.* 1985; Sekar *et al.* 2004). On the other hand, the mineralogical composition of substrata can be a source of organic and mineral silica and enhance the growth of siliceous organisms like diatoms (Penna *et al.* 2003). Surface microtexture of substrata should also be considered as a factor influencing primary fixation and colonization on a clean surface. An irregular surface offers more space than a flat one for initial colonization by organisms (Blinn *et al.* 1980; Sekar *et al.* 2004; Totti *et al.* 2007).

The goals of the present study were to test the development of marine diatoms on various artificial substrata and define the colonization time needed to reach a stable community. It was a necessary step for the creation of a standardized sampling protocol, before further research on the bioindication abilities of marine benthic diatoms (Desrosiers *et al.* 2013). Three different types of substrata were tested for their ability to (1) insure first colonization and support high diatom density and (2) allow the development of a diverse and equilibrate diatom population. The three substrata have similar roughness: frosted glass (g), frosted Plexiglass [®] (p) and rough enameled tiles (t).

Materials and methods

Study sites and experimental setup

The study was carried out on five sampling sites on the coastal area of Martinique Island (French West Indies), surrounded to the east by the Atlantic Ocean and to the west by the Caribbean Sea (Fig. 1). The sites represented various water chemistry and hydromorphology, in order to integrate the variability of biofilm development according to site conditions (Table 1). One site was a reef environment on the Atlantic coast and was submitted to waves action (Atl1) whereas the other reef environment was on the southern Caribbean coast and had smooth (to exceptionally heavy) swell (Car2). Another site was a rocky shore on the Caribbean coast, largely frequented by divers and fishermen (Car1). The last two sites were located in Fort-de-France Bay, one influenced by river plumes (Bay1) and the second one near the outlet of a water-treatment plant (Bay2). The goal of choosing sites with distinct characteristics was to get responses from various communities.

Diatom development on three substratum types was tested weekly up to 8 weeks, during the months of March and April 2011, which corresponds to the dry and windy season. Frosted Plexiglass[®], frosted glass, and rough enameled tiles were substrata chosen to be neutral in term of nutrient source, and their rough surface offers good adhesion characteristics (Desrosiers *et al.* 2013). Panels of 180 cm² square area were submerged vertically at \pm 3 m depth in the water column. This position near the surface is recommended to get maximal light penetration while a position close to the bottom contributes to the establishment of epipelic and epipsammic community (Lewis *et al.* 2002; Munda 2005). Above 3 m depth, eventual damage due to boats would become a problem. A total of 24 panels (three panels x 8 weeks) for each substratum type and for each sampling site were fixed on an aluminum frame and all submerged at the same time.



Fig. 1 Location of sampling sites

Parameters	Atl1	Bay1	Bay2	Car1	Car2
Localisation	Atlantic coast	Вау	Вау	Caribbean coast	South Caribbean coast
Environment	Reef	Old reef and mud	Sand	Rocky shore	Reef
Depth (m)	17	10	13	17	9
Oxygenation (mg L^{-1} O ₂)	7.5 (6.8-7.8)	7.7 (7.2-7.9)	7.8 (7.4-8.6)	7.8 (7.3-8.2)	7.6 (7.0-8.5)
Water temperature (°C)	27.0 (26.5-27.8)	27.0 (26.4-28.1)	27.0 (26.5-28.1)	27.2 (26.5-28.1)	27.2 (26.7-28.3)
рН	8.2 (8.1-8.4)	8.3 (8.1-8.5)	8.3 (8.2-8.5)	8.3 (8.2-8.5)	8.3 (8.1-8.5)
Salinity (PSU)	34.5 (34-35)	34.6 (34.1-35.3)	34.8 (34.3-35.3)	34.8 (34.3-35.4)	34.8 (34.2-35.3)
Phosphorous (PO₄, μmol L ⁻¹) ^a	0.53 (0.05-2.34)	0.35 (0.05-1)	ND	0.21 (0.05-1.05)	0.79 (0.02-5.68)
DIN (NO ₃ , NO ₂ , NH ₄ , μ mol L ⁻¹) ^a	2.83 (0.23-12.71)	0.88 (0.2-3.65)	ND	0.9 (0.2-2.9)	1.82 (0.2-9.27)
Chla (µg L⁻¹) ª	0.25 (0-0.72)	0.64 ^ª (0.1-1.3)	ND	0.16 (0-0.3)	0.21 (0.09-0.5)
Turbidity (FNU) ^a	0.42 (0.14-1.5)	0.84 ^b (0.19-3.9)	ND	0.19 (0.04-0.36)	0.22 (0.16-0.4)
Waves	Moderate to High	None	None to Low	None to Low	Low to Moderate
Wind force	Moderate	Low to Moderate	Low to Moderate	Moderate to High	Low to Moderate
Current speed	None to Moderate	None to Low	None	None to High	None to Moderate

Table 1 Physical description of sites and water chemistry at 3m depth and subsurface (WFD), mean values (n=8-10), (min-max). Kruskal-Wallis test for differences between sites

^a DIREN 972, WFD samplings years 2007, 2008

^b different from Atl1, Car1, Car2;

^c different from Car1, Car2

Biofilm sampling and in situ measurements

Each week and for the five sampling sites, three panels of each substratum were scraped with a razor blade, in strict compliance with the limits of the sampling surface in order to get quantitative results. The biofilm of each panel was maintained in separated tubes filled with a known volume of filtered seawater: the first sample was preserved with a known volume of formalin and used for the determination of diatom valve density, diatom richness and species relative abundance; the second and third samples were kept on ice until the filtration for the determination of biofilm dry weight in the laboratory.

Conditions at sampling sites such as wave, current and wind force were described each week. Vertical measurements of temperature, pH, dissolved oxygen and salinity were taken every 2 meters in the water column with a Hanna HI 9828 multiparameter probe.

Laboratory analysis

In the laboratory, a known volume (5-20 mL) of each formalin-preserved sample was placed in beakers with concentrated hydrogen peroxide (30%), potassium dichromate and hydrochloric acid to remove organic matter and dissolve calcium carbonate, without heating to avoid breakage of large and weakly silicified valves (Kelly 2000; Vermeulen *et al.* 2011). Cleaned samples were rinsed several times with distilled water and a known volume was placed on a coverslip and left to dry. Then coverslips were mounted on slides in a high refractive index medium, Naphrax [®]. Three slides were prepared for each sample. Valve density was determined by counting the entire valves on each slide, without distinction of species, in 100 fields at x 1,000 magnification using a Leica DMLB light microscope. Species richness was obtained by a presence/absence count of the species seen in 100 fields, on two different slides. This requires species to be distinguished between themselves with no need to name them. Species relative abundances were obtained by counting abundance of each

species, up to a total of 300 valves. This type of count requires advanced taxonomical work (Krammer & Lange-Bertalot 1991, 1997a, b; Witkowski *et al.* 2000; Hein *et al.* 2008; Lopez Fuerte *et al.* 2010; Riaux-Gobin *et al.* 2011; Lobban *et al.* 2012) to identify each species and then allocate an abundance to each species. This work was done for the "p" only.

For the cold sample, two 100 mL subsamples of each of the two samples were homogenized and filtered on Whatman GF/C (1.2 μ m) 47mm filters. Blank filters were done by filtration of filtered seawater. Filters were dried at 80°C for 24 h in a laboratory oven, and immediately weighted on an OHAUS MB45 precision balance, sensitivity 0.001 g.

Data analysis

Biofilm biomass was estimated by diatom valve density $(x10^3 \text{ cm}^{-2})$ and by biofilm dry weight (mg cm⁻²). The latter represents the entire biofilm growth, including various organisms from autotrophic to heterotrophic and from eukaryotes to prokaryotes. Diatom community structure was described for all substrata by diatom richness. Differences between various sampling conditions (substrata type, sites, weeks) were tested by a Kruskal-Wallis test for nonparametric data.

For p, species relative abundances were used to describe more precisely the diatom community. Differences between weeks were tested by a one-way ANOSIM using Bray-Curtis distance. Simpson diversity index (1-*D*) and Evenness (J') were calculated.

Results

An overview of the biofilm and diatom community growth on the three artificial substrata tested frosted Plexiglass [®] (p), frosted glass (g), and rough enameled tiles (t) – over 8 weeks, is presented in Fig. 2. Mean values (five sites) of biofilm dry weight, diatom valve density, and diatom richness are given for each substratum and each week. Valve densities were similar between the three substrata and growth was progressive with the highest value reaching 1,770 x 10³ valves cm⁻² on g at week 5. In week 6, biofilm mean dry weight was globally higher on p, with 11.4 mg cm⁻² being the highest value. Species richness increased exponentially up to week 3, then stabilized around 40-45 species. Results were similar between substrata and the maximal richness was 57 species in week 3 on g.

Diatom species occurring in the biofilm on p, for all sites and weeks, which belonged to 84 genus and 155 species were present with a relative abundance ≥ 1 % in at least one sample (Table 2). Most of the species on biofilm were pennate forms, with only six centric species. *Nitzschia* genus had the greater number of species (31), followed by *Amphora* and *Mastogloia*.

Table 2 Species occurring on Plexiglass (R) substrata, with relative abundance $\geq 1\%$ in at least one
sample

Species		
Achnanthidium sp01	Climaconeis riddleae A.K.S.K.Prasad	Licmophora sp1
Achnanthidium sp3	Climaconeis sp2	Licmophora sp3
Actinocyclus subtilis (Gregory) Ralfs in Pritchard (c)	Cocconeis archaeana	Llcmophora sp5
Amphora abludens Simonsen	Cocconeis convexa Giffen	Licmosphenia sp1
Amphora cf.helenensis	Cocconeis dirupta Gregory var.dirupta	Lunella bisecta Snoeijs
Amphora cf.obtusa	<i>Cocconeis mascarenica</i> Riaux-Gobin & Compere	<i>Mastogloia acutiuscula</i> Grunow in Cleve <i>var. elliptica</i> Hustedt
Amphora coffeaeformis (Agardh) Kützing var. coffeaeformis	Cocconeis molesta Kützing var.crucifera Grunow in Van Heurck	<i>Mastogloia borneensis</i> Hustedt in A. Shmidt Atlas
Amphora coffeaeformis (Agardh) Kützing var. aponina (Kützing) Archibald & Schoeman	Cocconeis scutellum var.posidonia	<i>Mastogloia corsicana</i> Grunow in Cleve & Möller
Amphora incrassata	Cocconeis sp14	Mastogloia crucicula (Grunow) Cleve var.crucicula
Amphora kolbei Aleem	Craspedostauros sp1	<i>Mastogloia cuneata</i> (Meister) Simonsen
Amphora micrometra Giffen	Cyclophora tenuis Castracane	Mastogloia decipiens Hustedt
Amphora pseudohyalina Simonsen	Cyclotella sp2 (c)	<i>Mastogloia decussata</i> Grunow in Cleve
Amphora pseudotenuissima Wachnicka & Gaiser	Diadesmis sp2	Mastogloia delicatissima Hustedt
Amphora sp03	Entomoneis pseudoduplex Osada & Kobayasi	Mastogloia erythreae var.erythreae form 1
Amphora sp09	Entomoneis punctulata (Grunow) Osada & Kobayasi	Mastogloia fallax Cleve
Amphora sp12	Entomoneis sp03	Mastogloia graciloides Hustedt
Amphora sp17	Entomoneis sp4	Mastogloia grunowii A.Schmidt
Amphora sp19	Falcula sp1	Mastogloia inaequalis Cleve
Amphora tenerrima Aleem & Hustedt	Gomphonemopsis obscurum (Krasske) Lange-Bertalot	Mastogloia laterostrata Hustedt
Amphora tumida Hustedt emend Sar, Sala, Hinz & Sunesen	Grammatophora oceanica Ehrenberg	Mastogloia manokwariensis Cholnoky
Amphora vaughanii	Gyrosigma coellophilum	Mastogloia peragalli Cleve
Ardisonnea sp1 (c)	Gyrosigma sp4	Mastogloia sp33
Bacillaria paxillifera (O.F. Müller) T.Marsson	Haslea ostrearia (Gaillon) Simonsen	<i>Navicula duerrenbergiana</i> Hustedt in Schmidt <i>et al.</i>
Bacillaria paxillifera var.tumidula (Grunow) Witkowski Lange-Bertalot & Metzeltin	<i>Hyalosira delicatula</i> Kützing <i>var.gibbosa</i> (Ostrup) Witkowski. Lange-Bertalot & Metzeltin	Navicula johanrossii Giffen
Bacillaria socialis (Gregory) Ralfs in Pritchard	<i>Hyalosira interrupta</i> (Ehrenberg) Navarro	Navicula salinicola Hustedt
Berkeleya fennica Juhlin-Dannfelt	Hyalosira sp1	Navicula sp01
Berkeleya hyalina (Round & Brooks) Cox	<i>Hyalosynedra laevigata</i> (Grunow) Williams & Round	Navicula sp15
<i>Berkeleya scopulorum</i> (Brebisoon) Cox	Hyalosynedra sp03	Navicula sp27
<i>Bleakeleya notata</i> (Grunow) F.E. Round in Round Crawford & Mann	<i>Koernerella sp</i> Ashworth, Lobban & Theriot	<i>Neosynedra provincialis</i> (Grunow) Williams & Round
Caloneis sp02	<i>Licmophora paradoxa</i> (Lyngbye) Agardh	<i>Neosynedra tortosa</i> (Grunow) Williams & Round
Chamaepinnularia wiktoriae (Witkowski & Lange-Bertalot) Witkowski, Lange- Bertalot & Metzeltin	Licmophora remulus Grunow	<i>Nitzschia acicularis</i> (Kützing) W.M.Smith

Table 2 (continued)				
Species				
<i>Nitzschia longissima</i> (Brebisson ex Kützing) Ralfs in Pritchard	Nitzschia sp23	Protokeelia sp02		
<i>Nitzschia microcephala</i> Grunow in Cleve & Moller	Nitzschia sp25	Pteroncola sp02		
Nitzschia panduriformis var.1	Nitzschia sp27	Protokeelia sp02		
Nitzschia panduriformis var.3	Nitzschia sp31	Pteroncola sp02		
Nitzschia perindistincta Cholnoky	Nitzschia sp34	Pteroncola sp03		
<i>Nitzschia perminuta</i> (Grunow) M.Peragallo	Nitzschia sp36	Rhopalodia pacifica Krammer		
Nitzschia ruda Cholnoky	Nitzschia sp37	Rhopalodia sp01		
Nitzschia sp01	Nitzschia sp38	Rhopalodia sp04		
Nitzschia sp02	Nitzschia sp55	<i>Rhopalodia sterrenburgii</i> Krammer in Lange-Bertalot & Krammer		
Nitzschia sp04	Nitzschia sp58	<i>Seminavis robusta</i> Danielidis & D.G. Mann		
Nitzschia sp06	Nitzschia ventricosa Kitton	Seminavis sp01		
Nitzschia sp08	<i>Olifantiella gorandensis</i> Riaux-Gobin & Al-Handal	Seminavis sp02		
Nitzschia sp09	<i>Olifantiella mascarenica</i> Riaux- Gobin & Compere	Seminavis sp03		
Nitzschia sp10	Olifantiella sp01	Stauroneis retrostauron		
Nitzschia sp13	Olifantiella sp4	<i>Striatella unipunctata</i> (Lyngbye) Agardh		
Nitzschia sp14	<i>Perideraion montgomeryi</i> Lobban Jordan & Ashworth	Surirella scalaris Giffen		
Nitzschia sp15	<i>Proschkinia complanata</i> (Grunow) D.G. Mann in Round Crawford & Mann	Thalassiosira sp05 (c)		
Nitzschia sp17	Protokeelia bassonii Round	<i>Toxarium undulatum</i> J.W.Bailey (c)		
Nitzschia sp21	<i>Protokeelia cholnokyana</i> (Giffen) Round & Basson			

In **bold**, species with abundance ≥ 5% in at least one sample (c) for centric diatoms.

Comparison of the study sites

Environmental parameters

The five sampling sites were chosen to represent various environment and water quality. Following the basic water chemistry parameters - dissolved oxygen, water temperature, pH and salinity - Kruskal-Wallis test did not show significant differences between sites (Table 1). As additional information, data on nutrient enrichment and turbidity was available from Water Framework Directive (WFD) samplings on four sites. Greater nutrients concentrations, but not significantly different, were encountered on sites Atl1 and Car2. Bay1 was distinct from other sites by significantly higher chlorophyll *a* concentration and turbidity. Finally, some sites were marked out according to some parameters and longer data time series for each parameter could help for better discrimination. Sites can at least be distinguished by environmental characteristics and wave force. Atl1 had the rougher sea conditions, followed by the site located on Car2. Each site was situated in a different environment, more or less influenced by continental inputs, and represented a different type of sea bottom.

Biological parameters

Results between sites were also examined regarding biofilm productivity – diatom valve density, biofilm dry weight - and diatom community structure. Evaluation of differences between site is important to determine whether sites can be grouped or not for further analysis. In case sites would show completely distinct biofilm growth, further analysis for substratum effect and optimal growth may have to be conducted distinctly for each site.

In Fig. 2, large standard errors for valve density and dry weight highlighted the variability of results between sites. To understand how valve density evolved for each site, results from week 1 to 8 on p were taken as an example (Fig. 3). Sites Atl1, Bay1 and Bay2 reached a valve density up to 200 x 10^3 valves cm⁻² between week 3 and 4, while sites Car1 and Car2 needed a longer growing period to reach the same density. The period corresponding to optimal growth depended on the site and went from week 6 (Bay2, Car2) to week 8 (Car1). Kruskal-Wallis tests for differences between sites were done on valve density and biofilm dry weight in week 8 (Table 3). Week 8 was chosen in order to evaluate differences on the basis of a mature community. Valve density was the only parameter discriminating each sites, with both Car1 and Car2 being significantly different from Atl1 and Bay1.



Fig. 2 Biofilm biomass (valve density, dry weight) and community structure (species richness) on each artificial substrata Plexiglass (p), glass (g), and enameled tiles (t) at each of the 8 weeks of growth. Boxplot: median values of sites (n=10, valve density, n=15), with standard error (box) and min and max values (whiskers)



Fig. 3 Diatom valve density at the five sites (Atl1, Bay1, Bay2, Car1, Car2) on Plexiglass (substratum ($x10^3$ cm⁻²) for each of the 8 weeks of growth. Boxplot: mean value (n=3) with standard error (box) and min and max values (whiskers)

Table 3 Kruskal-Wallis multiple comparison between sites for all substrata at week 8. p values of valvedensity (n=9), dry weight (n=6)

Diatom valve density (valve x 10° x cm ²)					Biofilr	n dry wei	ght (mg x	cm ⁻²)			
	Atl1	Bay1	Bay2	Car1	Car2		Atl1	Bay1	Bay2	Car1	Car2
Atl1		1.000	1.000	0.098**	0.008*	Atl1		0.510	1.000	0.280	1.000
Bay1	1.000		1.000	0.083**	0.007*	Bay1	0.510		0.822	1.000	1.000
Bay2	1.000	1.000		0.699	0.103	Bay2	1.000	0.822		0.473	1.000
Car1	0.098**	0.083**	0.699		1.000	Car1	0.280	1.000	0.473		1.000
Car2	0.008*	0.007*	0.103	1.000		Car2	1.000	1.000	1.000	1.000	

* p<0.05 (significant)

** p<0.1 (significant)

Figure 4 shows relative abundance of the dominant species (relative abundance \geq 7 % in at least one sample) for each site in weeks 1, 5, 8 on p. Regarding community only in week 8, considered as mature, we notice that most of the three first dominant species for each site were the same. *Nitzschia sp38* is in the top three for three sites, while *Nitzschia sp34*, *Nitzschia microcephala* (NMIC) and *Amphora pseudotenuissima* (APTN) are in the top three for two sites. Sites Bay1 and Car2 differed from the other sites by only one species of the top three.

As the analysis of differences showed no clear distinction between each of the five sites, we considered that analysis of the following sections could be conducted on all sites grouped together.



Fig. 4 Relative abundances of diatom species at the five sampling sites (Atl1, Bay1, Bay2, Car1, Car2) for weeks 1, 5, 8 with species having a relative abundance ≥7 % for at least one sampling date. (BNOT, *B. notata*; KOER, *Koernerella sp*; NI38, *Nitzschia sp38*; NI34, *Nitzschia sp34*; CCPT, *Cyclophora tenuis*; APTN, *A. pseudotenuissima*; SRET, *Stauroneis retrostauron*; NILG, *N. longissima*; NI37, *Nitzschia sp37*; NI31, *Nitzschia sp31*; BPTU, *.B paxillifera var.tumidula*; NMIC, *N. microcephala*; EPDU, *Entomoneis pseudoduplex*; AICR, *A. incrassata*; LBIS, *Lunella bisecta*; MDEC, *M. decipiens*; ATNI, *A. tenerrima*)

Comparison of biofilm development on the three different substrates

Biofilm growth on the three different substrates was compared regarding the mean values (of the five sites) of biofilm dry weight, diatom valve density and diatom richness, for three key phases of development: establishment on substratum (week 1), exponential phase (week 5) and mature biofilm (week 8) (Table 4). For each phase (1, 5, 8), the Kruskal-Wallis test revealed no significant difference of valve density and species richness between substrata. Results for dry weight are more contrasted as values for g and t were significantly lower than values for p in week 5, while values for g were significantly lower than values for p and t in week 8. Those differences are graphically visible on Fig. 2.

Substrata were photographed before scrapping to show colonization at the end of the experiment (week 8) (Fig. 5). Coverage was highly variable between sites but colonization was worse on g for most of the sites.

Table 4 Kruskal-Wallis multiple comparisons p values of valve density (mg x 10^3 x cm ⁻²) (n=15), biofilm
dry weight (mg cm ⁻²) (n =10) and diatom species richness (n =10) for Plexiglass (p), glass (g) and tiles
(t), for 1, 5 and 8 weeks of growth

Week 2	1			Wee	k 5			Wee	k 8		
	р	g	t		р	g	t		р	g	t
Valve o	density										
р		1.000	1.000	р		0.457	1.000	р		1.000	0.992
g	1.000		1.000	g	0.457		1.000	g	1.000		1.000
t	1.000	1.000		t	1.000	1.000		t	0.992	1.000	
Dry we	eight										
р		1.000	1.000	р		0.037*	0.012*	р		0.049*	0.668
g	1.000		1.000	g	0.037*		1.000	g	0.049*		0.713
t	1.000	1.000		t	0.012*	1.000		t	0.668	0.713	
Species	s richness										
р		1.000	1.000	р		0.668	0.443	р		1.000	1.000
g	1.000		1.000	g	0.668		1.000	g	1.000		1.000
t	1.000	1.000		t	0.443	1.000		t	1.000	1.000	

* p<0.05 (significant)



Fig. 5 Colonization differences between substrata before sampling, for the five sampling sites in week 8 (p = Plexiglass ®, g = frosted glass, t = enameled tile)

Dynamic of biofilm growth on Plexiglass

Results of the previous section revealed that biofilm growth was independent of substratum type. In order to present concise results, we have chosen to limit to p the temporal evolution interpretation of valve density, dry weight, species richness and species relative abundances.

Valve density of biofilm increased progressively up to 6 weeks on p, reaching a mean value of 496,000 valves cm⁻² (248,000 cells cm⁻²) (Fig. 6a). Beyond this period, valve density remained high thus showing a plateau phase in the diatom community development. Differences between the five

sampling sites were highlighted by large standard deviations. Dry weight evolution was similar, beginning slowly during the first colonization weeks and reaching its maximum (5.6 mg cm⁻²) after a period of 5 weeks (Fig. 6b). Standard deviation was larger for the last weeks, suggesting that biofilm development was more variable between sites. Species richness had an exponential growth during the first 3 weeks of colonization followed by an asymptotic phase characterized by small variations in species richness (Fig. 6c). Maximal mean richness was 47.8 species, which occurred after 5 weeks. The ratio between valve density in biofilm and biofilm dry weight can be an indicator of diatom population development (Fig. 7). Biofilm structure fluctuated with an optimal ratio in weeks 3 and 6 and a minimal in week 5.



Fig. 6 Diatom valve density (x10³ cm⁻²) (a), species richness (b), dry weight (mg cm⁻²) (c) for each of the 8 weeks of growth, on Plexiglass (mean values of sites \pm standard deviation, *n*=15 for valve density, *n*=10 for richness and dry weight)

An assemblage characterized by unchanging species indicates a stable community. Species relative abundances between each week for p were compared by means of an ANOSIM multiple

comparison (Table 5). Communities from weeks 1 to 4 and from weeks 5 to 8 were significantly similar within each group. This result emphasizes two important steps in diatom population development, with a shift from the first to the second step occurring around the fourth and fifth week of biofilm growth. Species composition of diatom population varies depending on site and on period of biofilm development (Fig. 4). The low total relative abundance of the species represented in Fig. 4 (relatives abundance \geq 7 %) reflects the high diversity of the community on one site, while the long list of species indicates the variability between sites. On week 1, more than 50 % of the relative abundance was given by three to five species, for three of the five sites. Population was dominated by either Bleakeleya notata, Koernerella sp. or Nitzschia longissima. They are large diatoms, the first two forming long chains. On weeks 5 and 8, relative abundance of dominant species (\geq 7 %) covered less than 30 % of the total abundance. On week 5, small species of *Nitzschia* and Amphora became dominant: Nitzschia sp38, Nitzschia sp31, Nitzschia microcephala (NMIC), and Amphora tenerrima (ATNI), along with Mastogloia decipiens (MDEC). On week 8, Nitzschia sp38, Nitzschia microcephala (NMIC), and Amphora tenerrima (ATNI) kept their dominance on three sites. In site Bay1, Bacillaria paxillifera var. tumidula (BPTU) increased its position in the biofilm and became dominant. In site Car1, Amphora incrassata (AICR) appeared as a new dominant species. Each site presents its own characteristics, but the global trend was to have a dominant species for week 1 and a different dominant species for weeks 5 and 8. Large and chain-forming forms encountered in the first phase of biofilm development were progressively replaced or accompanied by smaller and solitary forms.

Simpson index (1-D) and Evenness (J') values were low in the young biofilm (week 1) (Fig.8) and stabilized at values between 0.8 and 1 from week 5.



Fig. 7 Evolution of diatom community (valves cm⁻²) within total biofilm (mg cm⁻²) during colonization period, on Plexiglass ®

	1	2	3	4	5	6	7	8
1		0.194	0.076	0.009**	0.006**	0.008**	0.01*	0.007**
2	0.194		0.287	0.06	0.009**	0.007**	0.008**	0.008**
3	0.076	0.287		0.072	0.056	0.025*	0.016*	0.006**
4	0.009**	0.06	0.072		0.212	0.097	0.032*	0.001**
5	0.006**	0.009**	0.056	0.212		0.727	0.501	0.290
6	0.008**	0.007**	0.025*	0.097	0.727		0.761	0.463
7	0.01*	0.008**	0.016*	0.032*	0.501	0.761		0.904
8	0.007**	0.008**	0.006**	0.001**	0.2902	0.463	0.904	

Table 5 ANOSIM multiple comparison between weeks (1-8). p values of species relative abundances forall sites, substrata p (n=5)

* p<0.05 (significant)

* p<0.1 (significant)



Fig. 8 Simpson diversity index (1-*D*) and evenness (*J*') of diatom community on Plexiglass (n + 1) be colonization period (mean values of sites ± standard deviation, n=5)

Discussion

The present study aimed to identify the best conditions for the development of diatom community on artificial substrata, in tropical marine oligotrophic environment. The use of artificial substrata to study biofilms is widespread in marine environment (Hillebrand & Sommer 2000b; Brandini et al. 2001; Lewis et al. 2002). But the purpose here was to establish a standardized protocol for the use of artificial substrata in further research on marine diatom bioindication abilities. The appreciation of the best substratum type and colonization time can either be based on a comparison of the diatom community composition between artificial and natural substrata (Lane et al. 2003) or based on a theoretical evolution curve (Biggs 1988). In the marine environment, natural and artificial communities cannot easily be compared due to two major reasons. First, marine diatom communities have been proven to vary depending on the nature of their natural substratum such as sediment grain size in case of epipelic or epipsammic species (Cahoon et al. 1999) or macroalgae taxa in case of epiphytic diatoms (Hernandez-Almeida & Siqueiros-Beltrones 2008). While sampling on natural substrata, it is not easily possible to get rid of this influence, especially in tropical environment where macroalgae quickly cover any hard substratum (Diaz-Pulido & McCook 2002). Second, light penetration, modified by water turbidity and depth, influences the species composition of assemblages (Munda 2005; Patil & Anil 2005a; Titlyanov et al. 2008). At sites with high turbidity,

community structure may not be the same on artificial substrata placed near the surface compared to community on bottom substrata. Because a comparison with natural community is not clearly relevant for marine environments, this study focused on theoretical conditions to reach a stable community. Sampling a mature community is a crucial point for bioindication. The notion of community in a climax stage indicates a level of interspecific organization based on ecological requirements for each species. This community on its way to reach the climax will be influenced by the physical and chemical factors of its environment, leading to variable biofilm growth according to the characteristics of the growing site. This variability, instilled by the environment, represents one interesting aspect of community studies, particularly for bioindication aspects.

The artificial substrata were not chosen to represent any natural substratum. Moreover, they may not influence the presence of any specific species by their chemical composition (Edyvean et al. 1985; Penna et al. 2003; Sekar et al. 2004). In our study, substrates p, g and t were chosen as inert substrata and the use of either of them appeared to offer no particular advantage: all three artificial substrata provided globally similar results. Similarly, numerous studies comparing artificial substrata (Cattaneo & Amireault 1992; Lane et al. 2003; Patil & Anil 2005a) have revealed no differences between stable diatom community structures which developed on different neutral artificial substrata. Fiberglass and glass are compared by Patil and Anil (2005a) in a coastal environment, glass slides and clay tiles by Lane et al. (2003) in coastal dune lakes, while Cattaneo and Amireault reviewed studies using artificial substrata (1992). Sekar et al. (2004) demonstrated a greater attachment on Plexiglass® compared with glass. Furthermore, periphytometers used by the Environmental Protection Agency procedures in the USA are composed of acrylic substrata (common name for Plexiglass[®]) (Lewis et al. 2002). Patil and Anil (2005a) in their study comparing fiberglass and glass substrata, found that the highest diatom abundance and species diversity were often encountered on fiberglass. They also observed higher diatom recruitment, due to in situ growth, on fiberglass. This result indicates either an active choice of substratum by the diatoms or an influence of the substratum physicochemistry on diatom settlement. Differences in the substratum microtopography may also cause variable growth in the early stage of colonization. Blinn et al. (1980) have demonstrated that in steam environments surfaces of substrata are quickly modified by the accumulation of organic aggregates which provide a similar attachment surface for microbial invasion. After the first week of colonization, the community structure became similar among the substrata. In the sampling protocol of our study, all substrata had a rough surface with however a higher roughness for t than for g and p. This difference did not lead to significant differences in growth between the substrata at the end of the first week of development. As the biofilm growth and the species composition were not really impacted by the substratum nature, p could be selected as the more convenient one to use.

Diatom community optimal growth time to reach a mature community on artificial substrata has not been studied for marine environment, mainly because water quality monitoring does not use diatoms as yet. Periphyton growth is characterized for stream environments by a sigmoidal curve, with three phases: (a) colonization, (b) logarithmic growth phase, (c) upper asymptote inidcating equilibrium between production and grazing and slouthing (Tilley & Haushild 1975). In the marine environment, biofilm development can vary depending on physical conditions such as wave actions, currents and nature of the bottom, and on water chemistry which includes nutrient concentrations, salinity variations and turbidity. There is no example, for the tropical environment, of water chemistry effect on diatom growth on artificial substrata. However, Frankovich *et al.* (2006)

demonstrated that Florida Bay epiphytic diatom assemblages were structured by salinity and nutrient availability. Our sampling sites were chosen to be representative of the various environments that can be found on a tropical island coastal area, in order to integrate variability of biofilm development and thus establish a standardized colonization time. Despite the few significant differences in chemical parameters between sites, they showed distinct characteristics and distinct biofilm development. Patil and Anil (2005a) observed a seasonal effect on diatom development on artificial substrata in a monsoon-influenced tropical estuary. Differences in water movement due to waves and currents could be indicated by changes in turbidity and salinity. They studied newly established biofilm (4 days) and pointed out that its composition was dependent on the resuspension of benthic diatoms in the water column. Our study did not include seasonal variability, but we assume that main phases of biofilm development remain similar despite the fact that the species composition of the biofilm differs.

Maximum species richness was reached very early in the colonization process while the density reached its optimum after six weeks. According to Hillebrand and Sommer (2000a), the rate of colonization by new species may be important only for a short period following the exposure of the substrata. Afterwards, differential biofilm development may result from the growth rates of each species forming the community rather than by new species integrating in the biofilm. Thus, cell density and diversity indices of the diatom community are accurate parameters to identify the colonization time required for optimal community development, while species richness is less informative. For our study, the maximal valve density was reached between weeks 6 and 8 depending on the site. New colonization was indicated by an exponential species richness growth, which reached the mean value of 43 species in week 3. Patil and Anil (2005a) found up to 62 diatoms species on glass substrata after only 4 days of growth on the west coast of India. This high richness was associated with a cell density of around 0.01×10^3 cell cm⁻², which is lower than the one we found after 1 week, i.e. 0.24×10^3 cells cm⁻². These results confirm the idea that an elevated richness is not necessarily representative of a mature biofilm. The ratio between valve density and biofilm dry weight can provide information on the biofilm formation process. It can indicate for our results: (1) a biofilm dominated by diatoms up to week 3; (2) between weeks 3 and 5, an appearance of other forms which minimize the places of diatoms in the biofilm; (3) between weeks 5 and 6, a growth of diatom population while the global biofilm is constant (see Fig. 6). This interpretation must be taken with care because it reflects only the proportion between diatoms and other organisms forming the biofilm, mainly macroalgae but also small invertebrates. No parameter has been studied here to reflect the effect of grazers in the process of reaching equilibrium. Nevertheless, Fig. 7 shows the presence of a cycle and week 5 appeared to be the beginning of a second phase. Species relative abundances indicate a shift in diatom community between weeks 4 and 5, and thus a higher stability in the community beyond five weeks. Dominant species at weeks 5 and 8 belonged mainly to the genera Nitzschia and Amphora genus and are small and solitary cells. These species are suspected to be motile and adnate (i.e., growing closely attached to substrate) forms, but no scanning electron microscopy was done on the biofilm to confirm this hypothesis. Several studies on epilithic communities recognized that adnate and motile forms appear early in the colonization process together with erect species, while the last phase of colonization is characterized by the massive growth of stalk-producing species creating a complex three-dimensional community (Korte & Blinn 1983; Tuji & Hino 2000). Similarly to our results, Totti et al. (2007) observed the dominance of motile forms on 7-weeks-old biofilm developed on artificial substrata in the Adriatic Sea.

In stream environments, a 4-week period is usually considered to be sufficient time for a representative diatom community to be established (Tuchman & Stevenson 1979; Kelly et al. 1998; Lane et al. 2003). In marine environment, there is no reference on the appropriate colonization time to study mature biofilm. A 5-week period was used by Edyvean et al. (1985) to study, in a temperate sea, the effect of substratum type on colonization. Our results revealed that the plateau phase of growth curves (dry weight, valve density) and the optimal organization between species (species relative abundance and diversity) – both indicating the climax stage- were reached from the fifth week of substratum colonization. However, some sites showed later progression. As pointed out by Cattaneo and Amireault (1992), experiments with a too long exposure time are often impractical because they increase the chance of losing the substrata because of vandalism or bad weather conditions. Results of the present study allow the definition of a colonization time on artificial substrata placed vertically at 3 m depth, which can be applied to tropical oligotrophic coastal environments. A different geographic zone as well as a different substratum position can lead to substantially different results. Diatom cell density observed on artificial substrata in summer in a coastal area of the Adriatic Sea was between 8 and 25 x 10³ cells cm⁻² after a 6-week vertical immersion period (Totti et al. 2007). In contrast, an experiment in a Brazilian mudflat area conducted on glass slides placed horizontally near the bottom gave a cell density of around 25 x 10⁸ cell cm⁻² after a single week of colonization (Brandini et al. 2001). Diatom densities for our study were of about 0.24 x 10³ cells cm⁻² after 1 week and of around 248 x 10³ cells cm⁻² after 6 weeks. It seems that the bottom nature and the substratum position have great influence on the development of the diatom community on substrata. Conditions encountered in the Mediterranean Sea are indeed closer to those of our study, with rocky environments and oligotrophic water. As silicate concentrations are lower in the Mediterranean (Vermeulen et al. 2011) than in the Caribbean, a higher density in our study was justified.

In conclusion, using artificial substrata instead of natural substrata to study stable diatom assemblages in marine coastal waters offers repeatability of sampling protocols between sites by using the same substratum, depth, and growing time. On the contrary, sampling natural substrata induces variability of biofilm due to the nature of the substrata (i.e., rocks with macroalgae, coral, sand grains) and sampling depth. Our study established the best substratum type and growth time to get a community representing its surrounding environment. Marine benthic diatoms bioindication abilities will be the object of further research, which will focus on species relatives abundances related to a precise description of water chemistry and sites characteristics. In order to use artificial substrata properly and efficiently in research on bioindication in tropical oligotrophic environments, the present study propose the use of frosted Plexiglass [®]immersed vertically for a minimum of 5 weeks.

Acknowledgments This work was funded by the European Regional Development Fund and supported by the French Direction de l'Environnement, de l'Agriculture et du Logement de Martinique and the Office de l'Eau Martinique.

CHAPITRE IV. DIATOMEES MARINES DE MARTINIQUE

1. Composition des assemblages de diatomées

L'étude du peuplement de diatomées a porté sur 20 sites côtiers repartis dans les différents types d'écosystèmes qui se retrouvent tout autour de l'île. Des prélèvements à cinq périodes de l'année ont permis d'avoir une image des différences saisonnières pouvant apparaître dans la composition des assemblages. Les inventaires réalisés sur 97 échantillons ont permis de dénombrer 784 espèces réparties dans 127 genres. Toutes les espèces considérées dans les comptages ont été préalablement illustrées en imagerie optique et dans certains cas en imagerie électronique, afin de les identifier au mieux des connaissances disponibles. Malgré cet effort, 56% des espèces n'ont pu être nommées parce que nouvelles pour la science ou parce que rarement inventoriées donc peu décrites dans la bibliographie. Ce pourcentage ne tient pas compte des déclinaisons de formes d'une espèce, tel que *Mastogloia erythraea* Grunow var.erythraea déclinée en formes 1, 2 et 3 ou *Nitzschia panduriformis* Gregory var.continua Grunow in Cleve & Grunow déclinée en formes 1, 2, 3 et 4. Ces formes sont très proches de la description originale de l'espèce, tout en présentant un ou deux critères légèrement différents.

Diverses études réalisées en zone oligotrophe tropicale décrivent des assemblages composés d'un total de genres et d'espèces inférieur à ce qui a été relevé pour la Martinique. Dans leur étude sur les diatomées épiphytes de la baie de Floride, Frankovich *et al.* (2006) ont dénombré 332 espèces appartenant à 65 genres, dans 48 échantillons. La flore diatomique des Bahamas étudiée par Hein *et al.* (2008) à partir de 128 échantillons provenant de divers habitats, comportait 379 taxons répartis dans 94 genres. D'autre part, l'étude par Lopez Fuerte *et al.* (2010) des diatomées épiphytes et épipéliques de la mangrove de la côte Pacifique du Mexique a permis d'identifier 524 espèces de diatomées appartenant à 104 genres. A l'ouest du Pacifique, l'île de Guam à fait l'objet d'une étude floristique des diatomées marines et Lobban *et al.* (2012) ont rapporté la présence de 237 taxons.

Les différences en nombre d'espèces et en nombre de genres entre ces études et la présente étude sont probablement liées à deux principaux facteurs : l'effort d'identification sur les espèces de très petites taille (< 10 μ m) et la variabilité des environnements prélevés. Ces petites espèces sont réparties dans 48 genres, dont la moitié ne possède qu'une espèce de petite taille alors que d'autres genres en possèdent un grand nombre tel que *Nitzschia* avec 25 espèces, *Cocconeis* avec 18 espèces et *Navicula* et *Amphora* avec 12 espèces. La variabilité des environnements prélevés apporte des conditions de développement diverses tels que des influences dulçaquicoles pour les sites à proximité des panaches de rivières, une faible luminosité associée à de fortes teneurs en matières en suspension pour les sites de fond de baie, et pour la côte rocheuse et le milieu récifal moyennement à peu impactés, la croissance de diverses espèces de macroalgues qui influenceront les assemblages diatomiques.

Parmi les 127 genres, dont les critères sont détaillés en Annexe 1, 22 sont des centriques, 29 des araphides, 9 des monoraphides, et 67 des biraphides. Le genre dominant en nombre d'espèces est *Nitzschia* avec 110 espèces (14,4% du nombre total d'espèces) dont 68% d'espèces non nommées. Comme précisé ci-dessus, ce genre comprend un nombre important de spécimens de petite taille et ceux compris entre 5 et 15 µm sont difficilement distinguables entre eux et ont été divisés en 18 espèces numérotées. Les plus grand nombres d'espèces se retrouvent ensuite chez les genres

Mastogloia et *Navicula* avec tous deux 71 espèces (représentant chacun 9,3 % du nombre total d'espèces) dont respectivement 21% et 48% d'espèces non nommées. Viennent ensuite les genres *Amphora/Halamphora*, avec 69 espèces (9 % du nombre total d'espèces), regroupés en une seule catégorie car la distinction entre les deux genres est difficile en microscopie optique et certaines espèces très similaires n'ont pas toutes fait l'objet d'une recombinaison vers *Halamphora* (Cleve) Levkov. Les autres genres comprenant entre 10 et 50 espèces sont *Achnanthidium, Cocconeis, Diploneis* C.G. Ehrenberg ex P.T. Clev*e, Fallacia* A.J. Stickle & D.G. Mann, *Gyrosigma, Licmophora* C.A. Agardh et *Rhopalodia* (Fig. IV-1).

En termes d'abondance, i.e. nombre de valves comptées, le genre *Nitzschia* est largement dominant puisqu'il représente 30,9% de l'abondance totale (49 699 valves). Puis viennent les genres *Amphora/Halamphora* et *Mastogloia* représentant respectivement 9,9 et 9,2% de l'abondance totale. Malgré le nombre élevé d'espèces dans le genre *Navicula*, ce dernier ne compte que pour 3,5 % de l'abondance totale tandis que le genre *Koernerella* Ashworth, Lobban et Theriot qui ne compte qu'une espèce présente une abondance qui s'élève à 5,8% de l'abondance totale (Fig. IV-2).

La composition de la flore diatomique de la présente étude diffère de celle observée en baie de Floride et au niveau des récifs coralliens des Florida Keys où des études démontrent la dominance du genre *Mastogloia*. Frankovich *et al.* (2006), qui s'intéressent aux diatomées éphiphytes, rapportent que les espèces du genre *Mastogloia* comptent pour 24,6% des espèces identifiées et pour 19,7% de l'abondance totale. Deux autre études ont rapporté des abondances relatives de 34,5 à 70% (DeFelice & Lynts 1978 ; Montgomery 1978). Le fait que nous ayons prélevé les diatomées sur des substrats durs placés dans la colonne d'eau et non à proximité du fond sont deux facteurs qui peuvent expliquer la différence de peuplements observée entre la Martinique et la Floride, deux zones pourtant situées dans la même région géographique et caractérisées par un climat similaire. Hein *et al.* (2008) rapportent également pour les Bahamas (îles au sud-est de la Floride) une dominance en nombre d'espèce du genre *Mastogloia*, avec une valeur de 75 espèces similaire à celle que nous avons obtenu. Par contre, le nombre d'espèces qu'ils ont retrouvé dans les genres *Nitzschia* et *Navicula* ne s'élève qu'à 29 et 25 espèces respectivement, valeurs bien inférieures à ce qui a été trouvé en Martinique.



Figure IV-1. Genres représentés dans les inventaires par plus de dix espèces *n*=nombre d'espèce.



Figure IV-2. Importance des genres vis-à-vis du nombre total d'espèces ou de l'abondance totale

La liste des genres répertoriés dans les inventaires est présentée dans le tableau IV-1 et le milieu de croissance privilégié de chacun des genres est précisé. Cette dernière information permet d'envisager l'écologie des assemblages. Plus de la moitié des genres sont exclusivement inféodés au milieu marin (51%). On peut également noter la présence de genres connus dans la littérature comme étant exclusivement inféodés aux eaux douces (10%) (*Diadesmis* F.T. Kützing, *Encyonema* F.T. Kützing, *Encyonema* F.T. Kützing, *Encyonema* F.T. Kützing, *Encyonopsis* Krammer, *Eolimna* Lange-Bertalot & Schiller, *Geissleria* Lange-Bertalot & Metzeltin, *Gomphonema* C.G. Ehrenberg, *Karayevia* Round & Bukhtiyarova, *Nupela* W. Vyverman & P. Compere, *Pinnularia* C.G. Ehrenberg, *Stauroforma* Flower. Jones & Round, *Stauroneis* C.G. Ehrenberg, *Stenoneis* P.T. Cleve, *Tabularia*). Ces derniers ne sont cependant retrouvés qu'occasionnellement et essentiellement sur les stations à influence terrigène telles que Panache Lézarde (PLE), Carrière (CAR), Banc Gamelle (BGA), Step Desmarinières (SDE).

L'examen de la composition en espèces des peuplements fait ressortir une espèce majoritairement dominante qui a, pour une moyenne de toutes les stations et des cinq campagnes, une abondance relative supérieure égale à 3% (Fig. IV-3). Il s'agit de *Koernerella recticostata* (Körner) Ashworth Lobban & Theriot (KREC), qui forme des colonies en chaine spiralée retrouvées dans le plancton ou accrochées aux algues benthiques et filamenteuses (Lobban *et al.* 2011). L'examen des résultats d'abondances par site révèlent que cette espèce est cosmopolite et se retrouve au niveau d'un large panel de sites, que les conditions soient agitées ou calmes, l'eau de bonne ou mauvaise qualité, de salinité constante ou variable en fonction des apports terrigènes. Les espèces ayant une abondance relative moyenne entre 0,6 et 2% (Fig. IV-3) appartiennent principalement au genre *Nitzschia*, mais aussi aux genres *Achnanthidium, Amphora/Halamphora, Bacillaria* J.F. Gmelin, *Berkeleya* R.K. Greville, *Bleakeleya* F.E. Round, *Ceratoneis* C.G. Ehrenberg in Boyer, *Hyalosynedra* D.M.Williams et F.E. Round, *Mastogloia, et Rhopalodia*. Les taxons de petite taille sont au nombre de sept pour le genre *Nitzschia*, ainsi qu'une espèce d'*Amphora/Halamphora* et une espèce d'*Achnanthidium*. L'ensemble des autres espèces appartenant aux genres citées ci-dessus sont des espèces de grande taille.

Les espèces dominantes qui ont été observées sur substrat artificiel après cinq semaines de croissance sont difficilement comparables avec les données de la littérature car aucune référence ne réunit les mêmes critères de substrat, temps de croissance en cas d'utilisation de substrat artificiel et zone géographique. Patil et Anil (2005a) ont étudié la composition des assemblages sur substrat artificiel au niveau de la côte ouest de l'Inde, après seulement 4 jours de croissance. Les espèces dominantes reportées sont *Amphora coffeaeformis, Ceratoneis closterium, Navicula transitans* var. *derasa* f. *delicatula, Nitzschia sigma et Thalassionema nitzschioides*. Aucune autre étude sur substrat artificiel ne donne une liste précise d'espèces dominant par leur abondance.

Concernant les études sur substrat naturel, Gottschalk *et al.* (2007) identifient les espèces *Amphora delicatissima, Amphora richardiana, Cocconeis placentula, Nitzschia* cf. *panduriformis* et deux espèces non identifiées *Diploneis sp* et *Navicula sp*, comme étant les plus abondantes parmi les sédiments coralliens de la Grande Barrière de corail. En baie de Floride, les diatomées épiphytes les plus abondantes rapportées par Frankovich *et al.* (2006) sont *Brachysira aponina, Cocconeis placentula, Hyalosynedra laevigata, Mastogloia crucicula, Mastogloia pusilla, Nitzschia liebertruthii et une espèce non identifiée d'Amphora.* Aucun des assemblages décrits par ces études ne fait état

d'une dominance de l'espèce *Koernerella recticostata* comme c'est le cas pour la plupart des échantillons prélevés en Martinique.

La relation entre les données d'assemblage d'espèces et les conditions physico-chimiques des sites sera l'objet du prochain chapitre. Les assemblages d'espèces, correspondant à des situations particulières, seront étudiés attentivement.

Tableau IV-1. Liste des genres, nombre d'espèces (nb. sp.) et type de milieu associé au genre

Nb.sp. : nombre d'espèces ; ED : eau douce ; M : marin ; S : saumâtre.

Genre	Nb sp.	Milieu	Genre	Nb sp.	Milieu
Achnanthes J.B.M. Bory de St. Vincent	7	ED/M	<i>Frustulia</i> L. Rabenhorst	1	ED/S
Achnanthidium F.T. Kützing	11	ED/M	Geissleria Lange-Bertalot & Metzeltin	1	ED
Actinocylcus C.G. Ehrenberg	4	ED/M	Gomphonema C.G. Ehrenberg	1	ED
Amicula Witkowski & Lange-Bertalot	1	Μ	Gomphonemopsis Medlin	2	Μ
Amphicocconeis De Stefano et Mo	1	Μ	Grammatophora C.G. Ehrenberg	8	Μ
Amphora C.G. Ehrenberg ex F.T. Kützing	69	M/ED	Gyrosigma A. Hassall	14	M/S
Arcocellulus G.R. Hasle. von Stosch & Syvertsen	1	Μ	Haslea R. Simonsen	5	M/S
Ardissonea G. De Notaris	3	М	<i>Hippodonta</i> Lange-Bertalot. Metzeltin & Witkowski	1	ED/M
Astartiella Witkowski. Lange-Bertalot & Metzeltin	4	Μ	Hyalosira F.T. Kützing	9	Μ
Asteromphalus C.G. Ehrenberg	1	Μ	Hyalosynedra D.M.Williams et F.E. Round	5	Μ
Auricula F. Castracane	4	Μ	Isthmia C.A. Agardh	1	Μ
Azpeitia M. Peragallo	1	Μ	Karayevia Round & Bukhtiyarova	3	ED
Bacillaria J.F. Gmelin	2	M/S	Koernerella Ashworth, Lobban et Theriot	1	Μ
Bacteriastrum G. Shadbolt	1	Μ	Lampriscus A. Schmidt	2	Μ
Berkeleya R.K. Greville	5	Μ	Licmophora C.A. Agardh	14	Μ
Biddulphiopsis H.A Von Stoch et R. Simonsen	1	Μ	Licmosphenia Mereschkowsky	2	Μ
Biremis D.G. Mann & E.J. Cox	2	M/ED	Luticola D.G. Mann	2	ED/M
Bleakeleya F.E. Round	1	М	Lyrella N.I. Karajeva	4	М
Brachysira F.T. Kützing	1	ED/S	Mastogloia G.H.K. Thwaites ex W. Smith	71	M/ED
Caloneis Cleve	6	ED/M	Melosira C.A. Agardh	2	ED/M
Campylodiscus C.G. Ehrenberg ex F.T. Kützing	3	ED/M	Moreneis J.Park, Koh & Witkowski	2	M
Campyloneis A. Grunow	1	М	Nagumoea Kociolek & Witkowski	1	М
<i>Campylosira</i> A. Grunow ex H. van Heurck	1	М	Navicula J.B.M. Bory de St. Vincent	71	ED/M
Catenula C. Mereschkowsky	1	M/S	Naviculadicta Lange-Bertalot	2	ED/M
<i>Ceratoneis</i> C.G. Ehrenberg in Boyer	1	M/S	Neofragilaria Williams & Round	2	M
Chaetoceros C.G. Ehrenberg	1	M/ED	Neosynedra D.M. Williams et F.E. Round	3	М
Chamaepinnularia Lange-Bertalot & Krammer	3	M/ED	Nitzschia A.H. Hassall	110	ED/M
Climaconeis A. Grunow	5	M	Nupela W. Vyverman & P. Compere	1	ED
Climacosphenia C.G. Ehrenberg	1	М	Odontella C.A. Agardh	1	M/S
Cocconeiopsis Witkowski.Lange-Bertalot &	2	М	<i>Oestropia</i> H.Heiden ex F.Hustedt	1	M/S
Cocconeis C.G. Ehrenherg	46	FD/M	<i>Okedenia</i> Fulenstein ex G B De Toni	2	М
Craspedostauros E Cox	5	с <i>2,</i>	Olifantiella Biaux-Gobin & Compere	7	M
Cyclophorg A.E. Castracane	3	M	Openhora P. Petit	8	M/FD
Cyclotella F.T. Kützing ex A de Brébisson	6	ED/S	Paralia P.A.C. Heiberg	1	M
Cymatosira A. Grunow	1	<u>м</u>	Parlihellus E. L. Cox	- 6	M/FD
Cymbellonitzschia F. Hustedt	2	FD/M	Peridergion Lobban et Jordan	1	M
Delphineis G.W. Andrews	3	с <i>2,</i>	Perissonoë G.W. Andrews & V.A. Stoelzel	1	M
Denticula F.T. Kützing	3	ED/M	Petrodictyon D.G. Mann	1	S/M
Diadesmis F.T. Kützing	2	, ED	Petroneis A.J. Stickle & D.G. Mann	1	M
Diatomella R.K. Greville	1	M/ED	Pinnularia C.G. Ehrenberg	6	ED
Dimeregramma J. Ralfs	3	M	Plagiodiscus A. Grunow & T. Eulenstein	1	М
Diplomenora K. Blaze	1	М	Plagiotropis E. Pfitzer	1	M/S
Diploneis C.G. Ehrenberg ex P.T. Cleve	21	M/ED	Planothidium Round & Bukhtiyarova	6	M/ED
Donkinia J. Ralfs in Pritchard	1	M	, Pleurosigma W.Smith	4	M/S
Encyonema F.T. Kützing	1	ED	Podocystis J.W. Bailey	2	M
Encyonopsis Krammer	1	ED	Proschkinia N.I. Karayeva	3	М
Eunotogramma Weisse	1	ED/M	Protokeelia Reimer & Lee	5	М
Eolimna Lange-Bertalot & Schiller	2	ED	Psammococconeis M. Garcia	1	Μ
Entomoneis C.G. Ehrenberg	10	S/ED	Psammodiscus F.E. Round & D.G. Mann	1	Μ
Falcula M. Voigt	2	M	Psammodictyon D.G. Mann	2	Μ
Fallacia A.J. Stickle & D.G. Mann	15	M/ED	<i>Pseudostaurosira</i> (Grunow) D.M. Williams & F.E. Round	1	ED/M
<i>Fogedia</i> Witkowski. Lange-Bertalot Metzeltin et Bafana	4	М	Pteroncola R.W. Holmes & D.A.Croll	2	М
Fragilaria H.C. Lyngbye Fragilariopsis F. Hustedt	7 1	ED/M M	Rhabdonema F.T. Kützing Rhopalodia O Müller	2 13	M ED/M

Suite tableau IV-1

Genre	Nb	Miliou	Genre	Nb	Miliou
Genie		whiteu	Genie	sp.	whiteu
Sellaphora C. Mereschkowsky	1	ED/M	Tabularia D.M. Williams et F.E. Round	4	ED
Seminavis D.G. Mann	9	Μ	Thalassionema A. Grunow ex F. Hustedt	2	Μ
Stauroforma Flower. Jones & Round	1	ED	Thallasiophysa P. Conger	1	Μ
Stauroneis C.G. Ehrenberg	7	ED	Thalassiosira P.T. Cleve	8	Μ
Staurosira (C.G. Ehrenberg) D.M. Williams & F.E. Round	1	ED/M	Toxarium J.W. Bailey	2	Μ
<i>Staurosirella</i> D.M. Williams & F.E. Round emend Morales	1	ED/M	Trachyneis P.T. Cleve	1	M/ED
Stenoneis P.T. Cleve	2	ED	Triceratium C.G. Ehrenberg	1	Μ
Striatella C.A. Agardh	1	М	Tryblionella W. Smith	4	ED/M
Surirella P. J.F. Turpin	7	ED/M	Undatella Paddock & P.A.Sims	1	М
Synedrosphenia (Peragallo) F. Azpeitia Moros	1	Μ			



Figure IV-3. Espèces les plus représentées par leur abondance relative moyenne

Abondances relatives ≥6 % ; légende : ■ genre représenté par moins de 10 espèces, ■*Nitzschia*, *Amphora/Halamphora*, **Mastogloia**, Achnanthidium, **Rhopalodia**; les photographies respectent l'ordre de grandeur mais ne sont pas à l'échelle. ; *n*=97

2. Description d'un nouveau genre : Madinithidium

2.1. Présentation générale et résumé

Parmi les nombreuses espèces non décrites qui ont été recensées dans les inventaires, une espèce a particulièrement attiré notre attention car abondante et présente dans de nombreux échantillons. Cette espèce de petite taille a initialement été classée dans le genre Achnanthidium, sous l'appellation *sp1* (AD01). Neuf espèces en tout ont été classées dans le genre Achnanthidium (Fig. IV-4), avec seulement deux espèces nommées : *A.exiguum* (Grunow) Czarnecki et *A.scalariforme* Riaux-Gobin, Witkowski & Compere. Deux espèces ce sont avérées similaires à des espèces existantes – *A. sp7* cf. *capitatum* et *A. sp2* cf. *minutissimum* – et les autres espèces se sont vu attribuer uniquement des numéros.

L'espèce AD01 étant abondante, de nombreuses mesures morphométriques et images en microscopie optique et électroniques ont pu être réalisées. Les images au microscope électronique ont révélé des différences marquées avec le genre Achnanthidium Kützing telles que la structure identique de la valve à raphé et de la valve sans raphé, et les stries formées de macroareoles. Un nouveau genre Madinithidium a été proposé, avec comme espèce type M. undulatum. Le genre se caractérise également par un sternum fortement développé sur les deux valves, des stries fermées par un voile finement perforé, et un raphé avec des extrémités distales internes coaxiales. Les valves sont elliptiques à linéaires-elliptiques avec des pôles ronds à capités. Les stries sont parallèles sur la valve à raphé, parallèles à légèrement radiées sur la valve sans raphé. Les fissures distales externes du raphé forment un crochet simple ou double. L'espèce M. undulatum, dont la taille varie entre 4,2 et 10,6 µm, se caractérise par des marges ondulées qui facilitent l'identification de l'espèce au microscope optique malgré sa petite taille. Quatre espèces identifiées aux Mascareignes (Océan Indien) par Riaux-Gobin et al. (2010, 2011) comme appartenant au genre Achnanthidium sensu lato ont été proposées pour une recombinaison vers le nouveau genre Madinithidium. Il s'agit des espèces A. capitatum, A. flexuistriatum, A. pseudodelicatissimum et A. scalariforme. Ainsi, parmi les espèces classées en Achnanthidium dans nos inventaires, deux espèces sont renommées en M. scalariforme et M. sp7 cf. capitatum. Les espèces Achnanthidum sp8 et sp4 pourraient probablement être reclassées en Madinithidium, du fait de la présence de marges ondulées caractérisant la première et de stries apparentées à des macroaréoles pour la seconde. Ce reclassement ne pourra cependant se faire qu'avec l'obtention d'images en microscopie électronique.

Part 1

ACHNANTHIDIUM

			RV	SV		Similar	
Taxon	- (min-max)	(min-max)	Striae/10µm (min-max)	Striae/10μm (min-max)	Note	to	Référence
				Pl. 48			·
AD08	10,3-12,7	3,1-3,8	>40	18	Strait margin. Similar to	AAMO	
AD07	5,5-7,9	2,7-3,4	26-28				
AD01	7,5-10,6	2,4-3,4	30-43		Chain, undulate margin		
AD02	9,8-14,1	2,2-2,8	26-28				
AD04	7,9-10	2,5-3		30-32			
ASCF	5,5-11,6	1,5-3,6	30-34	27-44			Riaux-Gobin et al., 2011
AD06	12,7	3,8	23				
ADEG	5-17(20)	4-8(10)	20-24		Bent		Krammer & Lange- Bertalot, 1997
AD09	8,3	2,7	?24				



Tableau de mesures morphométriques (Part 1) et planche (Part 2) regroupant les espèces d'Achnanthidium retrouvées dans les échantillons de Martinique. RV : valve à raphé, SV : valve sans raphé, barre d'échelle=10 µm, (Desrosiers *et al.*, 2014a). L'espèce *M. undulatum* a été répertoriée dans 17 des 20 sites échantillonnés. Son abondance est fortement variable en fonction des campagnes de prélèvement et les plus fortes abondances relatives moyennes concernent les sites Panache Lézarde (PLE), Baie du Marin (BMA), Fond Boucher (FBO) et Banc Gamelle (BGA) (Fig. iV-5). Excepté le site FBO, les trois autres sont considérés comme des sites de qualité moyenne à mauvaise. Ce sont également des sites pouvant recevoir des apports d'eau douce importants, excepté BMA.



Figure IV-5. Abondance relative moyenne de M.undulatum aux sites d'échantillonnage

n=5, barre d'erreur= écart-type.

2.2. Manuscrit accepté dans la revue Phycologia

Madinithidium gen. nov., a new monoraphid diatom (Bacillariophyceae) genus from the tropical marine coastal zone

Catherine Desrosiers^{1,2*}, Andrzej Witkowski³, Catherine Riaux-Gobin⁴, Izabela Zgłobicka⁵, Krzysztof J. Kurzydłowski⁵, Anne Eulin², Joséphine Leflaive¹, and Loïc Ten-Hage¹

¹Laboratory of Functional Ecology and Environment, Université Paul Sabatier, UMR ECOLAB bât 4R1,

31062 Toulouse Cedex 9, France

²ASCONIT CONSULTANTS, ZI Champigny, 97 224 Ducos, Martinique, France

³Palaeoceanology Unit, Faculty of Geosciences, University of Szczecin, 70-383 Szczecin, Poland

⁴Labex 'CORAIL', USR 3278 CNRS-EPHE, CRIOBE, 66000 Perpignan, France

⁵Faculty of Material Sciences, Warsaw University of Technology, 00-661 Warsaw, Poland

*Corresponding author; e-mail: Catherine.desrosiers@asconit.com
Abstract

This paper focuses on a group of monoraphid diatom species (Bacillariophyceae, Achnanthidiaceae) found in the marine coastal environment of tropical islands of the Caribbean Sea, Western Atlantic Ocean, Indian Ocean, South Pacific Ocean, the Adriatic Sea and the Black Sea. Based on light and electron microscope examination, *Madinithidium* was formally described as a genus new to science with the generitype defined as *Madinithidium undulatum*. The characteristic features of the valve structure are a strongly developed sternum and raphe sternum, transapical striae formed by a single areola (macroareolae) positioned in small depressions, elevated virgae and coaxial internal central raphe endings. Furthermore, the striae of both raphe and sternum valves are closed by finely perforated hymenes. *Madinithidium* and *Achnanthidium* species are difficult to identify correctly with light microscopy since their valves are small and finely structured. Four species recently described from the Western Indian Ocean and assigned to *Achnanthidium sensu lato* - *Achnanthidium capitatum*, *A. flexuistriatum*, *A. pseudodelicatissimum and A. scalariforme* - possess morphological features permitting their placement into *Madinithidium* gen. nov. The above mentioned species are here formally transferred to the new genus.

Keywords: *Achnanthidium*, achnanthoid diatoms, coral reefs, *Madinithidium undulatum*, Martinique Island, Mascarenes Archipelago

Introduction

The benthic diatoms of Martinique Island (French Caribbean) have been the focus of research on their use as indicators of water quality (Desrosiers et al. 2013). Bioindication using diatoms is based on the ecological requirements of the different species forming the biofilm, regarding the growing conditions. Each species possess its own optimal growth conditions, defining its ecological and chemical preferences (Van Dam et al., 1994). Benthic biofilms of the Martinique coast are characterized by large erected life-forms such as species of the genus Licmophora, Neosynedra or Bleakeleya, and also by medium-size to very small diatoms with adnate or motile life-forms (Mastogloia, Cocconeis, Navicula, Nitzschia, Amphora, Achnanthidium) (Desrosiers et al., 2014b). For the purpose of bioindication, each species which relative abundance represents a significant amount of the total diatom population of the biofilm, may impact the final quality assessment (Coste et al., 2009). Thus, the taxonomic distinction between small taxa is important in order to consider them separately in the inventories. For example, some small Nitzschia species are good bioindicators because they are exclusively found in water of a particular quality (Trobajo et al., 2012). As a consequence, their omission in the inventories would drastically change the index value. In Martinique, a particular small monoraphid taxon drew our attention and because it was abundant in some samples, required proper identification. Our examination of published sources revealed that this diatom has never been described before and was in all likelihood a species new to science.

Monoraphid genera and species represent a high proportion of the diatom assemblages of tropical regions. Many species have been identified in the tropical western Pacific (Lobban et al. 2012) and the Western Indian Ocean (Riaux-Gobin & Compère 2008; Riaux-Gobin et al. 2010; Riaux-Gobin & Al-Handal 2012). Some monoraphid taxa have only been identified tentatively due to their very small size and delicate frustule structure. Achnanthoid diatoms are a group of taxa which has been included in the genus Achnanthes sensu lato (Hustedt 1930; Krammer & Lange-Bertalot 2004; Lange-Bertalot & Krammer 1989). Although some achnanthoid genera were established in the 19th century, e.g., Achnanthidium Kützing 1844 or Eucocconeis Cleve ex Meister 1912, they were later on included in Achnanthes sensu lato (Hustedt 1930; Patrick & Reimer 1966). A significant redefinition of the achnanthoid diatoms system has been launched by Round et al. (1990) with Achnanthes and Eucocconeis being redefined. Round et al. (1990) also proposed a redefinition of Achnanthidium, however the circumscription of this genus was too broad and their concept is now enlarged as Achnanthidium sensu lato. Bukhtiyarova & Round (1996) and Round & Bukhtiyarova (1996) established several new achnanthoid genera, which accommodated relatively large groups of taxa. These genera include Karayevia Round & Bukhtiyarova, Planothidium Round & Bukhtiyarova, Psammothidium Bukhtiyarova & Round and Rossithidium Round & Bukhtiyarova. The systematics of achnanthoid diatoms has been further reworked and new groups of taxa split from Achnanthes sensu lato: e.g., Lemnicola Round & Basson, Astartiella Witkowski, Lange-Bertalot & Metzeltin (Moser et al. 1998), Platessa Lange-Bertalot (Krammer & Lange-Bertalot 2004), Scalariella Riaux-Gobin & Witkowski and Gliwiczia Kulikovskiy, Lange-Bertalot & Witkowski (Kulikovskiy et al. 2013; Riaux-Gobin et al. 2012).

Despite the above mentioned redefinitions, numerous achnanthoid species still need a generic accommodation. For example, several taxa mentioned under *Achnanthes sensu lato* by Malcolm H. Giffen from South Africa and Seychelles and by Niels Foged from Tanzanian coasts (Foged 1975; Giffen 1963, 1967, 1970) have not been accommodated in an appropriate genus. The genus

Schizostauron Grunow, composed of a few established taxa but also of unknown taxa belonging to *Achnanthes sensu lato* (Ross 1963) needs to be revised. Furthermore, as new geographic regions are being investigated, the number of potentially new diatom species and genera increases, e.g. in coral reef habitats from the Indian Ocean (Riaux-Gobin *et al.* 2010; Riaux-Gobin *et al.* 2011) and Pacific Ocean (Riaux-Gobin *et al.* pers. comm., 2013).

In their research on the small achnanthoid diatoms from the Mascarenes, Riaux-Gobin *et al.* (2010, 2011) described a series of new species that have been accommodated in *Achnanthidium sensu lato* (Round *et al.* 1990). These small achnanthoid diatoms, and their particular features, were, until now, only known from the Mascarenes. During our recent survey on the marine littoral of Martinique, at least two taxa with morphology very similar to those from the Mascarenes, were frequently found (Desrosiers pers. comm.). These two taxa, *A. scalariforme* Riaux-Gobin, Compère & Witkowski and *Achnanthidium capitatum* Riaux-Gobin, Romero, Compère & Al-Handal as well as *A. pseudodelicatissum* Riaux-Gobin, Compère & Witkowski, *A. flexuistriatum* Riaux-Gobin, Compère & Witkowski all have a similar morphology. They have a similar raphe and sternum valve and striae composed of macroareolae. These characteristics meet those of the new genus *Madinithidium*, the description of which is the focus of this paper. The new species *Madinithidium undulatum*, described in LM and SEM from Martinique's samples, is chosen as a generitype. It has remarkable features, i.e. undulated frustule margin and tube dwelling growth habit. We also propose that the above listed *Achnanthidium sensu lato* species from the Mascarenes be formally transferred to the new genus *Madinithidium*.

Material and methods

Samples were taken from the coastal area of Martinique Island (14°4′N, 61°W), which is surrounded by the Atlantic Ocean and the Caribbean Sea. Material was scraped off an artificial substratum made of frosted Plexiglas® plates using a razor blade. Plates were submerged at 3 m depth in a vertical position and left for five weeks to allow for optimal colonization (Desrosiers *et al.* 2014b). Twenty diverse sites were sampled around the island, including environments such as rocky shores, coral reefs, mangroves, freshwater influenced areas, effluent impacts from a waste water treatment plant and a boatyard. Sampling were conducted during the wet (August - November) and dry (February - May) seasons, with sea temperatures ranging from 26 °C to 30 °C. Samples were preserved in 10% formalin.

In addition, randomly chosen samples were examined by means of SEM for the presence of *Madinithidium* species. These samples originated from Hvar Island (43°11'N, 16°23'E), Croatia, Adriatic Sea on the brown algae, *Padina* sp.; from Cape Feolent (44°30'N, 33°28'E), Ukraine, Crimean coast of the Black Sea on fine sand; and from Inhaca Island (25°59'S, 32°55'E), Mozambique, Western Indian Ocean on a sea grass, *Thalassodendron ciliatum* (Forsskål) den Hartog.

For light microscope (LM) and scanning electron microscope (SEM) examination, the biofilm was processed using a chemical treatment at ambient temperature that allowed the preservation of the large and weakly silicified taxa (Vermeulen *et al.* 2012). This gentle cleaning method was adapted from the various methods in existance for diatoms (Kelly 2000), in order to avoid heating the sample. The following procedure was applied. First, 25 ml of 33% volume HCl and 2,5 ml of 70% volume HNO₃

were added to a variable volume (20-25 ml) of the formalin preserved sample and left for 24 h in order to remove carbonates and Cyanobacteria. Crystalline potassium dichromate (1-3 mg) was then added to begin oxidation of organic material, enhanced by a few drops of 30% volume H₂O₂ solution. The entire process was repeated two to three times depending on the state of organic matter mineralization in the sample. The sample was rinsed three to four times with distilled water. A few drops of the cleaned sample material were placed on a cover slip, air dried and then mounted in Naphrax[®]. The fixed material and the cleaned samples were stored in Asconit Consultants, Martinique and in the Institute of Marine Sciences, University of Szczecin, Poland. Identifications in LM were performed with a Zeiss Axio imager M2 light microscope equipped with a PLANapochromatic x100/1.46 oil immersion objective and a Zeiss AxioCam MRc 5 digital camera. Morphometric measurements were performed with AxioVision software. SEM observations were completed at the Warsaw University of Technology using Hitachi S5500 and S8000 instruments and at J.W. Goethe University in Frankfurt am Main, using a Hitachi S4500.

Results

Based on LM and SEM observations of the various samples it was decided to create a new genus of monoraphid diatoms - *Madinithidium* - and its formal description is given below. In the literature, it was found that the taxa described from the Mascarenes as *Achnantidium* were showing structural similarities with *Madinithidium* and as a result new combinations are proposed. The new species, *M. undulatum*, described from Martinique samples, was chosen as the type species for the new genus. This choice was mainly due to the discovery of this new species whose description did not fit with the description of *Achnanthidium*. It was also found that the *Achnanthidium* species described from the Mascarenes where conforming to the description of the new genus. The choice of *M. undulatum* as the type species was also attributed to the abundant material available for this species, allowing a thorough LM and SEM description.

Classification

Order: Achnanthales P. Silva

Family: Achnanthidiaceae D.G. Mann in Round et al. 1990

Genus: Madinithidium Witkowski, Desrosiers & Riaux-Gobin gen. nov.

Madinithidium Witkowski, Desrosiers & Riaux-Gobin gen. nov.

DESCRIPTION: Heterovalvate frustules with at least one species with a tube dwelling growth habit. Valves elliptic to linear elliptic with obtusely rounded to capitate apices (Figs. 1-13). Raphe valve (RV) flat to slightly concave, transapical striae parallel throughout, regularly spaced. Transapical striae composed of wide, distinctly depressed macroareolae (sensu Bukhtiyarova 2006), occluded by thin, finely perforated hymenes (Fig. 16). Raphe sternum narrow, externally and internally elevated. Central area reduced. Raphe filiform, straight, external central raphe fissures slightly expanded, close

to each other either coaxial or slightly bent towards the valve primary side, coaxial internally. External terminal raphe fissures doubly-hooked and deflected to the same side, indistinct helictoglossa internally. Sternum valve (SV) convex, transapical striae parallel to slightly radiate throughout. Like the RV, transapical striae composed of wide, distinctly depressed macroareolae, occluded by thin and finely perforated hymenes. Sternum variable in width from narrow linear to lanceolate. Girdle composed of several non-perforated bands.

HABITAT: Observed in marine environment of Martinique (Caribbean Sea and West Atlantic) (Figs. 1-20), Mascarenes (Western Indian Ocean), Mozambique (Western Indian Ocean) (Figs. 22, 23, 25), Tahiti (South Pacific Ocean), Cape Feolent, Crimea (Black Sea) (Fig. 24) and Croatia (Adriatic Sea) (Fig. 21). Species from Martinique are tube-dwelling forms observed in narrow mucilaginous tubes (Fig. 1).

ETYMOLOGY: the name of the new genus is derived from "Madinina", the Creole name of Martinique Island.

TYPE SPECIES: *Madinithidium undulatum* Desrosiers & Witkowski sp. nov.



Figs. 1-13. Madinithidium undulatum light microscopy (LM) on Martinique samples. Scale bar=10 µm.

Madinithidium undulatum Desrosiers & Witkowski sp. nov.

(Figs 1-20)

DESCRIPTION: Valves linear to linear-elliptic with slightly undulating valve margins and well set off broadly rounded, protracted apices, (n=23), (4.2) 7.2-10.6 µm long (av. 8.7), (2.2) 2.6-3.2 µm broad (av. 2.9). RV: raphe straight, axial area very narrow linear, central area almost absent, transapical striae parallel in the middle becoming slightly radiate towards apices, 34-40 (av. 37) in 10 µm. SV: sternum very narrow, linear, transapical striae parallel in the middle becoming slightly radiate towards the apices, 30-36 in 10 µm (av.33.5).

HOLOTYPE: slide SZCZ 19764 deposited in Palaeoceanology Unit, Faculty of Geosciences, University of Szczecin.

ISOTYPES: slide xxxxx Natural History Museum, London, UK; slide xxxxx Museum of Natural History, University of Colorado, Boulder, USA.

TYPE LOCALITY: Fort de France Bay, Martinique Island (French West Indies); 14°35.828'N 60°49.983' W.

ETYMOLOGY: undulatum (Latin=undulated) referring to the valve margin shape.

Further details on the morphology of the type species are given by the description of the SEM images. The frustule in girdle view was very narrow, and the girdle composed of a few non-perforated bands (Fig. 14). The valvocopula has slightly wavy margin (Fig. 17).

The external view of raphe valve (RV) revealed a flat to slightly concave surface, with the raphesternum slightly elevated above the valve surface (Fig. 14). The valve face was separated from the mantle with a very narrow rib slightly elevated above the valve surface (Fig. 14). Axial area was very narrow and linear, slightly lanceolate and expanded in the middle, with the central area barely distinguishable from the axial area (Fig. 14). The raphe was filiform, straight in the middle, slightly bent near apices. The external central endings of raphe fissures were slightly expanded, approximate to each other, and the apical raphe fissures were doubly hooked and bent into the same direction (Figs 14). Transapical striae were parallel to slightly radiate, forming shallow grooves which alternate with slightly elevated virgae (Fig. 16). The striae were composed of large macroareolae, occluded with thin and finely perforated hymenes (70 in 10 μ m, Figs 16). The internal view of raphe valve (RV) was showing a very shallow and structure-less valve mantle. Internally the raphe was a straight slit positioned on the elevated sternum (Fig. 15). Proximal raphe fissures were slightly expanded, approximate and coaxial (Fig. 15) while terminal raphe fissures were simple, forming indistinct helictoglossa (Fig. 15).



Figs. 14-16. *Madinithidium undulatum* scanning electron microscopy (SEM) view of raphe valve. 14.
External view of entire valve, with girdle composed of non-perforated bands (white arrow), elevated rib separating valve face and mantle (open withe arrow) and raphe doubly-hooked apical fissure (grey arrow). 15. Internal view of entire valve, apical raphe fissures forming indistinct helictogloss (arrows).
16. Internal details of perforated hymenes of macroareolae. Scale bars, 1 μm (Figs. 14-15), 0.5 μm (Figs. 16).



Figs. 17-20. Madinithidium undulatum scanning electron microscopy (SEM) view of sternum valve. 17, 19. External view of entire valve, elevated rib separating valve face and mantle (arrows). 18. Internal view of entire valve. 20. Internal view of finely perforated hymenes of macroareolae and elevated sternum. Scale bars, 1 μm (Figs. 17-19), 0.5 μm (Fig. 20).

The external sternum valve (SV) surface was slightly convex, with the junction from the valve face to the mantle marked with a narrow ridge. The mantle was very shallow and structure-less (Fig. 17). The narrow and linear sternum was very slightly expanded in the middle and elevated above the valve face (Figs. 17, 19). Transapical striae of sternum valve were similar to those of raphe valve, but less numerous (Fig. 17, 19). The striae were also composed of large macroareolae, occluded with thin and finely perforated hymenes (Fig. 20). From the interior, sternum valve (SV) mantle again was very shallow and lacking obvious structure. The sternum was narrow, very slightly expanded in the middle, only indistinctly raised (Figs. 18).

Madinithidium undulatum was found in Martinique (Caribbean Sea and West Atlantic Ocean), Mozambique (Western Indian Ocean) and Croatia (Adriatic Sea). For Martinique samples, specimens were found in assemblages sampled on artificial hard substrates, mostly at sites influenced by freshwater inputs and waste water (CAM, PLE, SAM) (Fig. 26). The species was also present, but scarce, at sites with good water quality and low terrestrial inputs (CAR, CPA, CSM, FBO). The cleaning method applied on samples for organic matter digestion was gentle enough to observe, in LM, frustules in a mucilage tube, showing that the species have a tube dwelling arrangement. As no observation was done on live material, it is unknown whether solitary forms, as observed on fixed slides, can also be encountered in the natural environment (Figs 2-13).



Figs. 21-25. SEM images of *Madinithidium* species from the Western Indian Ocean (Mozambique), Adriatic Sea (Croatia) and Black Sea (Ukraine). 21. SV of *Madinithidium undulatum* from the Adriatic Sea. 22, 23, 25. RV and SV of *Madinithidium undulatum* from Mozambique. 24. SV of *Madinithidium flexuistriatum* from the Black Sea.



Fig. 26. Nutrients (DIN, PO_4) and chlorophyll *a* (Chl *a*) mean values (*n*=10) at sites where *Madinithidium undulatum* was encountered.

New combinations

Madinithidium capitatum (Riaux-Gobin et al.) Witkowski, Riaux-Gobin & Desrosiers comb. nov.

Basionym: *Achnanthidium capitatum* Riaux-Gobin, Romero, Compère & Al-Handal 2011, Small-sized Achnanthales (Bacillariophyta) from Coral Sands off Mascarenes (Western Indian Ocean). Bibliotheca Diatomologica 57, p. 13, pl. 9/1-6, pl. 10/1-6.

Remarks: Small specimens of *Madinithidium undulatum* (< to 8 μ m) are very close to *M. capitatum*, with no apparent undulation in/of the median part of their frustule.

Madinithidium flexuistriatum (Riaux-Gobin, Compère & Witkowski) Witkowski, Riaux-Gobin & Desrosiers comb. nov.

Basionym: *Achnanthidium flexuistriatum* Riaux-Gobin, Compère & Witkowski 2010, Vie et Milieu 60(2), p. 161, figs 13-22.

Madinithidium pseudodelicatissimum (Riaux-Gobin, Compère & Witkowski) Witkowski, Riaux-Gobin & Desrosiers comb. nov.

Basionym: *Achnanthidium pseudodelicatissimum* Riaux-Gobin, Compère & Witkowski 2010, Vie et Milieu 60(2), p. 159, figs 1-12.

Madinithidium scalariforme (Riaux-Gobin, Compère & Witkowski) Witkowski, Riaux-Gobin & Desrosiers comb. nov.

Basionym: *Achnanthidium scalariforme* Riaux-Gobin, Compère & Witkowski 2010, Vie et Milieu 60(2), p. 170, figs 48-53.

The main features common between Mascarenes and Martinique taxa were the structure of the raphe and sternum valves with transapical striae positioned in shallow depressions and separated by elevated virgae, and the ultrastructure of the striae. In terms of ultrastructure, both valves have striae occluded with the same kind of thin and finely perforated hymenes. The taxonomical features of the five *Madinithidium* species described in this paper are given in Table 1. The Black Sea sample revealed a specimen similar to *Madinithidium flexuistriatum*, although a little narrower at 2.8 μ m versus 3-4.3 μ m in the *M. flexuistriatum* description (Riaux-Gobin *et al.* 2011).

Table 1. Comparison of taxonomical features of Madinithidium undulatum and the new combinations

	Madinithidium undulatum this study	new comb.of Achnanthidium capitatum in Riaux-Gobin <i>et al.</i> ,	new comb.of Achnanthidium flexuistriatum in Riaux-	new comb.of Achnanthidium pseudodelicatissimum in	new comb.of Achnanthidium scalariforme in Riaux-
	lineer te lineer elliptie	2011			
apices shape	undulating margins	widely capitate apices	broadly rounded apices	subrostrate broadly rounded apices	elongated, round apices
lenght (µm)	(4.2)7.2-10.6	9-15	7-8	5.4-7.5	5.5-12
width (µm)́ RV	(2.2) 2.6-3.2	4-5	3.4-4	3-3.6	3-3.5
striae pattern striae in10 μm	macroareolae, parallel to slightly radiate 34-40	macroareolae, subparallel to slightly radiate 27-38	macroareolae, radiate 45-49	macroareolae, radiate 35-45	macroareolae, parallel to slightly radiate 28.5-33
SV striae pattern striae in10 µm	macroareolae, parallel to slightly radiate 30-36	macroareolae, subparallel to slightly radiate 22-25	macroareolae, radiate 41-43	macroareolae inflated near the raphe and the margin, radiate 28-41	macroareolae, parallel to very slightly radiate 28-31
Axial area				20	
RV	very narrow linear	narrow linear	narrow linear	narrow linear	narrow linear
SV Central area	very narrow linear	broad linear-lanceolate	narrow linear	narrow linear	narrow linear
RV	almost absent	absent	almost absent	almost absent	almost absent
SV	absent	absent	absent	absent	absent
Raphe	central endings slightly expanded, terminal fissures doubly hooked	central endings simple, terminal fissures doubly hooked	central endings simple, terminal fissures hooked	central endings simple, terminal fissures hooked	central endings slightly expanded, terminal fissures doubly hooked

Table 2. Comparison of taxonomical features of eight genu	us closely related to <i>Madinithidium</i> gen. nov.
-----------------------------------------------------------	------------------------------------------------------

	<i>Madinithidium</i> (present study)	Achnanthidium sensu lato	<i>Scalariella</i> Riaux-Gobin <i>et</i> <i>al.</i> 2012	<i>Planothidium</i> Round & Bukhtiyarova 1996	Astartiella Witkowski, Lange- Bertalot & Metzeltin in Moser <i>et al.</i> 1998	Psammothidium Karayevia Bukhtiyarova & sensu lato Round 1996 Bukhtiyarov 2006		<i>Rossithidium</i> Round & Bukhtiyarova 1996	
RV face	Flat to slightly concave	Slightly convex	flat	flat	flat	flat to convex flat		flat	
SV face	convex	Concave	convex	flat	flat	flat	flat	flat	
central raphe endings coaxial internally	+	-	+	_	+	_	+	-	
external central raphe endings	slightly expanded, approximate, slightly bent on primary side	Simple or slightly expanded	slightly expanded, slightly bent on primary side	slightly bent on primary side	coaxial	coaxial	coaxial	slightly expanded	
terminal raphe fissures	double hooked in the same side	e hooked in ame side		bent in same side	double-hooked on one side or variable	simple or hooked in opposite directions		simple or slightly hooked in opposite directions	
striae	RV and SV: solitary elongate areola (macroareola)	uni- to multiseriate, simple poroïds	RV: two areolae SV: one macroareola	multiseriate	RV: uniseriate, macroareolae in some taxa SV: uniseriate	uniseriate		uniseriate to biseriate	
occlusions	distinctly depressed, finely porous hymen in both RV and SV	hymenes with round or slightly elongated perforations	slightly depressed, thin uniform hymen	slightly depressed	slightly depressed	slightly depressed		?	
specific features	both RV and SV perforations RV and SV striae occluded with finely perforated hymenes		RV: hyaline lunate-shaped area	SV: absence of several striae on one side, internal horse shoe structure in some taxa	mostly fresh water taxa	SV: central area often extended, row(s) of pores on the mantle		linear valve outline, areolae on the mantle, RV: often with a central stauros	
girdle	a few unperforated bands	Open, non- porous bands	a few unperforated bands	several bands	several bands (?) unperforated	several bands		a few plain bands	
helictoglossae	almost absent	absent	very small	present	small to almost absent	small		low	

Discussion

The characteristics of the achnanthoid genera that show some similarity with Madinithidium are provided in Table 2. In terms of morphology, the valves of Madinithidium species show the closest relationship with Scalariella and share some features with Planothidium, but less with other similar genera. The genus is also distinct from Achnanthidium sensu lato, regarding two distinct features: first, the striae which are uni- to multiseriate and formed of simple poroïds in Achnanthidium and formed by a macroareolae in Madinithidium; and second, the sternum of the SV that can be wider than the raphe-sternum of the RV or has a different shape centrally in Achnanthidium, while in Madinithidium, the sternum and raphe-sternum are strictly similar on the RV and SV. These differences were sufficient to motivate the transfer of four species classified in Achnanthidium to the new genus Madinithidium. Scalariella and Madinithidium are similar in numerous aspects, i.e. a flat RV face and a convex SV, girdle composed of few plain bands, a similar SEM appearance of SV with distinct sternum, and the macroareolae positioned in depressions separated by elevated virgae. The major difference between these genera is the ultrastructure of the striae. Both are composed of macroareolae, however, the RV of Scalariella has the areolae divided into two parts by a distinct hyaline lateral area, which is absent in Madinithidium. The raphe sternum system is similar in the new genus and Scalariella, i.e., apical external raphe fissures doubly hooked, central external endings slightly expanded, but small and indistinctly pointed towards the valve primary side. In internal view, the central raphe fissures are coaxial and the raphe terminates apically in a very indistinct helictoglossa (Table 2; Riaux-Gobin et al. 2012). The species belonging in Madinithidium and Scalariella inhabit contrasting environments with the former confined to tropical and subtropical waters and the latter to cold coastal waters (Metzeltin & Witkowski 1996; Nagumo et al. 2008; Riaux-Gobin et al. 2012).

Madinithidium and Planothidium seem to have similar striation when observed in LM, but Planothidium striae are multiseriate with perforations of several orders of magnitude larger than in the former genus (Lange-Bertalot & Krammer 1989; Bukhtiyarova & Round 1996). Striae of the SV are crossed by a narrow marginal rim with areolae continuing beyond the valve face onto the valve mantle. On the valve mantle a solitary row of areolae occurs (Rovira *et al.* 2011). The mantle in *Planothidium* is very steep and distinct, while it is indistinct and bears no areolae in *Madinithidium*. Both genera present similar RV internal valve features by having terminal fissures ending in a small and simple helictoglossa, but the raphe central fissures differ, i.e. they are coaxial in the new genus and bent in opposite directions in *Planothidium* (Krammer & Lange-Bertalot 2004; Round & Bukhtiyarova 1996; Rovira *et al.* 2011). Externally, the terminal raphe fissures are both bent on the same side and cross the apex to terminate on the mantle, but in *Madinithidium* the fissures are more strongly hooked and terminate in a double hook. The two genera differ in terms of sternum development: in *Planothidium* the sternum is externally distinct, sometimes broadened in the middle, flat or depressed below the valve surface, whereas it is narrow, linear and elevated above the valve surface in *Madinithidium*.

Madinithidium shows some similarities with Astartiella (Table 2). Species belonging in the two genera have similar raphe-sternum and terminal raphe fissure characteristics. However, significant differences occur between the two genera: the striae of Astartiella are uniseriate and different in both valves unlike Madinithidium, and the RV of Astartiella presents one or few stigmata (Table 2; Moser *et al.* 1998, Riaux-Gobin *et al.* 2013). The other genera listed in Table 2 show significant

differences with *Madinithidium*, i.e. *Karayevia*, *Psammothidium* and *Rossithidium* have valves with either uni- to biseriate striae. In addition *Psammothidium* and *Rossithidium* both have the internal raphe endings bent in opposite directions. In *Rossithidium*, the terminal raphe fissures also show some degree of variation within the genus, as they can be short and simple to distinctly bent in opposite directions. In some *Karayevia* species, the SV can possess macroareolae, but they are usually split into two smaller areolae (Bukhtiyarova & Round 1996; Bukhtiyarova 2006; Krammer & Lange-Bertalot 2004; Lange-Bertalot & Krammer 1989; Potapova 2010).

The investigations of the present paper demonstrate that achnanthoid taxa with a distinct morphology can be split off from *Achnanthidium sensu lato* and transferred to a new genus, *Madinithidium*. *Madinithidium* has several features in common with other species, but the most interesting and unique in monoraphid diatoms is the similar structure of RV and SV, which has thus far only been observed in some freshwater *Achnanthidium* species (Krammer & Lange-Bertalot 2004, Potapova 2013). The real difference between the valves is practically limited to the presence/absence of the raphe.

The marine littoral environment of Martinique Island seems to host particularly rich assemblages of monoraphid taxa, similarly to the Mascarenes or South Pacific islands. At least eight taxa - *Madinithidium undulatum, Achnanthidium scalariforme, Achnanthidium exiguum, Achnanthidium* aff. *minutissimum, Achnanthidium* aff. *scalariforme, Achnanthidium* aff. *capitatum,* and two unidentified species - have features similar to several *Achnanthidium sensu lato* species described from the Western Indian Ocean (Riaux-Gobin *et al.* 2010, 2011) and Uruguay (Metzeltin *et al.* 2005). It can be noted that *Madinithidium scalariforme,* or a variety, and *Madinithidium flexuistriatum* occur in the coral sand of the Society Islands (Riaux-Gobin pers. comm.). Recently, *Madinithidum undulatum* was identified from the Florida Keys area (Key Largo), however in very low abundance (Frankovich pers. comm.). In addition, some *Madinithidium* species have been observed as solitary findings from the marine littoral of South Africa (Indian Ocean) and Tanzania (Witkowski pers. comm.). Up to now, the observations on *Madinithidium* species reveal occurrences of the genus in tropical, sub-tropical and Mediterranean regions. However, the geographic distribution of *Madinithidium* would in all likelihood expand with the continuation of diatomological research.

In this context, the description of the genus *Madinithidium* will assist taxonomists in achieving accurate identifications among the monoraphids species of a biofilm sample. When species in a sample cannot be accurately identified or are misidentified, it can result in the grouping of similar specimens under a unique species or in the attribution of temporary names. Avoiding species grouping and identifying species accurately will allow the definition of species ecological preferences, which is an important step for the use of diatoms as bioindicators in the marine environment.

Acknowledgements The authors are grateful to Manfred Ruppel for operating the SEM. This study has been supported by grant No. 2012/04/A/ST10/00544 from the National Science Centre in Kraków and by the ATUPS grant from Université Paul Sabatier. Professor Kevin McCartney and Dr. Thomas G. Bornman are acknowledged for the correction of the English language, Professor J. Pat Kociolek for critical reading of the manuscript and valuable remarks, and Agnieszka Kierzek and Genowefa Daniszewska-Kowalczyk for technical

assistance. The authors express their gratitude to Ana Car, Dr. Elena Nevrova and Dr. Tom Frankovich for providing information on the distribution of *Madinithidium* species outside of the Mascarenes and Caribbean.

CHAPITRE V. EVALUATION DE LA CAPACITE BIOINDICATRICE DES DIATOMEES MARINES EN EAUX TROPICALES OLIGOTROPHES

1. Calage du jeu de données pour l'analyse

Comme cela a été détaillé au chapitre 2, la phase d'acquisition des données a été basée sur cinq campagnes de prélèvement du biofilm, avec la collecte de données physico-chimiques à la pose des substrats artificiels ainsi qu'à la relève des substrats après cinq semaines de croissance. La numérotation des campagnes de prélèvements pour les données physico-chimiques et biologiques est précisée dans le tableau V-1, accompagnée du mois et de la saison auxquels elles correspondent. Avant toute interprétation des données physico-chimiques, aussi appelées données abiotiques, il s'impose d'analyser en détail les résultats de l'exercice d'intercalibration. Les données abiotiques étant à la base de la définition de l'écologie des espèces, il s'est avéré nécessaire d'évaluer la fiabilité de ces données émises par les laboratoires choisis.

Saicon	Moic	N° car	npagne
3015011	IVIOIS	Abiotique	Biologique
Hivernage	Août	1	1
	Septembre	2	T
Inter-saison	Novembre	3	2
	Décembre	4	Z
Carême	Février	5	2
	Mars	6	3
Carême	Mai	7	4
	Juin	8	4
Hivernage	Août	9	-
	Septembre	10	5

Tableau V-1. Répartition des campagnes de prélèvement entre les saisons et numérotation utilisée pour les données abiotiques et biologiques

1.1. Données abiotiques

Résultats de l'intercalibration

L'exercice d'inter-calibration qui a porté sur la quasi-totalité des paramètres (cf. Chap.II Tableaux II-2 et II-4) s'est déroulé sur les cinq sites SAM, CGA, SDE, BTR, LMI aux campagnes 9 et 10. Les raisons de cet exercice en fin d'acquisition de données ont été expliquées au Chapitre II. Seuls les paramètres sensibles NH_4 et PO_4 , ont fait l'objet d'une double mesure en cours d'acquisition de données (campagnes 5 et 6) pour les sites SAM, CGA et SDE. Jusqu'à la campagne 6 incluse, les résultats pour ces deux paramètres ont été fournis par le LDA972. Les mesures en doublon pour le NH_4 ont donné des résultats similaires pour les deux laboratoires, il a donc été choisi de maintenir le LDA972 pour les analyses de routine. Pour le PO_4 , les résultats du LDA972 pour les trois sites étaient tous inférieurs à la limite de quantification alors que le Laboratoire de Rouen a obtenu des valeurs entre 0,12 et $0,71 \mu$ mol Γ^1 . Ces dernières valeurs semblant plus en accord avec les sites, choisi pour leur qualité médiocre, c'est le Laboratoire de Rouen qui a été retenu pour poursuivre les analyses de routine 7 jusqu'à la dernière. L'uniformisation des données entre les campagne 7 jusqu'à la dernière. L'uniformisation des données entre les campagnes pour le paramètre PO_4 est abordée au paragraphe suivant.

L'examen de l'ensemble des données d'intercalibration (Annexe 2) a montré des incohérences principalement en ce qui concerne les paramètres MES, PO₄, PTD et SO₄. Les termes laboratoire de routine et laboratoire d'intercalibration sont utilisés ci-après pour désigner d'une part le laboratoire qui a fourni les résultats pour l'ensemble des campagnes et d'autre part le laboratoire choisit pour la mesure en doublon. En ce qui concerne les MES, dans le cadre de l'intercalibration le protocole de filtration-rinçage s'est déroulé en Martinique pour des raisons pratiques de conservation. Les filtres ont été pliés et conservés en tube à 4°c jusqu'à l'envoi au laboratoire de routine de Rouen (Laboratoire de Rouen) et au laboratoire d'intercalibration EcoLab. Alors que dans le cas des mesures de routine, la partie filtration-rinçage a été assurée par le Laboratoire de Rouen. Les résultats d'intercalibration pour les deux laboratoires sont similaires avec des valeurs faibles à nulles, ce qui contraste avec les valeurs obtenues lors des campagnes de routine. Pour les campagnes 1 à 8 sur les même cinq sites que ceux de l'intercalibration, la valeur moyenne en MES varie entre 7,9 et 11,3 mg I¹ en fonction des sites, alors que les valeurs d'intercalibration sont toutes inférieures à la limite de quantification. Plusieurs raisons peuvent être à l'origine de ces différences : 1) le rinçage du sel sur les filtres. Certaines valeurs élevées, sur des sites loin d'une influence terrigène et où les eaux sont transparentes, peuvent être remises en cause. D'autre part, aucune corrélation n'a pu être mise en évidence entre les quantités de MES mesurées et les précipitations, source d'apports terrigènes, des dernières 72hr dans la zone du site ; 2) le mode opératoire de stockage des filtres avant la pesée où dans le cas de l'intercalibration, une perte de matière pourrait être attribuées au stockage des filtres dans les tubes. D'une manière générale pour ce paramètre, la fiabilité très limitée des résultats peut être en premier lieu et en grande partie attribuée à la filtration d'un volume d'eau insuffisant (1 L). Etant donné que les eaux côtières de Martinique sont oligotrophes, un volume minimum de deux litres voire trois litres serait plus approprié. La limitation à un faible volume pour l'analyse est due à la contrainte financière liée à l'envoi postal. Avec la possibilité d'effectuer localement le processus complet de filtration-pesée, le traitement de volumes plus importants serait possible.

Pour le phosphore, les dosages effectués par le laboratoire de routine de Rouen (campagnes 7 à 10) donnent des valeurs comprises entre 0,11 et 0,15 µmol l⁻¹ tandis que le laboratoire d'intercalibration de l'ARVAM donne des valeurs entre 0,02 et 0,05 µmol l⁻¹ très proche ou égales à la limite de détection (0,02 μ mol l^{-1}) (Fig. V-1). Initialement le dosage de ce paramètre en routine avait été confié au LDA972 (campagnes 1 à 6) qui fournissait également des valeurs très faibles pour la plupart inférieures à la limite de détection (0,05 μmol l⁻¹). Des valeurs inférieures à 0,1 μmol l⁻¹ paraissent cohérentes pour des eaux oligotrophes de surface. Pour comparaison, les concentrations moyennes mesurées au Florida Keys, sur des eaux proches du fond, varient entre 0,027 et 0,069 μ mol Γ^1 en fonction des sites et des saisons (LQ=0,009 μ mol Γ^1) (Lapointe *et al.* 2004). Dans le cas du suivi des sites côtiers de Martinique effectués en 2009 pour la Directive Cadre sur l'Eau, les valeurs de phosphore dans les eaux de sub-surface varient de 0,05 (limite de quantification) à 0,35 μ mol l^{-1} (moyenne=0,15 μ mol I⁻¹) (Impact Mer & Pareto Ecoconsult 2010). Il est difficile de statuer sur la validité des données fournies par le LDA972 versus celles fournies par le Laboratoire de Rouen étant donné que les valeurs de PO₄ apportées par les laboratoires LDA972 et ARVAM sont en accord avec la littérature de Floride, alors que celles du Laboratoire de Rouen sont en accord avec les données Martinique. Seul un exercice d'intercalibration avec des échantillons de concentrations connues permettrait de porter un avis sur la qualité des valeurs fournies. Toutefois il faut noter que quelles que soit la gamme de valeurs pour nos données, les différences inter-sites sont minimes et les sites qui se différencient par des valeurs plus élevées sont les mêmes. Nous ne retiendrons finalement que les données des laboratoires LDA972 et ARVAM pour constituer le jeu de données des phosphates. Les valeurs manquantes (ensemble des valeurs des campagnes 7 et 8 et valeurs des campagnes 9 et 10 pour les sites n'étant pas inclus dans l'intercalibration) ont été estimées à partir de la moyenne des valeurs pour le même site à la même saison.

Le paramètre phosphore total dissous (PTD) présente des valeurs variant entre la limite de détection à 0,02 mg l⁻¹ et 0,08 mg l⁻¹ pour le laboratoire de routine de Rouen alors que les valeurs oscillent autour de 0,045 mg l⁻¹ (sauf une valeur à 0,09 mg l⁻¹) pour le laboratoire d'intercalibration EcoLab (Fig. V-1). Un écart de valeur non constant apparait entre les échantillons. Du fait du caractère anarchique des écarts, il est difficile d'expliquer cette variabilité de valeurs et de l'attribuer aux méthodologies différentes utilisées par les deux laboratoires.

Les sulfates sont globalement plus élevés avec le laboratoire de routine de Rouen (entre 2800 et 3050 mg l⁻¹) qu'avec le laboratoire d'intercalibration EcoLab (entre 2676 et 2833 mg l⁻¹) (Fig. V-1). Ces différences peuvent provenir de la valeur d'étalonnage et de la gamme de travail choisie par chacun des laboratoires pour l'étalonnage.

Pour les paramètres COT et COD, il n'y a pas d'incohérence proprement dite mais simplement un écart entre les valeurs des deux laboratoires (Fig. V-1), pouvant être lié à la différence de méthodologie utilisée ainsi qu'à des dosages en limite de gamme de mesure (1-30 mg l⁻¹) en ce qui concerne EcoLab. La cohérence entre les valeurs de COT et COD, la part dissoute étant comprise dans la mesure de la part totale, est supérieure pour les résultats du Laboratoire de Rouen.

Et enfin, un dernier point sur les matières azotées, dont les valeurs sont globalement cohérentes entre les laboratoires de routine LDA972 pour le NH₄ et Rouen pour les NO₂/NO₃ et les laboratoires d'intercalibration ARVAM pour le NH₄ et ECOMAR pour les NO₂/NO₃. Pour le NH₄, tous les échantillons dosés par l'ARVAM ont des valeurs légèrement supérieures au laboratoire de routine et les sites BTR9 et SDE10 ont des valeurs nettement plus élevées. En parallèle ces mêmes sites présentent les plus basses valeurs de NO₂ et NO₃ mesurées par ECOMAR (Fig. V-1). L'hypothèse d'une mauvaise conservation des échantillons pasteurisés pour ces sites est probable, avec par conséquence une reprise de l'activité microbienne entrainant l'oxydation du NH₄ en NO₂ et NO₃.

Pour résumer, les mesures en doublons ont permis d'une part de prendre des décisions concernant la fiabilité des données des paramètres MES et phosphates. Le paramètre MES souffre d'un manque de régularité dans la fiabilité des valeurs, avec dans certains cas une cohérence relative vis-à-vis des caractéristiques des sites et de la pluviométrie et dans d'autres cas une absence totale de cohérence. Etant donné que ce paramètre devrait refléter l'influence continentale (via l'influence des rivières) et aussi l'exposition différentielle des sites ou des relevés (site x date) aux impacts anthropiques venant du domaine continental, il sera quand même intégré à l'analyse spatiale des données et son interprétation devra être réalisée avec précaution. Les données de phosphates fournies par les laboratoires LDA972 et ARVAM ont été validées alors que les données fournies par le Laboratoire de Rouen ont été écartées. D'autre part pour les autres paramètres, l'intercalibration a permis de juger du niveau de fiabilité des données.

Les valeurs des paramètres PTD, COD, COT sont présentées ici dans leurs unités initiales en mg l⁻¹.



Figure V-1. Résultats de l'exercice d'intercalibration pour les paramètres phosphate, phosphore total dissous, carbone organique dissous et total, sulfates et éléments azotés

Cohérence globale des paramètres

En dehors des ajustements apportés suite à l'examen des résultats d'intercalibration, la salinité a également fait l'objet de rectifications. Ce paramètre ne présentait pas des données cohérentes du fait d'un problème de calibration (cf. Chap II), avec des gammes de valeurs différentes en fonction de l'étalonnage (ex. 33-34 PSU suite à l'étalonnage 1 vs 35-36 PSU suite à l'étalonnage 2). Cependant, des séries de mesures correspondant à un même étalonnage de la sonde ont pu être identifiées. A partir de ces séries, une note de rang a été attribuée à la valeur réelle sur la base d'un code à trois chiffres (le 1^{er} chiffre de la note correspond à la dizaine soit 0 pour 0-10 psu, 1 pour 10-20 psu, 2 pour 20-30 psu, 3 pour 30-40 psu ; les deux derniers chiffres correspondent à l'écart entre les valeurs en additionnant les notes 01 pour l'intervalle 00,0-00,1 psu, 02 pour 0,002-0,003 et jusqu'à 05 pour 0,008-0,009). Le paramètre salinité étant utilisé comme traceur d'eau douce plutôt que pour sa valeur écologique, nous avons choisi de travailler sur les valeurs de sub-surface plutôt que sur les valeurs à 3 mètres comme pour les autres paramètres. En effet en cas d'apport d'eau douce par les rivières, la différence de salinité est nette dans le premier mètre et demi sous la surface et au-delà la salinité retrouve une valeur marine classique.

Des ajustements d'unités sont également apportés pour les paramètres PTD, COT et COD avec une conversion du mg Γ^1 en µmol Γ^1 (Tableau II-3) pour être en phase avec l'unité utilisée par les laboratoires pour les nutriments (PO₄, NH₄, NO₂, NO₃) et ainsi faciliter les comparaisons et l'interprétation.

1.2. Données biologiques

L'identification des espèces et les noms d'espèces et codes taxons associés ont fait l'objet d'un contrôle rigoureux afin que la matrice de données biologiques comporte des codes espèces cohérents avec les dernières dénominations. La codification des espèces inconnues utilise les codes genres déjà présents dans la base de données OMNIDIA 2012. La matrice comprend l'abondance relative par site de chaque taxon pour chacun des sites à chacune des cinq campagnes, soit dans 97 échantillons.

Le nombre total d'espèces apparaissant dans les inventaires est de 647, avec plus de 100 espèces qui n'ont été comptabilisées que dans un seul échantillon (une seule valeur sur 97 relevés). Le jeu de données a été réduit afin de limiter l'analyse à des espèces dont la présence peut être considérée comme une réelle réponse aux conditions de croissance rencontrées sur un site. Un seuil basé sur l'abondance des espèces a été appliqué. Les espèces conservées sont celles dont l'abondance relative est au moins une fois supérieure à 3,6 ‰, soit une abondance brute de 2 individus. Ce seuil met de côté 189 espèces qui n'ont été comptées qu'une seule fois sur une lame, même si le cas est rencontré sur plusieurs inventaires. Aucun seuil d'occurrence de comptage n'a été appliqué dans la mesure où l'analyse doit également porter sur les espèces rares, qui peuvent donc n'apparaître que sur un site mais en grande abondance.

2. Caractérisation physico-chimique des sites

2.1. Éléments d'aide à l'interprétation des résultats de chimie

L'étude de l'hydrologie marine possède deux particularités, l'effet du déplacement des masses d'eau et la salinité du milieu (Aminot & Kérouel 2004). Le déplacement des masses d'eau se fait dans toutes les directions, contrairement aux rivières, et à grande échelle du fait de l'effet des courants (résultants de la circulation générale, des marées et du vent). La salinité influence le milieu en créant des gradients salins verticaux et horizontaux du fait de la différence de densité avec l'eau douce. D'un point de vue analytique, le sel va également perturber la chimie (effet ionique global ou interférence dans les réactions).

Le rapport entre le carbone, l'azote et le phosphore dans les eaux marines suit le concept de Redfield qui donne un rapport C/N/P voisin de 106/16/1 basé sur le principe que la photosynthèse ou la décomposition du plancton produit ou consomme ces éléments selon le bilan réactionnel suivant (Copin-Montégut 1996):

photosynthèse 106 CO₂ + 16 HNO₃ + H₃PO₄ $\xrightarrow{-- \rightarrow}$ (CH₂O)₁₀₆(NH₃)₁₆H₃PO₄ + 138 O₂ décomposition

En ce qui concerne l'azote, la décomposition des matières azotées suit des voies biologiques (respiration, excrétion, diverses activités bactériennes) aboutissant à l'émission de métabolites azotés et d'ions ammonium. Les bactéries nitrifiantes en présence d'oxygène vont oxyder l'ammonium (NH_4) en nitrites (NO_2) puis en nitrates (NO_3) . Le phosphore pour sa part est essentiellement présent dans l'eau de mer sous forme d'ions phosphate (PO₄³⁻), cette forme correspondant à l'équilibre de dissociation de l'acide orthophosphorique (H_3PO_4) (Copin-Montégut 1996). La répartition du nitrate et du phosphate dans le milieu marin est similaire, avec dans la couche de surface (0-20m) mélangée, une bonne oxygénation et des températures propices au développement planctonique entrainant par conséquent de très faibles teneurs pour ces deux paramètres. Sous la couche mélangée, la luminosité décline progressivement donc le nitrate provenant de la décomposition du plancton n'est pas réutilisé, provoquant ainsi une augmentation du nitrate et du phosphate. La zone de la thermocline représente un compromis entre lumière et disponibilité en nutriments. En milieu littoral, les teneurs en éléments azotés et phosphorés devront aussi être interprétés en fonction des apports du milieu terrestre. En eau douce, l'ammonium et les nitrites n'existent que dans les eaux douces riches en matières organiques en décomposition lorsque la teneur en oxygène est insuffisante pour assurer la transformation du premier puis du second élément (saturation du processus d'auto-épuration) (Nisbet & Verneaux 1970).

La matière organique dissoute (azote, phosphore et carbone organique dissous) présente dans les eaux marines de surface provient soit de sources externes, c'est-à-dire apportée par les rivières ou d'origine anthropique, ou de sources internes liées à l'excrétion par les autotrophes et aux produits métaboliques des hétérotrophes. Le phytoplancton est le producteur majeur de carbone organique dissous en relâchant 5 à 10% de sa production de carbone photosynthétique. L'exsudation de COD peut atteindre 70% de la production en cas de production massive de mucilage. La production est

influencée par la composition de la communauté planctonique et est stimulée par le broutage des protistes et des copépodes (De Vittor *et al.* 2008).

Le silicium, élément essentiel pour les diatomées, est présent dans l'eau de mer sous forme d'acide silicique dont la forme neutre –le silicate Si(OH)₄ ou silicium dissous DSi - est la plus présente (Capellacci *et al.* 2013). Le silicium est utilisé par certains organismes marins pour former de la silice hydratée amorphe (SiO₂) ou silice biogénique (BSi). Les sources de DSi dans la couche de surface des océans sont les rivières, les remontées d'eaux profondes et le recyclage de la BSi.

Les sulfates sont présents en quantité naturellement élevée dans les eaux marines sous forme dissoute $SO_4^{2^-}$, la valeur de référence étant autour de 2800 mg l⁻¹. Les sulfates dissous seront assimilés par les organismes et entreront dans la composition des molécules organiques. Les trois processus responsables des apports en sulfates au milieu marin sont les apports par les rivières, la réduction des sulfates qui permet leur ré-assimilation par les organismes et le relargage du soufre minéral contenu dans la croûte océanique.

L'élément fer à des concentrations faibles pour les eaux du larges (0,01-0,045 μ g l⁻¹) (Moore & Braucher 2007) et sa concentration dans les eaux côtières va augmenter du fait des apports des rivières où il sera adsorbé aux MES, des remontées d'eau profonde et du dépôt de poussières et d'aérosols. Le fer est un facteur limitant pour la croissance du phytoplancton puisqu'il joue un rôle important dans le transfert d'électrons lors de la photosynthèse et de la respiration.

La production phytoplanctonique sera évaluée par la concentration en chlorophylle *a*, tandis que la concentration en phéopigments, produit de dégradation de la chlorophylle *a*, se rapporte aux organismes autotrophes en cours de dégradation. En milieu littoral, ces produits de dégradation planctonique peuvent également provenir de la production des rivières.

Avec toujours en tête ce contexte littoral, les matières en suspension ont été mesurées principalement pour évaluer la part des apports terrestres aux sites côtiers. Les MES comprennent toutes les particules de taille supérieure à 0,5 µm environ, qu'elles soient minérales ou organiques, vivantes ou détritique et de nature biogénique (bactéries, phytoplancton) ou terrigène (apports fluviaux, érosion des côtes). Quant à la turbidité, elle se traduit comme la réduction de transparence d'un liquide due à la présence de substances non dissoutes. Elle va donc consister à mesurer la dispersion de la lumière sous l'effet des particules en suspension (Aminot & Kérouel 2004). Il arrive qu'elle soit bien corrélée aux MES, mais ce n'est pas toujours le cas et ne peut donc pas se substituer complètement aux MES.

2.2. Analyse générale

La physico-chimie descriptive des sites est détaillée dans le tableau V-1 et les principaux paramètres sont représentés graphiquement (Fig. V-2). Pour les résultats inférieurs à la limite de quantification, une valeur équivalente à la moitié de la LQ a été attribuée arbitrairement afin d'avoir une donnée chiffrée permettant les calculs et leur utilisation statistique. La moitié de la LQ plutôt qu'une valeur juste sous la LQ a été préféré afin de bien distinguer ces valeurs.

Si l'on considère dans un premier temps les paramètres liés aux caractéristiques naturels des sites, la température moyenne est similaire entre les sites (moyenne globale de 28,2°C toutes campagnes confondues), la saturation moyenne en oxygène est maximale aux sites LGA, SAM, LCA deux sites exposés de la côté Atlantique et un rejet de STEP - et minimale aux sites PLE, PBO et BGA deux sites en baie de Fort-de-France et une réserve en zone calme. Le sulfate, constituant majeur de l'eau de mer, présente des concentrations moyennes maximales aux sites CAR, BTR, LMI – un site sous influence du sable de carrière, une réserve en zone calme et un site exposé de la côte Atlantique - et des concentrations moyennes minimales aux sites PIN, CAM, PBO - un site exposé de la côte Atlantique, un sous l'influence d'un carénage et une réserve en zone calme. Le silicate a quant à lui des concentrations moyennes maximales aux sites SDE, CAR et CAM – un rejet de STEP, un site sous influence du sable de carrière, un sous l'influence d'un carénage - et minimales moyennes aux sites LCA, LGA, CPA – trois sites exposés de la côté Atlantique. Le fer, qui est un paramètre à la fois liés à la nature des sites et à l'influence anthropique, a des concentrations moyennes maximales aux sites CAM, SDE, BGA - un site sous l'influence d'un carénage, un rejet de STEP et un site en baie de Ford-de-France - et des concentrations minimales moyennes inférieures au seuil de quantification (5 $\mu g l^{-1}$) pour de nombreux sites.

Dans un second temps, les sites sont décrits par des paramètres influencés par les apports terrigènes et par l'anthropisation. L'azote inorganique dissous (NID) a des valeurs maximales aux sites SDE, BGA et PIN – un rejet de STEP, un site en baie de Fort-de-France, un site exposé de la côte Atlantique - alors que les plus petites valeurs concernent les sites LCA, IRA et CSA – un site exposé de la côte Atlantique, un site protégé en baie du Robert et site de la côte Caraïbe. Pour le site SDE rejet de STEP -, c'est le paramètre ammonium qui contribue à la forte valeur du NID alors que pour les deux autres sites, la plus grande proportion provient des nitrates. Pour le phosphore, comme cela a été dit lors de l'analyse des données d'intercalibration, la plupart des valeurs sont inférieures au seuil de quantification (0,05 μ mol l⁻¹), sauf pour les trois sites CAM, CGA et SAM – site sous l'influence d'un carénage, site exposé de la côte Caraïbe et rejet de STEP. Pour les deux premiers sites, une seule valeur est supérieure au seuil et pour le dernier site deux valeurs sont supérieures au seuil (sur un total de 10 valeurs). En ce qui concerne la matière organique dissoute, l'azote (NOD) présente des valeurs maximales moyennes aux sites SDE, CPA et CGA – rejet de STEP, site exposé de la côte Atlantique, site exposé de la côte Caraïbe - et minimales moyennes aux sites RDI, PLE, LCA site éloigné de la côte Caraïbe, site sous influence de rivière, site exposé de la côte Atlantique ; le phosphore (POD) présente des valeurs maximales aux sites BTR, CPA et SDE – réserve en zone calme, site exposé de la côte Atlantique, rejet de STEP et minimales aux sites LCA, CSM et CAR – deux sites exposés, un site sous l'influence du sable de carrière - , tandis que le carbone (COD) affiche des valeurs maximales aux sites CAM, SAM et LCA – site sous l'influence d'un carénage, rejet de STEP et site exposé de la côte Atlantique et minimales aux sites PIN, CPA et LGA – trois sites exposés de la côte Atlantique. La teneur en chlorophylle a, synonyme d'enrichissement en nutriments des sites, à des valeurs maximales aux sites CAM, SDE et PLE - site sous l'influence d'un carénage, rejet de STEP, site sous influence de rivière - et des valeurs minimales aux sites CGA et RDI – site exposé de la côte Caraïbe, site éloigné de la côte Caraïbe. Enfin, la turbidité est maximale aux sites CAM, SDE, PLE – qui sont les mêmes sites que pour la chlorophylle a - et minimale aux sites LCA et RDI – site exposé de la côte Atlantique, site éloigné de la côte Caraïbe.

	+	-
T°	Valeurs équivalentes	Valeurs équivalentes
0 ₂	LGA , SAM, <i>LCA</i>	PLE, PBO, BGA
Si(OH) ₄	SDE , CAR, <i>CAM</i>	LCA , LGA, <i>CPA</i>
SO ₄	CAR, BTR, <i>LMI</i>	PIN, CAM, PBO
Fe	CAM, SDE, BGA	Valeurs équivalentes
Chl <i>a</i>	CAM, SDE, PLE	CGA, RDI
Turbidité	CAM, SDE, PLE	LCA, RDI
NID	SDE, BGA, PIN	LCA, IRA, CSA
NOD	SDE , CPA, <i>CGA</i>	RDI, PLE, <i>LCA</i>
PO ₄	CAM, CGA, SAM	Valeurs équivalentes
POD	BTR, CPA, SDE	LCA, CSM, CAR
COD	CAM, SAM, LCA	PIN , CPA, <i>LGA</i>
Sites avec les plus fortes	Step Desmarinière (SDE),	LoupCaravelle (LCA),
occurances de valeurs :	Carenantilles Marin (CAM)	Rocher du Diamant (RDI)

Pour résumé, les sites qui se distinguent par leurs valeurs extrêmes sont rappelés ci-dessous :

D'une manière générale il y a peu de cohérence entre les trois sites sur lesquels sont relevées les valeurs maximales et minimales des différents paramètres, c'est-à-dire que la finalité et les caractéristiques de ces sites ne sont pas homogènes. Il s'agit cependant d'une analyse sur les valeurs moyennes des cinq campagnes, ce qui révèle probablement que pour certaines valeurs mesurées les différences inter-saisonnières sont plus importantes que les différences inter-sites.

Tableau V-1, Resultats des principaux parametres pour chaque site	Tableau V-1. Résulta	ts des principaux pa	aramètres pour chaque site
-------------------------------------------------------------------	----------------------	----------------------	----------------------------

Moy.=moyenne, n=10 (sauf LCA, n=5); ET= écart-type.

Station	Paramètre	۲°	O2	Si(OH)₄	SO4	Fe	Chl <i>a</i>	Turbidité	NH₄	NO2	NO₃	NOD	PO₄	POD	COD	сот
	Unité	°C	%	µmol l -1	mg l ⁻¹	µg l ⁻¹	μg ⁻¹	NFU	µmol l -1	µmol I -1	µmol l -1	µmol l ⁻¹	µmol l -1	µmol l -1	µmol I -1	µmol l -1
BGA	Moy.	28,3	85,9	4,47	2736	42	0,7	0,45	0,54	0,04	0,22	31,39	0,03	0,59	67,83	83,83
surv, baie	ET	1,3	8,1	1,44	335	91	0,3	0,24	1,38	0,02	0,20	16,96	0,00	0,28	13,26	36,93
	Min	25,9	74,8	1,16	2360	3	0,3	0,21	0,05	0,02	0,04	6,82	0,03	0,30	42,50	48,33
	Max	29,5	97,1	6,34	3590	298	1,3	0,90	4,47	0,07	0,68	55,46	0,03	0,94	86,67	183,33
BMA	Moy.	28,2	86,0	4,00	2620	17	0,5	0,52	0,11	0,04	0,19	30,61	0,03	0,65	70,83	80,83
surv, baie	ET	1,3	5,8	1,27	138	20	0,3	0,26	0,14	0,02	0,18	13,57	0,01	0,36	9,23	14,22
	Min	26,0	75,8	1,94	2430	3	0,1	0,24	0,05	0,02	0,04	7,09	0,03	0,30	57,50	58,33
	Max	29,8	92,7	6,13	2830	71	1,1	1,07	0,49	0,10	0,57	57,09	0,05	1,27	84,17	110,00
BTR	Moy.	28,5	92,2	3,04	2842	7	0,5	0,46	0,19	0,03	0,09	35,03	0,03	0,97	63,17	67,92
ref-surv,	ET	1,1	4,8	1,01	257	4	0,5	0,33	0,34	0,01	0,06	25,96	0,01	0,82	8,74	10,80
baie	Min	26,8	83,5	1,51	2440	3	0,2	0,10	0,05	0,02	0,04	7,09	0,02	0,30	48,33	53,33
	Max	29,9	102,9	5,13	3230	12	1,9	1,23	1,13	0,05	0,20	102,09	0,05	2,56	75,00	82,50
САМ	Moy.	28,4	79,7	5,49	2594	125	1,7	3,77	0,37	0,04	0,12	33,84	0,13	0,71	75,33	88,58
carénage,	ET	1,4	8,4	0,95	146	78	0,8	2,62	0,27	0,02	0,11	10,06	0,34	0,36	9,58	19,71
baie	Min	25,9	63,5	4,46	2370	20	0,7	1,43	0,05	0,02	0,04	21,93	0,03	0,20	62,50	64,17
	Max	29,8	90,6	6,66	2820	245	3,3	9,18	0,93	0,06	0,35	53,89	1,09	1,27	85,83	126,67
CAR	Moy.	28,3	89,6	7,54	2844	4	0,3	0,30	0,11	0,03	0,26	42,18	0,03	0,49	71,83	91,00
carrière,	ET	1,2	5,7	2,35	389	5	0,1	0,29	0,08	0,01	0,21	38,02	0,00	0,27	13,12	40,97
Caraïbe	Min	26,2	77,4	4,59	2330	3	0,1	0,10	0,05	0,02	0,04	7,09	0,03	0,30	46,67	54,17
	Max	29,6	97,7	12,20	3650	17	0,4	1,08	0,25	0,06	0,79	144,78	0,03	0,94	88,33	195,00
CGA	Moy.	28,2	88,0	3,55	2712	3	0,2	0,31	0,09	0,05	0,44	46,21	0,04	0,71	66,58	71,33
ref,	ET	1,3	7,3	1,43	194	1	0,1	0,20	0,06	0,02	0,39	34,59	0,04	0,33	17,74	12,54
caraíbe	Min	26,1	72,7	1,93	2450	3	0,1	0,10	0,05	0,02	0,04	16,38	0,02	0,18	20,83	41,67
	Max	29,6	96,8	7,13	3050	6	0,3	0,71	0,20	0,07	1,04	130,58	0,14	0,95	83,33	85,00
СРА	Moy.	28,1	89,1	2,49	2618	7	0,3	0,40	0,08	0,04	0,35	51,84	0,03	0,88	58,25	61,75
surv,	ET	1,1	6,1	1,27	128	11	0,2	0,28	0,06	0,02	0,20	55,61	0,00	0,56	6,81	7,77
Atl.	Min	26,3	82,2	0,87	2460	3	0,1	0,10	0,05	0,02	0,10	17,81	0,03	0,30	48,33	51,67
	Max	29,5	102,5	5,16	2860	36	0,6	1,05	0,21	0,06	0,61	180,51	0,03	1,91	69,17	75,00
CSA	Moy.	28,2	92,1	3,09	2633	3	0,2	0,23	0,13	0,03	0,10	30,02	0,03	0,59	72,08	85,42
ref-surv,	ET	1,1	6,2	0,98	131	0	0,1	0,21	0,22	0,01	0,05	21,71	0,01	0,32	13,62	33,37
Caraïbe	Min	26,2	79,0	1,54	2420	3	0,1	0,10	0,05	0,02	0,04	7,09	0,03	0,30	46,67	49,17
	Max	29,3	98,5	5,17	2890	3	0,5	0,73	0,76	0,05	0,16	77,09	0,05	0,94	86,67	170,83
CSM	Moy.	28,1	92,5	4,20	2724	4	0,3	0,41	0,30	0,03	0,15	30,19	0,03	0,46	69,08	84,33
ref,	ET	1,2	4,0	1,33	259	2	0,1	0,23	0,22	0,02	0,15	16,07	0,00	0,27	14,47	39,19
Atl.	Min	26,2	86,5	2,06	2330	3	0,1	0,10	0,05	0,02	0,04	6,86	0,03	0,30	44,17	45,00
	Max	29,7	100,2	6,64	3260	9	0,5	0,80	0,69	0,07	0,52	54,95	0,03	0,94	85,00	185,83
FBO	Moy.	28,3	89,9	4,20	2795	3	0,3	0,23	0,08	0,03	0,20	33,36	0,03	0,65	67,67	85,58
surv,	ET	1,2	9,1	1,44	351	2	0,2	0,16	0,04	0,01	0,11	12,03	0,00	0,39	13,39	43,01
Caraïbe	Min	26,2	68,5	2,08	2390	3	0,1	0,10	0,05	0,02	0,04	17,03	0,03	0,30	42,50	46,67
	Max	29,6	98,2	6,55	3600	8	0,6	0,55	0,13	0,05	0,37	57,09	0,03	1,27	86,67	200,00

suite Tableau V-1

Station	Paramètre	Т°	02	Si(OH)₄	SO₄	Fe	Chla	Turbidité	NH₄	NO ₂	NO ₃	NOD	PO₄	POD	COD	сот
	Unité	°C	%	µmol l -1	mg l ⁻¹	μg -1	μg -1	NFU	µmol l -1	– µmol I ⁻¹	μmol I ⁻¹	µmol l -1	µmol I -1	µmol l -1	µmol l -1	µmol l -1
IDA	Mov	<u> </u>	07.2	2 /1	2640	11	0.4	0.69	. 0.12	0.02	. 0.07		. 0.02	0.01	<u>65 17</u>	
surv. baie	IVIOY.	20,2	67,2	5,41 1 00	126	10	0,4	0,08	0,12	0,05	0,07	42,75	0,05	0,61	7 99	10 27
	Min	26.5	7/ 1	0.73	2420	3	0,5	0,30	0,10	0,01	0,00	17.00	0,00	0,07	/8 33	50.83
	Max	20,5	97.0	6,63	2420	32	1.0	1.40	0,05	0,02	0,04	103 52	0,03	1 01	71 67	90,85 84 17
	IVIAA	25,5	57,0	0,05	2050	52	1,0	1,40	0,01	0,05	0,20	105,52	0,05	1,51	71,07	04,17
LCA	Moy.	27,6	93,1	1,88	2712	3	0,4	0,12	0,07	0,02	0,08	29,79	0,03	0,42	73,00	76,50
Atl.	ET	1,3	5,4	0,49	276	0	0,4	0,04	0,04	0,01	0,08	20,81	0,01	0,17	13,07	12,56
	Min	26,2	85,0	1,26	2380	3	0,2	0,10	0,05	0,02	0,04	6,99	0,03	0,30	54,17	60,00
	Max	29,0	98,7	2,38	3110	3	1,1	0,20	0,15	0,04	0,22	47,09	0,05	0,62	87,50	88,33
LGA	Moy.	28,3	97,2	2,36	2681	3	0,3	0,29	0,10	0,04	0,46	32,55	0,03	0,68	58,83	61,25
ref-surv,	ET	1,2	6,5	0,85	226	1	0,1	0,21	0,13	0,02	0,20	19,88	0,00	0,52	8,33	8,56
Atl.	Min	26,5	82,6	1,00	2530	3	0,1	0,10	0,05	0,02	0,15	17,09	0,03	0,30	46,67	49,17
	Max	30,0	104,1	3,61	3280	5	0,4	0,78	0,47	0,06	0,85	81,38	0,03	1,91	70,83	74,17
LMI	Mov.	28.1	91.6	2.69	2810	5	0.6	0.34	0.10	0.04	0.25	35.27	0.03	0.72	61.67	67.25
surv,	ET .	1.2	4.3	1.59	309	6	0.4	0.39	0.07	0.02	0.28	20.15	0.00	0.53	8.57	13.69
Atl.	Min	26.2	84.6	1.19	2520	3	0.2	0.10	0.05	0.02	0.04	6.95	0.02	0.30	50.00	50.00
	Max	29,4	97,7	6,62	3320	22	1,5	1,24	0,23	0,08	0,98	77,81	0,03	1,59	75,00	91,67
	Mov	20.2	02.0	2 1 2	2602	2	0.2	0.27	0.10	0.04	0.49	27.24	0.02	0.69	62.25	22.00
Surv.	IVIOY.	28,2	83,9 4 0	3,1Z	2003	1	0,3	0,27	0,10	0,04	0,48	32,34	0,03	0,08	12 20	16 41
caraïbe	LI	26.1	4,0	1,27	2200	2	0,1	0,11	0,09	0,02	0,25	15,75	0,00	0,50	12,50	10,41
	Max	20,1	20 5	6 20	2300	5	0,2	0,10	0,05	0,02	0,09	59.20	0,05	1 27	42,50	45,55
	IVIAX	29,1	69,5	0,39	2790	J	0,4	0,42	0,28	0,07	0,80	30,39	0,03	1,27	78,33	97,50
PIN	Moy.	28,2	88,1	2,88	2570	7	0,5	0,58	0,08	0,05	0,57	35,89	0,03	0,78	54,75	62,00
ref, Atl.	ET	1,2	6,0	1,33	134	11	0,3	0,75	0,07	0,02	0,44	25,00	0,00	0,65	12,99	9,85
	Min	26,3	79,8	0,66	2320	3	0,2	0,10	0,05	0,02	0,04	16,38	0,03	0,30	20,83	43,33
	Max	29,8	95,1	5,24	2800	39	1,1	2,68	0,27	0,09	1,30	84,95	0,03	2,23	65,83	74,17
PLE	Moy.	28,4	83,2	4,27	2621	12	0,7	0,71	0,43	0,04	0,12	27,16	0,03	0,62	69,00	86,33
rivière,	ET	1,4	11,1	1,88	159	11	0,4	0,52	0,77	0,03	0,14	13,24	0,00	0,30	13,80	42,95
baie	Min	26,0	65,1	0,95	2310	3	0,1	0,32	0,05	0,02	0,04	7,09	0,03	0,30	45,00	51,67
	Max	29,8	97,5	6,85	2930	32	1,5	2,05	2,51	0,11	0,50	44,24	0,03	0,94	85,00	201,67
RDI	Moy.	28,1	91,2	3,34	2651	3	0,2	0,19	0,06	0,04	0,41	27,85	0,03	0,75	70,75	76,67
ref-surv,	ET	1,2	5,4	1,30	156	0	0,1	0,17	0,04	0,02	0,73	17,20	0,00	0,35	13,01	15,41
Caraïbe	Min	26,1	83,2	1,62	2440	3	0,1	0,10	0,05	0,02	0,04	7,09	0,03	0,30	45,83	51,67
	Max	29,5	97,2	6,49	2930	3	0,5	0,62	0,19	0,07	2,40	60,66	0,03	1,27	87,50	104,17
SAM	Mov	<u> </u>	02.6	2 16	2704	2	0.4	0.24	0.21	0.06	0 1 2	22 01	0.04	0.67	72 22	85 50
STEP.	ET	1 2	10.7	1.04	2704	2	0,4	0,34	0,31	0,00	0,12	15 22	0,04	0,07	14 14	20,50
baie	Min	26.2	80.0	1,04	201	2	0,2	0,21	0,41	0,00	0,05	7 09	0,03	0,25	13 33	23,24 10 17
	Max	20,2	110.6	1,05	2400	7	0,1	0,10	1 20	0,02	0,04	5/ 2/	0,02	0,50	97 50	156 67
	IVIDA	23,4	115,0	4,01	3030	,	0,0	0,70	1,25	0,20	0,55	54,24	0,10	0,55	57,50	150,07
SDE	Moy.	28,5	92,4	11,66	2702	52	1,4	2,12	0,19	0,06	0,53	54,85	0,03	0,84	71,75	80,25
STEP, haie	ET	1,4	5,5	3,85	248	52	0,7	2,02	0,15	0,04	0,45	40,67	0,01	0,43	8,62	13,21
buic	Min	26,5	84,6	5,04	2370	12	0,2	0,44	0,05	0,04	0,04	19,24	0,03	0,30	56,67	59,17
	Max	30,5	104,2	16,30	3120	181	2,5	7,27	0,49	0,18	1,58	122,09	0,05	1,57	83,33	98,33
	Moy.	28,2	89,2	4,10	2690	16	0,5	0,65	0,18	0,04	0,26	35,95	0,03	0,69	67,01	76,91
Tous les	ET	1,2	7,7	2,63	232	41	0,5	1,14	0,40	0,03	0,31	25,70	0,08	0,44	12,63	25,79
sites	Min	25,9	63,5	0,66	2300	3	0,1	0,10	0,05	0,02	0,04	6,82	0,02	0,18	20,83	41,67
	Max	30,5	119,6	16,30	3650	298	3,3	9,18	4,47	0,28	2,40	180,51	1,09	2,56	97,50	201,67



Figure V-2. Valeurs moyennes des principaux paramètres physico-chimiques pour chacun des sites échantillonnés

n=10 (sauf LCA, *n*=5) ; barre d'erreur=écart-type.

2.3. Analyse spatiale : ACP

Pour compléter la description brute des résultats de physico-chimie réalisée ci-dessus, une analyse en composantes principales (ACP) a été conduite sur la matrice abiotique après transformation de Yéo-Johnson. Elle permet ainsi une analyse intégrée des résultats en faisant apparaitre les corrélations existant entre les paramètres (position des vecteurs entre eux) et révèle l'importance de la contribution de chacun d'eux dans l'interprétation (longueur des vecteurs). L'ACP permettra également d'orienter la sélection d'un nombre limité de variables pour la poursuite des analyses. En plus de l'analyse spatiale, les relations entre les paramètres sont mises en avant par un tableau des coefficients de corrélation de Pearson.

Une première ACP a été réalisée sur le jeu complet des valeurs de chimie c'est-à-dire avec dix valeurs par paramètre, correspondant à l'ensemble des campagnes. Le pourcentage de variance porté par les deux premiers axes est de 15,5 % et 13,8 %, valeurs faibles signifiant que la contribution des variables s'étale sur de nombreux axes. En effet, il apparait que les MES, la salinité, le pH, le PO₄ et les phéopigments ne contribuent pas ou très peu à la variance des axes. Un essai préalable de la même analyse sans les MES avait permis de constater que ce paramètre ne modifie en rien le message apportés par les autres paramètres (position des vecteurs entre eux), mais a seulement pour effet de réduire le pourcentage de variance portée par les premiers axes.

L'ACP a également été réalisée sur les moyennes des valeurs de chaque paramètre à la pose et à la relève c'est-à-dire avec cinq valeurs, correspond aux campagnes biologiques (cf. tableau V-1). Le pourcentage de variance porté par les deux premiers axes est de 20 % et 16 %, ce qui permet une interprétation un peu plus robuste avec une répartition sur les trois premiers axes de la plupart des variables qui contribuent à la variance (Fig. V-3). Dans cette analyse, les paramètres qui contribuent peu ou pas à la variance sont à nouveau les MES, la salinité et les PO₄, puis le NH₄ et l'oxygène à saturation. La représentativité du pH et des phéopigments a été augmentée par l'utilisation de données moyennes, tandis que celle du NH₄ et de l'oxygène à saturation s'en est trouvée diminuée.

L'analyse de l'ACP a été conduite sur les quatre premiers axes, malgré que les paramètres MES, NH₄, O₂ %, PO₄ et salinité ne contribuent à expliquer aucun de ces axes du fait de leur faible poids dans l'analyse. Les paramètres qui contribuent fortement à expliquer l'axe 1 sont disposés en trois zones du plan. Le NTD et NOD sont corrélés entre eux (coef.=1), ainsi que le PTD et POD (coef. = 0,98). Ces quatre paramètres se retrouvent en haut à gauche du plan. En bas à gauche du plan se retrouvent corrélés les paramètres Fe, Turbidité, Chla et Si(OH)₄. A l'opposé de ces paramètres sur l'axe 1 (à droite du plan) se retrouvent le pH et l'oxygène dissous qui sont peu corrélés. Les paramètres salinité et NH₄ seraient à interpréter sur l'axe 1, malgré leur faible contribution. Parmi les quatre paramètres qui contribuent à expliquer l'axe 2, le SO₄ est opposé au COT, au COD et aux phéopigments, et les paramètres COT-COD sont fortement corrélés (coef. = 0,71). Les paramètres MES et PO₄ seraient à interpréter sur l'axe 2, malgré leur faible contribution. Les axes 1 et 2 de l'ACP mettent en avant trois principaux groupes de sites (Fig. V-3) : le premier comprend des sites bien oxygénés, à pH élevé et à forte salinité, le second et troisième opposé au premier. Les sites du second groupe se caractérisent par de fortes valeurs en azote et phosphore organique et ceux du troisième par une forte production planctonique (Chla), des valeurs élevés en silicates et une importante turbidité. Ce dernier groupe est principalement associé aux sites CAM et SDE déjà mis en avant dans l'analyse des données brutes.

Sur l'axe 3, parmi les paramètres qui ont une forte contribution, les NID, NO_2 et NO_3 et la température évoluent dans le même sens, avec ce dernier paramètre dans un cadran différent par rapport à l'axe 4. Les axes 3 et 4 de l'ACP révèlent principalement les différences saisonnières (Fig. V-3), avec les sites des campagnes 1 et 5 (hivernage) du côté des températures élevées, ceux des campagnes 2 et 4 (intersaison et fin de carême) en position centrale sur l'axe 3 et les sites de la campagne 3 (carême) du côté des températures plus basses.

L'analyse de l'ACP a permis de distinguer les paramètres les plus pertinents et susceptibles de représenter des gradients qui pourraient expliquer les assemblages d'espèces retrouvés. Ces paramètres ont été listés en deux catégories : ceux caractérisant le milieu naturel, comprenant le pH, la salinité, la température, la saturation en oxygène (moins influencée par la température que l'oxygène dissous), la silice, le fer et les sulfates ; ceux liées à l'influence continentale et à l'anthropisation, qui sont le carbone organique total et dissous, l'ammonium, l'azote inorganique et organique dissous, le phosphore et le phosphore organique dissous, la turbidité et la chlorophylle *a*.

Plusieurs éléments de l'analyse en composante principale confirment que les valeurs de physicochimie sont globalement peu contrastées entre les sites pour les divers paramètres : le pourcentage de variance porté par les premiers axes est faible et ces premiers axes ne sont pas clairement expliqués par l'ensemble des paramètres, certains contribuant très faiblement à la variance. Des relations entre les paramètres ont été décrites et certains gradients mis en avant, mais il s'avère que les sites en fonction de leur finalité (référence, station d'épuration, influence côtière, ...) ne s'organisent pas selon ces gradients. Seule une transition des relevés entre les différentes campagnes a été mise en avant le long de l'axe 3, expliqué par les éléments azotés et la température de l'eau.

Cette première analyse des données ne permet pas de caractériser chimiquement les sites et rappelle le contexte dilutif et ouvert du milieu marin et la difficulté de caractériser ce milieu par des mesures ponctuelles. Il va donc être difficile de suivre le cheminement logique pour définir un bioindicateur c'est-à-dire dans un premier temps caractériser les sites, puis identifier les espèces caractéristiques de ces sites et enfin associer les deux types de données afin de définir les preferenda écologiques des espèces.



Figure V-3. Analyse en composantes principales sur l'ensemble des paramètres physico-chimiques Sur valeurs moyennes (n=2) après transformation de Yéo-Johson. Paramètre pertinent pour la suite de l'analyse ; \bigcirc \bigcirc groupes de sites et gradient.

3. Relation assemblages – environnement : ACC

Une analyse canonique des correspondances (ACC) a été effectuée pour mettre en relation la physico-chimie des sites et les assemblages d'espèces retrouvés sur les sites. L'ACP réalisée sur la physico-chimie des sites (cf. Chap.V-2.3) n'a pas permis d'établir des groupements de sites dont la finalité était concordante avec les gradients mis en avant. L'ACC a permis de constater l'effet combiné de la chimie et des assemblages.

3.1. Analyse sur l'ensemble des paramètres physico-chimiques

Une première analyse canonique des correspondances (ACC) a été réalisée sur l'ensemble des paramètres abiotiques en utilisant les valeurs moyennes pose/relève après transformation de Yéo-Johnson, ce qui correspond à la même matrice de données que celle utilisée pour l'ACP. Pour les données biologques, le jeu de données seuillé a été utilisé après normalisation des données.

En comparaison avec l'ACP, les vecteurs des paramètres abiotiques sont disposés différemment les uns par rapport aux autres dans le plan (Fig. V-4). Cette différence de position des vecteurs abiotiques entre l'ACP et la CCA confirme une première hypothèse de départ : la matrice biologique contribue de façon non négligeable, en plus de la matrice abiotique, à la composante de chaque paramètre sur les axes, modifiant ainsi l'importance des paramètres (longueur des vecteurs) et leur niveau de corrélation (position des vecteurs). Ainsi, les assemblages d'espèces sont liés à des conditions physico-chimiques particulières, et ce de manière suffisamment marquée pour que le caractère intégrateur de l'élément biologique vienne modifier les résultats apportés par la seule chimie de l'eau.

Les relations des paramètres les uns par rapport aux autres ont été modifiés par rapport à l'ACP (Fig. V-4). Les paramètres MES, COT et COD ont été intégrés au groupe défini par les paramètres Chla, Fe, Si(OH)₄, NH₄. Les paramètres PTD/POD et NTD/NOD ne sont plus opposés mais associés aux paramètres salinité et O2 %. Ces deux principaux groupes sont opposés l'un à l'autre sur l'axe 1. Et enfin, les trois formes de l'azote (NH₄, NO₂, NO₃) ne sont plus corrélées entre elles. L'ACC ne révèle pas, sur les axes 1 et 2, de groupes de sites distincts qui seraient liés à une chimie ou à des assemblages bien spécifiques, mais révèle plutôt deux gradients majeurs le long desquels les sites sont dispersés. Les paramètres significatifs d'après le test de permutation (p < 0,001) sont mis en avant sur la figure V-4. Le premier gradient oppose les trois paramètres chlorophylle *a*, silicates et carbone organique dissous à l'oxygène à saturation. Il correspond relativement bien aux deux groupes opposés de l'ACP. Le second gradient est lié à la turbidité et de manière un peu moins certaine à l'azote inorganique dissous et aux phéopigments. Cette distinction du paramètre turbidité n'apparait pas dans l'ACP.

Sur les axes 3 et 4, il y a comme pour l'ACP, une répartition des sites selon un gradient associé à la température, paramètre le plus marqué sur l'axe 3 (Fig. V-5). Le lien avec la saisonnalité est cependant moins marqué que pour l'ACP, avec des campagnes peu distinctes les unes des autres. Les relevés des campagnes 1 et 5 correspondant à l'hivernage ne sont pas jointifs, ni ceux des campagnes

2 et 4 correspondant aux intersaisons, alors que c'était le cas dans l'ACP. Alors que la température mesurée a permis une bonne classification saisonnière des sites par l'ACP, les assemblages d'espèces viennent modifier cette distribution spatiale en étant impactés par un autre paramètre dont les valeurs réellement mesurées ne répondent pas à la saisonnalité théorique attribuée aux relevés.

En ce qui concerne le choix des paramètres pertinents pour la poursuite de l'analyse avec un nombre réduit, les paramètres COT-COD, NTD-NOD, PTD-POD sont fortement corrélés comme dans l'ACP. Ainsi il a été choisi de représenter les formes organiques dissoutes (COD, NOD, POD). Les trois formes inorganiques de l'azote, contrairement à l'ACP, ne sont plus corrélées entre elles et seul le NID est corrélé au NO₂. Il a donc été décidé de conserver l'ensemble des formes. Enfin, bien que l'oxygène dissous et l'oxygène à saturation ne soient pas exactement corrélés, il a été décidé de ne conserver que l'oxygène à saturation comme évoqué en conclusion de l'ACP.



Figure V-4. Représentation vectorielle de l'ensemble des paramètres physico-chimique en ACP (a) et ACC (b)

Valeurs moyennes de chimie (n=2) après transformation de Yéo-Johson ; données biologiques normalisée et seuillées ; sur la CCA : points noirs pour les sites, croix rouges pour les espèces ; * p < 0,001 au test de permutation ; \leftarrow gradient.



Figure V-5. Analyse canonique des correspondances sur 23 paramètres physico-chimiques et sur la matrice de données biologiques seuillée, axes 3 et 4
3.2. Analyse sur un nombre restreint de paramètres

L'analyse canonique des correspondances a été reconduite sur un nombre de paramètres limités à 19, dont le choix a été basé sur l'analyse exposée au paragraphe précédent, soit : toutes les formes de l'azote (NH_4 , NO_2 , NO_3) + la somme de ces formes (NID), le phosphore (PO_4), les silicates ($SI(OH)_4$), les formes organiques dissoutes (NOD, POD, COD), les matières en suspension (MES), la turbidité, le fer, les sulfates, la chlorophylle *a* et phéopigments et enfin les paramètres courants de description du milieu que sont la température, le pH, l'oxygène à saturation et la salinité.

La position des vecteurs des paramètres abiotiques les uns par rapport aux autres est très peu modifiée par la suppression de certains paramètres (Fig. V-6). Ainsi les gradients présentés dans le paragraphe précédent sont encore présents. Comme pour l'ACP, les axes 1 et 2 - dont les valeurs propres sont respectivement de 29 et 21 % - permettent une interprétation basée sur les gradients de physico-chimie, tandis que les axes 3 et 4 - dont les valeurs propres sont respectivement de 18 et 12 %, offrent une interprétation basée sur la saisonnalité. Pour mieux visualiser la position des cinq relevés d'un site (campagnes 1 à 5) par rapport à ces gradients, le centroïde des cinq points est représenté et porte le nom du site (Fig. V-6 a). Sur un second graphe, les espèces sont représentées par leur code OMNIDIA, avec une superposition des vecteurs abiotiques (Fig. V-6 b).

Dans la figure V-6a, la position des sites est une composante de la physico-chimie mesurée et des assemblages de diatomées identifiés. La plupart des sites sont disposés le long du gradient $Chla-O_2$ %, avec une grande majorité d'entre eux en position centrale. Les sites qui se distinguent aux extrémités de ce gradient sont Panache Lézarde, Banc Gamelle et Baie du Marin du côté des fortes valeurs de Chl *a*, Si(OH)₄ et COD et à l'opposé Pinsonnelle, Loup Garou et Caye Pariadis du côté des fortes valeurs d'oxygène. Le gradient turbidité semble exercer un effet d'arc sur le premier gradient en tirant les sites des extrémités vers de plus fortes valeurs de turbidité alors que les sites en position centrale restent dans l'axe du premier gradient. Deux sites se démarquent en étant influencés en priorité par le gradient turbidité : Carenantilles Marin et Step Desmarinière. Il ressort également que les cinq campagnes d'un site sont rarement regroupées, ce qui interdit une interprétation généralisée par site et renforce l'effet saisonnier observé sur les axes 3 et 4 (Fig. V-5).

La figure V-6b présente la position des espèces par rapport aux sites et à la physico-chimie. La répartition des espèces dans le plan ne fait pas apparaître de groupes distincts, la plupart d'entre elles sont regroupées au centre du plan et de petits groupes ou des espèces isolées se distinguent en périphérie et sont associées à des sites en particulier. Les espèces rares contribuent peu à l'inertie totale, et sont donc placées en marge, proche du site dans lequel elles se retrouvent. Certaines espèces peuvent clairement être associées à des sites, alors que d'autres sont disposées le long des gradients identifiés. Il apparait ainsi que le site CAM2 est associé à deux espèces du genre *Karayevia* (KAAM et KA02), le site PLE4 aux espèces ARHI (*Amphora*) et NI53 (*Nitzschia*). Il est cependant plus facile d'identifier des groupes d'espèces associés aux gradients. Les espèces se positionnant du côté des fortes turbidités sont, en plus de KAAM et KA02, AM06 et HSYD (*Amphora/Halamphora*), CCRL et

CO03 (*Cocconeis*), NA31 (*Navicula*) et THNI (*Thalassionema*). Les espèces associées aux valeurs élevées de silicates, carbone organique dissous et chlorophylle *a* et à une faible oxygénation sont, outre NI53 et ARHI, AKUW (*Achnanthes*), AM22 (*Amphora*), CS04 (*Craspedostauros*), NPAR (*Navicula*), NI70, NI31, NI28 (*Nitzschia*) et TAS1 (*Thalassiosira*). Les espèces positionnées à l'opposé de ces conditions physico-chimiques sont AC16 (*Achnanthes*), ASUB (*Actinocyclus*), AM31 (*Amphora*), BMEM (*Biddulphiopsis*), CL01, CA03 (*Caloneis*) CGHU (*Climaconeis*), CSC1 (*Cocconeis*) et LAOR (*Lampriscus*). Certaines espèces sont en position intermédiaire entre les deux gradients, ce qui les associe à des valeurs élevées de chlorophylle *a* et de turbidité et à la plupart des relevés des sites CAM et SDE. Celles qui se démarquent le plus sont ABIG (*Amphora*), FA06 (*Fallacia*), KA01 (*Karayevia*), GY09 (*Gyrosigma*), NA50, NDUR, NA17 (*Navicula*), NLOR, NIBL, NLIO (*Nitzschia*) et PL09 (*Planothidium*).



Figure V-6. Analyse canonique des correspondances sur 19 paramètres physico-chimiques et sur la matrice de données biologiques seuillée, axes 1 et 2

(a) Position des sites sur le plan en représentation éclatée, chiffre en noir= n° de campagne; (b) Position des espèces (code OMNIDIA) sur la CCA.

4. Caractérisation des assemblages d'espèces – biotypologies : CAH et IndVal multipattern

Une classification hiérarchique (CAH) des sites basée sur les données d'assemblage d'espèces a été réalisée. Pour ce faire, la matrice de données biologiques seuillée (espèce avec abondance relative \geq 3,6 ‰) a été normalisée avant d'appliquer la méthode de Ward en utilisant la distance Euclidienne. Le niveau de coupe a été fixé à sept groupes (fig. V-7). Le diagramme des sauts indiquait une rupture à six niveaux de coupe, mais l'examen des plots de chimie pour les deux groupes obtenus suite à la dernière division ont démontré des valeurs suffisamment distinctes pour maintenir la division. L'indice Silhouette de Rousseeuw (s_i) révèle que le groupe 6 est le plus hétérogène avec un tiers de valeurs négatives (s_i négatif signifie que le site est mal classé dans le groupe), ainsi que les groupes 3 et 1 qui ont également quelques valeurs négatives. Le groupe 4 est le plus robuste avec uniquement des valeurs positives et une valeur maximum de 0,6. Pour chaque groupe, les espèces indicatrices ont été déterminées par la méthode IndVal multipattern (DeCacères *et al.* 2009) et le les espèces indicatrices les plus significatives du groupe ont été choisies selon les critères A > 0,6 et B > 0,25. (cf. § II-4).

L'analyse des données par l'ACC a démontré plus haut que la plupart des assemblages sont communs à tous les sites, signifiant de ce fait que le classement des sites par la CAH a été obtenu principalement par la contribution des espèces de faible abondance. Certains groupes de sites sont cohérents avec la disposition des sites obtenus par l'ACC, tels que les groupes 4, 6 et 7, alors que d'autres ne peuvent pas ou difficilement être reportés sur l'ACC, tels que le groupe 1 et le reste des groupes. Il est rare que toutes les campagnes d'un site soient dans un même groupe, résultat qui concorde avec l'ACC. La figure V-7 illustre les groupes de sites obtenus par la CAH, les critères physico-chimiques discriminant chaque groupe ainsi que les espèces indicatrices associées. La totalité des résultats physico-chimiques par groupes sont présentés dans la figure V-8.

Le groupe 1 rassemble des sites présentant peu de critères en commun. Le résultat de l'indice Silhouette de Rousseeuw présageait qu'il s'agissait en effet d'un groupe « fourre-tout ». Certains sites tels que llet à Rat, Banc Gamelle, Panache Lézarde, Fond Boucher, Corps de Garde et Step Anse Marette peuvent être plus ou moins influencés par des apports d'eau douce, mais ce n'est pas le cas des autres sites du groupe. Plus de la moitié des relevés appartiennent aux campagnes 1 et 5 associées théoriquement aux conditions d'hivernage. Le groupe se distingue par de fortes valeurs de carbone organique dissous et de température. Deux relevés du groupe présentent des valeurs extrêmes de phosphore. Une seule espèce indicatrice est associée à ce groupe, *Entomoneis sp04*.

Le groupe 2 comprend un petit nombre de relevés correspondant aux sites Cap St-Martin, Banc Gamelle et Panache Lézarde. Le premier est associé à des conditions agitées et les deux autres sont situés dans une baie à proximité d'une embouchure de rivière. La paramètre chimique le plus discriminant pour ce groupe est le silicate, et les sites présentent également des valeurs élevées de chlorophylle *a*, fer, azote inorganique dissous et ammonium, et de faibles valeurs de carbone et azote organique dissous et d'oxygène. Les espèces indicatrices appartiennent aux genres *Craspedostauros, Thalassiosira* et *Nitzschia, Astartiella et Licmosphenia*.

Le groupe 3 comprend tous les relevés du site Baie du Marin sauf celui de la campagne 1, ainsi que des relevés de Pointe Borgnèse, llet à Rat et un seul appartenant à Baie du Trésor, Loup Garou et

Caye Pariadis. Ces sites sauf les deux derniers sont en zone protégée et se sont démarqués par leur biofilm particulièrement peu abondant sur les substrats. Les fortes valeurs d'azote organique dissous et les faibles valeurs de pH et d'ammonium pourraient expliquer le regroupement des sites dans ce groupe. Les espèces indicatrices sont nombreuses, et un grand nombre d'entre elles appartiennent au genre *Mastogloia*.

Le groupe 4 s'avère être le plus robuste de par l'indice Silhouette de Rousseeuw et parce qu'il est cohérent avec la disposition des sites dans l'ACC. Il comprend les relevés du site Rocher du Diamant sauf celui de la campagne 1, ainsi que des relevés des sites Baie du Trésor, Step Anse Marette, Fond Boucher, Pinsonnelle, Cap Salomon, Corps de Garde et Carrière. Les gradients mis en avant dans l'ACC leurs attribuent une bonne oxygénation et une faible turbidité. La faible turbidité est également mise en avant par la CAH, pourtant certains sites du groupe sont souvent turbides selon les observations de terrain. En concordance avec l'information apportée par l'ACC, les valeurs élevées du sulfate sembleraient être le critère le plus discriminant pour ce site. Le groupe présente également des valeurs élevées de phosphore organique dissous et de faibles valeur de chlorophylle *a* et phéopigments, phosphates, nitrites et matières en suspension. Une seule espèce indicatrice, *Koernerella recticostata*, est mise en évidence pour ce groupe.

Le groupe 5 rassemble des sites à finalités différentes. Les sites Carrière, Pointe Borgnèse et Cap Salomon ont une faible pression anthropique et peuvent être un peu turbides, caractéristiques qui les oppose à Carenantilles Marin. Basé sur le critère d'un faible apport d'eau douce aux sites, le regroupement Pointe Borgnèse, Cap Salomon et Carenantilles Marin peut être fait et opposé au site Carrière qui se trouve à proximités d'embouchures de rivières. Il s'agit donc d'un groupe assez hétéroclite qui oppose également le site le plus pollué, Carenantilles Marine, avec des relevés du Cap Salomon qui est un site de bonne qualité. Plus de la moitié des relevés appartiennent aux campagnes 1 et 5, ce qui a également été souligné pour le groupe 1. Les valeurs de physico-chimique du groupe se situent dans la moyenne pour la plupart des paramètres, avec toutefois la température, la salinité et les silicates qui se distinguent par des valeurs élevées. Les espèces *Achnanthes kuwaitensis* Hendey et *Berkeleya hyalina* (Round & Brooks) Cox sont indicatrices de ce groupe.

Le groupe 6 comprend des sites à forte turbidité. Les uns ont une turbidité liée au brassage, tels que Pinsonnelle, Loup Garou, Loup Ministre et Caye Pariadis, et d'autres une turbidité liée à l'enrichissement du milieu et à l'apport de MES, qui sont Step Desmarinière, Carenantilles Marin et Panache Lézarde. Ce groupe est cohérent avec la disposition des sites obtenue par l'ACC. Les gradients mis en avant par l'ACC leur attribuent une forte turbidité et une faible oxygénation. Pour la CAH, le groupe se caractérise également par une turbidité élevée, ainsi que par de fortes valeurs de nitrites et nitrates, un pH élevé, beaucoup de phéopigments, et par des sites aux eaux peu chargées en sulfates. Les espèces indicatrices sont *Grammatophora oceanica* Ehr., *Cocconeis sp12, Amphora sp09, Nitzschia sp19, Nitzschia subacicularis* Hustedt in A.Schmidt *et al., Pleurosigma sp01* et *Halamphora sydowii* (Cholnoky) Levkov.

Le groupe 7 comprend des sites aux eaux agitées et pouvant présenter de forts courants ; ce sont Loup Ministre, Loup Caravelle, Cap St-Martin, Corps de Garde, Caye Pariadis, Cap Salomon et Rocher du Diamant. Les sites de ce groupe sont également regroupés sur l'ACC. La chimie de ce groupe est similaire à celle du groupe 4, avec une oxygénation des sites légèrement supérieure et des valeurs plus faibles de phosphore organique dissous et de silicates. Les concentrations des paramètres d'azote inorganique dissous sont faibles par rapport aux autres groupes, mais similaires au groupe 4. Les espèces indicatrices sont *Navicula sp22*, *Mastogloia cuneata* (Meister) Simonsen, *Hyalosira sp04* et *sp01*, *Cocconeis molesta* Kützing *var.crucifera* Grunow in Van Heurck et *Licmophora communis* (Heiberg) Grunow in Van Heurck.





Classification par la méthode de Ward avec distance Euclidienne ; Espèces indicatrices obtenues par la méthode IndVal (multipatt) ; noms d'espèces en code OMNIDIA.



Figure V-8. Valeurs de physico-chimie à chaque groupe de site défini par la CAH, pour 19 paramètres Boxplot : valeur médiane du groupe (*n* variable en fonction du nombre de sites dans le groupe), avec erreur standard (boite) et les valeurs min et max (moustaches), valeur extrême représentée par un point.

5. Discussion

5.1. Caractérisation abiotique des sites

La physico-chimie mesurée sur les sites aux différentes campagnes de prélèvement n'a pas permis de définir des typologies de sites où les assemblages d'espèces se développeraient de façon différenciée. La difficulté majeure de la chimie marine vient du fait que le milieu marin est ouvert, ce qui implique un brassage horizontal et vertical de la masse d'eau générant une dilution des composants chimiques. L'analyse spatiale des données révèle que la chimie mesurée est peu structurante de la répartition des sites entre eux et qu'il s'avère difficile d'identifier des gradients bien définis. Pour obtenir des résultats de chimie représentatifs des sites, il semble impératif de multiplier les prélèvements en les organisant de façon à intégrer les différentes conditions qui peuvent être rencontrées sur un site. Il s'agit d'un échantillonnage coûteux en terme d'analyse mais qui semble nécessaire dans le cas de prélèvements doubles chimie/indicateur biologique afin de caractériser chimiquement les sites de façon satisfaisante, de définir les relations pression/impact et ensuite s'affranchir de la chimie par l'utilisation du/des indicateurs biologiques. Dans leur étude sur l'enrichissement des Florida Keys par des nutriments d'origine anthropique Lapointe et al. (2004a) ont pu mettre en évidence des différences de concentrations entre trois sites positionnés le long d'un gradient côte-large. Les prélèvements ont été réalisés quotidiennement, avant, pendant et après un évènement particulier tel qu'une forte marée, un épisode pluvieux ou suite à un vent de direction anormale, sur une année de façon à couvrir la saison sèche et la saison des pluies. L'échantillonnage a été réalisé à 1,5 mètre du fond, en triplicata. La réalisation d'un échantillonnage ciblé apparaît donc comme un atout pour l'interprétation des données, qui peuvent alors être associées à des données climatiques et physiques. Parmi ces données physiques, la courantologie côtière est un paramètre qui renseigne sur l'importance et la direction de la dispersion de la masse d'eau autour d'un site donné, permettant une meilleure compréhension des valeurs mesurées.

Une seconde difficulté découle du caractère oligotrophe des eaux côtières tropicales, pour lesquelles les concentrations en nutriments sont très faibles car rapidement consommés par les organismes. Pour ces eaux, le dosage des nutriments azotés et du phosphore implique d'utiliser des techniques permettant d'atteindre des seuils de quantification très bas. Le recours à ces techniques spécialisées pour les eaux marines est une contrainte dans le cas où, comme dans le cadre de cette thèse, il n'y a pas de laboratoire adapté sur la zone d'étude. La qualité des résultats devient donc également dépendante du délai de transport et de la conservation des échantillons. Dans le contexte de la mise en place de prélèvements en routine, impliquant un nombre élevé d'échantillons, il deviendrait nécessaire de pouvoir recourir aux laboratoires présents sur l'île. Cela impliquerait que ces derniers s'équipent en conséquence et que des exercices d'inter-calibration soient réalisés entre les laboratoires, sur plusieurs échantillons et en utilisant des solutions étalons, de façon à pouvoir porter un jugement sur la qualité des valeurs mesurées.

D'autres difficultés techniques liées aux dosages ont impacté la qualité des résultats et la valeur de l'analyse réalisée sur la chimie des sites. Les matières en suspension n'ont pu être mesurées de façon appropriée, du fait d'un volume filtré insuffisant et d'erreurs dans le protocole appliqué. Etant donné les problèmes pouvant être rencontrés avec ce paramètre, la mesure physique de la

transparence au disque de Secchi s'avèrerait être un bon complément (Borkman & Smayda 1998). Bien que la turbidité ait également été mesurée, la corrélation de ce paramètres avec les MES n'est pas avérée car il s'agit d'une mesure d'absorbance de la lumière réfléchie par les particules. La variable MES est pourtant pertinente pour refléter l'influence continentale, via les apports des rivières, et les impacts anthropiques qui y sont liés.

La mesure de la salinité *in situ* par une sonde multiparamètres exige un étalonnage avec une solution saline à 35‰ adaptée à la mesure de ce paramètre. La salinité est importante pour connaître l'ampleur des apports terrigènes de la zone littorale, bien que ces apports ne soient généralement mesurables en termes de salinité que dans la couche d'eau superficielle. Si les apports sont de faible ampleur et non réguliers, la salinité des couches inférieures de la colonne d'eau sera très peu ou pas modifiée.

Certains paramètres mesurés paraissent redondants et peu pertinents pour l'analyse, tels que les paramètres carbone organique total (COT) et azote et phosphore totaux dissous (NTD, PTD), qui ont respectivement des valeurs strictement similaires à celles du carbone, azote et phosphore organiques dissous (COD, NOD, POD). Dans l'analyse spatiale, ces deux derniers paramètres contribuent faiblement à la variance des axes. Dans la classification hiérarchique, le regroupement de certains sites dans un groupe pourraient être lié à l'influence de ces paramètres sur les espèces.

Le dosage des sulfates parait également peu utile dans la mesure où les valeurs mesurées oscillent peu autour de la valeur de référence pour les eaux marines. Malgré tout, ce paramètre semblerait être un facteur caractéristique des sites du groupe 4 de la classification hiérarchique, en plus des caractéristiques principales de forte oxygénation et faible turbidité associées à ce groupe.

Le phosphore n'intervient pas ici dans la caractérisation des sites d'étude dans la mesure où les valeurs sont en grande majorité inférieures au seuil de quantification (0,05 μ mol l⁻¹). Il s'agit pourtant d'un nutriment essentiel dont il est important de tenir compte pour la compréhension du milieu. Avec une technique de dosage permettant une limite de quantification à 0,009 μ mol l⁻¹, Lapointe *et al.* (2004a) ont pu mettre en évidence un gradient de concentration en phosphore sur leurs sites avec une moyenne à 0,027 μ mol l⁻¹ pour le site le plus éloigné de la côte, à 0,033 μ mol l⁻¹ pour le site intermédiaire et à 0,069 μ mol l⁻¹ pour le site proche de la côte.

Le paramètre NID est utilisé pour évaluer le niveau d'eutrophisation du milieu et Bell (1992) a établi qu'à partir d'une concentration de 1 µmol l⁻¹, l'intégrité des récifs coralliens est mise en danger par l'augmentation des nutriments azotés qui provoquent notamment des blooms de macroalgues. Pour nos sites, aucune valeur moyenne n'atteint ce seuil. Cependant, les sites Banc Gamelle et Step Desmarinière s'en approchent et l'écart-type supérieur la dépasse, signifiant que certains relevés ont une valeur de NID supérieure à 1 µmol l⁻¹. C'est le cas également des écart-types des sites Pinsonnelle, Panache Lézarde et Rocher du Diamant. En saison des pluies, des concentrations élevées en ammonium proche des côtes et même plus au large (jusqu'à 5 km) sont généralement associées à une contamination par les eaux usées et le ruissellement des eaux agricoles (Lapointe & Matzie 1996). En zone naturelle non impactée, les eaux naturellement enrichies d'une forêt de mangrove sont la cause d'une augmentation de concentration en ammonium qui se limite à la zone littorale proche (Lapointe *et al.* 2004b). En effet, le site Baie du Trésor situé en zone de réserve et bordé de mangrove a présenté une valeur supérieure à 1 μ mol l⁻¹ lors d'un relevé réalisé après un épisode pluvieux important. Les quelques autres relevés réalisé dans les même conditions n'ont cependant pas donné de valeurs élevées. Des concentrations élevées en nitrates, non associées à des concentrations élevées en ammonium, ont été mesurées sur quelques sites éloignés de la côte tels que Rocher du Diamant, Pinsonnelle, Loup Garou et Loup Ministre. Des apports en nitrates peuvent être liés à la présence de phénomène d'upwelling proche de la côte (Roberts *et al.* 1992; Smith 1982) ainsi qu'à l'action nitrifiante de cyanobactéries en symbiose avec les éponges (Corredor *et al.* 1988).

La chlorophylle *a* est également reconnue comme étant un bon indicateur d'eutrophisation dans la mesure où elle intègre dans le temps les apports ponctuels de nutriments azotés et phosphorés au milieu. Bell & Elmetri (1995) et Yentsch *et al.* (2002) considèrent que le milieu corallien est eutrophisé à partir de concentrations moyennes de 0,2-0,3 μ g l⁻¹. Si l'on considère ce seuil, plus de la moitié des sites étudiés sont soumis à une eutrophisation, qui reste modérée puisque les valeurs moyennes sont proches du seuil proposé. Deux sites, Carenantilles Marin et Step Desmarinière, ce distinguent par leur valeur moyenne nettement supérieure.

5.2. Lien entre chimie et assemblages d'espèces

La chimie n'apporte pas une information suffisamment nette pour permettre l'organisation des sites le long de gradients anthropiques et environnementaux. L'analyse en composante principales (ACP) permet toutefois de dégager les principales corrélations entre les paramètres et l'ampleur de leur message.

Ces corrélations sont modifiées dans l'analyse canonique des correspondances (ACC) qui est basée sur les données physico-chimiques et les données d'assemblages. Ceci implique que l'organisation des sites ce fait différemment selon qu'elle soit basée sur la chimie mesurée ou sur les assemblages, et qu'il sera donc difficile d'attribuer des espèces indicatrices aux sites. Une meilleure connaissance de la physico-chimie des sites, par l'acquisition de données plus nombreuses et plus fiables, pourrait permettre de faire un tel lien.

La structuration des paramètres physico-chimiques entre eux n'apparait pas clairement, mais les sites et les espèces semblent s'organiser autour de deux types de gradient. Le gradient principal serait porteur d'une information sur la productivité des sites avec à une extrémité du gradient les sites Panache Lézarde et Banc Gamelle à fortes concentrations en silicates et carbone organique dissous et à faible salinité (de sub-surface). Ces sites sont associés à des apports d'eau douce de la rivière Lézarde. Ils présentent de fortes valeurs en ammonium qui peuvent provenir d'une contamination d'origine anthropique terrestre, importante ou récente qui explique que la dégradation en nitrite et nitrate n'a pas encore eu lieu. Le site Baie du Marin est associé dans une moindre mesure aux mêmes conditions chimiques alors qu'il ne reçoit pas d'apport de rivière, mais est situé en zone calme comme les deux précédents. A l'autre extrémité du gradient les sites Pinsonnelle, Loup Garou, Caye Pariadis, Loup Ministre et Loup Caravelle sont tous des sites exposés à

la mer, au vent de la côte et assez éloignés, conditions suggérant un faible impact par les apports des rivières. Ils sont caractérisés par une bonne oxygénation et une salinité élevée. Le paramètre nitrate y est également associé et les valeurs élevées pour des sites éloignés de la côte pourraient s'expliquer par un apport par upwelling (cf. § 5.1).

Le second gradient serait structurant par rapport à la turbidité. Ce paramètre a montré une représentation spatiale différente entre l'ACP et l'ACC, suggérant qu'il exerce une influence sur les assemblages d'espèces. La turbidité organise les sites sur l'axe 1 et semble avoir trois origines : une première liée aux apports de matières en suspension des rivières (sites PLE, BGA), une seconde liée à la forte productivité planctonique (sites CAM) et une troisième due à la remise en suspension des matériaux du fond sur les sites exposés à la houle (sites PIN, LGA, CPA, LMI). Le site Carenantilles Marin qui présente une forte turbidité est aussi clairement associé aux fortes valeurs de chlorophylle *a*, et fer. Les fortes teneurs en fer peuvent stimuler la production planctonique et de ce fait augmenter la turbidité. Le site Step Desmarinière (SDE) a une turbidité à double origine, étant à la fois productif et situé sous l'influence d'un panache de rivière.

En ce qui concerne les différences entre les campagnes pour un même site, l'examen des conditions météorologiques, tels que la pluviométrie, la direction du vent, la marée, la force et la direction du courant, le jour du prélèvement et les jours précédents aideraient sans doute à interpréter la disparité des conditions physico-chimiques et des assemblages pour un même site. Reich *et al.* (2002) ont démontré pour les Florida Keys que la marée, dont l'amplitude moyenne est de 1 mètre, a une influence majeure sur les transferts latéraux et verticaux de la masse d'eau à proximité des côtes et que ce mouvement s'atténue en s'éloignant. L'amplitude de la marée n'est pas constante et peut être considérablement amplifiée par le vent en fonction de sa direction et de sa force. Le terme de campagne utilisé pour classer les relevés est associé à la saisonnalité. Hors même s'il est vrai que les résultats des analyses spatiales mettent en avant cette relation, certains relevés ne se conforment pas au gradient de saisonnalité. Il serait intéressant de les classer plutôt en fonction des conditions réellement rencontrées lors du prélèvement, qui peuvent ne pas correspondre aux critères de saison.

Dans l'ACC, les espèces ne montrent pas d'organisation particulière dans le plan tel que des groupes d'espèces qui seraient associées à des conditions particulières. La situation est similaire à la chimie où le contexte ouvert et dilutif du milieu marin côtier ne permet pas d'avoir des assemblages clairement distincts. La majorité des espèces, les plus communes, sont regroupées au centre du plan tandis que les espèces plus rares sont en périphérie. Cette organisation révèle l'existence d'une flore commune à tous les sites avec quelques taxons particuliers à fort pouvoir informatif qui sont plus rares et apparaissent en fonction des conditions rencontrées. Ce sont ces taxons cible qu'il est important d'identifier et qui serviront d'indicateurs. Etant donné le milieu dilutif et ouvert dans lequel se trouvent les espèces, ces taxons sont présents en faible abondance dans les échantillons. Du fait de cette faible abondance et de l'absence de connaissances de bases sur l'écologie des espèces dans la littérature, la confirmation du caractère indicateur d'une espèce ne pourra se faire qu'avec un jeu de données important qui permettra de s'absoudre de la variabilité naturelle et d'obtenir des résultats statistiquement fiables et reproductibles réellement liés au gradient d'anthropisation.

La classification hiérarchique (CAH) a donné quelques résultats similaires à l'ACC en termes de regroupement de sites, démontrant de ce fait que des espèces peuvent être associées à des sites que

l'on arrive à caractériser chimiquement. Autrement dit, il y a des sites pour lesquels il est possible de définir le facteur influençant la croissance de certaines espèces par rapport à d'autres.

L'espèce Koernerella recticostata aurait une croissance favorisée par de fortes valeurs de sulfates, une bonne oxygénation de l'eau et une faible turbidité. Il s'agit d'une espèce de grande taille décrite par Lobban et al. (2011) et formant des colonies spiralées. Il semblerait qu'elle soit épiphyte, mais son écologie n'a pas été étudiée. Les espèces Navicula sp22, Mastogloia cuneata, Hyalosira sp04 et sp01, Cocconeis molesta var.crucifera et Licmophora communis seraient favorisées par une très bonne oxygénation de l'eau et peu exigeantes en terme de nutriments azotés et phosphorés et de silicates. Et enfin, les espèces Grammatophora oceanica, Cocconeis sp12, Amphora sp09, Nitzschia sp19, Nitzschia subacicularis, Pleurosigma sp01 et Halamphora sydowii auraient des conditions de croissance adaptées à une turbidité élevée, une faible oxygénation, de fortes concentrations en nutriments azotés et un pH élevé. Parmi de nombreuses études portant sur les assemblages d'espèces de diatomées et la qualité de l'eau, réalisées dans diverses zones géographiques dont la Caraïbe, aucune ne rapporte la présence d'une des espèces indicatrices citées plus haut (Underwood et al. 1998 ; Agatz et al. 1999 ; Weckström & Juggins 2005 ; Frankovich et al. 2006 ; Gottschalk et al. 2007 ; Aké-Castillo & Vazquez 2008 ; Cibic & Blasutto 2011 ; Moreno-Ruiz et al. 2011). Les données concernant l'écologie de certaines espèces s'avèrent donc rares voire inexistantes, ce qui ne permet pas de juger si la chimie décrite pour le groupe de sites auquel elles sont associées correspond réellement à leurs exigences écologiques.

Il existe dans la littérature des descriptions écologiques correspondant aux espèces les plus communes de nos relevés, présentes dans la plupart des sites. Ce sont Bacillaria paxillifera (O.F. Müller) T.Marsson, Ceratoneis closterium Ehrenberg, Halamphora tenerrima (Aleem & Hustedt) Levkov, Hyalosynedra laevigata (Grunow) Williams et Round, Nitzschia angularis W.Smith var.affinis (Grunow) Grunow in Van Heurck, Nitzschia microcephala Grunow in Cleve & Moller. Les espèces du genre Mastogloia sont également nombreuses et communes. Frankovich et al. (2006) rapportent que les espèces de ce genre sont prédominantes sur les sites à plus forte salinité (37 ‰) et que Hyalosynedra laevigata est retrouvée préférentiellement entre juin et octobre lorsque les eaux sont plus chaudes. Bacillaria paxillifera et Ceratoneis closterium ont été identifiée par Aké-Castillo & Vazquez (2008) dans un lagon côtier du Golfe du Mexique dont la salinité varie de 8 à 10 ‰ et où les concentrations en nutriments sont bien au-delà de celles mesurées dans les eaux côtières de Martinique, considérées comme oligotrophes. Ces deux espèces ont également été retrouvées en Mer Adriatique où la salinité varie entre 33 et 38 ‰, associées à des concentrations considérées comme faibles pour la zone d'étude, soit 7-13 μ mol l⁻¹ NH₄, 2,19-2,81 μ mol l⁻¹ NH₃ et 0,26-0,28 μ mol Γ¹ PO₄. A nouveau *B. paxillifera* ainsi que *Nitzschia microcephala* sont rapportées en mer Baltique dans une zone où la salinité est en moyenne de 4,8 ‰ et la chlorophylle a mesurée à 13 μ g ¹ (Weckström & Juggins 2005). Une étude portant sur une lagune du Mexique a identifié les espèces B. paxillifera, C.closterium et Nitzschia angularis parmi les 373 taxons présents dans les échantillons d'eau (Moreno-Ruiz et al. 2011). B. paxillifera est rapportée comme étant une espèce holeurihaline c'est-à-dire adaptée à tous les niveaux de salinité, méso-polytherme (entre 18 et 35 °c), préférant les concentrations faibles en nitrites et modérées en ammonium et phosphore et les milieux oligomesotrophes. N. angularis à la différence de la précédente espèce, est eurihaline marine (> 20 ‰) et préfère les milieux ultra-oligotrophes. Enfin, C.closterium est associée aux eaux saumâtres à salées (8-20 ‰), méso-polytherme, adaptée aux fortes concentrations en nitrites et modérées en ammonium et phosphore et les milieux oligo-mésotrophes.

CHAPITRE VI. DISCUSSION GENERALE

1. Perspectives

Les diatomées peuvent-elles, oui ou non, servir d'indicateur de la qualité de l'eau en milieu marin côtier ? Les résultats obtenus indiquent que les espèces permettent de différencier des sites en fonction des grands types de pressions auxquels ils sont associés. Ainsi la turbidité, l'oxygénation, la teneur en sulfates, en silicates et en nutriments azotés des eaux semblent être les facteurs ayant le plus d'influence sur le développement des espèces. La distinction des sites entre eux est plutôt basée sur la présence d'espèces occasionnelles aux préférences marquées que sur la présence de groupes d'espèces aux conditions de croissance moins strictes leur permettant de s'adapter à la variabilité physico-chimique de leur milieu.

Seuls quelques auteurs ont mis en avant le lien entre la composition des assemblages et les paramètres physico-chimiques du milieu. Concernant le milieu oligotrophe, des différences d'espèces en fonction de la salinité, de la teneur en azote inorganique dissous et de la température de l'eau des sites ont été identifiées par Frankovich *et al.* (2006) en baie de Floride. Deux études plus axées sur l'effet de l'anthropisation du milieu sur les assemblages ont été menées en zone mésotrophe. Agatz *et al.* (1999) ont mis en avant la dominance d'une espèce au niveau du site le plus enrichit en nutriments azotés et phosphorés, en amont d'un estuaire. Les auteurs ont démontré que l'enrichissement du milieu avait une influence supérieure à tout autre paramètre, notamment la salinité, sur la structure de la flore diatomique épipélique. Cibic & Blasutto (2011) ont démontré, pour un golfe de la mer Adriatique, qu'en cas d'enrichissement en nutriments du milieu, l'abondance totale des diatomées épipéliques était élevée mais la diversité faible du fait de la dominance d'une espèce en particulier. Pour ces deux études portant sur l'effet de l'enrichissement du milieu sur les diatomées, le nombre de stations étudiées était limité et les stations positionnées le long d'un gradient net d'eutrophisation.

Dans une démarche classique pour définir la qualité bioindicatrice de certains organismes, l'objectif est généralement d'arriver à définir, pour un groupe d'organismes aux caractéristiques similaires (espèces, genre, mode de vie), les conditions de croissance auxquelles est associé ce groupe. Pour ce faire, le plus simple est de décrire les conditions physico-chimiques des sites où il est présent. Les sites choisit pour l'échantillonnage sont généralement liés à une finalité particulière par type de pression (STEP, pollution alimentaire, pollution domestique diffuse, etc.). Cette démarche basée sur les sites est probablement trop restrictive pour le milieu marin dans lequel il y a un important mélange de la masse d'eau, sans parler des sites sous l'influence d'un panache de rivière dont la chimie est d'autant plus variable. Il faut pourtant pouvoir se baser malgré tout sur un critère de jugement. La désignation d'espèces cible au caractère bioindicateur clairement identifié et associées à des pressions bien particulières reste donc un objectif à atteindre. L'obtention de ces résultats précis requiert un jeu de donnée plus important et une meilleure caractérisation des sites.

De nouvelles métriques peuvent être envisagées pour appuyer, valider ou compléter la chimie des sites. Le recours aux mesures de l'isotope stable de l'azote ¹⁵N dans le biote est largement répandu pour distinguer l'origine naturelle ou anthropique de l'azote mesuré dans le milieu. Lapointe *et al.* (2004a) ont mesuré l'¹⁵N dans diverses espèces de macroalgues et démontré que les valeurs isotopiques étaient décroissantes avec l'éloignement de la source de pollution et corrélées aux valeurs du paramètre NH₄. La mesure de l'isotope stable de l'azote dans les tissus coralliens donne une réponse plus mitigée dans la mesure où des changements dans l'alimentation, le métabolisme et

la population de zooxanthelles des coraux peuvent être des facteurs d'enrichissement en ¹⁵N des tissus (Heikoop *et al.* 2000). En ce qui concerne le ¹³C, l'auteur a démontré qu'il n'était pas un bon traceur de la contamination anthropique : la modification du mode d'alimentation des coraux vers l'hétérotrophie du fait de la turbidité des eaux en zone polluée, a pour effet de réduire le ¹³C des tissus. Vermeulen (2013) a pour sa part réalisé des mesures isotopiques de ¹³C et ¹⁵N dans le biofilm. L'auteur a révélé des valeurs variables de ¹⁵N selon que les mesures aient été réalisées à l'échelle de la communauté planctonique ou au niveau de l'espèce. Les résultats ont également démontré que les biofilms répondent rapidement aux fluctuations en ¹⁵N du milieu, ce qui en fait de bons indicateurs des apports nutritifs saisonniers. Par contre, la présence de cyanobactéries fixatrices d'azote au sein des communautés a eu pour effet de réduire les valeurs de ¹⁵N. Les teneurs en ¹³C dans le biofilm étaient supérieures pour les sites impactés, mais pas suffisamment marquées pour faire la distinction entre une source de carbone anthropique ou d'origine phytoplanctonique.

La chlordécone est un organochloré responsable de la contamination massive et persistante des sols et des rivières de Martinique. Cette contamination atteint les milieux littoraux via le transport de matières en suspensions par les rivières (Coat *et al.* 2006). Le dosage du chlordécone dans le biofilm est une méthode qui a été testée en rivière pour avoir une mesure intégrée de la contamination du milieu par ce pesticide (Eulin *comm. pers.* 2009). Le biofilm utilisé était presque exclusivement formé de diatomées et les résultats ont démontré qu'en utilisant une quantité de matière sèche suffisante, des concentrations significatives de la molécule pouvaient être dosées. L'application de cette méthode au biofilm marin permettrait d'avoir un traceur de la contamination d'origine agricole en milieu littoral et ainsi d'identifier les zones sujettes à une contamination azotée, phosphorée et sédimentaire.

La multiplication du nombre de mesures physico-chimiques sur un nombre de site limité, et accompagnées de données sur les paramètres environnementaux, semblent être les conditions d'échantillonnage appropriées pour comprendre les facteurs influençant la structure de la flore diatomique. En milieu marin, l'automatisation des prélèvements pour obtenir des séries d'échantillons n'a pas possible, comme c'est le cas avec les préleveurs automatiques en rivière. Il existe également la technique des échantillonneurs passifs, permettant d'intégrer les conditions du milieu sur plusieurs semaines. Elle est utilisée avec succès en milieu marin, mais n'est jusqu'à maintenant développée que pour le dosage des métaux et micropolluants (Tapie et al. 2009). Des tests seraient en cours en milieu dulçaquicole pour le dosage du phosphore (source IRSTEA). La caractérisation physico-chimique d'un site sera appropriée i) si l'effort d'échantillonnage est concentré sur un nombre limité de sites et si les sites sont associés à des pressions clairement définies, ii) si les prélèvements encadrent les facteurs associés à une éventuelle modification des paramètres mesurés, ou iii) si des données mensuelles sont disponibles sur plusieurs années (Caffrey et al. 2007). Par exemple, Lapointe et al. (2004a) ont réalisé leurs prélèvements avant et après des épidoses climatiques, tels qu'une forte pluie ou une marée importante, et Brandini et al. (2001) ont encadré le phénomène de marée sur une journée et opté pour un prélèvement d'eau de surface et de fond. Les principaux paramètres environnementaux considérés par plusieurs auteurs pour expliquer la chimie mesurée sont la courantologie, la marée et la pluviométrie (Lapointe et al. 2004a; Reich et al. 2002).

Les résultats apportés par l'analyse spatiale et la classification hiérarchique ne permettent pas d'affirmer que les différences d'assemblages sont régies par la seule chimie de l'eau. Pour de nombreux groupe de sites, il est difficile de discerner un dénominateur commun pouvant expliquer le

regroupement de sites aux caractéristiques physico-chimiques et environnementales relativement contrastées. Les espèces présentes dans le biofilm sont probablement influencées par d'autres paramètres qui n'ont pas été mesurés dans le cadre de cette thèse. Ces paramètres sont autant de métriques qu'il serait important d'étudier et de mesurer pour mieux comprendre la répartition des espèces.

Rapidement au cours de la colonisation des substrats, les macroalgues viennent s'établir et constituent une grande part du biofilm en termes de volume. Le temps de développement des macroalgues aux différents sites est un paramètre qui n'a pas été mesuré lors de la phase de mise au point du protocole sur substrat artificiel. Cependant, les photographies des substrats réalisées à chaque semaine démontrent la présence de macroalgues sur quelques sites dès la troisième semaine et pour les cinq sites à la quatrième semaine. Il a été démonté par Hernandez-Almeida & Siqueiros-Beltrones (2008) que la diversité des assemblages de diatomées et leur composition en espèces diffèrent pour chacun des genres de macroalgues étudiés, soit *Hydroclathrus* Bory de Saint-Vincent, *Laurencia* J.V.Lamouroux et *Padina* Adanson. Dans la mesure où le développement des macroalgues sur les substrats est un facteur qui ne peut être contrôlé, il est possible que les espèces de diatomées inventoriées puissent être influencées par le type de macroalgue qui ce sera développé sur les substrats.

Le biofilm comprend de nombreux types d'animaux - copépodes, nématodes, polychètes, crabes, hydraires, bryozoaires, éponges - ayant différents mode d'alimentation et appartenant à plusieurs niveaux trophiques. Cette faune pourra influencer les espèces de diatomées répertoriées dans la mesure où chaque type d'organisme aura un régime alimentaire distinct. Vermeulen (2013) a observé qu'en cas de phytostimulation induite par l'enrichissement des eaux, il existerait un contrôle par le bas de la densité des assemblages de diatomées par les brouteurs. Une augmentation de la densité des petits invertébrés peut être interprétée comme une réponse à une disponibilité accrue de la nourriture et une augmentation en complexité de la structure tridimensionnelle de l'habitat. Cependant, l'effet sur la diversité n'a pas été démontré.

Il peut également y avoir un effet des mécanismes intrinsèques au biofilm. Le rôle des petits invertébrés dans le biofilm ne se limite pas au broutage. Il a été démontré que les macro-herbivores et le zooplancton contribuent par leurs produits d'excrétion à apporter des nutriments supplémentaires pour la croissance des microalgues (Vermeulen 2013). Par conséquent, les communautés formant le biofilm consomment des nutriments issus de diverses origines dont les nutriments compris dans la colonne d'eau et ceux produits par les mécanismes de recyclage et de régénération internes au biofilm. L'épaississement du biofilm renforce le recyclage interne des nutriments de manière à isoler temporairement le biofilm des sources externes de nutriments. Les diatomées présentent dans le biofilm ne seront pas toutes affectées de la même manière par ce phénomène dans la mesure où certaines seront inféodées aux couches inférieures du biofilm et d'autres caractéristiques des couches supérieures et attachées aux macroalgues. Brandini et al. (2001) ont observé, après sept jours de croissance sur substrat artificiel, la présence d'espèces mobiles à proximité du substrat ainsi que la fixation d'espèces larges à des stolons d'hydraires. L'étude du biofilm dans son ensemble serait intéressante pour comprendre les mécanismes qui se déroulent au sein de cette microcommunauté. Les paramètres mesurés à l'échelle d'une communauté - mesures sur les peuplements, isotopes stables, stœchiométrie, éléments trace seront dépendants des espèces qui la compose. En milieu naturel en réponse à une pression, soit la composition des communautés change et tous les composants du biofilm répondent de manière égale à la pollution, soit il y a à la fois un changement de composition des communautés et des modifications de physiologie de chacun des composants entrainant une importante variabilité dans les signaux mesurés.

La courantologie du site peut entrainer le détachement des espèces fixées dans les couches supérieures du biofilm et donner plus d'importance aux espèces à pédoncule court. Ce processus a été mis en avant par Tuji & Hino (2000) pour un biofilm de rivière formé exclusivement de diatomées. Il est logique de penser que pour un biofilm en milieu marin, l'effet du courant ne sera probablement pas le même dans la mesure où les diatomées sont enchevêtrées dans les macroalgues.

La méthode de croissance sur substrat artificiel utilisée a démontré une bonne efficacité dans la mesure où elle a fourni un biofilm suffisamment abondant pour l'étude des espèces de diatomées, qu'elle a permis de respecter la même profondeur de croissance entre les sites - en limitant l'effet de la turbidité de l'eau - et permis un très bon taux de récupération des substrats. Pour plus de facilité de mise en œuvre, il pourrait être envisagé le recours à des supports de substrats de taille plus petite. La phase expérimentale pour la définition du temps de croissance a en effet nécessité l'usage d'un support permettant de loger huit plaques, mais la simple récolte de biofilm n'exige qu'une petite surface de croissance. En veillant à conserver les mêmes critères de croissance que ceux établis pour les supports de grande taille - substrat à la verticale, profondeur autour de trois mètres - un support plus petit permettrait d'avoir recours à un système de mouillage moins complexe et autoriserait une logistique plus simple et légère.

Le niveau d'identification à l'espèce est celui appliqué pour toutes les études concernant les diatomées. La diversité des exigences écologiques des espèces au sein d'un même genre ne permet pas de limiter l'identification au niveau du genre. L'évolution constante de la taxonomie, particulièrement en milieu marin où de nombreuses espèces restent à décrire, constitue donc une difficulté à l'utilisation des diatomées en bioindication. Le recours à la création de groupes d'espèces basés sur la similitude de leurs traits biologiques - forme de vie, classe de taille, fixation au substrat est un concept qui a été étudié par Berthon et al. (2011) et Passy (2007) pour les diatomées de rivière. Ces auteurs ont démontré que les espèces proches du substrat « low-profile » et mobiles permettent d'estimer les niveaux trophiques et de pollution organique du cours d'eau tandis que les espèces éloignées du substrat « high-profile » ne sont valables que pour estimer le niveau trophique. Les résultats concernant les classes de tailles ont démontré que ce critère n'était pas pertinent pour évaluer la pollution organique et le niveau trophique. La technique du « barcoding » est actuellement en cours de développement pour décrire la composition en espèces d'un échantillon par le biais de la biologie moléculaire (Kermarrec 2012). Pour être utilisée en bioindication, cette technique nécessite d'élargir la base des « barcodes » de référence, c'est-à-dire la connaissance des séquences exclusives à chaque espèce. Etant donné les connaissances taxonomiques limitées que l'on a des espèces marines par rapport aux espèces d'eau douce, l'application de la technique du « barcoding » aux échantillons marins semble encore lointaine.

2. Conclusion

Les résultats de cette thèse donnent les premières pistes pour évaluer le caractère bioindicateur des diatomées marines. Ces premiers résultats vont dans le sens d'une évaluation des pressions basée sur certaines espèces cibles. Il y a deux axes majeurs sur lesquels il faut poursuivre les efforts pour développer un indice utilisant les diatomées marines benthiques :

La bioindication

L'élaboration d'un indice basé sur les diatomées marines va nécessiter l'acquisition de données supplémentaire sur les assemblages diatomiques et sur la physico-chimie des sites. Les travaux effectués dans le cadre de la thèse constituent une première avancée vers cet indice, en posant les bases scientifiques permettant d'acquerir des données pertinentes. Ces bases comprennent :

- Ia méthodologie de croissance sur substrats artificiels ;
- les connaissances sur les espèces composant les assemblages de diatomées et les outils nécessaires à leur identification et leur dénombrement ;
- les clés pour obtenir des données physico-chimiques fiables et représentatives des sites d'étude
- le choix des sites basé sur les pressions, échantillonage ciblé et nombre de mesures plus important.

Il faudra également travailler sur l'acquisition de données pour de nouvelles métriques afin de pouvoir interpréter la physico-chimie mesurée et d'approfondir la connaissance des mécanismes qui régissent la composition des espèces de diatomées du biofilm.

La biodiversité

Cette thèse a permis d'étudier les assemblages de diatomées benthiques littorales, constituant ainsi un travail taxonomique d'importance jamais réalisé jusqu'à présent. Il s'agit du premier travail de cette envergure effectué sur ce groupe taxonomique en milieu marin, dont va découler de nombreuses identifications et descriptions d'espèces nouvelles ou peu observées. La connaissance de la taxonomie des espèces constitue une étape à part entière, primordiale et indissociable du processus global de mise en place d'un indice.

L'acquisition de nouveaux échantillons de biofilms impliquera de poursuivre le travail sur la taxonomie des espèces par l'acquisition d'images supplémentaires, notamment en microscopie électronique, surtout pour les petits taxons mal illustrés à ce jour. Ces nouvelles données et images viendront compléter le guide iconographique détaillé des espèces.

BIBLIOGRAPHIE

Α

- Acs E. & Kiss K.T. 1993. Colonization processes of diatoms on artificial substrates in the River Danube near Budapest (Hungary). *Hydrobiologia* **269-70**: 307-315.
- AFNOR. 2004. NF EN 14407: Guide pour l'identification et le dénombrement des échantillons de diatomées benthiques de rivières, et leur interprétation. 14 pp.
- AFNOR. 2007. NF T90-354 : Détermination de l'indice biologique diatomées (IBD). 80 pp.
- AGATZ R., ASMUS M. & DEVENTER B. 1999. Structural changes in the benthic diatom community along a eutrophication gradient on a tidal flat. *Biomedical and Life Sciences* **53**: 92-101.
- AKÉ-CASTILLO J.A. & VAZQUEZ G. 2008 Phytoplankton variation and its relation to nutrients and allochthonous organic matter in a coastal lagoon on the Gulf of Mexico. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **78**: 705-714.
- ALVAREZ-GONGORA C. & HERRERA-SILVEIRA J.A. 2006. Variations of phytoplankton community structure related to water quality trends in a tropical karstic coastal zone. *Marine pollution bulletin* **52**: 48-60.
- AMINOT A. & KEROUEL R. 2004. *Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses.* Ifremer. 336 pp.
- ANTOINE S.E. & BENSON-EVANS K. 1982. The effect of current velocity on the rate of growth of benthic algal communities. *Int.Rev.ges.Hydrobiol.* **67**: 575-583.
- AZEVADO F.B.B., CARLONI G.G.C. & CARVALHEIRA L.V. 2006. Colonization of benthic organism on different artificial substratum in Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian archives of biology and technology* **49**: 263-275.

В

- BARBER H.G. & HAWORTH E.Y. 1994. A guide to the morphology of diatom frustule. With a key to the British freshwater genera, vol. 44. Freshwater biological association. 112 pp.
- BARRON J.A. 1993. Diatoms. In: *Fossil prokaryotes and protists* (Ed. by J.H. LIPPS), pp. 155-167. Blackwell Scientific Publications, Boston.
- BELL P.R.F. 1992. Eutrophication and coral reefs: some examples in the Great Barrier Reef lagoon. *Water Research* 26: 553-568.
- BELL P.R.F. & ELMETRI I. 1995. Ecological indicators of large-scale eutrophication in the Great Barrier Reef lagoon. *Ambio* 24: 208-215.
- BERMEJO R., VERGARA J.J. & HERNANDEZ I. 2012. Application and reassessment of the reduced species list index for macroalgae to assess the ecological status under the Water Framework Directive in the Atlantic coast of Southern Spain. *Ecological Indicators* **12**: 46-57.
- BERTHON V., BOUCHEZ A. & RIMET F. 2011. Using diatom life-forms and ecological guilds to assess organic pollution and trophic level in rivers: a case study of rivers in south-eastern France. *Hydrobiologia* **673**: 259-271.
- BIGGS B.J.F. 1988. Artificial substrate exposure times for periphyton biomass estimates in rivers. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* **22**: 507-515.
- BIGOT L., GRÉMAREB A., AMOUROUX J.M., FROUIN P., MAIRE O. & GAERTNER J.C. 2008. Assessment of the ecological quality status of soft-bottoms in Reunion Island (tropical Southwest Indian Ocean) using AZTI marine biotic indices. *Marine Pollution Bulletin* **56**: 704-722.

- BLINN D.W., FREDERICKSEN A. & KORTE V. 1980. Colonization rates and community structure of diatoms on three different rock substrata in a lotic system. *European Journal of Phycology* **15**: 303 310.
- BORJA A., FRANCO J. & PEREZ V. 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of softbottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine pollution bulletin* **40**: 1100-1114.
- BORJA A. 2004. The biotic indices and the Water Framework Directive: the required consensus in the new benthic monitoring tools. *Marine pollution bulletin* **48**: 405-408.
- BORJA A. & MUXIKA I. 2005. Guidelines for the use of AMBI (AZTI's Marine Biotic Index) in the assessment of the benthic ecological quality. *Marine pollution bulletin* **50**: 787-789.
- BORJA A. & DAUER D.M. 2008. Assessing the environmental quality status in estuarine and coastal systems: Comparing methodologies and indices. *Ecological Indicators* **8**: 331-337.
- BORJA A., BALD J., FRANCO J., LARRETA J., MUXIKA I., REVILLA M., RODRIGUEZ J.G., SOLAUN O., URIARTE A. & VALENCIA V. 2009a. Using multiple ecosystem components, in assessing ecological status in Spanish (Basque Country) Atlantic marine waters. *Marine pollution bulletin* **59**: 54-64.
- BORJA A., RANASINGHE A. & WEISBERG S.B. 2009b. Assessing ecological integrity in marine waters, using multiple indices and ecosystem components: Challenges for the future. *Marine Pollution Bulletin* 59: 1-4
- BORJA A., ELLIOTT M., HENRIKSEN P. & MARBA N. 2013. Transitional and coastal waters ecological status assessment: advances and challenges resulting from implementing the European Water Framework Directive. *Hydrobiologia* **704**: 213-229.
- BORKMAN D.G. & SMAYDA T.J. 1998. Long-term trends in water clarity revealed by Secchi-disk measurements in lower Narragansett Bay. *Journal of Marine Science* **55**: 668-679.
- BRANDINI F.P., DA SILVA E.T., PELLIZZARI F.M., FONSECA A.L.O. & FERNANDES L.F. 2001. Production and biomass accumulation of periphytic diatoms growing on glass slides during a 1-year cycle in a subtropical estuarine environment (Bay of Paranagua, southern Brazil). *Marine Biology* **138**: 163-171.
- BROWN H. 1976. A comparison of the attached algal communities of a natural and artificial substrate. *Journal of Phycology* **12**: 301-306.
- BUCOLO P., SULLIVAN M.J. & ZIMBA P.V. 2008. Effects of nutrient enrichment on primary production and biomass of sediment microalgae in a subtropical seagrass bed. *Journal of Phycology* **44**: 874-881.
- BURKHOLDER J.M., TOMASKO D.A. & TOUCHETTE B.W. 2007. Seagrasses and eutrophication. *Journal of Experimental Marine Biology & Ecology* **350**: 46-72.
- BUKHTIYAROVA L.N. & ROUND F.E. 1996. Revision of the genus *Achnanthes* sensu lato. *Psammothidium*, a new genus based on *A. marginulatum*. *Diatom Research* **11**: 1-30.
- BUKHTIYAROVA L.N. 2006. Additional data on the diatom genus *Karayevia* and a proposal to reject the genus *Kolbesia*. *Nova Hedwigia Beiheft* **130**: 85-96.

С

- CAFFREY J.M., CHAPIN T.P., JANNASCH H.W. & HASKINS J.C. 2007. High nutrient pulses, tidal mixing and biological response in a small California estuary : Variability in nutrient concentrations from decadal to hourly time scales. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **71**: 368-380.
- CAHOON L.B., NEARHOOF J.E. & TILTON C.L. 1999. Sediment grain size effect on benthic microalgal biomass in shallow aquatic ecosystems. *Estuaries* **22**: 735-741.

- CAPELLACCI S., BATTOCCHI C., CASABIANCA S., GIOVINE M., BAVESTRELLO G. & PENNA A. 2013. Bioavailability of different chemical forms of dissolved silica can affect marine diatom growth. *Marine Ecology* **34**: 103-111.
- CARBALLO J.L., NARANJO S.A. & GARCIA-GOMEZ J.C. 1996. Use of marine sponges as stress indicators in marine ecosystems at Algeciras Bay (southern Iberian Peninsula). *Marine Ecology Progress Series* **135**: 109-122.
- CARBALLO J.L. & NARANJO S. 2002. Environmental assessment of a large industrial marine complex based on a community of benthic filter-feeders. *Marine Pollution Bulletin* **44**: 605-610.
- CATTANEO A. & AMIREAULT M.C. 1992. How Artificial Are Artificial Substrata for Periphyton. *Journal of the North American Benthological Society* **11**: 244-256.
- CEN. 2003. EN 13946 Water quality-Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers. *European Standards*. 14 pp.
- CHEN C-P., GAO Y-H. & LIN P. 2010. Geographical and seasonal patterns of epiphytic diatoms on a subtropical mangrove (Kandelia candel) in southern China. *Ecological Indicators* **10**: 143-147.
- CIBIC T. & BLASUTTO O. 2011. Living marine benthic diatoms as indicators of nutrient enrichment: A case study in the Gulf of Trieste. In: *Diatoms: Ecology and Life Cycle* (Ed. by Publisher ENS), pp 169-184.
- CIS-WFD. 2003. Common implementation strategy for Water Framework Directive (2000/60/CE). Guidance document N°5. Transitional and Coastal Waters - Typology, reference conditions and classification systems. Working Group 2.4-COAST. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg., Copenhagen. 107 pp.
- COAT S., BOCQUENÉ G. & GODARD E. 2006. Contamination of some aquatic species with the organochlorine pesticide chlordecone in Martinique *Aquatc Living Ressource* **19**: 181-187.
- COELHO S., GAMITO S. & PÉREZ-RUFAZA A. 2007. Trophic state of Foz of Almargem coastal lagoon (Algarve, South Portugal) based on the water quality and the phytoplankton community. *Estuarine and Coastal Shelf Science* **71**: 218-231.
- COLLADO-VIDES L., CACCIA V.G., BOYER J.N. & FOURQUREAN J.W. 2007. Tropical seagrass-associated macroalgae distributions and trends relative to water quality. *Estuarine Coastal & Shelf Science* **73**: 680-694.
- COMPERE C. 1999. Biofilms en milieu marin. *Techniques Sciences Méthodes* **11**: 48-54.
- CONLEY D.J., KILHAM S.S. & THERIOT E. 1989. Differences in silica content between marine and freshwater diatoms. *Limnology and oceanography* **34**: 205-213.
- COOKSEY B., COOKSEY K.E., MILLER C.A., PAUL J.H., RUBIN R.W. & WEBSTER D. 1984. The attachment of microfouling organisms. In: *Marine biodeterioration: an interdisciplinary study* (Ed. by J.D. COSTLOW & R.C. TIPPER), pp. 167-171. US Naval Institute, Annapolis, MD.
- COOPER T.F., GILMOUR J.P. & FABRICIUS K.E. 2009. Bio-indicators of changes in water quality on coral reefs: review and recommendations for monitoring programmes. *Coral reefs* **28**: 589-606.
- COPIN-MONTEGUT G. 1996. Chimie de l'eau de mer. Institut océanographique éditeur, Paris. 319 pp.
- CORREDOR J.E., WILKINSON C.R., VICENTE V.P., MORRELL J. & OTERO E. 1988. Nitrate release by Caribbean reef sponges. *Limnology and oceanography* **33**: 114-120.
- COSTE M. & LENOIR A. 1995. Mise au point d'un indice diatomique pratique applicable au réseau national de Bassin Français. Cemagref, Inter-agences de Bassin.
- COSTE M., BOUTRY S., TISON-ROSEBERY J. & DELMAS F. 2009. Improvements of the Biological Diatom Index (BDI): Description and efficiency of the new version (BDI-2006). *Ecological Indicators* **9**: 621-650.

CREOCEAN. 2012. Acquisition de connaissance sur le compartiment phytoplancton dans les masses d'eau côtières de Martinique. Pertinence du suivi pour la DCE. Rapport final. DEAL Martinique. p. 89.

D

- DAMASIO J.B., BARATA C., MUNNÉ A., GINEBREDA A., GUASCH H., SABATER S., CAIXACH J. & PORTE C. 2007. Comparing the response of biochemical indicators (biomarkers) and biological indices to diagnose the ecological impact of an oil spillage in a Mediterranean river (NE Catalunya, Spain). *Chemosphere* **66**: 1206-1216.
- DANIEL A., KÉROUEL R. & AMINOT A. 2012. Pasteurisation: A reliable method for preservation of nutrients in seawater samples for inter-laboratory and field applications. *Marine Chemistry* **128**-**129**: 57-63.
- DANIELIDIS D.B. & MANN D.G. 2002. The systematics of Seminavis (Bacillariophyta): the lost identities of *Amphora angusta, A. ventricosa* and *A. macilenta. European Journal of Phycology* **37**: 429-448.
- DANIELIDIS D.B. & MANN D.G. 2003. New species and new combinations in the genus *Seminavis* (Bacillariophyta). *Diatom Research* **18**: 21-39.
- DAUVIN J.C. & RUELLET T. 2007. Polychaete/amphipod ratio revisited. *Marine pollution bulletin* **55**: 215-224.
- DEBENEST T., PINELLI E., COSTE M., SILVESTRE J., MAZZELLA N., MADIGOU C. & DELMAS F. 2009. Sensitivity of freshwater periphytic diatoms to agricultural herbicides. *Aquatic Toxicology* **93**: 11-17.
- DE CACERES M. & LEGENDRE P. 2009. Associations between species and groups of sites: indices and statistical inference. *Ecology* **90**: 3566-3574.
- DE CACERES M., LEGENDRE P., WISER S.K. & BROTONS L. 2012. Using species combinations in indicator value analyses. *Methods in Ecology and Evolution* **3**: 973-982.
- DEFELICE D.R. & LYNTS G.W. 1978. Benthic marine diatom associations: upper Florida Bay (Florida) and associated sounds. *Journal of Phycology* **14**: 25-33.
- DESCY J.P. 1979. A new approach to water quality estimation using diatoms. *Nova Hedwigia* **64**: 305-323.
- DESROSIERS C., LEFLAIVE J., EULIN A. & TEN-HAGE L. 2013. Bioindicators in marine waters: Benthic diatoms as a tool to assess water quality from eutrophic to oligotrophic coastal ecosystems. *Ecological Indicators* **32**: 25-34.
- DESROSIERS C., ASCONIT CONSULTANTS & WITKOWKSI, A. 2014a. Guide pratique pour l'identification des diatomées côtières de Martinique, version 1. Rapport pour l'Office de l'Eau Martinique. 315 pp.
- DESROSIERS C., LEFLAIVE J., EULIN A. & TEN-HAGE L. 2014b. Optimal colonization and growth of marine benthic diatoms on artificial substrata: protocol for a routine use in bioindication. *Journal of applied phycology* **26**: 1759-1771.
- DE STEFANO M., ROMERO O.E. & TOTTI C. 2008. A comparative study of *Cocconeis scutellum* Ehrenberg and its varieties (Bacillariophyta). *Botanica Marina* **51**: 508-536.
- DE VITTOR C., PAOLI A. & FONDA UMANI S. 2008. Dissolved organic carbon variability in a shallow coastal marine system (Gulf of Trieste, northern Adriatic Sea). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **78**: 280-290.
- DEVLIN M., BARRY J., PAINTING S. & BEST M. 2009. Extending the phytoplankton tool kit for the UK Water Framework Directive: indicators of phytoplankton community structure. *Hydrobiologia* **633**: 151-168.

- DEVLIN M., BRICKER S. & PAINTING S. 2011. Comparison of five methods for assessing impacts of nutrient enrichment using estuarine case studies. *Biogeochemistry* **106**: 177-205.
- DIAZ-CASTANEDA V. & ALMEDA-JAUREGUI C. 1999. Early benthic organism colonization on a Caribbean coral reef (Barbados, West Indies) : A plate experimental approach. *Marine ecology* **20**: 197-220.
- DIAZ-PULIDO G. & MCCOOK L.J. 2002. The fate of bleached corals: patterns and dynamics of algal recruitment. *Marine ecology Progress series* **232**: 115-128.
- DICKMAN M.D. 1998. Benthic marine diatom deformities associated with contaminated sediments in Hong Kong. *Environment International* **24**: 749.
- DOMROESE M., ENGELS C., SWEETING M. & GAPE L. 2007. *Treasures in the sea : our Bahamian Marine Resources. An educator's guide to teaching marine biodiversity.* Minister of Education, Youth, Sports & Culture. 218 pp.
- DUFRÊNE M. & LEGENDRE P. 1997. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecological Monographs* **67**: 345-366.
- DUONG T.T., FEURTET-MAZEL A., COSTE M., DANG D.K. & BOUDOU A. 2007. Dynamics of diatom colonization process in some rivers influenced by urban pollution (Hanoi, Vietnam). *Ecological Indicators* **7**: 839-851.
- DZIENGO-CZAJA M., KOSS J. & MATUSZAK A. 2008. Teratological forms of diatoms (Bacillariophyceae) as indicators of water pollution in the western part of Puck Bay (southern Baltic Sea). *Oceanological and Hydrobiological Studies* **37**: 119-132.

Ε

- EDYVEAN R.G.J., RANDS G.A. & MOSS B.L. 1985. A comparison of diatom colonization on natural and artificial substrata in seawater. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **20**: 233-238.
- EPPLEY R.W. 1977. The growth and culture of diatoms. In: *The biology of diatoms* (Ed. by D. WERNER), pp. 24-64. University of California Press.

F

- FABRICIUS K.E. 2012. A bio-indicator system for water quality on inshore coral reefs of the Great Barrier *Reef Marine pollution bulletin* doi: 10.1016/j.marpolbul.2011.09.004.
- FACCA C. & SFRISO A. 2007. Epipelic diatom spatial and temporal distribution and relationship with the main environmental parameters in coastal waters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **75**: 35-49.
- FERNANDES L.F. & CALIXTO-FERES M. 2012. Morphology and distribution of two epizoic diatoms (Bacillariophyta) in Brazil. Acta Botanica Brasilica 26: 836-841.
- FERREIRA J.G., ANDERSEN J.H., BORJA A., BRICKER S.B., CAMP J., CARDOSO DA SILVA M., GARCÉS E., HEISKANEN A-S., HUMBORG C., IGNATIADES L., LANCELOT C., MENESGUEN A., TETT P., HOEPFFNER N. & CLAUSSEN U. 2011. Overview of eutrophication indicators to assess environmental status within the European Marine Strategy Framework Directive. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **93**: 117-131.

FLEMMING H.C. & WINGENDER J. 2010. The biofilm matrix. Nature Reviews Microbiology 8: 623-633.

FOGED N. 1975. Some littoral diatoms from the coast of Tanzania. Bibliotheca Phycologica 16: 1-127.

FOGED N. 1984. Freshwater and littoral diatoms from Cuba, vol. 5. Bibliotheca diatomologica. 243 pp.

- FRANKOVICH T.A., GAISER E.E., ZIEMAN J.C. & WACHNICKA A.H. 2006. Spatial and temporal distributions of epiphytic diatoms growing on *Thalassia testudinum* Banks ex König: relationships to water quality. *Hydrobiologia* **569**: 259-271.
- FURNAS M.J. 1991. Net in situ growth rates of phytoplankton in an oligotrophic, tropical shelf ecosystem. *Limnology & Oceanography.* **36**: 13-29.

G

- GAISER E.E., WACHNICKA A., RUIZ P., TOBIAS F. & ROSS M. 2005. Diatom indicators of ecosystem change in subtropical coastal wetlands. In: *Estuarine Indicators* (Ed. by Bortore SAe). CRC Press, Boca Raton Florida, p. 127-144.
- GARMENDIA M., BORJA A., FRANCO J. & REVILLA M. 2013. Phytoplankton composition indicators for the assessment of eutrophication in marine waters: present state and challenges within the European directives. *Marine pollution bulletin* **66**: 7-16.
- GIFFEN M.H. 1963. Contributions to the diatom flora of South Africa. I. Diatoms of the estuaries of the eastern Cape Province. *Hydrobiologia* **21**: 201-265.
- GIFFEN M.H. 1967. Contributions to the diatom flora of South Africa IV. The marine littoral diatoms of the estuary of the Kowie River, Port Alfred, Cape Province. Diatomaceae II. *Beihefte zur Nova Hedwigia* **31**: 259-312.
- GIFFEN M.H. 1970. New and interesting marine and littoral diatoms from Sea Point, near Cape Town, South Africa. *Botanica Marina* **13**: 87–99.
- GOTTSCHALK S., UTHICKE S. & HEIMANN K. 2007. Benthic diatom community composition in three regions of the Great Barrier Reef, Australia. *Coral reefs* **26**: 345-357.
- GREEN S.O. & WEBBER D.F. 2003. The effects of varying levels of eutrophication on phytoplankton and seagrass (*Thalassia testudinum*) populations of the southeast coast of Jamaica. *Bulletin of marine science* **73**: 443-455.
- GUENNOC P. & DUCLOS P.-A. 2007. Cartographie morphosédimentologique du domaine côtier de la Martinique. BRGM.
- GUILLAUMONT B. & GAUTHIER E. 2005. Recommandations pour un programme de surveillance adapté aux objectifs de la DCE. Recommandations concernant le benthos marin. Rapport IFREMER – REBENT. 152 pp.
- GUINDA X., JUANES J.A., PUENTE A. & REVILLA J.A. 2008. Comparison of two methods for quality assessment of macroalgae assemblages, under different pollution types. *Ecological Indicators* **8**: 743-753.

Η

- HALLOCK P., LIDZ B.H., COCKEY-BURKHARD E.M. & DONNELLY K.B. 2003. Foraminifera as bio-indicators in coral reef assessment and monitoring: The foram index. *Environmental monitoring and assessment* **81**: 221-238.
- HEIKOOP J.M., RISK M.J., LAZIER A.V., EDINGER E.N., JOMPA J., LIMMON G.V., DUNN J., BROWNE D.R. & SCHWARCZ H.P. 2000. Nitrogen-15 signals of anthropogenic nutrient loading in reef corals. *Marine pollution bulletin* **40**: 628-636.
- HEIN M.K., WINSBOROUGH B.M. & SULLIVAN M.J. 2008. Bacillariophyta (Diatoms) of the Bahamas. *Iconographia Diatomologica* **19:** 303 pp.

- HENDEY N.I. 1951. Littoral diatoms of Chichester harbour with special reference to fouling. *Journal. Royal Microscopical Society* **71**: 1-86.
- HERNANDEZ-ALMEIDA O.U. & SIQUEIROS-BELTRONES D.A.S. 2008. Variations in the structure of epiphytic diatom assemblages in subtropical macroalgae. *Hydrobiologica* **18**: 51-61.
- HILLEBRAND H. & SOMMER U. 1997. Response of epilithic microphytobenthos of the Western Baltic Sea to in situ experiments with nutrient enrichment. *Marine ecology Progress series* **160**: 34-46.
- HILLEBRAND H. & SOMMER U. 2000a. Diversity of benthic microalgae in response to colonization time and eutrophication. *Aquatic Botany* **67**: 221-236.
- HILLEBRAND H. & SOMMER U. 2000b. Effect of continuous nutrient enrichment on microalgae colonizing hard substrates. *Hydrobiologia* **426**: 185-192.
- HOAGLAND K.D., ROEMER S.C. & ROSOWSKI J.R. 1982. Colonization and community structure of two periphyton assemblages, with emphasis on the diatoms (Bacillariophyceae). *American Journal of Botany* **69**: 188-213.
- HOLMES R.W. 1985. The morphology of diatoms epizoic on cetaceans and their transfer from *Cocconeis* to two new genera, *Bennettella* and *Epipellis*. *British Phycological Journal* **20**: 43-57.
- HOPPENRATH M., BESZTERI B., DREBES G., HALLIGER H., VAN BEUSEKOM J.E.E., JANISCH S. & WILTSHIRE K.H. 2007. *Thalassiosira* species (Bacillariophyceae, Thalassiosirales) in the North Sea at Helgoland (German Bight) and Sylt (North Frisian Wadden Sea) a first approach to assessing diversity. *European Journal of Phycology* **42**: 271-288.
- HUSTEDT F. 1930. *Bacillariophyta (Diatomeae)*. In: *Die Süsswasser-Flora Mitteleuropas* (Ed. by A. Pascher), Zweite Auflage, Heft 10, 466 pp.
- HUSTEDT F. 1955. *Marine littoral diatoms of Beaufort, North Carolina*, vol. 55-6529. Cambridge University Press, London.
- HUTCHINSON N., NAGARKAR S., AITCHISON J.C. & GRAY A.W. 2006. Microspatial variation in marine biofilm abundance on intertidal rock surfaces. *Aquatic Microbial Ecology* **42**: 187-197.

- IMPACT MER & PARETO ECOCONSULT. 2010. Directive Cadre Européenne sur l'eau. Suivi des stations des réseaux de référence et de surveillance des masses d'eau côtières et de transition au titre de l'année 2009. Volet biologie. Rapport de synthèse: Réseau de surveillance. DIREN Martinique. 147 pp.
- IMPACT MER & GINGER ENVIRONNEMENT. 2012. Conception d'indices de bio-évaluation de la qualité écologique des masses d'eau de transition de l'île de la Martinique à partir des épibiontes des racines de palétuviers. Spongiaires et autres groupes taxonomiques. Rapport final. DEAL Martinique. 125 pp.
- IMPACT MER & PARETO ECOCONSULT. 2012. Directive Cadre Européenne sur l'Eau. Suivi des stations des réseau de référence et de surveillance des masses d'eau côtières et de transition au titre de l'année 2011. Volet biologie. Rapport de synthèse: Réseau référence. DEAL Martinique. 228 pp.

J

JAANUS A., TOMING K., HÄLLFORS S., KALJURAND K. & LIPS I. 2009. Potential phytoplankton indicator species for monitoring Baltic coastal waters in the summer period. *Hydrobiologia* **629**: 157-168.

- JUANES J.A., GUINDA X., PUENTE A. & REVILLA J.A. 2008. Macroalgae, a suitable indicator of the ecological status of coastal rocky communities in the NE Atlantic. *Ecological Indicators* **8**: 351-359.
- JULIUS M.L. & THERIOT E.C. 2010. The diatoms: a primer. In: *The Diatoms: applications for the environmental and earth sciences* (Ed. by J.P. SMOL & E. STOERMER). Cambridge, New York. p. 8-22.

Κ

- KELLY M.G. & WHITTON B.A. 1995. The trophic diatom index: a new index for monitoring eutrophication in rivers. *Journal of Applied Phycology* **7**: 433-333.
- KELLY M.G., CAZAUBON A., CORING E., DELL'UOMO A., ECTOR L., GOLDSMITH B., GUASCH H., HÜRLIMANN J., JARLMAN A., KAWECKA B., KWANDRANS J., LAUGASTE R., LINDSTRØM E.-A., LEITAO M., MARVAN P., PADISÁK J., PIPP E., PRYGIEL J., ROTT E., SABATER S., VAN DAM H. & VIZINET J. 1998. Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe. *Journal of Applied Phycology* **10**: 215-224.
- KELLY M.G. 2000. Identification of common benthic diatoms in rivers. *Field studies* **9**: 583-700.
- KELLY M., JUGGINS S., GUTHRIE R., PRITCHARD S., JAMIESON J., RIPPEY B., HIRST H. & YALLOP M. 2008. Assessment of ecological status in U.K. rivers using diatoms. *Freshwater Biology* **53**: 403-422.
- KERMARREC L. 2012. Apport des outils de la biologie moléculaire pour l'utilisation des diatomées comme bioindicateurs de la qualité des ecosystèmes aquatiques lotiques et pour l'étude de leur taxonomie. Thèse. Université de Grenoble. 321 pp.
- KOLKWITZ R. & MARSSON M. 1902. Grundsätze für die biologische Beurteiling des Wassers nach seiner Flora und Fauna (Principles for the biological assessment of water bodies according to their flora and fauna). Kl. Mitt.d. Kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung **1**.
- KORTE V.L. & BLINN D.W. 1983. Diatom colonization on artificial substrates in pool and riffle zones studied by light and scanning electron microscopy. *Journal of Phycology* **19**: 332-341.
- KRAMMER K. & LANGE-BERTALOT H. 1991. *Bacillariophyceae 3.Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae*, vol. 2/3. Spektrum Akademischer Verlag, Berlin. 598 pp.
- KRAMMER K. & LANGE-BERTALOT H. 1997a. *Bacillariophyceae 1.Teil: Naviculaceae*, vol. 2/1. Spektrum Akademischer Verlag, Berlin. 876 pp.
- KRAMMER K. & LANGE-BERTALOT H. 1997b. *Bacillariophyceae 2.Teil: Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae*, vol. 2/2. Spektrum Akademischer Verlag, Berlin. 598 pp.
- KRAMMER K. & LANGE-BERTALOT H. 2004. Bacillariophyceae. 4. Teil: Achnanthaceae, Kritische Ergänzungen zu Navicula (Lineolatae) und Gomphonema Gesamtliteraturverzeichnis, vol. 2(4). G. Fischer Verlag, Stuttgart & New York. 468 pp.
- KRAUSE-JENSEN D., GREVE T.M. & NIELSEN K. 2005. Eelgrass as a bio-indicator under the European Water Framework Directive. *Water resources management* **19**: 63-75.
- KRIWY P. & UTHICKE S. 2011. Microbial diversity in marine biofilms along a water quality gradient on the Great Barrier Reef. *Systematic and Applied Microbiology* **34**: 116-126.
- KULIKOVSKIY M., LANGE-BERTALOT H. & WITKOWSKI A. 2013. *Gliwiczia* gen. nov. a new monoraphid diatom genus from Lake Baikal with a description of four species new for science. *Phytotaxa* **109**: 1-16.

L

LAI S. & WANG J. 2004. Multivariate analysis of dominant attached diatoms and water quality in Szu-Tsao mangrove wetland of Taiwan. *Diatom* **20**: 133-143.

- LANE C., TAFFS K. & CORFIELD J. 2003. A comparison of diatom community structure on natural and artificial substrata. *Hydrobiologia* **493**: 65-79.
- LANGE-BERTALOT H. 1979. Pollution tolerance of diatoms as a criterion for water quality estimation. *Nova Hedwigia*. **64**: 285-304.
- LANGE-BERTALOT H. & KRAMER K. 1989. Achnanthes eine Monographie der Gattung mit Definition der Gattung *Cocconeis* und Nachträgen zu den Naviculaceae. *Bibliotheca Diatomologica* **18**: 1-393.
- LANGE-BERTALOT H. 2001. Navicula sensus stricto. 10 Genera separated from Navicula sensu lato. Frustulia. *Diatoms of Europe* **2**: 526.
- LAPOINTE B.E. & MATZIE W.R. 1996. Effects of stormwater nutrient discharges on eutrophication process in nearshore waters of the Florida Keys. *Estuaries* **19**: 422-435.
- LAPOINTE B.E., BARILE P.J. & MATZIE W.R. 2004a. Anthropogenic nutrient enrichment of seagrass and coral reef communities in the Lower Florida Keys: discrimination of local versus regional nitrogen sources. *Journal of Experimental Marine Biology & Ecology* **308**: 23-58.
- LAPOINTE B.E., BARILE P.J., YENTSCH C.S., LITTLER M.M., LITTLER D.S. & KAKUK B. 2004b. The relative importance of nutrient enrichment and herbivory on macroalgal communities near Norman's Pond Cay, Exumas Cays, Bahamas: a "natural" enrichment experiment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **298**: 275-301.
- LAVOIE I., HAMILTON P.B., CAMPEAU S., GRENIER M. & DILLON P.J. 2008. *Guide d'identification des diatomées des rivières de l'Est du Canada*. Presses de l'Université du Québec. 127 pp.
- LECOINTE C., COSTE M. & PRYGIEL J. 1993. 'OMNIDIA' software for taxonomy, calculation of diatom indices and inventories management. *Hydrobiologia* **269**: 509-513.
- LECOINTE C., COSTE M. & PRYGIEL J. 2003. Omnidia 3.2 Diatom Index Software including diatom database with taxonomic names, reference and codes of 11643 diatom taxa.
- LEGENDRE P. & LEGENDRE L. 1998. *Numerical ecology, second english edition*. Elsevier Science B.V. 870 pp.
- LEGENDRE P. & GALLAGHER E.D. 2001. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia* **129**: 271-280.
- LENOIR A. & COSTE M. 1996. Development of a practical diatom index of overall water quality applicable to the French National Water Board Network. In: *International symposium, Volksbildungsheim Grilhof Vill, AUT, 17-19 September 1995 / Use of algae for monitoring rivers II, WHITTON B.A., ROTT E.*, pp. 29-43. Universität Innsbruck, Innsbruck, AUT.
- LEVKOV Z. 2009. Amphora sensu lato. Diatoms of Europe 5: 458.
- LEWIS M.A., WEBER D.L. & MOORE J.C. 2002. An Evaluation of the Use of Colonized Periphyton as an Indicator of Wastewater Impact in Near-Coastal Areas of the Gulf of Mexico. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **43**: 11-18.
- LINTON D.M. & WARNER G.F. 2003. Biological indicators in the Caribbean coastal zone and their role in integrated coastal management. *Ocean & Coastal Management* **46**: 261-276.
- LITTLER M.M., LITTLER D.S. & TAYLOR P.R. 1983. Evolutionary strategies in a tropical barrier reef system: functional-form groups of marine macroalgae. *Journal of Phycology* **19**: 229-237.
- LOBBAN C.S., ASHWORTH M.P., ARAI Y., JORDAN R.W. & THERIOT E.C. 2011. Marine necklace-chain Fragilariaceae (Baccilariophyceae) from Guam, including descriptions of *Koernerella* and *Perideraion*, genera nova. *Phycological Research* **59**: 175-193.
- LOBBAN C.S., SCHEFTER M., JORDAN R.W., ARAI Y., SASAKI A., THERIOT E.C., ASHWORTH M.P., RUCK E.C. & PENNESI C. 2012. Coral-reef diatoms (Bacillariophyta) from Guam: new records and preliminary

checklist, with emphasis on epiphytic species from farmer-fish territories. *Micronesica* **43**: 237-479.

- LOPEZ FUERTE F.O., SIQUIEROS BELTRONES D.A. & NAVARRO J.N. 2010. Benthic diatoms associated with mangroves environments in the northwest region of México. Siquieros Beltrones, D.A. Garcia Gomez, R.E., Mexico.
- LOPEZ Y ROYO C., PERGENT G., ALCOVERRO T., BUIA M.C., CASAZZA G., MARTINEZ-CREGO B., PÉREZ M., SILVESTRE F. & ROMERO J. 2011. The seagrass *Posidonia oceanica* as indicator of coastal water quality: Experimental intercalibration of classification systems. *Ecological Indicators* **11**: 557-563.

Μ

- MACINTYRE H.L., GEIDER R.J. & MILLER D.C. 1996. Microphytobenthos: the ecological role of the "Secret Garden" of unvegetated, shallow-water marine habitats. I. Distribution, abundance and primary production. *Estuaries* **19**: 186-201.
- MANN D.G. 1984. An ontogenetic approach to diatom systematics. In: 7th International Symposium on Living and Fossil Diatoms (Ed. by D.G. MANN), pp. 131-141.
- MANN D.G. & DROOP S.J.M. 1996. 3. Biodiversity, biogeography and conservation of diatoms. *Hydrobiologia* **336**: 19-32.
- MANN D.G., SATO S., TROBAJO R., VANORMELINGEN P. & SOUFFREAU C. 2010. DNA barcoding for species identification and discovery in diatoms. *Cryptogamie Algologie* **31**: 557-577.
- MASCARO O., ALCOVERRO T., DENCHEVA K., DÃEZ I., GOROSTIAGA J., KRAUSE-JENSEN D., BALSBY T., MARBÀ N., MUXIKA I., NETO J., NIKOLIC V., ORFANIDIS S., PEDERSEN A., PÉREZ M. & ROMERO J. 2013. Exploring the robustness of macrophyte-based classification methods to assess the ecological status of coastal and transitional ecosystems under the Water Framework Directive. *Hydrobiologia* **704**: 279-291.
- MEDLIN L.K. & KACZMARSKA I. 2004. Evolution of the diatoms: V. Morphological and cytological support for the major clades and a taxonomic revision. *Phycologia* **43**: 245-270.
- MEDLIN L.K., SATO S., MANN D.G. & KOOISTRA W.H.C.F. 2008. Molecular evidence confirms sister relationship of *Ardissonea*, *Climacosphenia*, and *Toxarium* within the bipolar centric diatoms (Bacillariophyta, Mediophyceae), and cladistics analyses confirm that extremely elongated shape has arisen twice in the diatoms. *Journal of Phycology* **44**: 1340-1348.
- MEDLIN L.K. 2009. The use of the terms centric and pennate. *Diatom Research* 24: 499-501.
- METZELTIN D. & WITKOWSKI A. 1996. Diatomeen der Bären-Insel. Süsswasser-und marine Arten. *Iconographia Diatomologica* **4**: 2-232.
- METZELTIN D. & LANGE-BERTALOT H. 1998. Tropical Diatoms of South America I. About 700 predominantly rarely known or new taxa representative of the neotropical flora. *Iconographia Diatomologica* **5**: 355.
- METZELTIN D., LANGE-BERTALOT H. & GARCIA-RODRIGUEZ F. 2005. Diatoms of Uruguay. *Iconographia Diatomologica* **15**: 370.
- METZELTIN D. & LANGE-BERTALOT H. 2007. Tropical Diatoms of South America II. Special remarks on biogeographic disjunction. *Iconographia Diatomologica* **18**: 455.
- MITBAVKAR S. & ANIL A.C. 2002. Diatoms of the microphytobenthic community: population structure in a tropical intertidal sand flat. *Marine Biology* **140**: 41-57.
- MONTGOMERY R.T. 1978. Environmental and ecological studies of the diatom communities associated with the coral reefs of the Florida Keys. Florida State University, United States.

- MOORE J.K. & BRAUCHER O. 2007. Observations of dissolved iron in the World Ocean: implications and constraints for ocean biogeochemical models. *Biogeosciences Discussions* **4**: 1241-1277.
- MORENO-RUIZ J.L., TAPIA-GARCIA M., LICEA S., FIGUEROA-TORRES M.G., ESQUIVEL A., HERRERA-GALINDO J.E., GONZALEZ-FERNANDEZ J.M. & GONZALEZ-MACIAS M.D.C. 2011. Ecological composition and distribution of the diatoms from the Laguna Superior, Oaxaca, Mexico. *Journal of Environmental Biology* **32**: 425-442.
- MORIN S., COSTE M. & DELMAS F.O. 2008a. A comparison of specific growth rates of periphytic diatoms of varying cell size under laboratory and field conditions. *Hydrobiologia* **614**: 285-297.
- MORIN S., THI THUY D., HERLORY O., FEURTET-MAZEL A. & COSTE M. 2008b. Cadmium Toxicity and Bioaccumulation in Freshwater Biofilms. *Archives of environmental contamination and toxicology* **54**: 173-186.
- MOSER G., LANGE-BERTALOT H. & METZELTIN D. 1998. Insel der Endemiten Geobotanisches Phänomen Neukaledonien (Island of endemics New Caledonia - a geobotanical phenomenon). *Bibliotheca Diatomologica* **38**: 1-464.
- MUNDA I.M. 2005. Seasonal fouling by diatoms on artificial substrata at different depths near Piran (Gulf of Trieste, Northern Adriatic). *Acta adriatica* **46**: 137-157.
- MURTAGH F. & LEGENDRE P. 2013. Ward's hierarchical agglomerative clustering method: Which algorithms implement Ward's criterion? *Journal of Classification* in press.

Ν

- NAGUMO T., SUZUKI H., WATANABE T., FUJITA D. & TANAKA J. 2008. Attach diatoms in the Shiretoko Rausu deep sea water Japan. In: *Abstracts of 20th International Diatom Symposium* (Ed. by N. Jasprica, A. Car & M. Calic), 7-13 Sept. 2008. Dubrovnik.
- NAVARRO J.N. 1981a. A survey of the marine diatoms of Puerto Rico. I.Suborders Coscinodiscineae and Rhizosoleniineae. *Botanica Marina* **24**: 427-439.
- NAVARRO J.N. 1981b. A survey of the marine diatoms of Puerto Rico. II.Suborder Biddulphiineae: Families Biddulphiaceae, Lithodesmiaceae and Eupodiscaceae. *Botanica Marina* **24**: 615-630.
- NAVARRO J.N. 1982a. A survey of the marine diatoms of Puerto Rico. III.Suborder Suborder Biddulphiineae: Family Chaetoceraceae. *Botanica Marina* **25**: 305-319.
- NAVARRO J.N. 1982b. A survey of the marine diatoms of Puerto Rico. Bot.Mar. IV.Suborder Araphidineae: Families Diatomaceae and Protoraphidaceae. *Botanica Marina* **25**: 247-263.
- NAVARRO J.N. 1982c. A survey of the marine diatoms of Puerto Rico. V.Suborder Raphidineae: Families Achnantaceae and Naviculaceae (Excluding Navicula and Mastoglia). *Botanica Marina* **25**: 321-338.
- NAVARRO J.N. 1983a. A survey of the marine diatoms of Puerto Rico. VI.Suborder Raphidineae: Family Naviculaceae (Genera Haslea, Mastoglia and Navicula). *Botanica Marina* **26**: 119-136.
- NAVARRO J.N. 1983b. A survey of the marine diatoms of Puerto Rico. VII.Suborder Raphidineae: Families Auriculaceae, Epithemiaceae, Nitzschiaceae and Surirellaceae. *Botanica Marina* **26**: 393-408.
- NAVARRO J.N. & PEREZ C., ARCE N. & ARROYO B. 1989. Benthic marine diatoms of Caja de Muertos Island, Puerto Rico. *Nova Hedwigia* **49**: 333-367.

NISBET M. & VERNEAUX J. 1970. Composantes chimiques des eaux courantes. *Annales de Limnoogie*. **6**: 161-190.

0

- ORFANIDIS S., PANAYOTIDIS P. & STAMATIS N. 2001. Ecological evaluation of transitional and coastal waters: A marine benthic macrophytes-based model. *Mediterranean Marine Science* **2**: 45-65.
- ORFANIDIS S., PANAYOTIDIS P. & STAMATIS N. 2003. An insight to the ecological evaluation index (EEI). *Ecological Indicators* **3**: 27.
- OVIATT C., LANE P., FRENCH F. & DONAGHAY P. 1989. Phytoplankton species and abundance in response to eutrophication on coastal marine mesocosms. *Journal of plankton research* **11**: 1223-1244.

Ρ

- PACHÉS M., ROMERO I., HERMOSILLA Z. & MARTINEZ-GUIJARRO R. 2012. PHYMED: An ecological classification system for the Water Framework Directive based on phytoplankton community composition. *Ecological Indicators* **19**: 15-23.
- PARLEMENT EUROPEEN & CONSEIL DE L'UNION EUROPEENNE. 2000. Directive 2000/60/CE du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. *Journal officiel des Communautés Européennes* L327: 1-72.
- PARLEMENT EUROPEEN & CONSEIL DE L'UNION EUROPEENNE. 2008. Directive 2008/56/CE du 17 juin 2008, établissant un cadre d'action communautaire dans le domaine de la politique pour le milieu marin (directive-cadre "stratégie pour le milieu marin"). *Journal officiel des Communautés Européennes* **L164**: 19-40.
- PARNELL P.E. 2003. The effect of sewage discharge on water quality and phytoplankton of Hawai'ian coastal waters. *Marine environmental research* **55**: 293-311.
- PASSY S. 2007. Diatom ecological guilds display distinct and predictable behavior along nutrient and disturbance gradients in running waters. *Aquatic Botany* **86**: 171-178.
- PATIL J.S. & ANIL A.C. 2005a. Biofilm diatom community structure: influence of temporal and substratum variability. *Biofouling* **21**: 189-206.
- PATIL J.S. & ANIL A.C. 2005b. Quantification of diatoms in biofilms: standardisation of methods. *Biofouling* **21**: 181-188.
- PATRICK R.M. & REIMER C.W. 1966. The Diatoms of the United States exclusive of Alaska and Hawaii. Volume 1. Fragilariaceae, Eunotoniaceae, Achnanthaceae, Naviculaceae. *Monographs of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, **vol. 13**, 688 pp.
- PENNA A., MAGNANI M., FENOGLIO I., FUBINI B., CERRANO C., GIOVINE M. & BAVESTRELLO G. 2003. Marine diatom growth on different forms of particulate silica: evidence of cell/particle interaction. *Aquatic microbial ecology* **32**: 299-306.
- POTAPOVA M.G., CHARLES D.F., PONADER K.C. & WINTER D.M. 2004. Quantifying species indicator values for trophic diatom indices: a comparison of approaches. *Hydrobiologia* **517**: 25-41.
- POTAPOVA M. & CHARLES D.F. 2007. Diatom metrics for monitoring eutrophication in rivers of the United States. *Ecological Indicators* **7**: 48-70.
- POTAPOVA, M. 2010. In Diatoms of the United States. http://westerndiatoms.colorado.edu/taxa/; searched on 28 October 2013.

- POTAPOVA, M. 2013. Achnanthidium druartii. In Diatoms of the United States. http://westerndiatoms.colorado.edu/taxa/species/achnanthidium_druartii; searched on 20 Janvier 2013.
- PRYGIEL J. & COSTE M. 1993. Utilisation des indices diatomiques pour la mesure de la qualité des eaux du bassin Artois-Picardie: bilan et perspectives. *Annales de Limnologie* **29**: 255-267.
- PRYGIEL J. & COSTE M. 1996. Les diatomées et indices diatomiques dans les réseaux de mesure de la qualité des cours d'eau Français: Historique et Avenir. *Bulletin. Français de la Pêche et de la Pisciculture* **341/342**: 65-79.
- PUJOS M., GONZALEZ J.-L. & PONS J.-C. 1992. Circulation des eaux sur les plateaux insulaires de Martinique et Guadeloupe. p. 415-435.

R

RAMETTE A. 2007. Multivariate analysis in microbial ecology. *FEMS Microbiology ecology* **62**: 142-160.

- REICH C.D., SHINN E.A., HICKEY T.D. & TIHANSKY A.B. 2002. Tidal and meteorological influences on shallow marine groundwater flow in the upper Florida Keys. In: *The Everglades, Florida Bay, and Coral Reefs of the Florida Keys: an ecosystem sourcebook* (Ed. by J.W. PORTER & K.G. PORTER), p. 659-676.
- REVILLA M., FRANCO J., BALD J., BORJA A., LAZA A., SEOANE S. & VALENCIA V. 2009. Assessment of the phytoplankton ecological status in the Basque coast (northern Spain) according to the European Water Framework Directive. *Journal of Sea Research* **61**: 60-67.
- RIAUX-GOBIN C. & COMPÈRE P. 2008. New *Cocconeis* taxa from coral sands off Réunion island (Western Indian Ocean). *Diatom Research* **23**: 129-146.
- RIAUX-GOBIN C., WITKOWSKI A. & COMPÈRE P. 2010. SEM survey and taxonomic position of small-sized *Achnanthidium* (Bacillariophyceae) from coral sands off Réunion Island (Western Indian Ocean). *Vie et Milieu* **60**: 157-172.
- RIAUX-GOBIN C., ROMERO O.E., COMPERE P. & AL-HANDAL A.Y. 2011. Small-sized Achnanthales (Bacillariophyta) from coral sands off Mascarenes (Western Indian Ocean). *Bibliotheca Diatomologica* **57**: 234 pp.
- RIAUX-GOBIN C. & AL-HANDAL A.Y. 2012. New species in the marine diatom genus *Olifantiella* (Bacillariophyta, Biraphidineae) from Rodrigues Island (Western Indian Ocean). *Fottea* **12**: 199-217.
- RIAUX-GOBIN C., WITKOWSKI A., RUPPEL M. 2012. *Scalariella* a new genus of monoraphid diatom (Bacillariophyta) with a bipolar distribution. *Fottea* **12**: 13-25.
- RIAUX-GOBIN C., WITKOWSKI A. ROMERO O.E. 2013. An account of *Astartiella* species from tropical areas with a description of *A. societatis* sp. nov. and nomenclatural notes. *Diatom Research* DOI: 10.1080/0269249X.2013.827590.
- RIMET F. & BOUCHEZ A. 2011. Use of diatom life-forms and ecological guilds to assess pesticide contamination in rivers: Lotic mesocosm approaches. *Ecological Indicators* **11**: 489-499.
- ROBERTS H.H., WILSON P.A. & LUGO-FERNANDEZ A. 1992. Biologic and geologic responses to physical processes: examples from modern reef systems of the Caribean-Atlantic region. *Continental Shelf Research* **12**: 809-834.
- ROMERO O.E. & NAVARRO J.N. 1999. Two marine species of *Cocconeis* Ehrenberg (Bacillariophyceae): *C.pseudomarginata* Gregory and *C.caribensis sp.nov. Botanica Marina* **42**: 581-592.

- ROMERO J., MARTINEZ-CREGO B., ALCOVERRO T. & PEREZ M. 2007. A multivariate index based on the seagrass *Posidonia oceanica* (POMI) to assess ecological status of coastal waters under the water framework directive (WFD). *Marine pollution bulletin* **55**: 196-204.
- Ross, R. 1963. The diatom genus *Capartogramma* and the identity of *Schizostauron*. *Bulletin of the British Museum (Natural History), Botany* **3:** 47-92.
- ROUND F.E., CRAWFORD R.M. & MANN D.G. 1990. *The Diatoms.Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge. 747 pp.
- ROUND F.E. & BUKHTIYAROVA L.N. 1996. Four new genera based on *Achnanthes* (*Achnanthidium*) together with a re-definition of *Achnanthidium*. *Diatom Research* **11**: 345-361.
- ROVIRA L., WITKOWSKI A., TROBAJO R., IBÁÑEZ C., RUPPEL M. 2011. *Planothidium iberense* spec. nov., a new brackish diatom of the Ebro estuary (NE Spain). *Diatom Research* **26**: 99-107.

S

- SANTAS R., LIANOU C. & DANIELIDIS D. 1997. UVB radiation and depth interaction during primary succession of marine diatom assemblages of Greece. *Limnology and oceanography* **42**: 986-991.
- SAR E.A., ROMERO O.E. & SUNESEN I. 2003. *Cocconeis* Ehrenberg and *Psammococconeis* Garcia (Bacillariophyta) from the Gulf of San Matias, Patagonia, Argentina. *Diatom Research.* **18**: 79-106.
- SATO S., KOOISTRA W.H.C.F., WATANABE T., MATSUMOTO S. & MEDLIN L.K. 2008a. A new araphid diatom genus *Psammoneis* gen. nov. (Plagiogrammaceae, Bacillariophyta) with three new species based on SSU and LSU rDNA sequence data and morphology. *Phycologia* **47**: 510-528.
- SATO S., WATANABE T., CRAWFORD R.M., KOOISTRA W.H.C.F. & MEDLIN L.K. 2008b. Morphology of four plagiogrammacean diatoms; *Dimeregramma minor* var. *nana*, *Neofragilaria nicobarica*, *Plagiogramma atomus* and *Psammogramma vigoensis* gen. et sp. nov., and their phylogenetic relationship inferred from partial large subunit rDNA. *Phycological Research* **56**: 255-268.
- SCHERRER B. 1984. Biostatistique. Gaëtan Morin. 850 pp.
- SEKAR R., VENUGOPALAN V.P., SATPATHY K.K., NAIR K.V.K. & RAO V.N.R. 2004. Laboratory studies on adhesion of microalgae to hard substrates. *Hydrobiologia* **512**: 109-116.
- SELLNER K.G. & ANDERSON D.M. 1997. Physiology, ecology, and toxic properties of marine cyanobacteria blooms. *Limnology and oceanography* **42**: 1089-1104.
- SHIPE R.F., CURTAZ J., SUBRAMANIAM A., CARPENTER E.J. & CAPONE D.G. 2006. Diatom biomass and productivity in oceanic and plume-influenced waters of the western tropical Atlantic ocean. *Deep-Sea Research I* **53**: 1320-1334.
- SHORT F.T., KOCH E.W., CREED J.C., MAGALHAES K.M., FERNANDEZ E. & GAECKLE J.L. 2006. SeagrassNet monitoring across the Americas: case studies of seagrass decline. *Marine Ecology* **27**: 277-289.
- SIMBOURA N. & ZENETOS A. 2002. Benthic indicators to use in ecological quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new biotic index. *Mediterranean Marine Science* **3**: 77-111.
- SIMS P.A., MANN D.G. & MEDLIN L.K. 2006. Evolution of the diatoms: insights from fossil, biological and molecular data. *Phycologia* **45**: 361-402.
- SIQUEIROS BELTRONES D.A. & SÁNCHEZ CASTREJÓN E. 1999. Structure of Benthic Diatom Assemblages from a Mangrove Environment in a Mexican Subtropical Lagoon. *Biotropica* **31**: 48-70.

- SIVER P. 1977. Comparison of attached diatom communities on natural and artificial substrates. *Journal of Phycology* **13**: 402-406.
- SMITH N.P. 1982. Upwelling in Atlantic shelf waters of South Florida. Florida Scientist 45: 117-125.
- SOMMER U. 1996. Nutrient competition experiments with periphyton from the Baltic Sea. *Marine Ecology Progress Series* **140**: 161-167.
- STIDOLPH S.R., STERRENBURG F.A.S., SMITH K.E.L. & KRABERG A. 2012. *Stuart R. Stidolph Diatom Atlas.*. US: Geological Survey Open-File Report. 199 pp.

Т

- TAPIE N., MUNARON D., GONZALEZ J.-L. & BUDZINSKI H. 2009. Appication of POCIS for the monitoring of pesticides, pharmaceuticals and alkylphenols in marine waters. In: *19th annual meeting SETAC Europe*, Göteborg, Sweden.
- TAYLOR J.C., HARDING W.R. & ARCHIBALD C.G.M. 2007. An illustrated guide to common diatom species from South Africa. Water Research Commission. 200 pp.
- TEIXEIRA H., WEISBERG S.B., BORJA A., RANASINGHE J.A., CADIEN D.B., VELARDE R.G., LOVELL L.L., PASKO D., PHILLIPS C.A., MONTAGNE D.E., RITTER K.J., SALAS F. & MARQUES J.C. 2012. Calibration and validation of the AZTI's Marine Biotic Index (AMBI) for Southern California marine bays. *Ecological Indicators* 12: 84-95.
- TER BRAAK C.J.F. & VERDONSCHOT P.F.M. 1995. Canonical correspondence analysis and related multivariate methods in aquatic ecology. *Aquatic Sciences* **57**: 255-289.
- TETT P., CARREIRA C., MILLS D.K., VAN LEEUWEN S., FODEN J., BRESNAN E. & GOWEN R.J. 2008. Use of a Phytoplankton Community Index to assess the health of coastal waters. *ICES Journal of Marine Science* **65**: 1475-1482.
- THACKER R.W. & PAUL V.J. 2001. Are benthic cyanobacteria indicators of nutrient enrichment? Relationships between cyanobacterial abundance and environmental factors on the reef flats of Guam. *Bulletin of Marine Science* **69**: 497-508.
- TILLEY L.J. & HAUSHILD W.L. 1975. Use of productivity of periphyton to estimate water quality. *Journal* of the Water Pollution Control Federation **47**: 2157-2171.
- TITLYANOV E.A., TITLYANOVA T.V. & CHAPMAN D.J. 2008. Dynamics and patterns of algal colonization on mechanically damaged and dead colonies of the coral *Porites lutea*. *Botanica Marina* **51**: 285-296.
- TOMASKO D.A., DAWES C.J., HALL M.O., BRICKER S.B. & STEVENSON J.C. 1996. The effects of anthropogenic nutrient enrichment on turtle grass (*Thalassia testudinum*) in Sarasota Bay, Florida. *Estuaries* **19**: 448-456.
- TOTTI C., CUCCHIARI E., DE STEFANO M., PENNESI C., ROMAGNOLI T. & BAVESTRELLO G. 2007. Seasonal variations of epilithic diatoms on different hard substrates in the northern Adriatic Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **87**: 649-658.
- TROBAJO R., CLAVERO E., CHEPURNOV V.A., SABBE K., MANN D.G., ISHIHARA S. & COX E.J. 2009. Morphological, genetic and mating diversity within the widespread bioindicator Nitzschia palea (Bacillariophyceae). *Phycologia* 48: 443-459.
- TROBAJO R., ROVIRA L., ECTOR L., WETZEL C.E., KELLY M. & MANN D.G. 2012. Morphology and identity of some ecologically important small *Nitzschia* species. *Diatom Research* 28: 37-59.
- TUCHMAN M.L. & STEVENSON R.J. 1979. Comparison of clay tile, sterilized rock, and natural substrate diatom communities in a small stream in Southeastern Michigan, USA. *Hydrobiologia* **75**: 73-79.

TUJI A. & HINO S. 2000. Observation of developmental processes in loosely attached diatom (Bacillariophyceae) communities. *Phycological Research* **48**: 75-84.

U

UNDERWOOD G.J.C., PHILLIPS J. & SAUNDERS K. 1998. Distribution of estuarine benthic diatom species along salinity and nutrient gradients. *European Journal of Phycology* **33**: 173-183.

V

- VAN DAM H., MERTENS A. & SINKELDAM J. 1994. A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from The Netherlands. *Aquatic Ecology* **28**: 117-133.
- VAN DER MOLEN J. & VERDONSCHOT P. 2004. Standardisation of river classification: Framework method for calibrating different biological survey results against ecological quality classifications to be developed for the Water Framework Directive. Results of the La Bresse diatom sampling and analysis workshop 5th Framework Programme, pp 17.
- VERLECAR X.N., DESAIA S.P., SARKAR A. & DALAL S.G. 2006. Biological indicators in relation to coastal pollution along Karnataka coast, India. *Water Research* **40**: 3304-3312.
- VERMEULEN S., STURARO N., GOBERT S., BOUQUEGNEAU J.M. & LEPOINT G. 2011. Potential early indicators of anthropogenically derived nutrients: a multiscale stable isotope analysis. *Marine ecology Progress series* **422**: 9-22.
- VERMEULEN S., LEPOINT G. & GOBERT S. 2012. Processing samples of benthic marine diatoms from Mediterranean oligotrophic areas. *Journal of Applied Phycology* **24**: 1253-1260.

VERMEULEN S. 2013. Spatial and temporal responses of marine gastropods and biofilms to urban wastewater pollution in a Mediterranean coastal area. *PhD dissertation*. University of Liège. 227 pp.

W

- WACHNICKA A.H. & GAISER E.E. 2007. Characterization of *Amphora* and *Seminavis* from south Florida, U.S.A. *Diatom Research* 22: 387-455.
- WECKSTRÖM K. & JUGGINS S. 2005. Coastal diatom-environment relationships from the Gulf of Finland, Baltic Sea. Journal of Phycology **42**: 21-35.
- WERNER D. 1977. Silicate metabolism. In: The biology of diatoms (Ed. by D. WERNER), p. 110-149.
- WETZEL R.L. 1979. Periphyton measurements and applications. In: *Method and measurements of periphyton communities: a review.* p. 3-33.
- WILKINSON M., WOOD P., WELLS E. & SCANLAN C. 2007. Using attached macroalgae to assess ecological status of british estuaries for the European Water Framework Directive. *Marine pollution bulletin* **55**: 136-150.
- WILLIAMS D.M. & KOCIOLEK J.P. 2007. Pursuit of a natural classification of diatoms: history, monophyly and the rejection of paraphyletic taxa. *European Journal of Phycoly* **42**: 313-319.
- WITKOWSKI A., LANGE-BERTALOT H. & METZELTIN D. 2000. Diatom flora of marine coasts. Iconographia Diatomologica7: 925 pp.
- Wu J.-T. 1999. A generic index of diatom assemblages as bio-indicator of pollution in the Keelung River of Taiwan. *Hydrobiologia* **397**: 79-87.

Y

- YENTSCH C.S., YENTSCH C.M., CULLEN J.J., LAPOINTE B.E., PHINNEY D.A. & WOODMAN S.F. 2002. Sunlight and water transparency: cornerstones in coral research. *Journal of Experimental Marine Biology & Ecology* **268**: 171-183.
- YEO I.-K. & JOHNSON R.A. 2000. A new family of power transformations to improve normality or symmetry. *Biometrika* 87: 954-959.

Ζ

ZELINKA M. & MARVAN P. 1961. Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation des Rheinheit fliessender Gewässer. *Archivfür Hydrobiologie* **57**: 389-407.
ANNEXE 1. GUIDE PRATIQUE POUR L'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES DE MARTINIQUE : PARTIE 1



Août 2014

Principaux Contacts :

Julie Gresser

DEAL Martinique : • Denis Etienne

ECOLAB : • Loïc Ten-Hage

Office de l'eau Martinique : • Loïc Mangeot

ASCONIT CONSULTANTS : • Anne EULIN

PARETO : • Rémi Garnier • Jean Turquet (ARVAM)

Catherine DESROSIERS

O.D.E Office De l'Equ Martinique

Annur - Guilte - Francés Réferencies Prave asso de Lanchagement de Lanchagement Montanezes





Estigt fromosoit #Outpersone

loic.mangeot@eaumartinique.fr Tél. : 0596 48 47 20 julie.gresser@eaumartinigue.fr

denis-I.etienne@developpement-durable.fr Tél. : 05.96.

Tél. : 05.96.63.55.78 Anne.eulin@asconit.com catherine.desrosiers@asconit.com

tenhage@cict.fr

rgarnier.pareto@orange.fr jean.turquet@arvam.com

2

ODE Martinique/ DEAL Martinique

Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

Sommaire

PARTIE I. GLOSSAIRE ET PRESENTATION DES GENRES

1.	INTRODUCTION	3
2.	Terminologie	3
2.1.	Glossaire	3
2.2.	Guide terminologique illustré	7
2.3.	Caractères généraux des principaux genres	14



PARTIE I. GLOSSAIRE ET PRESENTATION DES GENRES



Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

1. Introduction

Ce guide est élaboré afin d'aider à l'identification des frustules des principales espèces de diatomées marines benthiques pouvant être retrouvées dans les eaux côtières de Martinique.

La première partie comprend :

- les termes utilisés en taxonomie pour la description des espèces, par une définition et un exemple imagé ;

- une description concise et imagée de chacun des genres rencontrés.

La seconde partie comprend des planches iconographiques regroupant les différentes espèces d'un même genre ainsi que pour chaque genre un tableau récapitulatif des espèces illustrées avec leur morphométrie, une comparaison avec les espèces similaires et la référence bibliographique à la description de l'espèce. Sur les planches sont donnés les noms complets des espèces et également leur code Omnidia, alors que le tableau se réfère aux codes Omnidia. Les planches sont classées dans l'ordre établit pour la définition des genres, ce qui devrait assurer une comparaison optimale des genres aux caractéristiques similaires.

2. Terminologie

2.1. Glossaire

La taxonomie et la diagnose des diatomées font appel à de nombreux termes spécifiques dont les définitions sont présentées ci-dessous. Les espèces étant couramment décrites en anglais dans les ouvrages d'identification et les articles scientifiques, les termes en anglais sont également donné lorsque différents.

Aire axiale / Axial area : chez les diatomées pennées, aire hyaline (transparente), sans ponctuation, située le long de l'axe longitudinale, de chaque côté du raphé (si présent).

Aire centrale / Central area : zone située au centre de la valve, faisant partie de l'aire axiale si celle-ci est présente.

Aire hyaline (zone hyaline) / Hyaline area : zone non perforée de la valve, sans ornementation, transparente.

Annuiae : structure composée d'une à quatre rangées de stries perpendiculaires à l'axe longitudinal, formant deux bandes de part et d'autre du raphé dans sa position terminale. Cette structure, plus ou moins visible, est caractéristique du genre *Geissleria*.

Apex : extrémité de la valve pour les diatomées pennées ; appelée également pôle. Chez les espèces du genre *Gomphonema*, dont les valves sont hétéropolaires, l'extrémité la plus large est dite "apicale" alors que l'extrémité la plus fine est dite "podale".



Aréoles / **Areola** : perforations dans la paroi de la valve, recouvertes à l'intérieur et/ou à l'extérieur d'une fine membrane de silice perforée, le velum. Latin : areola (singulier)/areolae (pluriel).

Basionyme : premier nom scientifique accordé à un taxon, en général lors de sa description.

Canal raphéen / Raphe canal : structure de forme cylindrique, situé la plupart du temps en bordure de la valve, communiquant avec l'extérieur par le raphé et séparé plus ou moins complètement de l'intérieur du frustule.

Capité / Capitate : terme utilisé pour caractériser une forme particulière que peut prendre une valve aux pôles : un resserrement, un col, juste avant l'extrémité arrondie.

Carène / Keel : structure située en bordure de valve, semblable à une crête saillante, à l'intérieur de laquelle passe le raphé.

Cavum / Hood : extension siliceuse en forme de capuche sur la face interne de la valve. Retrouvé chez certaines espèces de *Planothidium*, où il recouvre l'intérieur de la partie asymétrique de l'aire centrale de la valve sans raphé.

Champ apical de pores / Apical pore field : à l'extrémité de la valve, zone constituée de petits pores, généralement disposés en rangées longitudinales.

Cingulum (ou ceinture connective) / Girdle : bandes de silice entourant la cellule et reliant les deux valves du frustule de la diatomée. Selon les espèces, le cingulum est plus ou moins large, absent chez certaines espèces.

Claviforme / Clavate : en forme de massue.

Cloison polaire / Pseudoseptum : plaque siliceuse formant une cloison interne située aux apex, visible par transparence ou sur la face interne de la valve.

Conopeum : fine couche de silice hyaline ou finement poreuse qui recouvre les stries en vue externe. Disposé à plat ou surélevé, le long de l'axe apical.

Côtes (costa/costae) : ornementations de la valve, épaississements siliceux allongés.

Epilithique / Epilithic : vivant sur un substrat rocheux (pierres, blocs,...).

Epine / Spine : structure solide en forme d'épine à la surface de la valve, isolée ou multiple, servant éventuellement à la fixation des diatomées entre elles et à la formation de chaines.

Epipélique / Epipelic : vivant sur ou dans un sédiment fin (sables, vases ou boues).

Epiphyte / Epiphytic : vivant sur des végétaux ou d'autres algues.

Extrémité distale / Distal raphe : se dit de l'extrémité du raphé située vers le pôle de la valve.

Extrémité proximale / Proximal raphe : se dit de l'extrémité du raphé située vers le centre de la valve.

Face dorsale / dorsal side : chez les genres asymétriques sur le plan apical, côté de la valve le plus large et le plus convexe.

Face ventrale / Ventral side : chez les genres asymétriques sur le plan apical, côté de la valve le plus étroit et le plus droit.

Fascia : bande transapicale sans ponctuation, située au milieu de la valve. Un stauros est un fascia.

Fibules / Fibulae : épaississements de silice, semblable à des piliers, reliant chaque bordure du raphé et situés à espace plus ou moins régulier le long du raphé (concerne les genres *Nitzschia, Denticula et Surirella*).

Fissure terminale / Terminal fissure : dernière partie du raphé située à l'extrémité distale, pouvant parfois montrer des formes particulières (en baïonnette, courbée,...).



Frustule : squelette siliceux des diatomées, protégeant la cellule et composé de deux valves (épivalve : partie supérieure et hypovalve : partie inférieure) s'emboitant l'une dans l'autre à la façon d'une boîte de camembert.

Fultoportula : structure tubulaire plus ou moins marquée, chez certaines diatomées centriques, composée d'un tube central et de 2 à 5 pores "satellites", par laquelle s'effectue la sécrétion de substances permettant la flottabilité ; sur la face externe de la valve, cette structure peut apparaître complètement ou n'être visible que par un simple pore.

Hélictoglosse / Helictoglossa : structure généralement en forme de "lèvres", située de part et d'autre de l'extrémité distale du raphé en face interne de la valve et présente chez de nombreuses diatomées possédant un raphé.

Holotype : spécimen ou illustration utilisé ou désigné comme type nomenclatural.

Lancéolé / Lanceolate : terme utilisé pour caractériser la forme de la valve ou une aire axiale aux pôles : en forme de fer de lance.

Lectotype : spécimen ou illustration désigné comme type nomenclatural lorsque l'holotype est absent ou non défini lors de la publication.

Linéoles / Lineolae : aréoles ayant une forme allongée dans le sens apical, caractéristiques du genre *Navicula* sensu stricto ou de *Navicula* du groupe des "linéolées".

Macroaréoles / Macroareolae :

Manteau / Mantle : bordure de la valve (partie recourbée) en contact avec le cingulum.

Nodule central / Central nodule : épaississement siliceux situé entre les pores centraux externes du raphé.

Partectum : chambre marginale sur le côté intérieur de la valvocupula, aussi appelée chambre ou locule. Plusieurs chambres alignées sur le pourtour de la valve forment l'anneau partectal, présent uniquement chez le genre *Mastogloia*.

Pore : petite perforation simple dans la paroi de la valve, sans velum.

Pores centraux du raphé / Raphe central pore : terminaisons centrales des deux branches du raphé, dans l'aire centrale.

Puncta (point) : terme général utilisé pour caractériser une petite perforation dans la paroi de la valve sans plus de connaissance sur les particularités de la structure.

Raphé / Raphe : fente dans la paroi de la valve, plus ou moins longue, généralement située dans l'axe apical de la valve, mettant en contact la cellule et le milieu extérieur et jouant un rôle dans la locomotion des diatomées.

Rimoportula : structure tubulaire traversant la valve, en général en forme de lèvres sur la face interne de la valve et représentée par une ouverture simple ou un tube sur la face externe de la valve, permettant la sécrétion de polysaccharides ou d'autres molécules carbonées.

Rostré / Rostrate : terme utilisé pour caractériser une forme particulière que peut prendre une valve aux pôles : rétrécissement brusque et forme étirée.

Septum : feuille de silice occluant en partie le centre d'une ceinture connective.

Stauros : interruption des stries au niveau de l'aire centrale formant une zone hyaline du centre de la valve jusqu'au manteau (en forme de "nœud papillon").

Sternum : épaississement de silice dans l'axe apical des diatomées pennées, pouvant contenir le raphé si ce dernier est présent et formant donc le raphé-sternum.

Stigma : ouverture ou perforation située dans l'aire centrale de la valve, dont l'ouverture sur la face externe est ronde et sur la face interne en forme de lèvres. Structure différente des aréoles. Pluriel : stigmata.

Strie / Striae : rangée d'aréoles ou de points. Les stries peuvent être parallèles, transversales, radiales, radiantes, convergentes.



GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

Strie bisériée / Biseriate : strie composée de deux rangées d'aréoles (ou de points).

Strie multisériée / Multiseriate : strie composée de plusieurs rangées d'aréoles (ou de points).

Strie unisériée / Uniseriate : strie composée d'une seule rangée d'aréoles (ou de points).

Sulcus : structure caractéristique du genre *Aulacoseira*, visible en vue connective. Il s'agit d'un sillon circulaire situé sur le manteau de la valve et séparant le collum, aire hyaline du manteau, et la zone d'aréoles.

Valves : structures siliceuses (2 pièces) formant le frustule et s'emboitant à la façon d'une boîte de camembert (fond et couvercle). Chaque valve est composée de la "face" et du "manteau".

Valvocopula : première bande connective liée à la valve, en contact direct avec la valve.

Velum : opercule de silice ou plaque poreuse recouvrant une aréole.

Vue connective (ou vue cingulaire) / Girdle view : frustule vu de profil, permettant l'observation directe d'une partie du manteau et de la ceinture connective (cingulum).

Vue valvaire / Valve view : frustule vu de face, permettant l'observation directe de la valve.



2.2. Guide terminologique illustré

Des photos prises en microscopie optique et électronique illustrent les termes les plus couramment employés (Adapté de Asconit C. & IRSTEA. 2013. Guide méthodologique pour la mise en œuvre de l'Indice Diatomique Antilles. Volume 1. Rapport pour les Offices de l'eau et DEAL 971 et 972. pp.135).









GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES





GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES



Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique







Guide d'identification des diatomees marines benthiques

2.3. Caractères généraux des principaux genres

Les inventaires réalisés sur 97 échantillons ont permis de dénombrer 784 espèces réparties dans 127 genres. Parmi les 127 genres, 22 sont des centriques, 29 des Araphidées, 9 des Monoraphidées, et 67 des Biraphidées. Le genre dominant en nombre d'espèces est Nitzschia avec 110 espèces (14,4% du nombre total d'espèces) dont 68% d'espèces non nommées. Comme précisé ci-dessus, ce genre comprend un nombre important de spécimens de petite taille. Le plus grand nombre d'espèces se retrouve ensuite chez les genres Mastogloia et Navicula avec tous deux 71 espèces (représentant chacun 9,3 % du nombre total d'espèces) dont respectivement 21% et 48% d'espèces non nommées. Viennent ensuite les genres Amphora/Halamphora, avec 69 espèces (9 % du nombre total d'espèces), regroupés en une seule catégorie car la distinction entre les deux genres est difficile en microscopie optique et certaines espèces très similaires n'ont pas toutes fait l'objet d'une recombinaison vers le genre Halamphora. Les autres genres comprenant entre 10 et 50 espèces sont Cocconeis, Diploneis, Fallacia, Gyrosigma, Licmophora, Rhopalodia et Achnanthidium (Fig. 1). En termes d'abondance, i.e. nombre de valves comptées, le genre Nitzschia est largement dominant puisqu'il représente 30,9% de l'abondance totale (49 699 valves). Puis viennent les genres Amphora/Halamphora et Mastogloia représentant respectivement 9,9 et 9,2% de l'abondance totale. Malgré le nombre élevé d'espèces dans le genre Navicula, ce dernier ne compte que pour 3,5 % de l'abondance totale tandis que le genre Koernerella qui ne compte qu'une espèce présente une abondance qui s'élève à 5,8% de l'abondance totale (Fig. 2).

La présentation des genres et des espèces des sections suivantes suit l'ordre utilisé par Witkowski et al. (2000)¹. Les diatomées centriques sont présentées en premier, suivies des Araphidées, Monoraphidées et Biraphidées. Au sein de chaque groupe, les genres et les taxons sont organisés en fonction de leur similarité morphologique avec pour les Centriques et les Biraphidées la création de sous-groupes, inspirés du Guide iconographique pour la mise en œuvre de l'Indice Biologique Diatomée (Coste & Rosebery, 2007) et du site <u>http://westerndiatoms.colorado.edu/</u> (Identification Guide and Ecological Resource for Diatoms of the United States) :

¹ Witkowski, A., Lange-Bertalot, H., Metzeltin, D. 2000. Diatom flora of marine coast. *Iconographia Diatomologica* Vol7.





Figure 1. Genres représentés dans les inventaires par plus de dix espèces. n=nombre d'espèces





Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique



Figure 2. Importance des genres vis-à-vis du nombre total d'espèces ou de l'abondance totale.

Barre d'échelle = $10 \mu m$



Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

Caractères généraux des principaux genres

CENTRALES

VALVES CIRCULAIRES

Thala ssiosir a

Valve circulaire, à surface plate ou ondulée. Fultoportule en anneau autour du manteau ou groupés à la surface de la valve. Un rimoportule qui ouvre vers l'extérieur en un tube. Epines près des bords de la valve :

Azpeitia

Valve circulaire, plate, manteau peu épais mais distinct. Marge de la valve formant un anneau épaissit. Rimoportule central souvent présent. Aréoles en rangées radiantes, chaque aréole formée de plusieurs pores entourés d'un bord surélevé en vue externe :

Actinocyclus

Valve circulaire, surface plate. Stries radiales organisées en faisœaux. Epines marginales plus ou moins visibles. Unique pseudonodule marginal :









Valve circulaire, surface plane ou bombée couverte de petites épines ou granules. Manteau épais et non distinct de la surface valvaire. Parois lisses sans épines :

Cyclotella

Valve circulaire, surface avec ondulations. Rayons discontinus, présents en marge de la valve. Fultoportule absent ou présent en nombre variable sur la face valvaire :

Paralia

Valve circulaire, surface bien différentiée du manteau. Marques radiantes sur la surface valvaire, épines marginales :









GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

VALVES CYLINDRIQUES

Chaetoceros

Cellules rectangulaires reliées entre elles par de longues épines pour former des filaments, rectangulaires en vue connectives. Valves elliptique à linaire, surface plane ou bombée, avec un filament à chaque pôle :

Bacteriastrum

Cellules cylindriques reliées entre elles par de longues épines pour former des filaments. Valve circulaire, avec lignes de minuscules aréoles radiantes à partir du œntre. Les épines sont disposées en étoile autour de la valve :

Odontella

Valve elliptique ou lancéolée, sans séparation entre la surface et le manteau. Elévations en forme de corne à chaque pôle. Surface de la valve granuleuse ou avec des épines. Epines positionnées au centre de la valve, variables en taille :

Ardissonea

FORMES ALLONGÉES

Valve linéaire, souvent ondulée. Stries unisériées, pôles simples pouvant porter de petites aréoles. Anneau courant le long des bords de la valve :

Toxarium

Valve en forme d'aiguille, enflée aux pôles et au centre. Aréoles dispersées sur la surface de la valve. Absence de champ apicaux et de rimoportule :

Climacosphenia

Valve en forme de massue, pôles arrondis. Stries droites, unisériées, continuant sur le manteau qui est vertical. Bandes transverses sur le premier cingulum (valvocopula). Pas de sternum mais deux lignes latérales continuant autour des pôles :

FORMES DIVERSES

Eunotogramma

Valve à symétrie dorso-ventrale. Aréoles radiantes à partir d'un anneau central ou en rangée transverses, interrompues par des côtes :

Campylosira

Valve à symétrie dorso-ventrale, hétérovalvaire avec une valve convexe et l'autre concave. Aréoles simple, rondes, irrégulières ou en stries longitudinales incurvées. Petite aire centrale. Rimoportule au centre près de la marge dorsale :



















GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

Arcocellulus

Valve rectangulaire, courbée en vue connective. Frustules hétérovalvaire, la valve concave portant deux longues épines (grandes cellules). Surface valvaire avec costae et quelques pores, rangée de pores le long des marges :

Cymatosira

Valve lancéolée, pôles plus ou moins effilés. Aréoles disposées en lignes. Epines sur toute la marge de la valve. Une valve avec rimoportule en bordure ou proche du centre de la valve :

Asteromphalus

Valve discoïde à piriforme. Rayons plein distincts alternés avec zones aréolées. Un rayon différent et formant un point à partir duquel les autres rayons s'organisent :

Triceratium

Valve triangulaire ou carrée, surface valvaire plane ou légèrement convexe. Aréoles séparées par des chambres, rangée de pores radiantes depuis un anneau central :

Lampriscus

Valve triangulaire ou carrée, pseudocelli surélevés par rapport à la surface de la valve :

Biddul phiopsis

Valve ovale à subcirculaire, manteau profond. Valve légèrement convexe au milieu. Aréoles devenant organisées au-delà de la zone centrale :

Isthmia

Valve linéaire à elliptique, parfois sub-rostrée. Stries unisériées, parallèle à légèrement radiées. Champ apicaux de pores. Sternum étroit ou élargit au centre de la valve :

















GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

PENNALES ARAPHIDES

Perissonoë

Valve quadrangulaire ou triangulaire, marges ondulées à droites. Surface valvaire plane bien différenciée du manteau. Sternum en forme de croix imparfaite partant du centre. Stries unisériées, orientée à 90° par rapport aux bords. Amas de petites aréoles aux angles de la valve :

Podocystis

Valve hétéropolaire, obovée. Stries bi ou multisériées, aréoles circulaires. Sternum distinct, un rimoportule à chaque pôle sans ouverture externe :

Delphineis

Valve allongée, elliptique ou diculaire. Stries unisériées, parallèles à radiantes. Sternum proéminent. Deux petits pores à chaque extrémités du sternum et un rimoportule excentré :

Psammodiscus

Valve circulaire à elliptique, surface plane. Aréoles espacées ou en rangées radiantes. Sur le manteau, aréoles plus petites et plus rapprochées. Petit pore généralement présent proche du centre, parfois présence d'un rimoportule positionné proche du centre et aligné à l'extrémité d'une des rangées radiantes d'aréoles:

Diplomenora

Valve circulaire à elliptique. Stries radiantes, aréoles devenant plus rapprochées vers les pôles et plus petites sur le pourtour. Sternum discret, rimoportule près du bord, variable en nombre :

Dimeregramma

Valve linéaire à elliptique, quelquefois subrostrée. Stries unisériées, parallèles à légèrement radiées. Champ apicaux de pores. Sternum étroit ou élargit au centre de la valve :

Striatella

Valve lancéolée. Strie unisériées formant des motifs en diamant. Champ de pores apicaux plus bas que la surface de la valve. Sternum présent et rimoportule apicalement allongé à chaque pôle:

Synedrosphenia

Valve allongée, hétéropolaire. Pôle apical cunéiforme. Stries unisériées, partant de chaque bordure et se rejoignant avec un décalage au centre de la valve. Pas de sternum ni rimoportule :

Licmosphenia

Valve hétéropolaire, cunéiforme ou claviforme. Pôle basal capité.

















GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

Bleakeleya

Valve hétéropolaire, un pole enflé. Champ apical de pores basal séparé du reste de la valve par une crête. Pores du champ plus petits, en stries radiantes. Rimoportule allongé transapicalement :

Koernerella

Valve hétéropolaire, un pole enflé. Champ apical de pores basal séparé du reste de la valve par une crête plate. Pores du champ similaire aux autres pores, en stries radiantes. Rimoportule allongé apicalement :

Perideraion

Valve hétéropolaire, un pole enflé. Champ apical de pores basal séparé du reste de la valve par une crête plate. Pores du champ plus petits, en stries parallèles dans le sens apical. Rimoportule décalé sur le manteau :

Licmophora

Valve hétéropolaire, en forme de massue ou cunéiforme. Pôle basal capité. Stries unisériées parallèles devenant radiantes vers le pôle apical. Sternum présent, un ou plusieurs rimoportule à chaque pôle :

Falcula

Valve courbée linéaire, lunée, devenant plus fine vers les pôles. Stries unisériées, sternum fin sur le côté convexe. Rimoportule allongé transapicalement à un pôle, séries d'incisions décalés du centre à chaque pôle :

Hyalosynedra

Valve linéaire, pôles capités. Stries unisériées, petites aréoles. Champ de pores apical sur le manteau, avec des épines sur le bord supérieur. Sternum étroit, rimoportule au-delà de la dernière strie :

Tabularia

Valve lancéolée, fortement silicifiée. Stries larges, généralement en forme de V. Sternum large. Champ de pores à chaque pôle :

Fragilaria

Valve linéaire, linéaire-lancéolée ou elliptique, pôles capités. Stries unisériées. Sternum linéaire ou lancéolé, souvent élargit au centre de la valve. Champ de pores et rimoportule à chaque pôle :

Staurosira

Valve elliptique ou cruciforme. Stries étroites, pas en face les unes des autres, composées de petites aréoles. Absence de rimoportule :

Stauroforma

Valve petite, elliptique à linéaire, pas élargie au centre. Stries continues d'un bord à l'autre. Absence de rimoportule :























Staurosirella

Valve elliptique, linéaire ou cruciforme. Stries composées de linéoles. Champ de pores à chaque pôle, absence de rimoportule :

Opephora

Valve hétéropolaire, claviforme. Stries formées par des macroaréoles. Champ de pores à chaque pôle. Sternum étroit à large :

Thalassionema

Valve linéaire, pôles arrondis. Aréoles uniquement en marge de la valve, ouvertures barrées par une ligne simple ou en Y. Rimoportule à chaque pôle :

Neofragilaria

Valve elliptique, linéaire-lancéolée, souvent resserrée au centre. Pôles rostrés à capités. Stries unisériées, sternum distinct. Champ de pores plus ou moins présent. Rimoportule unique aligné avec une strie :

Pteroncola

Valve linéaire à elliptique, surface valvaire renflée et s'incurvant vers un profond manteau. Aréoles séparées par des crêtes extérieurement, intérieur plein avec une rangée d'ouverture en marge de la valve. Champ de pores et rimoportule ouvert transapicalement à chaque pôle. Sternum absent :

Rhabdonema

Valve linéaire à lancéolée, surface plane, manteau profond. Cingulum complexe formé de nombreux septa. Stries unisériées, aréoles rondes ou elliptiques. Champ de pores larges, présence possible de rimoportules le long du sternum. Sternum invisible en vue externe et massif en vue interne :

Grammatophora

Valve carrée à rectangulaire en vue connective, septa ondulés sur le premier cingulum. Valve allongée, plus ou moins ondulée. Champs de pores et un rimoportule à chaque pôle. Sternum invisible :

Hyalosira

Valve allongée avec renflement de la partie centrale, pôles capités ou cunéiformes. Stries transapicales unisériées, ponctuées, parallèles. Champ de pores apicaux, un rimoportule à chaque pôle avec ouverture externe non visible. Sternum étroit peu visible :

Neosynedra

Valve allongée, linéaire, avec renflement de la partie centrale ou uniformément ondulée. Pôles capités ou rond. Stries unisériées. Champ de pores apicaux formés de pores allongés. Sternum étroit peu visible :





















GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

Cyclophora

Valve linéaire, pôles légèrement capités. Stries unisériées, une valve avec épaississement central en forme d'œil. Champ de pores apicaux formés de fentes allongées et incurvées. Rimoportule sur un côté du sternum, transapicallement allongé. Sternum surélevé sur la face interne :

PENNALES MONORAPHIDES

rnum,

Valve elliptique à lancéolée. Sur la VAR, stries fines radiantes, aréoles allongées transapicallement; sur la VSR, stries robuste et parallèles, aréoles dirculaires. Axe œntral étroit sur les deux valves :

Planothidium

Karayevia

Valve elliptique à lancéolée, pôles ronds, rostrés ou capités. VAR avec stries radiantes, axe central étroit linéaire et aire centrale rectangulaire ou en forme de papillon. VSR avec la même densité de stries mais radiantes à parallèles, peut présenter une aire centrale asymétrique avec un cavum :

Achnanthes

Valve linéaire, elliptique ou lancéolée. Stries uni, bi ou trisériées. Aires centrales variables, pouvant être en forme de fascia sur la VAR. Sternum parfois excentré sur la VSR. VSR parfois similaire à la VAR, ou avec striation plus robuste :

Achnanthidium

Valve de petite taille, linéaire, lancéolée ou elliptique. Stries unisériées, radiantes sur la VAR, radiantes à parallèles sur la VSR. Sur la VAR, aire centrale parfois distincte par des stries plus espacées au centre :

Astartiella

Valve elliptique-lancéolée, lancéolée ou linéaire-elliptique, pôles cunéiformes ou arrondis. Stries formées de linéoles. VAR avec raphé droit, un ou plusieurs stigma au niveau de l'aire centrale. VSR avec sternum étroit, stries parallèle à radiantes :

Cocconeis

Valve elliptique ou circulaire. Stries généralement unisériées, formées de petites aréoles rondes. Raphé et sternum droit à sigmoïde. Stries de la VAR souvent interrompue par un anneau hyalin en marge de la valve :

Amphicocconeis

Valve elliptique. VAR avec stries épaisses, fortement radiantes, terminaisons distales du raphé avec fissure marquée :

















GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

Psammococconeis

Valve elliptique. VAR avec stries épaisses, fortement radiantes. VSR avec deux types d'aréoles près de la marge de la valve, aréoles allongées et bandes dépourvues d'ornementations :

Campyloneis

Valve elliptique ou circulaire. Surface valvaire de la VAR concave, stries unisériées, raphé central. VSR avec aréoles ouvertes sur de profondes chambres, plus larges autour du sternum :





PENNALES BIRAPHIDES

SYMETRIE BILATÉRALE ISOPOLAIRE

Amicula

Valve elliptique à linéaire-elliptique, pôles arrondis. Stries limitées à la zone marginale. Aire axiale large, elliptique. Raphé droit, terminaisons distales positionnées avant les extrémités :

Cocconeiopsis

Valve circulaire à linéaire-elliptique. Stries ponctuées. Raphé filiforme, surélevé sur la face interne. Extrémité distale du raphé en forme de bulbe, assez éloigné du bord de la valve :

Fallacia

Valve linéaire, lancéolée à elliptique, pôles arrondis. Strie unisériées interrompues par des aires hyalines verticales plus ou moins épaisses. Striés recouvertes par un canopeum en vue externe. Aire axiale étroite, extrémités distales du raphé simple ou en T :

Lyrella

Valve large linéaire ou lancéolée, pôles arrondis ou rostrés. Stries épaisses, unisériées, aréoles rondes. Stries interrompues par une aire hyaline en forme de lyre, enfoncée par rapport à la surface de la valve. Raphé central, droit, extrémités proximales dans des gorges lancéolées :

Diploneis

Valve linéaire à elliptique, plus ou moins cintrée au centre. Pôles largement arrondis. Stries complexes à aréoles larges transapicalement allongées. Raphé avec canaux longitudinaux de part et d'autre, ouverts vers l'extérieur uniquement par une rangée de petits pores :













GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

Stauroneis

Valve lancéolée à elliptique, souvent capitée. Stries unisériées, petites aréoles rondes. Aire centrale avec un stauros épais atteignant les marges. En vue interne, raphé parfois bordé de crêtes longitudinales :

Craspedostauros

Valve linéaire-elliptique à lancéolée, pôle arrondis. Stries invisibles, parallèles à légèrement convergentes, aréoles plus larges proche du raphé. Stauros étroit :

Diadesmis

Valve petite linéaire ou linéaire-lancéolée, pôle arrondis. Stries courtes, unisériées formées d'aréoles transapicalement alongées. Jonction valve –manteau ornée d'une crête siliceuse ou de courtes épines. Aire axiale large :

Nupela

Genre hétérovalvaire, avec un valve présentant un raphé réduit ou absent. Valve petite lancéolée, légèrement asymétrique. Stries fines, aire centrale asymétrique qui peut s'étendre jusqu'au bord de la valve. :

Eolimna

Valve petite, ovoïde. Présence d'un sternum central étroit, raphé droit, aire axiale étroite :

Sellaphora

Valve linéaire, lancéolée ou elliptique. Pôle arrondis. Stries fines unisériées. Aire axiale distincte, étendue le long de l'axe apical chez certaines espèces. Aires hyalines aux pôles pour d'autres espèces :

Chamaepinnularia

Valve petite, linéaire à finement elliptique. Pôles ronds ou subcapités. Stries radiantes au centre devenant convergentes vers les pôles. Larges aréoles, partiellement occultées extérieurement. Raphé central et droit, aire centrale présente :

Olifantiella

Valve petite, elliptique à lancéolée. Pôles arrondis, apiculés ou rostrés. Stries parallèles à légèrement radiantes, macroaréoles. Processus labié au niveau de l'aire centrale, sur les deux valves :

Germainiella

Valve linéaire, lancéolée à elliptique. Un conopeum recouvre la surface valvaire et une partie du manteau. Raphé bordé de part et d'autre par une série de petits pores :

Moreneis

Valve elliptique à linéaire-elliptique, pôles rostrés. Stries unisériées. Aire axiale étroite, aire centrale élargie. Raphé droit, devenant modérément à très excentrique vers les pôles :























GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

Petroneis

Valve fortement silicifiée, large linéaire à elliptique, pôles souvent rostrés. Stries unisériées, radiantes formées de grosses aréoles rondes ou transapicalement allongées. Raphé droit, aire œntrale ronde ou rectangulaire :

Navicula

Valve lancéolée à linéaire, pôles cunéiformes, rostrés ou capités. Stries généralement unisériées, linéoles. Striation longitudinale due à l'alignement des linéoles des stries adjacentes. Raphé droit, extrémités proximales en crochet ou pore, extrémités distales en crochet prononcé :

Haslea

Valve lancéolée. Stries unisériées, aréoles carrées ou rectangulaires en vue interne, recouvertes extérieurement par des bandes continues. Chez certaines espèces, stries centrales rapprochées pour former un pseudostauros :

Proschkinia

Valve étroitement lancéolée ou linéaire. Pôles apiculés à légèrement capités. Stries espacées au centre et présence d'une côte épaissie. Raphé généralement légèrement excentré, extrémités distales en forme de crochet courbé du même côté aux deux pôles :

Fogedia

Valve linéaire à elliptique, pôles ronds obtus ou apiculés. Stries simples souvent entrecoupées d'une aire hyaline parallèle au raphé, linéoles, . Raphé simple :

Naviculadicta

Valve petite et étroite, linéaires à lancéolées, pôles rostrés ou capités. Stries généralement fines et ponctuées :

Hippodonta

Valve elliptique, linéaire ou lancéolée. Stries distinctes larges uni ou bisériées, linéoles ou aréoles rondes. Aire axiale large, épaississement de silice aux pôles :

Luticola

Valve linéaire, lancéolée ou elliptique. Pôles arrondis ou capités. Stries unisériées, fortement ponctuées. Stauros central, stigma unique sur un côté. Extrémités proximales du raphé courbées dans le sens opposé au stigma :

Brachysira

Valve linéaire, lancéolée ou arrondie. Pôles arrondis ou capités. Stries unisériées, ponctuées et formant des ondulations longitudinales. Raphé entouré extérieurement de crêtes longitudinales :





















GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

Frustulia

Valve linéaire-lancéolée à lancéolée, pôles parfois capités. Stries parallèles, unisériées, invisibles. Raphé droit ou bi-arqué, sternum portant des crêtes de silice proéminentes. Extrémités distales en forme de rostre étiré :

Geissleria

Valve elliptique, linéaire-elliptique ou elliptique-lancéolée. Pôles obtus, rond ou parfois capités, présentant un annulae. Stries formées de linéoles. Stigma souvent présent près du nodule central. Raphé droit, extrémités distales simples ou recourbées :

Oestropia

Valve similaire à *Pinnularia* et *Caloneis*. Côtes longitudinales interrompant les chambres transapicales et formant des bandes hyalines :

Biremis

Valve linéaire, à symétrie bilatérale ou dorsi-ventrale. Stries complexes formées de deux chambres allongées transapicalement. Raphé central ou excentré, droit ou bi-arqué, sternum large :

Pinnularia

Valve linéaire, lancéolée ou elliptique, aux bord parfois ondulés. Pôles arrondis ou capités. Stries multisériées et compartimentées. Partie interne de la valve couverte d'une plaque siliœuse pleine. Raphé central, terminaisons distales en longs crochets. Aire centrale pouvant être développée sur un côté ou les deux :

Trachyneis

Valve linéaire à linéaire-elliptique, pôles arrondis. Stries unisériées, formées de linéoles. Raphé droit, terminaisons distales en crochet. Aire centrale large ovale ou en papillon:

Diatomella

Valve linéaire à elliptique, pôles arrondis. Stries bisériées, alvéolées. Extrémités proximales du raphé largement éloignées l'une de l'autre :

Caloneis

Se différencie de *Pinnularia* seulement en ayant des stries non ou très finement ponctuées, parallèles à divergentes (et non convergentes):

Parlibellus

Valve lancéolée à linéaire, pôles arrondis. Stries unisériées, pouvant être plus espacées vers le centre. Aréoles petites, poroïdes. Aire centrale ovale, ponctuée de petits pores. Terminaisons distales du raphé tournées vers le même côté :

Stenoneis

Valve linéaire, pôles arrondis pouvant être capités. Stries unisériées, aréoles petites poroïdes. Sternum portant des crêtes longitudinales sur la face interne :























GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

Mastogloia

Valve linéaire à elliptique, pôles plus ou moins apiculés. Raphé souvent sinueux, avec parfois des extensions le recouvrant. Stries uni ou bisériées, pouvant être interrompues par une aire hyaline. La première bande connective porte des chambres :

Berkeleya

Valve linéaire à linéaire-lancéolée, pôles ronds ou légèrement capités. Branches du raphé courtes, terminaison proximale interne en helictoglosse. Stries unisériées radiantes vers les pôles, aréoles plus larges près du sternum :

Gyrosigma

Valve sigmoïde, linéaire ou lancéolée. Stries parallèles entrecoupées à 90° par des incisions longitudinales, formées d'aréoles rondes ou ovales. Raphé sigmoïde :

Pleurosigma

Valve sigmoïde, linéaire ou lancéolée. Stries entrecoupées par des incisions longitudinales formant un angle différent de 90°. Raphé sigmoïde, souvent plus que la valve elle-même :

Donkinia

Valve linéaire-lancéolée ou linéaire, légèrement sigmoïde. Souvent en vue connective. Pas de différenciation entre la face valvaire et le manteau. Raphé très sigmoïde, en vue connective les bords du raphé ne sont pas vus sur le même plan :

Plagiotropis

Valve de forme variable, pouvant être compressée latéralement. Stries longitudinales et transverses. Raphé au sommet d'une carène surélevée qui s'abaisse au centre de la valve :

SYMETRIE BILATÉRALE HÉTÉROPOLAIRE

Gomphonema

Valve hétéropolaire linéaire à lancéolée avec pôle basal étroit et pôle apical plus large rostré ou capité. Stries unisériées, aréoles réniformes. Un ou plusieurs stigma parfois présent sur un côté de l'aire centrale. Raphé droit ou légèrement sinueux, partie apicale plus courte que partie basale. Champ de pores apicaux présents. Terminaisons distales légèrement courbées :

Gomphonemopsis

Valve hétéropolaire, linéaire à linéaire-lancéolée, pôle basal arrondi. Stries uniériées, aréoles transapicalement allongées. Pole basal avec rangée de petits pores. Raphé droit :



















GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

Catenula

SYMETRIE DORSI-VENTRALE

Valve semi-lancéolée, marge ventrale droite et marge dorsale convexe. Pôles pouvant être rostrés. Stries unisériées, remplies de siliœ sur la faœ valvaire. Raphé droit proche de la marge ventrale, terminaisons proximales distantes l'une de l'autre et terminaisons distales à une certaine distance des pôles :

Encyonema

Valve à symétrie plus ou moins dorsi-ventrale, pôles arrondis, parfois rostrés. Stries unisériées, intérieurement disposées entre des crêtes transapicales. Terminaisons distales du raphé incurvées côté ventral :

Encyonopsis

Valve légèrement courbée dorsi-ventralement.

Stries unisériées. Stigma parfois présent sur le côté dorsal de l'aire centrale. Terminaisons distales du raphé incurvées côté ventral :

Amphora

Valve en quartier d'orange, parfois resserrée au centre ou près des pôles. Manteau profond sur la marge dorsale avec une crête pour séparer la surface valvaire du manteau. Stries uni ou bisériées, aréoles complexes. Aire hyaline dorsale. Raphé excentrique près de la marge ventrale, bi-arqué, avec un rebord de chaque côté :

Halamphora

Valve modérément à fortement asymétrique. Manteau profond sur la marge dorsale. Aire hyaline dorsale absente. Raphé excentrique près de la marge ventrale, avec un rebord uniquement du côté dorsal :

Seminavis

Valve semi-lancéolée, marge ventrale droite ou légèrement courbée. Stries entre des crêtes transapicales proéminentes. Aire axiale plus large côté dorsal que ventral, terminaisons proximales du raphé tournées vers la face ventrale et inversement pour les terminaisons distales :

Thalassiophysa

Valve compressée dorso-ventralement. Raphé fortement caréné, au sommet de la crête près des pôles et se courbant vers la face ventrale au centre. Crête siliceuse pointue au centre, dans le prolongement du repli :

Climaconeis

Valve linéaire étroite, linéaire-lancéolée. Pôles arrondis ou légèrement capités, centre parfois renflé. Stries unisériées, aréoles rondes ou ovales, parfois présence de bande craticulaire ou de stauros. Raphé droit ou biarqué, terminaisons distales en helictoglosse:

















GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

Okedenia

Se distingue de *Climaconeis* par la morphologie des chloroplastes, en forme de H :

RHOPALODIALES (SYMETRIE DORSI-VENTRALE, RAPHÉ EN MARGE)

Rhopalodia

Valve à symétrie dorsi-ventrale, en forme de quartier d'orange plus large du côté dorsal. Stries uni à multisériées, côtes transapicales robustes. Raphé proche de la marge dorsale, sur une carène surélevée :

Protokeelia

Valve en demi-lune, pôles finement rostrés à largement arrondis, surfaœ valvaire présentant des dépressions. Stries bisériées, parallèles à radiantes. Raphé le long de la marge dorsale, sur une crête surélevée :

SURIRELLALES (SYMETRIE BILATÉRALE, RAPHÉ SUR LE POURTOUR DE LA VALVE)

Entomoneis

Valve bilobée, torsadée sur l'axe apical, souvent en vue connective. Stries bi ou multisériées. Raphé avec un système de canal ou de fibules :

Auricula



Plagiodiscus

Valve réniforme. Côtes prononcées orientées vers le centre de la valve et fusionnant avec une côte longitudinale. Raphé tout autour de la valve, terminant sur la marge convexe :

Surirella

Valve isopolaire ou hétéropolaire, linéaire à elliptique ou obovée, surface avec des ondulations dans le sens apical. Stries multisériées comprises entre des crêtes plus épaisses, petites aréoles rondes. Raphé sur surélevé sur une carène tout autour de la valve, terminaisons distales aux pôles :

Petrodictyon

Valve ovale. Stries unisériées, aréoles carrées. Côtes transapicales fusionnant au centre pour former un sternum longitudinal, et pour former des fibules à la jonction avec la marge. Raphé tout autour de la valve :

Campylodiscus

Valve en forme de selle, convexe dans le sens apical et concave dans le sens transapical, les plans de deux valves positionnés à 90° l'un de l'autre. Stries interrompues par une zone centrale hyaline. Raphé surélevé sur une carène tout autour de la valve :















GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

Diatomée marines benthiques des zones côtières de la Martinique

BACILLARIALES (SYMETRIE BILATÉRALE, RAPHÉ DANS UN CANAL SUPPORTÉ PAR DES FIBULES)

Denticula

Valve linéaire ou lancéolée, pôles arrondis ou légèrement rostrés. Stries uni et bisériées, petites aréoles rondes. Raphé avec fibules et quelque uns plus massifs formant des divisions allant d'un côté à l'autre de la valve :

Fragilariopsis

Valve linéaire, linéaire-lancéolée ou elliptique. Pôles arrondis. Face valvaire ondulée, avec des crêtes. Stries parallèles, devenant radiées aux pôles, reposant entre des crêtes transapicales. Petites aréoles rondes. Raphé très excentrique, avec ou sans terminaisons proximales. Fibules non visibles :

Nitzschia

Valve droite ou sigmoïde, étroite, linéaire, lancéolée ou elliptique. Pôles rostrés ou capités. Stries unisériées, petites aréoles rondes. Raphé légèrement à très excentrique, avec fibules, continu ou présentant des terminaisons proximales. Distribution et forme des fibules très variable :

Tryblionella

Valve elliptique, linéaire ou panduriforme. Pôles apiculés ou arrondis. Face valvaire avec des crêtes, ondulée. Stries interrompues par un sternum. Raphé très excentrique, caréné avec fibules :

Psammodictyon

Valve panduriforme ou linéaire large. Stries souvent interrompues par un sternum ou aire hyaline :

Ceratoneis

Frustule très étroit en forme d'aiguille, légèrement silicifié. Valves enroulées l'une autour de l'autre, formant un frustule torsadé :

Cymbellonitzschia

Valve semi-lancéolée, marge ventrale plate et marge dorsale convexe. Stries unisériées formées de petites aréoles rondes, devenant bisériées vers le raphé. Raphé avec fibules, excentré sur la marge dorsale ou ventrale et du même côté pour les deux valves. Terminaison proximales du raphé distantes l'une de l'autre :

Bacillaria

Valve linéaire ou linéaire-lancéolée, pôles rostrés ou capités. Stries unisériées, petites aréoles rondes. Raphé central ou presque, légèrement caréné, continu d'un pôle à l'autre. Sternum avec une crête proéminente extérieurement :

















GUIDE D'IDENTIFICATION DES DIATOMEES MARINES BENTHIQUES

ANNEXE 2. RESULTATS BRUTS D'INTERCALIBRATION
Annexe2. Résultats bruts d'intercalibration, avec les seuils et méthodes appliqués pour chaque paramètre par laboratoire.

Code station	Camp- agne	Date de prélèvement	Paramètre mesuré	Valeur du paramètre mesuré	Unité	LQ	<lq< th=""><th>Labo</th><th>Conservation</th><th>Méthode</th></lq<>	Labo	Conservation	Méthode
BTR9	9	14-août-12	Chla	0,4	μg I-1	0,1		Ecolab	Filtré + -80°c	méthode colorimétrique + équation trichromatique
CGA9	9	08-août-12	Chla	0,2	µg l-1	0,1		Ecolab	Filtré + -80°c	méthode colorimétrique + équation trichromatique
LMI9	9	14-août-12	Chla	0,3	µg l-1	0,1		Ecolab	Filtré + -80°c	méthode colorimétrique + équation trichromatique
SAM9	9	07-août-12	Chla	0,8	µg l-1	0,1		Ecolab	Filtré + -80°c	méthode colorimétrique + équation trichromatique
SDE9	9	14-août-12	Chla	1,8	µg l-1	0,1		Ecolab	Filtré + -80°c	méthode colorimétrique + équation trichromatique
BTR10	10	18-sept12	Chla	0,3	µg l-1	0,1		Ecolab	Filtré + -80°c	méthode colorimétrique + équation trichromatique
CGA10	10	12-sept12	Chla	0,3	µg l-1	0,1		Ecolab	Filtré + -80°c	méthode colorimétrique + équation trichromatique
LMI10	10	18-sept12	Chla	0,5	µg l-1	0,1		Ecolab	Filtré + -80°c	méthode colorimétrique + équation trichromatique
SAM10	10	11-sept12	Chla	0,5	µg l-1	0,1		Ecolab	Filtré + -80°c	méthode colorimétrique + équation trichromatique
SDE10	10	18-sept12	Chla	1,5	µg l-1	0,1		Ecolab	Filtré + -80°c	méthode colorimétrique + équation trichromatique
BTR9	9	14-août-12	Chla	0,2	µg l-1	0,1		LDA972	Filtré + -80°c	NFT 90-117 adapté méthode Aminot et Kerouel, 2004
CGA9	9	08-août-12	Chla	0,3	µg l-1	0,1		LDA972	Filtré + -80°c	NFT 90-117 adapté méthode Aminot et Kerouel, 2004
LMI9	9	14-août-12	Chla	0,6	µg l-1	0,1		LDA972	Filtré + -80°c	NFT 90-117 adapté méthode Aminot et Kerouel, 2004
SAM9	9	07-août-12	Chla	0,6	µg l-1	0,1		LDA972	Filtré + -80°c	NFT 90-117 adapté méthode Aminot et Kerouel, 2004
SDE9	9	14-août-12	Chla	1,2	µg l-1	0,1		LDA972	Filtré + -80°c	NFT 90-117 adapté méthode Aminot et Kerouel, 2004
BTR10	10	18-sept12	Chla	0,2	µg l-1	0,1		LDA972	Filtré + -80°c	NFT 90-117 adapté méthode Aminot et Kerouel, 2004
CGA10	10	12-sept12	Chla	0,3	µg l-1	0,1		LDA972	Filtré + -80°c	NFT 90-117 adapté méthode Aminot et Kerouel, 2004
LMI10	10	18-sept12	Chla	0,6	µg l-1	0,1		LDA972	Filtré + -80°c	NFT 90-117 adapté méthode Aminot et Kerouel, 2004
SAM10	10	11-sept12	Chla	0,6	µg l-1	0,1		LDA972	Filtré + -80°c	NFT 90-117 adapté méthode Aminot et Kerouel, 2004
SDE10	10	18-sept12	Chla	1,1	µg l-1	0,1		LDA972	Filtré + -80°c	NFT 90-117 adapté méthode Aminot et Kerouel, 2004
BTR9	9	14-août-12	COD	2,11	mg l-1	0,5		Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
CGA9	9	08-août-12	COD	1,42	mg l-1	0,5		Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
LMI9	9	14-août-12	COD	1,63	mg l-1	0,5		Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
SAM9	9	07-août-12	COD	1,45	mg l-1	0,5		Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
SDE9	9	14-août-12	COD	2,17	mg l-1	0,5		Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
BTR10	10	18-sept12	COD	1,30	mg l-1	0,5		Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
CGA10	10	12-sept12	COD	1,27	mg l-1	0,5		Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
LMI10	10	18-sept12	COD	1,38	mg l-1	0,5		Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
SAM10	10	11-sept12	COD	1,26	mg l-1	0,5		Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
SDE10	10	18-sept12	COD	1,34	mg l-1	0,5		Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
BTR9	9	14-août-12	COD	0,90	mg l-1	0,5		Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
CGA9	9	08-août-12	COD	0,86	mg l-1	0,5		Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
LMI9	9	14-août-12	COD	0,65	mg I-1	0,5		Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud

								A	NNEXE 2
SAM9	9	07-août-12	COD	0,89	mg l-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
SDE9	9	14-août-12	COD	1,00	mg l-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
BTR10	10	18-sept12	COD	0,75	mg l-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
CGA10	10	12-sept12	COD	0,86	mg l-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
LMI10	10	18-sept12	COD	0,66	mg l-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
SAM10	10	11-sept12	COD	0,92	mg l-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
SDE10	10	18-sept12	COD	0,90	mg l-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
BTR9	9	14-août-12	COT	1,54	mg (C) I-1	0,5	Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
CGA9	9	08-août-12	COT	1,70	mg (C) I-1	0,5	Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
LMI9	9	14-août-12	COT	1,40	mg (C) I-1	0,5	Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
SAM9	9	07-août-12	COT	1,31	mg (C) I-1	0,5	Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
SDE9	9	14-août-12	COT	1,41	mg (C) I-1	0,5	Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
BTR10	10	18-sept12	COT	1,26	mg (C) I-1	0,5	Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
CGA10	10	12-sept12	COT	1,43	mg (C) I-1	0,5	Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
LMI10	10	18-sept12	COT	1,37	mg (C) I-1	0,5	Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
SAM10	10	11-sept12	COT	1,08	mg (C) I-1	0,5	Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
SDE10	10	18-sept12	COT	1,16	mg (C) I-1	0,5	Ecolab	4°c	Analyser TOC-5000 Shimadzu
BTR9	9	14-août-12	COT	0,99	mg (C) I-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
CGA9	9	08-août-12	COT	0,87	mg (C) I-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
LMI9	9	14-août-12	COT	0,75	mg (C) I-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
SAM9	9	07-août-12	COT	0,92	mg (C) I-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
SDE9	9	14-août-12	COT	1,09	mg (C) I-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
BTR10	10	18-sept12	COT	0,86	mg (C) I-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
CGA10	10	12-sept12	COT	0,87	mg (C) I-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
LMI10	10	18-sept12	COT	0,74	mg (C) I-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
SAM10	10	11-sept12	COT	0,93	mg (C) I-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
SDE10	10	18-sept12	COT	0,91	mg (C) I-1	0,5	Rouen	4°c	NF EN 1484 oxydation à chaud
BTR9	9	14-août-12	MES	0,5	mg l-1	0,1	Ecolab	Filtré + 4°c	balance ; four à moufle. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen
CGA9	9	08-août-12	MES	-0,4	mg l-1	0,1	Ecolab	Filtré + 4°c	balance ; four à moufle. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen
LMI9	9	14-août-12	MES	0,5	mg l-1	0,1	Ecolab	Filtré + 4°c	balance ; four à moufle. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen
SAM9	9	07-août-12	MES	-0,6	mg l-1	0,1	Ecolab	Filtré + 4°c	balance ; four à moufle. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen
SDE9	9	14-août-12	MES	2,7	mg l-1	0,1	Ecolab	Filtré + 4°c	balance ; four à moufle. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen
BTR10	10	18-sept12	MES	0,7	mg l-1	0,1	Ecolab	Filtré + 4°c	balance ; four à moufle. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen
CGA10	10	12-sept12	MES	0	mg l-1	0,1	Ecolab	Filtré + 4°c	balance ; four à moufle. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen
LMI10	10	18-sept12	MES	-0,1	mg l-1	0,1	Ecolab	Filtré + 4°c	balance ; four à moufle. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen
SAM10	10	11-sept12	MES	0,1	mg l-1	0,1	Ecolab	Filtré + 4°c	balance ; four à moufle. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen
SDE10	10	18-sept12	MES	0,8	mg l-1	0,1	Ecolab	Filtré + 4°c	balance ; four à moufle. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen

						ANNEXE 2					
BTR9	9	14-août-12	MES	0,025	mg l-1	0,5	<lq< th=""><th>Rouen</th><th>Filtré + 4°c</th><th>NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen</th></lq<>	Rouen	Filtré + 4°c	NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen	
CGA9	9	08-août-12	MES	0,025	mg l-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>Filtré + 4°c</td><td>NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen</td></lq<>	Rouen	Filtré + 4°c	NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen	
LMI9	9	14-août-12	MES	0,025	mg I-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>Filtré + 4°c</td><td>NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen</td></lq<>	Rouen	Filtré + 4°c	NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen	
SAM9	9	07-août-12	MES	0,025	mg I-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>Filtré + 4°c</td><td>NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen</td></lq<>	Rouen	Filtré + 4°c	NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen	
SDE9	9	14-août-12	MES	0,025	mg I-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>Filtré + 4°c</td><td>NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen</td></lq<>	Rouen	Filtré + 4°c	NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen	
BTR10	10	18-sept12	MES	0,025	mg I-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>Filtré + 4°c</td><td>NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen</td></lq<>	Rouen	Filtré + 4°c	NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen	
CGA10	10	12-sept12	MES	0,025	mg I-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>Filtré + 4°c</td><td>NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen</td></lq<>	Rouen	Filtré + 4°c	NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen	
LMI10	10	18-sept12	MES	0,025	mg I-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>Filtré + 4°c</td><td>NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen</td></lq<>	Rouen	Filtré + 4°c	NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen	
SAM10	10	11-sept12	MES	0,025	mg I-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>Filtré + 4°c</td><td>NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen</td></lq<>	Rouen	Filtré + 4°c	NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen	
SDE10	10	18-sept12	MES	0,025	mg I-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>Filtré + 4°c</td><td>NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen</td></lq<>	Rouen	Filtré + 4°c	NF EN 872. Filtres vierges pesés et envoyés par Rouen	
BTR9	9	14-août-12	MSSC	0,8	mg I-1			Ecolab		balance ; four à moufle	
CGA9	9	08-août-12	MSSC	0,9	mg I-1			Ecolab		balance ; four à moufle	
LMI9	9	14-août-12	MSSC	1,2	mg I-1			Ecolab		balance ; four à moufle	
SAM9	9	07-août-12	MSSC	0,7	mg I-1			Ecolab		balance ; four à moufle	
SDE9	9	14-août-12	MSSC	1,2	mg l-1			Ecolab		balance ; four à moufle	
BTR10	10	18-sept12	MSSC	0,7	mg I-1			Ecolab		balance ; four à moufle	
CGA10	10	12-sept12	MSSC	0,7	mg I-1			Ecolab		balance ; four à moufle	
LMI10	10	18-sept12	MSSC	0,9	mg I-1			Ecolab		balance ; four à moufle	
SAM10	10	11-sept12	MSSC	1	mg I-1			Ecolab		balance ; four à moufle	
SDE10	10	18-sept12	MSSC	1,1	mg I-1			Ecolab		balance ; four à moufle	
BTR9	9	14-août-12	NH4	1,21	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF T 90-15 modifié Aminot et Kérouel, 2004	
CGA9	9	08-août-12	NH4	0,43	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF T 90-15 modifié Aminot et Kérouel, 2004	
LMI9	9	14-août-12	NH4	0,54	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF T 90-15 modifié Aminot et Kérouel, 2004	
SAM9	9	07-août-12	NH4	0,34	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF T 90-15 modifié Aminot et Kérouel, 2004	
SDE9	9	14-août-12	NH4	0,45	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF T 90-15 modifié Aminot et Kérouel, 2004	
BTR10	10	18-sept12	NH4	1,17	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF T 90-15 modifié Aminot et Kérouel, 2004	
CGA10	10	12-sept12	NH4	0,33	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF T 90-15 modifié Aminot et Kérouel, 2004	
LMI10	10	18-sept12	NH4	0,25	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF T 90-15 modifié Aminot et Kérouel, 2004	
SAM10	10	11-sept12	NH4	0,47	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF T 90-15 modifié Aminot et Kérouel, 2004	
SDE10	10	18-sept12	NH4	1,27	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF T 90-15 modifié Aminot et Kérouel, 2004	
CGA5	5	08-févr12	NH4	0,05	µmol I-1	0,1	<lq< td=""><td>LDA972</td><td>pasteurisé</td><td>Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible</td></lq<>	LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible	
SAM5	5	07-févr12	NH4	0,3	µmol I-1	0,1		LDA972	, pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible	
SDE5	5	15-févr12	NH4	0,05	µmol I-1	0,1	<lq< td=""><td>LDA972</td><td>, pasteurisé</td><td>Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible</td></lq<>	LDA972	, pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible	
CGA6	6	14-mars-12	NH4	0,05	µmol I-1	0,1	<lq< td=""><td>LDA972</td><td>pasteurisé</td><td>Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible</td></lq<>	LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible	
SAM6	6	13-mars-12	NH4	0,05	µmol I-1	0,1	<lq< td=""><td>LDA972</td><td>pasteurisé</td><td>Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible</td></lq<>	LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible	
SDE6	6	21-mars-12	NH4	0,34	µmol I-1	0,1		LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible	
BTR9	9	14-août-12	NH4	0,18	µmol I-1	0,1		LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible	
				, -	•				• • • • •		

									Ann	EXE 2
CGA9	9	08-août-12	NH4	0,2	µmol I-1	0,1		LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
LMI9	9	14-août-12	NH4	0,18	µmol I-1	0,1		LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
SAM9	9	07-août-12	NH4	0,09	µmol l-1	0,1		LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
SDE9	9	14-août-12	NH4	0,26	µmol l-1	0,1		LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
BTR10	10	18-sept12	NH4	1,13	µmol l-1	0,1		LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
CGA10	10	12-sept12	NH4	0,12	µmol l-1	0,1		LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
LMI10	10	18-sept12	NH4	0,19	µmol l-1	0,1		LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
SAM10	10	11-sept12	NH4	0,09	µmol l-1	0,1		LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
SDE10	10	18-sept12	NH4	0,49	µmol l-1	0,1		LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
CGA5	5	08-févr12	NH4	0,05	µmol l-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>-20°c</td><td>NFT 90-015-2 réaction colorée, dosage en spectrophotométrie d'absorption moléculaire</td></lq<>	Rouen	-20°c	NFT 90-015-2 réaction colorée, dosage en spectrophotométrie d'absorption moléculaire
SAM5	5	07-févr12	NH4	0,05	µmol l-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>-20°c</td><td>NFT 90-015-2 réaction colorée, dosage en spectrophotométrie d'absorption moléculaire</td></lq<>	Rouen	-20°c	NFT 90-015-2 réaction colorée, dosage en spectrophotométrie d'absorption moléculaire
SDE5	5	15-févr12	NH4	0,05	µmol l-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>-20°c</td><td>NFT 90-015-2 réaction colorée, dosage en spectrophotométrie d'absorption moléculaire</td></lq<>	Rouen	-20°c	NFT 90-015-2 réaction colorée, dosage en spectrophotométrie d'absorption moléculaire
CGA6	6	14-mars-12	NH4	0,05	µmol l-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>-20°c</td><td>NFT 90-015-2 réaction colorée, dosage en spectrophotométrie d'absorption moléculaire</td></lq<>	Rouen	-20°c	NFT 90-015-2 réaction colorée, dosage en spectrophotométrie d'absorption moléculaire
SAM6	6	13-mars-12	NH4	0,05	µmol l-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>-20°c</td><td>NFT 90-015-2 réaction colorée, dosage en spectrophotométrie d'absorption moléculaire</td></lq<>	Rouen	-20°c	NFT 90-015-2 réaction colorée, dosage en spectrophotométrie d'absorption moléculaire
SDE6	6	21-mars-12	NH4	0,05	µmol l-1	0,5	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>-20°c</td><td>NFT 90-015-2 réaction colorée, dosage en spectrophotométrie d'absorption moléculaire</td></lq<>	Rouen	-20°c	NFT 90-015-2 réaction colorée, dosage en spectrophotométrie d'absorption moléculaire
BTR9	9	14-août-12	Nitrates (NO3)	0,01	µmol l-1	0,02	<lq< td=""><td>Ecomar</td><td>pasteurisé</td><td>Technicon</td></lq<>	Ecomar	pasteurisé	Technicon
CGA9	9	08-août-12	Nitrates (NO3)	0,74	µmol l-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
LMI9	9	14-août-12	Nitrates (NO3)	0,27	µmol l-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
SAM9	9	07-août-12	Nitrates (NO3)	0,06	µmol l-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
SDE9	9	14-août-12	Nitrates (NO3)	0,02	µmol l-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
BTR10	10	18-sept12	Nitrates (NO3)	0,22	µmol l-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
CGA10	10	12-sept12	Nitrates (NO3)	0,14	µmol l-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
LMI10	10	18-sept12	Nitrates (NO3)	0,21	µmol l-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
SAM10	10	11-sept12	Nitrates (NO3)	0,02	µmol l-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
SDE10	10	18-sept12	Nitrates (NO3)	0	µmol l-1	0,02	<lq< td=""><td>Ecomar</td><td>pasteurisé</td><td>Technicon</td></lq<>	Ecomar	pasteurisé	Technicon
BTR9	9	14-août-12	Nitrates (NO3)	0,04	µmol l-1	0,08	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>pasteurisé</td><td>NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique</td></lq<>	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
CGA9	9	08-août-12	Nitrates (NO3)	0,64	µmol l-1	0,08		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
LMI9	9	14-août-12	Nitrates (NO3)	0,21	µmol l-1	0,08		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
SAM9	9	07-août-12	Nitrates (NO3)	0,12	µmol l-1	0,08		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
SDE9	9	14-août-12	Nitrates (NO3)	0,13	µmol l-1	0,08		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
BTR10	10	18-sept12	Nitrates (NO3)	0,13	µmol l-1	0,08		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
CGA10	10	12-sept12	Nitrates (NO3)	0,04	µmol l-1	0,08	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>pasteurisé</td><td>NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique</td></lq<>	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
LMI10	10	18-sept12	Nitrates (NO3)	0,09	µmol l-1	0,08		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
SAM10	10	11-sept12	Nitrates (NO3)	0,04	µmol l-1	0,08	<lq< td=""><td>Rouen</td><td>pasteurisé</td><td>NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique</td></lq<>	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
SDE10	10	18-sept12	Nitrates (NO3)	0,79	µmol l-1	0,08		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
BTR9	9	14-août-12	Nitrites (NO2)	0,02	µmol l-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
CGA9	9	08-août-12	Nitrites (NO2)	0,06	µmol l-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon

									AININ	
LMI9	9	14-août-12	Nitrites (NO2)	0.04	µmol I-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
SAM9	9	07-août-12	Nitrites (NO2)	0,03	umol I-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
SDE9	9	14-août-12	Nitrites (NO2)	0.03	umol I-1	0.02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
BTR10	10	18-sept12	Nitrites (NO2)	0,05	umol I-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
CGA10	10	12-sept12	Nitrites (NO2)	0,04	umol I-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
LMI10	10	18-sept12	Nitrites (NO2)	0,04	umol I-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
SAM10	10	11-sept12	Nitrites (NO2)	0,03	umol I-1	0,02		Ecomar	pasteurisé	Technicon
SDE10	10	18-sept12	Nitrites (NO2)	0	µmol l-1	0,02	<lq< td=""><td>Ecomar</td><td>pasteurisé</td><td>Technicon</td></lq<>	Ecomar	pasteurisé	Technicon
BTR9	9	14-août-12	Nitrites (NO2)	0,04	µmol l-1	0,04		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
CGA9	9	08-août-12	Nitrites (NO2)	0,06	µmol I-1	0,04		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
LMI9	9	14-août-12	Nitrites (NO2)	0,05	µmol l-1	0,04		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
SAM9	9	07-août-12	Nitrites (NO2)	0,04	µmol I-1	0,04		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
SDE9	9	14-août-12	Nitrites (NO2)	0,04	µmol I-1	0,04		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
BTR10	10	18-sept12	Nitrites (NO2)	0,05	µmol I-1	0,04		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
CGA10	10	12-sept12	Nitrites (NO2)	0,04	µmol I-1	0,04		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
LMI10	10	18-sept12	Nitrites (NO2)	0,05	µmol I-1	0,04		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
SAM10	10	11-sept12	Nitrites (NO2)	0,05	µmol I-1	0,04		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
SDE10	10	18-sept12	Nitrites (NO2)	0,06	µmol I-1	0,04		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 13395 analyse en flux et détection spectrométrique
BTR9	9	14-août-12	PO4	0,05	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF EN 1189 modifié Aminot et Kérouel, 2004
CGA9	9	08-août-12	PO4	0,03	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF EN 1189 modifié Aminot et Kérouel, 2004
LMI9	9	14-août-12	PO4	0,02	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF EN 1189 modifié Aminot et Kérouel, 2004
SAM9	9	07-août-12	PO4	0,02	µmol l-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF EN 1189 modifié Aminot et Kérouel, 2004
SDE9	9	14-août-12	PO4	0,05	µmol l-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF EN 1189 modifié Aminot et Kérouel, 2004
BTR10	10	18-sept12	PO4	0,02	µmol l-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF EN 1189 modifié Aminot et Kérouel, 2004
CGA10	10	12-sept12	PO4	0,02	µmol l-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF EN 1189 modifié Aminot et Kérouel, 2004
LMI10	10	18-sept12	PO4	0,03	µmol l-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF EN 1189 modifié Aminot et Kérouel, 2004
SAM10	10	11-sept12	PO4	0,02	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF EN 1189 modifié Aminot et Kérouel, 2004
SDE10	10	18-sept12	PO4	0,04	µmol I-1	0,02		Arvam	pasteurisé	NF EN 1189 modifié Aminot et Kérouel, 2004
CGA5	5	08-févr12	PO4	0,025	µmol I-1	0,05	<lq< td=""><td>LDA972</td><td>pasteurisé</td><td>Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible</td></lq<>	LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
SAM5	5	07-févr12	PO4	0,025	µmol I-1	0,05	<lq< td=""><td>LDA972</td><td>pasteurisé</td><td>Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible</td></lq<>	LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
SDE5	5	15-févr12	PO4	0,025	µmol I-1	0,05	<lq< td=""><td>LDA972</td><td>pasteurisé</td><td>Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible</td></lq<>	LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
CGA6	6	14-mars-12	PO4	0,025	µmol l-1	0,05	<lq< td=""><td>LDA972</td><td>pasteurisé</td><td>Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible</td></lq<>	LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
SAM6	6	13-mars-12	PO4	0,025	µmol I-1	0,05	<lq< td=""><td>LDA972</td><td>pasteurisé</td><td>Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible</td></lq<>	LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
SDE6	6	21-mars-12	PO4	0,025	µmol I-1	0,05	<lq< td=""><td>LDA972</td><td>pasteurisé</td><td>Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible</td></lq<>	LDA972	pasteurisé	Aminot et Kérouel, 2004 Spectro UV-Visible
CGA5	5	08-févr12	PO4	0,13	µmol l-1	0,11		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
SAM5	5	07-févr12	PO4	0,12	µmol I-1	0,11		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
SDE5	5	15-févr12	PO4	0,23	µmol I-1	0,11		Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2

								Ann	EXE 2
CGA6	6	14-mars-12	PO4	0,48	µmol l-1	0,11	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
SAM6	6	13-mars-12	PO4	0,71	µmol I-1	0,11	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
SDE6	6	21-mars-12	PO4	0,24	µmol I-1	0,11	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
BTR9	9	14-août-12	PO4	0,12	µmol I-1	0,11	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
CGA9	9	08-août-12	PO4	0,15	µmol l-1	0,11	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
LMI9	9	14-août-12	PO4	0,11	µmol l-1	0,11	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
SAM9	9	07-août-12	PO4	0,13	µmol l-1	0,11	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
SDE9	9	14-août-12	PO4	0,12	µmol l-1	0,11	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
BTR10	10	18-sept12	PO4	0,12	µmol l-1	0,11	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
CGA10	10	12-sept12	PO4	0,13	µmol l-1	0,11	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
LMI10	10	18-sept12	PO4	0,11	µmol l-1	0,11	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
SAM10	10	11-sept12	PO4	0,13	µmol l-1	0,11	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
SDE10	10	18-sept12	PO4	0,15	µmol l-1	0,11	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 15681-2
BTR9	9	14-août-12	PTD	0,04	mg l-1 P		Ecolab	-20°c	colorimétrie (chaîne à flux continue ou spectrophotomètre)
CGA9	9	08-août-12	PTD	0,05	mg l-1 P		Ecolab	-20°c	colorimétrie (chaîne à flux continue ou spectrophotomètre)
LMI9	9	14-août-12	PTD	0,04	mg l-1 P		Ecolab	-20°c	colorimétrie (chaîne à flux continue ou spectrophotomètre)
SAM9	9	07-août-12	PTD	0,04	mg l-1 P		Ecolab	-20°c	colorimétrie (chaîne à flux continue ou spectrophotomètre)
SDE9	9	14-août-12	PTD	0,04	mg l-1 P		Ecolab	-20°c	colorimétrie (chaîne à flux continue ou spectrophotomètre)
BTR10	10	18-sept12	PTD	0,04	mg I-1 P		Ecolab	-20°c	colorimétrie (chaîne à flux continue ou spectrophotomètre)
CGA10	10	12-sept12	PTD	0,05	mg l-1 P		Ecolab	-20°c	colorimétrie (chaîne à flux continue ou spectrophotomètre)
LMI10	10	18-sept12	PTD	0,09	mg l-1 P		Ecolab	-20°c	colorimétrie (chaîne à flux continue ou spectrophotomètre)
SAM10	10	11-sept12	PTD	0,05	mg l-1 P		Ecolab	-20°c	colorimétrie (chaîne à flux continue ou spectrophotomètre)
SDE10	10	18-sept12	PTD	0,04	mg l-1 P		Ecolab	-20°c	colorimétrie (chaîne à flux continue ou spectrophotomètre)
BTR9	9	14-août-12	PTD	0,08	mg l-1 P	0,02	Rouen	-20°c	NF EN ISO 6878 méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium
CGA9	9	08-août-12	PTD	0,03	mg l-1 P	0,02	Rouen	-20°c	NF EN ISO 6878 méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium
LMI9	9	14-août-12	PTD	0,05	mg l-1 P	0,02	Rouen	-20°c	NF EN ISO 6878 méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium
SAM9	9	07-août-12	PTD	0,02	mg l-1 P	0,02	Rouen	-20°c	NF EN ISO 6878 méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium
SDE9	9	14-août-12	PTD	0,04	mg l-1 P	0,02	Rouen	-20°c	NF EN ISO 6878 méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium
BTR10	10	18-sept12	PTD	0,07	mg l-1 P	0,02	Rouen	-20°c	NF EN ISO 6878 méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium
CGA10	10	12-sept12	PTD	0,03	mg l-1 P	0,02	Rouen	-20°c	NF EN ISO 6878 méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium
LMI10	10	18-sept12	PTD	0,05	mg l-1 P	0,02	Rouen	-20°c	NF EN ISO 6878 méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium
SAM10	10	11-sept12	PTD	0,03	mg l-1 P	0,02	Rouen	-20°c	NF EN ISO 6878 méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium
SDE10	10	18-sept12	PTD	0,05	mg l-1 P	0,02	Rouen	-20°c	NF EN ISO 6878 méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium
SAM9	9	07-août-12	Silicates	<0,39	mg I-1 SiO ₂	0,03	Ecolab	Pasteurisé	Colorimétrie
CGA9	9	08-août-12	Silicates	<0,39	mg I-1 Si0 ₂	0,03	Ecolab	Pasteurisé	Colorimétrie
LMI9	9	14-août-12	Silicates	<0,39	mg I-1 Si0 ₂	0,03	Ecolab	Pasteurisé	Colorimétrie
BTR9	9	14-août-12	Silicates	<0,39	mg I-1 Si0 ₂	0,03	Ecolab	Pasteurisé	Colorimétrie

						Annexe 2						
SDE9	9	14-août-12	Silicates	<0,39	mg I-1 Si0 ₂	0,03	Ecolab	Pasteurisé	Colorimétrie			
SAM10	10	11-sept12	Silicates	<0,39	mg I-1 Si0 ₂	0,03	Ecolab	Pasteurisé	Colorimétrie			
CGA10	10	12-sept12	Silicates	<0,39	mg I-1 Si0 ₂	0,03	Ecolab	Pasteurisé	Colorimétrie			
LMI10	10	18-sept12	Silicates	<0,39	mg I-1 Si0 ₂	0,03	Ecolab	Pasteurisé	Colorimétrie			
BTR10	10	18-sept12	Silicates	<0,39	mg I-1 Si0 ₂	0,03	Ecolab	Pasteurisé	Colorimétrie			
SDE10	10	18-sept12	Silicates	<0,39	mg I-1 Si0 ₂	0,03	Ecolab	Pasteurisé	Colorimétrie			
SAM9	9	07-août-12	Silicates	4,81	µmole I-1 Si(OH)4 umolo I 1	0,32	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 16264 Analyse en flux et détection photométrique			
CGA9	9	08-août-12	Silicates	7,13	Si(OH)4	0,32	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 16264 Analyse en flux et détection photométrique			
LMI9	9	14-août-12	Silicates	6,62	µmole I-1 Si(OH)4 umolo I 1	0,32	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 16264 Analyse en flux et détection photométrique			
BTR9	9	14-août-12	Silicates	5,13	Si(OH)4	0,32	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 16264 Analyse en flux et détection photométrique			
SDE9	9	14-août-12	Silicates	10,9	µmole I-1 Si(OH)4	0,32	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 16264 Analyse en flux et détection photométrique			
SAM10	10	11-sept12	Silicates	2,37	umole I-1 Si(OH)4 umole I-1	0,32	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 16264 Analyse en flux et détection photométrique			
CGA10	10	12-sept12	Silicates	2,81	Si(OH)4	0,32	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 16264 Analyse en flux et détection photométrique			
LMI10	10	18-sept12	Silicates	1,87	µmole I-1 Si(OH)4 umole I-1	0,32	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 16264 Analyse en flux et détection photométrique			
BTR10	10	18-sept12	Silicates	2,64	Si(OH)4 umole I-1	0,32	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 16264 Analyse en flux et détection photométrique			
SDE10	10	18-sept12	Silicates	6,92	Si(OH)4	0,32	Rouen	pasteurisé	NF EN ISO 16264 Analyse en flux et détection photométrique			
BTR9	9	14-août-12	Sulfates	2699	mg I-1	0,0003 (0,3 ppb)	Ecolab	4°c	chromatographie ionique DIONEX			
CGA9	9	08-août-12	Sulfates	2680	mg I-1	0,0003 (0,3 ppb)	Ecolab	4°c	chromatographie ionique DIONEX			
LMI9	9	14-août-12	Sulfates	2692	mg l-1	0,0003 (0,3 ppb)	Ecolab	4°c	chromatographie ionique DIONEX			
SAM9	9	07-août-12	Sulfates	2779	mg I-1	0,0003 (0,3 ppb)	Ecolab	4°c	chromatographie ionique DIONEX			
SDE9	9	14-août-12	Sulfates	2676	mg I-1	0,0003 (0,3 ppb)	Ecolab	4°c	chromatographie ionique DIONEX			
BTR10	10	18-sept12	Sulfates	2826	mg I-1	0,0003 (0,3 ppb)	Ecolab	4°c	chromatographie ionique DIONEX			
CGA10	10	12-sept12	Sulfates	2792	mg I-1	0,0003 (0,3 ppb)	Ecolab	4°c	chromatographie ionique DIONEX			
LMI10	10	18-sept12	Sulfates	105,7	mg I-1	0,0003 (0,3 ppb)	Ecolab	4°c	chromatographie ionique DIONEX			
SAM10	10	11-sept12	Sulfates	2749	mg I-1	0,0003 (0,3 ppb)	Ecolab	4°c	chromatographie ionique DIONEX			
SDE10	10	18-sept12	Sulfates	2777	mg I-1	0,0003 (0,3 ppb)	Ecolab	4°c	chromatographie ionique DIONEX			
BTR9	9	14-août-12	Sulfates	2890	mg I-1	0,3	Rouen	4°c	NF EN ISO 10304-2 chromatographie en phase liquide			
CGA9	9	08-août-12	Sulfates	2980	mg l-1	0,3	Rouen	4°c	NF EN ISO 10304-2 chromatographie en phase liquide			
LMI9	9	14-août-12	Sulfates	2800	mg l-1	0,3	Rouen	4°c	NF EN ISO 10304-2 chromatographie en phase liquide			
SAM9	9	07-août-12	Sulfates	2900	mg l-1	0,3	Rouen	4°c	NF EN ISO 10304-2 chromatographie en phase liquide			
SDE9	9	14-août-12	Sulfates	2930	mg l-1	0,3	Rouen	4°c	NF EN ISO 10304-2 chromatographie en phase liquide			
BTR10	10	18-sept12	Sulfates	3030	mg I-1	0,3	Rouen	4°c	NF EN ISO 10304-2 chromatographie en phase liquide			
CGA10	10	12-sept12	Sulfates	3050	mg I-1	0,3	Rouen	4°c	NF EN ISO 10304-2 chromatographie en phase liquide			
LMI10	10	18-sept12	Sulfates	3040	mg l-1	0,3	Rouen	4°c	NF EN ISO 10304-2 chromatographie en phase liquide			

						ANNEXE 2						
SAM10	10	11-sept12	Sulfates	3030	mg l-1	0,3	Rouen	4°c	NF EN ISO 10304-2 chromatographie en phase liquide			
SDE10	10	18-sept12	Sulfates	2970	mg l-1	0,3	Rouen	4°c	NF EN ISO 10304-2 chromatographie en phase liquide			

ANNEXE 3. RESULTATS BRUTS INDVAL MULTIPATTERN

Annexe3. Résultats del'IndVal Multipattern par le logiciel « R » avec la fonction IndVal.g.

En rouge : valeurs de A < 0.6 et valeur de B < 0.25 ; En gras : espèce retenue comme espèce indicatrice du groupe.

Esp indicatrices :

Multilevel pattern	analysis		
Accordiation function	Ind\/al a		
ASSOCIATION TUNCTION	iliuval.g		
Significance level	(alpha): 0.05		
Total number of species:		456	
Selected number of species:		108	
Number of species associated	to 1 group:		108
Number of species associated	to 2 groups:		0
Number of species associated	to 3 groups:		0
Number of species associated	to 4 groups:		0
Number of species associated	to 5 groups:		0
Number of species associated	to 6 groups:		0

List of species associated to each combination:

	Group 1		#sps. 11		
	А	В	stat	p.value	
AD01	0.4707	0.9130	0.656	0.021	*
NI15	0.4018	0.9565	0.620	0.004	**
NI34	0.3310	1.0000	0.575	0.003	**
CTCL	0.3391	0.9565	0.570	0.003	**
NMIC	0.3058	1.0000	0.553	0.017	*
NILA	0.3035	1.0000	0.551	0.002	**
AD03	0.3108	0.9130	0.533	0.027	*
NI37	0.2954	0.9565	0.532	0.004	**
NAAS	0.2781	1.0000	0.527	0.013	*
ETO4	0.7973	0.3043	0.493	0.014	*
AM24	0.5306	0.3478	0.430	0.049	*
	Group 2		#sps. 14		
	•		•		
	A	В	stat	p.value	
NI31	A 0.8376	B 1.0000	stat 0.915	p.value 0.001	***
NI31 ATE1	A <mark>0.8376</mark> 0.5020	B 1.0000 0.8333	stat 0.915 0.647	p.value 0.001 0.001	*** ***
NI31 ATE1 NEQO	A 0.8376 0.5020 0.4821	B 1.0000 0.8333 0.6667	stat 0.915 0.647 0.567	p.value 0.001 0.001 0.020	*** *** *
NI31 ATE1 NEQO CS04	A 0.8376 0.5020 0.4821 0.9639	B 1.0000 0.8333 0.6667 0.3333	stat 0.915 0.647 0.567 0.567	p.value 0.001 0.001 0.020 0.003	*** *** *
NI31 ATE1 NEQO CS04 TAS1	A 0.8376 0.5020 0.4821 0.9639 0.9077	B 1.0000 0.8333 0.6667 0.3333 0.3333	stat 0.915 0.647 0.567 0.567 0.550	p.value 0.001 0.001 0.020 0.003 0.009	*** *** * **
NI31 ATE1 NEQO CS04 TAS1 EPD1	A 0.8376 0.5020 0.4821 0.9639 0.9077 0.2678	B 1.0000 0.8333 0.6667 0.3333 0.3333 1.0000	stat 0.915 0.647 0.567 0.567 0.550 0.518	p.value 0.001 0.001 0.020 0.003 0.009 0.009	* * * * * * * * * * * * *
NI31 ATE1 NEQO CS04 TAS1 EPD1 BR02	A 0.8376 0.5020 0.4821 0.9639 0.9077 0.2678 0.4926	B 1.0000 0.8333 0.6667 0.3333 0.3333 1.0000 0.5000	stat 0.915 0.647 0.567 0.567 0.550 0.518 0.496	p.value 0.001 0.001 0.020 0.003 0.009 0.009 0.028	* * * * * * * * * *
NI31 ATE1 NEQO CS04 TAS1 EPD1 BR02 NPAR	A 0.8376 0.5020 0.4821 0.9639 0.9077 0.2678 0.4926 0.7188	B 1.0000 0.8333 0.6667 0.3333 0.3333 1.0000 0.5000 0.3333	stat 0.915 0.647 0.567 0.567 0.550 0.518 0.496 0.489	p.value 0.001 0.001 0.020 0.003 0.009 0.009 0.028 0.013	* * * * * * * * * * * *
NI31 ATE1 NEQO CSO4 TAS1 EPD1 BR02 NPAR NI55	A 0.8376 0.5020 0.4821 0.9639 0.9077 0.2678 0.4926 0.7188 0.3281	B 1.0000 0.8333 0.6667 0.3333 1.0000 0.5000 0.3333 0.6667	stat 0.915 0.647 0.567 0.550 0.518 0.496 0.489 0.468	p.value 0.001 0.001 0.020 0.003 0.009 0.009 0.028 0.013 0.037	* * * * * * * * * * * *
NI31 ATE1 NEQO CS04 TAS1 EPD1 BR02 NPAR NI55 LS01	A 0.8376 0.5020 0.4821 0.9639 0.9077 0.2678 0.4926 0.7188 0.3281 0.6379	B 1.0000 0.8333 0.6667 0.3333 1.0000 0.5000 0.3333 0.6667 0.3333	stat 0.915 0.647 0.567 0.567 0.550 0.518 0.496 0.489 0.468 0.461	p.value 0.001 0.001 0.020 0.003 0.009 0.009 0.028 0.013 0.037 0.011	* * * * * * * * * * *
NI31 ATE1 NEQO CS04 TAS1 EPD1 BR02 NPAR NI55 LS01 ABMY	A 0.8376 0.5020 0.4821 0.9639 0.9077 0.2678 0.4926 0.7188 0.3281 0.6379 0.6221	B 1.0000 0.8333 0.6667 0.3333 1.0000 0.5000 0.3333 0.6667 0.3333 0.3333	stat 0.915 0.647 0.567 0.550 0.518 0.496 0.489 0.468 0.461 0.455	p.value 0.001 0.001 0.020 0.003 0.009 0.009 0.028 0.013 0.037 0.011 0.047	* * * * * * * * * *
NI31 ATE1 NEQO CS04 TAS1 EPD1 BR02 NPAR NI55 LS01 ABMY OPAU	A 0.8376 0.5020 0.4821 0.9639 0.9077 0.2678 0.4926 0.7188 0.3281 0.6379 0.6221 0.3885	B 1.0000 0.8333 0.6667 0.3333 1.0000 0.5000 0.3333 0.6667 0.3333 0.3333 0.3333	stat 0.915 0.647 0.567 0.550 0.518 0.496 0.489 0.468 0.461 0.455 0.441	p.value 0.001 0.001 0.020 0.003 0.009 0.009 0.028 0.013 0.013 0.011 0.047 0.042	* * * * * * * * * * *
NI31 ATE1 NEQO CS04 TAS1 EPD1 BR02 NPAR NI55 LS01 ABMY OPAU TAS2	A 0.8376 0.5020 0.4821 0.9639 0.9077 0.2678 0.4926 0.7188 0.3281 0.6379 0.6221 0.3885 0.5769	B 1.0000 0.8333 0.6667 0.3333 1.0000 0.5000 0.3333 0.6667 0.3333 0.3333 0.3333	stat 0.915 0.647 0.567 0.550 0.518 0.496 0.489 0.468 0.461 0.455 0.441 0.439	p.value 0.001 0.001 0.020 0.003 0.009 0.009 0.028 0.013 0.013 0.037 0.011 0.047 0.042 0.046	* * * * * * * * * * * * *

	Group 3		#sps. 26		
	А	В	stat	p.value	
MGRO	0.6076	1.0000	0.779	0.001	***
MPIS	0.7423	0.7273	0.735	0.001	***
MG28	0.7477	0.6364	0.690	0.001	***
MCRS	0.5090	0.9091	0.680	0.003	**
RSTE	0.4400	1.0000	0.663	0.001	***
PBAS	0.5064	0.8182	0.644	0.005	**
RPAC	0.3944	1.0000	0.628	0.006	**
ССРТ	0.7089	0.5455	0.622	0.030	*
РК03	0.4627	0.8182	0.615	0.006	**
MMR1	0.5066	0.7273	0.607	0.004	**
MFOL	1.0000	0.3636	0.603	0.001	***
MAEL	0.3990	0.9091	0.602	0.002	**
MGRU	0.5648	0.6364	0.599	0.004	**
RH04	0.4573	0.7273	0.577	0.004	**
MPUF	0.6023	0.5455	0.573	0.006	**
MDEC	0.3003	1.0000	0.548	0.012	*
MPEX	0.7761	0.3636	0.531	0.012	*
NLCL	0.7670	0.3636	0.528	0.003	**
RH05	0.4939	0.5455	0.519	0.018	*
RH06	0.7260	0.3636	0.514	0.028	*
РСНО	0.4678	0.5455	0.505	0.037	*
MLBL	0.9236	0.2727	0.502	0.020	*
MG34	1.0000	0.1818	0.426	0.024	*
RH10	1.0000	0.1818	0.426	0.018	*
SFAS	0.6544	0.2727	0.422	0.042	*
MFIM	0.6272	0.2727	0.414	0.040	*
	Group 4		#sps. 9		
	А	В	stat	p.value	
KREC	0.7593	1.0000	0.871	0.001	***
HINT	0.4672	0.8125	0.616	0.013	*
MER1	0.3543	0.8125	0.536	0.033	*
MLTR	0.3348	0.7500	0.501	0.019	*
MER2	0.3406	0.6875	0.484	0.033	*
AUR1	0.8140	0.2500	0.451	0.021	*
LI02	0.3609	0.5625	0.451	0.037	*
HA01	1.0000	0.1875	0.433	0.024	*
SATO	0.8491	0.1875	0.399	0.037	*
	Group 5		#sps. 5		
	А	В	stat	p.value	
BHYA	0.7296	0.7857	0.757	0.001	***
BPAX	0.5085	1.0000	0.713	0.001	***
MAN1	1.0000	0.2143	0.463	0.011	*
NA03	0.3677	0.5714	0.458	0.038	*
AKUW	0.6239	0.2857	0.422	0.027	*

	Group 6		#sps. 19		
	A	В	stat	p.value	
AM09	0.6169	1.0000	0.785	0.001	***
GOCE	0.9682	0.5333	0.719	0.002	**
AICR	0.4940	0.9333	0.679	0.002	**
нтим	0.5966	0.7333	0.661	0.002	**
AEXT	0.4909	0.8000	0.627	0.004	**
HLAP	0.4666	0.8000	0.611	0.011	*
BNOT	0.4443	0.8000	0.596	0.023	*
HTNR	0.3426	1.0000	0.585	0.001	***
NI09	0.3132	1.0000	0.560	0.030	*
AMKO	0 5219	0.6000	0 560	0.021	*
CPLR	0 5138	0.6000	0 555	0.001	***
NI59	0 5625	0.4667	0.512	0.009	**
NPF1	0 2608	1 0000	0.511	0.019	*
NI19	0 7126	0 3333	0 487	0.023	*
CO12	0 7713	0 2667	0 454	0.037	*
NSUA	0.6103	0 3333	0.451	0.020	*
PS01	0.6922	0.2667	0.430	0.020	*
GRSU	0.0322	0.2000	0.428	0.039	*
HSVD	0.5140	0.2667	0.425	0.039	*
IISTE	0.0780	0.2007	0.425	0.035	
	Group 7		#sps. 24		
	A	В	stat	p.value	
MCUN	0.8217	0.9167	0.868	0.001	***
HYDG	0.5762	0.8333	0.693	0.004	**
AABL	0.5070	0.8333	0.650	0.002	**
NS01	0.4715	0.8333	0.627	0.002	**
HSLA	0.3905	1.0000	0.625	0.001	***
LREM	0.4904	0.7500	0.606	0.007	**
CCVX	0.5505	0.6667	0.606	0.006	**
NI13	0.3796	0.9167	0.590	0.006	**
HY01	0.6672	0.5000	0.578	0.001	***
TUND	0.3974	0.8333	0.575	0.032	*
смос	0.6350	0.5000	0.563	0.017	*
CSLR	0.5260	0.5833	0.554	0.030	*
FC01	0.5765	0.5000	0.537	0.006	**
LI01	0.4868	0.5833	0.533	0.033	*
LOED	0.5181	0.5000	0.509	0.042	*
NA22	1.0000	0.2500	0.500	0.007	**
HY04	0.8696	0.2500	0.466	0.026	*
HY03	0.5213	0.4167	0.466	0.017	*
NI52	0.5209	0.4167	0.466	0.017	*
NI43	0 4944	0 4167	0 454	0.022	*
LCOM	0.7474	0.2500	0.432	0.029	*
CDIR	1.0000	0.1667	0.408	0.037	*
HY02	0 9492	0 1667	0 398	0.034	*
GPM1	0.8333	0.1667	0.373	0.039	*
		,			
Signif.					
codes:	≤ 0.001 '***'	< 0.01 '**': < 0	1 '*'		
	,	, _ 0.			

 ≤ 0.001 '***'; ≤ 0.01 '**'; ≤ 0.1 '*'

<u>Variables car</u>	actérisantes :					
Şquantı.vai	Eta 2	Dyalua				
Dhaa		P-value				
Pheo	0.2123676	0.0005072236				
Turbidite	0.2065044	0.0006843865				
Si(OH)4	0.2021046	0.0008549617				
NID	0.1849640	0.0019967135				
Т	0.1690354	0.0042741229				
NH4	0.1611047	0.0061811408				
NO2	0 1447112	0.0129650127				
Fo	0 1270581	0.0267685670				
	0.1273301	0.0207005075				
	0.1107203	0.0420945065				
NU3	0.1160330	0.0439076012				
Chla	0.1148838	0.0460069117				
\$quanti						
Squantis 1						
	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
COD	2.294682	43.91138	39.65912	7.815513	10.122327	0.02175135
Т	2.012183	28.63696	28.21804	1.074327	1.137215	0.04420066
\$quanti\$`2`						
		Mean in	o "	sd in		
	v.test	category	Overall mean	category	Overall sd	p.value
	2 007504	0.2152020	0 21/0576	0.1242046	0.00000040	0 004001472
	2.007304	10 2555 429	0.2146370	0.1242940	0.08992048	0.004991473
SI(UH)4	2.041032	10.2555438	8.8/80251	0.4765591	1.09070410	0.041188088
Fe	1.989300	42.2698368	38.8208251	3./34/928	4.36199241	0.046668090
Chla	1.966376	0.9597633	0.7538608	0.1833200	0.26344244	0.049255211
NOD	-1.984692	89.4342454	100.0854009	9.1153173	13.50187491	0.047178713
\$quanti\$`3`						
	v test	Mean in	Overall mean	sd in	Overall sd	n value
	vitest	category	Overall mean	category	Overall Su	pivulue
COD	-2.253132	35.4838624	39.6591211	9.51782563	10.12232717	0.024250811
NH4	-2.601443	0.1720334	0.2148576	0.05111603	0.08992048	0.009283240
NID	-2.843773	0.5880879	0.7193139	0.20811274	0.25206268	0.004458282
т	-2.885112	27.6173913	28.2180412	1.15961094	1.13721457	0.003912743
Si(OH)4	-3.157471	7.8978327	8.8786251	1.21662571	1.69676410	0.001591443
Şquantış 4						
	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
POD	2.139137	1.2948120	1.1493562	0.2700927	0.2961048	
02n	1 986761	49 5868088	46 9313368	5 5449508	5 8203514	
Dhoo	2 206625	0 2222024	0 2091906	0 1 2 1 0 5 7 0	0 1 4 0 7 5 6 4	
MES	-2.220033	9.1482349	11.2707332	4.9017795	4.1613375	
\$quanti\$`5`						
		Mean in		sd in		
	v.test	category	Overall mean	category	Overall sd	p.value
Si(OH)4	3.01227	10.14877	8.878625	1.3979974	1.696764	0.002593021
Т	2.48893	28.92143	28.218041	0.6399538	1.137215	0.012812812

\$quanti\$`6`

	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Turbidite	4.280768	1.735333e+00	6.509794e-01	2.210887052	1.06150900	1.862493e-05
Pheo	3.823530	4.348289e-01	2.981896e-01	0.151423763	0.14975642	1.315547e-04
NO2	3.217471	7.127908e-02	6.120511e-02	0.009821415	0.01312081	1.293263e-03
NO3	2.912529	4.340372e-01	3.204283e-01	0.173966459	0.16346183	3.585147e-03
NID	2.676145	8.802835e-01	7.193139e-01	0.195018410	0.25206268	7.447431e-03
Fe	2.442757	4.136350e+01	3.882083e+01	4.657167339	4.36199241	1.457556e-02
рН	2.239104	3.450050e+11	3.450050e+11	0.079371030	0.09366857	2.514913e-02
Chla	2.185285	8.912395e-01	7.538608e-01	0.319603010	0.26344244	2.886797e-02
MES	2.132894	1.338874e+01	1.127073e+01	3.808864888	4.16133755	3.293343e-02