Thèse de doctorat de l'Université de Lille Ecole doctorale Science de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement

Pour obtenir le grade de Docteur en Biologie de l'environnement, des organismes, des populations, écologie

DYNAMIQUE DES MECANISMES DE PRODUCTION MICROPHYTOBENTHIQUE INTERTIDALE ESTUARIENNE AU REGARD DES FORÇAGES NATURELS

Présentée et soutenue par Marvin Meresse

Le 19/12/2023

Pr. Christine Dupuy, La Rochelle Université - Rapportrice Dr. HDR Francis Orvain, Université de Caen - Rapporteur Pr. Vanda Brotas, Université de Lisbonne – Examinatrice Pr. Vona Méléder, Université de Nantes – Examinatrice et Présidente du jury Dr. Swanne Gontharet, Sorbonne Université - Examinatrice Dr. HDR Johann Lavaud, CNRS - Examinateur Pr. Lionel Denis, Université de Lille - Directeur de thèse Dr. François Gevaert, Université de Lille - Co-encadrant de thèse









Remerciements

Je souhaite remercier dans un premier temps l'Université de Lille ainsi que la région Hauts-de-France qui ont financé les recherches menées au cours de cette thèse de doctorat.

Les premiers remerciements iront à mes encadrants de thèse. Lionel, vous m'avez fait grandir. Cette histoire commence avec un stage de Master 1, qui m'a fait découvrir la biogéochimie et qui ne m'a plus quitté depuis (en y réfléchissant bien, je crois que l'arrivée des cheveux blancs coïncide parfaitement avec cette période...). Vous m'avez donné votre entière confiance durant ces trois années et c'est grâce à cette confiance que j'ai pu m'épanouir. Malgré votre emploi du temps de directeur de Station Marine, vous avez toujours répondu présent et m'avez toujours tendu la main lorsque j'en avais besoin. Merci pour cette aventure !

François, c'est avec vous que j'ai poursuivi mon chemin en Master 2 durant lequel, malgré un contexte COVID pas des plus facile, j'ai pu mettre un pied dans la recherche. Durant cette thèse, votre présence a été sans aucun doute l'un des plus grands soutiens que j'ai pu avoir durant ces trois années. Je ne compte plus les fois où j'ai failli me noyer et pour lesquelles vous avec toujours réussi à me faire sortir la tête de l'eau. Merci pour ces trois belles années !

Même si une thèse n'est pas facile, je serai reconnaissant à vie de ce que vous m'avez apporté. J'en ai tiré de grandes leçons de vie. Vous avez tous les deux contribué au bon déroulement de cette thèse mais surtout, vous avez contribué à me faire avancer dans la bonne direction, que ce soit sur le plan professionnel ou personnel. Merci ! Parce qu'une thèse c'est aussi un examen qui nécessite l'expertise de nombreux scientifique, je tiens à remercier les deux rapporteurs de ma thèse Christine Dupuy ainsi que Francis Orvain qui ont accepté d'évaluer ce travail, ainsi que Vanda Brotas et Swanne Gontharet pour leur contribution en tant que membre examinateur. Je également tiens à remercier sincèrement Sebastien Lefebvre pour son engagement en tant que membres du comité de suivi de ma thèse ainsi que Vona Méléder, et Johann Lavaud, qui, en plus de leur participation au comité de suivi de thèse ont accepté de faire partie des membres examinateurs de cette thèse.

Ensuite vient les remerciements de toutes les personnes qui directement ou indirectement ont fait vivre cette thèse.

Je souhaiterais particulièrement remercier Gwendoline Duong pour sa présence inestimable. Toujours disponible quand j'avais besoin d'aide, souriante et d'une grande efficacité, même dans des conditions de travail difficiles (de nuit et dans la vase parce que sinon ça serait trop simple). C'était un véritable plaisir de travailler avec toi.

Je remercie également Vincent Cornille et Eric Lecuyer pour m'avoir emmené en zodiac dans l'estuaire de la Canche, ainsi que Fabrice Lizon pour avoir consacré du temps à enregistrer les spectres de lumière de la chambre climatique.

Mes remerciements vont également à l'ensemble des enseignants-chercheurs avec qui j'ai eu l'occasion de discuter lors des trajets en direction du campus, en particulier Valérie Gentilhomme, Sébastien Lefebvre et Fabienne Goulard.

Je n'oublie pas ceux qui ont travaillé dur avec moi ! Les stagiaires qui ont eu la (mal)chance de participer à mes manipes et qui ont dû se lever (très(très)) tôt pour patauger dans la vase en pleine nuit : Guillaume Tueux, qui gardera probablement un super souvenir de la vasière et des pièges qui s'y cachent, ainsi que Marine Doublet et Marion Kraaijenbrink, qui ont réussi à tenir un rythme infernal lors des expériences de laboratoire. Je vous souhaite beaucoup de succès dans la poursuite de vos études !

Merci au personnel du LOG, l'ensemble des enseignants chercheurs, Thierry, Michel, Lucdivine, Christine, Christèle, Nathalie, Muriel, Sébastien et à tous ceux que j'ai oublié de citer. Je voudrais également remercier les directeurs de la station marine ainsi que du LOG, Valérie et Hubert pour m'avoir hébergé au sein du laboratoire.

Un grand merci à tous les doctorants avec qui j'ai pu partager un bout de chemin durant ces trois années, Marine Uguen la Bretonne a.k.a le baliste (c'est à s'y méprendre) ou capt'ain pour les intimes avec qui j'ai eu la chance de me faire « carjacker » (sacrée fiat 500), Marine Balluteau pour ses précieux conseils et les nombreuses discussions que nous avons eues, Solène et ses petites plantes vertes, JC le marseillais (ça arrive à tout le monde d'avoir des mauvais gouts... mais je ne t'en veux pas ! Au fait, j'ai toujours ta côtelette si tu la cherches), Camille Delaeter avec qui j'ai partagé un bout de chemin universitaire ainsi qu'une expérience sympa en labo, les deux programmeurs Kevin et Jérôme (écrire autant de lignes qui ne veulent toujours rien dire pour moi, ça impose le respect !), je vous souhaite une belle fin de thèse, Emilie, Capucine et leur gentillesse, Florian qui après avoir été mon bourreau de stage (les réveils à 2h et l'insolation en plein cagnards boulonnais je m'en souviendrai), et à tous les oubliés de cette liste !

Je voudrais également exprimer ma reconnaissance envers Baptiste Voltz, qui m'a le plus aiguillé dans la transition entre le Master et la thèse. J'ai eu l'occasion de partager un petit bout de tes manipes et depuis la vase ne m'a plus jamais quittée. Tu ne t'en es peutêtre pas rendu compte, mais tu as été un appui pour moi lorsque j'ai commencé cette thèse. Merci pour tout.

Je remercie également les post-doctorants et les anciens post-doctorants, Dewi Langlet, Florian Cesbron et Shaggy qui ont toujours été bienveillants envers moi.

Et surtout un grand merci à quelqu'un qui est devenu plus qu'un simple pote. Camille Henion, au-delà d'être supporter de la plus belle équipe de France (pas besoin de dire que je parle du Racing Club de Lens) quelqu'un sur qui je peux compter à n'importe quelle heure du jour et de la nuit. Tu as été un véritable soutien moral durant cette thèse, merci d'être toi. Merci pour tous les beaux moments passés et à venir ! Il y en a tellement à dire, mais je pense que tu sais déjà à quel point tu comptes !

Merci à mes amis d'avoir toujours été là, dans les bons comme dans les mauvais moments, Quentin et la crevette à tonton. Merci également à Antoine et Bishop d'être là depuis si longtemps, de partager autant de fous rires, de bons moments mais aussi de m'avoir soutenu !

Merci à ma famille et surtout à ma sœur Maurine et mon frère Mathéo. La vie fait parfois des beaux cadeaux, et vous en faites partie.

Dominique, merci d'être la merveilleuse personne que tu es. Merci d'avoir veillé sur moi, sur nous comme si nous étions tes propres enfants. Je serai à jamais reconnaissant de tout ce que tu as fait pour moi.

Papa, de là où tu es, tu as fait de moi l'homme que je suis. Tout le monde me parle sans cesse de à quel point tu étais une personne formidable. Même si je n'aurai jamais la possibilité de te le dire, la personne que tu étais et que tu es encore dans la mémoire de tous guide mes choix.

Maman toi qui m'as toujours soutenu, chéri et protégé des bobos de la vie. Sans toi, rien de tout ce que je vis ne serait possible. Plus qu'un pilier dans ma vie et dans mes études, tu m'as toujours laissé libre dans mes choix tout en veillant à ce que je sois le plus épanoui possible. Merci d'être la maman formidable que tu es, je t'aime.

Pour finir, merci à la femme qui partage ma vie depuis plus de 9 ans. Emmanuelle, tu ne peux imaginer à quel point tu es mon moteur. Que ce soit dans le cadre de cette thèse ou dans la vie de tous les jours, chaque moment avec toi me donne l'envie d'avancer. Tu es celle qui motive chacun de mes pas. Merci d'être toi, merci pour tous ces moments passés et à venir. Et surtout, merci d'être la future maman de notre fille. Ambre, tu arrives d'ici quelques semaines, mais j'espère qu'un jour tu liras ceci et que tu te rendras compte à quel point tu es déjà aimée. Je vous aime plus que tout au monde.

« Le souvenir d'un être absent s'allume dans les ténèbres du cœur ; plus il a disparu, plus il rayonne. »

Victor Hugo, Les Misérables

Pour toi, mon étoile, je t'aime.

Chapitre 1 - Introduction générale : lieu et objet d'étude

1.	Со	ntexte écologique de l'étude	.3
1	.1.	Caractéristiques et importance écologique des estuaires	.3
1	.2.	Menaces actuelles	.4
2.	L'e	stuaire de la Canche	.6
3.	Une	e diversité de paysages	.8
3 r	3.1. nydra	Gradient perpendiculaire à l'estuaire : relation entre bathymétrie et odynamisme	.8
3	3.2.	Un gradient amont-aval : les principaux gradients physico-chimiques	10
4.	Le	microphytobenthos des vasières intertidales	13
2	4.1.	Définition et caractéristiques	13
Z	1.2.	La photosynthèse	19
∠ r	1.3. nicro	Fonctionnement et structure de l'appareil photosynthétique du phytobenthos	20
	i.	La membrane thylakoïdale	20
	ii.	Les complexes pigments-protéines membranaires : les photosystèmes?	21
Z	1.4.	Vivre dans un environnement changeant	23
	i.	La lumière	24
	ii.	La marée	<u>2</u> 9
	iii.	Saisonnalité et aléas météorologiques	31
	iv.	La variation spatiale des paramètres physico-chimiques	32
5	5. N	Aesurer la photophysiologie du microphytobenthos	33
5	5.1.	Méthodes d'étude	33
5	5.2.	Les microélectrodes à oxygène	37
5	5.3.	Le fluorimètre PAM	42
6.	Ар	proches scientifiques et objectifs	46

Chapitre 2 - Un outil d'acquisition autonome à haute fréquence de courbes photosynthèse-irradiance

1.	Abs	
2.	Intro	oduction
3.	Ma	terials and methods59
3	.1.	Sampling and sedimentary characterization
3	.2. acqu	Overview of the automated Photosynthesis- Irradiance (P-I) curve isition system
	i.	Two complementary measurement types61
	ii.	A fully controlled environment
3	.3.	Automation of data acquisition: an opening to experimental opportunities 66
3	.4.	P-I curve fitting and statistical analysis
4.	Res	ults68
4	.1.	Testing of the lighting system
4	.2.	An automated creation for a large oxygen fluxes dataset70
4	.3.	P-I curve acquisition under increasing light71
4	.4.	Fluorescence measurements74
4 ۲	.5. neter	Dispersion analysis: variability of photosynthetic activity within temporal ogeneity74
4 F	.6. produ	Mean depth of the maximum O2 production and thickness of the uction peak76
5.	Disc	cussion
5 P	5.1. primo	The development of an autonomous system to study photophysiology and ry production of microphytobenthos77
	i. aut	Limitations of past studies and methodological contributions of the onomous system
	ii.	Laboratory tests
5	.2.	Validation of the measurement protocol: productivity comparison80
5	.3.	Feedback on the autonomous system: stabilization time of the fluxes80
5 C r	.4. comp	An autonomous and standardized methodological approach integrating plementary tools to go further in the understanding of photosynthetic panisms
5	.5.	Comments and recommendations
Fur	nding	

Chapitre 3 - Effet de l'heure d'émersion sur la photobiologie et le comportement du microphytobenthos

1.	Abs	stract	95
2.	Intr	oduction	96
3.	Ма	terials and methods	99
3	.1.	Study site, sampling and sediment cores conservation	99
3	.2.	Simulating immersion / emersion in laboratory	101
	i. dat	Laboratory autonomous acquisition system of microphytobentl a	hic activity 101
	ii.	Fluorescence measurement	105
3	.3.	P-I curve fitting and statistical analysis	106
4.	Res	Ults	107
4	.1.	Sedimentary and biomass monitoring	107
4	.2.	Fluorescence monitoring	109
4	.3.	P-I curves based on fluorescence measurements	110
4	.4.	P-I curves based on Gross Oxygen Production	113
4	.5.	Depth of the oxygen concentration maximum	114
5. Discussion			116
5	.1.	Conservation of sediment cores in the laboratory	116
5	.2.	Impact of emersion hour on the microphytobenthic activity	118
	i.	Highlighting the internal clock	118
	ii.	A life of ups and downs	120
	iii.	A primary production controlled by the internal clock	123
6.	СО	NCLUSIONS	127
ACKNOWLEDGEMENTS			
CONFLICT OF INTEREST STATEMENT128			
AUTHOR'S CONTRIBUTIONS			

Chapitre 4 - Variation spatio-temporelle de l'activité photosynthétique et comportementale du microphytobenthos dans l'estuaire de la Canche

1.	Ab	stract	135	
2. Introduction			136	
3.	Ма	Iterials and Methods	139	
	3.1.	Study site and sampling dates	139	
	3.2.	Sampling strategy	140	
C F	3.3. orimo	Laboratory autonomous acquisition system of photophysiology a ary production data	nd 142	
	3.4.	Proxies of microphytobenthic behavior	143	
	3.5.	P-I curve fitting and statistical analysis	144	
4.	Res	sults	145	
4	4.1.	Sedimentary and biomass measurements	145	
4	1.2.	Primary production and fluorescence analysis	148	
	i.	P-I curves based on gross oxygen production	148	
	ii.	Light intensity of DOCM and Ft slope break observation	152	
5.	Dise	cussion	155	
ļ	5.1.	Sediment characteristics	155	
	i.	Porosity measurements	155	
	ii.	Microphytobenthic biomass	157	
ļ	5.2.	Temporal and Spatial Variations in Primary Production	158	
	i.	Spatially Heterogeneous microphytobenthic activity	158	
	ii.	Seasonal variation in primary production	164	
AC	ACKNOWLEDGEMENTS			
DISCLOSURE STATEMENT16			166	
AU	AUTHOR'S CONTRIBUTIONS			

Chapitre 5 - Synthèse et perspectives : vers une vision multidimensionnelle de l'activité photosynthétique du microphytobenthos estuarien

1.	Vers l'automatisation de la mesure des capacités microphytobenthiques 17	1
2. forç	Travailler en conditions standardisées et contrôlées : cibler l'effet d'un cage17	4
3. nat	La réponse comportementale microphytobenthique face aux forçages urels	51
4.	Une production primaire variable dans le temps et l'espace	4
5.	La réponse photophysiologique à l'échelle de la journée	7

Conclusions et perspectives	197
Références bibliographiques	
Résumé	241
Abstract	242

Table des figures

Chapitre 1

Figure 1 : Cartographie de la bathymétrie de la Manche Orientale, modifié à partir de Idier *et al.* (2012).

Figure 2 : Représentation des zones d'accrétion (hachuré en bleu) et d'érosion (hachuré en rouge) caractéristique d'un estuaire 'picard' dans l'estuaire de la Canche.

Figure 3 : Profil longitudinal des différents biofaciès en fonction de la bathymétrie et du niveau tidal (MHWS : Pleine mer de vive eau ; MHWN : Pleine mer de morte eau ; MSL : Niveau moyen de la mer ; EHWS : Pleine mer de grandes vives eaux). Extrait de Marion *et al.,* 2009.

Figure 4 : Réseau trophique d'une vasière intertidale en milieu tempéré (exemple de la baie de Marennes-Oléron). Le modèle de réseau trophique de la vasière intertidale comprend deux compartiments de producteurs primaires (vert), deux compartiments de bactéries (bleu), deux compartiments détritiques (orange) et 13 compartiments de consommateurs (rose). L'épaisseur des flèches indique l'intensité du flux de matière organique entre les compartiments et l'épaisseur des compartiments indique la quantité de biomasse. La biomasse de MOS (matière organique sédimentaire) et de MOPS (matière organique particulaire en suspension) dans la vasière sont inconnues (cases pointillées). Les compartiments de la méiofaune sont en caractères gras. BB = bactéries benthiques, BP = bactéries pélagiques, MBD = macrofaune benthique se nourrissant de dépôts, PB = poissons benthiques, MBB = macrofaune benthique brouteuse, MBO = macrofaune benthique omnivore, CB = copépodes benthiques, OC = oiseaux carnivores, MPB = microphytobenthos, MZP = microzooplancton, NDS = nématodes à dépôt sélectif, NDNS = nématodes à dépôt non sélectif, NCE = nématodes à croissance épigée, NO = nématodes omnivores/prédateurs, PHY = phytoplancton, MS = macrofaune se nourrissant en suspension, MZ = mésozooplancton. Adapté de Van der Heijden et al. (2019).

Figure 5 : Nombre de publications par année concernant des études portant sur le microphytobenthos. Données obtenues par croisement de mots clés (« microphytobenthos » / « microphytobenthic » et « benthic diatom ») sur le moteur de recherche de littérature scientifique Scopus.

Figure 6 : Mécanique simplifiée de la photosynthèse durant les phases claires (photochimique) et sombres (non-photochimique).

Figure 7 : Schéma de la chaîne de transport d'électrons dans une membrane thylakoidienne. Extrait de Taiz *et al.* (2015).

Figure 8 : Courbe photosynthèse-Eclairement montrant les différents paramètres photosynthétiques α : la capacité photosynthétique face aux faibles éclairement, P_{max} : l'activité photosynthétique maximale et I_k l'intensité optimale pour l'activité photosynthétique correspondant au début de saturation des photosystèmes.

Figure 9 : Fonctionnement du cycle des xanthophylles chez les diatomées. DdxD : diadinoxanthine deépoxidase, DtDx : diatoxanthine déépoxidase. Adapté de Latowski *et al.* (2004).

Figure 10 : Diagramme en secteurs selon le type d'outil utilisé pour étudier le MPB. Données issues du moteur de recherche de littérature scientifique (Scopus) de 1950 à aujourd'hui sur une analyse de 1463 articles.

Figure 11 : Schéma d'une pointe de microélectrode d'après Revsbech (1989).

Figure 12 : Profils bruts d'oxygène mesurés au noir (A) et sous lumière (B) avec leur modélisation respective (C et D). Les profils modélisés sont accompagnés du découpage en zones (vert : zone de production d'O₂ et rouge : zone de consommation d'O₂) et de la valeur de flux associée (série de données rouge).

Figure 13 : Nombre de publications par année concernant des études portées sur le microphytobenthos avec emploi de microélectrodes. Données obtenues par croisement de mots clés sur le moteur de recherche de littérature scientifique Scopus.

Figure 14 : Niveaux de fluorescence de la chlorophylle a en lumière modulée mesurés par fluorimétrie PAM. Extrait de Consalvey *et al.* (2005).

Figure 15 : Nombre de publications par année concernant des études portées sur le microphytobenthos avec emploi d'un fluorimètre PAM. Données obtenues par croisement de mots clés sur le moteur de recherche de littérature scientifique Scopus.

Figure 16 : Exemple d'acquisition de données en 3 dimensions représenté par un enregistrement du F_t en fonction de l'intensité lumineuse et par un profil moyen d'oxygène sur la profondeur acquis pour une intensité lumineuse donnée.

Figure 1: General layout of the experimental system for P-I curves acquisition (1) Fitoclima chamber sensors that allows the maintenance of the programmed conditions and ventilation compartment, (2) Lighting strip integrated in the climatic chamber, (3) Hermetic door, (4) Oxygen microsensors, (5) Micromotor, (6) Diving-PAM optical fiber, (7) Sediment core, (8) Additional light source KL2500 LCD, (9) Diving-PAM, (10) Programmable turntable, (11) Laboratory stand

Figure 2: Gross oxygen production measured for 3 light intensities under 3 different light sources: chamber daylight lighting (black), additional daylight lighting (dark grey) and chamber combined to additional daylight lighting (light grey)

Figure 3: Raw oxygen concentrations measured under 3 light intensities versus depth in the superficial sediments with associated model fits. Profile (A) 0 μ mol photons.m⁻².s⁻¹, profile (B) 565 μ mol photons.m⁻².s⁻¹ and profile (C) 1650 μ mol photons.m⁻².s⁻¹

Figure 4: (A) Photosynthesis- Irradiance curves fitted following the time exposure to the different light intensities. Green curve fitted on the points corresponds to GOP calculated with the profiles carried out the first 11 minutes, orange between 11 and 22 minutes of exposure, red between 22 and 33 minutes of exposure and blue between 33 and 44 minutes of exposure for two microsensors. (B) Photosynthesis- Irradiance curves fitted on all dataset (black solid line, black dots corresponding to mean \pm s.d.) and on all dataset \pm s.d.)

Table 1: Characteristic photosynthetic parameters of the Photosynthesis-Irradiance curves modeled following the time exposure to the different light intensities

Figure 5: (A) Instantaneous fluorescence (Ft) according to the light intensity (each point corresponds to the mean \pm s.d. of 14 Ft measurements, *i.e.* measurements performed every 3 minutes during 44 minutes). (B) Non photochemical quenching (NPQ) according to the light intensity (each point corresponds to the mean \pm s.d. of 14 NPQ measurements, *i.e.* measurements performed every 3 minutes during 44 minutes)

Figure 6: Standard deviation as a function of the light intensity based on GOP (A) and rETR (B). Black sticks correspond to s.d. calculated on all data (n=8 for GOP and n=14 for rETR) and grey sticks correspond to s.d. calculated on all data excluding the 11 first minutes (n=6 for GOP and n=10 for rETR).

Figure 7: (A) Mean (\pm s.d.) depth of the maximum oxygen concentration according to the light intensity (n=6, *i.e.* all dataset excepted the 11 first minutes data). (B) Mean (\pm s.d.) thickness of the production peak according to the light intensity (n=6, *i.e.* all dataset excepted the 11 first minutes data)

Figure 1: A: Tide evolution at the sampling site over time. The shaded areas represent the theoretical immersion phases. B: Diagram illustrating the artificial tidal cycle simulated in the laboratory. The numbered arrows (1 to 4) indicate the four scenarios during which measurement periods were conducted. The striped areas represent the immersion phases simulated in the laboratory. C: Evolution of the light intensity perceived by the microphytobenthos in the laboratory and the theorical alternance between day and night

Figure 2: Raw oxygen concentrations measured under a light of 700 μ mol photons.m⁻².s⁻¹. Distance A represents the depth of the maximum oxygen concentration

Figure 3: Net oxygen flux (mmol.m⁻².h⁻¹) (n=20 per day and light intensity) measured over 5 consecutive days at 4 different light intensities. Stars indicate whether the Wilcoxon test result is significant or not

Figure 4: A: Instantaneous fluorescence dynamics (Ft) during the four scenarios according to the time, the tide (grey boxes) and the light. B: Fluorescence signal pattern obtained by smoothing

Figure 5: P-I curves obtained by fitting mean relative electron transport rate \pm s.d (rETR) according to the light intensity (n=14), during the four scenarios, by the model of Eilers and Peeters [40] (each point corresponds to the mean \pm s.d)

Figure 6: A: Mean value of $\alpha \pm s.d.$ calculated on rETR P-I curves according to the scenario (n=12). B: Mean value of Pmax $\pm s.d.$ calculated on rETR P-I curves according to the scenario (n= 12). Stars indicate whether the Wilcoxon test result is significant or not

Figure 7: P-I curves obtained by fitting relative gross oxygen production according to the light intensity (n=6), during the four scenarios, by the model of Eilers and Peeters [40]

Figure 8: A: Mean value of $\alpha \pm s.d.$ calculated on GOP P-I curves according to the scenario (n=6). B: Mean value of Pmax $\pm s.d.$ calculated on GOP P-I curves according to the scenario (n= 6). Stars indicate whether the Wilcoxon test result is significant or not

Figure 9: Average depth of oxygen concentration maximum \pm s.d. (n=6) measured on oxygen profiles obtained during the four scenarios

Figure 1: Mapping of the Canche estuary and salinity gradient during high tide (±1 hour around high tide). Each point corresponds to the bottom water (< 1m above the sediment surface) sampling site. HL-S/B/F and LL-S/B/F are the study stations selected for primary production measurements and their associated salinity.

Figure 2: Average porosity (n=4) measured in the first 0.5cm at each study station (LL : low bathymetric stations and HL : high bathymetric stations) before the spring bloom (Before) and after the spring bloom (After) the spring bloom. Letters represent the result of the Kruskal-Wallis test (two different letters meaning a significant different with an uncertainty of 5%).

Figure 3: Average Chlorophyll a biomass (n=4) measured in the first 0.5cm of the sediment at each study station (LL : low bathymetric stations and HL : high bathymetric stations) before the spring bloom (Before) and after the spring bloom (After). Letters represent the result of the Kruskal-Wallis test (two different letters meaning a significant different with an uncertainty of 5%).

Figure 4: Mean Halimione portulacoides thickness (n=10) measured at each study station (LL : low bathymetric stations and HL : high bathymetric stations) before the spring bloom (Before) and after the spring bloom (After). Letters represent the result of the Wilcoxon test (two different letters meaning a significant different with an uncertainty of 5%).

Figure 5: P-I curves obtained by fitting relative gross oxygen production according to the light intensity (n=6) for each station before and after the spring bloom (Model fitting: Eilers and Peeters (1988)).

Figure 6: A: Mean value of the initial slope of the non-saturated photosynthetic rate (α) ± s.d. and B: Mean value of Pmax ± s.d. calculated on GOP P-I curves before and after the spring bloom according to the station (n=6). Letters represent the result of the Wilcoxon test (two different letters meaning a significant different with an uncertainty of 5%).

Figure 7: Example of the evolution of oxygen vertical profiles and instantaneous fluorescence (F_t) under an increasing light intensity (Case of LL-B before the spring bloom). A : Light intensity for which Ft break in slope is observed. B: Depth of the Oxygen Concentration Maximum (DOCM). C: Light intensity for which DOCM is observed.

Figure 8: A: Mean value \pm s.d. of the light intensity for which the maximum oxygen concentration depth has been observed before and after the spring bloom (n=6). B: Mean value \pm s.d. of the light intensity for which the F_t slope break has been observed before and

after the spring bloom. (n=6). Letters represent the result of the Wilcoxon test (two different letters meaning a significant different with an uncertainty of 5%).

Figure 1 : Pourcentage moyen de perte en eau durant 10h d'exposition d'un sédiment vaseux dont la porosité moyenne est de 0,83 \pm 0,04 (n=9). La perte en eau a été calculée sur la différence de contenu en eau à partir de trois réplicats prélevés au début et à la fin de l'exposition du sédiment à l'air dont l'hygrométrie a été fixée.

Figure 2 : Courbes P-E obtenues pour l'étude d'une vasière intertidale de l'estuaire de la Canche en ajustant la production brute relative d'oxygène en fonction de l'intensité lumineuse en laboratoire (rouge) (n=6) et *in situ* (Ajustement du modèle : Eilers et Peeters (1988)).

Figure 3 : Cartographie de la bathymétrie de l'estuaire de la Canche dont les zones de prés-salés (vert clair) et de vasières (vert foncé) ont été mises en évidence. Données bathymétrique issue de mesure LIDAR en 2018.

Figure 4 : Courbes P-E obtenues en laboratoire sous lumière croissante (courbe noire) et décroissante (courbe grise) pour une carotte de sédiment prélevée sur une vasière intertidale de l'estuaire de la Canche en ajustant la production brute relative d'oxygène en fonction de l'intensité lumineuse (n=6) (Ajustement du modèle : Eilers et Peeters (1988).

Liste des abréviations

Φ _{PSII}	Rendement quantique effectif du photosystème II
ρ_{sed}	Densité des particules sèches
ρ _w	Densité de l'eau de mer
α	Coefficient d'efficacité photosynthétique
ADP	Adénosine Diphosphate
АТР	Adénosine triphosphate
Chl a	Chlorophyll a
Courbe P-E	Courbe Photosynthèse-Eclairement (P-I en anglais pour Photosynthesis-
	Irradiance)
Ddx	Diadinoxanthine
DdxD	Diadinoxanthine déépoxidase
Dt	Diatoxanthine
Ddx	Diatoxanthine déépoxidase
DOCM	Profondeur de la concentration maximale d'oxygène
EPS	Exopolysaccharides
Fo	Fluorescence minimale
Fm	Niveau de fluorescence maximal atteint avec une seule impulsion lumineuse
	saturante
Ft	Niveau de fluorescence instantanée sous lumière ambiante
F _v /F _m	Rendement quantique optimal de la photochimie du photosystème II
GOP	Production brute d'oxygène
l _k	Intensité lumineuse optimale pour la production primaire
NDVI	Indice de végétation normalisé
NOP	Production nette d'oxygène
NPQ	Quenching non photochimique
PAM	Modulation d'amplitude par impulsions
PPFD	Densité du flux de photons
P _{max}	Maximum de la production primaire
PSI	Photosystème I
PSII	Photosystème II
rETR	Taux relatif de transport d'électrons
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
Wsed	Masse du sédiment
Ww	Masse de l'eau
у	Taux de photosynthèse



Introduction générale : lieu et objet d'étude

Chapitre 1 – Introduction générale : Lieu et objet d'étude

1. Contexte écologique de l'étude

1.1. Caractéristiques et importance écologique des estuaires

La zone côtière, couvrant environ 7 % de la surface de l'océan mondial, soit 26 millions de km² (Gattuso *et al.*, 1998), est caractérisée par sa position à l'interface entre la terre et la zone côtière ainsi que par des eaux peu profondes (Middelbrug *et al.*, 1997). Les écosystèmes côtiers sont parmi ceux qui sont les plus productifs au monde (Alongi, 1998 ; Underwood et Kromkamp, 1999 ; Cloern *et al.*, 2014) puisqu'ils contribuent jusqu'à 50 % de la minéralisation de la matière organique mondiale au travers des échanges dynamiques de nombreux éléments chimiques et particulaires (Middelburg *et al.*, 1997).

Cette interface entre terre et mer abrite des écosystèmes caractéristiques tels que les estuaires, qui ne représentent que 4 % de la marge côtière globale. Les estuaires jouent pourtant un rôle essentiel en tant qu'interfaces entre les compartiments terrestre, océanique et atmosphérique, facilitant le transfert de nombreux éléments dissous et particulaires, contribuant ainsi à de nombreux cycles biogéochimiques (Bianchi, 2007 ; Regnier *et al.*, 2013). Les échanges sont favorisés dans les eaux peu profondes, qui permettent une interaction plus intense entre les domaines pélagique (eau libre) et benthique (fond marin) par rapport au reste des océans conduisant à un fort couplage bentho-pélagique permettant des échanges physico-chimiques accrus entre les sédiments et la colonne d'eau (Graf, 1992 ; Griffiths *et al.*, 2017). Ainsi, les zones géographiques relativement restreintes que constituent les estuaires sont caractérisées par une minéralisation et des échanges de composés dissouts et gazeux intenses (McClain *et al.*, 2003).

L'importance des estuaires en tant que contributeurs majeurs aux cycles biogéochimiques ne se limite pas seulement à leur rôle dans la minéralisation de la matière organique. Ils participent également activement au pompage du CO₂ atmosphérique, autrement appelé carbone bleu, grâce à la production primaire et à la séquestration à long terme du carbone par les organismes autotrophes estuariens dans les sédiments par l'enfouissement de la matière organique (Chmura *et al.*, 2003), notamment dans la zone du pré-salé et des vasières. Parmi ces organismes autotrophes se trouve la végétation vascularisée mais également des macroalgues ainsi que des microalgues benthiques : le microphytobenthos (Flindt *et al.*, 1999).

Les estuaires jouent également un rôle essentiel pour la biodiversité. En raison de la grande quantité de nourriture disponible, ils servent de zones de nurserie et de zones d'alimentation pour de nombreuses espèces de poissons (Headrich, 1983 ; Potter *et al.*, 1990 ; Ray, 2005), d'invertébrés benthiques (Gray, 1997 ; Herman *et al.*, 1999) et d'oiseaux (Hill *et al.*, 1993 ; Moreira, 1993 ; Erwin, 1996). Selon une étude menée par Selleslagh et Amara (2008), 28 espèces dont 20 familles différentes peuvent être trouver dans l'estuaire de la Canche (France). De plus, selon une étude menée par Seitz *et al.* (2013), environ 40 % des espèces de poissons d'intérêt économique effectuent des migrations ou passent une partie de leur cycle de vie dans les estuaires ce qui souligne l'importance de ces écosystèmes pour la biodiversité.

1.2. Menaces actuelles

Depuis plusieurs siècles, les estuaires sont des lieux d'intérêt pour l'humanité, où se concentrent des activités comme le commerce, la pêche ou encore le tourisme (Booi *et al.*, 2022). Ainsi, leur importance économique en tant que fournisseurs de divers services

écosystémiques tel que la provision de poissons, le transport maritime, la protection contre les inondations et les tempêtes ou encore la production primaire est indéniable (Edgar *et al.*, 2000 ; Beaumont *et al.*, 2007 ; Boerema et Meire, 2016).

Les estuaires sont aujourd'hui menacés par le développement économique ainsi que par les pressions naturelles et anthropiques qui perturbent leur équilibre. Le réchauffement des eaux (Bernardino *et al.*, 2015 ; Llarri *et al.*, 2022), l'élévation du niveau de la mer (Leuven *et al.*, 2019), l'acidification de l'océan (Mitra et Zaman, 2016 ; Scanes *et al.*, 2020) et l'érosion côtière (Roy *et al.*, 2021 ; Cao *et al.*, 2022) sont autant de menaces qui pèsent sur ces écosystèmes, en plus des pressions directes tels que l'exploitation côtière, la pollution, l'érosion, le transport maritime et le dragage (Tian *et al.*, 2017 ; Kennish, 2022).

Par ailleurs, sous l'influence croissante de l'activité anthropique, le réchauffement climatique, causé par l'augmentation des gaz à effet de serre dans l'atmosphère, constitue un problème majeur pour les écosystèmes estuariens (Cloern *et al.*, 2016 ; Lauchlan et Nagelkerken, 2019 ; Herbold *et al.*, 2022) et pour sa biodiversité. Parmi celle-ci se trouve un groupe d'organismes à la base du réseau trophique qui n'échappe pas à ces pressions : le microphytobenthos.

Afin de protéger ces écosystèmes, au travers de mesures telles que la gestion des ressources en eau, la prévention de la pollution, la planification de l'urbanisme ou encore l'éducation et la sensibilisation, la "loi sur l'eau" a été adoptée en 1992. Elle vise à préserver les écosystèmes aquatiques ainsi que les zones humides, qu'ils soient exploités ou non afin de concilier les besoins en eau de l'agriculture, de la pêche et de l'aquaculture avec la préservation de l'environnement. Par la suite, la Convention de Ramsar en 1999, qui est un traité international pour la conservation et l'utilisation durable des zones humides, a permis

de reconnaitre les fonctions écologiques, économiques, culturelles, scientifiques et récréatives des zones humides, y compris les estuaires, et les désigne comme des sites d'importance internationale. Cette convention vise à enrayer leur dégradation ou disparition et à favoriser la coopération internationale pour le développement durable.

2. L'estuaire de la Canche

Notre étude s'est focalisée sur l'estuaire de la Canche, qui se situe en Manche Orientale et plus précisément sur la côte d'Opale. La Manche est une mer épicontinentale avec une profondeur moyenne relativement faible de 54m qui se réduit nettement dans la partie orientale de celle-ci (Kossina, 1921 ; Idier *et al.*, 2012) (Figure 1).



Fiqure 1 : Cartographie de la bathymétrie de la Manche Orientale, modifiée à partir de Idier et al. (2012).

Cette mer est soumise à un régime de marée macrotidal et à des marées semidiurnes dont le marnage est d'environ 9m durant les marées de vives-eaux. Le courant de marée y est la force hydrodynamique dominante. En surface, les vents de sud-ouest à ouest sont à l'origine de courants marins qui sont considérés comme étant une force hydrodynamique secondaire (Héquette *et al.,* 2008 ; Idier *et al.,* 2012). Cela se traduit par une houle prédominante venant du Sud-Ouest, affichant en moyenne sur l'année une période de 5,4 secondes et une hauteur qui atteint rarement plus de 2 mètres près de la côte, sauf en cas de tempêtes, comme l'ont noté Héquette *et al.* (2008).

La combinaison de la dérive littorale du Sud-Ouest au Nord-Est, de l'étroitesse de la Manche au niveau du détroit du Pas-de-Calais, et de la dominance des vents, entraîne la création de forts courants océaniques de surface dirigés du Sud-Ouest au Nord-Est.

L'estuaire de la Canche (N 50°33'-E 1°35'), qui mesure 8 km² de superficie, est situé entre les communes d'Etaples-sur-Mer (au nord) et du Touquet (au sud) le long des côtes de la Manche Orientale (Figure 2). Il se caractérise par une forme étroite et allongée avec une orientation sud-est/nord-ouest.

La Canche prend sa source sur le plateau d'Artois, près de la commune de Gouy-en-Ternois, et se jette dans la plaine maritime picarde après un parcours fluvial de 85 km. Le bassin versant de la Canche, qui mesure 894 km², est principalement occupé (87%) par des terres agricoles, et dans une moindre mesure, par des forêts (8%), des zones artificielles (5%), et des zones humides (1%) (source : Annuaire des Statistiques agricoles, 2017).

Cet estuaire, avec ceux de l'Authie et de la Somme, fait partie des estuaires dits "picards" car leur embouchure est caractérisée par un cordon dunaire issu d'une accumulation de sédiments grossiers sous forme de « langue » communément appelé poulier (Figure 2). Cette zone sablonneuse s'étend du sud au nord, principalement en raison de l'action de la dérive littorale. Elle est associée à une zone d'érosion sur la rive opposée : le musoir, et à la présence d'une zone d'accrétion en amont dans l'estuaire nommé le

contre-poulier. Ces deux phénomènes antagonistes d'érosion et d'accrétion provoquent un déplacement graduel de l'embouchure de l'estuaire vers le nord. Les estuaires picards, tout comme la Manche Orientale font l'objet de variations de l'amplitude de marées induisant de puissants courants (Anthony et Dobroniak, 2000 ; Dobroniak, 2005). L'estuaire de la Canche est également caractérisé par un hydrodynamisme fort dont le débit moyen du fleuve avoisine les 10 m³.s⁻¹ avec des amplitudes allant de 5,6 durant les périodes d'étiage



et de 18 m³.s⁻¹ durant les périodes de crues (données de l'Agence de l'Eau Artois-Picardie).

Fiqure 2 : Représentation des zones d'accrétion (hachuré en bleu) et d'érosion (hachuré en rouge) caractéristique d'un estuaire 'picard' dans l'estuaire de la Canche.

3. Une diversité de paysages

3.1. Gradient perpendiculaire à l'estuaire : relation entre bathymétrie et hydrodynamisme
L'estuaire de la Canche présente une diversité dans son paysage, résultant de l'interaction complexe entre les facteurs géomorphologiques et hydrologiques. Les estuaires, du fait de leur situation géographique entre influence marine et d'eau douce, sont soumis à l'influence de divers apports sédimentaires (Voltz *et al.,* 2021). Les particules transportées par ces forces hydrodynamiques modifient le paysage estuarien de marées en marées mais également au fil d'évènements plus ponctuels comme lors de tempêtes. Ainsi, le paysage de l'estuaire va être façonné continuellement le long d'un gradient de faciès sédimentaires aux propriétés biologiques variables selon l'influence de la masse d'eau.

Le long d'un transect perpendiculaire à l'estuaire, ces différents biofaciès telles que les vasières, les bancs de sable et les prés salés, présents le long des rives du fleuve, créent des habitats uniques pour une multitude d'organismes animaux et végétaux, marins et terrestres. Les vasières, composées de sédiments nus, riches en nutriments et en matière organique, abritent une grande diversité de bactéries, de microalgues, de crustacés et de vers (Beninger, 2018). Elles sont principalement composées de sédiments fins (<63µm), avec une proportion élevée d'argile granulométrique et de silt (Voltz *et al.*, 2021) et sont caractérisées par la présence d'un biofilm microphytobenthique plus ou moins développé selon la saison (Adams et Bate, 1999). Les prés salés présentent les mêmes propriétés sédimentaires à la différence près que contrairement aux vasières, les sédiments sont couverts de végétation vascularisée (Pittman, 2017) avec pour principales espèces *Halimione portulacoides* (Obione ou faux pourpier) qui est l'espèce dominante, *Spartina maritima* et *Spartina anglica* ou encore *Salicornia spp* (Francescangeli *et al.*, 2017 ; Voltz *et al.*, 2021). Les bancs de sables sont quant à eux des zones où la composition sédimentaire

est principalement sableuse avec une granulométrie plus grossière (>63µm) que sur les prés-salés ou les vasières (>63µm).

Ces différents biofaciès résultent de l'intensité des forçages hydrodynamiques variable sur les différentes hauteurs bathymétriques de l'estuaire (Marion *et al.*, 2009) (Figure 3). Selon le phénomène de dépôt, une particule en suspension va se déposer à partir du moment où la turbulence au sein de la colonne d'eau sera assez faible pour que la vitesse de chute de la particule permette son transport vertical jusqu'à la surface du substrat (Manning et Dyer 2002). Cela signifie donc que les vasières et les prés-salés sont des zones à faible turbulence lorsque celles-ci sont immergées contrairement aux zones sableuses.



Fiqure 3 : Profil longitudinal des différents biofaciès en fonction de la bathymétrie et du niveau tidal (PMVGE : Pleine mer de grandes vives eaux. PMVE : Pleine mer de vive eau ; PMME : Pleine mer de morte eau ; NM : Niveau moyen de la mer). Adapté de Marion et al. (2009).

3.2. Un gradient amont-aval : les principaux gradients physico-chimiques

Au-delà du gradient perpendiculaire à l'estuaire, le gradient amont-aval est également un paramètre qui influence grandement le paysage estuarien de la Canche. En effet, lors de la marée montante, la convergence des flux d'eau douce issus du fleuve et des eaux marines dans les écosystèmes estuariens engendre une structure hydrologique d'une complexité et d'une dynamique exceptionnelles (McLusky, 1993), à l'origine de multiples gradients abiotiques en constante évolution, tant spatialement que temporellement (à l'échelle de la marée ou de la saison) (Day *et al.*, 1981 ; McLusky et Elliott, 2006). Les systèmes estuariens, selon McLusky (1993), se caractérisent principalement par la diversité spatiale des gradients de salinité et de turbidité ainsi que par des fluctuations temporelles du gradient de température. En plus de ces gradients prévalents, d'autres gradients tels que les concentrations de nutriments (Daggers *et al.*, 2020), de gaz dissous ou de polluants (Oksiyuk et Davydov, 2006 ; Green *et al.*, 2016) vont également influencer la biomasse microphytobenthique. Ainsi, il est possible d'observer des interactions en synergie de tous ces paramètres qui rendent d'autant plus complexe la compréhension du système estuarien. Néanmoins, selon Nicolas (2010), des schémas généraux sont observables suivant les 3 principales variables mises en évidences par McLusky (1993).

> La salinité

A la confluence des eaux douces et marines, l'environnement estuarien présente un fort gradient de salinité dans le sens longitudinal subdivisant en trois secteurs l'estuaire, de l'embouchure vers l'amont (McLusky et Eliott, 2006) ; l'estuaire fluvial où la salinité est inférieure à 5 ; l'estuaire moyen où la salinité est comprise entre 5 et 18 ; et l'estuaire marin où la salinité est supérieure à 18.

Selon le contexte hydrodynamique, il existe une classification des estuaires selon leur degré de mélange permet de catégoriser ces écosystèmes en trois types principaux : les estuaires à coin salé, partiellement mélangés et bien mélangés. Les estuaires à coin salé

sont caractérisés par une stratification nette entre les eaux douces en surface et les eaux salées plus denses au fond, avec une faible interaction entre les deux sous l'influence d'un fort débit fluvial. Les estuaires partiellement mélangés présentent une certaine stratification, mais avec une zone de transition où les eaux douces et salées se mélangent partiellement sous l'influence de courants de marée plus forts que le débit du fleuve. En revanche, les estuaires bien mélangés comme l'estuaire de la Canche, affichent une homogénéisation presque complète des eaux douces et salées, résultant en un mélange plus uniforme sur toute la colonne d'eau sous l'influence de marnages macro et mégatidaux (McLusky et Eliott, 2006).

> La turbidité

Les rivières sont les principales sources d'apport de sédiments, fournissant d'importantes quantités de particules argileuses (McLusky & Elliott, 2006). De manière similaire au gradient perpendiculaire de l'estuaire, la sédimentation de ces particules est régie par des facteurs tels que la vitesse des courants, la taille et la concentration des particules. Lorsque les courants fluviaux et les courants de marée commencent à ralentir en pénétrant dans les parties en aval et en amont l'estuaire, les particules plus grossières, telles que les graviers et les sables, sont les premières à se déposer. À l'inverse, les particules plus fines ne sédimentent que dans la partie abritée de l'estuaire, où les courants fluviaux et de marée se rejoignent, principalement pendant l'étale de haute mer, lorsque ces courants diminuent significativement (Dalrymple *et al.*, 1992 ; McLusky & Elliott, 2006).

> La température

En raison de sa faible profondeur, l'estuaire de la Canche est sujet à des variations de température beaucoup plus rapides que les eaux du large (Whitfield, 2021). Ces variations de température sont principalement saisonnières, avec des eaux fluviales généralement plus chaudes que les eaux marines en été et plus froides en hiver (McLusky, 1993). Le mélange des eaux douces et salées dans les estuaires entraîne la formation d'un gradient longitudinal de température, ainsi qu'un gradient de température relativement faible vertical dans la colonne d'eau lorsque l'hydrodynamisme est faible (Fischer, 1976).

4. Le microphytobenthos des vasières intertidales4.1. Définition et caractéristiques

Le terme microphytobenthos désigne principalement les microalgues benthiques, y compris les diatomées et les algues vertes, ainsi que les cyanobactéries, des procaryotes phototrophes vivant à la surface des sédiments des zones littorales et estuariennes (Middelburg *et al.*, 2000). Cette communauté est composée de microorganismes photosynthétiques qui se développent dans le sédiment, qui forment un biofilm à la surface des sédiments. Les cellules microphytobenthiques des substrats meubles se divisent en deux groupes distincts. Les cellules épipéliques qui sont des cellules capables de se mouvoir dans les premiers millimètres de sédiment sont celles qui occupent majoritairement les sédiments au sein desquels la lumière pénètre peu profondément (Kooistra *et al.*, 2007, Steele *et al.*, 2010). Au contraire, les cellules épipsammiques se fixent aux particules sédimentaires plus grossières telles que des grains de sable (>63µm) (Jesus *et al.*, 2009 ;

Cartaxana *et al.*, 2011) et dominent dans les sédiments plus grossiers (Méléder *et al.*, 2005 ; Kooistra *et al.*, 2007 ; Steele *et al.*, 2010). Les tailles de ces microalgues peuvent varier considérablement en fonction de l'espèce et des conditions environnementales mais de manière générale, les cellules du microphytobenthos ont une taille qui varie de quelques micromètres à quelques dizaines de micromètres jusqu'à quelques centaines de micromètres (Williams, 1964 ; Jesus *et al.*, 2009).

Le microphytobenthos joue un rôle essentiel au sein des écosystèmes côtiers car il fournit des services écosystémiques importants. Parmi ces différents services se trouve la stabilisation sédimentaire (Blanchard *et al.*, 2000). Grâce à la production d'exopolysaccharides qui lui permet de se fixer (Stal, 2010) mais également d'être mobile (Smith *et al.*, 1998), le microphytobenthos forme un biofilm adhérent à la surface des sédiments (Austen *et al.*, 1999 ; Le Hir *et al.*, 2007). Ce biofilm agit comme une véritable colle naturelle, enchevêtrant les particules sédimentaires de surface pour former des structures en réseau (Blanchard *et al.*, 2000). Cette consolidation des sédiments permet de prévenir l'érosion côtière, en offrant une résistance physique accrue contre les forces érosives des vagues, des courants et des marées. De plus, cette couche protectrice joue un rôle essentiel dans la rétention des particules en suspension dans l'eau, réduisant ainsi la remise en suspension des particules sédimentaires des voies navigables (Orvain *et al.*, 2007 ; Orvain *et al.*, 2014 ; Ubertini *et al.*, 2015).

En étant à la base de ce réseau, le microphytobenthos produit de la matière organique via la photosynthèse, qui constitue une source de nourriture pour d'autres organismes de l'écosystème puisque les microalgues unicellulaires du microphytobenthos sont directement consommées par une grande variété d'organismes benthiques tels que

les annélides, les arthropodes et les mollusques, qui en font leur alimentation principale (Leguerrier *et al.*, 2003 ; Degré *et al.*, 2006 ; Orvain *et al.*, 2007). Son rôle dans le réseau trophique est également remarquable d'un point de vue quantitatif puisqu'il représente un maillon essentiel de la chaîne alimentaire (Guarini *et al.*, 2004 ; Kromkamp et Forster, 2006 ; Saint-Béat, 2012) (Figure 4). Selon l'étude de Van der Heijden (2020), le microphytobenthos d'une vasière tempérée pouvait représenter entre 60 et 81% du régime alimentaire de la méiofaune benthique estuarienne et être majoritaire dans le régime alimentaire d'une grande partie de la macrofaune benthique. Par exemple, le microphytobenthos représente 75% du régime alimentaire d'espèces de nématodes de la macrofaune des vasières intertidales (Van der Heijden *et al.*, 2019).



Figure 4 : Réseau trophique d'une vasière intertidale en milieu tempéré (exemple de la baie de Marennes-Oléron). Le modèle de réseau trophique de la vasière intertidale comprend deux compartiments de producteurs primaires (vert), deux compartiments de bactéries (bleu), deux compartiments détritiques (orange) et 13 compartiments de consommateurs (rose). L'épaisseur des flèches indique l'intensité du flux de matière organique entre les compartiments et l'épaisseur des compartiments indique la quantité de biomasse. La biomasse de MOS (matière organique sédimentaire) et de MOPS (matière organique particulaire en suspension) dans la vasière sont inconnues (cases pointillées). Les compartiments de la méiofaune sont en caractères gras. BB = bactéries benthiques, BP = bactéries pélagiques, MBD = macrofaune benthique se nourrissant de dépôts, PB = poissons benthiques, MBB = macrofaune benthique brouteuse, MBO = macrofaune benthique omnivore, CB = copépodes benthiques, OC = oiseaux carnivores, MPB = microphytobenthos, MZP = microzooplancton, NDS = nématodes à dépôt sélectif, NDNS = nématodes à dépôt non sélectif, NCE = nématodes à croissance épigée, NO = nématodes omnivores/prédateurs, MS = macrofaune se nourrissant en suspension, MZ = PHY = phytoplancton, mésozooplancton. Adapté de Van der Heijden et al. (2019).

En tant qu'organisme autotrophe, le microphytobenthos intervient dans le rôle tampon des systèmes estuariens au travers de l'assimilation de nutriments, au même titre que d'autres organismes autotrophes de ces milieux tels que le phytoplancton (Pinckney et al., 2001) ou la végétation supérieure des prés salés (Flindt et al., 1999). Cette assimilation des nutriments dans les écosystèmes estuariens est également une caractéristique qui fait du microphytobenthos un acteur clé du bon fonctionnement de l'écosystème. Grâce à la photosynthèse, les microalgues assimilent le CO₂ et les bicarbonates et utilisent les nutriments présents dans l'eau à l'interface entre la colonne d'eau et le sédiment ainsi que dans les eaux interstitielles, tels que l'azote et le phosphore, pour produire de la matière organique (Sundbäck et Granéli, 1988 ; Sundbäck et al., 2000). Cette production de matière organique est particulièrement significative dans les estuaires, où les apports de nutriments en provenance des rivières sont souvent élevés (Nie et al., 2018). En transformant ces nutriments en biomasse, le microphytobenthos contribue à réguler leur concentration dans l'eau, limitant ainsi le risque de prolifération d'algues nuisibles (Webster et al., 2002). De plus, lorsque les microalgues sont consommées, meurent et se décomposent, elles libèrent les nutriments qu'elles ont assimilés, les rendant à nouveau disponibles pour d'autres organismes (Blackford, 2002; Webster, 2002, Stal, 2010).

Son rôle dans l'écosystème étant bien connu, le microphytobenthos est un ensemble d'organismes qui présente un intérêt croissant vis-à-vis de la communauté scientifique (Figure 5). Depuis 1981, ce sont 1431 articles qui ont été publiés dans des revues internationales, dont environ la moitié relayent des études réalisées dans des pays présentant une façade maritime en Europe.



Fiqure 5 : Nombre de publications par année concernant des études portant sur le microphytobenthos. Données obtenues par croisement de mots clés (« microphytobenthos » / « microphytobenthic » et « benthic diatom ») sur le moteur de recherche de littérature scientifique Scopus.

Ces différentes études regroupent de nombreuses thématiques telles que son abondance et sa diversité (Brotas *et al.,* 2003 ; Launeau *et al.,* 2018), son interaction avec d'autres organismes (Orvain *et al.,* 2004 ; Hope *et al.,* 2020) ou encore son activité photosynthétique puisqu'elle représente une source non négligeable d'assimilation de carbone dans la zone côtière et estuarienne (Guarini *et al.,* 2008 ; Hope *et al.,* 2020).

4.2. La photosynthèse

La lumière solaire joue un rôle prépondérant en tant que source d'énergie qui régit la dynamique de la quasi-totalité des écosystèmes sur terre (Huisman *et al.,* 2002). Elle alimente le processus fondamental de la photosynthèse, l'un des mécanismes les plus cruciaux pour la vie sur Terre.

Apparu il y a 3,8 milliards d'années avec les premières cyanobactéries, le processus de photosynthèse est la clé de voute des équilibres biologiques (Falkowski et Raven, 2007). Elle permet aux organismes photoautotrophes de fixer le carbone atmosphérique ou dissous dans l'eau, à partir de l'énergie lumineuse, pour la synthèse de molécules organiques complexes utilisées dans les processus vitaux et pour la reproduction de ces organismes.

La photosynthèse est un processus biochimique complexe et fondamental qui permet aux organismes autotrophes, tel le microphytobenthos, de synthétiser de la matière organique à partir de matière inorganique, principalement de l'eau (H₂O) et de dioxyde de carbone (CO₂), en utilisant l'énergie lumineuse. Ce processus se déroule dans les plastes des cellules photosynthétiques et peut être divisé en deux étapes principales : la phase claire (ou photochimique) et la phase sombre (ou biochimique) (Field *et al., 1998*).

Ainsi, la photosynthèse peut être exprimée comme la réaction d'oxydoréduction au cours de laquelle le dioxyde de carbone et l'eau sont convertis en sucres avec une libération d'oxygène (O₂) et d'eau (Van Niel, 1931) :

$$nCO_2 + nH_2O + \acute{e}nergie \ lumineuse \rightarrow n(CH_2O) + nH_2O + O_2$$
 (1)

4.3. Fonctionnement et structure de l'appareil photosynthétique du microphytobenthos

i. La membrane thylakoïdale

Le microphytobenthos étant principalement composé de diatomées (Admiraal, 1984 ; Underwood, 1994 ; MacIntyre *et al.,* 1996 ; Jesus *et al.,* 2009 ; Dalu *et al.,* 2020), c'est sur ce groupe que les caractéristiques des membranes photosynthétiques présentées ici vont se focaliser.

A l'intérieur de la cellule se trouvent des plastes qui sont des organites spécialisés des diatomées. C'est au cœur de ces plastes que se trouvent des structures appelées thylakoïdes qui sont le siège des réactions chimiques et du transfert d'électrons (voir plus bas). Ces thylakoïdes sont composés de membranes lipidiques perméables qui permettent les échanges entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule (Staehelin, 1975) (Figure 6).





Ces membranes thylakoïdales contient quatre types de complexes protéinespigments qui permettent de capturer, transformer et transporter l'énergie lumineuse en molécules organiques (Anderson, 1986).

ii. Les complexes pigments-protéines membranaires : les photosystèmes

C'est en 1940 qu'une expérimentation réalisée par Emerson a mis en lumière l'existence de deux structures servant à la conversion d'énergie lumineuse : le photosystème II et le photosystème I. Au travers d'un éclairement d'une microalgue verte (*Chlorella*), Emerson s'est rendu compte qu'au-delà de 680 nm, il se produit une diminution drastique de l'efficacité de la photosynthèse, bien que cette gamme de longueurs d'onde corresponde encore à une absorption significative par la chlorophylle qui absorbe principalement les longueurs d'onde du spectre lumineux situées dans les régions rouge (700nm) et bleue (470nm).

Lorsque *Chlorella* a été exposée à une lumière de courte longueur d'onde (inférieure à 680 nm), il a également observé une réduction de leur efficacité photosynthétique. Cependant, lorsque Emerson a exposé les plantes simultanément à des longueurs d'onde courtes et longues, il a constaté une augmentation significative de l'efficacité de la photosynthèse. Cela l'a conduit à formuler l'hypothèse de l'existence de deux photosystèmes distincts intervenant dans la photosynthèse : le Photosystème II (PSII) et le Photosystème I (PSI) (Owens *et al.*, 1989).

Le PSII est le premier complexe pigments-protéines de la chaine de transport des électrons (Figure 7). Il est composé d'antennes collectrices composées d'un ensemble de chaines d'acides aminés au sein desquelles des pigments tels que la chlorophylle *a* (Chl *a*)

ou les caroténoïdes se trouvent, capturant ainsi la lumière correspondant à leur longueur d'onde d'absorption spécifique (Jansson, 1994). Ces pigments transmettent ensuite l'énergie lumineuse absorbée aux centres réactionnels (P680), où la réaction photochimique est initiée. En absorbant l'énergie, le centre réactionnel passe d'un état stable à un état excité (P680*) et afin de retrouver son état stable, la première réaction photochimique qui est mise en place correspond à la séparation de charges. Le P680* cède ainsi un électron à un accepteur primaire, la phéophytine. Le PSI comprend comme pour le PSII un système d'antennes et d'un centre réactionnel (P700). La différence réside dans le fait que le donneur primaire d'électrons, le P700, est constitué d'une paire spéciale de molécules de Chl *a* ayant un maximum d'absorption différent de celui du PSII, situé à 700 nm.

Les électrons passent par une chaîne de transport d'électrons, générant un gradient de protons entre deux côtés de la membrane. Cela est renforcé par la photolyse de l'eau lorsque le PSII est photo-oxydé, produisant de l'oxygène et des protons supplémentaires. Ce gradient crée une force motrice qui active une enzyme appelée ATP synthase, située dans la membrane des thylakoïdes. Cette enzyme catalyse la production d'ATP à partir d'ADP et de phosphate inorganique en utilisant l'énergie potentielle du gradient de protons. L'ATP ainsi produit est essentiel pour les processus métaboliques et les adaptations environnementales du microphytobenthos. L'ATP produit, qui est une molécule d'énergie utilisée pour de nombreuses réactions biochimiques dans la cellule, sera utilisée par le microphytobenthos pour son métabolisme cellulaire ainsi que pour se mouvoir et s'adapter aux variations environnementales qui sont un réel enjeu pour sa survie.



Fiqure 7 : Schéma de la chaîne de transport d'électrons dans une membrane thylakoidienne. Extrait de Taiz et al. (2015).

4.4. Vivre dans un environnement changeant

Le microphytobenthos, à l'échelle de l'estuaire, reste confiné dans les premiers millimètres de sédiments, sans jamais changer de position géographique. Ainsi, pour survivre dans ce milieu hostile en tant qu'organisme de quelques dizaines de micromètres, le microphytobenthos a développé de nombreuses capacités d'adaptations face à cet environnement changeant. Parmi les variations de son environnement, certains forçages vont gouverner son rythme de vie, en particulier la lumière que ce soit d'un point de vue quantitatif ou qualitatif, la marée ou encore la saison.

i. La lumière

Le microphytobenthos est soumis à des conditions environnementales changeantes, notamment à des niveaux de lumière variables. Celle-ci, qui est pourtant le moteur de la photosynthèse, soulève un paradoxe qui s'avère être un enjeu réel pour le microphytobenthos : d'un côté la capture de photons doit être suffisante pour permettre la croissance des cellules et de l'autre, un excès de lumière conduit à des phénomènes de photoinhibition voire de photodestruction dans les cas les plus extrêmes (Kok, 1956).

A l'échelle de la journée, le microphytobenthos peut être soumis à une gamme d'éclairement très contrastée. En condition de ciel dégagé, l'éclairement peut passer d'une valeur nulle à 2000 µmol photons.m⁻².s⁻¹ en été dans un écosystème tel que l'estuaire de la Canche (Denis *et al.*, 2012). Or il est généralement observé que l'intensité de saturation des photosystèmes avoisine des valeurs comprises entre 200 et 500 µmol photons.m⁻².s⁻¹ pour le microphytobenthos des milieux tempérés (Migné *et al.*, 2009 ; Denis *et al.*, 2012) ce qui signifie que durant une journée complète, le microphytobenthos est capable de tolérer 10 à 25% de la gamme d'éclairement d'une journée ensoleillée estivale. En dehors de cette gamme d'éclairement, le microphytobenthos peut être saturé en photons, mécanisme qui résulte en une photoinhibition et provoque donc une diminution de l'activité photosynthétique. Cette activité photosynthétique est généralement représentée sous la forme d'une courbe Photosynthèse-Eclairement (Figure 8).



Fiqure 8 : Courbe photosynthèse-Eclairement montrant les différents paramètres photosynthétiques α : la capacité photosynthétique face aux faibles éclairements, P_{max} : l'activité photosynthétique maximale et I_k l'intensité optimale pour l'activité photosynthétique correspondant au début de saturation des photosystèmes.

Lorsque le microphytobenthos est photoinhibé par des éclairements trop forts et/ou trop longs, des dommages à l'appareil photosynthétique peuvent survenir (Kim *et al.*, 1993; Baroli et Melis, 1998 ; Melis, 1999). Lorsque la quantité de lumière absorbée par les pigments photosynthétiques dépasse la capacité de la cellule à la convertir en énergie chimique, l'énergie excédentaire peut endommager les systèmes photosynthétiques et causer la création d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou de chlorophylles triplets provoquant des dommages cellulaires (Cirulis *et al.*, 2013).

Pour se protéger de ces trop forts éclairements, le microphytobenthos a développé plusieurs mécanismes de photoprotection afin de faire preuve de photoadaptation.

a. Le cycle des xanthophylles

En réponse à l'excès de lumière, les diatomées activent le cycle des xanthophylles (Figure 9). Il s'agit d'un processus rapide en plusieurs étapes qui consiste principalement en la conversion de la diadinoxanthine (Ddx) en diatoxanthine (Dt) et inversement (Strain et al., 1944). Cette réaction est catalysée par une enzyme appelée la diadinoxanthine deépoxidase (DdxD). La conversion de Ddx en Dt constitue un mécanisme essentiel pour la protection des pigments photosynthétiques, car la Dt agit comme un "écran de protection" en absorbant efficacement la lumière à des longueurs d'onde spécifiques, principalement dans la région du spectre lumineux correspondant à la chlorophylle. Lorsque l'intensité lumineuse diminue, le cycle des xanthophylles peut être inversé par une conversion de Dt en Ddx pour revenir à leur état initial. La conversion inverse est catalysée par une enzyme différente, la diatoxanthine déépoxidase (Ddx) convertitissant la Dt en Ddx (Strain et al., 1944). La durée du cycle des xanthophylles peut varier en fonction de l'espèce de diatomée, de l'intensité lumineuse et de la durée de l'exposition à la lumière intense. Dans certaines diatomées, ce processus peut prendre de quelques minutes à quelques heures (Kuczynska *et al.,* 2020).



Diatoxanthine

<u>Figure 9 : Fonctionnement du cycle des xanthophylles chez les diatomées. DdxD :</u> <u>diadinoxanthine deépoxidase, DtDx : diatoxanthine déépoxidase. Adapté de Latowski et al.</u> (2004).

b. Le Quenching Non Photochimique

Des mécanismes mettant en jeu certains pigments du cycle des xanthophylles peuvent intervenir dans un mécanisme photochimique rapide et utilisé par de nombreux organismes photosynthétiques appelé Quenching Non Photochimique (NPQ). Lorsque l'intensité lumineuse augmente, les électrons dans les pigments photosynthétiques absorbent davantage d'énergie, conduisant ainsi à une accumulation de protons dans les thylakoïdes des plastes, ce qui abaisse le pH. En réponse à l'abaissement du pH, les antennes collectrices de lumière subissent une modification de la conformation de ces antennes et donc à une diminution de la probabilité d'absorption de la lumière (Ueno *et al.*, 2019 ; Negi *et al.*, 2020). En même temps que la modification de la conformation de l'antenne, l'excedant d'énergie va être émis sous forme de fluorescence et d'énergie thermique (Demmig-Adams *et al.*, 2014). Des mécanismes chimiques plus longs comme la régulation de la composition de leur cortège pigmentaire peut intervenir résultant plutôt de l'ordre de la photoadaptation que de la photoacclimatation (Jordan *et al.,* 2009).

c. La migration verticale

Le dernier, qui est couramment admis comme étant celui qui intervient en premier est d'ordre comportemental (Perkins *et al.,* 2010). La migration verticale est un processus lors duquel les cellules du microphytobenthos épipéliques se déplacent verticalement dans les premiers millimètres de sédiment (Paterson, 1986 ; Serôdio, 1997 ; Cartaxana *et al., 2011 ;* Serôdio *et al.,* 2023) grâce à la sécrétion d'exopolysaccharides (Smith et Underwood, 1998).

Lorsque le microphytobenthos est exposé à de forts éclairements durant l'émersion, le microphytobenthos s'enfouit dans le sédiment sous l'effet de la phototaxie négative à partir de 250 µmol photons.m⁻².s⁻¹ (Admiraal, 1984, Kromkamp *et al.*, 1998, Consalvey *et al.*, 2004) afin de réguler son exposition à la lumière dans la zone photique des premiers millimètres, voire micromètres de sédiment (Paterson et Hagerthey, 2001 ; Morelle *et al.*, 2018). Au contraire, lors des phases d'émersion, lorsque l'énergie lumineuse incidente est faible, sous l'influence d'une phototaxie positive, les microalgues se trouvant enfouies dans le sédiment se déplacent vers la surface du sédiment où la lumière est plus abondante pour réaliser la photosynthèse. Au-delà de l'effet de la lumière, cette migration sur la verticale est également permise par la géotaxie qui permet au microphytobenthos de s'orienter dans l'espace (Round, 1979 ; Coelho *et al.*, 2011). De manière plus générale, la vitesse de déplacement des cellules qui composent le microphytobenthos a été estimée à quelques millimètres par heure (Laviale *et al.*, 2016) mais plusieurs études montrent que certaines espèces parmi les plus rapides se déplacent à des vitesses allant de 2 à 20 μ m.s⁻¹ (Cohn et Disparti 1994 ; Consalvey *et al.* 2004), ce qui leur permet théoriquement de migrer sur des distances allant jusqu'à 1 millimètre en 1 à 9 minutes environ. De plus, au-delà de la vitesse de déplacement, Underwood *et al.* (2005) ont montré que l'intensité lumineuse pour laquelle la migration a lieu dépend de l'espèce, certaines d'entre elles restant à la surface dans des conditions de faible luminosité généralement aux alentours de 5 à 40 μ mol photons.m⁻².s⁻¹ (Barnett *et al.*, 2020) typiques du tout début de la journée avant de migrer vers le bas, tandis que d'autres présentent des mouvements migratoires lorsque la lumière incidente est plus élevée généralement comprises entre 100 et 250 μ mol photons.m⁻².s⁻¹ (Perkins *et al.*, 2002; Serôdio *et al.*, 2006; Laviale *et al.*, 2016 ; Du *et al.*, 2018).

ii. La marée

Le microphytobenthos intertidal n'est en revanche pas soumis à un éclairement continu tout au long de la journée notamment dans l'estuaire de la Canche. Soumis à un régime de marée semi-diurne, il subit à intervalles réguliers des phases d'immersion durant lesquelles l'éclairement est brutalement modifié. Lors des phases d'immersion, dans le cas de l'estuaire de la Canche, la turbidité est très importante et la lumière incidente peut être très faible ou nulle (Denis *et al.*, 2012). Dans ce contexte, Daggers *et al.* (2018) ainsi que Frankenbach *et al.* (2020) ont montré que le microphytobenthos se trouve enfoui dans le sédiment. En effet, au-delà de son intérêt vis-à-vis de la photoprotection, la migration verticale du microphytobenthos est également une réponse au forçage hydrodynamique lié

à la marée. Ce comportement permet d'éviter l'impact potentiel de la marée montante et la remise en suspension provoquée par l'effet mécanique des vagues (Hopkins, 1963 ; Consalvey *et al.*, 2004). En s'enfouissant dans le sédiment, le microphytobenthos cherche à se protéger de ces perturbations et à assurer sa survie et sa persistance dans la zone intertidale. Ce mécanisme a déjà été décrit dans des études antérieures (de Brouwer et Stak, 2001 ; Paterson *et al.*, 1998) qui ont rapporté que les mouvements migratoires du microphytobenthos se produisent par anticipation sous l'influence d'une horloge interne (Admiraal, 1984 ; Paterson *et al.*, 1998 ; Consalvey *et al.*, 2004 ; Haro *et al.*, 2019) dans une fenêtre temporelle d'environ 30 à 45 minutes avant la transition entre l'émersion et l'immersion. Cette horloge interne a été décrite par Palmer et Round (1967) et ont montré que celle-ci était à l'origine d'une certaine rythmicité dans les phénomènes de migration verticale sous l'influence du rythme nycthémérale et marégraphique.

La création d'exopolysaccharides, au-delà de son intérêt moteur pour le microphytobenthos, sert à la formation d'un « patch » et est également particularité utile au microphytobenthos face au forçage tidal. Lorsque les sédiments sont exposés à des mouvements d'eau, par exemple lors du retour de la marée, le microphytobenthos est vulnérable à la remise en suspension (Orvain *el al.*, 2012 ; 2014 ; Ubertini *et al.*, 2015). Les exopolysaccharides (EPS) produits par le microphytobenthos servent à agglomérer les particules de sédiment, créant une matrice cohésive qui stabilise les sédiments et prévient leur remise en suspension.

De plus, dans un contexte macrotidal, le microphytobenthos est amené à être émergé deux fois par jour dans l'estuaire de la Canche. Face à un environnement stressant d'un point de vue hydrique, les couches mucilagineuses produites par la production

d'exopolysaccharides permettent de retenir l'eau et de protéger les cellules contre la dessiccation (Coelho *et al.,* 2009).

iii. Saisonnalité et aléas météorologiques

Ce stress de dessiccation est également un paramètre à prendre en compte car au moment de l'émersion, il peut être plus ou moins important selon la saison avec des périodes sans pluie ou présentant une faible hygrométrie (Blanchard *et al.,* 1997 ; Wolfstein *et al.,* 2000 ; Savelli *et al.,* 2018 ; Méléder *et al.,* 2020). La saison joue un rôle fondamental dans la vie du microphytobenthos puisque les saisons déterminent les variations de la température, de climat lumineux et des conditions météorologiques, qui affectent directement le métabolisme de ces microalgues benthiques.

Durant l'été, l'ensoleillement est plus fort et plus long ce qui permet au microphytobenthos de profiter d'un plus fort éclairement mais en contrepartie, la température de l'air couplée à l'irradiation du sédiment par un fort éclairement provoque un stress thermique ainsi qu'une perte hydrique qui peuvent être délétère pour le microphytobenthos en terme d'activité photosynthétique (Vieira *et al.*, 2013 ; Bartolo *et al.*, 2023) mais également en terme de pression par prédation avec une activité de broutage accrue (Méléder *et al.*, 2020). A contrario, durant l'hiver, les températures basses ainsi que la photopériode réduite ralentissent le métabolisme rendant la production primaire moins forte (Savelli *et al.*, 2018).

Généralement, la période de fin d'hiver – début du printemps est la période la plus favorable pour le microphytobenthos puisque c'est à ce moment que l'on observe une efflorescence dans de nombreux écosystèmes tempérés (Savelli *et al.,* 2018 ; Méléder *et al.,*

2020) en lien avec des conditions optimales de température et d'ensoleillement (Pinckney et Zingmark, 1991 ; Barnett *et al.*, 2020) mais également par une disponibilité accrue en nutriments dans les premiers millimètres de sédiment (Kingston, 2002).

Par ailleurs, au-delà de l'effet saisonnier, la région des Hauts de France dans laquelle se trouve l'estuaire de la Canche est régulièrement soumise à des passages de nuages qui provoquent un éclairement très irrégulier du sédiment qui peut être également une source de forçage pour la photobiologie et l'activité comportementale microphytobenthique (Denis *et al.,* 2012).

D'autre part, selon la saison, la pluviométrie peut également être variable d'une journée à une autre. Celle-ci peut impacter le microphytobenthos d'un point de vue physique puisque lorsqu'il pleut, l'effet mécanique des gouttes sur le biofilm ainsi que le ruissellement de l'eau peuvent éroder le biofilm (Tholhurst *et al.*, 2008 ; Orvain *et al.*, 2014 ; Ha *et al.*, 2018). Mais la pluie peut également avoir un impact physiologique sur le microphytobenthos puisque l'eau douce se mélange à l'eau de mer, nécessitant la synthèse de composés osmoprotectants (van Bergeijk *et al.*, 2003).

iv. La variation spatiale des paramètres physico-chimiques

Selon où la position géographique au sein de l'estuaire, l'eau de pluie à la surface du sédiment peut ne pas avoir le même effet sur le microphytobenthos. De par la confluence des masses d'eau marine et d'eau douce, un gradient amont-aval se met en place à chaque marée selon le gradient d'intrusion d'eau de mer dans l'estuaire, créant un gradient des paramètres physico-chimiques (McLusky, 1993 ; Telesh et Khlebovich, 2010) mais

également un gradient perpendiculaire à l'estuaire suivant la bathymétrie (Voltz *et al.,* 2021) (Voir section 3.1. et 3.2.).

Ainsi, le microphytobenthos intertidal estuarien est soumis à de nombreux forçages qui, en agissant de façon combinée selon le moment de la marée, de la journée, de l'année et de la zone de l'estuaire, n'auront pas les mêmes conséquences d'un point de vue comportemental et photosynthétique.

Mesurer la photophysiologie du microphytobenthos 5.1. Méthodes d'étude

La mesure de l'activité photosynthétique du microphytobenthos peut être réalisée à l'aide de nombreuses techniques qui permettent d'étudier la photosynthèse sous divers angles. Le diagramme de la Figure 10 représente la part d'utilisation des principales techniques employées par la communauté scientifique depuis 1950 jusqu'à aujourd'hui pour décrire le microphytobenthos. Chacune d'entre elle ayant des avantages et des inconvénients, certaines sont utilisées de manière combinée.



Fiqure 10 : Diagramme en secteurs selon le type d'outil utilisé pour étudier le microphytobenthos. Données issues du moteur de recherche de littérature scientifique (Scopus) de 1950 à aujourd'hui sur une analyse de 1463 articles.

Ces divers outils permettent d'étudier le microphytobenthos sous divers angles. Sur le terrain, dans des systèmes intertidaux comme l'estuaire de la Canche, leur utilisation est souvent contrainte par la marée et ne permet pas de travailler durant de longues périodes. En revanche, en travaillant directement *in situ*, le microphytobenthos peut être étudié en condition naturelle, permettant ainsi d'intégrer toutes les variables en même temps. La variabilité des paramètres environnementaux ne permettant pas toujours de pouvoir caractériser l'effet d'un forçage, de nombreux outils d'étude *ex situ* ont été développés.

Que ce soit *in situ* ou en laboratoire, parmi ces différentes techniques, la mesure de flux de composés dissous ou gazeux par l'intermédiaire de chambres d'incubation est la technique qui a été la plus utilisée pour décrire les flux d'oxygène et de CO₂ issus de l'activité du microphytobenthos. Cette méthode consiste à mesurer les changements de la

concentration d'oxygène ou de dioxyde de carbone dans l'enceinte de la chambre benthique (Migné et al., 2002 ; Billerbeck et al., 2007 ; Cartaxana et al., 2016). Elle a pour avantage de pouvoir être utilisée in situ et en laboratoire selon le type de chambre, sur des durées relativement longues à partir du moment où la sursaturation/hypoxie en oxygène ou en CO₂ est contrôlée. L'un des avantages majeurs de cette technique est qu'elle permet d'obtenir une mesure directe à partir d'un volume ou d'une surface sédimentaire connu (surface et profondeur de la carotte de sédiment). En revanche, selon le paramètre mesuré (CO₂ ou O₂), les inconvénients peuvent être différents. A l'émersion, les mesures de flux de CO₂ est relativement stable pour des mesures sur des lapses de temps courts (<10 minutes) en revanche, pour l'étude des flux de CO₂ dissous, l'équilibre des carbonates étant très sensibles aux variations des paramètres physico-chimiques (Deffeyes, 1965), la mesure du CO₂ dissous est également sensible rendant le travail en conditions contrôlées impératif. Pour la mesure de l'O₂ dissous, la concentration est plus stable même si dépendante des conditions physico-chimiques, mais l'interprétation des flux n'est pas triviale du fait de la respiration bactérienne dans le sédiment (Webster et al., 2002 ; Billerbeck et al., 2007).

La mesure des isotopes stables est une technique couramment utilisée pour quantifier la production primaire du microphytobenthos. Cette méthode repose sur l'incorporation de certains isotopes stables, tels que le carbone-13 (¹³C) par exemple, dans les composants organiques des microalgues benthiques lors de la photosynthèse (Hartig *et al.,* 1998; Cook et Røy, 2006) et permet donc une mesure directe de l'activité photosynthétique. Cette technique repose sur le principe d'une incubation du producteur primaire dans un milieu contenant un isotope stable afin d'estimer à postériori la quantité d'isotopes assimilés, ce qui a pour avantage d'être très précis mais qui ne permet pas de travailler *in situ* puisque les échantillons doivent être exposés de manière artificielle à des gaz contenant des isotopes stables, tels que du CO₂ enrichi en ¹³C. De plus, selon l'isotope choisi, il est nécessaire de prendre certaines précautions spécifiques liées à l'emploi de matériel radioactif (notamment pour ¹⁴C).

Contrairement aux deux premières, certaines méthodes reposent sur des mesures indirectes pour la réalisation de bilans. C'est le cas de la télédétection qui est une technique permettant d'acquérir de l'information à très haute fréquence et à grande échelle sans avoir besoin d'être présent sur le terrain (Daggers et Herman, 2020 ; Méléder et al., 2020 ; Jacobs et al., 2021). Cette méthode permet de quantifier indirectement les flux d'O₂ ou de CO₂ à travers l'emploi de proxies. Parmi ces proxies, la biomasse est généralement calculée à partir d'indice de végétation dont la plus utilisée est l'indice de végétation par différence normalisée (NDVI), qui évalue la densité de la végétation en mesurant la réflectance dans le rouge et le proche infrarouge (Méléder et al., 2003 ; van der Wal et al., 2010 ; Brito et al., 2013 ; Méléder et al., 2020). A partir de modèles intégrant des variables environnementales, des estimations de production primaire microphytobenthique faisant appel aux techniques précédemment citées peuvent être réalisées. En revanche, pour valider les estimations de production primaire obtenues par télédétection ainsi que pour ajuster les modèles, des échantillonnages sur le terrain sont nécessaires impliquant la collecte d'échantillons de sédiments pour mesurer la biomasse du microphytobenthos et des taux de production primaire en laboratoire (Daggers et al., 2018 ; Méléder et al., 2020 ; Savelli et al., 2020).

Pour finir, il existe deux autres outils qui peuvent être employés *in situ* ainsi qu'en laboratoire : les microélectrodes qui permettent des mesures de pression partielle en oxygène et le fluorimètre à modulation d'amplitude par impulsions ou « Pulse-Amplitude

Modulation » en anglais (PAM) basé sur la fluorescence de la Chl *a* en lumière modulée. Ces deux techniques ont été utilisées de manière complémentaire dans le cadre de cette thèse. Les microélectrodes d'une part, afin de pouvoir caractériser sur la profondeur la production primaire du microphytobenthos grâce à des mesures directes de la concentration en oxygène, alors que la fluorimétrie quant à elle a permis de mesurer directement en surface du sédiment l'activité photosynthétique microphytobenthique et au travers d'un proxy lié à la biomasse, son activité migratoire à l'aide de la fluorimétrie.

5.2. Les microélectrodes à oxygène

Les microélectrodes à oxygène permettent de quantifier la pression partielle en O_2 , et ce, de manière non destructive. Ces microélectrodes sont constituées d'une structure en verre, rempli d'une solution électrolytique et qui contient une électrode de travail et une électrode de référence (Revsbech, 1989) (Figure 11).



Figure 11 : Schéma d'une pointe de microélectrode d'après Revsbech (1989).

Le fonctionnement des microélectrodes à oxygène repose sur le principe de la mesure de transfert d'électrons généré par une réaction chimique. Plus précisément, la mesure est basée sur la réduction de l'oxygène à l'électrode de travail, qui est en général constituée d'une électrode en or ou en platine, selon la réaction suivante :

$$O_2 + 4 H^+ + 4 e^- \rightarrow 2 H_2 O$$
 (1)

Cette réaction de réduction de l'oxygène produit un courant électrique qui est mesuré par la microélectrode à oxygène. Le courant électrique est alors converti en une tension électrique par un amplificateur.

La concentration d'oxygène dissous dans l'eau peut ensuite être calculée à partir de la tension électrique mesurée par la microélectrode à oxygène, en utilisant une courbe d'étalonnage qui est préalablement établie. Cette courbe d'étalonnage permet de convertir la tension électrique en concentration d'oxygène dissous. Les microélectrodes permettent de mesurer la concentration d'oxygène dissous à des échelles spatiales très fines, allant de quelques micromètres à quelques millimètres selon le type de microélectrode utilisée. Cela permet de caractériser les gradients de concentration d'oxygène qui peuvent être utilisées pour étudier l'activité photosynthétique microphytobenthique sur la profondeur. Par ailleurs ces données permettent également par exemple, de quantifier les processus de respiration et de photosynthèse qui ont lieu à l'interface entre l'eau et le sédiment.

Pour l'intégralité des données présentées dans cette thèse, les mesures de flux d'oxygène ont été réalisées à l'aide de microélectrodes de type Clark fabriquées par Unisense A/S[™] (Danemark). Ces microélectrodes à oxygène ont un diamètre compris entre

25 et 50 μm à leur extrémité selon le modèle utilisé, un temps de réponse inférieur à 2 secondes et une sensibilité à l'agitation du milieu inférieure à 2%.

Dans la zone de l'interface entre l'air et le sédiment, la microélectrode est positionnée à la verticale et va effectuer une descente pas à pas jusqu'à une profondeur donnée. Dans notre cas, cette profondeur est de l'ordre de quelques millimètres, c'est-àdire, là où le microphytobenthos est photosynthétiquement actif. L'objectif de cette insertion progressive est de réaliser une série de mesures de pressions partielles en O₂ afin d'acquérir sur la verticale un profil de la concentration en oxygène (Figure 12). Cette acquisition pas à pas est marquée par des arrêts à intervalles réguliers durant quelques secondes (la durée étant propre au temps de réaction de la microélectrode).

A partir des données brutes acquises pour la création du profil vertical de la concentration en O₂, le profil peut être ajusté suivant le modèle de Berg *et al.* (1998). Cet ajustement nécessite l'intégration de plusieurs paramètres : la porosité, la température et la salinité du sédiment étudié. Ce modèle est basé sur une série d'ajustements des moindres carrés sur les profils d'oxygène mesurés. Les différents ajustements sont comparés par des statistiques (tests F) pour déterminer, suivant un seuil défini par l'utilisateur en fonction du nombre de zones minimal, le profil le plus adapté, *i.e.* le profil non significativement différent par rapport aux mesures pour chaque couche. Selon la série d'ajustements retenue, le profil est découpé en zones sur différentes profondeurs permettant d'intégrer la consommation/production d'oxygène sur différentes zones superposées verticalement.

Chaque zone permet d'obtenir une valeur de flux, définie par le calcul de l'équilibre entre la production et la consommation d'oxygène (ou respiration). Les taux de production

et de consommation d'oxygène pour chaque zone sont intégrés verticalement pour estimer



le taux global de production brute d'oxygène par unité de surface.

Fiqure 12 : Profils bruts d'oxygène mesurés au noir (A) et sous lumière (B) avec leur modélisation respective (C et D). Les profils modélisés sont accompagnés du découpage en zones (vert : zone de production d' O_2 et rouge : zone de consommation d' O_2) et de la valeur de flux associée (série de données rouge).

Cette technique qui a pour avantage de pouvoir être utilisé aussi bien *in situ* qu'en laboratoire a vu son emploi pour l'étude du microphytobenthos augmenter entre les années 1990 et 2000. Depuis cette période, l'utilisation de cette technique permet la publication d'environ 6 études par an sur le microphytobenthos dans des revues internationales (Figure 13).



Fiqure 13 : Nombre de publications par année concernant des études portées sur le microphytobenthos avec emploi de microélectrodes. Données obtenues par croisement de mots clés sur le moteur de recherche de littérature scientifique Scopus.

Le nombre annuel de publications peut paraitre relativement faible en comparaison à d'autres méthodes telles que les chambres d'incubation par exemple mais peut s'expliquer par trois inconvénients principaux. Premièrement, ce sont des électrodes en verre dont la pointe peut aller jusqu'à 10 μ m de diamètre. De ce fait, elles sont extrêmement fragiles. Leur coût étant assez élevé, cette fragilité rend son utilisation dans certaines conditions assez délicate. D'autre part, la représentativité spatiale des résultats obtenus est très faible. Par exemple, pour une microélectrode de 10 μ m de diamètre, la concentration en O₂ mesurée sera celle des 10 μ m autour de la pointe de l'électrode. Or, le microphytobenthos est largement connu pour être réparti de manière très hétérogène à la surface des sédiments (Seuront et Spilmont, 2002 ; Spilmont *et al.*, 2011 ; Chennu *et al.*, 2013). Ainsi, pour être représentatif, il faut réaliser un très grand nombre de réplicats de mesure. Et pour finir, la chronophagie liée à l'utilisation des microélectrodes est importante avec un temps d'acquisition d'un profil d'environ 10 minutes et un temps de traitement du profil d'environ 4 minutes.

5.3. Le fluorimètre PAM

Le fluorimètre PAM (Pulse Amplitude Modulation) est un appareil de mesure qui permet de mesurer l'activité photosynthétique et la performance photosynthétique microphytobenthique à la surface du sédiment (Morelle *et al., 2018*). Le principe de la mesure par fluorimètre PAM repose sur la détection de la fluorescence de la Chl *a* en lumière modulée (Consalvey *et al.,* 2005 ; Murchie et Lawson, 2013). Lorsque le microphytobenthos est soumis à un éclairement, la chlorophylle absorbe des photons (principalement les longueurs d'onde bleues et rouges). Cette absorption de photons par la chlorophylle va la conduire dans un état où les électrons passent d'un état fondamental à un état excité. La chlorophylle ne pouvant pas maintenir l'électron excité à un niveau d'énergie élevé pendant longtemps, l'électron excité doit perdre de l'énergie afin de revenir à son état fondamental. Il le fait en réémettant une partie de l'énergie sous forme de fluorescence, généralement à des longueurs d'onde plus grandes que celles de la lumière absorbée. C'est cette propriété qui est couramment utilisée pour mesurer un niveau de fluorescence sous une intensité lumineuse donnée.

Le fluorimètre envoie un flash de lumière saturant à l'échantillon, qui excite la Chl *a* et génère une réponse de fluorescence (Genty *et al.,* 1989) permettant au fluorimètre de mesurer l'amplitude de la réponse de fluorescence.

A partir de cette technique, différents paramètres peuvent être calculés selon les conditions d'éclairement (Figure 14). Premièrement, le fluorimètre PAM permet de mesurer le rendement quantique effectif du photosystème II (PSII) (Φ_{PSII}) qui est une mesure de l'efficacité de la photosynthèse dans la conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique. Pour calculer Φ_{PSII} , on utilise la formule de Genty *et al.* (1989) :

$$\phi_{PSII} = \frac{F_m' - F_t}{F_m'} \tag{2}$$

où F_t représente le niveau de fluorescence instantané sous lumière ambiante. La mesure de F_t étant dépendante de la teneur en chlorophylle, ce paramètre peut être utilisé comme un proxy de la biomasse de surface (Serôdio *et al.,* 1997, 2001). F_m' correspond au niveau maximal déterminé avec un flash de lumière saturante (0,8 s, 2500 µmol photons.m⁻².s⁻¹) pour les échantillons acclimatés à la lumière. La vitesse relative de transfert des électrons (rETR) à travers le PSII sous une intensité lumineuse donnée est calculé à partir de Φ_{PSII} en utilisant la formule de Genty *et al.* (1989) :

$$rETR = \phi_{PSII} \times PPFD \times 0.5 \tag{3}$$

où PPFD (Photosynthetic Photon Flux Density) correspond à la valeur de la lumière ambiante mesurée avec un capteur de lumière planaire (LI-190, LICOR, Allemagne) et 0,5 est le facteur qui tient compte de la répartition de l'énergie entre les deux photosystèmes. Ce facteur est défini en partant de l'hypothèse que la répartition de l'énergie est réalisée à parts égales entre les deux photosystèmes PSII et PSI avec la moitié utilisée pour la photochimie.

Pour calculer le quenching non photochimique (NPQ), on utilise la formule de Serôdio *et al.* 2005 :

$$NPQ = \frac{F_{m'm} - F_{m'}}{F_{m'}}$$
(4)

où $F_m'_m$ correspond au niveau de fluorescence maximal normalement mesuré à l'obscurité (ou pour de faibles intensités de lumière). Dans le cas d'étude du microphytobenthos, cette valeur n'est jamais maximale dans le noir car les organismes sont mobiles, mais sous de très faibles éclairements (Lefebvre *et al.*, 2011).



Fiqure 14 : Niveaux de fluorescence de la chlorophylle a en lumière modulée mesurés par fluorimétrie PAM. Adapté à partir de Consalvey et al. (2005).
Pour caractériser l'état physiologique du biofilm microphytobenthique, le rendement quantique optimal de la photochimie PSII (Genty *et al.*, 1989) est calculé en utilisant le rapport suivant :

$$\frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_0}{F_m} \tag{5}$$

où F_0 représente le niveau de fluorescence minimale et F_m le niveau de fluorescence maximal obtenue pendant l'application d'un flash saturant de lumière blanche (0,8 s, 2500 μ mol photons.m⁻².s⁻¹), les deux niveaux étant mesurés après une période de 10 minutes dans l'obscurité.

Cette technique est non intrusive ni destructrive et présente l'avantage d'être facilement transportable, ce qui permet de réaliser des mesures à haute fréquence pour l'étude du microphytobenthos et dont la fréquence d'utilisation dans la littérature scientifique n'a cessé d'augmenter depuis les années 1990 (Figure 15).



Fiqure 15 : Nombre de publications par année concernant des études portées sur le microphytobenthos avec emploi d'un fluorimètre PAM. Données obtenues par croisement de mots clés sur le moteur de recherche de littérature scientifique Scopus.

Cette hausse dans le nombre d'études à travers cette technique peut s'expliquer par la polyvalence de cet outil, utilisable à la fois sur le terrain et en laboratoire, son faible encombrement et la possibilité de faire fonctionner ce système en autonomie. En revanche, l'une des limites majeures à cette utilisation est qu'elle permet uniquement des mesures de surfaces (Morelle *et al.*, 2018) et ne permet pas de quantifier directement la production primaire.

6. Approches scientifiques et objectifs

Le microphytobenthos étant un organisme dont l'activité photosynthétique et comportementale évolue en 3D, l'association des deux techniques précédemment détaillées permet d'obtenir cette vision. En utilisant le fluorimètre PAM, il est possible d'obtenir une vue de surface de l'évolution de la biomasse microphytobenthique. Certaines études comme celle de Morelle *et al.* (2018) ont tenté de définir une méthodologie pour l'intégration sur la verticale de la fluorescence à partir des propriétés optiques du sédiment, mais cette méthode reste complexe puisque qu'elle fait intervenir de nombreux proxies (profil de lumière dans le sédiment calculé à partir de la porosité, profil de répartition de la Chl *a*...).

De ce fait, en couplant des mesures fluorescence de surface à des mesures de concentration d'oxygène sur la verticale grâce à des microélectrodes, il est possible d'avoir une vision en 3 dimensions de la photobiologie microphytobenthique (plan horizontal et plan vertical) (Figure 16).



<u>Fiqure 16 : Exemple d'acquisition de données en 3 dimensions représenté par un</u> <u>enregistrement du F_t en fonction de l'intensité lumineuse et par un profil moyen d'oxygène</u> <u>sur la profondeur acquis pour une intensité lumineuse donnée.</u>

Néanmoins, cette association méthodologique laisse persister certaines limites. Dans la littérature, il est possible d'observer que lorsque des courbes P-E sont réalisées à l'aide de microélectrodes, celles-ci sont très souvent modélisées sur des nuages de points avec très peu de mesures et dont les réplicats pour une même intensité de lumière sont absents (Gerbersdord *et al.,* 2005 ; Denis et Desreumaux, 2009 ; Santema et Huettel, 2018). Or la forte hétérogénéité spatiale du microphytobenthos étant systématique, en n'ayant pas ou peu de réplicats, un biais important est introduit lors de l'étude du microphytobenthos à petite échelle.

De plus, les facteurs environnementaux ayant tendance à fluctuer en même temps, il est difficile d'interpréter les résultats et de réaliser des expériences reproductibles *in situ*. C'est pourquoi il semble approprié de travailler en conditions contrôlées pour les études visant à caractériser la capacité photosynthétique microphytobenthique.

C'est en ce sens que le premier axe de thèse s'est porté sur le développement d'un protocole d'acquisition en conditions contrôlées et autonome. En effet, compte tenu des facteurs physiques et biologiques complexes qui caractérisent les zones intertidales soumises à un régime macrotidal, une meilleure compréhension de l'influence des forçages naturels semble cruciale pour mieux appréhender la réponse photosynthétique du microphytobenthos. L'étude de ce milieu étant complexe, elle requiert une approche méthodologique reproductible, standardisée et adaptée aux échelles spatiales et temporelles.

Ainsi, conscient qu'il existe de nombreux forçages qui peuvent influencer l'activité photosynthétique microphytobenthique et afin de caractériser l'effet de certains de ces facteurs, dans un deuxième axe nous avons tenté d'appréhender les capacités

48

photosynthétiques et la réponse comportementale microphytobenthique d'une vasière intertidale sous le prisme de la variabilité journalière d'un point de vue expérimental.

Dans un troisième axe, la variabilité spatiale a également été étudiée car, résultant de l'interaction complexe entre les facteurs géomorphologiques et hydrologiques, celle-ci influence les conditions physico-chimiques dans lesquelles le microphytobenthos se trouve. Ainsi, à l'aide d'une étude expérimentale, nous avons tenté de comprendre dans quelle mesure la photosynthèse du microphytobenthos peut être influencée par cette diversité de conditions environnementales dans l'estuaire de la Canche. Par ailleurs, cette variabilité spatiale a également été appréhender dans le temps. L'activité photosynthétique et comportementale du microphytobenthos étant variable selon le moment de l'année, nous nous sommes intéressés à la comparaison de deux périodes contrastées, c'est-à-dire durant une période favorable et défavorable pour la production primaire. Chapitre 1 – Introduction générale : Lieu et objet d'étude



Un outil d'acquisition autonome à haute fréquence de courbes photosynthèseéclairement

L'article qui compose ce chapitre se distingue par son approche novatrice dans l'étude de la photosynthèse du microphytobenthos. L'outil présenté est un système expérimental autonome, permettant de recueillir des données sur l'activité photosynthétique de ces micro-organismes en conditions contrôlées permettant le contrôle d'un ensemble de paramètres afin d'étudier l'effet d'un forçage à la fois, tout en explorant la variabilité spatiale de l'activité du microphytobenthos dans les plans horizontal et vertical à micro-échelle, et ce, de manière autonome.

Les études antérieures sur le microphytobenthos se sont souvent heurtées à des limitations méthodologiques, telles que des expériences de terrain de courte durée avec un échantillonnage restreint à cause de la marée, de la chronophagie des mesures durant laquelle la lumière évolue rapidement ou encore des variations de conditions météorologiques avec entre autres des passages nuageux. En outre, l'acquisition de courbes P-E (« P-I » en anglais pour « Photosynthesis-Irradiance) comporte des contraintes de temps importantes, rendant difficile la réplication des mesures. Le système expérimental présenté dans cet article vise à surmonter ces contraintes méthodologiques en automatisant et en standardisant le processus de mesure, permettant ainsi de construire des courbes P-E intercomparables avec un grand nombre de valeurs.

Au-delà de cet aspect, ce système est également une base de travail permettant de travailler en conditions standardisées. Grâce à la possibilité de contrôler de manière précise et reproductible plusieurs paramètres tels que la lumière, la température ou l'hygrométrie, il est possible d'effectuer des expérimentations dans des conditions normalisées et ainsi obtenir des résultats comparables en éliminant les biais liés aux variations environnementales.

53

Pour cette thèse de doctorat et grâce au développement de ce système, un total d'environ 2400 profils verticaux d'oxygène ont été acquis dans le cadre de travaux menant à la rédaction d'articles scientifiques ainsi qu'environ 2200 profils pour des expérimentations annexes (tests expérimentaux pour développer le système d'acquisitions, expérimentations complémentaires...). Ainsi, près de 4600 profils d'oxygènes ont été analysés et exploités.

Cet article a été publié dans l'édition spéciale « Experiments in Benthic Ecology: Using Experimental Manipulations to Study the Effects of Pressures on Benthic Organisms » dans la revue Frontiers in Marine Science le 22 mai 2023.

A new procedure for autonomous acquisition of photosynthesis-irradiance curves on a microphytobenthic biofilm

Marvin Meresse^{1*}, François Gevaert¹, Gwendoline Duong¹ and Lionel Denis¹

¹Univ. Lille, CNRS, Univ. Littoral Côte d'Opale, UMR 8187 - LOG – Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences, Station Marine de Wimereux, F-59000 Lille, France

1. Abstract

Despite their high productivity and their key role in coastal processes, microphytobenthic biofilm studies remain relatively scarce because *in situ*, meteorological hazards make it difficult to acquire reproducible measurements, also due to difficulties in properly reproducing field conditions in the laboratory. Therefore, in order to better understand the processes of microphytobenthic primary production, we have developed an automated laboratory system and procedure with variable light intensity, with a large number of replicates. This article aims to provide a description of the creation of a P-I curve based on a total of 128 vertical profiles recorded on a sediment core taken *in situ*, placed in the automated system and studied under controlled conditions of temperature and air humidity while light intensity was varied automatically, thus allowing to work in standard and replicable conditions. With measured production levels of up to 14.68 ± 3.70 mmol $O_2.m^{-2}.h^{-1}$ and a productivity of $0.06 \pm 0.01 \text{ mmol } O_2.m^{-2}.h^{-1}$ per gram of Chl *a* corresponding

to what is generally found in temperate environments, we have shown that our system is suitable for high frequency measurements and, by combining surficial measurements of modulated fluorescence and oxygen microprofiling in sediments, complementary information from a large dataset on photosynthetic and microphytobenthic migratory activity may be obtained under standard conditions. The development of this tool has made it possible to highlight a stabilization time for oxygen fluxes. For our study conducted in a temperate environment, we observed a time lag of a few minutes that should be considered when acquiring PE curves in the laboratory to study microphytobenthic photosynthetic capacities. This tool also allowed to describe microphytobenthic migration in response to light exposure, with successive steps observed through fluorescence and oxygen profiles. First, microphytobenthos migrated towards the surface until the optimal intensity of production at 475 µmol photons.m⁻².s⁻¹, then from this intensity as well as towards 780 µmol photons.m⁻².s⁻¹, downwards migratory movements were detected. This system is a working basis which can open interesting perspectives for the study of the effect of other abiotic (or biotic) parameters.

2. Introduction

Among the different actors of the intertidal primary production, the microphytobenthos has been known for a long time as an important contributor to intertidal primary production (Taylor 1964; McIntire 1969; Guarini 1998; Underwood and Kromkamp 1999). However, there is still a lot of uncertainties about its behavior and the primary production data are scattered. In order to better understand the functioning of the microphytobenthos and the environment in which it evolves, studies require a more accurate and detailed methodology. Over the last decades, methods for studying the microphytobenthic

production either directly or indirectly by measuring proxies have not changed substantially but have evolved with the continued development of increasingly efficient, non-destructive and complementary technologies (Park et al. 2014). For example, pulse-amplitude modulated (PAM) fluorometry through the measurement of the chlorophyll fluorescence emitted in the sub-surface layer of the sediment, allows quantifying the photosynthetic activity via the calculation of the electron transfer rate (rETR) (Genty et al. 1989), evidences the setup of photoprotective mechanisms through the non-photochemical quenching (NPQ) (Schreiber et al. 1994), the physiological state of the biofilm by calculating the F_v/F_m (Genty et al., 1989) or may be used as a proxy of the surface chlorophyll biomass (Serôdio et al. 1997, 2001). Although fundamentally unchanged since the nineties (Hartig et al. 1998), this technique has evolved towards more autonomous and high frequency acquisition, hence making it possible to detect the rate of vertical migration of microphytobenthos (Barnett et al 2020). However, one of the main drawbacks remains the vertical integration of the information, because this measurement tool is a surface-based method, which requires mathematical models to integrate this verticality (Forster and Kromkamp 2004; Serôdio 2004; Morelle et al. 2018). Complementary to the previously mentioned techniques, many studies use oxygen microprofiling as a non-destructive approach to evaluate microphytobenthic production (Revsbech et al. 1981; Lassen et al. 1998; Denis et al. 2012; Cartaxana et al. 2016). This technique allows the acquisition of vertical oxygen profiles, allowing the calculation of integrated oxygen fluxes on the vertical and the vertical location of oxygen production/consumption zones in the sediment column. The microsensors themselves have not fundamentally changed (except their size, response time and accuracy), but from manual acquisition of few vertical oxygen profiles (Revsbech et al. 1981), automation has allowed studies with datasets of over 1800 vertical profiles using

motorized acquisition methods (Kwon *et al.* 2018). However, there are two important limitations in the use of this method: (1) the measured profiles and oxygen fluxes correspond to a balance between production and consumption of oxygen, and (2) the spatial representativeness is limited by a very small scale of measurement, hence the need for replicates of measurements.

Usually, when measuring fluorescence or oxygen flux, the photosynthetic response of algae can be characterized by the construction of photosynthesis (P) versus irradiance (I) curves which can be fitted using different models (Webb *et al.* 1974; Jassby and Platt 1976; Platt *et al.* 1980; Eilers and Peeters 1988). Nevertheless, the construction of these P-I curves is not always straight forward. When data acquisition is performed *in situ* under natural light variations, the main advantage lies in the possibility to perform measurements under real environmental conditions. However, in addition to the time-consuming nature of making vertical oxygen profiles (Underwood and Kromkamp 1999), each day may present a unique scenario of environmental conditions variations, and therefore does not allow the acquisition of a large data set under strictly identical conditions. It is therefore difficult to compare different sites under standard conditions in order to evaluate, for example, the photosynthetic characteristics of microphytobenthic communities. Moreover, the tidal and/or meteorological characteristics do not always allow a wide range of light intensities, necessary for the construction of P-I curves.

Since environmental factors tend to fluctuate at the same time, there are some difficulties in interpreting results and in the ability to perform replicable experiments *in situ*. This is why it seems appropriate to work under controlled conditions for studies aimed at characterizing microphytobenthic photosynthetic capacity. Furthermore, in the intertidal zone, the distribution of microphytobenthos is highly heterogeneous (MacIntyre *et al.* 1996; Spilmont *et al.* 2011; Redzuan and Underwood 2020). As a result, by having no or few replicates, a major bias is introduced when studying the microphytobenthos on a small scale.

This paper aims to present and evaluate the efficiency of an automated P-I curve acquisition system under controlled conditions in the laboratory. The objective is to highlight the processes involved in a microphytobenthic biofilm functioning by a combined approach through the use of (i) microprofiling allowing the acquisition of information on the primary production and its vertical distribution in the sediment and (ii) modulated fluorescence allowing the acquisition of information on the migratory and photosynthetic activity processes at the surface of the sediment. The aim is also to perform a large number of measurements in standard conditions in order to study the primary production in a controlled and reproducible environment, all in an automated way by the use of a climatic chamber.

3. Materials and methods

3.1. Sampling and sedimentary characterization

Sediment samplings were performed in spring 2021, during the emersion period of an intertidal mudflat located in the Canche estuary (50°32'07 "N; 1°35'45 "E) in the eastern English Channel. Field surface sediment temperature and salinity were measured *in situ* as conventionally done by inserting a multi-parameter probe (HI9829, Hanna Instruments,

France) into the first centimeter of the sediment within a few centimeters of the core location.

Three 15 cm diameter sediment cores were collected in the dark before sunrise and stored in the dark until the beginning of the experiment about one hour later. One core was used for oxygen microprofiling and fluorescence study, while the two others were used for sediment characterization. For this characterization, 3 subcores (2.6 cm inner diameter) were randomly taken in the two sediment cores, just prior to the start of the acquisition sequence to estimate chlorophyll a (Chl a) concentrations in the first centimeter of wet sliced sediment, using the Lorenzen method (1967). Similarly, to determine the average sediment porosity, another subcore was sampled in each of the main sediment cores and stored at -20°C. Once frozen, each subcore was manually sectioned with a thin blade into 2-mm slices, down to 1-cm depth, then into 5-mm slices, down to 3.5-cm depth, then into 1-cm slices, down to 5.5-cm depth, then into 2-cm slices, down to 9.5-cm depth for determination of porosity profiles. Each sediment slice was then dried in an oven (60°C) for a week (Danovaro et al. 1999; Flemming and Delafontaine 2000), and the porosity was calculated from the measurement of sediment water content, obtained by dividing the difference between wet and dry sediment assuming a dry particle density (ρ_{sed}) of 2.65 g.cm⁻ ³ (Mackin and Aller 1984) and a seawater density (ρ_w) of 1.03 g.cm⁻³. The equation used for the calculation of porosity is:

$$\varphi = \frac{\frac{W_w}{\rho_w}}{\frac{W_w}{\rho_w} + \frac{W_{sed}}{\rho_{sed}}}$$
(1)

where W_w and W_{sed} are respectively the weight of water and the weight of sediment.

3.2. Overview of the automated Photosynthesis- Irradiance (P-I) curve acquisition system

i. Two complementary measurement types

The experimental setting was developed to measure and describe the microphytobenthic primary production, using a sediment core (15 cm diameter, 10 cm length) brought back from the field to the laboratory, through two complementary measurement tools. On the one hand, two Clark-type microsensors (OX50, Unisense, Denmark) were used in parallel to acquire vertical oxygen profiles in pairs (Figure 1). The two microsensors were connected to multichannel amplifier for the electric potentials measured by the microsensors (MultiChannel UniAmp, Unisense, Denmark). These microsensors have been fixed on a vertical micromotor system (MM33-2, Unisense, Denmark) allowing to realize in an automated way oxygen profiles with a vertical measurement step of 50 µm. The microsensors used have an outer diameter of 50 μ m, a 90% response time < 4 s, a stirring sensitivity < 2 %, and were calibrated as described by Revsbech (1989). The choice of the number of microsensors used simultaneously results from a trade-off between the total duration of an experimentation, the constraint related to the self-shading of the device on the sediment and the number of replicates. While microsensors are thin, the microsensor holder must be larger to accommodate additional sensors, thereby increasing self-shading. Therefore, the number of microsensors used must be carefully weighed against the risk of self-shading. On the other hand, the optical fiber of a pulse-amplitude modulated chlorophyll fluorometer (Diving-PAM, Heinz Walz, Germany) is placed near the microsensors to acquire fluorescence data from the sediment (Figure 1). This instrument is

based on the use of modulated red light as a measuring, non-actinic light source (Kromkamp

et al. 1998).



FIGURE 1: General layout of the experimental system for P-I curves acquisition (1) Fitoclima chamber sensors that allows the maintenance of the programmed conditions and ventilation compartment, (2) Lighting strip integrated in the climatic chamber, (3) Hermetic door, (4) Oxygen microsensors, (5) Micromotor, (6) Diving-PAM optical fiber, (7) Sediment core, (8) Additional light source KL2500 LCD, (9) Diving-PAM, (10) Programmable turntable, (11) Laboratory stand The Diving-PAM allowed the measurement of the effective quantum yield of the photosystem II (PSII) (Φ_{PSII}). Φ_{PSII} was calculated according to Genty *et al.* (1989):

$$\phi_{PSII} = \frac{F_m' - F_t}{F_m'} \tag{2}$$

where F_t is the instantaneous fluorescence level under ambient light and F_m' is the maximal level determined with a single actinic saturating light pulse (0.8 s, 2500 µmol photons.m⁻².s⁻¹) for light-acclimated samples. Φ_{PSII} is used to calculate the relative electron transport rate (rETR) through the PSII under a given light intensity, according to the estimation of Genty *et al.* (1989):

$$rETR = \phi_{PSII} \times PPFD \times 0.5 \tag{3}$$

where PPFD (Photosynthetic Photon Flux Density) is the value of the ambient light measured with a planar light sensor (LI-190, LICOR, Germany) and 0.5 is the factor that accounts for the partitioning of energy between the two photosystems.

The non-photochemical quenching (NPQ), which is a mechanism of energy dissipation as heat, was calculated according to Serôdio *et al.* 2005:

$$NPQ = \frac{F_{m'm} - F_{m'}}{F_{m'}}$$
(4)

where $F_{m'm}$ corresponds to the maximum $F_{m'}$ measured during the fluorescence measurements obtained here for an intensity of 110 µmol photons.m⁻².s⁻¹ corresponding to the lowest of the 16 different light intensities used during the actinic light application.

In order to characterize the microphytobenthic biofilm physiological condition, the optimal quantum yield of PSII photochemistry (Genty *et al.*, 1989) is calculated as the ratio:

$$\frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_0}{F_m} \tag{5}$$

where F_0 is the minimal fluorescence and F_m is the maximal fluorescence obtained during the application of a saturating pulse of white light (0.8 s, 2500 µmol photons.m⁻².s⁻¹), both levels measured after a period of 10 minutes in darkness. This parameter was measured before and after experimentation. For reliability of fluorescence measurements, gain, damping and intensity of the modulated light of the Diving-PAM was preliminary defined to obtain a sufficient Ft value (> 130) for the entire experiment. All fluorescence data presented in this study were averaged from the 14 values obtained for each light intensity.

ii. A fully controlled environment

These two measurement tools were used in a climatic chamber (Fitoclima s600, Aralab, Portugal) which enables to control different parameters (light intensity, air humidity or temperature) (Figure 1). To our knowledge, such a climatic chamber has never been used for studies on microphytobenthos, but the literature contains studies carried out with this type of chamber on kelps (Martins *et al.* 2022) or, in most cases, on terrestrial autotrophic organisms, as done with *Arabidopsis thaliana* (Sattari Vayghan *et al.* 2022). With the previously described microsensors/PAM configuration, the light applied to the biofilm measurement spots varied from 0 to 780 µmol photons.m⁻².s⁻¹. To reach intensities close to

the maximal values that can be observed in the field, an additional light source with a fiber optic guide (KL 2500 LCD, Schott, Germany) was added to the one integrated in the climatic chamber. In this way, the climatic chamber coupled with the additional lighting can create a light environment ranging from 0 to 1620 μ mol photons.m⁻².s⁻¹. The system was programmed to provide 15 different light intensities, in addition to darkness.

To ensure that additional light sources have no effect on the microphytobenthic primary production, oxygen fluxes were measured under controlled conditions of temperature and air humidity for three identical light intensities using three different light modalities: (i) chamber daylight lighting alone, (ii) additional daylight lighting alone (KL 2500, Schott, Germany), and (iii) both chamber and additional daylight lighting together (50%/50%). The light intensities chosen corresponded to a low (200 µmol photons.m⁻².s⁻¹), a medium (475 µmol photons.m⁻².s⁻¹) and an high light intensity (1020 µmol photons.m⁻².s⁻¹). This high light intensity was reached by reducing the number of microsensors above the sediment and by positioning the sediment surface closer to the light source.

Furthermore, in order to avoid that the microsensors perform profiles at the same places, the system has been equipped with a programmable turntable (Mouvements Phenix, France) controlled by an Arduino system on which the sediment core can be placed to be studied. This has two advantages: (i) not to create sediment disturbance during a second penetration of the microsensor and (ii) to allow integration of the spatial microheterogeneity of the microphytobenthic community.

Thus, the experimental set-up presented here allows to create a range of abiotic conditions that can be replicated in order to perform experiments under the same conditions.

65

Although we have only varied the light intensity, it is possible to vary one or more parameters at a time. Here, as an illustration, we presented the ability of the system to perform P-I curves, with a stepwise varying light intensity, at a constant air humidity level (70 %) and a constant temperature level (12°C) corresponding to the average climatic parameters of the last 5 days of the sampling.

3.3. Automation of data acquisition: an opening to experimental opportunities

The whole system (Arduino for the rotation of the sediment core, light variation, microsensors movement sequence and fluorescence signal acquisition) was programmed in such a way that the measurement procedure of the oxygen profiles and fluorescence took place under an automated increase of the light intensity by steps time of 44 minutes to allow the various measurements to take place. For this purpose, the various components of the system were synchronized. Every 11 minutes, a microprofiling sequence with 2 microsensors located approximately 2 mm above the sediment was programmed in a way to reach the air-sediment interface at the same time. At the end of the profiles (when the microsensors have returned to their safe position), the turntable was programmed to rotate by 5°. Similarly to the microsensors, the optical fiber for fluorescence measurements with the Diving-PAM was placed at a 45° angle to the sediment surface to avoid shading the sediment, between the two microsensors in order to perform measurements at different locations in the sediment core. Ft and Fm' measurements are programmed to be automatically triggered every 3 minutes allowing three replicate measurements at the same location before each rotation of the sediment core. Concurrently, the increase in light intensity was programmed to go in steps from 0 to 1620 µmol photons.m⁻².s⁻¹ every 4

microprofiling sequences. Thus, for darkness and each of the 15 light intensities, two profiles with a vertical measurement made every 50 μ m were acquired during the first 11 minutes, then two more during the following 11 minutes, four times for a total of 8 profiles per light intensity (4 replicates × 2 microsensors).

Before each measurement at a given depth, microsensors were systematically stopped during a stabilization time of 4 seconds with the purpose of having a 90% reliability of the measurement. Each profile was carried out down to a depth of 4.5 mm in order to systematically reach the anoxic layer. Oxygen penetration depth (OPD) was defined as the depth where O₂ concentration was steadily lower than 1% of the oxygen interface concentration (Cai and Sayles 1996). Oxygen partial pressure was converted to oxygen concentration as a function of measured surface sediment salinity and temperature (Garcia and Gordon 1992). In addition to this OPD, the depth of the production peak, *i.e.* the depth at which the maximum oxygen concentration was measured as well as the thickness of the production peak, corresponding to the depth at which the concentration measured at the interface is measured in the sediment (below the maximum oxygen concentration).

Vertical oxygen microprofiles were used to numerically estimate net oxygen production (NOP) as a function of depth using the SensorTrace (Unisense, Denmark) numerical profiling software, based on the model developed by Berg *et al.* (1998). This model is based on a series of least-squares fits to the measured steady-state oxygen profiles and requires the integration of several parameters: porosity (in our case, the average value of porosity measured over the surfacial 4 millimeters), temperature and salinity of the studied sediment with an accuracy of 0.01 °C and 0.01. Among different proposed models, the user chooses with the help of an F value the model which presents the best adjustment. For all

67

calculations, we assumed steady state and vertical exchanges only (1D model), and profiles showing evident sign of bioturbation were not considered. Gross oxygen production (GOP) of microphytobenthos was calculated from the NOP values by subtracting the average respiratory fluxes measured at dark.

3.4. P-I curve fitting and statistical analysis

The characteristic photosynthetic parameters of the microphytobenthic communities, *i.e.* the initial slope of the non-saturated photosynthetic rate (α), the saturation onset parameter (I_{k}) and the maximum production (P_{max}) (Coutinho and Zingmark 1987; Henley 1993) were assessed thanks to the statistical software R (The R Core Team 2017) and statistical package Phytotools (V1.0) by using the model of Eilers and Peeters (1988):

$$y = \frac{I}{\frac{I^2}{\alpha \times {I_k}^2} + \frac{I}{P_{max}} - \frac{2I}{\alpha \times I_K} + \frac{1}{\alpha}}$$
(6)

where y is the photosynthetic rate and I the photosynthetic photon flux density (PPFD).

Normality and homogeneity of variance were tested using the Shapiro-Wilk W-test, and results indicated non-normal distribution of the GOP data. Hence, non-parametric Wilcoxon tests were applied to compare GOP obtained using the different light conditions by comparing 10 replicates for each light sources. The R statistical software was used to perform this statistical analysis.

4. Results

4.1. Testing of the lighting system

Since the system is composed of two different daylight sources, we ensured that the three lighting modalities used in our experimentation did not have a significant impact on the biological processes we measured. No significant difference in GOP was observed between the three light sources for each light condition (p>0.05, n=10, Wilcoxon test) for the low, medium and high light intensities respectively (Figure 2).



FIGURE 2: Gross oxygen production measured for 3 light intensities under 3 different light sources: chamber daylight lighting (black), additional daylight lighting (dark grey) and chamber combined to additional daylight lighting (light grey).

Surface temperature measurements were also taken to ensure that there were no heating issues from the lighting. For a continuous 12-hour illumination, the surface temperature of the sediment changed from 11.7 \pm 0.2°C (in the dark) to 12.0 \pm 0.1 °C (at 1620 μ mol photons.m⁻² .s⁻¹) (p>0.05, n=8, Wilcoxon test). We have added this to the manuscript.

4.2. An automated creation for a large oxygen fluxes dataset

The surface temperature of the sediment core was 12.1° C, the salinity 33.6 and the average Chl *a* concentration $270.93 \pm 32.49 \text{ mg.m}^{-2}$. In the two centimeters of surficial sediment, the average porosity decreased downward from 0.92 ± 0.02 to 0.65 ± 0.03 . Through the use of the autonomous system, 128 vertical oxygen profiles were acquired at different locations in the sediment core. Among all these profiles, 6 were not processed due to evidence of bioturbation that did not allow accurate profile fitting, giving a large dataset of 122 profiles. Some vertical oxygen profiles obtained at different light intensities and their corresponding model fits are presented in Figure 3.



<u>FIGURE 3: Raw oxygen concentrations measured under 3 light intensities versus depth in the</u> <u>superficial sediments with associated model fits. Profile (A) 0 μ mol photons.m⁻².s⁻¹, profile (B) 565 μ mol photons.m⁻².s⁻¹ and profile (C) 1650 μ mol photons.m⁻².s⁻¹.</u>

The 0 mm depth corresponds to the sediment-air interface defined as the last value showing an oxygen concentration similar to that observed in air. The profile obtained at dark (0 μ mol

photons.m⁻².s⁻¹) showed an exponential decrease in oxygen concentration from the first micrometers, down to anoxia values (under 1% of the interface oxygen concentration, *i.e.* 2.5 μ M) reached at 0.65 mm depth. The two other profiles, obtained under a light intensity of 565 and 1620 μ mol photons.m⁻².s⁻¹ showed a maximum oxygen concentration at a depth of 0.15 and 0.20 mm respectively, with values decreasing further down until reaching a zero concentration value corresponding to anoxia at 1.05 and 1.10 mm.

The most representative fit based on the best F value (Berg *et al.* 1998) allowed calculation of net oxygen production (NOP) integrated on depth. Over the entire dataset, average NOP values ranged from -4.52 \pm 0.48 to 12.39 \pm 2.93 mmol O₂.m⁻².h⁻¹ while the oxygen penetration depth varied between 0.65 and 1.85 mm. The average GOP values ranged from 0.00 \pm 0.48 to 16.91 \pm 2.93 mmol O₂.m⁻².h⁻¹.

4.3. P-I curve acquisition under increasing light

The 122 GOP values were related to the light values to construct a P-I curve. The initial slope (α) was 0.54 ± 0.11, the maximum production (P_{max}) 14.68 ± 3.70 mmol O₂.m⁻².h⁻¹ and the saturation onset parameter (I_k) 478 ± 122 µmol photons.m⁻².s⁻¹. The scatterplot was also fitted with 4 P-I curves, each corresponding to a time of exposure to a given light intensity (*i.e.* 11, 22, 33 and 44 minutes) (Figure 4A). The P-I curve corresponding to the data acquired during the first 11 minutes was largely different from the three others, with an α two times lower, an I_k 40% higher and a P_{max} 10% higher (Table 1). The mean GOP values for each light intensity were then compared to those calculated with all the GOP values without the ones measured during the first 11 minutes (Figure 4B). The mean GOP values obtained for the data between 0 and 475 µmol photons.m⁻².s⁻¹ (*i.e.* from dark to I_k), was significantly different from the mean GOP values obtained for the data without the first 11 minutes (p<0.05, n=8,

Wilcoxon test). Thus, only the data acquired from 22 to 44 minutes of illumination were



retained for the calculation of the NOP and GOP.

FIGURE 4: (A) Photosynthesis- Irradiance curves fitted following the time exposure to the different light intensities. Yellow curve fitted on the points corresponds to GOP calculated with the profiles carried out the first 11 minutes, orange between 11 and 22 minutes of exposure, red between 22 and 33 minutes of exposure and blue between 33 and 44 minutes of exposure for two microsensors. (B) Photosynthesis- Irradiance curves fitted on all dataset (black solid line, black dots corresponding to mean \pm s.d.) and on all dataset excepted the first 11 minutes data (grey dashed line, grey triangle corresponding to mean \pm s.d.).

Table 1: Characteristic photosynthetic parameters of the Photosynthesis-Irradiance curvesmodeled following the time exposure to the different light intensities

Exposure time (min)	α	l _k (μmol photons.m ⁻² .s ⁻¹)	P _{max} (mmol O ₂ .m ⁻² .h ⁻¹)
11	0.27	749.8	15.78
22	0.61	472.6	14.92
33	0.62	471.3	14.32
44	0.71	469.1	14.10

4.4. Fluorescence measurements

At the beginning of the experiment, before any exposure to light in the climatic chamber, F_v/F_m was 0.644 ± 0.003 and reached 0.590 ± 0.073 at the end. F_t regularly increased from 1416 ± 16 at dark to 2136 ± 82 at 475 µmol photons.m⁻².s⁻¹, then decreased to 833 ± 35 at 1620 µmol photons.m⁻².s⁻¹ (Figure 5A). NPQ demonstrated a linear increase from 475 to 1107 µmol photons.m⁻².s⁻¹, before reaching a plateau (Figure 5B).



FIGURE 5: (A) Instantaneous fluorescence (Ft) according to the light intensity (each point corresponds to the mean ± s.d. of 14 Ft measurements, i.e. measurements performed every 3 minutes during 44 minutes). (B) Non photochemical quenching (NPQ) according to the light intensity (each point corresponds to the mean ± s.d. of 14 NPQ measurements, i.e. measurements performed every 3 minutes during 44 minutes).

4.5. Dispersion analysis: variability of photosynthetic activity within temporal heterogeneity

In order to study the short-term effect of a change in light intensity on microphytobenthic photosynthetic activity, the standard deviation (s.d.) was calculated on GOP and rETR dataset for each intensity, both on all values and on all values except the ones obtained during the first 11 minutes of exposition at a given light intensity (Figure 6A and 6B). This dispersion analysis has been used as a proxy of the variability of the microphytobenthic photosynthetic in response to specific light intensities. For GOP data, the s.d. ranged from 0.57 to 4.61 mmol $O_2.m^{-2}.h^{-1}$ when calculated on all values and from 0.57 to 4.45 mmol $O_2.m^{-2}.h^{-1}$ for values without the first 11 minutes (Figure 6A). Whatever the dataset, three peaks can be observed in GOP s.d., at 200, 780 and 1290 µmol photons.m⁻².s⁻¹ respectively. For rETR, the s.d. ranged from 0.45 to 28.35 for all values and from 0.35 to 35.00 for values without the first 11 minutes (Figure 6B). Whatever the dataset, three peaks can be observed in rETR s.d., at 0, 475 and 780 µmol photons.m⁻².s⁻¹ respectively.



4.6. Mean depth of the maximum O2 production and thickness of the production peak

The mean depth of the maximum oxygen concentration increased from 0 to 475 μ mol photons.m⁻².s⁻¹ from 0.00 ± 0.00 to 2.18 ± 0.31 mm, then decreased up to a depth of 1.29 ± 0.50 mm during the exposition at the 3 following light intensities, to reach again a second maxima of 1.93 ± 0.37 mm at about 935 μ mol photons.m⁻².s⁻¹ (Figure 7A). The thickness of the production peak followed the same pattern (Figure 7B) with a peak reaching a thickness of 3.75 ± 0.38 mm at 475 μ mol photons.m⁻².s⁻¹, followed by a decrease to 2.71 + 0.39 mm at 700 μ mol photons.m⁻².s⁻¹ and an increase to reach a thickness of 0.40 + 0.29 mm for the second maximum at 935 μ mol photons.m⁻².s⁻¹.





5. Discussion

- 5.1. The development of an autonomous system to study photophysiology and primary production of microphytobenthos
- i. Limitations of past studies and methodological contributions of the autonomous system

With field experiments, the tide usually forces users to carry out short experiments and sometimes with datasets with a small sample size. The impossibility of carrying out two comparative studies under strictly identical conditions or simply the number of people mobilized for the field study are among the many factors that make in situ acquisition complicated. Light response curves or photosynthesis – irradiance curves are usually used to determine a range of photophysiological and productivity parameters. However, the long duration of the light curves often makes replication of measurements impossible, even with fluorescence acquisition (Perkins 2010), and P-I curves with less than 30 points are usually performed either in situ (Denis et al. 2009) or in laboratory (Gerbersdorf et al. 2005; Santema and Huettel 2018). Due to the long time period spent obtaining a single set of measurements, investigation of temporal or spatial variation is also complicated (Perkins 2010). Using the autonomous system we developed, a P-I curve was constructed on a scatterplot of 122 points, with 8 replicates for each light intensity. Contrary to the method of measuring fluorescence (Morelle et al. 2018) or eddy covariance (Merikhi et al. 2021) which are techniques that do not take depth into account, to our knowledge, no study on microphytobenthos using microsensor technique has allowed the construction of a P-I curve with such a high number of values. This was made possible by the synchronization and automation of the different elements composing the autonomous system. First, the use of a lighting system added to a climate chamber allowed the programming of irradiance levels over a wide range of intensities while controlling the other parameters. Secondly, the use

of a microprofiler on which two microsensors were mounted allowed the acquisition of 2 profiles at the same time. And thirdly, the integration of an automatic rotation between the different profile acquisitions allowed to face two constraints often discussed in the literature: sediment disturbance generated by successive oxygen microsensors penetration (Revsbech 1989) and the limit of using microsensors because of spatial heterogeneity (Glud 2006, Denis et al. 2012). As previously shown for sandy (Blanchard 1990; Spilmont et al. 2011) and muddy sediments (Jesus et al. 2005; Daggers et al. 2020), microphytobenthos is heterogeneously distributed at the sediment surface, thus, by using too few replicates, spatial heterogeneity cannot be considered or only partially (Glud 2006). According to Spilmont et al. (2011), in the case of a production estimation for the realization of production budget, the sampling surface must be comprised between 30 and 220 cm² on a sandy or even sandy-muddy sediment. To our knowledge, no study to date has established a study surface that would be representative of a muddy sediment. In our study and according to Rabouille et al. (2003), a dataset of 122 vertical profiles would allow to sample between 13 and 26 cm² (*i.e.* spatial resolution of a microsensor between 0.1 and 0.2 cm²), which highlights the complementarity with the PAM, which has a higher spatial representativeness. The system we developed also allows to take into account changes in biofilm surface community that may also occur with light variations (intensity, duration), such as phototaxis, micro-cycling, as well as possible diel and tidal patterns in vertical migration (Perkins 2010, Cartaxana et al. 2016). By combining a regular increase of the light intensity with incremental light steps, it is possible to simulate an emersion with ideal light conditions at sunrise, while analyzing the response of the microphytobenthos to a given illumination. Beyond its capacity to acquire a large dataset thanks to a total automation of the different components of the system, it is important to note that this system allows to

create a wide range of physico-chemical conditions, which makes possible the work in controlled conditions and simulate a wide variety of climate scenarios.

ii. Laboratory tests

In order to have an autonomous system for the acquisition of P-I curves covering the whole range of light intensities encountered in the field (up to about 2000 μ mol photons.m⁻².s⁻¹, Denis et al. 2009), two additive light sources were used. The use of both types of light sources, alone or in combination, did not result in significant differences in photosynthetic activity as measured through oxygen production. In addition, the duration of exposure to light in the laboratory was calculated and tested to ensure that it was compatible with the total emersion time that microphytbenthic biofilms undergo in situ, conducting to 8 replicate profiles per light intensity. But according to the user's needs, by making the compromise of reducing the number of light intensities, it is possible to increase the number of replicates per light intensity, for instance to better integrate spatial heterogeneity (higher replicate profiles). Thus, there is a trade-off between the number of light intensities applied to the microphytobenthic community and the number of profile replicates per intensity. Kwon et al. (2018) have chosen to acquire a large number of P-I curves from 3-4 replicates of measurements for only 5 light intensities, hence building a dataset of 1870 oxygen microprofiles during a 27 month-long survey, equivalent to only 15 P-I curves in our case. The high values of F_v/F_m obtained before and after the realization of the P-I curve acquisition (without any significant change) reflect the good physiological state of the biofilm as well as the photoregulatory capacity of the microphytobenthic assemblage during the whole experiment (Rasmussen et al. 1983; Barranguet et al. 1998; Chevalier et al. 2010), in accordance with no evidence of photoinhibition on the P-I curve (no decrease in the production rate at high light intensities).

5.2. Validation of the measurement protocol: productivity comparison

By reporting the maximum production obtained in this study to the biomass of microphytobenthos, we calculated a productivity of $0.06 \pm 0.01 \text{ mmol } O_2.\text{m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ per gram of Chl *a*, a value comparable to $0.07 \pm 0.02 \text{ mmol } O_2.\text{m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ per gram of Chl *a* obtained for the same study site and the same season by Denis and Desreumaux (2009). However, Denis and Desreumaux (2009) observed larger variations which could be attributed to a smaller dataset but also to the impossibility of carrying out measurement replicates under standard conditions in the field. Indeed, a significant bias can be introduced by integrating a few values per light intensity (MacIntyre *et al.* 1996; Spilmont *et al.* 2011). Therefore, the autonomous acquisition system, making possible the acquisition of replicates by light intensity, could allow to go much further in understanding the mechanisms of primary production.

5.3. Feedback on the autonomous system: stabilization time of the fluxes

Modeling of P-I curves as a function of time revealed significant differences of GOP between the first 11 minutes compared to the following 33 minutes of exposure to a given light intensity, regarding the photosynthetic dynamics of microphytobenthos. Two main hypotheses can be formulated to explain this difference. Among the different responses to light variations, the migratory behavior of microphytobenthos by phototactism in response to light variations (Morris *et al.* 2008) is a strategy employed to either access greater illumination or to escape from excessive intensities (Perkins *et al.* 2001; Serôdio *et al.* 2005;
Mouget et al. 2008; Serôdio et al. 2012; Du et al. 2018). Several studies have investigated microphytobenthic migration behavior, and the fastest species have been observed to move at speeds ranging from 2 to 20 μ m.s⁻¹ (Cohn and Disparti 1994; Consalvey *et al.* 2004), theoretically allowing them to migrate distances of up to 1 millimeter in approximately 1 to 9 minutes. Beyond its migratory capacity, microphytobenthos is known to implement various photoacclimation mechanisms, such as changes in the number (Pniewski and Piasecka-Jedrzejak 2020) or size conformation of the photosynthetic unit (Kromkamp and Limbeek 1993). These mechanisms are common under highly variable light conditions (Falkowski and Owens 1980; Behrenfeld et al. 1998), which are characteristic of temperate estuarine mudflats subjected to macrotidal regimes (alternating emersion/immersion, cloud cover, resuspension, bioturbation, burial (Josefson et al. 2012)). It is important to note that our data acquisition procedure involved performing the P-I curves sequentially, which is a common practice but unavoidably results in a lack of independence among the measurements. Secondly, the hypothesis that would explain this stabilization time lies in the oxygen diffusion time. According to Fick's diffusion laws (Fick 1855, reprinted 1995), oxygen diffuses from the most concentrated area to the least concentrated with a diffusion speed that can be variable according to the porosity. This diffusion is not instantaneous and thus, once the microphytobenthos is in optimal light conditions after having migrated and/or set up its different photoadaptive mechanisms, the oxygen concentrations will tend to be balanced in the surrounding sedimentary layers. The model of Berg et al. (1998) that allows the calculation of depth-integrated oxygen fluxes is based on a steady-state assumption. It takes into account the vertical diffusion in the calculation, allowing to define successive production/consumption zones. In this way, the vertical diffusion time is taken into account. On the other hand, as the microphytobenthos is heterogeneously distributed,

Chapitre 2 – Un outil d'acquisition autonome à haute fréquence de courbes photosynthèseirradiance

the microsensor does not always pass exactly where the maximum amount of oxygen is produced, which can lead to the taking into account of a stabilization time so that the microsensors can measure the photosynthetic activity of the microphytobenthos in a state of equilibrium O_2 concentration.

We have shown here that the curves obtained by means of 8 repetitions carried out with the automated laboratory system allowed to highlight a difference in the creation of P-I curve between the one obtained on the data resulting from the profiles acquired during the first 11 minutes of illumination and those acquired after 11 minutes of illumination. Depending on the study goal, it may be interesting to study this flux stabilization time or to avoid it. If the objective is to study microphytobenthos physiology and its primary production capacities, it will be recommended, before each profile, to take into account a lag time by illuminating the sediment for about ten minutes in order to reach a steady state. On the other hand, if the objective is to extrapolate the photosynthetic activity of microphytobenthos to the natural environment, it is necessary to take into account shortterm variations, including the fluxes measured during the first minutes. It is important to note that this equilibrium time is to be taken into account only for the measurements of oxygen flux by microsensors because the fluorescence technique allows the measurement of a photon flux, which does not need an equilibrium time since the photon flux measured by the PAM measures a process in progress and microsensors its result. Even so, caution must be taken when using this technique since the photoacclimation mechanisms are not instantaneous. Many authors use the rapid light curve (RLC) technique which allows acquisition within 1.5–2 minutes to obtain a P-I curve although there is always a variation corresponding to the short-term light history of the microphytobenthos using illuminations

of the order of 10 to 20 seconds to perform the RLC (Serôdio *et al.* 2005, Lefebvre *et al.* 2011).

Under field conditions, due to random changes in light during cloudy periods, the microphytobenthos is exposed to variable light conditions and must therefore migrate continuously in the sediment which leads to never presenting a totally stable flux value because the assumption of photosynthetic steady state cannot be made. It is to this technical limitation that our experimental system responds since it allows precise quantification of the photosynthetic capacities of microphytobenthos, something more complicated to set up in situ. It is in this way that the system developed here can be interesting because it is able to recreate these conditions in the laboratory while controlling all other parameters. Thus, the system presented here made it possible to highlight the stabilization time of oxygen fluxes when the microphytobenthos is exposed to a given light intensity. The authors therefore recommend a minimum adaptation time of 11 minutes to a new intensity when measurements are made by applying light of increasing intensity in steps. To go further, it is important to note that 11 minutes corresponds to the entire completion of a profile. Therefore, the 11 minutes announced correspond to the maximum stabilization time. Indeed, the first profile sequence takes about 7 minutes to reach the OPD. Thus, between the 7th and 11th minute of acquisition (*i.e.* the beginning of the second profile acquisition sequence), the microphytobenthos was exposed to the same light intensity for about 4 minutes, during which time the fluxes were stabilized.

5.4. An autonomous and standardized methodological approach integrating complementary tools to go further in the understanding of photosynthetic mechanisms

The experimental system presented here allows to accurately describe under controlled conditions the photosynthetic activity of microphytobenthos and its spatial variability on the horizontal, but also the vertical plane. Several parameters and measurements are coupled in order to have precise information about the mechanisms happening in 3 dimensions at the sediment surface. Thanks to the exploitation of the vertical oxygen profiles, it is possible to obtain information concerning the depth at which the most important photosynthetic activity takes place through the average depth of the production, but also the intensity of this activity via the average thickness of the oxygen peak. The depth of the oxygen peak as a function of intensity gives information on the migratory kinetics of the microphytobenthos, while on the other hand, the thickness of the peak integrates diffusive mechanisms.

As the light intensity increased during P-I curve establishment, the photosynthetic and migratory activity of the microphytobenthos widely varied. Different light intensity ranges were identified: (i) from 0 to 475 μmol photons.m⁻².s⁻¹, (ii) from 475 to 780 μmol photons.m⁻².s⁻¹, (iii) from 780 to 1110 μmol photons.m⁻².s⁻¹ and (iv) from 1110 to 1650 μmol photons.m⁻².s⁻¹. From 0 to 475 μmol photons.m⁻².s⁻¹ (*i.e.* up to the saturation onset parameter I_k), the instantaneous fluorescence Ft increased, testifying that the microphytobenthos migrated towards the sediment surface (Serôdio *et al.* 1997; Morris *et al.* 2008; Cartaxana *et al.* 2016). Even if there are models that allow to adjust the information on the depth (Morelle *et al.* 2018), PAM fluorometry only gives surface information as widely discussed in the literature (Kromkamp *et al.* 1998; Serôdio 2004; Forster and Kromkamp 2004) and can therefore be

considered as a proxy of the active microphytobenthic biomass. This observation means that the maximum of microphytobenthic biomass could be found at I_k . This result is in line with the increase in photosynthetic activity as observed through the linear increase of GOP from 0 to 475 µmol photons.m⁻².s⁻¹. Moreover, this increase in photosynthetic activity occurred with little variability with respect to the dispersion values of GOP and rETR. In addition, this increase in photosynthetic activity, even though the microphytobenthos migrated towards the surface, caused a burying of the maximum oxygen concentration and an increase in the thickness of the production peak, which is a signal of the accumulation of primary producers on the surface of the sediment. These features are in agreement with the progressive arrival of microphytobenthos in the superficial zone of the sediment, the most suitable for its photosynthetic activity. Moreover, up to I_k , the microphytobenthos did not show signs of excessive light exposure since the NPQ value did not increase.

From 475 to 780 µmol photons.m⁻².s⁻¹, photoprotective mechanisms were evidenced by the increase in NPQ, allowing the microphytobenthos to dissipate the energy excess as heat (Serôdio *et al.* 2005). In parallel, it was beyond I_k that the fluorescence signal Ft decreased, suggesting that some microphytobenthic organisms were migrating towards deeper sedimentary layers as a strategy to avoid photoinhibition due to excessive light energy that was neither used for photosynthetic electron transport nor dissipated as heat when potential saturation of photosystems occurred (Admiraal 1984). Nevertheless, no decrease in GOP was observed beyond I_k, suggesting that photosynthetic activity did not globally decrease, but variations in the depth and average thickness of the peak were clearly observed, suggesting that the production peak rose by thinning towards the interface while compensating with a higher intensity.

At 780 μmol photons.m⁻².s⁻¹, a change in the migratory dynamic and in the microphytobenthic photosynthetic activity occurred, marked by a strong heterogeneity in GOP and rETR values. It is conceivable that other groups of microphytobenthic organisms migrated to deeper sedimentary layers. Previous studies have already shown that within the same biofilm, the light preference could be highly variable between species and induced migratory movements at different light intensities (Hanelt *et al.* 1993; Serôdio *et al.* 2006), consequently implying changes in the depth and thickness of the oxygen peak. Concurrently with this migration, the NPQ continued to increase progressively until it reached a plateau from 1110 μmol photons.m⁻².s⁻¹, value generally observed in the literature for intertidal mudflats in a temperate environment (Pniewski *et al.*, 2016; Morelle *et al.* 2018).

From 1110 to 1650 µmol photons.m⁻².s⁻¹, a GOP dispersion peak was visible. In the field study of Denis *et al.* (2012), this variability was also observable, with GOP dispersion at high irradiance about two to three times higher than for previous light intensities. As light is stronger, it also penetrates deeper into the sedimentary layers. Khul *et al.* (1997) showed that the photic zone could reach about 0.6 mm in muddy sediments colonized by microbial mats (grain size < 63 µm). Thus, although the microphytobenthos has migrated in the sediment, it still received high light intensities, inducing a strong variability of oxygen production in the subsurface. A possible trade-off between vertical migration and photoprotection has been hypothesized (van Leeuwe *et al.* 2008; Jesus *et al.* 2009), which could explain this disparity in photosynthetic response, creating a strong dispersion. But Blommaert *et al.* (2017) demonstrated that for temperate ecosystems, there is no trade-off between vertical migration mechanisms and photoprotective mechanisms. On the other hand, under high illuminations, other parameters can lead to a significant dispersion of the

GOP. Cell size, for example, is a factor that can impact the photoprotective capacity of microphytobenthos, as due to its small size, pigment self-shading may be less, making cells more vulnerable to photodamages (Key *et al.* 2010) and thus requiring more photoprotection. On the other hand, no high dispersion was visible through the dispersion measurements on the rETR. Indeed, because microphytobenthic communities are composed of epipelic organisms (which move in between sediment particles) and epipsammic organisms (which live attached to sediment particles), those living fixed will remain at the surface during high light levels. As shown by Barnett *et al.* (2015), these organisms have a greater capacity for NPQ and xanthophyll cycling, and will have a greater tolerance to high light levels.

5.5. Comments and recommendations

One of the main advantages of this system is the design and setting of a wide range of physico-chemical conditions, enabling reproducibility of laboratory measurements thanks to the possibility of working under standardized conditions. It allows to test the effect of a targeted parameter, but also the synergy of several parameters (salinity, temperature, light ...) on different types of sediment, taking care to choose the appropriate microsensor. Furthermore, in addition to enabling the control of various parameters and standardizing measurements, this system additionally improves our comprehension of microphytobenthic photosynthetic capacities by allowing access to additional information through its automated acquisition of P-I curves, which enables the acquisition of large datasets. By analyzing oxygen flux stabilization time, migration moments through dispersion, and notable elements of a vertical profile (such as depth and thickness of the peak), this system contributes significantly to improving the understanding of

Chapitre 2 – Un outil d'acquisition autonome à haute fréquence de courbes photosynthèseirradiance

microphytobenthic photosynthetic capacities. This improvement is particularly significant as incomplete or poorly supplied P-I curves are not valuable in scientific literature. But a common limit to any use of microsensors remains the time needed for data processing when the number of profiles becomes consequent. Furthermore, In the present experimental procedure, respiration is only calculated from oxygen profiles at dark. The additional use of the light-dark shift technique (Glud *et al. 1992;* Serôdio *et al.* 2001, 2007) for a few light intensities would allow considering respiration at light in the calculation of GOP, hence resulting in more accurate estimates. However, this method can be timeconsuming and requires additional experimental setup, and is thus best used as an auxiliary experiment rather than a routine measurement technique in our P-I curve acquisition procedure.

The total cost of the system in the configuration presented here is approximately 90,000 Euros. This estimate includes all of the measurement equipment, but not all of the options for these measurement devices are necessary, especially the Diving-PAM or the microsensor system. Less expensive equipment exists for a much lower cost, bringing the system to an approximate cost of 25,000 to 30,000 euros. Such a budget would allow for the creation of a low or zero operating cost system. To go further in the development of this autonomous system, several possibilities are conceivable. Firstly, it is possible to go further in the control of the parameters by developing a module allowing to work in immersion in order to take into account additional parameters such as salinity, water height or current intensity for example. It would be also possible to integrate other devices allowing to have additional and complementary information such as a hyperspectral camera, allowing to obtain information on the variation of the surface biomass or a modular system of multi-parameter imaging, allowing to have an image of the entire surface of the sediment. Nevertheless, by adding extra-captors, it will be necessary to take care of the creation of self-shading, which is already a limiting factor in the number of microsensors used.

Funding

This work has been financially supported by the French Region Hauts-de-France and the Lille University.

Chapitre 2 – Un outil d'acquisition autonome à haute fréquence de courbes photosynthèseirradiance



L'article qui compose ce chapitre vise à explorer expérimentalement la production primaire du microphytobenthos sous une perspective temporelle à l'échelle de la journée. Avec pour objectif de comprendre l'influence de l'horloge interne du microphytobenthos en relation avec l'heure du jour et les cycles de marées, nous avons examiné l'impact du moment auquel les mesures caractérisant l'activité photosynthétique sont effectuées.

Cette étude résulte d'un constat général fait à partir de la littérature au sein de laquelle il existe une procédure qui est suivi par une grande majorité d'auteurs quant à la chronologie du prélèvement de carotte de sédiment ainsi que de son analyse. En effet, lorsqu'une carotte de sédiment est prélevée *in situ* pendant une période d'émersion, le temps disponible en laboratoire pour l'expérimentation peut ne pas correspondre à la phase d'émersion du site d'étude. Cette situation pose une question cruciale : doit-on débuter l'expérience durant l'émersion du site et la poursuivre pendant la période d'immersion, ou bien attendre la prochaine émersion du site, potentiellement en ignorant l'heure du jour ?

Pour cela, à l'aide de l'outil de mesure autonome présenté dans le chapitre précédent, nous avons réalisé des séquences d'acquisitions de courbes P-E à différents moments du jour et de la marée afin de voir la réaction que pourrait avoir le microphytobenthos face à ces forçages.

Cet article a été accepté pour publication dans Trends in Photochemistry and Photobiology. La phase de proof a été achevée le 04/09/2023. L'article est actuellement sous presse et devrait être mis en ligne dans le volume 22 de la revue.

93

Importance of emersion hour in microphytobenthos activity: a case of an intertidal mudflat

Marvin Meresse^{1,2,3,4*}, François Gevaert^{1,2,3}, Gwendoline Duong^{1,2,3} and Lionel Denis^{1,2,3}

¹Univ. Lille, CNRS, IRD, Univ. Littoral Côte d'Opale, UMR 8187 - LOG – Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences, Station Marine de Wimereux, F-59000 Lille, France

1. Abstract

The intertidal zone is a dynamic habitat subject to constant tide fluctuations that provides a challenging and stressful environment for the organisms inhabiting it. As a microscopic primary producer living in association with benthic substrates, microphytobenthos play a crucial role and display adaptive characteristics like photoprotection, desiccation resistance, and migration behaviors. This vertical migration is an important adaptative mechanism that enables the microalgae constituting the microphytobenthos to optimize their light exposure and retreat into the sediments during low tide to avoid harsh conditions. Numerous studies have shown that these vertical migration mechanisms are governed by an internal clock, giving rise to endogenous rhythms. To better understand the microphytobenthic communities functioning, primary production is typically characterized through laboratory measurements, often performed independently of the photoperiod or/and tidal characteristics of the environment. However, the question arises: does the time of day and tidal phase have an impact on the processes measured? To investigate this, we simulated an artificial tidal cycle, creating four different scenarios to test the effects of 'day hour' and 'tidal phase moment'. During these scenarios, we used two complementary measurement tools: a Pulse-amplitude modulated (PAM) fluorometer to assess surface microphytobenthic biomass and oxygen microsensors to obtain vertical distribution of photosynthetic activity. Our study, while confirming that the endogenous rhythm of microphytobenthos can be maintained for up to three days in the laboratory, shows that the intensity of vertical migratory rhythm varies with the day hour. Importantly, we have shown that the day hour significantly influences primary production estimates, with maximum production values potentially being up to three times higher when estimated during afternoon emersions compared to nocturnal emersions. In addition, the timing of measurements in relation to the immersion/emersion cycle can also have an impact on primary production estimates, and must be considered if reliable and realistic estimates are to be obtained.

2. Introduction

The intertidal zone, a dynamic and complex ecosystem situated between high and low tide levels along coastlines, encompasses a diverse range of coastal environments (Hume *et al.*, 1992). This unique habitat experiences changing environmental conditions, including variations in light, temperature, salinity, and nutrient availability (Hopkinson *et al.*, 1999). Within this coastal ecosystem, microphytobenthos, primarily composed of algae (Admiraal, 1984; MacIntyre *et al.*, 1996; Underwood and Kromkamp, 1999) and cyanobacteria (Sundbäck, 1984; Cariou and Blanchard, 1995), play a crucial role as primary producers (Guarini *et al.*, 1998) and major contributors to biodiversity and ecosystem functioning (Underwood and Kromkamp, 1999; Cahoon, 2006; Christianen *et al.*, 2017). To ensure survival and prosperity in this dynamic environment, microphytobenthos have developed various adaptations. These adaptations include photoprotection mechanisms (Hanelt et al., 1993) to minimize damage from excessive light and UV radiation, strategies for desiccation resistance (Coelho et al., 2009) to endure periods of emersion, and mechanisms for osmotic regulation to handle salinity variations (Kirst, 1989; Le Rouzic, 2012). Through these adaptations, microphytobenthos efficiently utilize available resources and overcome environmental pressures. In addition to these adaptations, microphytobenthos in the intertidal zone employ a notable mechanism known as vertical migration. Microphytobenthos exhibit locomotion through the presence of a slit in their cell wall, enabling directional and reversible movement (Cohn et al., 2016) supported by intricate micromovements (Apoya-Horton et al., 2006), mainly to respond to ambient pressures (Paterson, 1986). Moreover, multiple research investigations have also presented convincing proof regarding the impact of an internal clock on the movement of microphytobenthos, showcasing the intricate relationship between their endogenous rhythm and migratory behavior (Coelho et al., 2011; Haro et al., 2019; Barnett et al., 2020). The presence of an endogenous migratory behavior has been demonstrated through experiments that revealed consistent migration patterns, even in the absence of external physical synchronizers (Palmer and Round, 1967; Serôdio et al., 1997). Some studies have shown that microphytobenthos exhibit a distinct migratory behavior that is synchronized with the tidal and photoperiod cycles (Serôdio et al., 1997). During daylight emersion, microphytobenthic cells move upward and form dense and temporary photosynthetic biofilms at the sediment surface, while they move back downward into deeper sediment layers before nighttime or immersion (Serôdio et al., 1997; Serôdio, 2021) during which the microphytobenthos is darkened because of low light penetration in the water column. This

rhythmic pattern is continuously adjusted to align with the daily and fortnightly tide timings, with longer or shorter tides between spring and neap tides, as well as the progressive changes in day length throughout the seasons. The purpose of vertical migration in microphytobenthos is to optimize their light exposure to maintain photosynthetic activity, as well as to utilize the physicochemical gradients within intertidal sediments (Saburova and Polikarpov, 2003; Consalvey et al., 2004) in order to maintain productivity and resilience in response to the dynamic nature of the intertidal zone. By performing photosynthesis and carbon fixation in well-lit upper sediment layers, which are spatially disconnected from nutrient-rich, stable, and darker deeper layers where cell division takes place, these microphytobenthic cells can effectively exploit the resources available for their growth and survival (Serôdio et al., 2023). Except for sandy sediments, where microphytobenthos have an epipsammic lifestyle (Admiraal, 1984; Jesus et al., 2009), the acquisition of motility is considered a crucial adaptation (Serôdio, 2021), enabling them to thrive in intertidal sediments. This way, by adjusting their vertical position within the sediment, microphytobenthos can adapt to the fluctuating intertidal conditions and ensure their survival in this challenging environment.

This understanding is pivotal in unraveling the mechanisms governing microphytobenthic activity. Through extensive research, scientists have delved into the interconnectedness of the endogenous rhythm and migratory patterns of microphytobenthos, shedding light on the coordination of physiological processes and ecological dynamics within intertidal ecosystems (Admiraal, 1984; Paterson *et al.*, 1998; Consalvey *et al.*, 2004; Haro *et al.*, 2019). But despite numerous studies on the internal clock of microphytobenthos, there are still uncertainties surrounding its mechanisms and

98

implications. While the existence of an internal clock has been established, its precise regulation and interactions with other environmental factors remain under investigation. One significant knowledge gap lies in understanding the potential consequences of the rhythmic behavior driven by the internal clock on estimates of primary production in laboratory conditions. Therefore, our study aimed to better understand the internal implications for accurate assessments of microphytobenthic primary production in laboratory experiments. This manuscript therefore presents a study in which the authors investigated the asynchrony of the tidal rhythm with what happens in the field, in order to study the impact of the internal clock on estimates of primary production study. Thus, by understanding the internal clock effect on primary production estimations, we can refine our understanding of the ecological dynamics and functioning of microphytobenthic communities, contributing to more precise estimations of primary production in the internal action.

3. Materials and methods

3.1. Study site, sampling and sediment cores conservation

The study was conducted on sediments sampled in the Canche estuary, located on the northern coast of France in the Eastern Channel. The sediment samples were collected on April 28, 2021, from the northern intertidal mudflat of the Canche estuary (50°32'07 "N and 1°35'45 "E). Due to its location in a macrotidal environment, the estuary is subject to tidal range of 8 meters during spring tides and 3 meters during neap tides, with a semidiurnal tidal regime.

Prior to the experiment, three sediment cores with a diameter of 15 cm were collected during the night and stored in the dark until the early morning before sunrise. The

sediment cores were transported to the laboratory and immersed in a bath of thermostatic bubbled seawater that corresponded to the immersion time of the site, in order to simulate the natural immersion conditions. This simulation was conducted in the dark to replicate the natural conditions, as preliminary measurements revealed that no light could reach the sediment during immersion due to the turbidity of the estuarine water column. One of the three cores was used for fluorescence and oxygen microprofiling, while the other two were used for sediment characterization. In this last two, to estimate the chlorophyll a (Chl a) concentrations in the topmost 0.5 centimeter of the wet sliced sediment thanks to the Lorenzen method (Lorenzen, 1967), a total of three subcores of 2.6 cm inner diameter were randomly taken from each of the two sediment cores just prior to the acquisition sequence. Additionally, to determine the average sediment porosity, a total of 3 subcores were sampled in the two sediment cores and stored at -20 °C. The frozen subcores were manually sectioned into slices of various widths and then dried in an oven (60 °C) for a week (Danovaro et al., 1999; Flemming and Delafontaine, 2000). The porosity was calculated using the measured sediment water content, by weighing fresh and dry weights, and by assuming a dry particle density (ρ_{sed}) of 2.65 g.cm⁻³ (Mackin and Aller, 1984) and a seawater density (ρ_w) of 1.03 g.cm⁻³. The porosity was calculated using the following equation:

$$\varphi = \frac{\frac{W_w}{\rho_w}}{\frac{W_w}{\rho_w} + \frac{W_{sed}}{\rho_{sed}}}$$
(1)

where W_w and W_{sed} are the weight of water and sediment, respectively.

During the sampling, *in situ* measurements of surface sediment temperature and salinity were carried out by inserting a multi-parameter probe (HI9829, Hanna Instruments,

France) into the first centimeter of sediment, located a few centimeters away from the core position.

In order to determine the maximum storage time for sediment core without any impact on sediment geochemistry, oxygen flux measurements were conducted under four different light intensities applied successively: (i) 0, (ii) 200, (iii) 475, and (iv) 1020 μ mol.m⁻².s⁻¹. For each light intensity, 20 oxygen profiles were realized every day, over a period of 5 consecutive days.

Additionally, to assess any potential impact on sediment structure, 3 porosity measurements were performed successively before and after the study. To monitor the condition of the microphytobenthic communities, 3 daily measurements of ChI a concentration and F_v/F_m (see below) were conducted.

3.2. Simulating immersion / emersion in laboratory

i. Laboratory autonomous acquisition system of microphytobenthic activity data

To carry out the experimentation, an artificial tidal cycle was created in the laboratory to create different scenarios. These scenarios took place at different times in relation to the tidal cycle, in order to determine the effect of the 'tidal moment' effect on primary production estimates with an emersion (i) before, (ii) during, (iii) at the beginning and (iv) ending with the theoretical immersion of the study site. These scenarios took place at different times of day in order to determine the effect of the 'time of day' effect on primary production estimates with an emersion at (i) 11:00, (ii) 01:00, (iii) 16:00, and (iv) 08:00. The study lasted for about three consecutive days, with 8-hour-long emersions and

6-hour-long immersions (Figure 1). During the emersion phases, fluorescence



measurements and oxygen profiles were taken under increasing light levels.

Figure 1: A: Tide evolution at the sampling site over time. The shaded areas represent the theoretical immersion phases. B: Diagram illustrating the artificial tidal cycle simulated in the laboratory. The numbered arrows (1 to 4) indicate the four scenarios during which measurement periods were conducted. The striped areas represent the immersion phases simulated in the laboratory. C: Evolution of the light intensity perceived by the microphytobenthos in the laboratory and the theorical alternance between day and night.

An autonomous Photosynthetic-Irradiance (P-I) curve acquisition system was used. This system was presented and described by Meresse *et al.* (Meresse *et al.*, 2023). This system is composed of two complementary tools: a microprofiling system with two oxygen microsensors (Ox-25, Unisense, Denmark) and a diving-PAM (Walz, Germany). This system has been placed in a climatic chamber (Fitoclima 600, Aralab, Portugal) which allows to work in controlled conditions thanks to the programming of the light intensity, temperature and hygrometry.

For each acquired P-I curve, a total of 14 light intensities were applied to the microphytobenthos, with light intensity ranging from 0 to 1650 µmol.m⁻².s⁻¹ (Figure 1). For each intensity, 8 profiles were made. These were obtained in pairs by using 2 microsensors at the same time. A vertical profile took 8 minutes to acquire which allowed us to obtain all the profiles necessary for the acquisition of a P-I curve in 07:30, corresponding to an emersion comparable to that observed *in situ*. Thus, a total of 112 profiles were acquired for each scenario.

For this experiment, each profile was carried out down to a depth of 4.5 mm in order to systematically reach the anoxic layer, which corresponds to the depth where the microsensor signal reaches zero current (the depth of oxygen penetration). Oxygen partial pressure was converted to oxygen concentration as a function of measured surface sediment salinity and temperature (Garcia and Gordon, 1992).

Through the analysis of vertical oxygen microprofiles and utilization of the profiling software SensorTrace (Unisense, Denmark) numerical model, based on Berg *et al.*'s (Berg *et al.*, 1998) model, an estimation of the net oxygen production (NOP) with depth was obtained. The model integrates various parameters, including the average porosity value measured within the first 5 millimeters, temperature, and salinity of the studied sediment. The NOP per unit area was estimated by vertically integrating production rates, assuming steady-state and 1D vertical exchanges, without considering irrigation and bioturbation processes. To determine fluxes attributable to the photosynthetic activity of the microphytobenthos in the sediment, the gross oxygen production (GOP) was calculated by

subtracting the average oxygen flux values calculated in the dark from the NOP values obtained for each profile. In addition to exploiting the vertically integrated flux data, we also studied the evolution of the depth of oxygen concentration maximum (DOCM) in order to use it as a proxy for the depth of the maximum photosynthetic activity of the microphytobenthos (Figure 2).



Figure 2: Raw oxygen concentrations measured under a light of 700 μ *mol.m⁻².s⁻¹. Distance A represents the depth of the maximum oxygen concentration.*

ii. Fluorescence measurement

Concurrently with the collection of vertical oxygen profiles, a diving-PAM fluorometer (Walz, Effeltrich, Germany) was employed to conduct variable fluorescence measurements every 3 minutes on the corresponding sediment core. This instrument allowed for the assessment of the effective quantum yield of photosystem II (PSII) (Φ_{PSII}). The calculation of Φ_{PSII} followed the equation developed by Genty *et al.* (Genty *et al.*, 1989):

$$\phi_{PSII} = \frac{F_m' - F_t}{F_m'} \tag{2}$$

where F_t represents the instantaneous fluorescence level under ambient light, while F_m' corresponds to the maximal level achieved with a single saturating light pulse (0.8 s, 2500 μ mol.m⁻².s⁻¹) for light-acclimated samples. The relative electron transport rate (rETR) of photosystem II (PSII) under specific light intensities was calculated using Φ_{PSII} and the estimation method proposed by Genty *et al.* (Genty *et al.*, 1989).

$$rETR = \phi_{PSII} \times PPFD \times 0.5 \tag{3}$$

The ambient light intensity, quantified as photosynthetic photon flux density (PPFD), was measured using a planar light sensor (LI-190, LICOR, Germany). The energy partitioning between the two photosystems was taken into account by using a factor of 0.5. The optimal quantum yield of PSII photochemistry (F_v/F_m) was used to evaluate the physiological condition of the microphytobenthic biofilm (Genty *et al.*, 1989). This parameter was calculated as the ratio:

$$\frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_0}{F_m} \tag{4}$$

where F_0 is the minimal fluorescence, and Fm is the maximal fluorescence attained during the application of a saturating pulse of white light (0.8 s, 2500 µmol.m⁻².s⁻¹), both levels measured after a period of 10 minutes in darkness. To ensure the accuracy of fluorescence measurements, the gain, damping, and intensity of the modulated light of the Diving-PAM were initially adjusted to achieve a minimum F_t value (> 130) throughout the entire experiment. The fluorescence data presented in this study were averaged from 14 measurements obtained for each light intensity, ensuring reliable and representative results. Additionally, this parameter was measured both before and after the experimentation to assess any potential changes in the microphytobenthic biofilm.

3.3. P-I curve fitting and statistical analysis

The key photosynthetic parameters of the microphytobenthic communities, including the initial slope of the non-saturated photosynthetic rate (α) and the maximum production (P_{max}) (Coutinho and Zingmark, 1987; Henley, 1993), were determined using statistical software R (R Core Team, 2017) and the Phytotools package (V1.0). The model proposed by Eilers and Peeters (Eilers and Peeters, 1988) was employed to estimate these parameters:

$$y = \frac{I}{\frac{I^2}{\alpha \times I_k^2} + \frac{I}{P_{max}} - \frac{2I}{\alpha \times I_K} + \frac{1}{\alpha}}$$
(5)

where y is the photosynthetic rate, I_k the optimal light intensity for primary production and I the photosynthetic photon flux density. To compare photosynthetic parameters, normality and homogeneity of variance were tested using the Shapiro-Wilk W-test, and results indicated non-normal distribution of the GOP data. Hence, non-parametric Wilcoxon tests were applied. The R statistical software was used to perform this statistical analysis. Furthermore, to determine the periodicity of the fluorescence signal, the 'sign' function of R was used to calculate peak periods by defining the amplitude of the peak under study. As fluorescence data were not all of the same intensity from one experiment to another, the analysis was carried out on raw and normalized data.

4. Results

4.1. Sedimentary and biomass monitoring

Over a period of 5 consecutive days of sediment core conservation in artificial tide conditions, NOP measurements were conducted under four different light intensities. At dark, significant differences (P_{value} <0.05, n=20, Wilcoxon test) were observed in the measurements performed (In order to avoid repetition, we have deleted 'in the dark'.) starting from the 4th day of maintenance. Under light conditions, significant differences were observed from the 5th day onwards for low illumination of 200 µmol.m⁻².s⁻¹, and from the 4th day onwards for moderate illumination of 475 µmol.m⁻².s⁻¹ and high illumination of 1020 µmol.m⁻².s⁻¹ (Figure 3). Furthermore, profile analysis showed that the anoxic zone decreased from 764 ± 117 µm to 523 ± 78 µm (n=20) under equivalent light conditions.



Figure 3: Net oxygen flux (mmol.m⁻².h⁻¹) (n=20 per day and light intensity) measured over 5 consecutive days at 4 different light intensities. Stars indicate whether the Wilcoxon test result is significant or not.

To ensure that no settling of the sediment core occurred during the experiment, porosity of the first 0.5 cm of sediment was measured both before and after the simulation of the tidal cycle in the laboratory, with values varying from 0.81 ± 0.01 to 0.79 ± 0.03 . No significant difference (P_{value}>0.05, n=6) was detected between the initial and final porosity values. Additionally, Chl *a* concentration was measured daily to ensure the preservation of the microphytobenthic communities. No significant difference appeared between the different days of experimentation ($P_{value}>0.05$, n=6). Furthermore, with a mean value of 0.58 ± 0.06 over the whole experiment, the F_v/F_m measurements revealed no significant differences between the various experimental days, both prior to and following the measurement sequence ($P_{value}>0.05$, n=6).

4.2. Fluorescence monitoring

The dynamics of the instantaneous surface fluorescence evolution are illustrated in Figure 4A. Distinct phases of both increasing and decreasing fluorescence can be observed. As the experiment progressed and the light intensity increased, a general decreasing trend in fluorescence can be observed. However, except for the last scenario, two noticeable increases in the fluorescence signal were observed: a prominently marked initial increase followed by a second, less significant one.

The fluorescence evolution exhibited a redundant pattern across all scenarios, as depicted in Figure 4B. Although the patterns were identical, they differed in intensity depending on the specific scenario. In particular, the amplitudes of these patterns were 2.5 times greater in the daytime scenarios compared to the nighttime scenario. To study the redundancy of this pattern, a periodicity analysis of the data was conducted that revealed two distinct periods. The first period, calculated from the raw data, was found to be 25:20. Additionally, when analyzing normalized F_t data, a period of 13:03 ± 00:15 was identified.



Figure 4: A: Instantaneous fluorescence dynamics (F_t) during the four scenarios according to the time, the tide (grey boxes) and the light. B: Fluorescence signal pattern obtained by smoothing.

4.3. P-I curves based on fluorescence measurements

Fluorescence measurements were used to calculate the relative electron transport

rate (rETR). The P-I curves were modeled and are presented in Figure 5.



Figure 5: P-I curves obtained by fitting mean relative electron transport rate \pm s.d (rETR) according to the light intensity (n=14), during the four scenarios, by the model of Eilers and Peeters (Eilers and Peeters, 1988) (each point corresponds to the mean \pm s.d).

The P-I curves revealed significant differences (P_{value} <0.05, n=6) in the maximum relative electron transport rate (rETR) between different scenarios (We have deleted 'between curves obtained' for better reading.) with daytime and night-time measurements. Specifically, the 16:00 scenario exhibited an almost twofold higher maximum rETR compared to the 01:00 scenario, with the 08:00 and 11:00 scenarios falling in between these extremes (Figure 6A). On the other hand, no significant difference (P_{value} >0.05, n=6) was found between the 01:00 and the 08:00 α but these two alpha values are significantly lower than those of the 11:00 and 16:00 scenarios (Figure 6B).



Figure 6: A: Mean value of $\alpha \pm s.d.$ calculated on rETR P-I curves according to the scenario (n=12). B: Mean value of $P_{max} \pm s.d.$ calculated on rETR P-I curves according to the scenario (n= 12). Stars indicate whether the Wilcoxon test result is significant or not.

4.4. P-I curves based on Gross Oxygen Production

GOP integrated over the vertical of each profile were computed, and P-I curves were modeled by plotting these fluxes values according to light intensities for each hour of emersion (Figure 7).



Figure 7: P-I curves obtained by fitting relative gross oxygen production according to the light intensity (n=6), during the four scenarios, by the model of Eilers and Peeters (Eilers and Peeters, 1988).

As the P-I curve was completed late in the day, the P_{max} was significantly higher (P_{value}<0.05, n=6) compared to nighttime conditions (Figure 8A). Moreover, there was a noticeable variation in P_{max} for P-I curves obtained during daylight hours, with a significant increase of P_{max} values observed concurrently as the P-I curve was completed late in the day. Additionally, when immersions were simulated at 01:00 and 08:00, α values obtained were significantly lower (P_{value}<0.05, n=6) compared to the two others, with a five-fold increase in magnitude (Figure 8B). In the same way, α obtained at 16:00 was significantly lower (P_{value}<0.05, n=6) compared to the 11:00 one. Interestingly, under intense light

conditions, a decrease in the GOP was observed, but this effect was only evident in the last



scenario.

4.5. Depth of the oxygen concentration maximum

In order to get information about how the photosynthetic activity evolved vertically in the sediment, the DOCM is represented in Figure 9. In all scenarios, the depth of DOCM exhibited a tendency to increase initially, followed by either a decrease or stabilization under high light conditions, albeit to varying degrees. In addition, it is possible to observe that the amplitude of the DOCM varied across different scenarios with a lower magnitude for measurements made during the night compared to those taken during the day.

Figure 8: A: Mean value of $\alpha \pm s.d.$ calculated on GOP P-I curves according to the scenario (n=6). B: Mean value of $P_{max} \pm s.d.$ calculated on GOP P-I curves according to the scenario (n= 6). Stars indicate whether the Wilcoxon test result is significant or not.



Figure 9: Average depth of oxygen concentration maximum \pm *s.d. (n=6) measured on oxygen profiles obtained during the four scenarios.*

During the daytime scenarios (measurements starting at 11:00 and 16:00) the DOCM appeared to remain relatively stable when exposed to high light levels. Conversely, for scenarios carried out at 01:00 and 08:00, the DOCM showed less pronounced changes under high illumination.

Additionally, it is worth noting that in each experiment, a distinct change in slope could be observed during the transitions between the theoretical immersion and emersion phases of the study site. This observation becomes obvious when considering instances where the theoretical emersion occurred during daylight hours, irrespective of the light intensity (whether high or low). In such cases, there was a tendency for the DOCM tended to reach a stabilized state. This is also the case when the theoretical immersion occurred at

night with a DOCM increasing initially under low light levels and then decreasing under high light levels. Finally, when the experiment concluded with theoretical immersion, the DOCM exhibited an instantaneous and linear decrease.

5. Discussion

5.1. Conservation of sediment cores in the laboratory

To assess the maximum feasible storage duration of a sediment core under laboratory conditions while simulating a tidal cycle, a preliminary experiment was conducted over a period of 5 consecutive days during the emersion phases of the artificial tidal cycle. The results of NOP measurements revealed significant differences after 3 days of storage. Specifically, respiratory fluxes measured in the dark exhibited an increase, while NOPs measured under light conditions displayed a decrease. This alteration in oxygen fluxes can be attributed to the short life cycle of microphytobenthos cells (Mann, 1989). Beyond 3 days, like in situ, a portion of the microphytobenthic community undergoes senescence, and the degradation of the biofilm could result in an accumulation of organic matter in the upper layers of the sediment. Due to the low mechanical disturbance caused by the absence of wave movement in the laboratory tidal simulation, this excess of organic matter could remain in the sediment rather than being flushed out. As a result, the increased organic matter content could have stimulated bacterial activity (Hargrave, 1972; Middelburg and van der Nat, 1993), leading to heightened sediment respiration. This hypothesis finds support in the analysis of vertical profiles used for GOP calculations, where the average depth of the anoxic zone decreased from 764 \pm 117 μ m to 523 \pm 78 μ m (n=20) under equivalent light conditions.
As the sediment core was collected and stored under controlled conditions, we also ensured that this laboratory maintenance had no impact on the porosity of the sediment that could result from a compaction of the core during the 3 consecutive days of experiment. The average porosity of the first 0.5 cm before and after the three days of experimentation showed no significant differences with an average porosity of the studied sediment of 0.80 ± 0.02. This porosity value is quite close to the values observed in previous studies for the same site, with an average of 0.75 ± 0.02 in the study by Denis *et al.* (Denis and Desreumaux, 2009), 0.90 ± 0.02 in the study by Denis et al. (Denis et al., 2012) or 0.92 ± 0.02 in the study by Meresse et al. (Meresse et al., 2023). With the same objective, a monitoring of the microphytobenthic biomass was carried out during the 3 days of experimentation for the first 5 surface millimeters through the measurement of chl a concentration. No significant difference was found between the chl a concentration measured during the three days of experimentation, with an average concentration of 150.6 ± 9.50 mg.m⁻². This average value is however lower than the average concentrations found during the study of Denis et al. (Denis et al., 2012) and Meresse et al. (Meresse et al., 2023) who measured an average concentration of 240 \pm 30 and 270.93 \pm 32.49 mg Chl a.m⁻ ², respectively during spring. This difference can be explained by temperature conditions that were lower in terms of seasonal averages. Thus, we can affirm that the conservation of the sediment cores in the laboratory during 3 days had no influence on the microphytobenthic biomass as well as on the porosity, which is the one of the main parameters considered in the calculation of the diffusive fluxes (Boudreau and Jørgensen, 2001). To finish, the F_v/F_m measurements exhibited no significant differences between experimental days, both before and after the measurement sequence. This indicates a consistent and stable physiological condition of the microphytobenthic communities

throughout the duration of the study (Genty *et al.*, 1989). The average value obtained in this study for the F_v/F_m parameter is consistent with what is generally reported in the literature (Serôdio *et al.*, 2005a, Serôdio *et al.*, 2005b; Jesus *et al.*, 2005; Du *et al.*, 2009). It is widely accepted that a F_v/F_m value above 0.7 indicates a good physiological state for photosynthetic organisms. However, for microphytobenthos, this F_v/F_m value is typically lower than 0.7 due to the positioning of the cells within the biofilm, which are not directly on the surface of the sediment but at its interface. As a result, the signal is attenuated by the interaction of the sediment between the microphytobenthos and the optical fiber of the fluorometer.

5.2. Impact of emersion hour on the microphytobenthic activityi. Highlighting the internal clock

As for previous studies (Serôdio *et al.*, 2008; Haro *et al.*, 2019; Barnett *et al.*, 2020; Serôdio *et al.*, 2021), this experiment further elucidated the ability of microphytobenthos to exhibit an endogenous rhythm. By measuring F_t , we observed a consistent pattern over three consecutive days. The presence of the internal clock is further highlighted in our study through periodicity analyses, revealing two distinct periods: (i) a first period of 13:03 ± 00:15 minutes aligning approximately with a tidal cycle (in the English Channel, a tidal cycle occurs approximately every 12 hours and 45 minutes) and (ii) a second period of 25:20 corresponding to the tidal cycle plus the tidal shift, which includes a 24-hour cycle plus a 45-minute shift from one day to the next.

This slight discrepancy can be explained in our study by the fact that some factors, such as the life history of the microphytobenthos, need to be taken into account. During the days preceding the experiment, the mean atmospheric pressure was 1029 hPa (according to www.meteociel.fr), which is higher than the theoretical mean atmospheric pressure of 1013 hPa used in tidal forecasting models. It is possible that the microphytobenthos was synchronized to a different rhythm than the theoretical one due to the influence of atmospheric pressure, as it is known to affect water height (Hamon, 1966).

While the internal clock mechanism has been previously demonstrated, to our knowledge, our study is the first to conduct oxygen fluxes and fluorescence measurements at different day and tide moment in order to reveal the importance of the moment of experimentation. Specifically, we observed that instantaneous fluorescence measurements were 2.5 times lower during nighttime measurements compared to daytime measurements. This suggests that microphytobenthos, through its internal clock, may regulate its migratory activity. Moreover, with variable maximum of P_{max} and maximum of rETR, microphytobenthos have demonstrated higher levels of photosynthetic activity during the day and lower levels at night, highlighting their ability to adapt their photosynthetic activity based on the time of day. The regulation of migratory behavior by their internal clock could play a crucial role in optimizing their light exposure and nutrient acquisition, ultimately influencing their overall ecological dynamics (Cartaxana et al., 2016). Like many other organisms, microphytobenthos has developed an internal clock, often referred to as a circadian and tide rhythm (Serôdio et al., 1997; Coelho et al., 2011; Haro et al., 2019), which allows them to synchronize their biological activities with daily environmental changes. This internal timing mechanism allows them to anticipate and respond to environmental cues, such as changes in light availability (Serôdio et al., 2023) and nutrient availability (Serôdio, 2021), which are critical for their growth and survival. It ensures that these processes occur at the optimal time of day, maximizing their efficiency

and resource utilization (Serôdio, 2021). Like for numerous plant species (Yakir *et al.*, 2006), even if no studies have (We have deleted 'already') described this for microphytobenthos, the internal clock of microphytobenthos is thought to be governed by a molecular mechanism involving clock genes and proteins (Millar,2003, Foster and Kreitzman, 2014; Ronald, and Davis, 2017). These clock genes produce proteins that interact in a feedback loop, creating oscillations in their expression levels over a 24-hour period (Foster and Kreitzman, 2014). This molecular feedback loop could allow microphytobenthos to maintain their internal timing and adjust their biological activities accordingly.

Beyond the variable photosynthetic activity between the different P-I curves, the variable intensity in the migratory activities of microphytobenthos, governed by the nychthemeral rhythm, can also be observed when considering the study of the DOCM. The trend observed in the depth of the migratory rhythm, as indicated by the DOCM, demonstrates variations corresponding to the nychthemeral rhythm. As already demonstrated thanks to F_t monitoring by Serôdio *et al.* (Serôdio *et al.*, 2023), this study underscores the potential of utilizing the DOCM to demonstrate that, particularly during nighttime intervals, the migratory rhythm tends to occur at a mean depth of 413 ± 87 µm, while during the daytime, it shifts to a deeper average depth of around 581 ± 113 µm which means that, depending on the time of day, the depth at which photosynthetic activity is highest can vary, due to the intensity of migratory activity.

ii. A life of ups and downs

By examining the patterns, it becomes apparent that there are distinct peaks that occur at different times of the day and tide. These peaks can be observed with varying degrees of intensity, indicating the presence of specific events or phenomena that contribute to the overall dynamics of the microphytobenthic communities.

In the 11:00 and 16:00 emersion scenario, a decrease in fluorescence values is observed. Since Ft measurements can serve as an indicator of microphytobenthic biomass, this decrease in surface signal suggests that the microphytobenthos is migrating into deeper layers of sediment. The mechanism behind this vertical migration towards deeper sediment layers can be attributed to the internal clock of the microphytobenthos. Despite being exposed to low light intensities, which would typically trigger vertical migration towards the surface (Barnett et al., 2020; Laviale et al., 2016), the cells bury themselves within the sediment in anticipation of the upcoming immersion period in the natural environment (Consalvey et al., 2004; Coelho et al., 2011). This behavior enables to avoid the potential impact of the incoming tide and the resuspension caused by waves (Hopkins, 1963; Consalvey et al., 2004). By burrowing into the sediment, the microphytobenthos seeks to protect itself from these disturbances and ensure its survival and persistence within the intertidal zone. This mechanism has already been described in previous studies (Paterson et al., 1998; de Brouwer and Stak, 2001) which have reported that the migratory movements of microphytobenthos typically occur within a time window of approximately 30 minutes before the transition between emersion and immersion and 30 minutes before flooding.

Following this downward migration, an increase and subsequent decrease in surface fluorescence were observed for the scenario of 11:00; 01:00 and 16:00 during the anticipated immersion phase. The increase in surface fluorescence could be attributed to the reemergence of the microphytobenthos from the deeper sediment layers as the theorical immersion period began. In many cases, when the study environment is turbid, the fluorescence signal does not increase on the surface during immersion phases (Daggers et al., 2018, Frankenbach et al., 2020). However, in this particular case, due to the experimental protocol that involved an increase in light intensity in the absence of tidal stimulus, positive phototaxis could trigger the migration of microphytobenthos towards the surface (Longphuirt et al., 2006; Laviale et al., 2016; Serôdio et al., 2023). After a certain duration, these cells could experience excessive light intensity, which could lead to negative phototaxis and subsequent migration of the microphytobenthos back downwards (Longphuirt et al., 2006; Serôdio et al., 2023). This migration behavior could be a response to optimize light exposure and avoid potential photodamage (Serôdio et al., 2023), highlighting the adaptive nature of microphytobenthic communities in responding to changes in light conditions. Furthermore, a second peak can be observed during the theoretical emersion period. This peak can be explained by an upward migration of microphytobenthic cells at the beginning of emersion because in turbid environments, during the time of theoretical emersion, microphytobenthos migrate towards the surface in order to capture light after a period of darkening induced by the tides (Laviale et al., 2016; Serôdio et al., 2023). A second hypothesis may also explain this, since this peak is independent of tidal timing. It is possible that the microphytobenthic biofilm assemblage consists of species with different light preferences (Mouget et al., 2008; Laviale et al., 2016). Hence, the second peak could correspond to a second group of microphytobenthic cells emerging to the surface while the first group migrates downwards to reduce their exposure to light.

Lastly, in the 08:00 emersion scenario, a distinctive characteristic is observed where the theoretical immersion occurs at the end rather than the beginning. In this scenario, the fluorescence signal exhibits a single peak that occurs approximately 45 minutes prior to the theoretical immersion time. While previous studies have demonstrated the gradual loss of the endogenous rhythm in microphytobenthos (Serôdio *et al.*, 1997; Barnett *et al.*, 2020), the maintenance of the sediment core under artificial immersion and emersion conditions appears to preserve a certain degree of rhythmicity. This is evident from the observation of a noticeable break in slope in the fluorescence signal upon reaching the time of theoretical immersion. The presence of this break in slope suggests a shift in the dynamics of the microphytobenthic communities associated with the immersion phase. Despite the potential challenges posed by laboratory conditions, the experimental setup employed in this study has allowed for the preservation of rhythmic patterns in microphytobenthic behavior, providing valuable insights into the resilience and adaptability of these communities in response to artificially simulated immersion and emersion conditions.

iii. A primary production controlled by the internal clock

The significance of this experiment lies in investigating the influence of the internal clock on the estimation of microphytobenthic primary productivity in laboratory settings. It is common to come across studies in the literature where the sampling protocol primarily involves collecting samples during low tide and subsequently transporting them to the laboratory for analysis (Brotas and Catarino, 1995; Blanchard *et al.*, 2008; Cartaxana *et al.*, 2016). However, this method presents certain challenges in terms of timing the experiments. Specifically, when conducting experiments under emersion conditions, there are several considerations to address. Should the experiment begin immediately upon

returning to the laboratory, without considering the ongoing processes in the natural environment? Should it be finished prior to the theoretical immersion at the collection site? Alternatively, should the experiment begin during the subsequent theoretical emersion phase? Furthermore, does the time of day pose any constraints on the experimental design? These questions highlight the complexities associated with studying microphytobenthos in laboratory settings and this can be seen in the P-I curves obtained from GOP measurements.

Through the acquisition of four GOP P-I curves in different scenarios, it becomes evident that the time of day exerts an influence on the estimation of primary production. When conducting P-I curves during nighttime, despite standard experimental conditions across all scenarios, the maximum production is lower compared to other scenarios. As the P-I curve measurements are conducted later in the day, there is an increase in P_{max}, with the 16:00 scenario demonstrating approximately twice the maximum production compared to the 01:00 scenario. These findings indicate that the time of day plays a role in shaping the primary production estimates. This phenomenon can be attributed to the ability of microphytobenthos to modulate its photosynthetic activity through its internal clock. Like for GOP, when examining the P-I curves obtained through rETR measurements, a discernible increasing gradient of photosynthetic activity throughout the day is observed, with the 16:00 scenario exhibiting a maximum rETR approximately twice as high as the 01:00 scenario. This highlights the dynamic nature of microphytobenthic photosynthetic activity and its responsiveness to diurnal variations, underscoring the importance of considering time of day as a contributing factor when assessing primary production in laboratory experiments.

In addition to the day/night effect on the intensity of photosynthetic activity in microphytobenthos, the increasing trend in P_{max} as the P-I curve is completed later in the day can be attributed to the microphytobenthic light history. Indeed, the physiological state of microphytobenthic communities is a key factor in its photosynthetic capacity (Chevalier *et al.*, 2010; Cartaxana *et al.*, 2016; Salleh and McMinn, 2022). According to the hour of the day, it is possible that their metabolic activity and readiness for photosynthesis increase over the course of the day, leading to higher P_{max} values. By conducting the scenario at 16:00, the microphytobenthos experiences optimal conditions for photosynthesis. During an emersion in the mid-afternoon, the microphytobenthos has already passed through the most challenging period in terms of light intensity, as it was in darkness. Being immersed at the time of the sun's zenith, it is less prone to photoinhibition. Moreover, prior to the zenith immersion, the microphytobenthos has been exposed to low light levels, which are considered optimal for growth (Montani *et al.*, 2003; McMinn and Lee, 2018). Therefore, from a productivity standpoint, it appears that an afternoon emersion is the most effective.

Similarly, conducting an emersion at 11:00 will also have an impact on the photosynthetic response of the microphytobenthos due to its light history. Before this emersion, the microphytobenthos will have experienced darkness during the previous night and low light intensities during early morning. This resting period allows the light-harvesting antennae to adapt to low light levels, optimizing their ability to capture light (Guenther *et al.*, 1988). As a result, the microphytobenthos will exhibit a higher α value compared to the other daytime experiments resulting in a more efficient photosynthetic capacity under low light levels (Greene *et al.*, 1991; Geider *et al.*, 1993; Falkowski and Kolber, 1995). By analyzing alpha values on the P-I curves derived from rETR and GOP data, we observe no

substantial difference between α values obtained from the 11:00 and 16:00 curves in the fluorescence data. This lack of significant difference could be attributed to the fact that rETR is calculated based on surface measurements. Consequently, it is plausible that biofilm cells with reduced migratory abilities might not be detected at lower light levels, leading to distinguishable slopes when comparing surface and depth-integrated measurements.

Finally, when studies begin at 08:00, microphytobenthos communities have remained unexposed to light from the sunset time until measurement time. Moreover, the microphytobenthos benefited from the previous afternoon's emersion, during which it experienced high photosynthetic activity. It is plausible to suggest that during this period, metabolic reserves were replenished, reducing the immediate need for intense photosynthetic activity and migratory behavior because microphytobenthos can rely on the stored metabolic reserves during this time, optimizing resource allocation and energy utilization for its physiological processes. To our knowledge, no study has been carried out on microphytobenthic capacity to stock metabolites, but some studies have already been done on other pelagic species of diatoms (Lancelot and Mathot, 1985). This may explain why the P_{max} value at 08:00 is lower compared to scenarios where the microphytobenthos experienced different light histories. Furthermore, the P-I curve obtained in this scenario is the only one where photoinhibition can be observed. There are two possible explanations for this: (i) as the experiment approaches three consecutive days, as Serôdio (Serôdio et al., 1997) has shown, the endogenous rhythm is lost, or (ii) given the experimental design, it is possible that performing GOP measurements at high light intensities during a theoretical immersion phase could disturb the microphytobenthos. From the DOCM, it can be observed that the maximum production depth appears to rise towards the surface during the theoretical immersion period. This could indicate that the microphytobenthos undergoes a subsurface migration towards the surface in response to the internal clock, but without actually reaching the surface, resulting in photoinhibition due to excessively high light levels.

6. CONCLUSIONS

This study confirms that microphytobenthos in intertidal zones maintains an endogenous rhythm through an internal clock that remains functional even under laboratory conditions. Additionally, it highlights the importance of considering the time of day during laboratory measurements. Results demonstrate that, even under controlled and standardized conditions, microphytobenthic photosynthetic response can vary significantly depending on both the time of day and the theoretical tidal phase, highlighting the importance of considering time of day and tide when performing P-I curve experiments in laboratory. For future experiments, it would be valuable to investigate the underlying mechanisms and determine the duration required for the complete loss of this internal clock without impacting the physiological capacities of microphytobenthos. Understanding these aspects would provide further insights into the temporal dynamics and adaptive capabilities of microphytobenthos in intertidal ecosystems.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Marine Doublet for her participation in the laboratory experiments during her Master's internship.

Chapitre 3 – Effet de l'heure d'émersion sur la photobiologie et le comportement du microphytobenthos

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or

financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

AUTHOR'S CONTRIBUTIONS

Conceptualization, MM; Data curation, MM, FG, GD and LD; Formal analysis, MM, FG and

LD; Methodology, MM, FG and LD; Supervision, FG and LD; Writing-review and editing,

MM, FG and LD. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

Chapitre 3 – Effet de l'heure d'émersion sur la photobiologie et le comportement du microphytobenthos **Chapitre 4**

Variation spatiotemporelle de l'activité photosynthétique et comportementale du microphytobenthos dans l'estuaire de la Canche

Chapitre 4 – Effet du gradient d'eau marine sur la répartition spatio-temporelle de l'activité photosynthétique et comportementale du microphytobenthos

L'article qui compose ce chapitre vise à explorer expérimentalement les caractéristiques photophysiologiques du microphytobenthos d'un point de vue spatiotemporel dans l'estuaire de la Canche.

La littérature scientifique abonde d'études qui ont quantifié la production primaire microphytobenthique à l'échelle d'estuaires (Colijn *et al.,* 1984 ; Barranguet *et al.,* 2000 ; Montani *et al.,* 2003 ; Longphuirt *et al.,* 2007 ; Frankenbach *et al.,* 2020 ; Méléder *et al. ;* 2020). Ces approches permettent d'appréhender la répartition de la production primaire dans l'espace et/ou dans le temps, mais celles-ci ne permettent pas toujours de comprendre les facteurs qui contrôlent la photophysiologie et la production primaire du microphytobenthos.

Pour cela, en tenant compte des conclusions tirées dans le chapitre 3 concernant l'heure de la journée et à l'aide de l'outil de mesure autonome présenté dans le chapitre 2, nous avons réalisé une étude spatiale de la photobiologie et des capacités migratoires microphytobenthique suivant deux hauteurs bathymétriques aux propriétés écologiques différentes le long d'un transect aval-amont durant deux périodes contrastées de l'année.

Cet article est en préparation pour publication dans European Journal of Phycology.

Chapitre 4 – Effet du gradient d'eau marine sur la répartition spatio-temporelle de l'activité photosynthétique et comportementale du microphytobenthos

Spatial and temporal variability of the microphytobenthic photophysiology and primary production in a macrotidal estuary: case of the Canche estuary

Marvin Meresse^{1*}, François Gevaert¹, Gwendoline Duong¹ and Lionel Denis¹

¹Univ. Lille, CNRS, Univ. Littoral Côte d'Opale, UMR 8187 - LOG – Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences, Station Marine de Wimereux, F-59000 Lille, France

1. Abstract

Estuaries are dynamic and ecologically ecosystems where freshwater and marine environments converge. In this study, we conducted a comprehensive investigation into the interplay between sediment characteristics, microphytobenthic biomass, primary production, and vertical migration of microphytobenthos within a macrotidal estuary across the spring bloom. Microphytobenthic biomass was found to be a variable parameter with significant marine water gradient-related variations. Lower salinity mudflat consistently exhibited lower biomass, a trend in line with previous research demonstrating positive correlations between salinity and chlorophyll *a*. Spatial variations were also displayed with differences in microphytobenthic primary production and vertical migration observed among studied stations along an upstream-downstream gradient and over two topographic heights. Mudflats stations showed a primary production pattern positively correlated with the gradient of marine water intrusion whereas salt-marshes displayed a reversed pattern where station influenced by seawater and brackish water showed significantly higher primary production than salt-marsh under freshwater influence. In addition, different vertical migration dynamics were revealed, with the marine mudflat station showing a higher primary production under low light levels than the freshwater influenced station, a phenomenon that can be explained by the microphytobenthic biomass. On the other hand, this observation was not the same for the salt marshes, since the physico-chemical conditions available to the microphytobenthos were not identical due to the hydric, thermic and light buffering effects of a *Halimione portulacoides* canopy. Temporal changes played a pivotal role in microphytobenthos dynamics. Primary production consistently increased after the spring bloom, driven by favorable temperature and sunlight conditions. Photoprotection mechanisms, activated in response to heightened light and temperature levels, enhanced microphytobenthic activity after the spring bloom. In conclusion, sediment characteristics, canopy buffering effects, salinity and meteorological changes all contributed significantly to the spatio-temporal dynamic in microphytobenthic behavioral activity and primary production observed in the Canche estuary.

2. Introduction

Estuaries, as a major hydrographic transition zone where freshwater meets marine waters, exhibits inherent complexity arising from the interplay of physical, chemical and biological factors (McClain *et al.*, 2003; Griffiths *et al.*, 2017). This is reflected in intricate interactions that evolve over space and time along upstream-downstream variability but also accounting for variations according to perpendicular topographic gradient (McClain *et al.*, 2003), imbuing the estuarine system with an adaptive and perpetually evolving character. Within these estuaries, the macrotidal environments hold particular significance

due to their pronounced variations in water levels driven by tides and it hydrodynamic (Pritchard, 1955). This particular hydrodynamism frequently leeds to witnesses alterations in its landscape (Voltz *et al.*, 2021) resulting in unique hydrodynamic and environmental conditions that shape specific habitats (Vertessy, 1990), housing distinctive ecological processes.

These macrotidal environment, positioned at the interface of terrestrial and marine realms, harbor specific biodiversity that has adapted to fluctuations in salinity (Nielsen *et al.*, 2016; Cavalcanti *et al.*, 2020), water level variations (Aldridge *et al.*, 2009; Benyoucef *et al.*, 2014) and the alternation between immersion and emersion (Leeuwis & Gamperl, 2022; Sánchez de Pedro *et al.*, 2022). Within these intricate environments, the microphytobenthos, a consortium of benthic microalgae (Middelburg *et al.*, 2000), emerges as a pivotal entity. Despite often being overshadowed by their microscopic scale (Hope *et al.*, 2019), these microorganisms play a highly consequential role as primary producers within these ecosystems (McIntyre *et al.*, 1996; Underwood & Kromkamp, 1999; Hope *et al.*, 2019). Harnessing solar radiation through photosynthesis, the microphytobenthos generates organic compounds that, upon release into the environment, substantially contribute to local biogeochemical fluxes (Hochard *et al.*, 2010; Hope *et al.*, 2019).

The pivotal role of microphytobenthos in biogeochemical cycles is thus paramount. Serving as primary producers, they constitute a major component of the food chain in these environments (Leguerrier *et al.*, 2003; Degré *et al.*, 2006; Orvain *et al.*, 2007), providing organic matter to higher organisms and thus contributing to the overall trophic structure. Furthermore, their photosynthetic activities directly impact water quality and organic matter production rates within the estuary (Sundbäck & Granéli, 1988; Sundbäck *et al.*, 2000; Nie *et al.*, 2018). Consequently, comprehending the mechanisms governing the distribution, diversity, and functions of microphytobenthos in macrotidal environments holds paramount importance for a comprehensive understanding of estuarine ecosystems and their role in the biosphere.

The distribution of microphytobenthos exhibits significant heterogeneity across micro and macro scales (McIntyre et al. 1996; Spilmont et al. 2011; Redzuan & Underwood 2020; Jacobs et al., 2021). This distribution results from an interplay of numerous biotic and abiotic factors at different spatial scales (Guarini et al., 1998; Van der Wal et al., 2010; Orvain et al., 2012; Brito et al., 2013; Benyoucef et al., 2014). During ebb tide, the sea level recedes until the estuary is entirely emerged. Consequently, only freshwater is released into the sea at the estuary's mouth, courtesy of a river flowing from upstream to downstream. Conversely, when the tide is rising, seawater surges into the estuary, initiating a gradual mixing of this seawater along a gradient from downstream to upstream, creating a gradient within which physico-chemical conditions vary. Thus, complex interactions among environmental parameters such as currents, salinity, light availability, nutrient concentrations and interspecific relationships shape the microphytobenthic abundance (Daggers *et al.*, 2020). Notably, the intrusion gradient of seawater, a prominent feature of macrotidal estuaries, engenders a broad range of physicochemical conditions (McLusky 1993; Telesh & Khlebovich, 2010). This phenomenon creates diverse micro-environments at different topographic height and locations (Hossain et al., 2014), thereby determining the specific conditions under which microphytobenthos carries out its functions, including the fundamental process of photosynthesis.

Beyond spatial factors, seasonality is also a critical factor influencing the photosynthetic activity of microphytobenthos (Savelli *et al.*, 2018). The spring bloom period is a pivotal moment during which the microphytobenthos transitions from a period unfavorable to primary production to a state where all physico-chemical conditions (*i.e.* temperature, nutrient levels, light) converge to maximize photosynthetic activity (Savelli *et al.*, 2018). Thus, the objective of this article is to investigate the potential impact of the seawater intrusion gradient on the photosynthetic activity of microphytobenthos in macrotidal estuaries at two times of the year: before and after the spring bloom. By analyzing the physiological responses of these microorganisms to the gradient of the salt water intrusion into the Canche estuary, we aim to gain deeper insights into the interactions between gradient of physico-chemical factors and biological processes within these unique ecosystems. This study aims to enhance our understanding of the mechanisms governing the microphytobenthic primary production of macrotidal estuaries.

3. Materials and Methods

3.1. Study site and sampling dates

The study was conducted in the Canche estuary, located on the Northern Coast of France in the English Channel. This estuary follows a semi-diurnal tidal pattern, experiencing two high tides and two low tides each day. It has a pronounced macrotidal regime, with tidal amplitudes ranging from 8 meters during spring tides to 3 meters during neap tides.

To carry out this study, sediment core samples were collected before the spring bloom from February 28th to March 4th, 2021 and after the spring bloom from May 2nd to 8th, 2021. These two characteristic periods of favorable and unfavorable period for primary production were identified by observing a Chlorophyll *a* peak in the column (SOMLIT data).

3.2. Sampling strategy

To better understand how the gradient of seawater intrusion into the Canche estuary was distributed, an upstream-to-downstream transect was run during high tide (±1 hour). This approach aimed to characterize the physicochemical properties of the bottom water layer (< 1m), encompassing the uppermost meter above the sediment. Bottom water was sampled with a Niskin bottle, spanning before and after the spring bloom. From each Niskin sample, 3 sub-samples have been used to calculate a mean salinity value thanks to a multi-parameter probe (Hanna Instruments, France). By using this approach, a detailed map depicting the extent of marine intrusion across the estuarine system was constructed (Figure 1). Based on this mapping, three locations of the stations were chosen: one influenced by sea waters with a measured salinity of 32.5 ± 0.1 (S), another by brackish waters with a measured salinity of 16 ± 0.2 (B), and a third by freshwater with a measured salinity of 0.7 ± 0.1 (F). The site is under the influence of brackish water, is also characterized by the presence of a harbor (Etaples, France).

At each of these study sites, two separate stations were designated for the study. The first one, in the intertidal mudflats, is characterized by a low topographic level (LL) with a mean topographic height of 7m \pm 0.3m, while the second, in the intertidal salt marsh, is characterized by high topographic level (HL) with a mean topographic height of 8.5m \pm 0.4m. To clarify the message, the studied station will be systematically presented as follows: Site HL-X or Site LL-X with X corresponding to the water origin of the studied site ("F" for the site under fresh water influence with a salinity value of 0.7 \pm 0.1, "B" for the site under the influence of brackish water with a salinity value of 16 \pm 0.2 and "S" for the site under seawater influence with a salinity value of 32.5 \pm 0.1).



Figure 1: Mapping of the Canche estuary and salinity gradient during high tide (±1 hour around high tide). Each point corresponds to the bottom water (< 1m above the sediment surface) sampling site. HL-S/B/F and LL-S/B/F are the study stations selected for primary production measurements and their associated salinity.

Systematically for each station before and after the spring bloom, for photosynthesis measurements, sediment cores sampling was conducted prior to sunrise to minimize potential diurnal variations and ensure that the light history of microphytobenthos was similar before the experiments began (Meresse *et al.*, 2023b).

Sediment cores with a diameter of 15 cm were sampled from each station and were used for oxygen profiles acquisition and fluorescence data in laboratory under controlled conditions. In parallel, in the immediate proximity of the 15cm cores sampling location, the physico-chemical properties of the sediment at each studied station, in addition to salinity and temperature measurements, 8 cores with an inner diameter of 2.6cm and a depth of 0.5cm were taken were sampled, including 4 for porosity measurements (Danovaro *et al.* 1999; Flemming and Delafontaine 2000) and 4 for chlorophyll *a* (Chl *a*) concentrations measurements in the topmost 0.5 centimeter (Lorenzen, 1967).

Furthermore, to characterize the salt marsh sites, measurements (n=10) of the *Halimione portulacoides* canopy thickness were conducted.

3.3. Laboratory autonomous acquisition system of photophysiology and primary production data

The study employed an autonomous Photosynthetic-Irradiance (P-I) curve acquisition system as experimental tool in order to study the microphytobenthic photophysiology and primary production. The original system, presented and described by Meresse *et al.* (2023a), comprised two main components: a microprofiling system outfitted with two oxygen microsensors (Ox-25, Unisense, Denmark) enabling oxygen concentration measurements and a diving-PAM apparatus (Walz, Germany) enabling microphytobenthic instantaneous fluorescence (Ft) measurements under ambient light at the surface of the sediment. These components were positioned within a climatic chamber (Fitoclima 600, Aralab, Portugal), affording control over experimental variables such as light intensity, temperature, and hygrometry.

The protocol for vertical oxygen profiles acquisition for the construction of P-I curves and fluorescence monitoring was applied according to the protocol described in Meresse *et al.* (2023a; 2023b). Using this protocol enabled laboratory work while conforming to the immersion period of the studied station. Consequently, a total of 112 profiles at a depth of 4.5mm were measured across a range of 14 light intensities, ranging from 0 to 1650 µmol.m⁻ ².s⁻¹, for each of the stations.

Taking into account the salinity, sediment temperature and porosity defined in the first 5 millimeters of sediment, the Berg's model (Berg *et al.*, 1998) was used to analyze vertical oxygen microprofiles and calculate net oxygen production (NOP) over the entire depth. This model, integrating parameters such as the average porosity within the uppermost 5 millimeters, sediment temperature, and salinity, was employed to estimate net oxygen production per unit area. In elucidating fluxes attributed to microphytobenthos photosynthetic activity within the sediment, gross oxygen production (GOP) was ascertained by deducting average dark-calculated oxygen flux values from NOP values extrapolated from each individual profile.

3.4. Proxies of microphytobenthic behavior

In this study, we employed two complementary tools to investigate the microphytobenthic activity: a PAM fluorometer for surface fluorescence measurements and microsensors for vertically integrating information about the photosynthetic activity of microphytobenthos.

These two instruments together provide a three-dimensional perspective. However, it's important to note that they do not measure the same variable. Consequently, to establish correlations between the two datasets, light intensity was used since it serves as a common parameter. This light intensity was instrumental in identifying the point where a break in slope occurred in instantaneous fluorescence (Ft) monitoring and where the depth of oxygen concentration maximum (DOCM) was observed.

3.5. P-I curve fitting and statistical analysis

The characteristic photosynthetic parameters of the microphytobenthic communities, *i.e.* the initial slope of the non-saturated photosynthetic rate (α), the saturation onset parameter (I_k) and the maximum production (P_{max}) (Coutinho & Zingmark 1987; Henley 1993) were assessed thanks to the statistical software R (The R Core Team 2017) and statistical package Phytotools (V1.0) by using the model of Eilers & Peeters (1988):

$$y = \frac{I}{\frac{I^2}{\alpha \times I_k^2} + \frac{I}{P_{max}} - \frac{2I}{\alpha \times I_K} + \frac{1}{\alpha}}$$
(3)

where y is the GOP photosynthetic rate and I the photosynthetic photon flux density (PPFD).

Normality and homogeneity of variance were tested using the Shapiro-Wilk W-test, and results indicated non-normal distribution of the GOP data. Hence, non-parametric Wilcoxon tests were applied to compare the photosynthetic parameters obtained from the different P-I curves. The R statistical software was used to perform this statistical analysis.

To compare the effect of high light intensities on microphytobenthic primary production, an analysis of variance comparing linear regression models using Fisher's test

was performed on GOP data before and after the spring bloom to determine whether the effect of high light levels was significantly different between these two periods.

Data for sediment characterization, *i.e.* porosity (n=4) and Chl *a* concentration (n=4) were not normally distributed. Thus, data were analyzed using the non-parametric Kruskal–Wallis (K-W) H test.

4. Results

4.1. Sedimentary and biomass measurements

The mean porosity values are depicted in Figure 2. Among the three LL stations, LL-S exhibits the highest porosity value, while station LL-B registers the lowest porosity. In the case of the HL stations, there are no significant differences in porosity between HL-B and HL-S (P_{value} >0.05, n=8, K-W). However, HL-F stands out with significantly lower porosity. It is worth noting that these observations are consistent in time, as porosity levels remain non significantly different between before and after the spring bloom for the same station (P_{value} >0.05, n=8, K-W). The only exception to this pattern is observed at LL-S. Chapitre 4 – Effet du gradient d'eau marine sur la répartition spatio-temporelle de l'activité photosynthétique et comportementale du microphytobenthos



Figure 2: Average porosity (n=4) measured in the first 0.5cm at each study station (LL : low topographic stations and HL : high topographic stations) before the spring bloom (Before) and after the spring bloom (After) the spring bloom. Letters represent the result of the Kruskal-Wallis test (two different letters meaning a significant different with an uncertainty of 5%).

Similarly, the Chl *a* biomass values within the uppermost 0.5 cm of sediment are illustrated in Figure 3. All seasons included, whether on mudflats or salt-marsh, stations influenced by seawater and brackish water displayed no significant differences between them (P_{value} >0.05, n=8, K-W). LL-F showed a significantly lower biomass compared to the other two sites with a biomass 7 times lower compared to LL-S (P_{value} <0.05, n=8, K-W). Whereas, this pattern was markedly different in the salt marsh areas, where HL stations demonstrated non-significant differences in Chl *a* biomass (P_{value} <0.05, n=8, K-W) except

after the spring bloom where HL-F shown a significantly higher biomass than the other two



stations (P_{value}<0.05, n=8, K-W).

Figure 3: Average Chlorophyll a biomass (n=4) measured in the first 0.5cm of the sediment at each study station (LL : low topographic stations and HL : high topographic stations) before the spring bloom (Before) and after the spring bloom (After). Letters represent the result of the Kruskal-Wallis test (two different letters meaning a significant different with an uncertainty of 5%).

Between before and after the spring bloom, all LL-S and LL-B showed a significant increase of about 50% in Chl *a* biomass (P_{value} <0.05, n=8, K-W) contrary to LL-F who showed a significant decrease (P_{value} <0.05, n=8, K-W). On the other hand, HL-S ans HL-B have shown no significant differences (P_{value} >0.05, n=8, K-W) contrary to HL-F which exhibited an approximately 20% increase in Chl *a* biomass before and after the spring bloom.

Chapitre 4 – Effet du gradient d'eau marine sur la répartition spatio-temporelle de l'activité photosynthétique et comportementale du microphytobenthos

Furthermore, measurements of the thickness of Halimione portulacoides (Figure 4)

indicate a thicker canopy in HL-F and a thinner canopy in HL-S. No significant difference was observed between before and after spring bloom ($P_{value} > 0.05$, n=10, K-W).





4.2. Primary production and fluorescence analysis

i. P-I curves based on gross oxygen production

In order to compare the primary production of the different stations studied, P-I curves have been represented (Figure 5) as well as their photosynthetic parameters (Figure

6). When looking at the evolution of GOP for the LL and HL stations before and after the

spring bloom, GOP showed an inverse evolution pattern, with a higher GOP on LL-S that decreased as we get closer to LL-F, and a higher GOP on HL-F that decreased as we get closer to HL-S. After the spring bloom period, the LL-S exhibited a production rate twice as high as that of LL-B and approximately eight times greater than LL-F. Conversely, within the HL stations, HL-S displayed the lowest recorded maximum production, registering a value three times lower than HL-F and HL-B. Notably, HL-F and HL-B exhibited statistically non-significant differences in terms of maximum production (P_{value}>0.05, n=6, Wilcoxon test). Before the spring bloom, LL-S exhibited the highest recorded P_{max}. This output was roughly two times greater than LL-B and a striking nine times higher than LL-F. In contrast, within the HL stations, HL-S yielded the lowest maximum production, showcasing a value 1.5 times less important than HL-B and three times less than site HL-F.

Additionally, a general trend emerged when comparing P-I curves between before and after the spring bloom. Before the spring bloom, for both salt marsh and mudflat stations, a significant decrease in primary production was observed under intense illumination (P_{value} <0.05, n=6, F-test).

Furthermore, by comparing the various LL and HL stations before and after the spring bloom, differences between the studied stations appeared. LL-S demonstrated an approximately tenfold maximum production compared to HL-S. LL-B showed a maximum production rate twice that of the adjacent HL-B station. However, HL-F exhibited a maximum production rate twice as high as LL-F.

Chapitre 4 – Effet du gradient d'eau marine sur la répartition spatio-temporelle de l'activité photosynthétique et comportementale du microphytobenthos



150

Figure 5: P-I curves obtained by fitting relative gross oxygen production according to the light intensity (n=6) for each station before and after the spring bloom (Model fitting: Eilers and Peeters (1988)).

During measurements performed before the spring bloom, a significant difference in the initial slope of the non-saturated photosynthetic rate (α) was observed between LL-F and the other two sites (P_{value}<0.05, n=6, Wilcoxon test) (Figure 6A), with no statistically significant difference between the latter two (P_{value}>0.05, n=6, Wilcoxon test). For the HL stations, a distinct trend in α values emerged. From S to F sites, a significant decrease in α values was observed. This spatial trend was consistent between before and after the spring bloom, regardless of the specific site under examination. After the spring bloom in LL stations, the α value exhibited an approximately threefold increase in comparison to the other two sites, which did not show significant differences between them (P_{value}>0.05, n=6, Wilcoxon test) (Figure 6A). Chapitre 4 – Effet du gradient d'eau marine sur la répartition spatio-temporelle de l'activité photosynthétique et comportementale du microphytobenthos



Figure 6: A: Mean value of the initial slope of the non-saturated photosynthetic rate (α) ± s.d. and B: Mean value of Pmax ± s.d. calculated on GOP P-I curves before and after the spring bloom according to the station (n=6). Letters represent the result of the Wilcoxon test (two different letters meaning a significant different with an uncertainty of 5%).

ii. Light intensity of DOCM and Ft slope break observation

t to illustrate an example of the identification of these two proxies, the cas of LL-B has been represented in Figure 7. Using the autonomous acquisition system (Meresse *et al.*, 2023a), the photophysiological and behavioral activity of the microphytobenthos can be observed in three dimensions. At the surface, F_t monitoring shows the evolution of the instantaneous fluorescence level as a function of increasing light intensity. Initially, F_t increases at low light levels, then decreases at around 350 µmol photons .m⁻².s⁻¹, reaching a plateau at around 700 µmol photons .m⁻².s⁻¹. On the vertical axis, oxygen microsensors were used to record the dynamic evolution of oxygen concentration in the sediment. Under this increasing illumination, the oxygen peak progressively sank into the sediment, reaching around
280 μ m. During this descent, the intensity of the oxygen peak increased, reaching a maximum at around 400 μ mol photons .m⁻².s⁻¹.



<u>Figure 7: Example of the evolution of oxygen vertical profiles and instantaneous</u> <u>fluorescence (F_t) under an increasing light intensity (Case of LL-B before the spring bloom).</u> <u>A : Light intensity for which Ft break in slope is observed. B: Depth of the Oxygen</u> <u>Concentration Maximum (DOCM). C: Light intensity for which DOCM is observed.</u>

The result of the extraction of these parameters is represented in Figure 8. Before the spring bloom, regarding the light intensity for the DOCM observation, no significant differences have been observed between the different LL stations ($P_{value} > 0.05$, n=6, Wilcoxon test). While on HL stations no significant differences were observed only between HL-F and HL-B ($P_{value} > 0.05$, n=6, Wilcoxon test). On the other hand, the differences between stations are much more pronounced when we study light intensity, for which we observe a break in the slope of Ft. After the spring bloom, no significant differences were observed for DOCM between the mudflats and salt marshes of sites B and S ($P_{value} > 0.05$, n=6, Wilcoxon test). However, DOCM for LL-S was significantly lower than that of the other mudflats ($P_{value} < 0.05$, n=6, Wilcoxon test), and DOCM for HL-S was significantly higher than that of the other salt marshes ($P_{value} < 0.05$, n=6, Wilcoxon test).



Figure 8: A: Mean value \pm s.d. of the light intensity for which the maximum oxygen concentration depth has been observed before and after the spring bloom (n=6). B: Mean value \pm s.d. of the light intensity for which the F_t slope break has been observed before and after the spring bloom. (n=6). Letters represent the result of the Wilcoxon test (two different letters meaning a significant different with an uncertainty of 5%).

Prior to spring bloom, no significant differences were observed for the light intensity at which the break in slope occurred in Ft monitoring between the LL-F and LL-B (P_{value} >0.05, n=6, Wilcoxon test). On the other hand, lower light intensities were observed for the LL-S sites and the three HL stations, with no significant differences between them (P_{value} >0.05, n=6, Wilcoxon test). After spring bloom, the light intensity at which the break in slope in Ft kinetics occurred increased significantly at all LL stations and at HL-S ($P_{value} < 0.05$, n=6, Wilcoxon test). Only the HL-B and HL-F sites showed no significant differences from prespring bloom.

Comparing the light intensities for which both parameters were observed, except for LL-B, the light intensity for the break in Ft dynamics is always significantly greater than or equal to ($P_{value} > 0.05$, n=6, Wilcoxon test) the light intensity associated with DOCM.

5. Discussion

5.1. Sediment characteristics

i. Porosity measurements

According to our measurements, LL stations typically exhibit an average porosity ranging from 0.72 ± 0.04 to 0.94 ± 0.02 . Recent studies conducted on LL-S station have reported similar values ranging from 0.80 ± 0.02 to 0.92 ± 0.02 (Denis *et al.*, 2009; Denis *et al.*, 2012; Meresse *et al.*, 2023a; 2023b). For LL-B, a previous study near of our station has also shown during the spring season a similar porosity value of 0.71 ± 0.02 (Voltz *et al.*, 2021). For the LL-F, no specific values are documented in the existing literature. Even if the porosity value is of the same order of magnitude, it appears that the brackish water area has a lower porosity compared to the other two sites. One distinctive feature of this estuary is its narrowness and the presence of a harbor in the brackish water zone. As a result, human activities, such as dredging and boat traffic, are more prominent, potentially causing sediment particles to be resuspended and affecting the porosity of the study site. Beyond the physical aspect of the anthropization of this estuary area, it is highly possible that human activity is responsible for the release of pollutants (Birch, 2017; Izegaegbe *et al.*, 2023). Compared to LL stations, HL stations exhibit an average porosity ranging from 0.68 \pm 0.02 to 0.84 \pm 0.04. As demonstrated in a previous study carried out in the Canche estuary (Voltz *et al.*, 2021), the porosity measured in our study seems to be of the same order of magnitude. This difference in porosity between LL and HL can be attributed to the fact that HL stations are topographically higher than the mudflats. Consequently, these sites are only flooded during higher tidal coefficients. On LL, with a low hydrodynamic which characterize mudflats, LL stations, with low water velocities presents fine sediments which are not resuspended.

Lastly, it is noticeable that porosity remains relatively stable between before and after the spring bloom, except for the LL-S, where porosity was lower before the spring bloom. This can be explained by the observation made during our field campaigns of a shift in the main channel's course. Initially, the channel was approximately 15 meters away from the mudflat after the spring bloom but deviated from its original course to become directly adjacent to the mudflat. Therefore, with a change in the sandy channel's course, sediment transport may have been altered, impacting the porosity of the studied station. A study conducted in the Authie estuary located 18 km away, with hydrodynamic properties similar to those of the Canche estuary, has shown by remote sensing that the morphology of the estuary is bound to change rapidly, with erosion and accretion phenomena between different seasons (Menuge *et al.*, 2020). Similarly, Voltz *et al.* (2021) have shown that the Canche estuary is exposed to rapid modification of estuary morphology due to wave and tidal forcings, leading to rapid infill by sands mainly originating from offshore and alongshore as well as from the erosion of foredunes located at the mouth.

ii. Microphytobenthic biomass

Similar to the study of Santos *et al.* (1996), LL-F before and after the spring bloom exhibits significantly lower microphytobenthic biomass compared to LL-B and -LL-S which are not significantly different. As demonstrated by numerous studies, positive correlations between salinity and Chl *a* have been found for microphytobenthos (Adams & Bate, 1999; Perissinotto *et al.* 2006, Pillay & Perissinotto 2009); phenomenon explained by Richard *et al.* (1964) who shown that there is a positive relationship between microphytobenthic salinity and division rate.

In addition to this observation, according to numerous studies, depending on the position in the estuary, there could be different microphytobenthos communities driven by the influence of the seawater gradient (Underwoord *et al.*, 1998; Thorton *et al.*, 2002).

Furthermore, it is noteworthy that during the spring bloom, the LL-F station have shown a slight increase in microphytobenthic biomass, whereas a decrease in biomass is observed on the other two mudflats. This biomass increase may be explained by the fact that temperate regions are characterized by more significant river discharge after the spring bloom (Roy *et al.*, 1999; Sauquet, 2006; Caballero *et al.*, 2007), increasing nutrients concentration in the water column (Roy *et al.*, 1999; Garnier *et al.*, 2018) available for microphytobenthos, thanks to bentho-pelagic coupling at the sediment surface (Griffiths *et al.*, 2017). It is widely recognized that nutrient availability is one of the major factors controlling estuarine microphytobenthic biomass (Xie *et al.*, 2019; Human *et al.*, 2018). Despite the two other sites being located within the estuary, it is possible that the dilution of nutrients from freshwater along the upstream-downstream gradient may not arrive in sufficient concentration to allow an increase in biomass.

For the HL stations, HL-F exhibited the highest microphytobenthic biomass after spring bloom, while the other two stations have the lowest measured biomass. Since the biomass pattern follows an inverse trend to that of the LL stations, the presence of Halimione portulacoides on the HL stations may be the cause of this difference, since this vegetation is not present on the LL stations. The hypothesis is that the primary vegetation of Halimione portulacoides modify the physico-chemical conditions (Beeftink, 1985) which could impact the microphytobenthic biomass. By measuring the canopy thickness, we noticed that it varied among the different stations and decreased as the station approached the estuary mouth (Sigleo & Frick, 2007). This could also be linked to more optimal conditions for their growth at station HL-F, with higher azonte levels in the sediment under the influence of fresh water. Therefore, the thickness of the Halimione portulacoides canopy may positively influence microphytobenthic biomass, as demonstrated in other studies regarding the impact of vegetation canopies on underlying physico-chemical parameters as temperature or hygrometry (Beeftink, 1985; Buth & Voesenek, 1987). This buffering role in physico-chemical parameters may be highlighted before the spring bloom conditions since, on the HL stations subjected to freshwater and brackish water, where the canopy is most extensive, there are no significant differences in microphytobenthic biomass between before and after the spring bloom.

5.2. Temporal and Spatial Variations in Primary Production

i. Spatially Heterogeneous microphytobenthic activity

Both moment of study taken into consideration, the site LL-S influenced by seawater displayed primary production levels approximately twice as high as the LL-B site, despite exhibiting statistically non-significant differences in biomass which suggests significant differences in terms of productivity. As already shown for phytoplankton (Edwards *et al., 2016*), there is a correlation between species composition and primary production level of the planktonic community. To our knowledge, no data exists concerning the specific primary production of microphytobenthos. However, assuming that this rule applies to microphytobenthos, the specific composition of the biofilm at stations LL-S and LL-B may explain this difference in productivity.

When it comes to low light responses, some disparities become evident between the different LL stations. For LL-F, it is noteworthy that the initial slope is lower than the other two. Some authors have demonstrated that on low salinity areas, exopolysaccharides can be found in lower concentration compared to high salinity areas (Bellinger *et al.*, 2005) resulting in a relationship between the quantity of EPS produced and biomass (Spears *et al.*, 2008). According to Spears *et al.* (2008) who have shown a positive correlation between biomass and EPS, LL-F is the station with the lowest biomass and thus, lowest EPS concentration. However, EPS are the locomotive force being generated by the microphytobenthic extrusion (Smith *et al.*, 1998). So, with less EPS available, migration must be less efficient, making migration to the deepest layers of sediment to escape high light intensities more complicated andsite LL-F cells more adapted to high light intensities.

Conversely, LL-S, characterized by fine sediment, is likely dominated by epipelic organisms adapted to low-light conditions (Admiraal, 1984, Serôdio *et al.*, 2006, Serôdio *et al.*, 2012). Previous researches have elucidated that overlapping organisms within microphytobenthic biofilms engender self-shading phenomena (Blackford, 2002; van Leeuwe *et al.*, 2006). The pronounced self-shading leads by a high biomass, inherently conducive to a constant reorganization of the surface biofilm due to upward migrations of

microphytobenthic cells which are under the first layers of the biofilm (Morelle *et al.*, 2018). Thus, cells are never subjected to strong, long-lasting illuminations, suggesting that organisms at LL-S station are notably well-suited for low-light environments.

On the other hand, at station LL-B, depending on when the experiment was carried out, primary production is variable compared with the other two stations. Before spring bloom, the photosynthetic response to low light intensities was important, typical of a highbiomass station, but after spring bloom, this response was lower with an α value which decreased by almost 60%. This difference in response to low light levels may be due to the difference in porosity compared with the other two stations, since according to our results, demontrates differences in porosity suggesting that LL-B had coarser sediment. Thus, by having a coarser sediment, the biofilm should have been composed of a fraction of epipsammic microphytobenthic cells (Underwood, 2001; Méléder et al., 2005; Kooistra et al., 2007; Steele et al., 2010). However, it has been proved that epipsammic species show different adaptive responses in the regulation of light absorption compared to epipelic species (Serôdio et al., 2006, Cartaxana et al., 2011), with the setting up of physiological processes of photoprotection more important in epipsammic diatoms than in motile epipelic communities (Jesus et al., 2009; Cartaxana et al., 2011). This classification has been associated with heightened tolerance to intense illumination, consistent with observations that organisms adapted to strong illumination (Perkins et al., 2001; Jesus et al., 2006; Waring et al., 2007; Perkins et al., 2010) typically exhibit reduced adaptability to low-light environments resulting in a lower α value when establishing P-I curves for biofilms composed of epipsammic species. (Cartaxana et al., 2011).

As a result, by looking at the light intensity to reach the depth of the oxygen concentration maximum (DOCM), we observed that light intensity for observing this parameter was highest at station LL-B before spring bloom, and one of the lowest afterwards. This shows that the microphytobenthos at this station has a different response to light intensities across the time, meaning that the microphytobenthos was more productive when light intensities were higher. However, since this parameter takes into account the verticality of the sediment layer, it is important to note that the physical properties of the sediment must be considered, in particular its capacity to let light penetrate more in coarser sediment. Thus, this parameter therefore validates the fact that the granulometry of this station played a role in modifying the response of the microphytobenthos regarding the light conditions between before and after the spring bloom. It is possible that the silting-up of the site occurred shortly before the experiment, as the pre spring bloom period was coming to an end (when the harbor was dredged) and that the microphytobenthic community did not have time to adapt at the experiment moment.

In the same way, by using the F_t monitoring, valuable insights into the precise timing of the beginning of downward vertical microphytobenthic migrations can be obtained (Meresse *et al.*, 2023b). This parameter shows that there is a spatial pattern of variability in the response to light in terms of light intensity inducing downward migratory, with higher light intensity on LL-S than on LL-F. This seems to be in line with the α interpretation, since the greater the α is, the stronger the more the response to low light levels is important.

In HL stations, the observation is opposite to that of the LL stations. The HL-F is the station for which P_{max} and α are the higher and this time it is HL-S that exhibits the lowest

 P_{max} and α despite having the highest biomass. Several factors could contribute to this difference as variations in tidal conditions. Salt marshes, by definition, have a higher topography compared to intertidal mudflats. Consequently, the duration of emersion is consistently longer in HL than in LL, resulting in distinct physico-chemical parameters between these two biotopes. Furthermore, these physicochemical parameters can be influenced by a unique feature of salt marshes: the presence of Halimione portulacoides. This species forms a canopy that becomes increasingly dense as one approaches the HL-F station in our study. According to supplementary measurements conducted, this canopy creates microenvironments, offering buffered conditions during emersion in terms of temperature and hygrometry (Zedler, 1980; Zhao et al., 2022) allowing to compensate for excessive water loss during longer emersion phases than on LL stations. Additional measurements conducted during the experiment revealed that, despite air temperatures of 5.0°C at 05:00, the temperature under the canopy at HL-S was 13.2°C, 12.9°C at HL-B, and 8.6°C at HL-F. Through these measurements, it becomes apparent that this canopy serves as a thermal buffer. It is also plausible that these canopies play a role in maintaining relatively stable humidity levels between two tidal cycles.

Additionally, it plays a role in the light exposure that microphytobenthos receives since this canopy generates an interlighting phenomenon. A study by Pickens *et al.* (2018) showed that under a dense salt marsh vegetation, *Spartina alterniflora*, the mean ambient light under the canopy corresponded to 12 to 24% of the ambient light intensity. Based on our estimations from supplementary measurements taken between sunrise and solar zenith, we estimated that this light intensity under the HL canopy was approximately 11% of the ambient light intensity measured on LL stations. Moreover, beyond the fact that the light climate cannot photo-inhibit microphytobenthos, the interweaving of *Halimione portulacoides* leaves creates a light filter that sporadically allows short-term exposure to direct sunlight before casting shadows, only to be exposed again allowing the microphytobenthos to remain in a constantly good physiological state. This phenomenon of higher primary production under non constant light conditions has been described for terrestrial plants by Pearcy (1990) or in more recent studies like in the Kwon *et al.* (2023) and has demonstrated that interlighting generally provides photon flux below the saturation point, enabling photosynthesis to be higher.

On the other hand, unlike LL stations, at all HL stations there is no significant difference between the light intensities for which there is a break in the slope of the F_t dynamics, while the α values are significantly different. This non-significant difference between the three stations does not follow the pattern of measured α evolution. Thus, with identical light intensities causing vertical migration, the difference in responses to low light levels lies in physiological rather than behavioral adaptations. Indeed, under low-light conditions, these cells could optimize their light absorption by increasing the size of photosynthetic units, while adjusting the proportion of photosynthetic pigments and photoprotective pigments. On the other hand, when light levels are high, these algae reduce their light absorption and maximize the use of photons already captured by increasing the quantity and activity of Calvin cycle enzymes (Falkowski and Raven, 1997).

In this way, these adaptations under the canopy results in a maximum of estimated primary production averages 2.33 \pm 0.331 mmol O₂.m⁻².h⁻¹ on HL-S while when the canopy is thicker, the maximum primary production can double. The hypothesis is that a thicker

canopy covering the microphytobenthos creates more favorable light conditions for primary production by reducing photoinhibition (Kwon *et al.*, 2023).

ii. Seasonal variation in primary production

The role of the canopy at HL stations, which did not change significantly in terms of thickness between before and after the spring bloom, becomes even more apparent when we compare the evolution of microphytobenthos activity between before and after the spring bloom. By looking at HL-F and HL-B stations, P_{max} increased after the spring bloom. By looking at HL-F and HL-B stations, P_{max} increased after the spring bloom. However, α shown no significant difference. In the same way, by looking at migratory activity through the light intensity in the F_t monitoring and the DOCM, there is no significant difference either. This means that the light climate is not the predominant factor in this evolution of primary production. According to Colijn & van Buurt (1975), the increase in temperature is one of the main factors which leads to an increase in primary production. Therefore, after the spring bloom, primary production is probably positively impacted mainly by a boosted metabolism induced the rise in temperature, while maintaining the same migratory activity.

In the same way, LL stations experienced a nearly 30% increase in primary production for each of them. This increase in P_{max} can be explained by more favorable temperature and sunlight conditions after the spring bloom compared to before the spring bloom explained by the lack of vegetation cover which cannot act as a thermal buffer (Barranguet *et al.*, 1998). Unlike the HL stations, even though α does not change significantly, it seems to be linked to the increase in light intensity after the spring bloom. Indeed, the break in slope in F_t monitoring and DOCM occured at higher light intensity values after than before the spring bloom. This is explained by an adaptation to the increased light intensity during this period (Blanchard *et al.,* 1997; Serôdio *et al.,* 2005; van Leeuwe *et al.,* 2006). Indeed, microphytobenthos develops photoacclimation which is a dynamic process that unfolds across various spatiotemporal scales, enabling microphytobenthos to efficiently use available light when it is limited and safeguard themselves against excessive light exposure (van Leeuwe *et al.,* 2007; Pniewski *et al.,* 2015; Pniewski *et al.,* 2018).

In diatoms which constitute most of the microphytobenthos community, the most important physiological photoprotection mechanism is the xanthophyll cycle, involving the de-epoxidation of the pigment diadinoxanthin to diatoxanthin under high light and the thermal dissipation of harmful excess energy that decrease the excitation rate of PSII reaction centers (Goss & Jakob, 2010). As shown by Pniewski *et al.* (2015), microphytobenthos shows seasonal changes in the photoprotectives mechanisms of microphytobenthos. Thus, by adapting its light behavior response, microphytobenthos is able to migrate towards sedimentary layers under higher light levels and to have higher primary production activity under higher light levels after than before the spring bloom.

Furthermore, whether on LL or HL stations, before the spring bloom, primary production measured in laboratory systematically decreased under high light intensities. The microphytobenthos being adapted to higher light intensities after spring bloom than before, this explains the winter photoinhibition for high light levels. Thus, with an exposure to high light intensities due to experimental design in laboratory measurements, microphytobenthos was photoinhibited (Henley, 1993).

As a result, this comprehensive study of the Canche estuary reveals the complexity of the spatiotemporal evolution of primary production within an environment subjected to

165

a macrotidal regime. The results highlight multifactorial variability that could be influenced by factors such as sediment porosity, salinity, nutrient availability, and the primary vegetation cover. This variability underscores the importance of considering the intricate interactions between abiotic and biotic factors to understand the issues related to primary production in estuaries. At a time when the threats from global changes are becoming ever more pressing, it becomes essential to explore the extent to which this spatiotemporal variability can be impacted. In this context, gaining insights into the potential implications of estuarine marinization on primary production dynamics emerges as a critical avenue for future research.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Vincent Cornille and Eric Lecuyer for their contribution to the two onboard field sampling trips that enabled us to characterize the bottom water.

DISCLOSURE STATEMENT

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or

financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

AUTHOR'S CONTRIBUTIONS

Conceptualization, MM; Data curation, MM, FG, GD and LD; Formal analysis, MM, FG and

LD; Methodology, MM, FG and LD; Supervision, FG and LD; Writing-review and editing,

MM, FG and LD. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

Chapitre 4 – Effet du gradient d'eau marine sur la répartition spatio-temporelle de l'activité photosynthétique et comportementale du microphytobenthos

Chapitre 4 – Effet du gradient d'eau marine sur la répartition spatio-temporelle de l'activité photosynthétique et comportementale du microphytobenthos



Synthèse et perspectives : vers une vision multidimensionnelle de l'activité photosynthétique du microphytobenthos estuarien

Chapitre 5 – Synthèse et perspectives : vers une vision multi-dimensionnelle de l'activité photosynthétique du microphytobenthos estuarien

"En toute chose, c'est la fin qui est essentiel." Aristote

Ce dernier chapitre a pour objectif de réaliser, à partir de la synthèse des résultats principaux tirés des différents chapitres de ce manuscrit, une discussion générale permettant de comparer ces derniers à ce qui est classiquement trouver dans la littérature afin de proposer à la fin de chaque partie, au moins une perspective de travail et/ou des pistes d'amélioration de technique d'étude déjà existante afin d'améliorer la compréhension du fonctionnement du microphytobenthos intertidal.

1. Vers l'automatisation de la mesure des capacités microphytobenthiques

La production microphytobenthique des sédiments intertidaux estuariens montre de fortes variations, que ce soit dans l'espace ou dans le temps (Blanchard *et al.*, 2001 ; Orvain *et al.*, 2012). Ces variations peuvent intervenir à différentes échelles de temps sous l'influence de la photopériode, des cycles des marées ou encore des saisons (Taylor, 1964 ; Pinckney and Zingmark, 1991 ; Blanchard *et al.*, 2001) ainsi qu'à différentes échelles spatiales allant de la distribution au sein de l'estuaire (McIntyre *et al.*, 1996 ; Jacobs *et al.*, 2021) jusqu'à la micro-échelle (Jesus *et al.*, 2006 ; Spilmont *et al.* 2011), ce qui a toujours forcé les scientifiques à relever des défis méthodologiques pour appréhender cette variabilité.

Sur le plan vertical, Jesus *et al.* (2006) ont montré que le microphytobenthos présente une hétérogénéité dans les premiers millimètres de sédiment qui varie en fonction de la granulométrie, de la teneur en matière organique et de la biomasse

microphytobenthique, affectant ainsi la pénétration de la lumière (De Boer, 1981 ; Blanchard *et al.*, 2000 ; Paterson, 2001 ; Forster et Kromkamp, 2004). En réponse à la problématique de l'intégration de l'information sur la verticale, Morelle *et al.* (2018) ont proposé un modèle qui permet d'intégrer l'information de l'activité photosynthétique à partir d'un fluorimètre PAM, qui est un outil de mesures de surface permettant d'étudier le microphytobenthos dans un plan horizontal. Ce modèle fait intervenir différents proxies pour estimer l'activité photosynthétique car il n'existe pas à ce jour de méthode permettant une mesure directe de l'activité en 3D. C'est pourquoi nous avons choisi de coupler deux approches méthodologiques : la fluorimétrie PAM pour les mesures de surface et les microélectrodes pour prendre en compte la distribution verticale de la production primaire.

Cependant, Hermes *et al.* (1994), très tôt dans l'histoire de l'utilisation des microélectrodes, ont mis en évidence une limite liée à leur utilisation puisqu'elles présentent tout de même le désavantage d'être très chronophages à l'utilisation. Pour remédier à cela, le couplage de ces deux méthodes a été automatisé afin de gagner en efficacité, permettant ainsi l'acquisition de données en grande quantité. Cela est particulièrement important lorsque l'on souhaite modéliser une courbe P-E avec de nombreux points ou réplicats tout en balayant une large gamme d'intensités lumineuses. Par exemple, Gerbersdorf *et al.* (2005) ont mené une étude en laboratoire visant à caractériser la capacité de production primaire du microphytobenthos sur deux sites différents. Lors de la collecte des données, peu de profils ont été acquis, ce qui a conduit les auteurs à modéliser une courbe P-E sur la base de nuages de points composés de 5 à 10 points, rendant ainsi l'ajustement parfois délicat car, comme l'ont montré Kromkamp *et al.*

(2020), la distribution et la réponse du microphytobenthos peuvent être très variables à micro échelle ce qui peut provoquer une grande dispersion dans les flux mesurés.

Pour répondre à certains questionnements scientifiques, le fait de construire des courbes P-E avec peu de points peut ne pas poser de problème. Par exemple, Kwon *et al.* (2018) ont collecté 1870 profils sur une période de 27 mois afin de modéliser 126 courbes P-E en utilisant 2 à 4 réplicats de mesure sur 5 intensités lumineuses. L'objectif était d'extraire des informations sur la production maximale pour les corréler avec la biomasse et la température. Au contraire, dans le cadre de notre étude, l'objectif était plutôt d'identifier plus précisément les caractéristiques photosynthétiques du microphytobenthos d'où la nécessité d'obtenir une très bonne précision dans les différents paramètres définissant la courbe P-E.

Aujourd'hui, sans aucune intervention humaine, le système développé et mis en œuvre dans ce travail de thèse permet la construction d'une courbe P-E à partir d'un jeu de données provenant de 150 profils verticaux d'oxygène et obtenus en environ 6h30. Néanmoins, l'exploitation d'un profil vertical d'oxygène reste pour le moment non automatisée. A partir de l'outil développé par Unisense (Unisense, Danemark), il est possible de traiter un profil vertical en environ 3 à 5 minutes selon la complexité de celui-ci afin d'en extraire les informations principales (flux d'oxygène, profondeur du pic de production et profondeur d'anoxie). Avec un total d'environ 4600 profils verticaux acquis grâce au système d'acquisition autonome, le temps de traitement a été conséquent. De ce fait, des perspectives quant à l'automatisation du traitement pourraient être envisagées.

Afin d'aller plus loin dans l'automatisation de la tâche, des perspectives d'amélioration au travers du « machine learning », qui, par apprentissage d'images via une

intelligence artificielle pourrait permettre un traitement de données de manière autonome. Le développement des technologies d'intelligences artificielles étant en pleine expansion, il serait peut-être intéressant d'explorer cette piste. Shinde et Shah (2018) ont présenté dans une revue d'articles les différentes applications du machine learning. Selon ces auteurs, différentes fonctionnalités dans ce domaine peuvent permettre des analyses autonomes. La première serait liée à l'identification de l'ajustement du modèle de profil vertical sur le jeu de données. Elaraby et al. (2016) ont mis en avant la capacité de l'intelligence artificielle à identifier des « objets » à travers ce qu'ils appellent le « deep learning » (technique qui permet d'augmenter la performance d'un algorithme en alimentant sa base de données afin de le rendre de plus en plus intelligent et autonome). Cette technique est largement utilisée en industrie sur des lignes de production pour identifier des produits défectueux (Chen et Guhl, 2018; Xia et al., 2020). Ainsi, un algorithme pourrait être développé en entrant en base de données des images de profils avec des ajustements considérés comme valides et d'autres qui ne le seraient pas. Le système serait donc capable d'identifier de manière autonome les meilleurs ajustements. Pour finir, l'Intelligence artificielle est également capable d'apprendre des procédés de traitement qu'il peut, à l'aide de deep learning, effectuer en autonomie (ce qui permettrait d'identifier automatiquement divers paramètres d'un profil vertical tels que la profondeur du pic d'oxygène, la profondeur d'anoxie etc.).

2. Travailler en conditions standardisées et contrôlées : cibler l'effet d'un forçage

Comme Kwon *et al.* (2018), de nombreux auteurs ont orienté leurs expérimentations afin d'étudier la production primaire face à un éclairement croissant (Perkins *et al.,* 2001 ; Serôdio *et al,.* 2006 ; Denis *et al., 2009* ; Du *et al.,* 2018). Pour ce type d'étude, lorsqu'elles sont réalisées en laboratoire, les paramètres tels que la température ou l'éclairement sont contrôlés (Gerbersdorf *et al.,* 2005 ; Bourgeois *et al.,* 2010 ; Dunn *et al.,* 2012 ; Kuriyama *et al.,* 2021) car l'effet de leur variation est largement connu (Blanchard *et al.,* 1996 ; Perkins *et al.,* 2001 ; Serôdio *et al.,* 2006 ; Cartaxana *et al.,* 2015). En revanche, tout comme Bauer *et al.* (2009) ont pu le montrer, il existe une relation entre l'humidité de surface d'un sédiment et l'humidité relative dans l'air. Malgré cela, de nombreux auteurs négligent bien souvent l'effet de la variation de la perte en eau en ne contrôlant pas l'hygrométrie du milieu d'étude (Thornton *et al.,* 1999 ; García-Robledo *et al.,* 2012 ; Kwon *et al.,* 2014).

Ce contrôle de l'hygrométrie est important car la dessiccation peut non seulement être la source d'un stress hydrique pour le microphytobenthos (Coelho *et al.*, 2009) mais aussi pour l'estimation des flux car les échanges gazeux d'oxygène dissous entre l'eau interstitielle et l'air au-dessus du sédiment ne se feront pas aussi vite qu'entre l'air des espaces interstitiels et l'air au-dessus du sédiment. En effet, selon la loi de Fick (1855), la diffusion est le processus par lequel les molécules se déplacent d'une région de concentration plus élevée vers une région de concentration plus faible. Cette vitesse de diffusion dépend de plusieurs facteurs, notamment la température, la pression, la viscosité du milieu, et le coefficient de diffusion de la substance dans ce milieu. Dans l'air, qui est principalement composé d'azote et d'oxygène, la diffusion de l'oxygène se produit 10 000 fois plus rapidement que dans l'eau car l'air est moins dense que l'eau et a une viscosité beaucoup plus faible (Somerville et Proctor, 2013). Par conséquent, les molécules d'oxygène peuvent se déplacer plus rapidement dans l'air que dans l'eau.

Dans la chambre climatique, des expérimentations préalables ont été réalisées afin de déterminer le degré de dessiccation des 5 premiers millimètres de surface du sédiment en fonction de l'hygrométrie de l'air (Figure 1). Pour cela, des carottes de sédiments dont les propriétés granulométriques étaient proches entre elles ont été laissées sous température constante (15°C) à différentes hygrométries durant 10h (temps d'émersion plus long que la moyenne des émersions constatées *in situ* selon le SCHOM). Pour chaque hygrométrie testée, trois sous échantillons de carottes ont été prélevées avant et après l'exposition afin d'en mesurer le contenu en eau.





A l'issue de cette étude complémentaire, il apparait que selon l'hygrométrie, la dessiccation peut être variable et donc l'absence de contrôle de ce paramètre durant une expérimentation peut mener à des biais dans les estimations de production primaire. C'est

pour cela que le système autonome de mesure de profils verticaux d'oxygène et de fluorescence a été placé dans une chambre climatique afin de travailler en conditions contrôlées. Afin d'étudier dans un premier temps uniquement la réponse photophysiologique du microphytobenthos face à la lumière, seul ce paramètre a été variable au cours de nos différentes expérimentations. Au cours de l'étude présentée en chapitre 4, il apparait qu'en faisant varier uniquement ce paramètre, la production primaire est variable dans le temps et l'espace.

De ce fait, la perspective d'étude de l'effet synergique de divers forçages peut être envisagée afin de mieux comprendre la photophysiologie du microphytobenthos des zones intertidales en Manche Orientale. Pour aller plus loin dans la démarche de compréhension de l'influence des différents forçages, une expérimentation complémentaire a été réalisée afin d'observer l'influence que peut avoir la synergie de forçages *in situ* par rapport à un milieu contrôlé. Bien que les mesures en laboratoire, qui visent à caractériser la photobiologie, et les mesures *in situ*, qui permettent d'établir un bilan, aient des objectifs différents, nous avons réalisé, sur deux jours consécutifs, l'acquisition de profils d'oxygène sous lumière croissante dans une vasière intertidale de l'estuaire de la Canche et en laboratoire (Figure 2).

La température de la chambre climatique en laboratoire est fixée à 14°C, *i.e.* la température mesurée en début d'expérimentation *in situ*. Cette température de terrain a augmenté jusqu'à 24°C au moment de la fin d'expérimentation. De la même manière, l'hygrométrie de la chambre a été fixée à 80% d'humidité dans l'air afin de travailler avec une hygrométrie constante. Ainsi, on peut affirmer que la perte en eau du sédiment sur l'intégralité de l'expérimentation en laboratoire a été au maximum de 13% (cf figure 1).

Néanmoins, pour les mesures réalisées sur le terrain, l'hygrométrie est passée d'environ 80% en début à 52% en fin d'expérimentation. Dans la chambre climatique, ces paramètres ont été fixés afin de faire évoluer uniquement l'intensité lumineuse contrairement à l'expérimentation *in situ* afin de comparer les réponses de production primaire sous conditions contrôlées et dans un environnement naturel où les conditions climatiques durant l'acquisition d'une courbe P-E sont variables dans le temps. Au total, c'est un nuage de points de 91 valeurs de flux qui est utilisé pour la modélisation de la courbe P-E en laboratoire contre seulement 14 en milieu naturel.



<u>Fiqure 2 : Courbes P-E obtenues pour l'étude d'une vasière intertidale de l'estuaire de la</u> <u>Canche en ajustant la production brute relative d'oxygène en fonction de l'intensité</u> <u>lumineuse en laboratoire (rouge) (n=6) et in situ (Ajustement du modèle : Eilers et Peeters</u> (1988)).

Après extraction des paramètres photosynthétiques définis pour chacune des deux courbes P-E selon ce qui a été présenté dans le chapitre 1 section 4.4.i., il apparait que les paramètres α obtenus sont assez proches (0.058 ± 0.004 en laboratoire contre 0.052 *in situ*). En revanche, en comparant les deux courbes, pour une même intensité lumineuse la production en laboratoire est systématiquement plus élevée que celle *in situ*. Cette différence peut être attribuée à l'effet synergique résultant des divers facteurs environnementaux changeants sur le terrain, puisqu'aux variations de lumière qui sont commune pour les deux expérimentations, d'un côté l'hygrométrie et la température sont stables alors que de l'autre ce n'est pas le cas avec une augmentation de la température passant de 14 à 24°C et l'hygrométrie qui a diminué de 30% provoquant une dessiccation plus importante sur le terrain qu'en laboratoire, ce qui permet d'expliquer peu de différences de flux sous de faibles éclairements car les conditions de départ étaient sensiblement les mêmes.

De plus, dans un contexte de changements globaux qui s'accélère (Hay, 2014), le microphytobenthos va être soumis à des variations des conditions environnementales qui pourraient impacter sa contribution en tant que producteur primaire (Cartaxana *et al.,* 2016 ; Oliveira *et al.,* 2020). C'est dans ce cadre que le système d'acquisition mis en place présente un intérêt puisqu'il permettra de tester toutes sortes de stress et de scénario.

Tout comme le phytoplancton qui va être soumis à des modifications de son environnement de manière directe avec un réchauffement de la masse d'eau sous l'influence du réchauffement atmosphérique et de la hausse de la pression partielle en CO₂, pour le microphytobenthos intertidal cela s'ajoute à des phases d'émersion qui pourront l'exposer directement aux conditions atmosphériques. Actuellement, le microphytobenthos est confronté à des températures qui peuvent être délétères en été à cause de températures de l'air et sédimentaire trop importantes (Davoult *et al.,* 2009 ; Jacobs *et al.,* 2021). On peut donc imaginer que les changements globaux auront un effet encore plus marqué durant cette saison d'un point de vue thermique. Il semble donc opportun d'aller plus loin dans la démarche de compréhension du fonctionnement du microphytobenthos estuarien afin de pouvoir faire des projections sur le devenir de ces organismes au cœur du réseau trophique estuarien (Van der Heijden *et al.* 2019).

D'autre part, l'une des préoccupations majeures du 21^{ème} siècle concerne l'augmentation des gaz à effet de serre, et plus principalement le CO₂. Suivant différents scénarii et diverses projections à moyen et long termes, Oliveira et al. (2020) se sont intéressés à l'effet de cette hausse du CO₂ sur la production primaire du microphytobenthos. A notre connaissance, comme dans toutes les études qui ont pu être réalisées jusqu'à présent pour tester l'effet du CO₂ (Cartaxana et al., 2016 ; Tait et al., 2015), les auteurs placent le microphytobenthos en présence d'eau acidifiée (soit par enrichissement en CO₂ gazeux, soit par acidification directe de l'eau). Or, pour réaliser ces mesures, le biofilm est immergé. Le microphytobenthos de l'estuaire de la Canche n'étant pas productif à l'immersion (Denis et al., 2012) comme dans d'autres écosystèmes intertidaux à forte turbidité, il serait intéressant de s'attarder sur l'effet que pourrait avoir la hausse de la pression partielle de CO₂ à l'émersion. Le système expérimental permet de contrôler, en plus des autres paramètres, la pression partielle de gaz et pourrait ainsi permettre, grâce à la fixation de la pression partielle en CO_2 à différents niveaux, d'en étudier l'impact. Selon différentes estimations de Schmittner et Galbraith (2008), de Sarmiento *et al.* (2004) ou encore de Taucher et Oschlies (2011), de manière générale, les modèles prédictifs montrent que la production primaire marine tend à augmenter sous l'influence de la synergie de différents facteurs tels que la hausse de la température et de la quantité de carbonate de calcium (CaCO₃) ou de bicarbonate (HCO₃⁻) dans l'eau environnante disponibiles, paramètres également à l'origine de brutaux changements communautaires.

3. La réponse comportementale microphytobenthique face aux forçages naturels

Depuis plusieurs décennies, la communauté scientifique est consciente des capacités du microphytobenthos à migrer sous l'influence d'une lumière changeant (Round et Palmer, 1966). Certains forçages tel que l'effet de la marée sur la migration microphytobenthique a souvent été suggéré suite à l'observation de variations dans les flux d'oxygène mesurés. Par exemple, Denis *et al.* (2012) ont observé une baisse des flux entre 60 et 120 minutes avant le début de l'immersion quand d'autres ont estimé que cette baisse intervenait environ 100 minutes avant l'immersion (Spilmont *et al.*, 2007). Tous sont d'accord pour dire que cette diminution dans les flux d'oxygène observés résulte d'une migration du microphytobenthos vers le bas, qui, en s'éloignant de la surface reçoit une intensité lumineuse incident moins forte (Longphuirt *et al.*, 2006 ; Serôdio *et al.*, 2023).

Dans le cadre du chapitre 3, nous avons montré qu'une fois en laboratoire, le rythme migratoire peut être conservé durant trois jours. Certains auteurs, tels que Serôdio (1997), ont tenté de comprendre ce mécanisme en l'étudiant de manière expérimentale. Serôdio (1997) a montré qu'en l'absence de stimuli marégraphique et lumineux, cette dynamique migratoire juste avant et pendant l'immersion est conservée. Ainsi, en l'absence de tout forçage, seule la présence d'une horloge interne peut expliquer ce comportement migratoire. Avec pour exemple *Arabidopsis thaliana*, Millar (2003) a montré que chez d'autres organismes tels que les eucaryotes et potentiellement certains procaryotes, il existe une adaptation au cycle jour/nuit de 24 heures grâce à la présence d'un horloge circadienne permise par des « clock genes ». On peut donc aisément imaginer que ces gènes sont présents chez le microphytobenthos et qu'en plus du rythme nycthéméral, le rythme des marées peut également être gouverné par des gênes similaires.

Nous avons également montré dans notre étude que cette horloge interne n'était pas « réglée » selon les tous derniers évènements vécus par le microphytobenthos puisque malgré une succession de décalages des forçages marégraphiques en laboratoire, le rythme endogène microphytobenthique reste synchronisé. Ceci apparaît clairement comme un avantage adaptatif pour le microphytobenthos puisque les marées n'étant pas toujours à intervalles réguliers sous l'influence des vents, de la température ou de la pression atmosphérique (Buckee *et al.,* 2022), le microphytobenthos peut ne pas être perturbé visà-vis des marées suivantes lorsqu'une marée est retardée par une pression atmosphérique exceptionnellement forte par exemple tout en gardant une certaine marge de sécurité en migrant 60 à 120 minutes avant celle-ci (Denis *et al.,* 2012).

De la même manière que la marée ou l'intensité lumineuse (Barnett *et al.,* 2020, Serôdio *et al.,* 2023), Vieira *et al.* (2013) ont montré que la température est également un forçage qui peut jouer un rôle majeur sur la migration verticale microphytobenthique. Selon ces auteurs, la température influence le métabolisme microphytobenthique plus que l'intensité lumineuse et ils suggèrent que la migration est une réponse efficace face à ce stress thermique. De ce fait, lors d'observations réalisées *in situ*, la variabilité observée dans les flux mesurés entre différentes saisons peut également être expliquée par une variation de la dynamique migratoire microphytobenthique suite à l'effet synergique de la température et de la lumière (Pinckney et Zingmark, 1993, Guarini *et al.*, 2006). Dans l'étude qui a été présentée dans ce manuscrit visant à caractériser d'un point de vue spatial la photophysiologie microphytobenthique, nous avons mis en évidence que le microphytobenthos présente des variations dans ses capacités migratoires selon le moment de l'année où est réalisée la mesure. Ceci est vrai pour les sédiments nus tels que les vasières, mais ne l'est pas forcément pour les sédiments végétalisés des prés-salés. La canopée de végétation au-dessus du sédiment permet de créer un effet tampon d'un point de vue lumineux, thermique et hydrique, menant à des variations temporelles d'une saison à une autre peu ou pas marguées.

Ainsi, avec une perspective d'étude de l'activité migratoire microphytobenthique, il serait intéressant d'explorer les facteurs qui permettent de « régler » cette horloge car nous avons montré ici que celle-ci reste synchronisée à ce qui se passe *in situ* durant trois jours, mais dans le cadre d'expérimentations plus longues, connaitre quels sont les facteurs qui influencent le dérèglement de ce rythme endogène pourrait aider à réaliser des expérimentations beaucoup plus longues en laboratoire. Par exemple, cela permettrait de pouvoir travailler en conditions contrôlées et observer quel forçage provoque un shift communautaire au sein d'un biofilm sur des durées plus ou moins longues. Mais ce type d'expérimentation pourrait être possible à condition de pouvoir adapter le système en y intégrant un mécanisme automatique de simulation de marée (automatisation de l'alternance immersion/emersion par exemple).

4. Une production primaire variable dans le temps et l'espace

Comme pour la migration, les résultats obtenus dans le chapitre 4 sont en accord avec ce qui est habituellement décrit dans la littérature puisqu'il existe des schémas récurrents dans la variabilité spatio-temporelle de production microphytobenthique dans les zones estuariennes intertidales qui ont pu être décrits. Adams et Bate, (1999) ont observé que la distribution du microphtytobenthos suivait un patron de répartition selon le gradient aval-amont, avec une biomasse microphytobenthique plus importante sur la zone avale. Richard et al. (1964) ainsi que de nombreux autres auteurs comme Perissinotto et al. (2006) ou Pillay et Perissinotto (2009) ont montré que la salinité pouvait être l'un des forçages majeurs à l'origine de cette distribution. De la même manière, Jesus et al. (2009) ainsi que Sullivan et Currin (2000) ont montré que la bathymétrie était également un forçage majeur expliquant la répartition de la biomasse du microphytobenthos. Selon un transect perpendiculaire à l'estuaire, la distribution de la biomasse a été qualifiée par Underwood (2010) de mono-modale en raison de l'interaction entre les perturbations physiques et les photopériodes plus courtes sur les plus faibles bathymétries et les contraintes environnementales plus importantes sur les niveaux supérieurs.

Dans notre cas d'étude, cette répartition bathymétrique nous a mené à étudier deux types de biofaciès : les vasières et pré-salés intertidaux.

En termes de production primaire, Brotas et Catarino (1995) n'ont pas mis en évidence de différence entre ces deux hauteurs bathymétriques alors que Kwon *et al.* (2020) ont montré une production primaire plus importante de 50% sur les vasières intertidales par rapport aux prés-salés. Les auteurs expliquent cette différence de production primaire par la tolérance variable du microphytobenthos face aux différentes intensités lumineuses en fonction de leur position bathymétrique. Sur les vasières, le microphytobenthos est exposé à un éclairement constant en comparaison au microphytobenthos qui est sous la végétation et donc plus inféodé aux faibles éclairements. Ces résultats concordent avec nos observations qui montrent que le pré-salé de l'estuaire de la Canche est 1,5 à 3 fois moins productif que les vasières intertidales correspondantes.

Par ailleurs, nous avons constaté dans la littérature que dans les bilans d'estimations de production primaire de la zone estuarienne intertidale, les auteurs négligent très souvent la contribution microphytobenthique du prés-salé. Certaines contraintes existent, comme la végétation dense qui rend difficile l'étude du microphytobenthos en dessous de sa canopée. Cependant, dans une perspective d'analyse à l'échelle de l'estuaire, il serait pertinent d'inclure ces estimations. Ceci est d'autant plus important au regard de la superficie de la zone des prés-salés sur notre zone d'étude. A l'échelle de l'estuaire de la



Canche, selon nos estimations cartographiques, 2,4 km² sont représentés par le pré-salé et seulement 0,3 km² par les vasières (Figure 3).

Fiqure 3 : Cartographie de la bathymétrie de l'estuaire de la Canche dont les zones de préssalés (vert clair) et de vasières (vert foncé) ont été mises en évidence. Données bathymétrique issue de mesure LIDAR en 2018.

Ainsi, le pré-salé représentant 8 fois la superficie des vasières de la Canche et ayant une production primaire environ 1,5 à 3 fois moins importante, le rapport entre superficie et productivité par unité de surface fait du pré-salé une zone 2,7 à 5,3 fois plus productive que les vasières selon la localisation dans l'estuaire.

Tout comme la variabilité spatiale, la variabilité saisonnière de la production microphytobenthique a également été le cœur de nombreuses études (Blanchard *et al.,* 1997 ; Méléder *et al.,* 2020). De manière générale, un patron de répartition de la production primaire apparait clairement avec un maximum de production primaire au en fin d'hiver - début du printemps (Méléder *et al.,* 2020) et une période défavorable durant la période hivernale et estivale. Cette variabilité temporelle est expliquée selon Savelli *et al.* (2018) par une évolution temporelle de la biomasse microphytobenthique avec un bloom printanier, une diminution estivale de la biomasse microphytobenthique sous l'influence de variation thermique, lumineuse et également de prédation par la méiofaune et macrofaune benthique accrue durant cette saison. En effet, comme l'ont montré de nombreuses études (Cariou-Le Gall et Blanchard, 1995 ; Sahan *et al.,* 2007 ; Orvain *et al.,* 2014), l'activité de broutage peut être plus importante durant l'été et selon Weerman *et al.* (2014), il existe une corrélation négative entre le broutage du biofilm et la biomasse microphytobenthique.

Toutefois, cette variabilité dans la production n'a pas lieu uniquement à des échelles de temps saisonnières, et il existe également une grande variabilité de la réponse photosynthétique à l'échelle de la journée.

5. La réponse photophysiologique à l'échelle de la journée

Dans de très nombreux travaux portant sur le système intertidal, les mesures de production primaire sont effectuées à partir du lever du jour, soit *in situ* (Denis et Desreumaux, 2009) soit en laboratoire (Cartaxana *et al.*, 2016). Seuls Oliveira *et al.* (2011), Denis *et al.* (2012) et Kwon *et al.* (2014) ont mesuré de la production primaire à d'autres moments de la journée.

Kwon *et al.* (2014) ont mené leur étude dans un environnement naturel caractérisé par une plage d'intensités lumineuses pouvant atteindre 2000 µmol photons.m⁻².s⁻¹, une plage de températures de 5 à 25°C, et un marnage pouvant s'élever jusqu'à 8 mètres, ce qui reflète des conditions similaires à celles que l'on peut observer dans la région de la Canche. Durant cette étude, ils ont observé que pour une même intensité lumineuse, lorsqu'une mesure de flux est réalisée au matin, celle-ci était plus importante que durant l'après-midi. Les auteurs qui ont réalisé les mesures *in situ* ont abordé en premier élément de discussion qu'il semble assez compliqué d'identifier quels sont les facteurs spécifiques qui régulent principalement la production primaire.

Dans le cadre du chapitre 3, nous avons étudié l'impact que pouvait avoir l'heure du jour sur la production primaire et il s'avère que les capacités photosynthétiques microphytobenthiques sont différentes selon le moment de la journée. Ce phénomène peut être expliqué par le passé lumineux du microphytobenthos qui impacte la réponse photosynthétique microphytobenthique comme ont pu le souligner Serôdio *et al.* (2008) ou Denis *et al.* (2012). Par exemple, avec des éclairements forts au matin, Denis *et al.*,(2012) ont observé que même après une période d'immersion et des conditions lumineuses optimales durant l'après-midi, le microphytobenthos présentait une production primaire plus faible qu'attendue.

Par ailleurs, puisque la lumière est décroissante durant l'après-midi, nous avons tenté de comprendre à travers une expérience complémentaire l'importance du sens de variation de l'intensité lumineuse (Figure 4). Pour cela, nous avons simulé une émersion à l'heure du midi puis appliqué soit un éclairement croissant soit décroissant tout au long de l'après-midi afin de réaliser des profils d'oxygène ainsi que des mesures de fluorescence (Figure 4).


<u>Fiqure 4 : Courbes P-E obtenues en laboratoire sous lumière croissante (courbe noire) et</u> <u>décroissante (courbe grise) pour une carotte de sédiment prélevée sur une vasière</u> <u>intertidale de l'estuaire de la Canche en ajustant la production brute relative d'oxygène en</u> <u>fonction de l'intensité lumineuse (n=6) (Ajustement du modèle : Eilers et Peeters (1988).</u>

Lors de l'exposition du microphytobenthos à une lumière croissante, nous avons observé une augmentation de la production primaire caractéristique d'une émersion au moment du zénith solaire avec un α élevé. Au-delà de cette réponse initiale, nous avons constaté que la production atteignait un plateau, avec une valeur de P_{max} mesurée à 4,21 mmol.m⁻².h⁻¹. Il est intéressant de noter que c'est autour du point d'inflexion de la courbe que la dispersion était la plus importante. Cette dispersion accrue peut être attribuée à variabilité de la réponse photosynthétique et photoprotectrice mise en place par les différentes espèces qui composent microphytobenthos. En revanche, au moment de l'émersion du microphytobenthos sous un fort éclairement suivi d'une intensité lumineuse décroissante, on observe une réponse pour les forts éclairements supérieure à ce qui est observé sous lumière croissante. Selon Serôdio et al. (2023), au moment de l'émersion, le microphytobenthos migre vers la surface (Chevalier et al., 2010). Cette émersion ayant lieu sous des forts éclairements, celui-ci va être photosynthétiquement très actif, traduisant une forte production primaire, mais va également présenter une très forte variabilité dans sa réponse, ce qui peut s'observer au travers d'une dispersion trois fois plus grande que le maximum de dispersion observé sous lumière croissante. En revanche, en dessous de 600 µmol photons.m⁻².s⁻¹ et pour un même intensité, lors des mesures sous lumière croissante, la production brute d'oxygène était inférieur en comparaison des valeurs mesurées sous lumière croissante. Il est possible qu'en ayant été exposé à de forts éclairements dès le début de l'émersion, le microphytobenthos ait eu une activité photosynthétique

suffisamment élevée pour ne plus à avoir besoin d'être actif ensuite. En effet, un parallèle avec l'étude de Lakatos *et al.* (2021) qui a montré que chez une espèce de phytoplancton, lorsque la quantité de glycogène est accumulée au maximum, la photosynthèse diminue. Selon Stal *et al.* (2010), les diatomées sont capables d'accumuler de la chrysolaminarine qui un polysaccharide. Ainsi, il possible que le microphytobenthos ait un fonctionnement similaire durant lequel il accumule une certaine quantité de métabolites jusqu'à ce qu'un stock suffisant soit fait pour qu'il n'ait plus besoin d'être très actif d'un point de vue photosynthétique, ce qui pourrait expliquer cette faible production sous faibles éclairements.

Par ailleurs, cette diminution peut également être liée à l'état physiologique du microphytobenthos après une mise sous lumière brutale. Cette différence ne peut pas être expliquée par une photodestruction, car le F_v/F_m était supérieur à 0,55 après l'étude, mais plutôt par de la photoinhibition puisqu'après expérimentation, les niveaux de fluorescences sont revenus à des états initiaux.

Ainsi, lors d'une émersion au moment du zénith solaire, le microphytobenthos est soumis à de forts éclairements qui peuvent lui permettre d'être photosynthétiquement très actif et de stocker une grande quantité de métabolites, mais cet éclairement continu, même décroissant, finit par provoquer une photoinhibition qui le rend peu productif, même sous de faibles éclairements. Ces résultats suggèrent que durant l'après-midi, lors de forts ensoleillements, le microphytobenthos doit être finalement peu productif après un début d'exposition à la lumière, et ce, jusqu'à l'émersion suivante. De ce fait, selon l'heure de la journée et le sens d'évolution des intensités lumineuses, la production primaire n'est pas la même.

Ces résultats semblent en désaccord avec ce qui a été observé par Chevalier et al. (2010) qui ont montré que lors de leur étude de l'activité photosynthétique microphytobenthique avec un fluorimètre PAM, l'activité photosynthétique était plus importante durant l'après-midi comparé au matin. Ceci peut être expliqué par deux facteurs principaux. Le premier est que durant leur expérimentation, le sédiment sur lequel les auteurs ont travaillé était sablo-vaseux. Dans le chapitre 4, nous avons mis en évidence que lorsque la porosité était plus importante que sur de la vase pure, il apparait qu'au sein du biofilm, certaines algues sont épipsammiques (i.e. fixée à une particule sédimentaire grossière). Serôdio et al. (2006) ainsi que Cartaxana et al. (2011) ont également mis en avant que ce type d'organismes sont beaucoup plus tolérants aux forts éclairements. De plus, lors de leur expérimentation, la lumière incidente était plus faible durant l'émersion de la matinée par rapport à celle de l'après-midi. Ainsi, en utilisant un fluorimètre PAM qui est une méthode de mesure de surface, sous de forts éclairements, le microphytobenthos épipélique migre vers des couches plus profondes, laissant uniquement en surface les cellules épipsammiques qui sont plus inféodées aux forts éclairements. Ainsi, avec de plus forts éclairements durant l'après-midi, la réponse photosynthétique microphytobenthique ne peut être que plus forte. Ceci démontre parfaitement l'importance du choix de l'outil de mesure suivant le questionnement scientifique puisqu'avec une intégration de l'information sur la verticale permise par les microélectrodes, on peut suivre l'intégralité de l'assemblage qui compose le microphytobenthos.

Par ailleurs, avec l'étude qui compose le chapitre 3 de ce manuscrit, nous avons montré que l'heure du jour peut impacter l'estimation de la production primaire. Grâce à ces résultats, nous pouvons affirmer que certaines estimations que l'on retrouve dans la littérature peuvent être biaisées lorsqu'elles ont été réalisées en laboratoire.

Dans le cadre d'améliorations futures, l'intégration de nouveaux paramètres pourrait permettre d'estimer plus précisément les bilans de production microphytobenthique. Dans les modèles d'estimation de la production primaire tels que celui présenté par Méléder et al. (2020) ou par Savelli et al. (2020), les calculs de bilans de production à grandes échelles utilisent les modèles de production liés à la température et à la lumière de Blanchard et al. (1996) et d'Eilers et Peeters (1988) définis par des paramètres photophysiologiques ajustés sur les courbes de lumière mesurées en laboratoire mais ne tiennent pas compte du passé lumineux du microphytobenthos (i.e. l'heure du jour, le sens d'évolution de l'intensité lumineuse et le moment de marée). La prise en compte de ces paramètres pourrait permettre de tendre vers des estimations plus précises des bilans à grande échelle.

Chapitre 5 – Synthèse et perspectives : vers une vision multi-dimensionnelle de l'activité photosynthétique du microphytobenthos estuarien

Chapitre 5 – Synthèse et perspectives : vers une vision multi-dimensionnelle de l'activité photosynthétique du microphytobenthos estuarien

Conclusions générales et perspectives

Bien qu'à l'échelle des estuaires intertidaux, de nombreuses études s'intéressent à la production primaire microphytobenthique, l'influence de certains forçages n'est pas encore bien connue à micro-échelle. Avec pour objectif de lever certaines interrogations concernant la photobiologie du microphytobenthos, l'ensemble de ce travail a permis d'investiguer, à travers trois études, les caractéristiques photosynthétiques et migratoires du microphytobenthos face à certains forçages naturels tels que la marée, la salinité, la bathymétrie ou la température d'un point de vue spatio-temporel. Chacune d'entre elles a mis en lumière des éléments originaux ou a permis de confirmer certaines observations illustrées dans la littérature.

[1] L'un des premiers objectifs était d'étudier la capacité photosynthétique du microphytobenthos de façon standardisée, de manière à pouvoir comparer les potentialités de production. Pour cela, nous avons proposé une procédure pour l'étude de la photophysiologie et du comportement migratoire du microphytobenthos en laboratoire. Le système d'acquisition a mis en évidence deux éléments marquants. Premièrement, grâce à cette approche en conditions standards où la température, l'hygrométrie et l'éclairement ont été contrôlés, la mise en place d'un tel système a permis de montrer l'intêret qu'il pouvait avoir vis-à-vis de la caractérisation des potentialités photosynthètiques du microphytobenthos. Deuxièmement, ce système d'acquisition a permis de faire ressortir l'existence d'un temps de photoacclimatation lors de changement d'intensité lumineuse qui, dans le cadre de la caractérisation des capacités de production primaire du

microphytobenthos, peut engendrer un biais dans l'estimation des paramètres photosynthétiques lorsqu'il n'est pas pris en compte.

- [2] L'étude de la capacité migratoire du microphytobenthos en réponse aux cycles de marée et d'éclairement a révélé la complexité du comportement des microalgues qui composent le biofilm. Dans des conditions où l'expérience a impliqué un forçage expérimental conduisant à une alternance asynchrone entre les phases d'immersion et d'émersion par rapport à la dynamique marégraphique du site d'étude, le microphytobenthos a démontré une capacité à maintenir ce rythme endogène grâce à une horloge interne. Cette particularité met en lumière une adaptation évolutive qui permet au microphytobenthos de maximiser sa photosynthèse, d'optimiser sa survie et met également en exergue l'importance de respecter la dynamique de marée et d'alternance entre nuit et jour qui à défaut, pourrait entraîner un biais des résultats en conditions expérimentales.
- [3] A l'échelle de l'estuaire de la Canche, ce travail a permis de révéler la complexité de l'évolution spatio-temporelle de la production primaire au sein d'un environnement soumis à un régime macrotidal. La variabilité de la production primaire est d'origine multifactorielle et influencée par des facteurs tels que la lumière, la porosité des sédiments, la salinité, la disponibilité des nutriments et la couverture végétale. Cette variabilité souligne l'importance de considérer les interactions complexes entre les facteurs abiotiques et biotiques pour une meilleure compréhension des enjeux associés à la production primaire dans les estuaires intertidaux.

[4] L'analyse de la réponse photophysiologique à l'échelle de la journée a révélé des variations notables dans les capacités photosynthétiques du microphytobenthos avec une production primaire plus forte durant la journée. Ces variations sont influencées par des facteurs tels que l'heure du jour, la marée, le sens d'évolution de l'intensité luminuese et le passé lumineux du microphytobenthos, ajoutant une dimension temporelle à la dynamique de production primaire à courte échelle qui semble cruciale à la compréhension de sa photophysiologie.

Le développement méthodologique issu de ce travail ainsi que la mise en lumière de l'influence de certains forçages permettent d'établir des perspectives qui, sur la base de techniques déjà existantes, pourraient permettre d'affiner les estimations de bilans de production à grande échelle ainsi que d'améliorer les prévisions de l'évolution de la production primaire du microphytobenthos dans le contexte des changements globaux.

- [1] Le milieu naturel étant soumis à des forçages multiples, le système développé permet d'aller encore plus loin que les procédures jusqu'à lors utilisées dans la compréhension de la photophysiologie microphytobenthique en étudiant l'effet de la combinaison de forçages. Ainsi, en utilisant le système d'acquisition décrit dans cette thèse, il deviendrait possible d'explorer d'autres forçages afin de connaitre leurs influences sur la production primaire individuelle ou de manière combinée. Cela pourrait conduire à l'amélioration des modèles existants pour la réalisation de bilans de production à plus grande échelle.
- [2] Les défis imposés par le changement climatique et les changements globaux devenant de plus en plus pressants, il devient essentiel d'explorer dans quelle

mesure cette variabilité spatio-temporelle peut être influencée afin de pouvoir prévoir au mieux des scénarios d'évolution de la production primaire microphytobenthique. Le système développé dans le cadre de cette thèse permettra de mieux comprendre comment l'évolution de certains paramètres tels que la pression partielle en CO₂, la montée des eaux, la hausse de la température ou encore l'acidification des eaux vont impacter les bilans de production à grande échelle.

Références bibliographiques

Adams JB, Bate GC (1999). Estuarine microalgae. In Estuaries of South Africa (Adams, J.B., Bate, G.C. & O'Callaghan, M., eds). Cambridge University Press, Cambridge. 91-117.

Admiraal W (1984). The ecology of estuarine sediment-inhabiting diatoms. Progress in Phycologycal Research. 3:269-322.

Aldridge JN, Trimmer M (2009). Modelling the distribution and growth of 'problem' green seaweed in the Medway estuary, UK. Eutrophication in Coastal Ecosystems. 1: 107-122.

Alongi DM (1998) Coastal ecosystem processes. Boca Raton: CRC Press. 419 p.

Anderson JM (1986). Photoregulation of the composition, function, and structure of thylakoid membranes. Annual Review of Plant Physiology. 37:93-136.

Anthony EJ, Dobroniak C (2000). Erosion and recycling of aeolian dunes in a rapidly infilling macrotidal estuary: the Authie, Picardy, northern France. Geological Society, London, Special Publications. 175:109–121.

Apoya-Horton MD, Yin L, Underwood GJC, Gretz MR (2006). Movement modalities and responses to environmental changes of the mudflat diatom *Cylindrotheca Closterium* (*Bacillariophyceae*). Journal of Phycology. 42:379.

Austen I, Andersen TJ, Edelvang K (1999). The influence of benthic diatoms and invertebrates on the erodibility of an intertidal mudflat, the Danish Wadden Sea. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 49:99-111.

В

Barnett A, Méléder V, Blommaert L, Lepetit B, Gaudin P, Vyverman W, Sabbe K, Dupuis C, Lavaud J. (2015). Growth form defines physiological photoprotective capacity in intertidal benthic diatoms. ISME Journal. 9:32-45.

Barnett A, Méléder V, Dupuy C, Lavaud J (2020). The vertical migratory rhythm of intertidal microphytobenthos in sediment depends on the light photoperiod, intensity, and spectrum: Evidence for a positive effect of blue wavelengths. Frontiers in Marine Science. 7:212.

Baroli I, Melis A (1998). Photoinhibitory damage is modulated by the rate of photosynthesis and by the photosystem II light-harvesting chlorophyll antenna size. Planta. 205:288-296.

Barranguet C, Kromkamp J, Peene J (1998). Factors controlling primary production and photosynthetic characteristics of intertidal microphytobenthos. Marine Ecology Progress Series. 173:117–126.

Bauer BO, Davidson-Arnott RGD, Hesp PA, Namikas SL, Ollerhead J, Walker IJ (2009). Aeolian sediment transport on a beach: Surface moisture, wind fetch, and mean transport. Geomorphology. 105:106-116.

Baustian MM (2011). Microphytobenthos of the Northern Gulf of Mexico hypoxic area and their role in oxygen dynamics. Louisiana State University.

Beaumont NJ, Austen MC, Atkins JP, Burdon D, Degraer S, Dentinho TP, Derous S, Holm P, Horton T, van Ierland E, Marboe AH, Starkey DJ, Townsend M, Zarzycki T (2007). Identification, definition and quantification of goods and services provided by marine biodiversity: Implications for the ecosystem approach. Marine Pollution Bulletin. 54:253– 265.

Beeftink WG (1985). Vegetation study as a generator for population biological and physiological research on salt marshes. Vegetatio. 62:469–486.

Behrenfeld MJ, Prasil O, Kolber ZS, Babin M, Falkowski PG (1998). Compensatory changes in Photosystem II electron turnover rates protect photosynthesis from photoinhibition. Photosynthesis Research. 58:259–268.

Bellinger BJ, Abdullahi AS, Gretz MR, Underwood GJC (2005). Biofilm polymers: relationship between carbohydrate biopolymers from estuarine mudflats and unialgal cultures of benthic diatoms. Aquatic Microbial Ecology. 38:169-180.

Beninger PG (2018). Mudflat ecology. In: Aquatic Ecology Series. Springer 7.

Benyoucef I, Blandin E, Lerouxel A, Jesus B, Rosa P, Meleder V, Launeau P, Barillé L (2014). Microphytobenthos interannual variations in a north-European estuary (Loire estuary, France) detected by visible-infrared multispectral remote sensing. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 136:43–52.

Berg P, Risgaard-Petersen N, Rysgaard S (1998). Interpretation of measured concentration profiles in sediment pore water. Limnology and Oceanography 43:1500–1510.

Bernardino AF, Netto SA, Pagliosa PR, Barros F, Christofoletti RA, Filho JSR, Colling A, Lana PC (2015). Predicting ecological changes on benthic estuarine assemblages through decadal

climate trends along Brazilian Marine Ecoregions. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 166:74-82.

Bianchi TS (2007). Biogeochemistry of Estuaries. (Bianchi TS, eds). Oxford University Press, Oxford.

Billerbeck M, Røy H, Bosselmann K, Huettel M (2007). Benthic photosynthesis in submerged Wadden Sea intertidal flats. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 71:704-716.

Birch GF (2017). Assessment of human-induced change and biological risk posed by contaminants in estuarine/harbour sediments: Sydney Harbour/estuary (Australia). Marine Pollution Bulletin. 116:234-248.

Blackford JC (2002). The Influence of Microphytobenthos on the Northern Adriatic Ecosystem: A Modelling Study. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 55:109-123.

Blanchard GF (1990). Overlapping microscale dispersion patterns of meiofauna and microphytobenthos. Marine Ecology Progress Series. 68:101-111.

Blanchard GF, Guarini JM, Gros P, Richard P (1997). Seasonal effect on the relationship between the photosynthetic capacity of intertidal microphytobenthos and temperature. Journal of Phycology. 33:723-728.

Blanchard GF, Paterson DM, Stal LJ, Richard P, Galois R, Huet V, Kelly J, Honeywill C, de Brouwer J, Dyer K, Chrsitie M, Seguignes M (2000). The effect of geomorphological structures on potential biostabilisation by microphytobenthos on intertidal mudflats. Continental Shelf Research. 20:1243-1256.

Blommaert L, Lavaud J, Vyverman W, Sabbe K (2017). Behavioural versus physiological photoprotection in epipelic and epipsammic benthic diatoms. European Journal of Phycology. 53:146-155.

Boerema A, Meire P (2016). Management for estuarine ecosystem services: A review. Ecological Engineering. 98:172-182.

Borrego BB, Melo LBU, Gracioso LH, Cardoso LOB, Perpetuo EA (2023). Photoautotrophic microorganisms from mangroves: a review of the ecological role and bioproducts of commercial interest. Biofuels Bioproducts and Biorefining. 17:1457-1477.

Booi S, Mishi S, Oddgeir A (2022). Ecosystem services: A systematic review of provisioning and cultural ecosystem services in estuaries. Sustainability. 14:7252.

Boudreau BP, Jørgensen B (2001). The Benthic Boundary Layer: Transport Processes and Biogeochemistry (Boudreau BP and Jorgensen BB, eds). Oxford, 211.

Bourgeois S, Hochard S, Pringault O (2010). Subtidal microphytobenthos: effects of inorganic and organic compound supplies on migration, production, and respiration in a tropical coastal environment. Aquatic Microbial Ecology. 61:13-29.

Brito AC, Benyoucef I, Jesus B, Brotas V, Gernez P, Mendes CR, Launeau P, Dias MP, Barillé L (2013). Seasonality of microphytobenthos revealed by remote-sensing in a South European estuary. Continental Shelf Research. 66:83–91.

Brotas V, Catarino F (1995). Microphytobenthos primary production of Tagus estuary intertidal flats (Portugal). Netherlands Journal of Aquatic Ecology. 29:333.

Buckee J, Hetzel Y, Edge W, Verduin J and Pattiaratchi C (2022). Daily timing of low tide drives seasonality in intertidal emersion mortality risk. Frontiers in Marine Science. 9:904191.

Buth GJC, Voesenek LACJ (1987). Decomposition of standing and fallen litter of halophytes in a Dutch salt marsh. In Vegetation between land and sea (Huiskes, A.H.L., Blom, C.W.P.M. & Rozema, J., eds). Springer, Dordrecht. 11:146-162.

С

Caballero Y, Voirin-Morel S, Habets F, Noilhan J, LeMoigne P, Lehenaff A, Boone A (2007). Hydrological sensitivity of the Adour-Garonne river basin to climate change. Water Resources Research. 43:W07448.

Cadée GC, Hegeman J (1974). Primary production of the benthic microflora living on tidal flats in the Dutch Wadden sea. Netherlands Journal of Sea Research. 8:260-291.

Cai WJ, Sayles FL (1996). Oxygen penetration depths and fluxes in marine sediments. Marine Chemistry. 52:123–131.

Cahoon LB (2006). Functioning of microphytobenthos in estuaries (J. Kromkamp, eds). Amsterdam, 99.

Cao C, Zhu K, Cai F, Qi H, Liu J, Lei G, Mao Z, Zhao S, Liu G, Su Y (2022). Vulnerability evolution of coastal erosion in the Pearl River estuary great bay area due to the influence of human activities in the past forty years. Frontiers in Marine Science 9:847655.

Cariou V, Blanchard GF, (1995). Monthly HPLC measurements of pigment concentration from an intertidal muddy sediment of Marennes-Oléron Bay, France, Marine Ecology Progress Series. 121:171-179.

Cartaxana P, Ruivo M, Hubas C, Davidson I, Serôdio J, Jesus B (2011). Physiological versus behavioral photoprotection in intertidal epipelic and epipsammic benthic diatom communities. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 405:120-127.

Cartaxana P, Vieira S, Ribeiro L, Rocha RJM, Cruz S, Calado R, da Silva JM (2015). Effects of elevated temperature and CO₂ on intertidal microphytobenthos. BMC Ecology 15:10.

Cartaxana P, Cruz S, Gameiro C, Kühl M (2016). Regulation of intertidal microphytobenthos photosynthesis over a diel emersion period is strongly affected by diatom migration patterns. Frontiers in Microbiology 7:872.

Cartaxana P, Ribeiro L, Goessling JW, Cruz S, Kühl M (2016). Light and O₂ microenvironments in two contrasting diatom-dominated coastal sediments. Marine Ecology Progress Series. 545:35–47.

Cavalcanti LF, Cutrim MVJ, Lourenço CB, Sá AKDS, Oliveira ALL, de Azevedo-Cutrim ACG (2020). Patterns of phytoplankton structure in response to environmental gradients in a macrotidal estuary of the Equatorial Margin (Atlantic coast, Brazil). Estuarine, Coastal and Shelf Science. 245:106969.

Chen X, Guhl J (2018). Industrial Robot Control with Object Recognition based on Deep Learning. Procedia CIRP. 76:149-154.

Chennu A, Färber P, Volkenborn N, Al-Najjar MAA, Janssen F, de Beer Dn Polerecky L (2013). Hyperspectral imaging of the microscale distribution and dynamics of microphytobenthos in intertidal sediments. Limnology and Oceanography Methods. 11:511-528.

Chevalier EM, Gevaert F, Créach A (2010). *In situ* photosynthetic activity and xanthophylls cycle development of undisturbed microphytobenthos in an intertidal mudflat. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 385:44–49.

Chmura GL, Anisfeld SC, Cahoon DR, Lynch JC (2003). Global carbon sequestration in tidal, saline wetland soils. Global Biogeochemical Cycles. 17:22.

Christianen M, Middelburg JJ, Holthuijsen S, Jouta J, Compton T, Van der Heide T, Piersma T, Sinninghe Damsté JS, Van der Veer H, Schouten SJ (2017). Benthic primary producers are key to sustain the Wadden Sea food web: stable carbon isotope analysis at landscape scale, Ecology. 98:1498.

Cirulis JT, Scott JA, Ross GM (2013). Management of oxidative stress by microalgae. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. 91:249.

Cloern JE, Foster S, Kleckner A (2014). Phytoplankton primary production in the world's estuarine-coastal ecosystems. Biogeosciences. 11:2477.

Cloern JE, Abreu PC, Carstensein J, Chauvaud L, Elmgren R, Grall J, Greening H, Johanson JOR, Kahru M, Sherwood ET, Xu J, Yin K (2016). Human activities and climate variability drive fast-paced change across the world's estuarine–coastal ecosystems. Global Change Biology. 22:513-529.

Cohn SA, Disparti. NC (1994). Environmental factors influencing diatom cell motility. Journal of Phycology. 30:818–828.

Coelho H, Vieira S, Serôdio J (2009). Effects of desiccation on the photosynthetic activity of intertidal microphytobenthos biofilms as studied by optical methods. Journal of Experimental Marine Biology. 381:98-104.

Coelho H, Vieira S, Serôdio J (2011). Endogenous versus environmental control of vertical migration by intertidal benthic microalgae. European Journal of Phycology. 46: 271-281.

Cohn SA, Dunbar S, Ragland R, Schulze J, Suchar A, Weiss J, Wolske A (2016). Analysis of light quality and assemblage composition on diatom motility and accumulation rate. Diatom Research. 31:173-184.

Colijn F, van Buurt G (1975). Influence of light and temperature on the photosynthetic rate of marine benthic diatoms. Marine Biology. 31:209-214.

Colijn F, de Jonge VN (1984). Primary production of microphytobenthos in the Ems-Dollard estuary. Marine Ecology Progress Series. 14:185-196.

Consalvey M, Paterson DM, Underwood GJC (2004). The ups and downs of life in benthic biofilms: migration of benthic diatoms. Diatom Research. 19:181–202.

Consalvey M, Perkins RG, Paterson DM, Underwood GJC (2005). PAM fluorescence: a beginners guide for benthic diatomists. Diatom Research. 20: 1–22.

Cook PLM, Røy H (2006). Advective relief of CO₂ limitation in microphytobenthos in highly productive sandy sediments. Limnology and Oceanography. 51:1594-1601.

Coutinho R, Zingmark R (1987). Diurnal photosynthetic responses to light by macroalgae. Journal of Phycology. 23:336–343.

D

Daggers TD, Kromkamp JC, Herman PMJ, Van Der Wal D (2018). A model to assess microphytobenthic primary production in tidal systems using satellite remote sensing, Remote Sensing of Environment. 211:129-145.

Daggers TD, Herman PMJ, van der Wal D (2020). Seasonal and spatial variability in patchiness of microphytobenthos on intertidal flats from sentinel-2 satellite imagery. Frontiers of Materials Science. 7:392.

Danovaro R, Marrale D, Della Croce N, Parodi P, Fabiano M (1999). Biochemical composition of sedimentary organic matter and bacterial distribution in the Aegean Sea: trophic state and pelagic-benthic coupling. Journal of Sea Research. 42:117–129.

Day JH, Blaber SJM, Wallace JH (1981). Estuarine fishes. In: Estuarine ecology with particular reference to Southern Africa (Day JH, eds.). Balkena. pp. 197-221.

Davoult D, Migné A, Créach A, Gevaert F, Hubas C, Spilmont N, Boucher G (2009). Spatiotemporal variability of intertidal benthic primary production and respiration in the western part of the Mont Saint-Michel Bay (Western English Channel, France). Hydrobiologia. 620:163-172.

de Brouwer JFC, Stak, LJ (2001). Short-term dynamics in microphytobenthos distribution and associated extracellular carbohydrates in surface sediments of an intertidal mudflat. Marine Ecology Progress Series. 218:33-44.

Deffeyes KS (1965). Carbonate equilibria: a graphic and algebraic approach. Limnology and Oceanography. 10:412-426.

Degré D, Leguerrier D, Armynot du Chatelet E, Rzeznik J, Auguet JC, Dupuy C, Marquis E, Fichet D, Struski C, Joyeux E, Sauriau P-G, Niquil N (2006). Comparative analysis of the food webs of two intertidal mudflats during two seasons using inverse modelling: Aiguillon cove and brouage mudflat, France. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 69:107-124.

Demmig-Adams B, Garab G, Adams III W, Govindjee G (2014). Non-photochemical quenching and energy dissipation in plants, algae and cyanobacteria. In: Advances in Photosynthesis and Respiration. 40.

Denis L, Desreumaux PE (2009). Short-term variability of intertidal microphytobenthic production using an oxygen microprofiling system. Marine and Freshwater Research. 60:712-726.

Denis L, Gevaert F, Spilmont N (2012). Microphytobenthic production estimated by *in situ* oxygen microprofiling: short-term dynamics and carbon budget implications. Journal of Soils and Sediments. 12:1517–1529.

Dobroniak C (2005). Morphological evolution and management proposals in the Authie Estuary, northern France. 537–545.

Du GY, Chung IK (2009). Estimating areal production of intertidal microphytobenthos based on spatio-temporal community dynamics and laboratory measurements. Ocean Science Journal. 44:189-197.

Du GY, Yan H, Liu C, Mao Y (2018). Behavioral and physiological photoresponses to light intensity by intertidal microphytobenthos. Journal of Oceanology and Limnology. 36:293–304.

Ε

Edgar GJ, Barrett NS, Graddon DJ, Last PR (2000). The conservation significance of estuaries: a classification of Tasmanian estuaries using ecological, physical and demographic attributes as a case study. Biological Conservation. 92:383–397.

Edwards KF, Thomas MK, Klausmeier CA, Litchman E (2016). Phytoplankton growth and the interaction of light and temperature: A synthesis at the species and community level. Limnology and Oceanography. 61:1232-1244.

Eilers PHC, Peeters JCH (1988). A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton. Ecological Modelling. 42: 199–215.

Elaraby NM, Elmogy M, Barakat S (2016). Deep learning: effective tool for big data analytics. International Journal of Computer Science Engineering. 5:254-262.

Erwin RM (1996). Dependence of waterbirds and shorebirds on shallow-water habitats in the Mid-Atlantic Coastal Region: An Ecological Profile and Management Recommendations. Estuaries. 19:213.

F

Falkowski PG, Owens TG (1980). Light-shade adaptation. Plant Physiology. 66:592–595.

Falkowski PG, Kolber Z (1995). Variations in chlorophyll fluorescence yields in phytoplankton in the world oceans. Australian Journal of Plant Physiology. 22:341-355.

Falkowski PG, Raven JA (1997). Aquatic Photosynthesis. Princeton University Press, Malden.

Fick A (1995). On liquid diffusion. Journal of Membrane Science. 100:33–38.

Field CB, Behrenfield MJ, Randerson JT, Falkowski P (1998). Primary production of the biosphere: Integrating terrestrial and oceanic components. Science. 281:237-240.

Fischer HB (1976). Mixing and dispersion in estuaries. Annual Review of Fluid Mechanics. 8:107-133.

Flemming BW, Delafontaine MT (2000). Mass physical properties of muddy intertidal sediments: some applications, misapplications and non-applications. Continental Shelf Research. 20:1179–1197.

Flindt M, Ângelo Pardal M, Lillebø AI, Martins I, Carlos Marques J (1999). Nutrient cycling and plant dynamics in estuaries: A brief review. Acta Oecologica. 4:237-248.

Forster RM, Kromkamp JC (2004). Modelling the effects of chlorophyll fluorescence from subsurface layers on photosynthetic efficiency measurements in microphytobenthic algae. Marine Ecology Progress Series. 284:9-22.

Foster RG, Kreitzman L (2014). The rhythms of life: what your body clock means to you! Experimental Physiology. 99:559-606.

Francescangeli F, Bouchet VMP, Trentesaux A, Armynot du Chatelet E (2017). Does elevation matter? Living foraminiferal distribution in a hyper tidal salt marsh (Canche Estuary, Northern France). Estuarine, Coastal and Shelf Science. 194:192-204.

Frankenbach S, Ezequiel J, Plecha S, Goessling JW, Vaz L, Kühl M, Dias JM, Vaz N, Serôdio J, (2020). Synoptic spatio-temporal variability of the photosynthetic productivity of microphytobenthos and phytoplankton in a tidal estuary. Frontiers in Marine Science. 7:1.

G

García-Robledo E, Corzo A, Papaspyrou S, Morris EP (2012). Photosynthetic activity and community shifts of microphytobenthos covered by green macroalgae. Environmental Microbiology Reports. 4:316-325.

Garcia HE, Gordon LI (1992). Oxygen solubility in seawater: better fitting equations. Limnology and Oceanography. 37:1307–1312.

Garnier J, Romarson A, Billen G, Théry S, Thiéry D, Thieu V, Minaudo C, Moatar F (2018). Nutrient inputs and hydrology together determine biogeochemical status of the Loire River (France): Current situation and possible future scenarios. Science of The Total Environment. 637:609-624. Gattuso JP, Frankignoulle M, Wollast R (1998). Carbon and carbonate metabolism in coastal aquatic ecosystems. Annual Review of Ecology and Systematics. 29:405–434.

Geider RJ, La Roche J, Greene RM, Olaizola M (1993). Response of the photosynthetic apparatus of *Phaeodactylum tricornutum* (*bacillariophyceae*) to nitrate, phosphate, or iron starvation. Journal of Phycology. 29:755.

Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects. 990:87–92.

Gerbersdorf S, Meyercordt J, Meyer-Reil L (2005). Microphytobenthic primary production in the Bodden estuaries, southern Baltic Sea, at two study sites differing in trophic status. Aquatic Microbial Ecology. 41:181–198.

Glé C, Del Amo Y, Sautour B, Laborde P, Chardy P (2008). Variability of nutrients and phytoplankton primary production in a shallow macrotidal coastal ecosystem (Arcachon Bay, France). Estuarine, Coastal and Shelf Science. 76:642-656.

Glud RN, Ramsing NB, Revsbech NP (1992). Photosynthesis and photosynthesis-coupled respiration in natural biofilms quantified with oxygen microsensors. Journal of Phycology. 28:51-60.

Glud RN (2006). Microscale techniques to measure photosynthesis: A mini-review. In Functioning of microphytobenthos (Kromkamp J, Brouwer FC, Blanchard GF, Forster RM, Creach V, eds). Proceedings from Amsterdam-colloquium 21-23 August 2003. 31-42.

Graf G (1992). Benthic-pelagic coupling: a benthic view. Oceanography and Marine Biology: An Annual Review.

Gray JS (1997). Marine biodiversity: patterns, threats and conservation needs Biodiversity & Conservation. 6:153–175.

Green DS, Boots B, Sigwart J, Jiang S, Rocha C (2016). Effects of conventional and biodegradable microplastics on a marine ecosystem engineer (*Arenicola marina*) and sediment nutrient cycling. Environmental Pollution. 208:426-434.

Greene RM, Geider RJ, Falkowski PG (1991). Effect of iron limitation on photosynthesis in a marine diatom. Limnology and Oceanography. 36:1772.

Griffiths JR, Kadin M, Nascimento FJ, Tamelander T, Törnroos A, Bonaglia S, Bonsdorff E, Brüchert V, Gårdmark A, Järnström M (2017). The importance of benthic–pelagic coupling for marine ecosystem functioning in a changing world. Global Change Biology. 23:2179–2196.

Guarini JM, Blanchard GF, Bacher C, Gros P, Riera P, Richard P, Gouleau D, Galois R, Prou J, Sauriau PG (1998). Dynamics of spatial patterns of microphytobenthic biomass: inferences from a geostatistical analysis of two comprehensive surveys in Marennes-Oléron Bay (France). Marine Ecology Progress Series. 166:131–141.

Guarini JM, Blanchard GF, Gros P, Gouleau D, Bacher C (2000). Dynamic model of the shortterm variability of microphytobenthic biomass on temperate intertidal mudflats. Marine Ecology Progress Series. 195: 291-303.

Guarini JM, Blanchard G, Richard P (2006). Modelling the dynamics of the microphytobenthic biomass and primary production in European intertidal mudflats. In : Functioning of microphytobenthosin estuaries. (Kromkamp JC, de Brouwer JFC, Blanchard GF, Forster RM, Créach V, eds). Proceedings of the Colloquium, Amsterdam. 187-226.

Guarini JM, Blanchard GF, Gros P and Richard P (2008). Modelling the mud surface temperature on intertidal flats to investigate the spatio-temporal dynamics of the benthic microalgal photosynthetic capacity. Journal of Phycology. 153:25-36.

Guenther JE, Nemson JA, Melis A (1988). Photosystem stoichiometry and chlorophyll antenna size in *Dunaliella salina* (green algae). Biochimica et Biophysica Acta. 934, 108-117.

Η

Ha HJ, Kim H, Noh J, Ha HK, Khim JS (2018). Rainfall effects on the erodibility of sediment and microphytobenthos in the intertidal flat. Environmental Pollution. 242:2051-2058.

Hamon BV (1966). Continental shelf waves and the effects of atmospheric pressure and wind stress on sea level. Journal of Geophysical Research. 71:2883.

Hanelt D, Huppertz K, Nultsch W (1993). Daily course of photosynthesis and photoinhibition in marine macroalgae investigated in the laboratory and field. Marine Ecology Progress Series. 97:31–37.

Hargrave BT (1972). Assessment of sediment trap collection efficiency. Limnology and Oceanography. 24:1124-1136.

Hartig P, Wolfstein K, Lippermeier S, Colijn F (1998). Photosynthetic activity of natural microphytobenthos populations measured by fluorescence (PAM) and ¹⁴C-tracer methods: A comparison. Marine Ecology Progress Series. 166:53-62.

Haro S, Bohórquez J, Lara M, Garcia-Robledo E, González CJ, Crespo JM, Papaspyrou S, Corzo A (2019). Diel patterns of microphytobenthic primary production in intertidal sediments:

the role of photoperiod on the vertical migration circadian rhythm. Scientific Reports. 9:13376.

Hay WW (2014). The accelerating rate of global change. Anthropocene - Natural and manmade alterations of the Earth. 25:29-48.

Headrich R (1983). Estuarine fishes.

Henley WJ (1993). Measurement and interpretation of photosynthetic light-response curves in algae in the context of photoinhibition and diel changes. Journal of Phycology. 29:729–739.

Héquette A, Hemdane Y, Anthony EJ (2008). Determination of sediment transport paths in macrotidal shoreface environments: a comparison of grain-size trend analysis with nearbed current measurements. Journal of Coastal Research. 24:695–707.

Herbold B, Bush E, Castillo G, Colombano D, Hartman R, Lehman P, Mahardja B, Sommer T (2022). Climate change impacts on San Francisco estuary aquatic ecosystems: A review. San Francisco Estuary and Watershed Science. 20.

Herman PMJ, Middelburg JJ, Van De Koppel J, Heip CHR (1999). Ecology of Estuarine Macrobenthos. In: Advances in Ecological Research. Elsevier. 195–240.

Hermes T, Bühner M, Bücher C, Sundermeier C, Dumschat C, Borchardt M, Cammann K, Knoll M (1994). An amperometric microsensor array with 1024 individually addressable elements for two-dimensional concentration mapping. Sensors and Actuators. 21:33-37.

Hill D, Rushton SP, Clark N, Green P, Prys-Jones R (1993). Shorebird communities on British estuaries: factors affecting community composition. Journal of Applied Ecology. 30:220–234.

Hochard S, Pinazo C, Grenz C, Burton Evans JL, Pringault O (2010). Impact of microphytobenthos on the sediment biogeochemical cycles: A modeling approach. Ecological Modelling. 221:1687-1701.

Hope JA, Paterson DM, Trush SF (2019). The role of microphytobenthos in soft-sediment ecological networks and their contribution to the delivery of multiple ecosystem services. Journal of Ecology. 108:815-830.

Hopkins JT (1963). A Study of the Diatoms of the Ouse Estuary, Sussex III. The Seasonal Variation in the Littoral Epiphyte Flora and the Shore Plankton. Journal of the Marine Biological Association United Kingdom. 43:653.

Hopkinson CS, Giblin AE, Tucker J, Garritt RH (1999). Benthic metabolism and nutrient cycling along an estuarine salinity gradient. Estuaries. 22:863-881.

Hossain MB, Marshall DJ, Venkatramanan S (2014). Sediment granulometry and organic matter content in the intertidal zone of the Sungai Brunei estuarine system, northwest coast of Borneo. Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences. 9:231-239.

Huisman J, Matthijs HC, Visser PM, Balke H, Sigon CA, Passarge J, Mur LR (2002). Principles of the light-limited chemostat: theory and ecological applications. Antonie van Leeuwenhoek. 81: 117-133.

Human LRD, Magoro ML, Dalu T, Perissionotto R, Whithfield AK, Adams JB, Deyzel SHP, Risworth GM (2018). Natural nutrient enrichment and algal responses in near pristine micro-estuaries and micro-outlets. Science of the Total Environment. 624:945-954.

Hume TM, Bell RG, de Lange WP, Healy TR, Hicks DM, and Kirk RM (1992). Coastal oceanography and sedimentology in New Zealand, 1967–91. Marine and Freshwater Research. 26:1-36.

dier D. Dumas F. Muller H (2012) Tide-surge interaction in the English Channel Natur

L

Idier D, Dumas F, Muller H (2012). Tide-surge interaction in the English Channel. Natural Hazards and Earth System Sciences. 12:3709-3718.

Izegaegbe JI, Vivier L, Mzimela HMM (2023). Assessment of metal pollution in sediment and its impact on the macrobenthic community of Richards Bay Harbour, South Africa. African Journal of Aquatic Science. 48:123-137.



Jacobs P, Pitarch J, Kromkamp JC, Philippart CJM (2021). Assessing biomass and primary production of microphytobenthos in depositional coastal systems using spectral information. PLoS ONE 16:e0246012.

Jansson S (1994). The light-harvesting chlorophyll *ab*-proteins. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics. 1184:1-19.

Jassby AD, Platt T (1976). Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. Limnology and Oceanography. 21:540–547.

Jesus B, Brotas V, Marani M, Paterson DM (2005). Spatial dynamics of microphytobenthos determined by PAM fluorescence. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 65:30-42.

Jesus B, Perkins RG, Consalvey MC, Brotas V, Paterson DM (2006). Effects of vertical migration by benthic microalgae on fluorescence measurements of photophysiology. Marine Ecology Progress Series. 315:55-66.

Jesus B, Brotas V, Ribeiro L, Mendes CR, Cartaxana P, Paterson DM (2009). Adaptations of microphytobenthos asssemblages to sediment type and tidal position. Continental Shelf Research. 29:1624-1634.

Jordan L, McMinn A, Thompson P (2009). Diurnal changes of photoadaptive pigments in microphytobenthos. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. 90:1025-1032.

Josefson AB, Norkko J, Norkko A (2012). Burial and decomposition of plant pigments in surface sediments of the Baltic Sea: role of oxygen and benthic fauna. Marine Ecology Progress Series. 455: 33–49.

Κ

Kennish MJ (2022). Management strategies to mitigate anthropogenic impacts in estuarine and coastal marine environments: A review. Open Journal of Ecology. 12:667-688.

Key T, McCarthy A, Campbell DA, Six C, Roy S, Finkel ZV (2010). Cell size trade-offs govern light exploitation strategies in marine phytoplankton. Environmental Microbiology. 12:95-104.

Kim JH, Nemson JA, Melis A (1993). Photosystem II reaction center damage and repair in *Dunaliella salina* (green alga) (analysis under physiological and irradiance-stress conditions). Plant Physiology. 103:181-189.

Kingston MB (2002). Effect of subsurface nutrient supplies on the vertical migration of Euglena proxima (Euglenophyta). Journal of Phycology. 38:872–880.

Kirst GO (1989). Salinity tolerance of eukaryotic marine algae. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 40:21-53.

Kok B (1956). Photosynthesis in flashing light. Biochimica et Biophysica Acta. 21:245-258.

Kooistra WHCF, Gersonde R, Medlin LK, Mann DG (2007). The Origin and the Evolution of the Diatoms: Their Adaptation to a Planktonic Existence. In: Evolution of Primary Producers in the Sea (Falkowski PG, Knoll AH, eds). Elsevier Academic Press: Burlington. 207-249.

Kossina E (1921). Die Tiefen des Weltmeeres.

Kromkamp J, Limbeek M (1993). Effect of short-term variation in irradiance on light harvesting and photosynthesis of the marine diatom *Skeletonema costatum*: a laboratory study simulating vertical mixing. Microbiology. 139:2277–2284.

Kromkamp JC, Barranguet C, Peene J (1998). Determination of microphytobenthos PSII quantum efficiency and photosynthetic activity by means of variable chlorophyll fluorescence. Marine Ecology Progress Series. 162:45–55.

Kromkamp J, Forster RM (2006). Developments in microphytobenthos primary productivity studies. In: Functioning of Microphytobenthos in Estuaries (Kromkamp J, de Brouwer JFC, Blanchard G, Forster RM, Créach V, eds). Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences: Amsterdam. 9-30.

Kuczynska P, Jemiola-Rzeminska M, Nowicka B, Jakubowska A, Strzalka W, Burda K, Strzalka K (2020). The xanthophyll cycle in diatom *Phaeodactylum tricornutum* in response to light stress. Plant Physiology and Biochemistry. 152:125-137.

Kühl M, Lassen C, Revsbech NP (1997). A simple light meter for measurements of PAR (400 to 700 nm) with fiber-optic microprobes: application for P vs E_0 (PAR) measurements in microbial mat. Aquatic Microbial Ecology. 13:197-207.

Kwon BO, Koh CH, Khim JS (2014). The relationship between primary production of microphytobenthos and tidal cycle on the Hwaseong mudflat, west coast of Korea. Journal of Coastal Research. 30:1188-1196.

Kwon BO, Kim HC, Koh CH, Ryu J, Son S, Kim YH, Khim JS (2018). Development of temperature-based algorithms for the estimation of microphytobenthic primary production in tidal flat: a case study in Daebu mudflat, Korea. Environmental Pollution. 241:115-123.

Kwon BO, Kim H, Noh J, Lee SY, Nam J, Khim JS (2020). Spatiotemporal variability in microphytobenthic primary production across bare intertidal flat, saltmarsh, and mangrove forest of Asia and Australia. Marine Pollution Bulletin. 151:110707.

Kwon S, Kim D, Moon T, Son JE (2023). Evaluation of the light use efficiency and water use efficiency of sweet peppers subjected to supplemental interlighting in greenhouses. Horticulture. Environment and Biotechnology. 64:605-614.

L

Lakatos GE, Ranglová K, Câmara Manoel J, Grivalský T, Masojídek J (2021). Photosynthetic monitoring techniques indicate maximum glycogen accumulation in nitrogen-limited *Synechocystis sp.* PCC 6803 culture. Algal Research. 55:102271.

Lancelot C, Mathot S (1985). Biochemical fractionation of primary production by phytoplankton in Belgian coastal waters during short- and long-term incubations with ¹⁴C-bicarbonate. Marine Biology. 86:227-232.

Lassen C, Glud RN, Ramsing NB, Revsbech NP (1998). A method to improve the spatial resolution of photosynthetic rates obtained by oxygen microsensors. Journal of Phycology 34:89–93.

Latowski D, Grzyb J, Strzałka K (2004). The xanthophyll cycle - molecular mechanism and physiological significance. Acta Physiologiae Plantarum. 26:197-212.

Lauchlan S, Nagelkerken I (2019). Species range shifts along multistressor mosaics in estuarine environments under future climate. Fish and Fisheries. 00:1-15.

Laviale M, Frankenbach S, Serôdio J (2016). The importance of being fast: comparative kinetics of vertical migration and non-photochemical quenching of benthic diatoms under light stress. Marine Biology. 163:13.

Le Hir P, Monbet Y, Orvain F (2007). Sediment erodability in sediment transport modelling: can we account for biota effects? Continental Shelf Research. 27:1116-1142.

Leal Filho W, Nagy GJ, Marthino F, Saroar M, Gómez Erache M, Primo AL, Pardal MA, Li C (2022). Influences of climate change and variability on estuarine ecosystems: an impact study in selected European, South American and Asian countries. International Journal of Environmental Research and Public Health. 19:585.

Lefebvre S, Mouget JL, Lavaud J (2011). Duration of rapid light curves for determining the photosynthetic activity of microphytobenthos biofilm *in situ*. Aquatic Botany. 95:0-8.

Leguerrier D, Niquil N, Boileau N, Rzeznik J, Sauriau PG, Le Moine OA, Bacher C (2003). Numerical analysis of the food web of an intertidal mudflat ecosystem on the Atlantic coast of France. Marine Ecology Progress Series. 246:17-37.

Le Rouzic B (2012). Changes in photosynthetic yield (F_v/F_m) responses of salt-marsh microalgal communities along an osmotic gradient (Mont-Saint-Michel Bay, France). Estuarine, Coastal and Shelf Science. 115:326-333.

Leuven JRF, Pierik HJ, van der Vegt M, Bouma TJ, Kleinhans MG (2019). Sea-level-riseinduced threats depend on the size of tide-influenced estuaries worldwide. Nature climate change. 9:986-992.

Leeuwis RHJ, Gamperl AK (2022). Adaptations and plastic phenotypic responses of marine animals to the environmental challenges of the high intertidal zone. Oceanography and Marine Biology: An Annual Review. 60:625-680.

Leguerrier D, Niquil N, Boileau N, Rzeznik J, Sauriau PG, Le Moine OA, Bacher C (2003). Numerical analysis of the food web of an intertidal mudflat ecosystem on the Atlantic coast of France. Marine Ecology Progress Series. 246:17-37.

Leuven JRF, Pierik HJ, van der Vegt M, Bouma TJ, Kleinhans MG (2019). Sea-level-riseinduced threats depend on the size of tide-influenced estuaries worldwide. Nature climate change. 9:986-992.

LLari M, Souza AT, Dias E, Antunes C (2022). Influence of climate change and extreme weather events on an estuarine fish community. Science of The Total Environment. 827:154190.

Longphuirt SN, Leynaert A, Guarini JM, Chauvaud L, Claquin P, Herlory O, Amice E, Huonnic P, Ragueneau O (2006) Discovery of microphytobenthos migration in the subtidal zone. Marine Ecology Progress Series. 328:143-154.

Lorenzen CJ (1967). Determination of chlorophyll and pheo-pigments: spectrophotometric equations. Limnology and Oceanography. 12:343–346.

Μ

MacIntyre HL, Geider RJ, Miller DC (1996). Microphytobenthos: the ecological role of the "secret garden" of unvegetated, shallow-water marine habitats. Distribution, abundance and primary production. Estuaries. 19:186–201.

Mackin JE, Aller JC (1984). Ammonium adsorption in marine sediments. Limnology and Oceanography. 29:250–257.

Malone TC, Crocker LH, Pike SE, Wendler BW (1988). Influences of river flow on the dynamics of phytoplankton production in a partially stratified estuary. Marine Ecology Progress Series. 48:235-249.

Manning AJ, Dyer KR (2002). A comparison of floc properties observed during neap and spring tidal conditions. Proceedings in Marine Science. 5:233–250

Mann DG (1989). The chromophyte algae: Problems and perspectives, Green, J. C. (Ed.). Oxford. 307.

Marion C, Anthony EJ, Trentesaux A (2009). Short-term (≤ 2 yrs) estuarine mudflat and saltmarsh sedimentation: High-resolution data from ultrasonic altimetry, rod surface-elevation table, and filter traps. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 83:475–484.

Martins N, Barreto L, Bartsch I, Bernard J, Serrão EA, Pearson GA (2022). Daylength influences reproductive success and sporophyte growth in the Arctic kelp species *Alaria esculenta*. Marine Ecology Progress Series. 683:37–52.

Masini RJ, McComb AJ (2001). Production by microphytobenthos in the Swan–Canning Estuary. Hydrological Processes. 15:2519-2535.

McClain ME, Boyer EW, Dent CL, Gergel SE, Grimm NB, Groffman PM, Hart SC, Harvey JW, Johnston CA, Mayorga E (2003). Biogeochemical hot spots and hot moments at the interface of terrestrial and aquatic ecosystems. Ecosystems. 6:301–312.

McIntire CD, Wulff BL (1969). A laboratory method for the study of marine benthic diatoms. Limnology and Oceanography. 14:667–678.

McIntyre HL, Geider RJ, Miller DC (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.

McLusky DS (1993). Marine and estuarine gradients – An overview. Netherlands Journal of Aquatic Ecology. 27:489-493.

McLusky DS, Eliott M (2006). The Estuarine Ecosystem - ecology, threats and management. Oxford University Press, 214 pp.

McMinn A, Lee S, (2018). Use of glucose biosensors to measure extracellular glucose exudation by intertidal microphytobenthos in southern Tasmania. Journal of Phycology.54:410-418.

Méléder V, Launeau P, Barillé L, Rincé Y (2003). Microphytobenthos assemblage mapping by spatial visible-infrared remote sensing in a shellfish ecosystem. Comptes Rendus Biologies. 326:377-389.

Méléder V, Barillé L, Rincé Y, Morançais M, Rosa P, Gaudin P (2005). Spatio-temporal changes in microphytobenthos structure analysed by pigment composition in a macrotidal flat (Bourgneuf Bay, France). Marine Ecology Progress Series. 297:83-99.

Méléder V, Savelli R, Barnett A, Polsenaere P, Gernez P, Cugier P, Lerouxel A, Le Bris A, Dupuys C, Le Fouest V, Lavaud J (2020). Mapping the intertidal microphytobenthos gross primary production part i: Coupling multispectral remote sensing and physical modeling. Frontiers in Marine Science. 7:520.

Melis A (1999). Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage in vivo? Trends in Plant Science. 4:130-135.

Meresse M, Gevaert F, Duong G, Denis L (2023a). A new procedure for autonomous acquisition of photosynthesis-irradiance curves on a microphytobenthic biofilm. Frontiers of Materials Science. 10:3389.

Meresse M, Gevaert F, Duong G, Denis L (2023b). Importance of emersion hour in microphytobenthos activity: a case of an intertidal mudflat. Trends in Photochemistry and Photobiology. 22.

Merikhi A, Berg P, Huettel M (2021). Technical note: novel triple O₂ sensor aquatic eddy covariance instrument with improved time shift correction reveals central role of microphytobenthos for carbon cycling in coral reef sands. Biogeosciences. 18:5381-5395.

Middelburg JJ, Vlug T, van der Nat FWA (1993). Organic matter mineralization in marine systems. Global and Planetary Change. 8:47-58.

Middelburg JJ, Soetaert K, Herman PM (1997). Empirical relationships for use in global diagenetic models. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers. 44:327–344.

Middelburg JJ, Barranguet C, Boschker HT, Herman PM, Moens T, Heip CH (2000). A closedchamber CO₂-flux method for estimating intertidal primary production and respiration under emersed conditions. Marine Biology. 140:865-869.

Migné A, Davoult D, Spilmont N, Menu D, Boucher G, Gattuso JP, Rybarczyk H (2002). A closed-chamber CO₂-flux method for estimating intertidal primary production and respiration under emersed conditions. Marine Biology. 140:865-869.

Millar A (2003). A Suite of Photoreceptors Entrains the Plant Circadian Clock. Journal of Biological Rythms. 55:217-226.

Mitra A, Zaman S (2016). Threats to Marine and estuarine ecosystems. In: Basics of marine and estuarine ecology. Springer. 366-413.

Montani S, Magni P, Abe N (2003). Seasonal and interannual patterns of intertidal microphytobenthos in combination with laboratory and areal production estimates. Marine Ecology Progress Series. 249:79-91.

Moreira F (1993). Winter macro habitat selection by birds in the Tagus estuary (Portugal): herons, flamingos, gulls and ducks. Portugaliae Zoologica. 2:16–23.

Morelle J, Orvain F, Claquin P (2018). A simple, user friendly tool to readjust raw PAM data from field measurements to avoid over- or underestimating of microphytobenthos photosynthetic parameters. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 503:136–146.

Morris E, Forster R, Peene J, Kromkamp J (2008). Coupling between Photosystem II electron transport and carbon fixation in microphytobenthos. Aquatic Microbial Ecology. 50:301–311.

Mouget J, Perkins R, Consalvey M, Lefebvre S (2008). Migration or photoacclimation to prevent high irradiance and UV-B damage in marine microphytobenthic communities. Aquatic Microbial Ecology. 52:223–232.

Müller P, Li XP, Niyogi KK (2001). Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. Plant Physiology. 125:1558-1566.

Murchie EH, Lawson T (2013). Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. Journal of Experimental Botany. 64:3983–3998.

Ν

Negi S, Perrine Z, Friedland N, Kumar A, Tokutsu R, Minagawa J, Berg H, Barry AN, Govindjee G, Sayre R (2020). Light regulation of light-harvesting antenna size substantially enhances photosynthetic efficiency and biomass yield in green algae. The Plant Journal. 103:584-603.

Nicolas D (2010). Des poissons sous influence ? Une analyse à large échelle des relations entre les gradients abiotiques et l'ichtyofaune des estuaires tidaux européens. Université de Bordeaux.

Nie J, Feng H, Witherell BB, Alebus M, Mahajan MD, Zhang W, Yu L (2018). Causes, assessment, and treatment of nutrient (N and P) pollution in rivers, estuaries, and coastal waters. Current Pollution Reports. 4:154-161.

Nielsen MM, Manns D, D'Este M, Krause-Jensen D, Rasmussen MB, Larsen MM, Alvarado-Morales M, Angelidaki I, Bruhn A (2016). Variation in biochemical composition of Saccharina latissima and Laminaria digitata along an estuarine salinity gradient in inner Danish waters. Algal Research. 13:235-245.
0

Oksiyuk OP, Davydov OA (2006). Principles of methods for the assessment of the ecological status of water bodies using microphytobenthos. Hydrobiological Journal. 42:93-106.

Oliveira VP, Bento LFJ, Prast AE (2011). Short-term spatial and temporal variation of sediment oxygen dynamics in a tropical tidal salt flat. Wetlands Ecology and Management. 19:389–395.

Oliveira VP, Bento LFJ, Nielsen LP, Prast AE (2020). CO₂ influence on oxygen dynamics and net primary production of the microphytobenthos: an experimental approach. Journal of Research in Ecology. 8:2702-2712.

Orvain F, Sauriau PG, Le Hir P, Guillou G, Cann P, Paillard M (2007). Spatio-temporal variations in intertidal mudflat erodability: Marennes-Oléron Bay, Western France. Continental Shelf Research. 27:1153-1173.

Orvain F, Lefebvre S, Montepini J, Sebire M, Gangnery A, Sylvand B (2012). Spatial and temporal interaction between sediment and microphytobenthos in a temperate estuarine macro-intertidal bay. Marine Ecology Progress Series. 458:53–68.

Orvain F, Guizien K, Lefebvre S, Bréret M, Dupuy C (2014). Relevance of macrozoobenthic grazers to understand the dynamic behaviour of sediment erodibility and microphytobenthos resuspension in sunny summer conditions. Journal of Sea Research. 92:46-55.

Owens TG, Webb SP, Mets L, Alberte RS, Fleming GR (1989). Antenna structure and excitation dynamics in photosystem I. II. Studies with mutants of *Chlamydomonas reinhardtii* lacking photosystem II. Biophysical Journal. 56:95-106.

P

Park J, Kwon BO, Kim M, Hong S, Ryu J, Song SJ, Khim JS (2014). Microphytobenthos of Korean tidal flats: A review and analysis on floral distribution and tidal dynamics. Ocean & Coastal Management. 102:471-482.

Palmer JD, Round FE (1967). Persistent, vertical-migration rhythms in benthic microflora. vi. the tidal and diurnal nature of the rhythm in the diatom *Hantzschia virgata*. Biological Bulletin. 132:609-615.

Paterson DM (1986). The migratory behaviour of diatom assemblages in a laboratory tidal micro-ecosystem examined by low temperature scanning electron microscopy, Diatom Research. 1:227-239.

Paterson DM, Wiltshire KH, Miles A, Blackburn J, Davidson I (1998). Microbiological mediation of spectral reflectance from intertidal cohesive sediments. Limnology and Oceanography. 43:1207.

Paterson DM, Hagerthey SE (2001). Microphytobenthos in Contrasting Coastal Ecosystems: Biology and Dynamics. In: Ecological Comparisons of Sedimentary Shores. (Reise K, eds). Springer-Verlag: Berlin Heidelberg. pp 106-125

Pearcy RW (1990). Sunflecks and photosynthesis in plant canopies. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 41:421-453.

Perkins R, Underwood G, Brotas V, Snow G, Jesus B, Ribeiro L (2001). Responses of microphytobenthos to light: primary production and carbohydrate allocation over an emersion period. Marine Ecology Progress Series. 223:101–112.

Perkins R, Kromkamp JC, Serôdio J, Lavaud J, Jesus B, Mouget JL, Lefebvre S, Forster RM (2010). The application of variable chlorophyll fluorescence to microphytobenthic biofilms. In Chlorophyll *a* Fluorescence in aquatic sciences: methods and applications (eds Sugget, D., Prášil, O., and Borowitzka, M.). Developpement Applied Phycology. 4:237-275.

Pickens CN, Sloey TM, Hester MW (2018). Influence of salt marsh canopy on black mangrove (Avicennia germinans) survival and establishment at its northern latitudinal limit. Hydrobiologia. 826: 195-208.

Pillay D, Perissionotto R (2009). Community structure of epibenthic meiofauna in the St. Lucia Estuarine Lake (South Africa) during a drought phase. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 81:94-104.

Pinckney JL, Zingmark RG (1993). Modelling the annual production of intertidal benthic microalgae in estuarine ecosystems. Journal of Phycology. 29:396-407.

Pinckney JL, Paerl HW, Tester P, Richardson TL (2001). The role of nutrient loading and eutrophication in estuarine ecology. Environemental Health Pespectives. 109:699-706

Pittman SJ (2017). Seascape ecology. Wiley Blackwell.

Platt T, Gallegos CL, Harrison WG (1980). Photoinhibition and photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. Journal of Marine Research. 38:687–701.

Pniewski FF, Biskup P, Bubak I, Richard P, Latala A, Blanchard G (2015). Photo-regulation in microphytobenthos from intertidal mudflats and non-tidal coastal shallows. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 152:153-161.

Pniewski F, Richard P, Latała A, and Blanchard G (2016). Non-photochemical quenching in epipsamic and epipelic microalgal assemblages from two marine ecosystems. Continental Shelf Research. 136:74-82.

Pniewski F, Piasecka-Jedrzejak I (2020). Photoacclimation to constant and changing light conditions in a benthic diatom. Frontiers in Marine Science. 7:381.

Potter IC, Beckley LE, Whitfield AK, Lenanton RCJ (1990). Comparisons between the roles played by estuaries in the life cycles of fishes in temperate Western Australia and Southern Africa. Environ Biol Fish. 28:143–178.

Prissionotto R, Nozais C, Kibirige I (2002). Spatio-temporal dynamics of phytoplankton and microphytobenthos in a South African temporarily-open estuary. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 55:47-58.

Pritchard DW (1955). Estuarine circulation patterns. Proceedings American Society of Civil Engineers. 81:I--ii.

R Core Team, 2017, A language and environnement for statistical computing, Vienna, available at: https://www.R-project.org/.

R

Rabouille C, Denis L, Dedieu K, Stora G, Lansard B, Grenz C (2003). Oxygen demand in coastal marine sediments: comparing *in situ* microelectrodes and laboratory core incubations. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 285-286:49-69.

Rasmussen MB, Henriksen K, Jensen A (1983). Possible causes of temporal fluctuations in primary production of the microphytobenthos in the Danish Wadden sea. Marine Biology. 73:109–114.

Ray GC (2005). Connectivities of estuarine fishes to the coastal realm. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 64:18–32.

Redzuan NS, Underwood GJC (2020). Movement of microphytobenthos and sediment between mudflats and salt marsh during spring tides. Frontiers in Marine Science. 7:496.

Regnier PR, Arndt S, Goossens N, Volta C, Laruelle GG, Lauerwald R, Hartmann J (2013). Modelling Estuarine Biogeochemical Dynamics: From the Local to the Global Scale. Aquatic Geochemistry. 19:591-626.

Revsbech NP (1989). An oxygen microsensor with a guard cathode. Limnology and Oceanography. 34:474-478.

Revsbech NP, JØrgensen BB, Brix O (1981). Primary production of microalgae in sediments measured by oxygen microprofile, $H^{14}CO_3^-$ fixation, and oxygen exchange methods. Limnology and Oceanography. 26:717–730.

Revsbech NP, JØrgensen BB (1983). Photosynthesis of benthic microflora measured with high spatial resolution by the oxygen microprofile method: Capabilities and limitations of the method. Limnology and Oceanography. 28: 749-756.

Revsbech NP (1989). Diffusion characteristics of microbial communities determined by use of oxygen microsensors. Journal of Microbiological Methods. 9:111-122.

Richard BW (1964). Division rates of salt marsh Diatoms in relation to salinity and cell size. Ecology. 45:877-880.

Ribeiro L, Benyoucef I, Poulin M, Jesus B, Rosa P, Mélèder V, Du G, Barillé L (2021). Spatiotemporal variation of microphytobenthos biomass, diversity and assemblage structure in the Loire Estuary, France. Aquatic Microbial Ecology. 87:61-77.

Roberts K, Granum E, Leegood RC, Raven JA (2007). Carbon Acquisition by Diatoms. Photosynthesis Research. 93: 79-88.

Ronald J, Davis SJ (2017). Making the clock tick: the transcriptional landscape of the plant circadian clock. F1000Research. 6:951.

Round FE (1979). Occurence and rhythmic behaviour of *Tropidoneis lepidoptera* in the epipelon of Barnstable Harbor, Massachusetts, USA. Marine Biology.54:215-217.

Roy S, Gaillardet J, Allègre CJ (1999). Geochemistry of dissolved and suspended loads of the Seine River, France: anthropogenic impact, carbonate and silicate weathering. Geochimica et Cosmochimica Acta. 63:1277-1292.

Roy S, Pandit S, Ppapie M, Rhaman MM, Ocampo JCOR, Razi MA, Ahmed PFJN, Hoque MAA, Hasan MM, Yeasmin J, Hossain MS (2021). Coastal erosion risk assessment in the dynamic estuary: The Meghna estuary case of Bangladesh coast. International Journal of Disaster Risk Reduction. 61:102364.

S

Saburova MA, Polikarpov IG (2003). Diatom activity within soft sediments: behavioural and physiological processes. Marine Ecology - Progress Series. 251:115-126.

Sahan E, Sabbe K, Creach V, Hernandez-Raquet G, Vyverman W, StaL LJ, Muyzer G(2007). Community structure and seasonal dynamics of diatom biofilms and associated grazers in intertidal mudflats. Aquatic Microbial Ecology. 47:253-266.

Saint-Béat B (2012). Modélisation du rôle du biofilm dans le fonctionnement du réseau trophique de la vasière de brouage (Bassin De Marennes – Oléron) : Influence sur les flux de carbone et conséquences sur la stabilité université de La Rochelle, La Rochelle.

Salleh S, McMinn A (2022). Combined effects of high temperature and light on the photosynthetic parameters and recovery of temperate microphytobenthos in Browns River, Tasmania. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. 102:425-434.

Sánchez de Pedro R, Niell FX, Carmona R (2022). Close but distant: Emersion promotes ecophysiological differentiation between two rhodophytes within an estuarine intertidal zone. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 547:151664.

Santema M, Huettel M (2018). Dynamics of microphytobenthos photosynthetic activity along a depth transect in the sandy northeastern Gulf of Mexico shelf. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 212:273–285.

Santos PJP, Castel J, Souza-Santos LP (1996). Spatial distribution and dynamics of microphytobenthos in the Gironde estuary (France). Oceanologica acta. 20:549-556.

Sarmiento JL, Slater R, Barber R, Bopp L, Doney SC, Hirst A, Kleypas J, Matear R, Mikolajewicz U, Monfray P, Soldatov V, Spall S, Stouffer R (2004). Response of ocean ecosystems to climate warming. Global Biogeochemal Cycles. 18:GB3003.

Sattari Vayghan H, Nawrocki WJ, Schiphorst C, Tolleter D, Hu C, Douet V, Glauser G, Finazzi G, Croce R, Wientjes E, Longoni F (2022). Photosynthetic light harvesting and thylakoid organization in a CRISPR/Cas9 *Arabidopsis thaliana* LHCB1 knockout mutant. Frontiers in Plant Science. 13:833032.

Sauquet E (2006). Mapping mean annual river discharges: Geostatistical developments for incorporating river network dependencies. Journal of Hydrology. 331:300-314.

Savelli R, Dupuy C, Barillé L, Lerouxel A, Guizien K, Philippe A, Bocher P, Polsenaere P, Le Fouest V (2018). Biogeosciences. 15 :7243-7271.

Scanes E, Scanes PR, Ross PM (2020). Basics of marine and estuarine ecology. Nature communications. 11:1803.

Schmittner A, Galbraith ED (2008). Glacial greenhouse-gas fluctuations controlled by ocean circulation changes. Nature. 456:373-376.

Scholz B, Rúa A, Liebezeit G (2012). Effects of UV radiation on five marine microphytobenthic Wadden sea diatoms, isolated from the Solthörn tidal flat (Lower Saxony, southern North Sea) – Part II: changes in carbohydrate, amino acid and fatty acid composition. European Journal of Phycology. 49:97-114.

Schreiber U, Bilger W, Neubauer C (1994). Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. Ecophysiology of Photosynthesis. 100:49–70.

Seitz RD, Wennhage Hakan, Bergström U, Lipcius RN, Ysebaert T (2013). Ecological value of coastal habitats for commercially and ecologically important species. Journal of Marine Science. 71:648–665.

Selleslagh J, Amara R (2008). Environmental factors structuring fish composition and assemblages in a small macrotidal estuary (Eastern English Channel). Estuarine Coastal and Shelf Science. 79:507-517.

Serôdio J, da Silva JM, Catarino F (1997). Nondestructive tracing of migratory rythms of intertidal benthic microalgae using *in vivo* chlorophyl *a* fluorescence. Journal of Phycoly. 33:542-553.

Serôdio J, Catarino F (1999). Fortnightly light and temperature variability in estuarine intertidal sediments and implications for microphytobenthos primary productivity. Aquatic Ecology. 33:235-241.

Serôdio J, da Silva JM, Catarino F (2001). Use of *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence to quantify short-term variations in the productive biomass of intertidal microphytobenthos. Marine Ecology Progress Series. 218:45-61.

Serôdio J (2004). Analysis of variable chlorophyll fluorescence in microphytobenthos assemblages: implications of the use of depth-integrated measurements. Aquatic Microbial Ecology. 36:137–152.

Serôdio J, Vieira S, Cruz S, Barroso F (2005). Short-term variability in the photosynthetic activity of microphytobenthos as detected by measuring rapid light curves using variable fluorescence. Marine Biology. 146:903-914.

Serôdio J, Cruz S, Vieira S, Brotas V (2005). Non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence and operation of the xanthophyll cycle in estuarine microphytobenthos. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 326:157–169.

Serôdio J, Coelho H, Vieira H, Cruz S (2006). Microphytobenthos vertical migratory photoresponse as characterised by light-response curves of surface biomass. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 68:547-556

Serôdio J, Vieira S, Barroso F (2007). Relationship of variable chlorophyll fluorescence indices to photosynthetic rates in microphytobenthos. Aquatic Microbial Ecology. 49:71-85.

Serôdio J, Vieira S, Cruz S (2008). Photosynthetic activity, photoprotection and photoinhibition in intertidal microphytobenthos as studied *in situ* using variable chlorophyll fluorescence. Continental Shelf Research. 28:1363.

Serôdio J, Cartaxana P, Coelho H, Vieira S (2009). Effects of chlorophyll fluorescence on the estimation of microphytobenthos biomass using spectral reflectance indices. Remote Sensing of Environment. 113:1760–1768.

Serôdio J, Ezequiel J, Barnett A, Mouget JL, Méléder V, Laviale M, Lavaud J (2012). Efficiency of photoprotection in microphytobenthos: role of vertical migration and the xanthophyll cycle against photoinhibition. Aquatic Microbial Ecology. 67: 161-175

Serôdio J (2021). Diatom motility: Mechanisms, control and adaptative value. In: Diatom Gliding Motility (Cohn S, Manoylo K, Gordon R, eds.). Wiley-Scrivener, Beverly, 159.

Serôdio J, Bastos A, Morelle J, Frankenbach S (2023). Light niche construction: Motility of sediment-inhabiting diatoms determines the experienced light environment. Ecological Modelling. 481:110379.

Shinde PP, Shah S (2018). A Review of Machine Learning and Deep Learning Applications. Fourth International Conference on Computing Communication Control and Automation (ICCUBEA). Pune, India. pp. 1-6.

Sigleo AC, Frick WE (2007). Seasonal variations in river discharge and nutrient export to a Northeastern Pacific estuary. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 73:368-378.

Smith DJ, Underwood GJC (1998). Exopolymer production by intertidal epipelic diatoms. Limnology and Oceanography. 43:1578-1591.

Somerville GA, Proctor RA (2013). Cultivation conditions and the diffusion of oxygen into culture media: The rationale for the flask-to-medium ratio in microbiology. BMC Microbiology. 13:9.

Spears BM, Saunders JE, Davidson I, Paterson DM (2008). Microalgal sediment biostabilisation along a salinity gradient in the Eden Estuary, Scotland: unravelling a paradox. Marine and Freshwater Research. 59:313-321.

Spilmont N, Migné A, Seuront L, Davoult D (2007). Short term variability of intertidal benthic community production during emersion and implication in annual budget calculation. Marine Ecolpgy Progress Series. 333:95-101

Spilmont N, Seuront L, Meziane T, Welsh DT (2011). There's more to the picture than meets the eye: Sampling microphytobenthos in a heterogeneous environment. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 95:470–476.

Stal LJ (2010). Microphytobenthos as a biogeomorphological force in intertidal sediment stabilization. Ecological Engineering. 36:326-345.

Staehelin LA, Armond, PA, Miller, KR (1975). Chloroplast membrane organization at the supramolecular level and its functional implications. Brookhaven symposia in biology. 28: 278-315.

Steele JH, Thorpe SA, Turekian KK (2010). Marine Ecological Processes: A Derivative of the Encyclopedia of Ocean Sciences.

Strain HH, Manning WM, Hardin G (1944). Xanthophylls and carotenes of diatoms, brown algae, dinoflagellates, and sea-anemones. The Biological Bulletin. 86

Sundbäck K (1984) Distribution of microbenthic chlorophyll a and diatom species related to sediment characteristics. Ophelia. 3:229.

Sundbäck K, Granéli W (1988). Influence of microphytobenthos on the nutrient flux between sediment and water: a laboratory study. Marine Ecology Progress Series. 43:63-69.

Sullivan MJ, Currin CA (2000). Community structure and functional dynamics of benthic microalgae in salt marshes. In : Concepts and Controversies in Tidal Marsh Ecology. (Weinstein MP, Kreeger DA, eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp. 81–106.

Sundbäck K, Miles A, Göransson E (2000). Nitrogen fluxes, denitrification and the role of microphytobenthos in microtidal shallow-water sediments: an annual study. Marine Ecology Progress Series. 200:59-76.



Taiz L, Zeiger E, Møller IM, Murphy A (2015). Plant physiology and development. (Taiz L, Zeiger E, Møller IM, Murphy A, eds).

Taylor WR (1964). Light and photosynthesis in intertidal benthic diatoms. Helgolander Wiss. Meeresunters. 10:29–37.

Telesh IV, Khlebovich VV (2010). Principal processes within the estuarine salinity gradient: a review. Marine Pollution Bulletin. 61:149-155. Marine Ecology Progress Series. 184 :11-20.

Thornton DCO, Underwood GJC, Nedwell DB (1999). Effect of illumination and emersion period on the exchange of ammonium across the estuarine sediment-water interface.

Thornton DCO, Dong LF, Underwood GJC, Nedwell DB (2002). Factors affecting microphytobenthic biomass, species composition and production in the Colne Estuary (UK). Aquatic Microbial Ecology. 27:285-300.

Tian Y, Luo L, Mao D, Wang Z, Li L, Liang J (2017). Using Landsat images to quantify different human threats to the Shuangtai Estuary Ramsar site, China. Ocean and Coastal Management. 135:56-64.

Taucher J, Oschlies A (2011). Can we predict the direction of marine primary production change under global warming? Geophysical Research Letters. 38:1-6.

U

Ubertini M, Lefebvre S, Rakotomalala C, Orvain F (2015). Impact of sediment grain-size and biofilm age on epipelic microphytobenthos resuspension. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 467:52-64.

Ueno Y, Aikawa S, Kondo A, Akimoto S (2018). Adaptation of light-harvesting functions of unicellular green algae to different light qualities. Photosynthesis Research. 139:145-154.

Underwood GJC, Phillips J, Saunders K (1998). Distribution of estuarine benthic diatom species along salinity and nutrient gradients. European Journal of Phycology. 33:173-183.

Underwood GJC, Kromkamp J (1999). Primary production by phytoplankton and microphytobenthos in estuaries. Advances in Ecological Research. Elsevier. 93–153.

Underwood GJC, Nilsson C, Sundbäck K, Wulff A (1999). Short-term effects of UVB radiation on chlorophyll fluorescence, biomass, pigments, and carbohydrate fractions in a benthic diatom mat. Journal of Phycology. 35:656–666.

Underwood GJC (2001). Microphytobenthos. In: Encyclopedia of Ocean Sciences (John, H.S., eds). Academic Press, Oxford. 1770-1777.

Underwood GJC, Perkins RG, Consalvey MC, Hanlon ARM, Oxborough K, Baker NR, Paterson DM (2005). Patterns in microphytobenthic primary productivity: Species-specific variation in migratory rhythms and photosynthetic efficiency in mixed-species biofilms. Limnology and Oceanography. 50:755–767.

Underwood GJC (2010). Microphytobenthos and phytoplankton in the Severn estuary, UK: Present situation and possible consequences of a tidal energy barrage. Marine Pollution Bulletin. 61:83–91.

V

van Bergeijk SA, van Der Zee C, Stal LJ (2003). Uptake and excretion of dimethylsulphoniopropionate is driven by salinity changes in the marine benthic diatom *Cylindrotheca closterium*. European Journal of Phycology. 38:341–349.

van der Heijden LH, Graeve M, Asmus R, Rzeznik-Orignac J, Niquil N, Bernier Q, Guillou G, Asmus H, Lebreton B (2019). Trophic importance of microphytobenthos and bacteria to meiofauna in soft-bottom intertidal habitats: A combined trophic marker approach. Marine Environmental Research. 149:50-66.

van der Heijden LH, Niquil N, Haraldsson M, Asmus RM, Pacella SR, Graeve M, Rzeznik-Orignac J, Asmus H, Saint-BÃat B, Lebreton B (2020). Quantitative food web modeling unravels the importance of the microphytobenthos-meiofauna pathway for a high trophic transfer by meiofauna in soft-bottom intertidal food webs. Ecological Modelling. 430:109-129.

van der Wal D, Wielemaker-van den Dool A, Herman PMJ (2010). Spatial synchrony in intertidal benthic algal biomass in temperate coastal and estuarine ecosystems. Ecosystems. 13:338–351.

van Leeuwe MA, BrotaS V, Consalvey M, Forster RM, Gillespie D, Jesus B, Roggeveld J, Gieskes WWC (2006). Photoacclimation in microphytobenthos and the role of xanthophyll pigments. European Journal of Phycology. 43:123-132.

van Leeuwee M, Brotas V, Consalvey M, Forster R, Gillespie D, Jesus B, Roggeveld J, Gieskes W (2008). Photoacclimation in microphytobenthos and the role of xanthophyll pigments. European Journal of Phycology. 43:123-132.

Van Niel, CB, Muller FM (1931). On the purple bacteria and their significance to the study of photosynthesis. Recueil des Travaux Botaniques Neerlandais (JH de Busry, Amsterdam). 28:245–274.

Vertessy RA (1990). Morphodynamics of macrotidal rivers in far northern Australia. Australian National University, Australia. https://openresearchrepository.anu.edu.au/bitstream/1885/9995/1/Vertessy_R.A._1990.pdf.

Vieira S, Ribeiro L, Jesus B, Cartaxana P, Silva JMd (2013). Photosynthesis Assessment in Microphytobenthos. Photochemistry and Photobiology. 89:97-102.

Voltz B, Denis L, Duong G, Santoni AL, Artigas LF, Cornille V, Henry F, Mathieu O, Tallobre C, Gontharet S (2021). A multiproxy study of intertidal surface sediments from two macrotidal estuarine systems (Canche, Authie) in northern France: Insights into environmental processes. Continental Shelf Research. 230:104554.

W

Waring J, Baker NR, Underwood GJC (2007). Responses of estuarine intertidal microphytobenthic algal assemblages to enhanced ultraviolet b radiation. Global Change Biology. 13:1398-1413.

Webb WL, Newton M, Starr D (1974). Carbon dioxide exchange of *Alnus rubra*. Oecologia. 17:281–291.

Webster IT, Ford PW, Hodgson B (2002). Microphytobenthos contribution to nutrientphytoplankton dynamics in a shallow coastal lagoon. Estuaries. 25:540-551.

Weerman EJ, Herman PM, van de Koppel J. (2011). Top-down control inhibits spatial selforganization of a patterned landscape. Ecology. 92:487-495.

Whitfield AK (2021). Estuaries – how challenging are these constantly changing aquatic environments for associated fish species? Environmental Biology of Fishes. 104:517-528.

Williams RB (1964). Division of salt marsh diatoms in relation to salinity and cell size. Ecology. 45:877-880.

Wolfstein K, Colijn F, Doerffer R (2000). Seasonal dynamics of microphytobenthos biomass and photosynthetic characteristics in the northern German Wadden Sea, obtained by the photosynthetic light dispensation system. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 51:651-662. X

Xiao Y, Tian Z, Yu J, Zhang Y, Liu S, Du S, Lan X (2020). A review of object detection based on deep learning. Multimedia Tools and Applications. 79: 23729-23791.

Xie Y, Wang L, Liu X, Li X, Wang Y, Huang B (2019). Contrasting responses of intertidal microphytobenthos and phytoplankton biomass and taxonomic composition to the nutrient loads in the Jiulong River Estuary. Phycological Research. 67:152-163.

Υ

Yang M, Khan FA, Tian H, Liu Q (2021). Analysis of the monthly and spring-neap tidal variability of satellite chlorophyll-a and total suspended matter in a turbid coastal ocean using the DINEOF method. Remote Sensing. 13:632.

Ζ

Zedler JB (1980). Algal mat productivity: Comparisons in a salt marsh. Estuaries. 3:122-131.

Zhao X, Rivera-Monroy VH, Li C, Vargas-Lopez IA, Rohli RV, Xue ZG, Castañeda-Moya E, Coronado-Molina C (2022). Temperature across vegetation canopy-water-soil interfaces is modulated by hydroperiod and extreme weather in coastal wetlands. Frontiers in Marine Science. 9:852901.

Résumé

À l'interface entre terre et mer, les estuaires revêtent une importance majeure pour la biodiversité marine. Au cœur de ces écosystèmes estuariens, le microphytobenthos intertidal occupe une place clé au sein du réseau trophique de ces environnements. Ce biofilm intertidal, composé principalement de microalgues, contribue de manière significative à l'activité biogéochimique caractéristique des milieux estuariens en termes de fonctionnement et de bilan de production.

C'est autour de la production primaire du microphytobenthos et des mécanismes associés que s'articulent plusieurs études qui composent cette thèse de doctorat. Pour caractériser l'influence des forçages sur la production primaire microphytobenthique, le développement méthodologique d'une enceinte de mesures en laboratoire a été réalisé afin de standardiser, en conditions contrôlées, l'acquisition des mesures de la photophysiologie et du comportement migratoire des microalgues qui composent le biofilm. En utilisant cette méthodologie, nous avons examiné expérimentalement la production primaire ainsi que les réponses migratoires du microphytobenthos de l'estuaire de la Canche, en nous concentrant sur la variabilité des mécanismes à l'échelle journalière. Cette approche a révélé la capacité du microphytobenthos à maintenir pendant plusieurs jours un niveau de production et un rythme de migration synchronisé avec les cycles marégraphiques et nycthéméraux observés sur le site d'étude.

La variabilité spatio-temporelle de la réponse du microphytobenthos de l'estuaire de la Canche a également été appréhendée suivant un transect amont-aval en considérant deux hauteurs bathymétriques distinctes et deux périodes de l'année dont les caractéristiques physico-chimiques sont contrastées. Cette dernière étude a mis en évidence l'influence multifactorielle des conditions physico-chimiques de l'environnement estuarien sur la photophysiologie et l'activité migratoire du microphytobenthos. Un effet temporel a été identifié avec une augmentation de la production primaire entre avant et après le bloom printanier, et ce, sur l'ensemble des stations étudiées. De plus, cette étude a montré que l'intrusion d'eau de mer provoque une spatialisation suivant un gradient amont-aval de la production primaire, qui s'est avérée être plus forte à l'embouchure de l'estuaire et plus faible dans la zone de désalure pour les vasières. Sur les plus hauts niveaux bathymétriques, correspondant à la zone de pré-salés, un patron de distribution inverse a pu êtreobservé. Cette différence s'explique par l'effet tampon de la canopée de la végétation, qui entraine une plus grande stabilité des paramétres physico-chimiques et permet une production primaire et une activité migratoire identiques avant et après le bloom printanier.

<u>Mots clés</u> : Estuaire, Fluorimétrie PAM, Microélectrode à oxygène, Microphytobenthos, Migration, Photophysiologie, Production primaire.

Abstract

At the interface between land and sea, estuaries hold major importance for marine biodiversity. At the core of these estuarine ecosystems, intertidal microphytobenthos plays a key role within the trophic network of these environments. This intertidal biofilm, primarily composed of microalgae, significantly contributes to the biogeochemical activity of estuarine habitats in terms of functioning and budget.

Several studies comprising this doctoral thesis focus on the primary production of microphytobenthos and its associated mechanisms. In order to characterize the environmental influences on microphytobenthic primary production, a methodological development was undertaken in the laboratory to standardize the acquisition of measurements related to the photophysiology and migratory behavior of the microalgae composing the biofilm. Using this methodology, we experimentally studied the primary production and migratory responses of the microphytobenthos in the Canche estuary, with a focus on the variability at a daily scale. This approach unveiled the microphytobenthos' capacity to maintain a rhythm of primary production and migration over several days, synchronized with the observed tidal and diurnal cycles at the study site.

The spatiotemporal variability of the microphytobenthos' response in the Canche estuary was investigated along an upstream-downstream transect, considering two distinct bathymetric heights and two periods of the year characterized by contrasting physicochemical conditions. The latest study has highlighted the multifactorial influence of physicochemical conditions in the estuarine environment on the microphytobenthic photophysiology and migratory behavior. A temporal effect was identified, with an increase in primary production between before and after the spring bloom, at all the studied stations. In addition, this study showed that seawater intrusion causes a spatialization of primary production along an upstream-downstream gradient, which was found to be stronger at the estuary mouth and weaker in the mudflat desalination zone. At higher bathymetric levels, corresponding to the salt marsh zone, an inverse distribution pattern was observed. This difference can be explained by the buffering effect of the vegetation canopy, which results in greater stability of physico-chemical parameters and enables identical primary production and migratory activity before and after the spring bloom.

<u>Keywords</u>: Estuary, Microphytobenthos, Migration, Oxygen microsensor, PAM fluorometry, Photophysiology, Primary production.