



Effets de la bioturbation sur la diversité des communautés bactériennes du sédiment : approches expérimentale et in-situ : de *Melinna palmata* aux communautés de la vasière Ouest-Gironde.

Cécile Massé

► To cite this version:

Cécile Massé. Effets de la bioturbation sur la diversité des communautés bactériennes du sédiment : approches expérimentale et in-situ : de *Melinna palmata* aux communautés de la vasière Ouest-Gironde.. Géochimie. Université de Bordeaux, 2014. Français. NNT : 2014BORD0039 . tel-01146799

HAL Id: tel-01146799

<https://theses.hal.science/tel-01146799>

Submitted on 29 Apr 2015

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

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

THÈSE

PRÉSENTÉE À

L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES ET ENVIRONNEMENTS

Par **Cécile MASSÉ**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : Biogéochimie et écosystèmes

Effets de la bioturbation sur la diversité des communautés bactériennes du sédiment.

Approches expérimentale et *in situ*.

De Melinna palmata aux communautés de la vasière Ouest-Gironde.

Thèse soutenue le 15 décembre 2014 devant la commission d'examen formée de :

M. BACHELET Guy	Directeur de recherche, CNRS	Président du jury
M. GILBERT Franck	Directeur de recherche, CNRS	Rapporteur
M. ALVES Artur	Principal researcher, Univ. Aveiro (Portugal)	Rapporteur
M. ORVAIN Francis	Maître de conférences HDR, Univ. Caen	Rapporteur
Mme. CIUTAT Aurélie	Chargée de recherche, CNRS	Co-directrice de thèse
M. GARABÉTIAN Frédéric	Professeur, Univ. Bordeaux	Co-directeur de thèse

Titre : Effets de la bioturbation sur la diversité des communautés bactériennes du sédiment.

Approches expérimentales et *in-situ*.

De *Melinna palmata* aux communautés de la vasière Ouest-Gironde

Résumé :

Le lien entre la macrofaune et les communautés bactériennes benthiques a été déterminé selon deux approches : (1) une approche expérimentale à l'échelle de l'individu ciblée sur les effets de l'activité et de la bioturbation du polychète dépositivore de surface *Melinna palmata* sur la distribution des communautés bactériennes des premiers millimètres de l'interface eau-sédiment ; (2) une approche *in situ* à l'échelle de la communauté de mise en corrélation des patrons spatiaux de distribution des communautés de macrofaune et de bactéries.

Melinna palmata appartient à un nouveau groupe fonctionnel de bioturbation décrit pour la première fois, convoyeur de surface. L'utilisation de ce nouveau modèle biologique a permis de mettre en évidence que les activités de prospection et d'égestions modifient significativement la distribution des communautés bactériennes de la couche oxiqne de l'interface eau-sédiment. Ce lien est à la fois influencé par l'apport de matière organique de différentes qualités, et impacte la consommation et la minéralisation de cette matière organique.

Le lien entre les patrons spatiaux de distribution des communautés de macrofaune et de bactéries a été étudié *in situ*, dans la vasière Ouest-Gironde. Les deux compartiments ont évolué le long d'un gradient avéré de teneur en matière organique et de taille des particules dans cette vasière. La corrélation des matrices biologiques n'a cependant pas été statistiquement significative et nécessite d'être approfondi.

Mots clés : interface eau-sédiment, activité, bioturbation, composition des communautés bactériennes

Title : Effects of bioturbation on the diversity of bacterial communities in the sediment. Experimental and *in situ* approaches. From *Melina palmata* to the West Gironde mud patch.

Abstract :

The link between benthic macrofauna and bacterial communities was assessed with two different approaches: (1) an experimental approach at the individual scale, focused on the effects of behaviour and bioturbation of the deposit feeder polychaete *Melinna palmata* on the bacterial community distribution on the very sediment-water interface; (2) an *in situ* approach at the scale of the community, focused on the correlation between spatial distribution patterns of the two biological compartments.

Melinna palmata belongs to a new functional group of bioturbation described for the first time: surface conveyor. Its use allowed determining that prospection and egestion induced a significant change of bacterial communities on the sediment-water interface. This link was influenced by organic matter enrichment while influencing its fate.

In a second part, the link between spatial distribution patterns of the communities was assessed *in situ* in the West-Gironde mud patch. Both macrofauna and bacteria changed along a gradient of organic matter quantity and quality and of particles size described in this system. However, the correlation between matrices was not statistically significant and needs to be more developed.

Keywords : sediment-water interface, behaviour, bioturbation, bacterial community composition

UMR CNRS EPOC 5805

[Station marine d'Arcachon, 2 rue du professeur Jolyet, 33120 ARCACHON]

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Artur Alves, Francis Orvain et Franck Gilbert d'avoir accepté d'évaluer ce travail, et à Guy Bachelet d'en être l'examineur.



J'ai reçu cette carte il y a maintenant 9 ans disant « Tu viens de passer les dunes du bac, et derrière elles, s'ouvre ton futur domaine ». Même si je me rends compte aujourd'hui que ces 9 dernières années, et surtout les 3 dernières (!), ont représenté une dune bien plus imposante et difficile à traverser que celle du bac, je suis très heureuse aujourd'hui d'écrire ces quelques lignes et de me dire que je l'ai fait !! Ce rêve de petite fille est devenu réalité ! Mais tout cela n'aurait pas pu se passer dans de si bonnes conditions sans l'aide et le soutien de nombreuses personnes que je tiens à remercier, en espérant n'oublier personne évidemment...

Merci à Antoine Grémare de m'avoir permis de réaliser cette thèse au sein de l'UMR EPOC, et merci pour tous les conseils précieux que vous avez pu me donner au cours de ces trois années.

Un très grand merci à mes deux directeurs Fred et Aurélie ! Quand je me revois à la préparation du concours et maintenant, c'est presque deux personnes différentes que je vois !!! J'ai appris énormément de choses en travaillant à vos côtés ! Cette thèse a vraiment été une expérience enrichissante scientifiquement et personnellement, et ça c'est grâce à vous !

Encore merci Aurélie, cette fois en tant que collègue de bureau, pour nos papotages accompagnés de nombreux carrés de chocolat blanc!! Sans oublier Guillaume dit Bernard Bernard à qui j'ai « piqué » la place ! Merci pour toute ton aide pour mes débuts en tant que réalisatrice de films animaliers en milieu hostile (le mésocosme...) !!! Je suis peut être un poil traumatisée par les percussions maintenant ;-) mais comme tu dirais si bien : « t'inquiète, ça va l'faire » !!!!

Comme un Guillaume peut en cacher un autre, un grand merci à Guillaume Meisterhans pour toute son aide pour la partie biologie moléculaire ! Ce domaine m'était complètement étranger avant la thèse, et je l'avoue m'impressionnait énormément ! Même quand tu étais en fin de rédaction de thèse tu as toujours répondu à mes milliards de questions, même les plus bêtes ! Et une fois au Canada, tu as continué à répondre à tous mes mails « petite question », « j'ai une question »...Merci !!!

Merci au « staff technique du deuxième » Il y en aurait des tartines et des tartines à raconter! Merci merci MERCI à mes deuxièmes mamans Laurence Line et S... ah non, Sabrina c'est ma deuxième grande-sœur plutôt (t'as eu peur je suis sûre !) !!!! Sans vous, je serai encore enfermée au mésocosme je pense ! Avec une tonne d'échantillons à traiter, et des centaines de *Melinna* à sortir de leurs tubes ! Merci Line pour le millier de tubes que tu m'as aidé à numéroté et peser (et je ne pense pas exagérer sur le nombre !) et pour toutes les extractions et pour t'être cassé la tête autant que moi sur les archées ! On va comprendre un jour ! Mais aussi pour ton aide et ton soutien pendant les manip où tu t'es même retrouvée à tamiser du sédiment et à ouvrir des tubes de *Melinna* !! Merci Laurence pour ton aide à chaque manip : des prélèvements aux analyses de photo en passant par les centri des derniers tubes oubliés dans un coin de congélateur ou les pesées pour le CHN...comment j'aurais fait sans ton aide... !!! Et merci à la troisième drôle de dame comme dirait Michel P, Sabrina ! Depuis le master 1 tu m'aides à comprendre les caprices du CHN (qui est parfois vraiment capricieux !) ! Merci pour tous les échantillons que tu m'as passé, ou repassé de CHN et de pigments ! Et merci aux calendriers Dutscher de nous faire passer le temps, hein ?!!! Ma thèse n'aurait pas été la même sans vous ! Nos discussions dans les labos, aux pauses café et le midi, des bons souvenirs impérissables !!!! Merci de votre bonne humeur et votre soutien constant☺. Vous êtes « trois drôles de dames » formidables, de belles personnes que je suis très heureuse de connaître ! Je reste au deuxième étage et j'en profite pour remercier Florence et Natalie pour toute leur aide, pour l'intérêt qu'elles ont chacune porté à l'égard de mon travail, et pour leur soutien ! Vraiment, merci !

Je remercie aussi mes voisins de bureau (mais derrière le mur cette fois !) Alicia d'un côté avec sa bonne humeur à toute épreuve ! Nos séances papotages et ta petite tête le matin avec ta tasse à café qui passe par la porte vont me manquer !! Et merci pour le soutien moral ☺ ! Et les benthologues Nico L. qui sera venu vérifier chaque matin que je n'étais pas endormie ou pire sur mon ordi !!! Hugues B. et Benoit G. de l'autre côté, toujours là pour répondre à toutes les questions !

Merci à toutes les personnes de la station marine et de Talence avec qui j'ai travaillé ou simplement discuté ! Merci Bruno pour tous tes cours de biogéochimie et toute ton aide ! Merci Olivier pour tes conseils, Merci Jean-Claude pour m'avoir permis de faire des mesures de microtopo, après un an de galères en tout genre !! Un grand merci Xavier, sans vous je n'aurais pas pu faire toutes mes manip, et je n'aurais pas pu partir visiter Plymouth !!! Ça mérite largement une Framboise portugaise bien fraîche !! Merci Guy pour les conseils et les nombreuses références biblio sur *Melinna* que vous avez pu me donner ! Merci Michel L de m'avoir écouté râler à chaque problème « mésocosmien », et ça n'était pas rare ! Et merci à Christian et Henri d'avoir toujours réglé ces problèmes ! Mais aussi pour tout ce que vous avez pu me fabriquer, bidouiller, adapter pour mes manip, au point de faire la grimace en me voyant arriver à l'atelier !!!! Merci aussi à Sandrine, Cathy et MC pour toute la partie administrative qui est complètement incompréhensible quand on débarque, et à peine plus claire quand on termine !! Et un merci tout particulier à MC pour sa gentillesse et son soutien ! Merci aussi à Cerise et Patrice pour leur aide en bio mol, merci au personnel de la

plateforme Génome-Transcriptome de l'INRA à Pierroton et notamment à Adeline, bonne chance pour la suite ! Merci Nathalie M-D pour la découverte de la microscopie électronique à balayage au Bordeaux Imaging Center, l'endroit où j'aurais dit le plus de « wouaaaah » et « trop beau » à la minute !!! Merci aux marins pour les ballades à Germanan à la pêche aux Melinna ! Merci Céline (ne change rien !!), Wioletta, Michel P, Christelle, Nicolas S, Valérie, Yolanda. Je souhaite également bonne continuation et bon courage à tous les thésards de la station, proches ou moins proches de la soutenance : Lucie, Paulo, Ludo, Sonia (rendez-vous dans un an avec une tarte aux poires je n'oublie pas !), Camilla... !

Je remercie sincèrement tous mes stagiaires qui ont participé aux manip ou au traitement des données la dernière année ! Merci Kaila, Marine, Noémie, Audrey, Bastien et Rémy. Un grand merci pour toute la motivation et le sérieux dont vous avez fait preuve ! Je vous souhaite une bonne continuation et la réussite de vos projets respectifs !

Comment remercier les « copains » à la hauteur de ce qu'ils ont pu m'aider ! Déjà le noyau solide des copains « d'avant » qui m'ont soutenue et surtout comprise quand je leur expliquais que je ne pouvais pas venir les voir mais que je devais rester à Arcachon pour lancer des films de petits vers qui vivent dans la vase !!! Merci Roro pour ta patience téléphonique et nos supers petites soirées ! Merci (et encore félicitations) Cucurbi et Damien pour nos super soirées bien que trop rares à mon goût... ! On va se rattraper ! Merci Eveuh, même en étant toutes les deux en thèse, on a réussi à se voir quand même et à se donner le plus régulièrement possible des nouvelles ! Merci à mon Coin et à sa Truffe pour les supers moments ! D'abord sur les bancs de la fac (je ne rentrerai pas dans les détails mais tu sais très bien que ces moments sont inoubliables : Nereis, la micro-pipette, anticonstitutionnellement, les mots fléchés et j'en passe !!) et puis après pendant la thèse, et à la fin de la thèse où tu m'as, et même, où vous nous avez soutenu à fond ! Vivement le prochain barbeuc' sous le soleil de Cassy !!! Merci p'tite Aurélie pour tes petits messages de soutien, bonne chance pour la fin de ta thèse, je suis plus que certaine que tout va super bien se passer ! Et merci à toute la bande des « bassind'Arcachonnais » ! Merci à toute la clique pour les supers soirées Malka & Guillaume, Sophie & Pedro, Deb & Loïc, Alicia & Nico, Cerise & Nico, Carine & Fabien, Sabrina & Willy, même si à la fin je n'ai pas été très « sérieuse » sur le planning des apéros !! Promis, je vais me rattraper !!! Je voudrais faire un gigantesque-énormesque merci particulier à Malka, Guillaume, Sophie et Pedro pour tous les supers moments qu'on a passé (paddle, accrobranche, burgers, bateau...) ! Et surtout, Malka et Sophie, je ne sais pas comment j'aurais fini sans vous !!! Les piscines, les papotages, les brasses mémères à la plage....que du bonheur !!! Vous êtes formidables, adorables....de belles rencontres ☺ ! Merkiiii !!!

Je suis obligée de remercier Ta'Pom, Mouxquetaire, El rinconcillo M&M et No Strip et tous les concernés qui se reconnaîtront, pour les bouffées d'oxygène qui n'ont été que du bonheur, même quand les résultats étaient plus ou moins glorieux ;-) !!!

Pour terminer ces remerciements sur une touche plus personnelle, je voudrais tout d'abord remercier mes parents ! Merci de m'avoir transmis l'amour du milieu marin ! Sur l'eau avec la voile, sous l'eau avec la plongée, et puis après en me soutenant dans mes études de biologie

marine, jusqu'au bout, même si je suis la petite petite dernière qui a décidé de faire de looongues études !! Grâce à vous, j'ai pu faire un parcours sans stress (en tout cas pas plus de stress que ce que les études apportent déjà !), toujours bien entourée ! Et merci d'avoir toujours fait l'effort (au moins d'essayer) de comprendre ce que je fais ! Merci aussi Yann et Anne-Gaëlle, mes supers frère et sœur qui m'ont chouchouté ! Toutes vos petites attentions, vos petits messages avec des bisous d'encouragement, des smileys et des photos des « p'tits lous », les repas en famille....si vous saviez quel bonheur c'était pour moi, je pense que vous ne l'imaginez même pas !! On forme une belle famille dont je suis fière de faire partie et dont je remercie éééénormément tous les membres !!! Merci Jacky, grâce à toi je sais que j'ai un contrat qui m'attend à la fin de la thèse ;-) Merci Manon, Victoire, Marin et Clémentine la p'tite dernière de la famille pour votre sourire et vos petits mots d'enfant (et d'ado pour Manon) qui m'ont toujours fait oublier tous mes soucis en une seconde !! Merci aussi à ma Manou ! 93 ans, 14 petits-enfants, des arrière petits-enfants et pourtant tu suis et t'intéresse à tout ce que nous faisons ! Merci d'avoir pris des nouvelles de « mes p'tites bêtes » à chaque fois, merci pour ta bonne humeur à toute épreuve !

Je remercie également du fond du cœur ma belle-famille, une véritable deuxième famille ! Merci Brigitte pour ...tout ! Ton soutien à tous les niveaux me va droit au cœur ! Merci aussi Angèle, Xavier, Chloé et Victor pour les petits mails, les photos et les weekends (trop peu nombreux...) dans le ch'Nord ou en Vendée !

Je termine mes remerciements par celui sans qui rien n'aurait été pareil, celui qui a le don de me faire sourire et rire quoi qu'il arrive, mon Dou ! Nous avons traversé l'épreuve de la thèse ensemble, et sans aucun accrochage, je suis fière de nous !!! On aura vécu ça ensemble, en se soutenant l'un et l'autre. Merci d'avoir supporté le Grinch' que tu as découvert au fur et à mesure du temps ! Merci de t'être adapté à mon rythme casanier dans les passages intensifs de la thèse, même si toi tu préférerais « aller dainser » ! Merci pour les relectures, les répétitions des présentations, pour ton soutien et ta bonne humeur à toute épreuve même si j'ai pas toujours été très réceptive (je m'en excuse☺)...merci pour tout !! Je te le dis souvent, mais qu'est-ce que je serais, qu'est-ce que je ferais sans toi....ben vraiment j'vois pas !!!! Courage, c'est la fin

A force d'écrire ou de lire le mot « merci », on peut avoir l'impression qu'il perd de son sens, mais il me paraît pourtant être bien peu pour exprimer toute ma reconnaissance envers vous tous !

Sommaire

PRÉAMBULE	1
CHAPITRE I - Contexte bibliographique	5
I. L'interface eau-sédiment, une zone clé du fonctionnement des écosystèmes marins	7
I.1. Des zones d'interface en général à l'interface eau-sédiment en particulier	7
I.2. Matière organique et processus de minéralisation à l'interface eau-sédiment	11
II. La bioturbation contrôle les processus à l'interface eau-sédiment	19
II.1. Qu'est-ce que la bioturbation ?	19
II.2. Les facteurs qui influencent la bioturbation	26
II.3. Les effets de la bioturbation	29
III. Les communautés procaryotes de l'interface eau-sédiment contrôlées par la bioturbation	34
III.1. Les procaryotes dans les sédiments	34
III.2. Relations entre macrofaune et bactéries : rôles de la bioturbation	36
III.3. Diversité des communautés procaryotes, notions d'espèce et d'OTU	40
IV. Contexte et objectifs de la thèse	41
CHAPITRE II - Matériel et méthodes	45
I. Organisme modèle : <i>Melinna palmata</i> Grube, 1870	46
I.1. Description	46
I.2. Ecologie	46
I.3. Distribution géographique	48
I.4. Intérêts du modèle	48
II. Les écosystèmes étudiés	49
II.1. Le bassin d'Arcachon	49
II.2. La vasière Ouest-Gironde	52
III. Paramètres étudiés	55
III.1. Macrofaune	55
III.2. Suivi du comportement	55
III.3. Quantification de la bioturbation	56
III.4. Mesure de la profondeur de pénétration de l'oxygène	61
III.5. Prélèvement du sédiment des zones de bioturbation	62
III.6. Analyses des paramètres sédimentaires	64
III.7. Analyse des communautés procaryotes de l'interface eau-sédiment	65

IV.	Traitement des données et analyses statistiques	88
IV.1.	Comportement, remaniement sédimentaire et bioirrigation	88
IV.2.	Composition des communautés bactériennes	89
IV.3.	Composition des communautés de macrofaune benthique	89
IV.4.	Paramètres sédimentaires, profondeur de pénétration de l'oxygène, abondance de l'ADNr 16S et consommation biologique d'oxygène	89
V.	Tests de mise en évidence des communautés archéennes des sédiments par T-RFLP	90

CHAPITRE III - *Melinna palmata* Grube 1870 : un modèle biologique pour l'étude du contrôle des communautés bactériennes de l'interface eau-sédiment par la bioturbation 95

I.	PARTIE 1 – <i>Melinna palmata</i> remanie les premiers millimètres et structure les communautés bactériennes aérobies de l'interface eau-sédiment	97
I.1.	Abstract	97
I.2.	Introduction	98
I.3.	Materials and Methods	99
I.4.	Results	104
I.5.	Discussion	114
I.6.	Conclusion	121
II.	PARTIE 2 – Influence des cycles tidaux, de la photopériode et de la densité de population sur l'activité de <i>Melinna palmata</i>	122
II.1.	Introduction	122
II.2.	Matériel et méthodes	123
II.3.	Résultats	127
II.4.	Discussion	137
III.	Conclusions et perspectives	140

CHAPITRE IV - L'enrichissement en matière organique particulaire simulant la production primaire autochtone influence le lien entre *Melinna palmata* et les bactéries aérobies du sédiment 143

I.	Introduction	145
II.	Expérimentation	148
II.1.	Matière organique apportée	148
II.2.	Plan d'expérience	149
III.	Résultats	154
III.1.	Hypothèses posées pour l'analyse des résultats	154

III.2.	Effet de l'apport de deux types de matière organique végétale sur l'activité et la bioturbation de <i>Melinna palmata</i>	158
III.3.	Conséquences sur les propriétés du sédiment à l'interface	161
III.4.	Conséquences sur les communautés bactériennes benthiques de l'interface eau-sédiment	164
IV.	Discussion	171
IV.1.	Rappel des objectifs	171
IV.2.	Synthèse des principaux résultats	172
IV.3.	Hétérogénéité de l'interface eau-sédiment sans apport de matière organique	172
IV.4.	Hétérogénéité de l'interface eau-sédiment après enrichissement avec des cellules phytoplanctoniques	174
IV.5.	Hétérogénéité de l'interface eau-sédiment après enrichissement avec des feuilles de phanérogame marine	176
IV.6.	Comparaison des trois conditions	177
V.	Conclusions et perspectives	179
 CHAPITRE V - Les patrons spatiaux de distribution des communautés bactériennes suivent ceux de la macrofaune benthique dans la vasière Ouest-Gironde		
I.	Abstract	185
II.	Introduction	186
III.	Material and methods	187
III.1.	Sampling	187
III.2.	Sediment analyses	189
III.3.	Prokaryotic abundances	189
III.4.	Bacterial community composition	190
III.5.	Benthic macrofauna	191
III.6.	Statistical analyses	191
IV.	Results	192
IV.1.	Sediment features	192
IV.2.	Prokaryotic abundance	194
IV.3.	Bacterial community composition	195
IV.4.	Benthic macrofauna	196
IV.5.	Comparison of bacterial and macrofaunal communities	200
V.	Discussion	201
V.1.	The West Gironde mud patch sediments	201
V.2.	Benthic macrofauna	201

V.3.	Bacterial community	202
V.4.	Linking bacterial and macrofaunal communities	203
VI.	Conclusion	204
SYNTHESE DES RESULTATS, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES		211
I.	<i>Melinna palmata</i>, un bon modèle biologique pour simplifier l'étude des effets de la bioturbation sur les communautés procaryotes benthiques	212
I.1.	Son activité	213
I.2.	Sa biologie liée au processus de prospection	216
I.3.	Son remaniement sédimentaire	218
I.4.	Sa bioirrigation	219
I.5.	Proposition d'un nouveau groupe fonctionnel de bioturbation : les convoyeurs de surface	221
II.	La macrofaune benthique influence la distribution des communautés bactériennes à l'interface eau-sédiment	222
II.1.	À l'échelle centimétrique de l'individu, cas de <i>Melinna palmata</i>	222
II.2.	À l'échelle kilométrique de la communauté	231
III.	Les communautés associées à <i>Melinna palmata</i> et à son tube	235
IV.	Perspectives	237
Références bibliographiques		241

PRÉAMBULE

Ce travail de thèse se positionne résolument à l'interface entre écologie benthique et écologie microbienne. Il s'est attaché à décrire les relations entre ces deux compartiments biologiques, macrofaune et procaryotes, à l'interface eau-sédiment :

- (1) A différentes échelles spatiales : centimétrique et kilométrique
- (2) A différentes échelles écologiques : individu et communauté
- (3) Selon deux approches : mécaniste et globale

Pour cela, des techniques d'étude de la bioturbation (analyses d'images, microtopographie) et des techniques de détermination de la diversité procaryote (ARISA, T-RFLP) ont été utilisées conjointement.

Ce manuscrit qui regroupe les différents résultats obtenus au cours de ces trois années de recherche se divise en cinq chapitres. Le premier chapitre est une synthèse bibliographique qui explique le contexte et les objectifs de notre travail. Le second regroupe et décrit les différents outils et les différentes méthodes employés pour répondre à nos objectifs. Le troisième chapitre porte sur la bioturbation de *Melinna palmata* et ses effets sur la composition des communautés bactériennes. Il se divise en deux parties : la première partie porte sur la description de la bioturbation de *Melinna palmata* et ses effets sur la distribution des communautés bactériennes à l'interface eau-sédiment. La seconde partie porte sur l'influence de l'alternance jour/nuit, des cycles de marée et de la densité de population sur sa bioturbation. Le quatrième chapitre approfondit les effets de la bioturbation sur les communautés procaryotes de l'interface eau-sédiment, en incluant les effets de la disponibilité et de la qualité de la matière organique. Le cinquième chapitre correspond à l'étude des relations entre les deux compartiments biologiques *in situ*. Il compare les patrons de distribution des communautés bactériennes et de macrofaune benthique de la vasière Ouest-Gironde. Enfin, une discussion - conclusion générale accompagnée de perspectives pour de futurs travaux de recherche termine ce manuscrit.

Pour réaliser cette thèse, j'ai bénéficié d'une allocation de recherche du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche. Une partie des travaux a été financée par le projet-innovant EPOC 2012 intitulé « Micro-hétérogénéité spatiale de la structure des communautés procaryotes benthiques en réponse à l'activité de bioturbation du polychète *Melinna palmata* ». Ces travaux ont été valorisés par deux communications orales lors de congrès internationaux :

- Massé, C., Garabétian, F., Costes, L., Bourasseau, L., Bichon, S., Daffe, G., Duchêne, J.C., Maire, O., Deflandre, B., Raymond, N., Jude-Lemeilleur, F., Grémare, A., Ciutat, A. ***Melinna palmata*: a new biological model to assess bioturbation mediated changes in bacterial community composition at the sediment water interface**. ISOBAY 2014, 11-13 juin 2014.
- Massé, C., Garabétian, F., Costes, L., Bourasseau, L., Bichon, S., Daffe, G., Mesmer-Dudons, N., Duchêne, J.C., Maire, O., Deflandre, B., Raymond, N., Jude-Lemeilleur, F.,

Grémare, A., Ciutat, A. **Bioturbation by the polychaete *Melinna palmata* structures bacterial communities at the sediment surface.** NEREIS PARK 2014, 7-11 juillet 2014.

Ce manuscrit inclut deux articles qui seront soumis dans les prochaines semaines :

- Massé, C., Garabétian, F., Deflandre, B., Costes, L., Mesmer-Dudons, N., Duchêne, J.C., Grémare, A., Ciutat, A. ***Melinna palmata* structures bacterial community composition at the sediment-water interface.**
- Massé, C., Meisterhans, G., Deflandre, B., Bachelet, G., Bourasseau, L., Lavesque, N., Raymond, N., Ciutat, A., Jude-Lemeilleur, F., Grémare, A., Garabétian, F. **Bacterial and macrofaunal community composition in the sediments of the West Gironde mud patch (Bay of Biscay, Atlantic Ocean).**

CHAPITRE I

Contexte bibliographique et objectifs de la thèse

Préambule

Ce chapitre propose un état de l'art des principales questions abordées dans cette thèse, à commencer par l'interface eau-sédiment, son importance et sa position stratégique dans les cycles de minéralisation de la matière organique ; puis le rôle des communautés procaryotes dans le fonctionnement de l'interface eau-sédiment et donc dans la minéralisation de la matière organique, les processus de bioturbation de la macrofaune benthique ; et enfin les conséquences de cette bioturbation sur la structure et l'activité des communautés procaryotes.

À la fin de ce chapitre, les objectifs de chaque chapitre sont décrits et replacés dans ce contexte bibliographique.

I. L'interface eau-sédiment, une zone clé du fonctionnement des écosystèmes marins

I.1. Des zones d'interface en général à l'interface eau-sédiment en particulier

Les interfaces sont des surfaces de contact entre deux zones ou deux substances contiguës (Lincoln *et al.*, 1998). Ce sont des frontières, des zones de transition, qui peuvent être définies à la fois comme un espace qui sépare et qui connecte deux systèmes voisins. Cette position en fait des zones tampon, de contrôle des interactions entre les deux compartiments, en modulant les flux d'organismes, de matériel et d'énergie (Cadenasso *et al.*, 2003a). Ces deux systèmes, de part et d'autre de la zone de transition doivent avoir des propriétés différentes et être plus étendues en termes de surface que la zone de transition (**Figure I.1**, Erdős *et al.*, 2011). Les zones de transition sont caractérisées par d'importants gradients qui peuvent être à la fois biotiques et abiotiques et sont appelées écotones (Odum, 1953). Les écotones cumulent donc à la fois des caractéristiques propres à chacun des compartiments qui l'entourent, en plus d'avoir leurs propres caractéristiques (Risser, 1995). Elles sont de ce fait caractérisées par une importante diversité biologique (e.g. Odum, 1953 ; Kark *et al.*, 2007 ; Matias *et al.*, 2013) et donc fonctionnelle. Cette notion de zone de transition s'applique à toutes les échelles écologiques, tant qu'elle se situe entre deux « patches » plus étendus et différents l'un de l'autre (Cadenasso *et al.*, 2003a & b). Deux exemples en milieu marin sont les zones côtières, interfaces entre continent et océan, et l'interface eau-sédiment, entre les domaines pélagique et benthique.

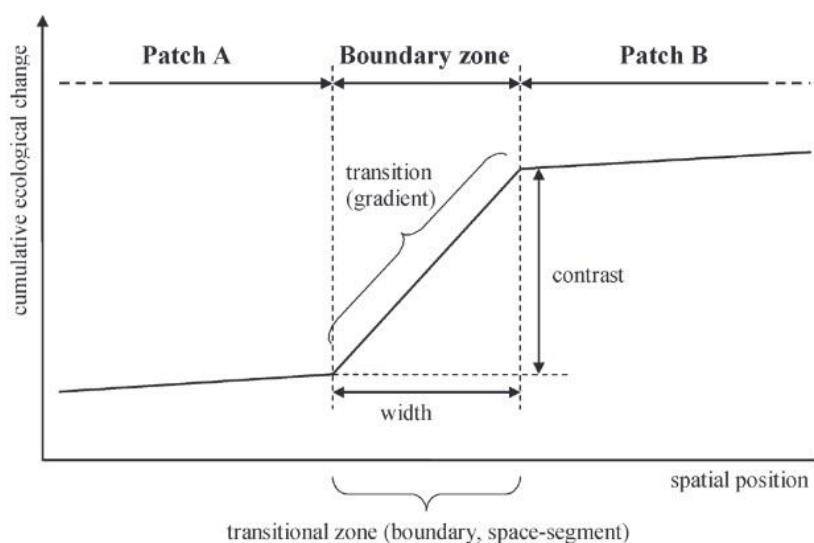


Figure I.1 : Distinction de la zone de transition entre les deux systèmes, les « patches » A et B. De Erdős *et al.*, 2011.

I.1.a. Interface continent-océan : les écosystèmes côtiers

Les écosystèmes côtiers (profondeur < 200 m) sont une zone d'interface et donc de connexion entre les milieux océanique, continental et atmosphérique. Bien qu'ils ne représentent que 7% de la surface totale des océans, leur caractère d'interface entre les trois grands compartiments fait qu'ils ont un rôle essentiel dans les cycles biogéochimiques. En plus d'avoir leur propre production primaire et secondaire, ils reçoivent de la matière organique continentale (Hedges *et al.*, 1997) et atmosphérique, et échangent de la matière et de l'énergie avec l'océan ouvert (Smith & Hollibaugh, 1993 ; Field *et al.*, 1998 ; Gattuso *et al.*, 1998 ; Muller-Karger *et al.*, 2005). Autour de $38,6 \pm 21,1 \times 10^{12} \text{ molC}_{\text{org}}.\text{an}^{-1}$ proviennent des cours d'eau (Smith & Hollibaugh, 1993), ce qui correspond à environ 0,5% de la production primaire terrestre globale (Henrichs, 1992), et autour de $0,1 \text{ gC}_{\text{org}}.\text{an}^{-1}$ proviennent des transferts éoliens (Romankevich, 1984 ; Henrichs, 1992).

De plus, ils échangent constamment d'importantes quantités de matière et d'énergie avec l'océan ouvert (Bauer & Druffel, 1998 ; Gattuso *et al.*, 1998), avec 769 à $3177 \text{ Tg}.\text{an}^{-1}$ de carbone produit par les zones végétalisées côtières exportés, ce qui permet de supporter en partie la respiration de l'océan ouvert (del Giorgio & Duarte, 2002). Un autre exemple de transfert d'énergie sont les zones d'upwellings, qui exportent de grandes quantités de nutriments et de production primaire vers l'océan (Pelegri *et al.*, 2005). Enfin, les milieux côtiers constituent une des zones les plus actives biologiquement de la planète, avec une diversité plus importante par rapport à l'océan ouvert que ce soit dans le domaine pélagique ou dans le domaine benthique (Angel, 1993 ; Gray, 1997).

A cette diversité est associée une importante production primaire estimée entre $250 \text{ gC}.\text{m}^{-2}.\text{an}^{-1}$ et $130 \text{ gC}.\text{m}^{-2}.\text{an}^{-1}$ (Martin *et al.*, 1987 ; Smith & Hollibaugh, 1993). Le système côtier contribue à 20% de la production primaire océanique totale (Gattuso *et al.*, 1998 ; Duarte *et al.*, 2005). Une partie de l'énergie issue des producteurs primaires en tant que source de carbone est transférée dans les échelons supérieurs dans le réseau trophique côtier (e.g. Filgueira & Castro, 2011). Par exemple dans le bassin d'Arcachon, les dépositores de surface représentent 42% de la production secondaire, qui est fortement liée à la production primaire de microphytobenthos et de phanérogames dégradées (Dubois, 2012). La production secondaire du modèle biologique étudié ici, le polychète dépositore de surface *Melinna palmata*, a d'ailleurs été estimée à $10,5 \text{ gPS}.\text{m}^{-2}.\text{an}^{-1}$ en zone intertidale.

La vasière Ouest-Gironde étudiée ici est également un exemple de système côtier de transition. Il s'agit en effet d'une couche de dépôts vaso-argileux résultant de la sédimentation des particules fines de l'estuaire de la Gironde (Jouanneau *et al.*, 1989 ; Relexans *et al.*, 1992), qui nous a servi de site d'étude pour caractériser le lien entre les communautés de macrofaune de la vasière et les communautés bactériennes (**chapitre V**). A l'échelle paysagère (mésoséchelle), les milieux côtiers sont eux-mêmes diversifiés et composés de différents types d'écosystèmes : des estuaires ($1,4 \times 10^6 \text{ km}^2$), des zones dominées par les macrophytes ($2,0 \times 10^6 \text{ km}^2$), des récifs coralliens ($0,6 \times 10^6 \text{ km}^2$), des marais

salants ($0,4 \times 10^6$ km²), des mangroves ($0,2 \times 10^6$ km²), et les fonds restants (sableux, vaseux, rocheux...) avec $21,4 \times 10^6$ km² (Gattuso *et al.*, 1998). A plus petite échelle, c'est-à-dire au sein de chacun de ces écosystèmes, on trouve également une importante hétérogénéité des habitats, qui influencent eux-mêmes la biodiversité. Par exemple, Archambault & Bourget (1996) ont mesuré la richesse spécifique, la diversité et la biomasse totale de la macrofaune et de la macroflore benthique selon trois échelles spatiales : des prélèvements sur 103 km divisés en stations de 1 km (grande échelle spatiale), dans chaque station sur des zones d'hétérogénéité du substrat de 100 m (échelle spatiale moyenne), et dans ces différents substrats, sur quatre types de surfaces plus ou moins lisses séparés de 1 à 20 cm (petite échelle spatiale). Cette étude a pu mettre en évidence que c'est l'hétérogénéité à petite échelle, inférieure à 20 cm, qui influence le plus les abondances, et l'échelle kilométrique qui influence le plus la richesse spécifique.

I.1.b. Interface eau-sédiment

L'interface eau-sédiment correspond à la frontière entre les domaines pélagique et benthique. Elle représente plus de 75 % de la surface terrestre, ce qui en fait le plus vaste habitat de la planète (Teal *et al.*, 2008). Elle est également considérée comme la limite écologique la plus clairement définie sur la planète (Snelgrove *et al.*, 2000). Cette interface peut être considérée comme hétérogène à l'échelle globale avec les interfaces de zones estuariennes, de récifs coralliens... dont les propriétés physico-chimiques (e.g. granulométrie, teneurs en matière organique) diffèrent (Gattuso *et al.*, 1998) ; mais aussi à l'échelle kilométrique, avec la présence de patchs de zones végétalisées ou non (Duarte *et al.*, 2005 et **Figure I.2A**), de zones rocheuses, de plages sableuses... (Ruttenberg & Granek, 2011). Enfin, l'hétérogénéité de l'interface eau-sédiment est également visible à l'échelle centimétrique voire millimétrique, induite par les activités de la macrofaune benthique (e.g. Pischedda *et al.*, 2008) (**Figure I.2B**). Cette hétérogénéité engendre une biodiversité jugée plus importante que dans le domaine pélagique (Angel, 1993 ; Gray, 1997).

L'interface eau-sédiment représente la zone de dépôt ultime de tout le matériel organique et inorganique particulaire qui sédimente dans la colonne d'eau (Henrichs, 1992 ; Smith & Hollibaugh, 1993). La matière organique végétale est à la base produite par la photosynthèse à partir des carbonates, des nitrates et des phosphates, selon le rapport établi par Redfield de 106 atomes de carbone, pour 16 atomes d'azote et un atome de phosphore (Redfield *et al.*, 1963). Dans les systèmes côtiers différents producteurs primaires sont représentés : le phytoplancton, le phytobenthos, les herbiers de phanérogames. Duarte (1990) a déterminé à partir de 27 espèces de phanérogames provenant de 30 sites différents que le rapport C/N/P médian pour les phanérogames marines était de 474/24/1.

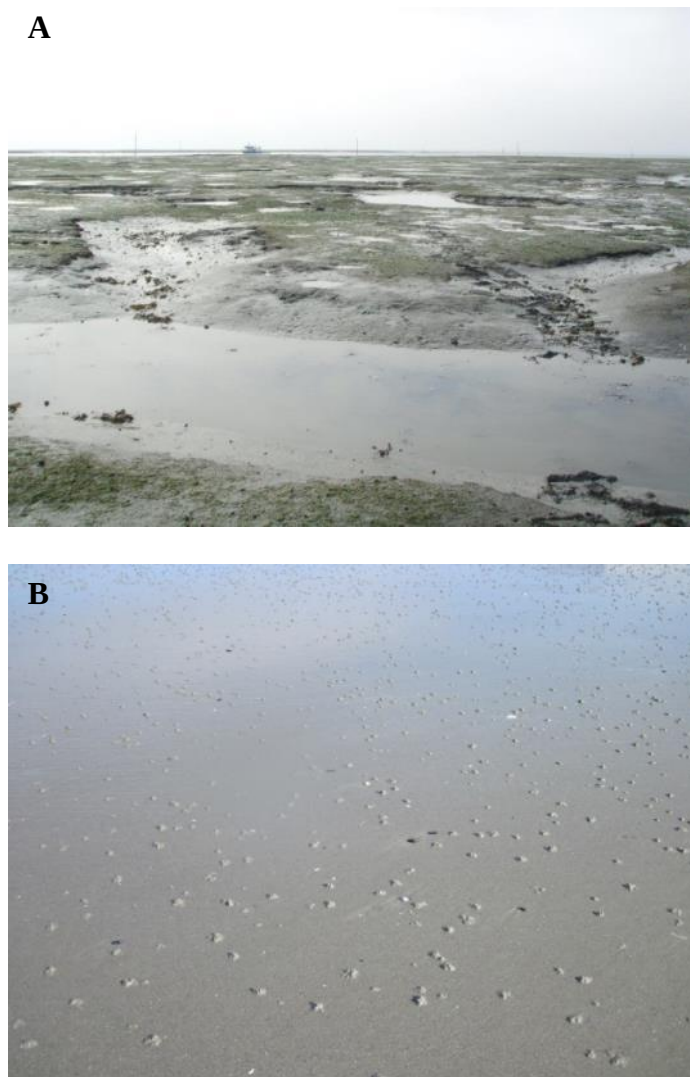


Figure I.2 : illustrations de l'hétérogénéité de l'interface eau-sédiment d'une part sur un sédiment vaseux recouvert de *Zostera noltei* sur le bassin d'Arcachon (A), et d'autre part sur une plage sableuse colonisée par l'annélide polychète *Arenicola marina* à Wimereux (B).

On trouve également en milieu côtier de la matière provenant du milieu continental au travers des fleuves. La matière organique est un mélange complexe de matière dissoute ou particulaire, vivante (producteurs, consommateurs) ou détritique (pelotes fécales, carcasses...) (Fowler & Knauer, 1986), et constituée de différents composés biochimiques : lipides (5-15%), carbohydrates (10-20%) et protéines elles-mêmes composées d'acides aminés (10%) (Burdige, 2007), mais aussi des acides humiques et fulviques, et avec des rapports élémentaires qui diffèrent (Duarte, 1990). La matière organique particulaire de composition variable finit par se déposer sur l'interface eau-sédiment. Le flux de particules qui sédimente à 100 m de profondeur a été estimé à 7×10^{15} gC.an⁻¹ (Martin *et al.*, 1987). Pendant la sédimentation, une partie de ce carbone est dégradé dans la colonne d'eau. Plus la profondeur de la colonne d'eau est importante, moins la quantité de carbone organique sera importante, et moins elle sera réactive une fois sur l'interface eau-sédiment, c'est-à-dire que la fraction facilement dégradable l'aura été dans la colonne d'eau (Lee & Wakeham, 1988 ; Wakeham *et al.*, 1997). Le taux de sédimentation dans les zones côtières est estimé à 0,1 à 1 cm.an⁻¹ par Wollast (1998)

ou Rabouille *et al.* (2001). Mais aussi, entre 0,1 jusqu'à presque 1000 mg.cm⁻².an⁻¹ composés de 0,1 à plus de 10% de carbone organique, en milieu côtier peu profond, recensé par Hedges & Keil (1995). Par exemple, dans la zone littorale, à 5 – 10 – 15 et 20 m de profondeur dans la Ría de Vigo (Nord-Ouest de l'Espagne), le taux de sédimentation annuel de carbone a été estimé à 1085 ± 365 mg.m⁻².j⁻¹ (Zúñiga *et al.*, 2011). Toute la matière qui sédimente sur la surface des sédiments est la source majeure de nourriture pour les organismes benthiques et est entre autres à l'origine de la diversité des organismes benthiques, du compartiment microbien aux macro-invertébrés, qui en retour permettent un recyclage de la matière organique pour les producteurs primaires (Snelgrove *et al.*, 2000). L'importante quantité de matière organique qui sédimente (entre 0,1 et 1 cm.an⁻¹ - Wollast, 1998 ; Rabouille *et al.*, 2001) à l'interface eau-sédiment des systèmes côtiers fait que même si les sédiments côtiers ne représentent que 10 % de la surface des fonds océaniques, ils stockent 80 % du carbone organique (Hedges & Keil, 1995). Notamment, bien que les zones végétalisées ne représentent que moins de 2 % de la surface des océans, elles participent au stockage de 210 à 244 TgC.an⁻¹ (Duarte *et al.*, 2005).

I.2. Matière organique et processus de minéralisation à l'interface eau-sédiment

Le point commun entre ces deux zones de transition décrites ci-dessus est qu'elles sont des zones clés du devenir de la matière organique. Il apparaît donc essentiel de définir et décrire les processus de devenir de cette matière organique à l'interface eau-sédiment des zones côtières, et ses interactions avec la macrofaune et les microorganismes.

I.2.a. Définitions

La matière organique correspond comme son nom l'indique à toute la matière qui se rapporte aux organismes (Ramade, 2002). Elle peut être vivante ou morte, particulaire (> 0,45 µm) ou dissoute (< 0,45 µm). Cette matière organique se caractérise dans les écosystèmes selon sa qualité, c'est-à-dire sa composition biochimique et ses rapports élémentaires, et sa dégradabilité qui est directement liée à sa qualité. Elle peut alors être qualifiée de « labile » (facile à utiliser et dégrader) ou de « réfractaire » (difficile à utiliser et dégrader). La fraction labile de la matière organique correspond aux composés simples, c'est-à-dire les sucres, les lipides, les protéines et les acides aminés. Ces composés labiles sont plus rapidement minéralisés que la matière dite réfractaire composée de macromolécules plus complexes allant de la lignine ou la cellulose aux acides fulviques et humiques (Henrichs, 1992). La composition de la matière organique évolue avec son état de dégradation. Les composés les plus labiles sont d'abord dégradés, la proportion de composés réfractaires est donc de plus en plus importante (Mayer, 1989, Arndt *et al.*, 2013) tandis que la quantité totale de matière organique diminue.

Une partie de cette matière organique qui sédimente sur l'interface eau-sédiment est utilisée comme source de nourriture par les consommateurs benthiques dont les dépositivores de surface (Mayer, 1989 ; Jumars, 1993). D'un point de vue nutritionnel, la matière organique plutôt réfractaire est moins consommée que la matière organique riche en biopolymères plus simples ; un exemple concret en milieu benthique côtier est celui des phanérogames fraîches qui sont peu consommées par les organismes (Pellikaan, 1984 ; Cebrián, 1999). Il y a dans cela une notion de palatabilité mais aussi une logique de taille des fragments de feuilles par rapport aux appendices buccaux des consommateurs (Taghon, 1982).

I.2.b. Dégradation de la matière organique grossière

La majeure partie de la matière organique qui se dépose sur l'interface eau-sédiment (en général plus de 99%) est déjà en partie dégradée par les microorganismes dans la colonne d'eau (Wakeham & Lee, 1993), que ce soit la matière d'origine continentale ou la production primaire autochtone pélagique (Wakeham *et al.*, 1997). En revanche, la production benthique ne subit pas ces premières étapes dans la colonne d'eau, comme par exemple les herbiers de phanérogames, qui représentent une production primaire moyenne de $1012 \text{ g PS.m}^{-2}.\text{an}^{-1}$, soit 12% de la production primaire côtière mondiale (Duarte & Chiscano, 1999), et forment une litière comme en milieu terrestre. Différentes étapes de décomposition sont alors nécessaires avant que cette matière soit minéralisée par les microorganismes (e.g. Duineveld *et al.*, 1997 ; Danovaro *et al.*, 1998). Un autre type de production primaire benthique est le microphytobenthos, avec par exemple dans le bassin d'Arcachon une production estimée à $101 \text{ gC.m}^{-2}.\text{an}^{-1}$ (Auby, 1991).

Les processus démarrent par une étape de solubilisation des composés hydrosolubles avec une autolyse des cellules végétales (Harrison & Mann, 1975). Ce sont essentiellement les sucres et les protéines qui sont solubilisés sur quelques heures dans le cas de macroalgues, et jusqu'à plusieurs jours dans le cas des macrophytes (Khailov & Burlakova, 1969 ; Rice & Tenore, 1981 ; Pellikaan, 1984). S'ensuit une étape de conditionnement par les microorganismes, principalement des bactéries et des champignons qui colonisent les végétaux (Fenchel, 1970 ; Newell, 1981 ; Peduzzi & Herndl, 1991). Les microorganismes sécrètent des exo-enzymes qui accélèrent la décomposition des macromolécules complexes comme la cellulose ou la lignine (Sinsabaugh & Linkins, 1990). Cette étape permet d'obtenir des molécules d'une taille assimilable pour les procaryotes (Weiss *et al.*, 1991) et donc plus facilement minéralisables. Le rapport C/N de la matière organique végétale en cours de décomposition est diminué grâce à la colonisation des végétaux par des bactéries et des champignons eux-mêmes constitués d'un rapport C/N bas (Rice & Tenore, 1981). La colonisation du débris par les microorganismes a pour conséquence d'augmenter la palatabilité des débris pour la faune (Tenore & Rice, 1980 ; Blum *et al.*, 1988, Cammen, 1989 ; Cebrian, 1999). Une synergie ou une compétition se met alors en place entre les microorganismes décomposeurs et la macrofaune consommatrice

(Nugteren *et al.*, 2009a). Ce sont les impacts des micro- et macroorganismes, mais aussi des courants qui induisent la dernière étape de fragmentation mécanique (Rice & Tenore, 1981), qui permet d'obtenir des débris de plus petite taille avec plus de surface de contact pour faciliter la suite de sa dégradation.

Lorsque les végétaux sont plutôt labiles comme les macroalgues, ils contiennent plus de composés solubles et donc le taux de décomposition est supérieur par rapport à celui de plantes vasculaires (Tenore & Hanson, 1980).

La présence de macromolécules complexes moins facilement dégradables peut être à l'origine de la formation de composés humiques. L'humus est un complexe de matière organique non minéralisée qui se transforme en composés phénoliques. Sous cette forme, la matière est alors moins accessible pour être minéralisée, ce qui favorise le stockage du carbone.

Ces étapes de transformation de la matière organique permettent le passage de la matière organique particulaire sous forme dissoute, mais aussi la dégradation des molécules simples : sucres simples, acides aminés ou encore acides gras, et permettent la dégradation à plus long terme des biopolymères jusqu'à l'obtention de molécules d'une taille suffisamment petite pour être minéralisées par les procaryotes. En effet, 30 à 99 % de la matière organique déposée sur le sédiment est minéralisée par les microorganismes benthiques (Henrichs, 1992) suivant une cascade de réactions d'oxydo-réduction, puis repart dans le pool nutritif (Froelich *et al.*, 1979 ; Glud *et al.* 2003). Ces sels nutritifs (nitrates, phosphates...) libérés par cette minéralisation se retrouvent sous forme dissoute dans l'eau interstitielle du sédiment, créant des flux de nutriments vers l'eau surnageante (Boudreau & Jorgensen, 2000).

I.2.c. Minéralisation de la matière organique particulaire détritique

Trois devenir sont possibles une fois la matière organique particulaire déposée sur l'interface eau-sédiment : une partie de la matière décomposée est consommée ou déplacée par la faune et ses activités, une autre partie est enfouie dans les couches profondes jusqu'à formation de composés kérogènes, et une partie est minéralisée puis repart dans le pool nutritif. Le terme de diagenèse précoce regroupe les processus de minéralisation et d'enfouissement de la matière organique dans les sédiments (e.g. Froelich *et al.*, 1979 ; Berner, 1980 ; Henrichs, 1992 ; Middelburg *et al.*, 1993 ; Arndt *et al.*, 2013).

Jusqu'à 99% de la matière organique déposée sur l'interface eau-sédiment est minéralisée par les procaryotes (Henrichs, 1992). Ce processus est en fait lié au métabolisme énergétique. Il s'agit de réactions d'oxydo-réduction utilisant la matière organique comme donneur d'électrons et différentes molécules oxydées comme accepteur d'électrons. Les métabolismes aérobies utilisent l'oxygène comme accepteur d'électrons, et les métabolismes anaérobies utilisent les nitrates, le manganèse, le fer, les sulfates ou encore le dioxyde de carbone. Dans tous les cas, l'objectif est la formation

d'énergie sous forme d'ATP, utilisé ensuite par la cellule. Suivant l'accepteur terminal d'électron utilisé, ce n'est pas la même quantité d'énergie qui est libérée. C'est donc la molécule oxydante présente qui apporte le meilleur rendement énergétique qui est préférentiellement utilisée par les microorganismes pour oxyder la matière organique. Une fois cette molécule épuisée, c'est la seconde molécule oxydante qui a le deuxième meilleur rendement énergétique qui est utilisée, et ainsi de suite (Froelich *et al.*, 1979). Un équilibre entre les processus de diffusion physico-chimiques et la consommation biologique des différents accepteurs terminaux d'électron est à l'origine d'une succession verticale des accepteurs d'électrons des sédiments. En retour, cette stratification organise une succession des groupes fonctionnels microbiens dénitrifiants, sulfatoréducteurs, etc... qui les utilisent.

Dans la zone oxiq, les communautés aérobies utilisent l'oxygène comme accepteur terminal d'électron avec par exemple des bactéries aérobies organotrophes des genres *Flexibacter* ou encore *Cytophaga* dans le bassin d'Arcachon (Benlloch *et al.*, 1995). Dans la zone suboxiq, les communautés dénitrifiantes respirent les nitrates et dégagent de l'azote moléculaire (N₂), grâce à la production d'enzymes dont la nitrate réductase. On trouve par exemple des bactéries du genre *Pseudomonas*, ou encore des archées comme celles du genre *Halobacterium* dans des milieux saturés en sel comme les marais salants (Shapleigh, 2006). Il y a ensuite les communautés réductrices du manganèse, toujours dans la zone suboxiq, puis celles réductrices du fer qui respirent le fer ferrique ou l'oxyde manganique. *Shewanella putrefaciens* est par exemple capable d'utiliser ces deux molécules oxydantes comme accepteurs terminaux d'électrons (Nealson & Myers, 1992). Dans les sédiments anoxiques, sont présents les sulfato-réducteurs, qui utilisent les sulfates comme accepteurs terminaux d'électron pour leur métabolisme, en utilisant entre autres des sulfites réductases, avec par exemple des bactéries du groupe *Desulfosarcina* ou encore *Desulfonema* retrouvées dans les sédiments colonisés par *Zostera noltei* dans le bassin d'Arcachon (Cifuentes *et al.*, 2000). La sulfato-réduction est l'une des voies de minéralisation de la matière organique les plus employées dans les sédiments marins (Jørgensen, 1982 ; Canfield, 1989). D'autre part, on trouve les microorganismes méthanogènes, des archées exclusivement, qui utilisent le dioxyde de carbone comme accepteurs terminaux d'électrons avec par exemple *Methanosarcina acetivorans* (Ferry & Lessner, 2008). L'ensemble des réactions associées à ces différents métabolismes respiratoires sont présentées sur le **tableau I.1** et la **figure I.3**. La fermentation est un autre mécanisme utilisé par différents microorganismes pour produire de l'énergie, bien qu'il soit moins efficace que la respiration, qui utilise des composés organiques comme donneurs d'électrons. Par exemple, une mole de glucose respiré produit 32 moles d'ATP, alors qu'une mole de glucose fermenté ne produit qu'entre 2 et 4 moles d'ATP (Burdige, 2007). Ces processus se font en syntrophie, c'est-à-dire grâce à la coopération de plusieurs microorganismes, et ont lieu dans les sédiments anoxiques en parallèle des minéralisations par respiration. Par exemple, Finke et Jørgensen (2008) ont constaté à partir de

sédiments arctiques et de mer du Nord anoxiques que le couplage entre la sulfato-réduction et la fermentation qui existait dans les optimums de températures laissait place à un couplage entre fermentation et méthanogenèse dans les plus hautes températures d'incubation (43°C).

Tableau I.1 : Différentes voies d'oxydation, réactions de minéralisation et énergies libres associées de la matière organique dans les sédiments marins. D'après Thauer et al., 1977 et Fenchel et al., 1998.

<i>Voie d'oxydation</i>	<i>Réaction de minéralisation</i>	<i>Energie libre produite ΔG_0 (kJ.mol⁻¹)</i>
Respiration aérobie	$\text{CH}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$	-479
Dénitrification	$5\text{CH}_2\text{O} + 4\text{NO}_3^- \rightarrow \text{CO}_2 + 3\text{H}_2\text{O} + 4\text{HCO}_3^- + 2\text{N}_2$	-453
Réduction du Manganese (IV)	$\text{CH}_2\text{O} + 2\text{MnO}_2 + 3\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 4\text{HCO}_3^- + \text{Mn}^{2+}$	-349
Réduction du Fer (III)	$\text{CH}_2\text{O} + 4\text{Fe(OH)}_3 + 7\text{CO}_2 \rightarrow 8\text{HCO}_3^- + 3\text{H}_2\text{O} + 4\text{Fe}^{2+}$	-114
Sulfato-réduction	$2\text{CH}_2\text{O} + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{H}_2\text{S} + 2\text{HCO}_3^-$	-77
	$4\text{H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-152
	$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+ \rightarrow 2\text{CO}_2 + \text{HS}^- + 2\text{H}_2\text{O}$	-41
Production de méthane	$4\text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$	-136
	$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CO}_2 + \text{CH}_4$	-28

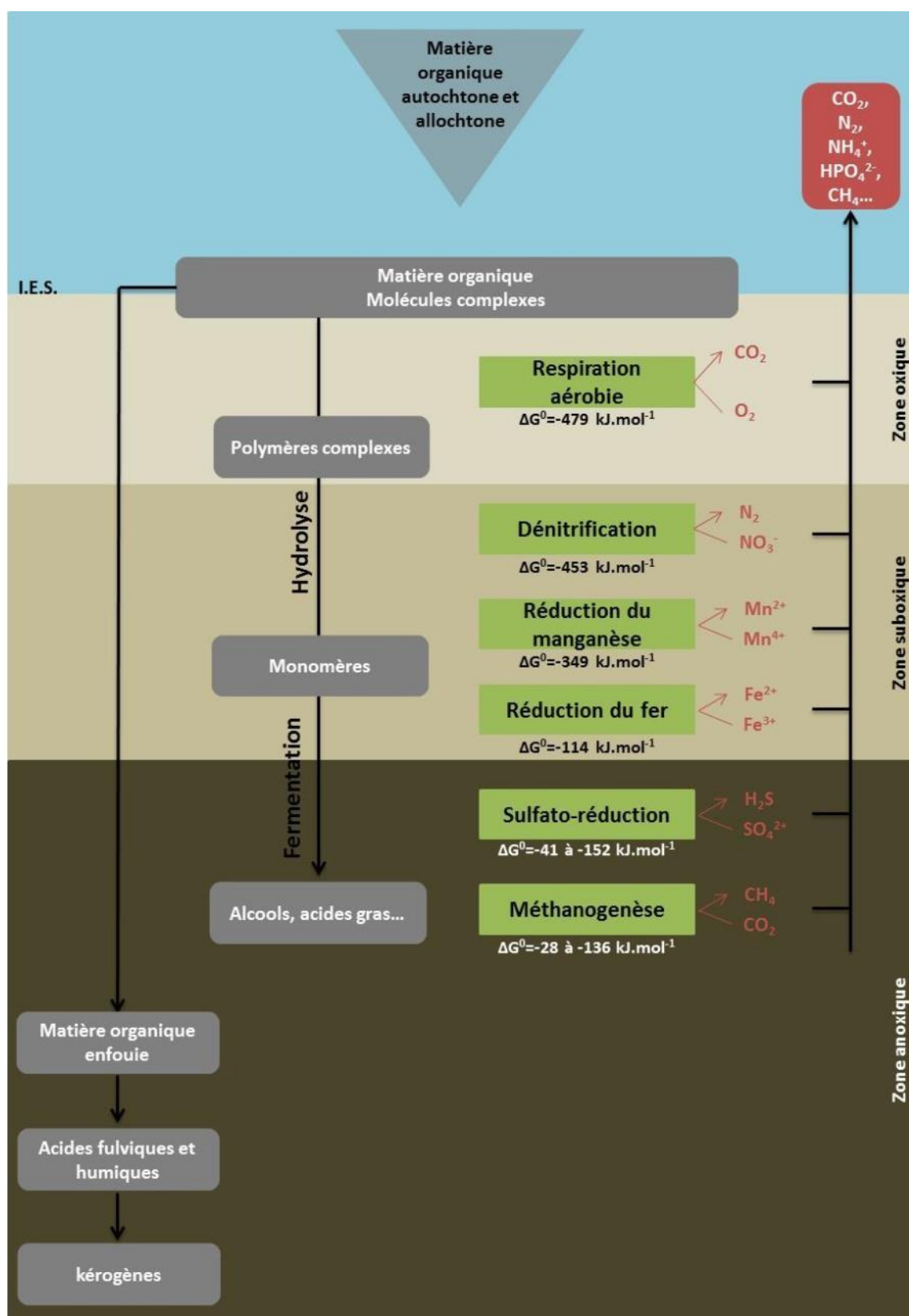


Figure I.3 : Voies de transformation de la matière organique dans les sédiments, d'après Froelich *et al.*, 1979 et Bertrand *et al.*, 2011.

Cette description de la diagenèse précoce vaut pour des sédiments non perturbés à l'état d'équilibre. Différents facteurs biologiques et physiques, à plus ou moins grandes échelles spatiale et temporelle, influencent (stimulent ou inhibent) ces processus de minéralisation. À petite échelle spatiale, la matière organique peut s'adsorber aux particules inorganiques, formant des complexes limitant les processus de minéralisation (e.g. Hedges & Keil, 1995, Burdige, 2007, Arndt *et al.*, 2013). À plus grande échelle spatiale, il peut y avoir compétition ou interactions entre la macrofaune benthique et les microorganismes car ils utilisent la même matière comme source d'énergie. Par exemple, van Nugteren *et al.* (2009a) ont montré que la matière organique qui se dépose en agglomérats à l'interface eau-sédiment est plus utilisable par la macrofaune que par les procaryotes. Mais une fois que les activités de la faune comme par exemple la nutrition ou la construction de structures biogènes ont dispersé cette matière organique, elle devient alors plus accessible aux microorganismes. À petite échelle de temps, les oscillations des conditions redox du sédiment influencent également la minéralisation de la matière organique. Ces oscillations sont souvent dues aux activités de la faune dans le sédiment, et notamment via une irrigation non constante des structures biogènes pour la respiration et/ou la nutrition (eg. Aller, 1994 ; Banta *et al.*, 1999). Enfin, à plus grande échelle de temps, un autre phénomène peut influencer cette minéralisation, le « *priming effect* », peu documenté dans le cas des sédiments marins (Nugteren *et al.*, 2009b, Arndt *et al.*, 2013) contrairement aux sols (e.g. Fontaine *et al.*, 2003 & 2004). Il s'agit de la stimulation de la minéralisation par les microorganismes par apport de matière organique fraîche. En effet, en apportant de la matière organique fraîche et donc plus labile que la matière organique présente, stimulant la production d'exo-enzymes qui dégradent également cette matière organique plus réfractaire. Ce processus permet d'obtenir des métabolites de composition plus simple, qui sont plus facilement dégradables par les différentes communautés procaryotes présentes (Arndt *et al.*, 2013). Ces différents mécanismes qui contrôlent la minéralisation de la matière organique sont schématisés sur la **figure I.4**.

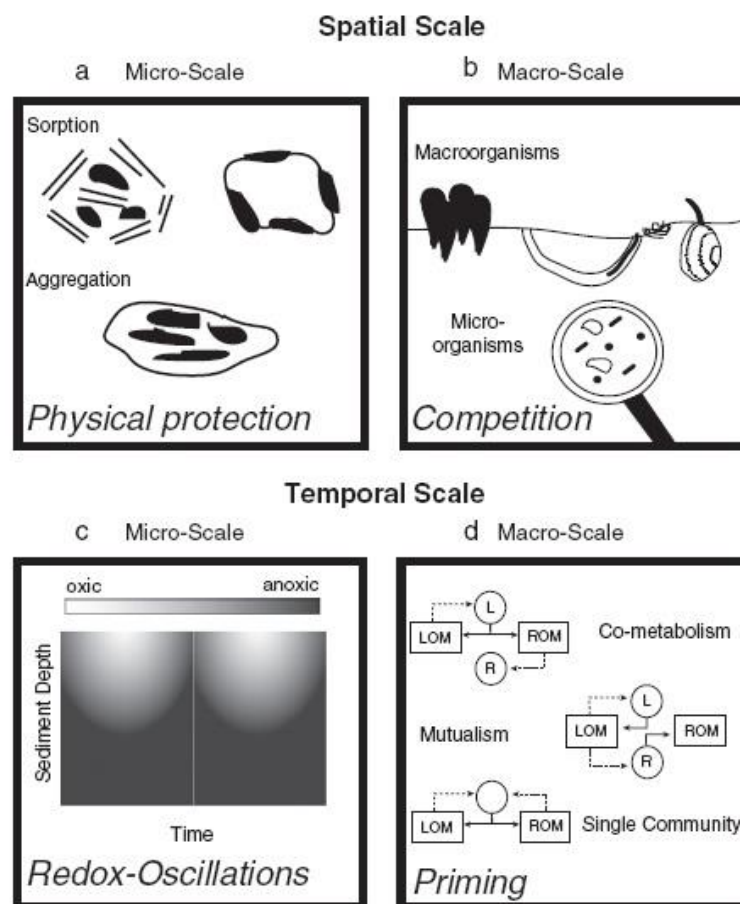


Figure I.4 : Facteurs physiques et biologiques qui influencent la minéralisation de la matière organique des sédiments dans le temps et dans l'espace, à petite échelle (a et c) et à plus grande échelle (b et d). LOM: labile organic matter. ROM: refractory organic matter. De Arndt *et al.*, 2013.

Une partie de ce travail de thèse a été consacrée à approfondir l'effet de l'enrichissement en matière organique sur les communautés bactériennes de l'interface eau-sédiment, en lien avec la bioturbation (**chapitre IV**). Pour mettre en évidence le lien entre la matière organique et la diversité ainsi que l'abondance et l'activité bactériennes, deux types de matière organique ont été utilisés : une culture inactivée de phytoplancton (*Tetraselmis* sp.) et un broyat de feuilles de *Zostera noltei*. Les cellules phytoplanctoniques de *Tetraselmis* sp. sont couramment utilisées en aquaculture pour leur haute valeur nutritionnelle (Brown, 1997 ; Ponis *et al.*, 2002). Unicellulaires et autoclavées, la matière organique contenue y est *a priori* facilement minéralisable. Au contraire, *Z. noltei* est une phanérogame avec une composition plus complexe, et proportionnellement plus de composés plus difficilement minéralisables tels que la cellulose. De plus, la taille des feuilles nécessite les premières étapes de fragmentation décrites ci-dessus, ce qui les rend moins facilement consommables.

II. La bioturbation contrôle les processus à l'interface eau-sédiment

II.1. Qu'est-ce que la bioturbation ?

« *Worms have played a more important role in the history of the world than most persons would at first suppose* » (Darwin, 1881). C'est ce qu'a écrit Charles Darwin dans son dernier livre scientifique qui traite de la bioturbation. L'idée d'écrire ce livre lui est venue à partir d'observations faites lors d'une visite chez son oncle. Il a en effet observé que des matériaux déposés 15 ans auparavant dans un champ avaient été totalement enfouis par l'activité des lombrics. Cette constatation a tellement éveillé sa curiosité qu'il pensait en soumettant ce livre avoir traité le sujet avec beaucoup trop de détail. Finalement son travail a été repris dans une multitude de domaines différents allant de l'éthologie à l'hydrologie en passant par l'archéologie. Cet historique de la bioturbation a été décrit de manière détaillée par Feller *et al.* en 2003 et par Meysman *et al.* en 2006. Plus de 130 ans après, la bioturbation continue à intéresser le milieu de la recherche. En milieu marin, dès le XVI^e siècle, Belon (1555) remarquait la création de monticules de feces enroulés ; mais la première quantification a été faite en 1891 par Davison qui a estimé la production de pelotes fécales du polychète *Arenicola marina* à 3000 tonnes par acre sur les côtes de Northumberland au Royaume-Uni. C'est seulement en 1952 que le terme de bioturbation apparaît. D'une part avec Richter qui l'utilise pour décrire des structures fossiles dans la roche, et d'autre part Schäfer qui l'utilise pour décrire les traces de la faune dans les sédiments intertidaux.

Aujourd'hui, on définit la bioturbation comme l'ensemble des processus de transports effectués par les organismes. Ces transports affectent directement et indirectement les particules sédimentaires et l'eau porale avec les solutés associés. La bioturbation inclut le remaniement sédimentaire et la ventilation qui induisent respectivement le déplacement des particules et des solutés, induits par l'activité des organismes (Kristensen *et al.*, 2012).

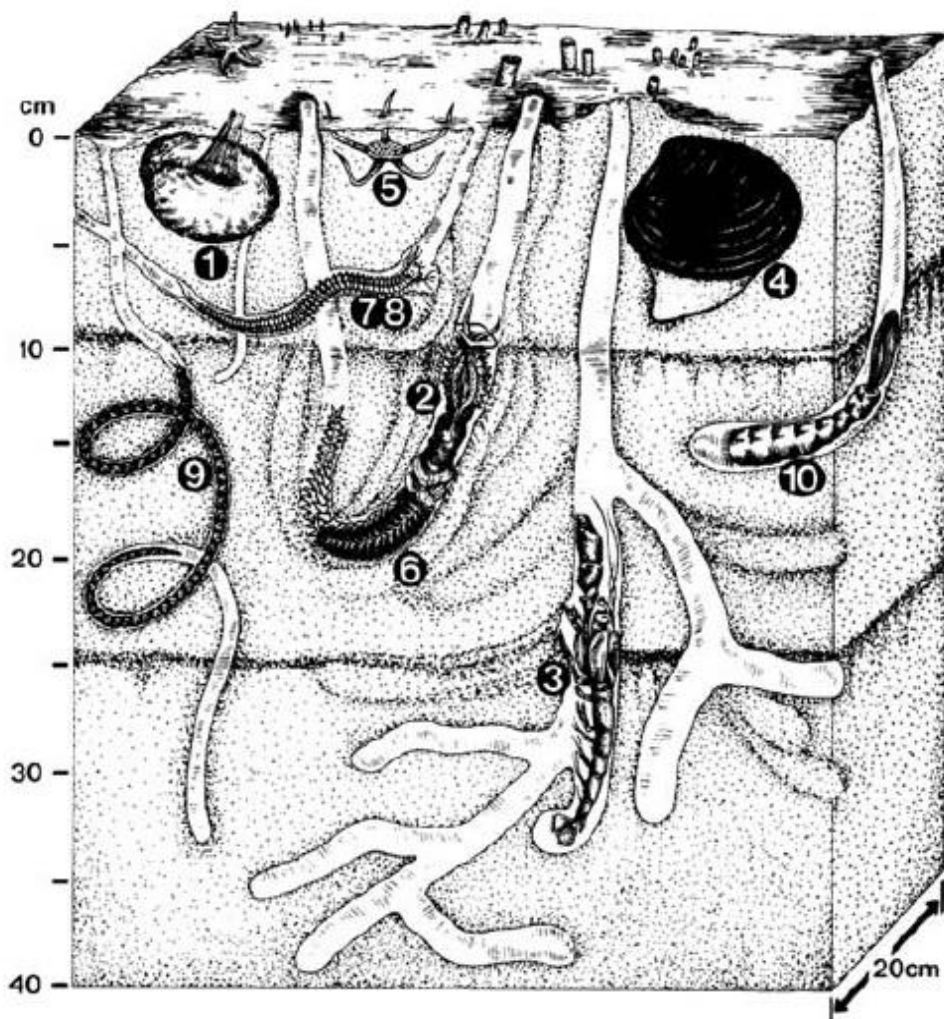


Figure I.5 : Schéma présentant la diversité des organismes et de leurs structures biogènes dans les sédiments. 1 : *Echinocardium cordatum*, *E. flavescens*, *Brissopsis lyrifera* ; 2 : *Chaetopterus variopedatus* ; 3 : *Callianassa subterranea* ; 4 : *Arctica islandica* ; 5 : *Amphiura filiformis*, *A. chiajei* ; 6 : *Gattyana cirrosa* ; 7 : *Glycera rouxii*, *G. alba* ; 8 : *Nereis* sp. & *Nephtys* sp. ; 9 : *Notomastus latericeus* ; 10 : *Echiurus echiurus*. D'après Riisgard & Larsen, 2005.

Ce manuscrit s'intéresse plus particulièrement à la bioturbation de la macrofaune benthique, mais il ne faut pas oublier qu'elle concerne l'ensemble des compartiments biologiques vivant sur et dans les sédiments, de la micro- à la mégafaune, invertébrés comme poissons, mais aussi les végétaux notamment avec les plantes au travers de leurs racines. Par ailleurs, même si l'on ne considère que la macrofaune benthique, la diversité d'organismes est associée à une diversité de comportements et donc de modes de bioturbation impactant différemment les sédiments (**Figure I.5**).

II.1.a. Le remaniement sédimentaire

- **Définition et classification**

Le remaniement sédimentaire correspond au mouvement des particules. Ce mouvement de particules peut être induit par le déplacement, la construction et la maintenance de structures biogéniques, l'ingestion et l'égestion de particules. Ce mélange peut être de nature locale, avec un déplacement aléatoire des particules sur de très courtes distances, ou de nature non-locale, avec un déplacement des particules sur de plus longues distances (Meysman *et al.*, 2003).

Suivant les espèces, le comportement des organismes est différent, ce qui induit un déplacement différent des particules. Il existe donc une classification des différents groupes fonctionnels de bioturbation (François *et al.*, 1997 ; Gerino *et al.*, 2003 ; Solan & Wigham, 2005) :

- (1) Le groupe fonctionnel des biodiffuseurs regroupe les organismes dont le comportement induit un déplacement aléatoire et diffusif des particules sur de courtes distances (**Figure I.6A**). Certains bivalves appartiennent à ce groupe tels que *Ruditapes decussatus* ou *Venerupis aurea* (François *et al.*, 1999). On y trouve également l'amphipode *Pontoporeia hoyi* (Robbins *et al.*, 1979).
- (2) Le groupe fonctionnel des diffuseurs à galeries, qui est une extension du groupe fonctionnel des biodiffuseurs (**Figure I.6B**). Ils construisent des galeries et induisent un déplacement diffusif des particules en surface. En revanche, la présence des galeries en profondeur et les activités des organismes dans ces galeries induisent un transport non-local des particules de la surface vers le fond. Les polychètes *Hediste diversicolor* et *Marenzelleria viridis* en sont deux exemples (François *et al.*, 2002 ; Quintana *et al.*, 2007).
- (3) Le groupe fonctionnel des convoyeurs vers le bas avec les organismes placés verticalement dans le sédiment la tête vers le haut (**Figure I.6C**). Ils se nourrissent de particules en surface et rejettent leurs feces en profondeur dans le sédiment. Ils induisent un transport non-local au travers du tube digestif de la surface vers la profondeur. Ce type de transport des particules a été observé chez les Sipunculidés (Smith *et al.*, 1986), chez le polychète cirratulidé *Cirriforma grandis* (Shull & Yasuda, 2001).

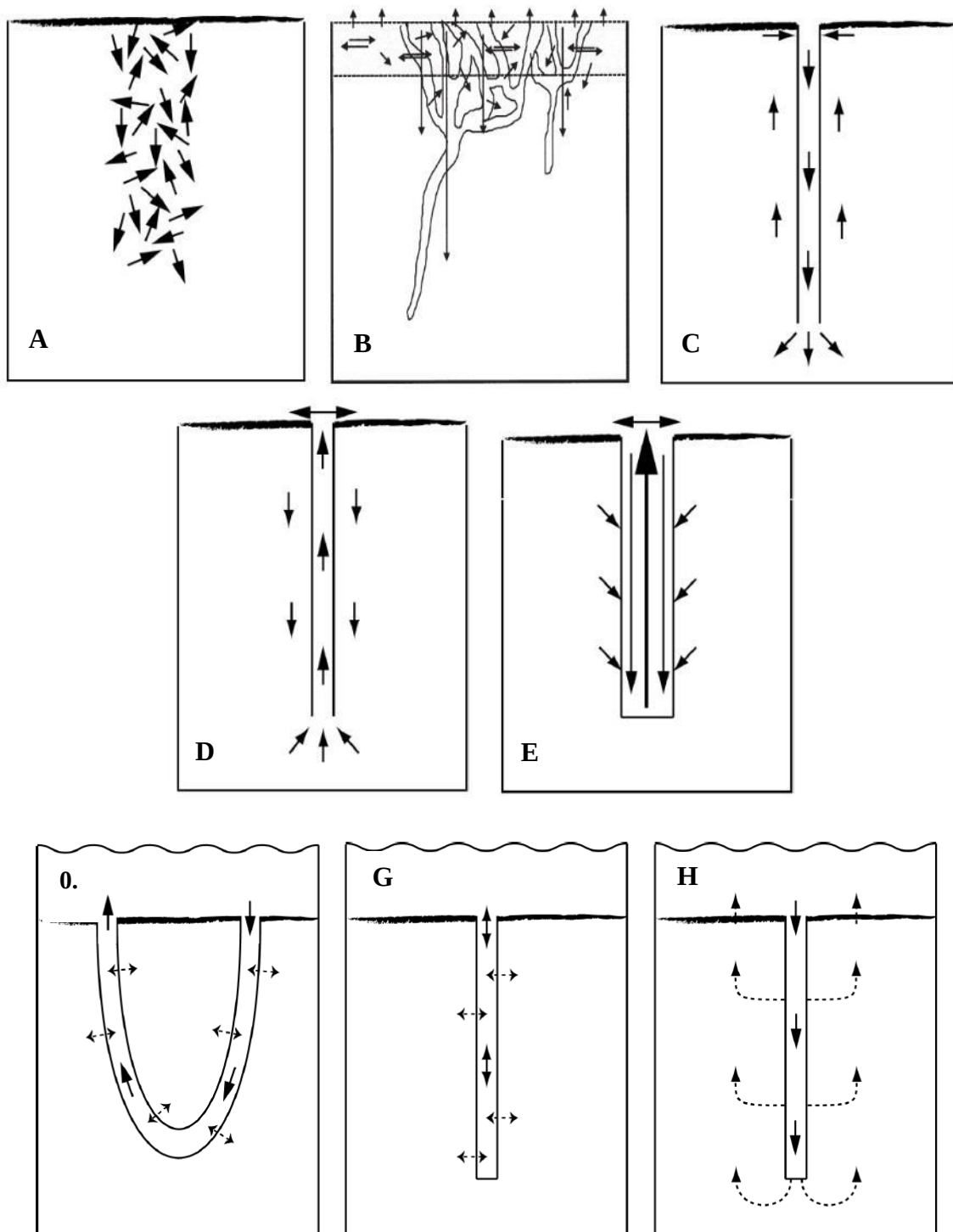


Figure I.6 : Représentations schématiques des différents groupes fonctionnels de remaniement sédimentaire (A à E), et de bioirrigation (F à H). A : biodiffuseurs, B : diffuseurs à galerie, C : convoyeurs vers le bas, D : convoyeurs vers le haut, E : régénérateurs, F : lorsque la galerie est ouverte aux deux extrémités, G : lorsque la galerie n'est ouverte qu'à une extrémité dans des sédiments non perméables et H dans des sédiments perméables. Pour les schémas A à E, les flèches représentent les déplacements de particules. Pour les schémas F à H, les flèches représentent les flux d'eau. D'après Kristensen *et al.*, 2012 et d'après François *et al.*, 1997 pour les diffuseurs à galerie.

(4) Le groupe fonctionnel des convoyeurs vers le haut regroupe les organismes placés verticalement tête vers le bas dans le sédiment (**Figure I.6D**). Leur comportement de nutrition induit un transport non-local des particules vers la surface. En effet, ils se nourrissent des particules en profondeur et rejettent leurs feces en surface après passage dans le tube digestif. Le polychète *Arenicola marina* (e.g. Cadée, 1976 ; Volkenborn *et al.*, 2007 ; Valdemarsen *et al.*, 2011), les polychètes de la famille des Maldanidés (Aller, 1982), ou encore les oligochètes tubificidés en eau douce (e.g. Pelegri & Blackburn, 1995) en sont des exemples.

(5) Le groupe fonctionnel des régénérateurs regroupe les organismes qui excavent le sédiment pour construire et maintenir leurs terriers (**Figure I.6E**). Il y a donc d'abord un transport des particules de la profondeur vers la surface lors de la construction des terriers, puis de surface vers le fond lors de l'effondrement des structures. Les décapodes *Uca* spp. et *Ocypode* spp. (Gardner *et al.*, 1987 ; Kristensen *et al.*, 2012) appartiennent à ce groupe.

Cette classification des groupes fonctionnels de bioturbation a été reprise par Kristensen *et al.* en 2012, en classant les diffuseurs à galerie comme sous-groupe des biodiffuseurs. Les groupes fonctionnels ont été mis au point après avoir mesuré le remaniement sédimentaire de différentes espèces (citées dans chaque groupe). Elle n'est donc pas définitive car certaines espèces n'ont jamais été utilisées comme modèle biologique et n'entrent potentiellement pas dans cette classification. Ceci est le cas du polychète *Melinna palmata* que nous avons étudié.

• Quantification du remaniement sédimentaire

De nombreuses études sur différents modèles biologiques appartenant aux différents groupes fonctionnels de bioturbation ont été effectuées, dont celles citées en exemple de chaque groupe, avec des approches *in situ* et expérimentales. Il existe donc différentes méthodes de quantification du remaniement sédimentaire adaptées aux différents groupes fonctionnels. On les divise en deux groupes (Maire *et al.*, 2008) :

(1) Les méthodes directes, qui permettent d'estimer la quantité de sédiment remanié dans le temps, sur l'interface eau-sédiment. Parmi ces méthodes directes il existe une ancienne méthode de **prélèvement direct** des feces sur l'interface eau-sédiment (Davison, 1891 ; Cadée, 1976). On trouve également le **piégeage** des particules rejetées sur l'interface eau-sédiment qui peuvent ensuite être quantifiées (Rhoads, 1963 ; Berkenbusch & Rowden, 1999). Le **nivelage** consiste à mesurer l'évolution dans le temps de la hauteur de l'interface eau-sédiment due à l'accumulation de sédiment. Ce sédiment peut ensuite être collecté et pesé (Rhoads, 1967 ; Rowden *et al.*, 1998). La **microtopographie** est le prolongement de cette dernière méthode. Elle peut être appliquée grâce à l'utilisation d'un

télémètre laser monté sur tables motorisées permettant le déplacement du laser en 2D sur l'interface eau-sédiment (Maire *et al.*, 2007b). Cette méthode a été développée dans ce travail. Enfin, **l'analyse d'image de surface** est basée sur la comparaison d'images successives de l'interface eau-sédiment permettant de quantifier la surface de sédiment remanié (Hollertz & Duchêne, 2001).

- (2) Les méthodes indirectes : ces méthodes permettent de mesurer le remaniement sédimentaire vertical et sont basées sur l'utilisation de **traceurs particuliers**. Les coefficients de remaniement sédimentaire sont ensuite obtenus par **modélisation** du déplacement de ces traceurs (Wheatcroft *et al.*, 1990). A partir de ce principe de base, de nombreux types de traceurs peuvent être utilisés : les radionucléides (Green *et al.*, 2002) ; la chlorophylle *a* (Sun *et al.*, 1991) ; les microtectites (Glass, 1969) ; les isotopes marqués (Blair *et al.*, 1996 ; Sandnes *et al.*, 2000) ; le sédiment enrichi en métal (Wheatcroft *et al.*, 1994) ; les billes de verre (Berg *et al.*, 2001) ; les microtaggants, qui sont des billes de plastique recouvertes de peinture (Wheatcroft, 1991) ; et enfin les luminophores, qui sont des particules sédimentaires recouvertes de peinture fluorescente sous lumière ultra-violette (Mahaut & Graf, 1987).

II.1.b. La ventilation

La bioirrigation correspond au mouvement de l'eau et des solutés entre l'eau interstitielle et l'eau surnageante (Rhoads, 1974). Il s'agit, en plus de la diffusion passive au niveau de l'interface eau sédiment, d'un flux actif d'eau et de solutés induit par les organismes (**Figures I.6 F, G et H**). Ce flux peut être un résultat de la ventilation, qui permet l'entrée d'eau oxygénée dans la structure pour la respiration de l'organisme (Riisgård & Larsen, 2005). Cette ventilation a été mesurée par Toulmond & Dejours (1994) pour le polychète *Arenicola marina*, avec des individus placés dans des tubes en verre avec dans la partie caudale de l'eau riche en oxygène, et dans la partie céphalique du tube une microélectrode pour mesurer la concentration en oxygène. Dans le sédiment, ce polychète étant positionné la tête vers le bas, il effectue des contractions péristaltiques du corps pour induire un flux d'eau oxygénée vers ses branchies, eau qui percole ensuite dans le sable (Toulmond & Dejours, 1994 ; Kristensen, 2001).

Ce flux peut également être à des fins de nutrition, notamment dans le cas de suspensivores, comme le polychète *Hediste diversicolor* qui par des ondulations du corps induit un flux d'eau puis inhale l'eau avec ses particules (Riisgård, 1991 ; Kristensen, 2001). Un exemple de galerie irriguée par le polychète *Hediste diversicolor* est présenté sur la **figure I.7**. Les comportements à l'origine de ces flux d'eau et de solutés n'étant pas continus, les flux d'eau et donc d'oxygène ne le sont pas non plus, ce qui est à l'origine d'oscillations des conditions d'oxydo-réduction des sédiments périphériques appelées oscillations redox. Ces oscillations ont été montrées de manière expérimentale (Aller, 1994) ;

avec différentes espèces comme le crustacé *Callianassa subterranea* qui ne bioirrigue que la moitié de son réseau de galerie pendant 2,6 minutes toutes les 40 minutes, et le polychète *Lanice conchilega* qui par mouvement de piston bioirrigue son tube toutes les quatre minutes (Forster & Graf, 1995).



Figure I.7 : Exemple d'une galerie irriguée par *Hediste diversicolor* en beige dans du sédiment anoxique noir.

• Quantification

Pour mesurer le taux de bioirrigation, il existe différentes méthodes basées sur l'utilisation de traceurs dissous. De manière générale, un traceur dissous et inerte est ajouté dans l'eau surnageante d'une carotte composée à moitié de sédiment, où les organismes sont placés, et d'eau. La bioirrigation des organismes induit un passage de l'eau surnageante avec le traceur dissout dans l'eau interstitielle. Après un certain temps d'incubation défini, le sédiment est découpé en tranches et le traceur est dosé dans l'eau porale de chaque tranche, ce qui permet d'obtenir un profil de distribution du traceur, puis par modélisation un taux de bioirrigation (Aller, 1980 ; Christensen *et al.*, 1984). Différents traceurs dont les taux de réaction sont connus ont été utilisés : le rapport $^{222}\text{Rn}/^{226}\text{Ra}$, distribution de traceurs radio-isotopiques comme le ^{22}Na (Luedtke & Bender, 1979). Chacune de ces méthodes a ses limites et ses contraintes d'utilisation, surtout pour ce qui est des traceurs radioactifs qui requièrent d'importantes précautions d'emploi. Une alternative à ces traceurs contraignants est l'ion bromure Br^- (Martin & Banta, 1992). Le brome, de numéro atomique 35, fait partie de la famille des halogènes. Cet élément est présent dans l'eau de mer à environ 0,7 mM. Le ratio Br^-/Cl^- constant dans l'eau de mer indique qu'il s'agit d'un élément conservatif qui n'entre dans aucun cycle redox dans l'eau de mer. Enfin, lors de la diagénèse précoce, il ne quitte pas l'eau interstitielle assez rapidement pour que sa concentration diminue significativement. Toutes ces propriétés font de l'ion bromure un bon traceur pour la mesure du taux d'irrigation. Dans des méthodes plus récentes, le traceur inerte dissous utilisé est la fluorescéine (Meysman *et al.*, 2007 ; Na *et al.*, 2008), traceur utilisé dans notre étude. Grâce à

l'utilisation de la fluorescéine, il est possible de suivre en temps réel, en continu et à haute fréquence la bioirrigation des individus dans l'eau surnageante. Cette méthode décrite dans le **chapitre II** n'est pas, contrairement aux méthodes citées ci-dessus, une méthode destructrice. Il est également possible de quantifier directement la concentration d'oxygène grâce à l'utilisation d'optodes, comme par exemple les optodes planaires (eg. Volkenborn *et al.*, 2007).

II.2. Les facteurs qui influencent la bioturbation

II.2.a. Facteurs biotiques

Etant donné les différences de comportement et les différences de type de bioturbation décrits ci-dessus, la composition et la diversité en organismes bioturbateurs a un impact sur le type et l'intensité du remaniement sédimentaire et de la bioirrigation. Les effets de la richesse spécifique et des traits fonctionnels sur la bioturbation et ses conséquences ont été mis en évidence dans différents types d'écosystèmes marins en *in situ* ou *ex-situ*. Par exemple, Duchêne & Rosenberg (2001) ont suivi l'activité sur l'interface eau-sédiment de 0,25 m² de sédiment prélevés en Suède composés d'organismes n'appartenant pas aux mêmes groupes fonctionnels de bioturbation et un groupe fonctionnel de nutrition tel que le déposivore de surface biodiffuseur *Abra nitida*, et le déposivore de surface/suspensivore *Amphiura filiformis*. Ils ont pu montrer que via la diversité fonctionnelle, l'interface eau-sédiment était entièrement remaniée par les communautés benthiques, avec après 7h de suivi 41% des 0,25 m² impactés par l'activité des différents organismes. Les effets de la richesse spécifique et des traits fonctionnels ont aussi été étudiés de manière expérimentale avec des assemblages d'espèces. Norling *et al.* en 2007 ont sélectionné 9 espèces dominantes de la mer Baltique et du Skagerrak appartenant aux différents groupes fonctionnels de bioturbation différents pour mesurer les effets sur les flux de nutriments à l'interface eau-sédiment. Ils ont pu constater que la présence de certaines espèces clés comme le crustacé *Calocaris macandreae* pouvaient avoir une influence plus importante sur les flux d'oxygène (de -9,3 mmol.m⁻².j⁻¹ sans macrofaune à -36,9 mmol.m⁻².j⁻¹ avec *Calocaris macandreae*) et de nutriments à l'interface eau-sédiment, que la richesse spécifique ou la diversité fonctionnelle. D'autres travaux ont montré la diminution de l'intensité de bioturbation induite par la perte de biodiversité, à partir de la modélisation des mesures *in situ* de la zone de mélange biologique et des informations de composition, abondance, biomasse et groupe fonctionnel de la macrofaune prélevée (Solan *et al.*, 2004). Dans certaines études, c'est l'influence de la taille, de la biomasse ou de la densité d'individus sur la bioturbation qui a été mise en avant. Notamment, Sandness *et al.* (2000) ont pu conclure que c'est surtout la taille des organismes bioturbateurs qui influence le taux de remaniement sédimentaire, par rapport à la densité. En revanche, le taux de bioirrigation était quant à lui plus positivement corrélé à la densité d'individus qu'à leur taille. La densité de population a tout de même un effet sur le remaniement des particules comme cela

a été montré pour le polychète *Hediste diverscolor* avec une corrélation positive et significative entre l'augmentation de la densité de 144 ind.m⁻² à 1153 ind.m⁻² et l'augmentation du remaniement sédimentaire (D_b) de $1,1 \pm 0,1$ à $2,0 \pm 0,1$ cm².an⁻¹. En revanche, le remaniement sédimentaire par individu a diminué avec l'augmentation de la densité (Duport *et al.*, 2006). Ce dernier résultat a également été observé par Braeckman *et al.* (2010) pour un autre polychète, *Nephtys sp.*, mais pas pour le bivalve *Abra alba*, dont le remaniement sédimentaire n'a pas été montré comme dépendant de la densité de population. Pour le crustacé amphipode *Corophium volutator*, le remaniement sédimentaire est plus important en condition de densité importante, avec 0,02 cm².j⁻¹ avec 14 921 ind.m⁻² et 0,001 cm².j⁻¹ avec 1989 ind.m⁻². Du fait de sa petite taille (≥ 7 mm), De Backer *et al.* (2011) suggèrent que la densité de population est donc un paramètre clé qui détermine l'impact de sa bioturbation sur le fonctionnement de l'écosystème. Caliman *et al.* (2012) se sont eux intéressés à l'effet de la biomasse de la communauté, étant donné que ce facteur est directement impacté par la perte de biodiversité. Ils ont pu constater que la bioturbation de la plus faible biomasse d'organismes (150 mg poids frais) avait des conséquences moindres sur le fonctionnement de l'écosystème (production de bactérioplancton par exemple) qu'avec les plus fortes biomasses (450 mg PF). La relation $D_b = 0,35 \times \text{Biovolume}$ a pu être trouvée grâce à la comparaison de ce coefficient pour différentes espèces placées en mésocosmes dans des densités égales, mais dont le biovolume variait (par exemple entre le polychète *Scalibregma inflatum* dont le biovolume est 1,06 cm³ et l'échinoderme *Echinocardium cordatum* dont le biovolume est de 6,61 cm³) (Gilbert *et al.*, 2007). Il y a donc un effet reconnu de la structure de la communauté sur la bioturbation, et donc sur ce que cette bioturbation influe, notamment les flux de nutriments issus de la minéralisation de la matière organique.

II.2.b. Facteurs environnementaux

L'hypoxie a été étudiée comme facteur impactant la bioturbation, ce phénomène étant grandissant avec le réchauffement climatique et les événements d'eutrophication des milieux côtiers. L'hypoxie impacte directement à court terme en limitant l'activité de la faune, et indirectement à long terme via les modifications de la communauté qu'elle entraîne. Par exemple, Belley *et al.* (2010) ont constaté la présence d'une communauté benthique dominée par des espèces de déposivores de surface tolérantes aux faibles concentrations en oxygène dans des zones hypoxiques. Ces espèces induisent plus de traces d'activité sur l'interface eau-sédiment que les communautés de la zone oxique composées de plus de suspensivores. En revanche, la densité de traces d'activités était plus faible en zone anoxique. Ces modifications ont des conséquences sur le fonctionnement des écosystèmes comme Van Colen *et al.* (2012) ont pu le mettre en évidence, en montrant qu'après une phase d'hypoxie, un changement du potentiel de bioturbation était associé au changement des communautés, avec le passage de communautés essentiellement constituées de déposivores de surface, puis de plus en plus de convoyeurs et de régénérateurs, permettant au sédiment de retrouver ses propriétés et son

fonctionnement biogéochimique d'origine, en permettant à nouveau l'oxydation des composés réduits accumulés lors de la période d'hypoxie (Middelburg & Levin, 2009). Plus récemment, toujours en lien avec les changements globaux, l'impact des hautes concentrations en dioxyde de carbone et de l'acidification sur l'activité a été mis en évidence. Par exemple, l'augmentation de la concentration en dioxyde de carbone induit des modifications du comportement de crustacés, comme chez le bernard-l'ermite, qui voit une diminution de sa capacité à détecter ses proies et sa nourriture, mais aussi ses prédateurs (Briffa *et al.*, 2012). Des modifications du comportement et de l'activité ont également été observées pour un autre crustacé, *Upogebia deltaura*, caractérisés par une augmentation du temps consacré au mouvement des pléiopodes (de 3,13% à 35,02%) et une diminution du temps à se déplacer (de 19,56% à 5,34%), jusqu'à la mort des individus pour un pH de 6,71 (Donohue *et al.*, 2012). Des effets de l'acidification ont été montrés sur la bioturbation de certains organismes comme l'ophiure *Amphiura filiformis* avec une profondeur maximale de mélange du sédiment trois à quatre fois plus faible dans le sédiment acidifié que dans le sédiment contrôle (Murray *et al.*, 2013). Ces changements de comportement et la diminution de l'intensité de bioturbation permettent alors d'avoir des conséquences sur le fonctionnement des écosystèmes et notamment sur la régénération des nutriments. Sur le long terme cela a pu être constaté sur une expérimentation de plus de 500 jours effectuée avec le polychète *Alitta virens* qui montre une diminution de la bioirrigation avec l'augmentation de la concentration en dioxyde de carbone (Godbold & Solan, 2013).

Des études ont également montré que les saisons, en lien avec la température, impactaient la bioturbation de la macrofaune benthique. Par exemple, Braeckman *et al.* en 2010 ont pu observer leur effet de la densité de population d'*Abra alba* sur le taux de remaniement sédimentaire décrit plus haut de manière significative en hiver, mais pas en été. Le remaniement sédimentaire du polychète *Neanthes virens* est lui aussi affecté par les variations de température avec des transports biodiffusifs (D_b) et bioadvectifs (V_b) plus faibles pour les températures basses que pour les températures estivales (Ouellette *et al.*, 2004). A plus petite échelle de temps que les saisons, les cycles de marées influencent les comportements de certaines espèces comme *Hydrobia ulvae*, qui a besoin d'un environnement humide ou couvert d'eau pour être actif et se déplacer (Orvain & Sauriau, 2002). La diminution nette de l'activité pendant les périodes de marée basse a également été constatée pour le crustacé amphipode *Corophium volutator* qui est inactif 70% du temps émergé (De Backer *et al.*, 2011). Le comportement et la bioturbation de la macrofaune des zones intertidales et subtidales peu profondes sont donc influencés par les cycles tidaux, mais aussi par la photopériode. Grémare en 1988 a montré que le polychète *Eupolyornia nebulosa* ne sortait de son tube que pendant les phases d'obscurité, avec un temps actif supérieur à 50% à l'obscurité et inférieur sous lumière ambiante. Pour le polychète *Hediste diversicolor* qui lui ne vit pas dans un tube mais dans un réseau de galeries, le remaniement sédimentaire était 30% plus faible lorsque les individus étaient placés constamment à l'obscurité ou avec des cycles de 12h de lumière et 12h d'obscurité (Lindqvist *et al.*, 2013). Cet effet stimulateur ou

inhibiteur de la photopériode est certainement lié aux stratégies écologiques des individus. Par exemple, *Eupolymnia nebulosa* étant sédentaire, à l'inverse d'*Hediste diversicolor*, il est logique qu'à la lumière il soit moins actif hors du tube, évitant ainsi d'être soumis à la prédation. Pour l'ensemble des espèces citées, bien qu'elles appartiennent à différents groupes de bioturbation, l'activité prépondérante et qui influence le remaniement sédimentaire est la nutrition. Il apparaît alors logique que la quantité et ou la qualité de la matière organique influencent aussi le comportement et la bioturbation de la macrofaune benthique. En 1998, Dauwe *et al.* ont montré à l'échelle de la communauté un mélange par biodiffusion des particules plus important là où la matière organique était dite "de qualité intermédiaire", par rapport à un site caractérisé par de la matière organique dite "de meilleure qualité" avec d'importants apports de matière organique labile. Ces travaux ont été enrichis par les travaux de Venturini *et al.* (2011) qui ont montré *in situ* des changements de structure fonctionnelle et de potentiel de bioturbation des assemblages de polychètes dus à des apports durables de matière organique fraîche. A l'échelle individuelle, le bivalve *Yoldia hyperborea* est habitué à subir d'importantes sédimentations de matière organique en période printanière et au contraire à être dans un sédiment à faible valeur nutritionnelle en hiver. Il a été observé que lors des apports de matière organique, son comportement de nutrition passe de dépositore de subsurface à suspensivore et dépositore de surface, avec une remontée des individus dans le sédiment qui deviennent plus mobiles, suggérant un remaniement plus important (Stead & Thompson, 2006). Dans le cas du polychète *Hediste diversicolor*, l'apport de nourriture effectué expérimentalement a permis d'obtenir un transport non-local des particules plus de trois fois supérieur par rapport à la condition sans apport (Nogaro *et al.*, 2008).

Enfin, la présence de contaminants dans l'eau et/ou dans les sédiments peut impacter également la bioturbation de la macrofaune. Par exemple, la contamination de sédiment au cuivre (3,15 nm Cu.g⁻¹ poids sec) est à l'origine d'une période d'acclimatation pour le polychète *Hediste diversicolor*, caractérisée par un plus faible remaniement du sédiment jusqu'à 7 jours. Une fois le polychète adapté à la contamination, le remaniement du sédiment contaminé n'était plus différente de celui dans le sédiment non contaminé (Fernandes *et al.*, 2006).

II.3. Les effets de la bioturbation

En mélangeant les particules ainsi que de l'eau interstitielle et des solutés du sédiment, la bioturbation modifie la physique, la chimie et la biologie des sédiments. Ces modifications entraînent notamment la création d'une mosaïque d'habitats différents à l'échelle centimétrique. Les organismes bioturbateurs peuvent être qualifiés d'ingénieurs de l'écosystème dans le sens où ils modifient les propriétés physiques de leur environnement et la disponibilité des ressources pour les autres espèces (Jones *et al.*, 1994 ; Gutiérrez *et al.*, 2003, Mermillod-Blondin & Rosenberg, 2006).

II.3.a. Conséquences sur les propriétés physiques du sédiment

Le déplacement des particules par la macrofaune benthique induit des modifications des propriétés physiques du sédiment, qui diffèrent selon le mode de bioturbation (Rhoads & Boyer, 1982), comme par exemple la topographie de l'interface eau-sédiment, ou encore une diminution de la propagation des ondes acoustiques avec l'augmentation du nombre de terriers d'*Arenicola marina* ou de *Corophium arenarium* (Jones & Jago, 1993). Mais surtout, le mélange des particules impacte l'érodabilité du sédiment, notamment en favorisant la remise en suspension des particules (Rhoads & Young, 1970). Par exemple, un remaniement intensif des premiers centimètres d'un sédiment vaseux par les dépositivores de surface favorise la remise en suspension des particules à l'interface eau-sédiment. Ceci a été montré *in situ* et de manière expérimentale pour différentes espèces de bivalves dont *Nucula proxima* (e.g. Rhoads & Young, 1970). Il a également été montré que le remaniement de la coque *Cerastoderma edule* induisait une augmentation de la rugosité du sédiment de surface, ce qui avait pour conséquence une érosion accrue du sédiment, avec un seuil critique d'érosion qui diminuait de 26 à 8 cm.s⁻¹ pour 0 à 312 ind.m⁻² (Ciutat *et al.*, 2007).

Une couverture de microphytobenthos en phase exponentielle de croissance à la surface du sédiment a pour effet de stabiliser le sédiment sous-jacent. En revanche, l'activité de la macrofaune induit la remise en suspension de la chlorophylle *a* de ce tapis microphytobenthique, bien que l'enrichissement en matière organique d'origine microphytobenthique induit une baisse du taux de remaniement sédimentaire d'*Hydrobia ulvae* (Orvain *et al.*, 2004). A l'inverse, la macrofaune peut aussi avoir un effet stabilisateur du sédiment, et non seulement induire une augmentation de l'érodabilité. Ceci a été montré pour les espèces tubicoles comme *Lanice conchilega* qui induit une augmentation de la rigidité du sédiment (Jones & Jago, 1993), comparable à ce que peuvent induire les racines des herbiers (Brenchley, 1982). En revanche, pour le polychète *Owenia fusiformis*, les sédiments où le polychète est présent *in situ* sont stables, alors que de manière expérimentale, une augmentation de l'érodabilité a été constatée. Ceci suggère le couplage *in situ* des effets des tubes avec ceux des tapis microbiens et de diatomées comme expliqué ci-dessus avec le microphytobenthos (Eckman *et al.*, 1981).

II.3.b. Conséquences sur les propriétés chimiques : processus de minéralisation

La modification chimique majeure que la bioturbation induit dans les sédiments est la transformation de la stratification verticale en deux dimensions des accepteurs terminaux d'électron et des processus diagénétiques associés, décrits dans la partie I.2 de ce chapitre, en une mosaïque de microenvironnements tridimensionnels qui évoluent avec le temps (Aller, 1988).

D'après Aller (1982), la macrofaune benthique influence cette distribution verticale de quatre manières :

- (1) Le sédiment est continuellement déplacé entre les différentes strates via les activités de nutrition, de fouissage et de construction des structures, mettant en contact des composés réduits et des composés oxydants et donc stimulant les processus d'oxydation.
- (2) Les terriers et les feces créent une mosaïque de micro-environnements biogéochimiques plutôt qu'une stratification verticale. Comme visible sur les **figures 1.7 et 1.8**, il peut y avoir des zones oxiques entourées de sédiment anoxique, et à l'inverse des microniches réduites, par exemple des feces, entourées de sédiment oxique.
- (3) En plus de la matière organique qui se dépose sur l'interface, de nouveaux substrats organiques sous forme de sécrétions de mucus sont apportés, pouvant également stimuler l'activité de minéralisation et les flux de nutriments.
- (4) La nutrition et le remaniement influencent les populations microbiennes qui interviennent dans les réactions, soit en les déplaçant directement, soit en leur créant une mosaïque de microenvironnements, stimulant la diversité et les processus de minéralisation de la matière organique.

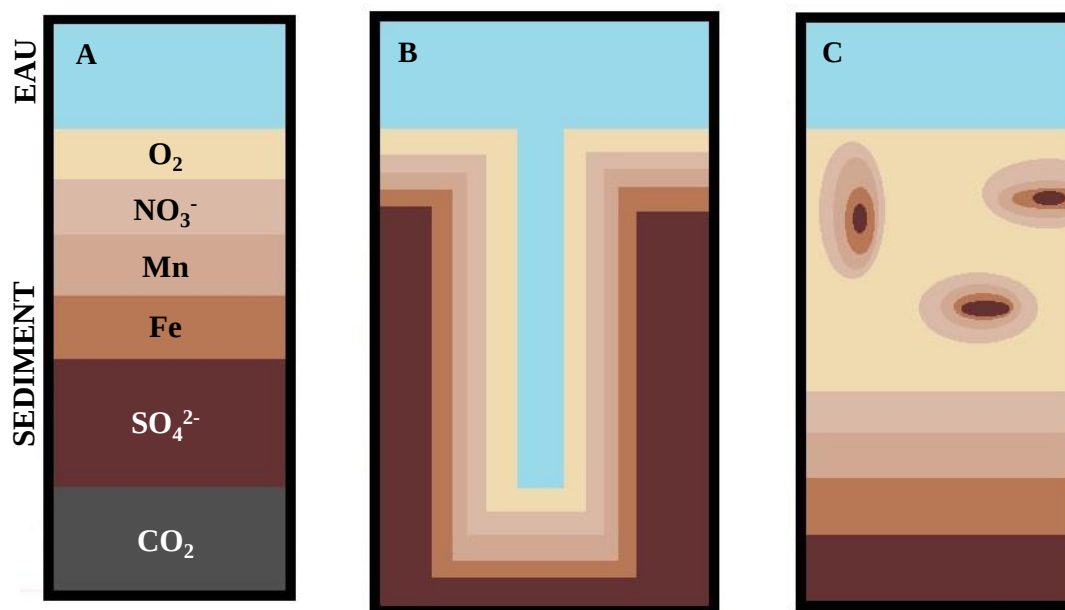


Figure 1.8 : Distribution théorique des accepteurs d'électrons dans les sédiments à l'état d'équilibre (A), et dans les sédiments bioturbés (B et C). D'après Aller, 1982.

Ces déplacements de matière organique particulaire et dissoute peuvent être rapprochés du comportement et des différentes activités de la macrofaune benthique dans les sédiments. Par exemple, la nutrition est à l'origine de la consommation des microorganismes du sédiment et impacte directement la minéralisation de la matière et les flux de nutriments. Au contraire, l'excrétion et la

sécrétion de mucus peuvent être à l'origine d'une stimulation de la croissance microbienne, et donc de la minéralisation et des flux (Aller, 1994). L'ensemble des activités de la macrofaune et de leurs effets sur le carbone organique sont décrits dans le **tableau I.2**.

Tableau I.2 : Synthèse de l'effet des différentes activités de la macrofaune sur le carbone organique, d'après Aller, 1994

Activité de la macrofaune	Effet
Manipulation des particules	Exposition du substrat, zone d'interface agrandie, augmentation de la décomposition
Broutage	Consommation des microorganismes, stimulation de la croissance bactérienne, augmentation de la minéralisation
Excrétion/sécrétion	Présence de mucus, libération de nutriments, stimulation de la croissance bactérienne, augmentation de la minéralisation
Construction/sécrétion	Synthèse de matière structurante réfractaire (par exemple pour les tubes), diminution de la minéralisation
Irrigation	Approvisionnement en oxydants solubles, accumulation réduite des métabolites, augmentation de l'oxydation, augmentation de la minéralisation
Transport des particules	Transferts entre les zones redox, augmentation de l'oxydation, oscillations redox, augmentation minéralisation

La bioturbation n'a pas la même intensité dans le temps, et notamment les flux d'eaux entrant et sortant par ventilation. Par exemple, le polychète *Alitta virens* est actif 5 à 10 minutes, puis reste inactif pendant 20 à 30 minutes, alors qu'*Arenicola marina* a des cycles d'activité de 40 à 60 minutes (Kristensen, 2001). Les phases d'activités induisent un flux d'eau surnageante riche en oxygène dans les galeries où l'oxygène a été consommé biologiquement et chimiquement. Les parois passent donc d'anoxiques à oxiques. Cette dynamique de l'oxygène se répète à chaque cycle d'activité de la faune, et est couplée à l'entrée d'autres solutés comme les nitrates, et à l'expulsion des métabolites réduits accumulés lors des phases d'inactivité (Aller, 2001; Meile & Van Capellen 2003). On parle d'oscillations redox pour décrire ces dynamiques (Aller, 1994). Ces oscillations sont limitées dans le cas des espèces tubicoles car la présence de mucus utilisé pour la fabrication du tube réduit de trois à huit fois la diffusion des solutés organiques et inorganiques au travers de ces structures (Hannides *et al.*, 2005).

La présence des terriers et des galeries a aussi pour conséquence d'augmenter la surface d'échange entre l'eau surnageante et le sédiment, impliquant des modifications des flux, celles-ci étant dépendantes des organismes bioturbateurs considérés. Des travaux expérimentaux ont pu montrer l'impact de certaines espèces bioturbatrices sur les flux de nutriments. Par exemple, Biles *et al.* (2002) ont mesuré des flux de $\text{NH}_4\text{-N}$ à l'interface eau-sédiment plus important en présence d'espèces créant des terriers et des galeries comme *Hediste diversicolor* qu'en présence d'espèces ne remaniement que peu le sédiment comme *Cerastoderma edule*. Ces résultats sont en accord avec ceux de Mermillod-Blondin *et al.* (2004) qui ont constaté que *C. edule* ne permettait pas une augmentation importante des

flux de sédiment et de la consommation d'oxygène comparé à *C. volutator* et *H. diversicolor* dont la présence et l'activité ont permis de doubler les échanges de solutés et donc ont permis d'augmenter la consommation d'oxygène et les flux de nutriments. Toujours de manière expérimentale, Michaud *et al.* (2006) ont comparé les flux de nutriments induits par la bioturbation de trois autres espèces : deux biodiffuseurs, les bivalves *Macoma balthica* et *Mya arenaria*, et un diffuseur à galerie *Alitta virens*. Comme dans l'étude précédente, les flux de nutriments étant plus faibles pour les bivalves avec par exemple pour l'ammoniaque $0,023 \pm 0,057 \mu\text{mol.h}^{-1}.\text{mL}^{-1}$ pour *M. balthica* et $0,100 \pm 0,035 \mu\text{mol.h}^{-1}.\text{mL}^{-1}$ pour *M. arenaria*, que pour le diffuseur à galerie avec $0,227 \pm 0,055 \mu\text{mol.h}^{-1}.\text{mL}^{-1}$ pour *N. virens*. En mer Baltique, les flux de nutriments ont été suivis pendant la recolonisation de la macrofaune après une période d'anoxie. Les flux de phosphates à l'interface eau-sédiment ont augmenté de 20% après la colonisation de l'amphipode *Monoporeia affinis* par rapport à la condition anoxique, puis de 75% après la colonisation de *Macoma balthica* (Karlson, 2007). À l'échelle des communautés en milieu naturel, Braeckman *et al.* (2014) ont montré que suivant le type de sédiment : vaseux cohésif à sédiments perméables, les caractéristiques structurales et fonctionnelles de la macrofaune variaient, et donc le potentiel de bioturbation (BP_c) varie également. Ceci s'est traduit par des flux de nutriments différents entre les types de sédiment.

II.3.c. Conséquences sur les propriétés biologiques

Comme nous venons de le voir, la macrofaune benthique modifie l'état physique et chimique des sédiments. Elle modifie donc l'environnement des autres espèces, quel que soit le compartiment biologique considéré : micro-, méio- ou macrofaune. Par exemple, le polychète *Arenicola marina*, du fait de sa densité de population, de son remaniement sédimentaire et de sa ventilation, empêche l'expansion de sédiments vaseux au détriment de sédiments sableux et limite les concentrations en sulfure, ce qui facilite le développement d'autres organismes (Volkenborn & Reise, 2006 ; Volkenborn *et al.*, 2007).

Des effets antagonistes ont pu être observés sur la macrofaune selon le type de bioturbation. Siebert & Branch (2006) ont pu constater que l'activité de *Callianassa kraussi*, diffuseur à galerie, lié à l'effet structurant d'un herbier à *Zostera capensis* permettait indirectement le développement d'*Upogebia africana* dans l'herbier. A l'inverse, Bernard *et al.* (2014) ont montré que la construction de tubes par *Melinna palmata* accentuait l'effet structurant de l'herbier à *Zostera noltei* et pouvait limiter l'installation ou le déplacement d'espèces errantes. La présence de diverses espèces bioturbatrices dans un système est également un facteur qui structure la faune et permet le maintien d'une certaine diversité (Widdicombe *et al.*, 2000).

La méiofaune (taille comprise entre 40 μm et 1 mm) subit elle aussi les effets de la bioturbation. Comme l'a recensé Olafsson en 2003, 66 des 77 études sur les effets de la macrofaune

sur les communautés de méiofaune ont montré l'influence des structures biogènes sur les assemblages de méiofaune, avec un effet de stimulation de la densité et/ou de la diversité.

La bioturbation de la macrofaune a également des conséquences sur les microorganismes. Il a en effet été montré qu'elle contrôle l'abondance, la biomasse, la viabilité, la structure, la diversité et l'activité des communautés bactériennes et archéennes (e.g. Dobbs & Guckert & b, 1988 ; Papaspyrou *et al.*, 2005 & 2006 ; Laverock *et al.*, 2014). Cette notion est développée plus loin, dans la partie **III.2** de ce chapitre.

III. Les communautés procaryotes de l'interface eau-sédiment contrôlées par la bioturbation

III.1. Les procaryotes dans les sédiments

Les procaryotes forment une biomasse cryptique, invisibles à l'œil nu. On estime sur Terre à $4-6 \times 10^{30}$ le nombre de cellules procaryotes et à 350-550 pg la quantité de carbone que cela représente (Forney *et al.*, 2004). Le groupe paraphylétique des procaryotes regroupe deux clades formant les domaines des bactéries et des archées. Ce n'est que depuis les avancées sur les techniques de biologie moléculaire que la présence des archées dans les environnements autres qu'extrêmes (terrestres comme aquatiques) a été confirmée ; ce qui explique que la grande majorité des études de la diversité microbienne ne porte jusqu'à présent que sur la diversité bactérienne. En milieu marin, les bactéries sont plus abondantes dans les sédiments que dans la colonne d'eau avec en général entre 10^2 à 10^6 cell.mL⁻¹ dans l'eau (e.g. Andersen & Sørensen, 1986) contre 10^9 à 10^{10} cell.mL⁻¹ dans les sédiments (e.g. Tso & Taghon, 1997). Il a été estimé que les bactéries des sédiments océaniques et côtiers représentaient 76 % des bactéries totales trouvées sur Terre (Whitman *et al.*, 1998 ; Solan & Wigham, 2006). De plus, c'est dans les premiers millimètres des sédiments qu'elles sont les plus abondantes et les plus actives par rapport aux zones plus profondes (Hines & Buck, 1982 ; Llobet-Brossa *et al.*, 1998).

Les procaryotes benthiques sont associés aux particules et à la matière organique, comme représenté sur la **figure I.9** (d'après Greenwood, 1968, repris par Aller, 1982). On trouve plus de 10^8 bactéries par gramme de sédiment sec dans les premiers millimètres avec les abondances les plus élevées dans les sédiments constitués de particules fines et avec une forte teneur en matière organique, pour une biomasse allant jusqu'à 26,8 g.m⁻² (Dale, 1974).

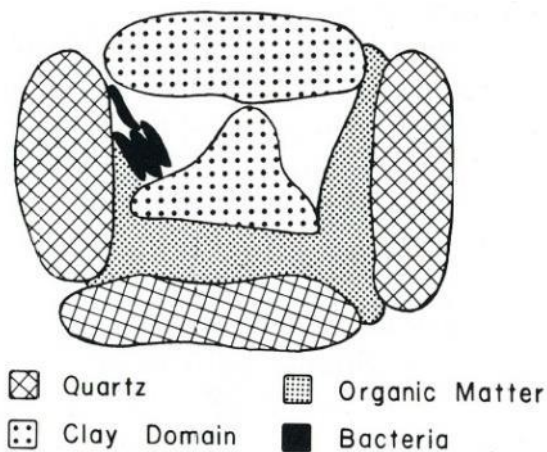


Figure I.9 : Représentation schématique des composantes organiques et inorganiques des sédiments avec les bactéries associées. D'après Greenwood, 1968, repris par Aller, 1982.

La distribution des procaryotes dans la colonne sédimentaire dépend essentiellement de leur métabolisme, c'est à dire le type de matière organique utilisé comme donneur d'électron, et le type d'accepteur d'électron utilisé dans la chaîne respiratoire. Les différents groupes fonctionnels et taxonomiques bactériens suivent donc le modèle de stratification verticale biogéochimique de Froelich *et al.* (1979) décrit dans la partie **I.2.** de ce chapitre. Nous avons vu lors de la description des mécanismes de dégradation de la matière organique que la composition de cette matière évoluait au fur et à mesure du temps et des différentes étapes. De ce fait, une succession temporelle s'ajoute à la succession spatiale verticale des communautés bactériennes. Ce phénomène a essentiellement été étudié dans le cas de la décomposition des litières dans le sol (Dilly & Irmeler, 1998 ; Torres *et al.*, 2005), et peu pour les macrophytes marins (Pellikaan, 1984 ; Peduzzi & Herndl, 1991). Au départ, c'est la communauté épiphytique qui est retrouvée. Puis, la matière est colonisée par les bactéries du sédiment ou du sol (Dilly & Munch, 1996). Ensuite, la succession serait surtout liée à la disponibilité de l'azote (Esperschütz *et al.*, 2013) ; avec d'abord les bactéries qui produisent des enzymes cellulolytiques ou protéolytiques, puis avec petit à petit une augmentation du nombre de bactéries nitrifiantes (Ruess & Ferris, 2004). La succession des communautés a également été mise en évidence dans le cas du *priming effect*. En effet, cette stimulation de la minéralisation de la matière plutôt réfractaire par l'enrichissement en matière organique fraîche serait due à la succession et à la compétition des communautés bactériennes de stratégie *r* et de stratégie *K* (MacArthur & Wilson, 1967). En effet, les communautés ayant une stratégie *r*, les espèces opportunistes permettent la dégradation de la matière organique fraîche. Une fois le matériel frais dégradé, ce sont les stratégies *K*, espèces plus compétitives, qui dégradent le matériel restant. La dégradation de la matière restante plus réfractaire demande d'y allouer plus d'énergie, énergie utilisée pour la croissance dans le cas des stratégies *r* (Fontaine *et al.*, 2003).

Les sédiments représentent donc un habitat complexe et dynamique pour les microorganismes (Austin, 1988) car constitué d'une phase minérale où les procaryotes peuvent se fixer, d'une phase aqueuse avec les éléments dissous, d'une phase organique qui peut être dissoute ou particulaire, et des organismes vivants (Mostajir *et al.*, 2011). Le développement et la diversité des communautés procaryotes des sédiments sont fonction entre autres de la granulométrie, avec une corrélation négative entre la taille moyenne des particules du sédiment et le nombre de bactéries (Dale, 1974), mais aussi des communautés bactériennes significativement associées aux différentes classes de tailles des particules : 63 à 125 μm ; 125 à 1000 μm et 1000 à 2000 μm (Jackson & Weeks, 2008). Le potentiel redox du sédiment est également un facteur structurant les communautés comme cela a été vérifié par T-RFLP sur des communautés provenant de sédiment de trois états redox : oxydé (179 mV), intermédiaire (-64 mV) et réduit (-337 mV) (Edlund *et al.*, 2008). Cette diversité de composition des communautés avec le potentiel redox du sédiment est à mettre en perspective des différents groupes fonctionnels aux métabolismes respiratoires différents décrits dans la partie **I.2.c** de ce chapitre. La structure des communautés bactériennes est également corrélée à la teneur en carbone organique et à la teneur en chlorophylle *a* comme cela a été montré dans des sédiments de la Mer Méditerranée par Polymenakou *et al.* en 2005. Par ailleurs, comme nous avons pu le décrire dans la partie **I.2.c**, via les différents métabolismes procaryotes de respiration ou de fermentation, ce sont eux qui permettent le recyclage de 99% de la matière organique se déposant à l'interface eau-sédiment en nutriments (Henrichs, 1992), leur conférant un rôle clé dans le fonctionnement des écosystèmes.

III.2. Relations entre macrofaune et bactéries : rôles de la bioturbation

Comme les procaryotes, la distribution des communautés de macro-invertébrés benthiques dépend des conditions environnementales. Ellingsen en 2002 a pu mettre en évidence que la distribution des communautés de macrofaune était corrélée à la profondeur de la colonne d'eau, puis à la taille des particules et à la teneur en silts. Ceci est appuyé par les travaux de Whitlatch (1981) qui avait constaté la corrélation entre la richesse spécifique de la macrofaune avec la quantité de carbone organique à l'interface eau-sédiment, qui constitue leur source de nourriture. Cette corrélation entre la teneur en matière organique et la macrofaune a d'ailleurs permis de mettre en place un classement des espèces de macrofaune benthique en fonction de leur sensibilité/tolérance à l'enrichissement en matière organique, dans un cadre de contrôle de la qualité des écosystèmes (Hily, 1984 ; Glémarec, 1986 ; Borja *et al.*, 2000).

Des modifications de ces paramètres peuvent alors être à l'origine d'évolution des patrons de distributions de l'un et de l'autre des compartiments biologiques. Par exemple, Albertelli *et al.* (1999) ont constaté une augmentation de la richesse spécifique et des densités de la macrofaune dans les premiers kilomètres (< 5 km et moins de 20 m de profondeur) de l'embouchure d'une rivière, puis une diminution de la richesse et des abondances en s'éloignant (autour de 6 km), jusqu'à plus de 100 m de

profondeur, associé à une augmentation irrégulière des abondances et biomasses bactériennes de l'embouchure vers le large. Cette différence d'évolution a été attribuée à une influence plus importante de la qualité de la matière organique pour la macrofaune, et à la quantité de matière organique pour les bactéries. En revanche, aucune étude n'a cherché à lier les patrons de diversité des deux compartiments biologiques, le long d'un même gradient de conditions environnementales. C'est ce lien entre diversité de la macrofaune benthique et diversité bactérienne que nous avons cherché à mettre en évidence dans le **chapitre V**.

A l'échelle centimétrique, l'effet de la bioturbation des organismes benthiques sur les communautés procaryotes a été largement montré dans différents travaux. La bioturbation par la macrofaune a des effets direct et indirect sur les communautés procaryotes des sédiments.

Les procaryotes peuvent être directement déplacés ou ingérés par les macroinvertébrés, ce qui induit une baisse de la biomasse microbienne. Par exemple, le polychète *Nereis succinea* consomme annuellement 5,2 g.m⁻² de carbone microbien (Cammen, 1980). Ceci peut être compensé par une hausse de la production densité-dépendante. À l'inverse, la macrofaune peut aussi stimuler la croissance microbienne activement, par ce que l'on appelle du « gardening ». Il s'agit en fait de la création d'un environnement qui stimule la croissance des microorganismes dont les procaryotes dans une zone où l'individu peut ensuite les utiliser pour se nourrir. Hylleberg (1975) a mis en évidence ce phénomène chez le polychète *Abarenicola pacifica* dont la zone de nutrition, appelée « feeding pocket », située à une dizaine de centimètres dans le sédiment et la zone de dépression qu'il crée sont caractérisées par des abondances de microorganismes mais également de nématodes plus importantes que dans le sédiment environnant. Ceci a pu être corrélé aux fortes concentrations de nutriments que l'on peut trouver dans cette zone, ainsi qu'à la présence d'oxygène induite par l'irrigation du polychète. De plus, l'auteur a pu montrer grâce aux analyses du tube digestif que les microorganismes de cette zone sont ingérés par le polychète et digérés. La macrofaune benthique au travers de sa nutrition est à l'origine de l'excrétion de nutriments. Penniford & Davis (2001) ont d'ailleurs montré que l'excrétion pouvait compter pour 30% du phosphate et plus de 200% de l'ammonium mesuré dans la colonne d'eau. Comme décrit pour le « gardening », ce processus stimule la croissance des microorganismes et la formation de biofilms, au même titre que la sécrétion de mucus qui tapisse les terriers (Reichardt *et al.*, 1991). Le passage dans le tube digestif des individus peut aussi influencer les communautés bactériennes : (1) leur abondance et leur biomasse qui peut être diminuée par la digestion de certains individus ; (2) leur composition suivant les espèces qui ont été digérées, et suivant celles propres à l'individu qui peuvent être libérées. La biomasse totale et la biomasse viable des bactéries des feces de l'entéropneuste *Ptychodera bahamensis* ont été déterminées comme étant respectivement 30% et 49% plus faibles que dans la zone de dépression induite par la nutrition de l'organisme (Dobbs & Guckert, 1988b). Dans le cas des feces du polychète *Arenicola marina*, il a été montré que les espèces sécrétant des exopolymères formant des capsules autour des cellules pouvaient

être, selon les souches bactériennes, protégées des enzymes digestives du polychète (Plante, 2000) ; les communautés bactériennes sont donc quantitativement et qualitativement impactées par le passage dans le tube digestif (Plante & Shriver, 1998; Plante, 2000). L'ensemble de ces processus est présenté sur la **figure I.10**.

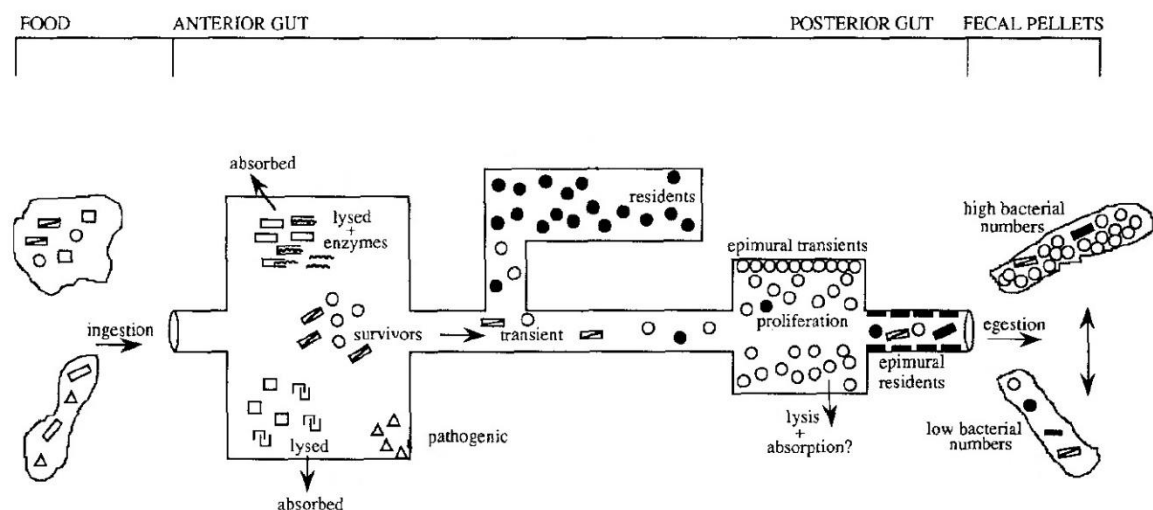


Figure I.10 : Schématisation du devenir des bactéries associées aux particules du sédiment qui sont ingérées, et processus de modification des communautés le long du tube digestif. Modifié de Harris, 1993.

Les macroinvertébrés agissent également de façon indirecte sur les communautés procaryotes en induisant des modifications des conditions géochimiques et une redistribution spatiale des molécules oxydantes (**Figure I.8**), mais aussi une hétérogénéité temporelle de ces zonations géochimiques, les oscillations redox (Aller, 1994). Il y a donc création de gradients et d'interfaces entre les différentes zones géochimiques et comme nous avons pu le voir au début de ce chapitre (partie I.1), ces zones de gradient stimulent la diversité biologique. En 1969, Fenchel a pu constater l'accumulation de microorganismes au niveau des discontinuités, c'est-à-dire des interfaces dans le sédiment. La macrofaune peut donc induire des modifications de l'abondance, de la biomasse, de la viabilité, de l'activité et de la composition des communautés microbiennes.

À partir des mots clés « bioturbation effects/impacts ; bacterial/microbial » sur Google Scholar entre octobre 2011 et octobre 2014, puis à partir des références citées dans les articles trouvés, nous avons pu recenser plus de 30 études mettant en évidence le contrôle des communautés bactériennes par la bioturbation de la macrofaune benthique. Dans ces études, différents modèles biologiques de bioturbation ont été utilisés, que ce soit en termes de groupe taxonomique avec des polychètes, des bivalves ou des crustacés, qu'en termes de groupe fonctionnel de bioturbation avec des biodiffuseurs, des diffuseurs à galeries ou des convoyeurs. Selon Kristensen et Kostka (2005), une des grandes questions qui gouverne les travaux sur le contrôle des communautés microbiennes par la bioturbation est de savoir si les communautés bactériennes des parois des terriers ont les mêmes caractéristiques

(abondance, biomasse, structure ou fonction) que les communautés de surface et de subsurface. En termes d'abondance, le comptage direct des cellules bactériennes n'a pas montré de grande différence entre les abondances des parois du terrier et les abondances du sédiment environnant. Au maximum, un facteur deux a été mesuré pour les parois des galeries d'*Hediste diversicolor* (Lucas *et al.*, 2003). Une étude signale 9% de cellules bactériennes en plus dans les parois du terrier de *Capitella capitata* que dans le sédiment autour (Alongi, 1985). D'autres exemples sont présentés dans le **tableau I.3** issu de Kristensen & Kostka (2005).

Tableau I.3 : Exemples de rapport entre les abondances totales, les abondances viables et les biomasses entre les parois de terriers et le sédiment ambiant. D'après Kristensen & Kostka, 2005. Une valeur de rapport inférieure à 1 indique une déplétion dans les parois du terrier et une valeur supérieure à 1, un enrichissement.

<i>Espèce</i>	<i>Abondance totale</i>	<i>Abondance viable</i>	<i>Biomasse</i>	<i>Référence</i>
<u>Polychètes</u>				
<i>Capitella capitata</i>	0,9			Alongi, 1985
<i>Arenicola marina</i>	1,3	12,2		Reichardt, 1988
<i>Notomastus lobatus</i>			5,7	Steward <i>et al.</i> , 1996
<i>Branchioasiscus americana</i>			8,6	Steward <i>et al.</i> , 1996
<i>Amphicteis</i> sp.	1,8			Aller & Aller, 1986
<u>Bivalves</u>				
<i>Arctica islandica</i>		1,4		Bussman & Reichardt, 1991
<i>Mya arenaria</i>	1,7	10,0		Hansen <i>et al.</i> , 1996
<u>Crustacés</u>				
<i>Biffarius arenosus</i>	1,1			Bird <i>et al.</i> , 2000
<i>Callianassa trilobata</i>			9,7	Dobbs & Guckert, 1988 <i>a</i>
<i>Upogebia major</i>	1,8			Kinoshita <i>et al.</i> , 2003
<u>Hémichordés</u>				
<i>Balanoglossus aurantiacus</i>			3,4	Steward <i>et al.</i> , 1996

La bioturbation induit également une augmentation de l'activité bactérienne. Ceci a été vérifié pour le polychète *Arenicola marina* avec une activité 5 fois plus importante sur les parois du terrier (Reichardt, 1988), ou encore pour le bivalve *Mya arenaria* avec une activité 2,3 fois plus importante (Hansen *et al.*, 1996).

Concernant la structure des communautés bactériennes, des communautés différentes de celles des sédiments oxygène ou anoxique environnants ont pu être observées. Notamment pour le polychète *Hediste diversicolor*, avec en plus de la présence de communautés différentes, une diversité plus élevée sur les parois des galeries (Pischedda *et al.*, 2011). Dans le cas du décapode *Pestarella tyrrhena*, la composition des communautés bactériennes des parois du terriers était plus proche de la communauté du sédiment environnant anoxique que de l'interface eau-sédiment (Papasprou *et al.*,

2005). Laverock *et al.* (2010) ont trouvé que la composition des communautés bactériennes des terriers de deux espèces de décapodes, *Upogebia deltaura* et *Callianassa subterranea*, était différente des sédiments de surface et de subsurface avec une diversité plus importante, mais pas différente entre les deux terriers. En revanche, Bertics & Ziebis (2009) ont trouvé des communautés bactériennes différentes entre les terriers des crustacés *Neotrypaea californiensis* et *Uca crenulata*.

Les augmentations de la diversité bactérienne dans les sédiments bioturbés, observées notamment par Laverock *et al.* (2010) et Pischedda *et al.* (2011), vont dans le sens de l'hypothèse de la perturbation intermédiaire (Widdicombe *et al.*, 2000). Cette hypothèse postule qu'un maximum de diversité biologique est obtenu pour une fréquence et une taille de perturbation intermédiaires, la bioturbation, pour des organismes sessiles (Connell, 1978). Par ailleurs, cette perturbation de l'équilibre du sédiment que génère la bioturbation est un processus dynamique dans le temps. L'augmentation de la diversité induite va donc également dans le sens de la théorie de l'équilibre dynamique développée par Hutson (1979), statuant que la diversité correspond à la balance entre les taux de croissance et les perturbations. Soltwedel *et al.* (2008) se sont intéressés à l'impact que peut avoir une perturbation répétée sur la micro- et la méiofaune des sédiments. Ils ont en effet mesuré l'impact d'une perturbation physique répétée des premiers centimètres de la colonne sédimentaire sur la géochimie et sur la composition de la méiofaune et sur l'activité exo-enzymatique bactérienne. Pour cela un dispositif a été mis en place permettant des perturbations plus ou moins uniformes sur un diamètre de 1 m, créant des conditions comparables aux perturbations induites par les communautés naturelles après 1 à 2 mois. Après 6,5 semaines de perturbations physiques répétées, l'activité bactérienne a été impactée avec l'évolution de l'activité exo-enzymatique passant d'un gradient de diminution avec la profondeur, vers un patron hétérogène de cette activité. La composition des communautés de méiofaune a également été modifiée, avec des abondances relatives de nématodes qui ont augmenté de 85 à 95%.

III.3. Diversité des communautés procaryotes, notions d'espèce et d'OTU

C'est dans ce domaine que l'évolution a été la plus importante, et ce grâce au travail fondateur de Carl Woese et Norman Pace sur les débuts de l'utilisation de la phylogénie moléculaire de l'ARN 16S pour caractériser et classer les communautés bactériennes et archéennes (Woese, 1987 ; Pace, 1997 ; Hugenholtz *et al.*, 1998). Il est nécessaire pour comprendre ces techniques, mais aussi pour la suite de la lecture du manuscrit de définir certaines notions, notamment concernant le concept d'espèce et de diversité appliqués aux communautés microbiennes.

L'espèce est l'unité de base lorsque l'on s'intéresse à la diversité. La définition classique de l'espèce, ensemble d'organismes qui possèdent des traits communs qui les différencient des autres espèces, et qui sont interféconds, ne s'applique pas aux procaryotes qui ont une grande plasticité phénotypique, et surtout, une reproduction asexuée. Il existe donc d'autres critères mis en place par les

microbiologistes pour classer les microorganismes en tant qu'espèces. Deux microorganismes procaryotes sont considérés comme appartenant à la même espèce si leurs génomes s'hybrident à au moins 70 % (Stackebrandt & Goebel, 1994). Avec un génome proche, on retrouve alors entre les organismes des caractères morphologiques et phénotypiques proches. Techniquement, pour arriver à cette étape d'hybridation, il faut préalablement isoler les deux souches en culture (Rosselló-Mora & Amann, 2001). Or, dans les écosystèmes, seule une minorité de bactéries et d'archées peuvent être cultivées. Par exemple dans les sédiments, Amann *et al.* (1995) estiment que seulement 0,25 % des bactéries dénombrées sont cultivables. Pour éviter cela et décrire le plus complètement possible, les techniques de biologie moléculaire basées sur les gènes ribosomaux ont été de plus en plus utilisées. Ces techniques basées sur la détection de l'ARN 16S ont mis en évidence une diversité bactérienne et archéenne justifiant de créer le concept d'espèce moléculaire : ensemble d'organismes présentant une homologie supérieure à 97% sur la séquence de l'ARN 16S.

Le concept d'*Operational Taxonomic Unit* (OTU) dérive du concept d'espèce moléculaire. Il s'agit de différencier les taxons en se basant sur le polymorphisme de taille ou de séquence des ADN ribosomiques. Cependant, une espèce comme décrite juste précédemment peut posséder plusieurs opérons ribosomiques (Klappenbach *et al.*, 2000). A l'inverse, une même OTU peut être trouvée chez différentes espèces (Ramette, 2009). L'ARISA et la T-RFLP sont deux techniques utilisées dans notre étude. La différenciation des espèces ou des OTU suivant la technique de caractérisation est à l'origine de la notion de diversité.

IV. Contexte et objectifs de la thèse

Ce contexte bibliographique a permis de rappeler l'importance de **l'interface eau-sédiment** dans le fonctionnement des écosystèmes marins, et notamment côtiers. Il s'agit en effet d'une zone stratégique car elle est le réceptacle ultime de la matière organique autochtone et allochtone, et également le siège d'intenses activités de **minéralisation** de cette **matière organique**, notamment au travers des **communautés procaryotes benthiques**. L'activité de la **macrofaune** présente dans le sédiment induit des déplacements des particules et des solutés du sédiment, la **bioturbation**, qui va alors perturber l'équilibre établi (stratification et succession verticales des communautés procaryotes et des réactions biogéochimiques associées).

Ce qui ressort également de ce contexte bibliographique est que les travaux sur les effets de la bioturbation de la macrofaune sur les communautés bactériennes, que ce soit leur abondance, leur biomasse, leur viabilité, leur composition ou leur activité, sont bien documentées et intéressent la communauté scientifique depuis de nombreuses années, que ce soit de manière *in situ*, *ex situ* ou expérimentale. Cependant, même si tous ces travaux s'intéressent aux processus à « l'interface eau-sédiment », c'est en règle générale plusieurs centimètres de sédiment qui sont concernés. Ces travaux ont donc permis de montrer que les activités de la macrofaune benthique modifiaient spatialement et

temporellement les conditions redox de la colonne sédimentaire sur quelques centimètres à plusieurs dizaines de centimètres de profondeur, impliquant des modifications de la structure des communautés de microorganismes, c'est-à-dire les effets indirects de la bioturbation sur les communautés microbiennes.

Dans ce contexte d'interactions entre la macrofaune et les communautés procaryotes benthiques, notre objectif premier a été de mieux comprendre les processus qui lient la macrofaune benthique et les communautés procaryotes à l'interface eau-sédiment, selon deux approches : une approche expérimentale, à l'échelle de l'individu, ciblant les effets de la bioturbation d'un polychète, *Melinna palmata*, sur les communautés bactériennes de l'interface eau-sédiment, et une approche *in situ* à l'échelle des communautés de comparaison des patrons spatiaux de distribution de la macrofaune et des bactéries benthiques.

Le premier objectif, développé dans la **première partie du chapitre III**, a été de mettre en évidence, décrire et valider l'utilisation comme modèle biologique de bioturbation, du polychète *Melinna palmata*. En effet, l'objectif était de nous démarquer des études existantes et de passer outre les intermédiaires de stratification verticale et d'oscillations redox induits par les organismes utilisés habituellement comme modèles ; et cela afin de mesurer directement les effets de la bioturbation sur la distribution des communautés bactériennes dans une zone d'intérêt : les premiers millimètres oxiques de l'interface eau-sédiment. Il s'agit d'une zone clé des cycles biogéochimiques car c'est dans les deux premiers centimètres que la majeure partie du carbone organique est oxydée. Afin de mesurer l'impact de *Melinna palmata* sur les communautés bactériennes, des conditions expérimentales contrôlées ont dû être employées : obscurité et immersion constantes, à partir de sédiment et d'eau provenant du milieu naturel. Or, s'agissant d'une espèce des zones côtières intertidales à subtidales peu profondes, vivant dans des populations à fortes densités, le second objectif a été de reproduire différentes conditions environnementales expérimentalement, de manière à mesurer leurs conséquences sur l'activité et la bioturbation de *Melinna palmata*. D'abord dans la **seconde partie du chapitre III**, les effets des cycles de marée et de photopériode ont été testés sur l'activité et la bioturbation de *Melinna palmata*. Egalement, différentes densités de populations correspondant aux densités retrouvées dans le bassin d'Arcachon ont été testées.

Dans l'optique de complexifier et de tester d'autres facteurs pour nous rapprocher des conditions environnementales, l'effet de l'enrichissement de deux types de matière organique a été testé, à la fois sur la bioturbation de *M. palmata*, et sur la composition, l'abondance et l'activité des communautés bactériennes, dans le **chapitre IV**.

Enfin, l'objectif pour le **chapitre V** a été de mettre en évidence les relations entre les deux compartiments biologiques étudiés, la macrofaune et les bactéries, sous un autre angle de vue : (1) de manière *in situ* et non plus expérimentale et (2) en se plaçant à l'échelle de la communauté macrobenthique et non plus à l'échelle de l'individu (**Figure I.13**). Plus précisément, les patrons

spatiaux de distribution de ces deux communautés ont été comparés le long d'un transect dans la vasière Ouest-Gironde, zone de transition entre l'embouchure de l'estuaire de la Gironde et l'océan ouvert.

Pour atteindre ces objectifs, différentes techniques ont été utilisées parmi celles citées dans cet état de l'art. Tout d'abord pour caractériser la bioturbation de *Melinna palmata*, des techniques de mesure du comportement, du remaniement sédimentaire à l'interface eau-sédiment, et de la bioirrigation. Egalement, des techniques de biologie moléculaire ont permis de mettre en évidence les effets de cette espèce sur la diversité des communautés bactériennes de l'interface eau-sédiment. Enfin, la diversité β de communautés de macrofaune et de bactéries a été comparée à l'échelle d'un écosystème, la vasière Ouest-Gironde. Les différents outils et méthodes utilisés sont décrits dans le **chapitre II**. Ce manuscrit se termine par une **synthèse générale**, reprenant les différents résultats obtenus au cours de ces trois années.

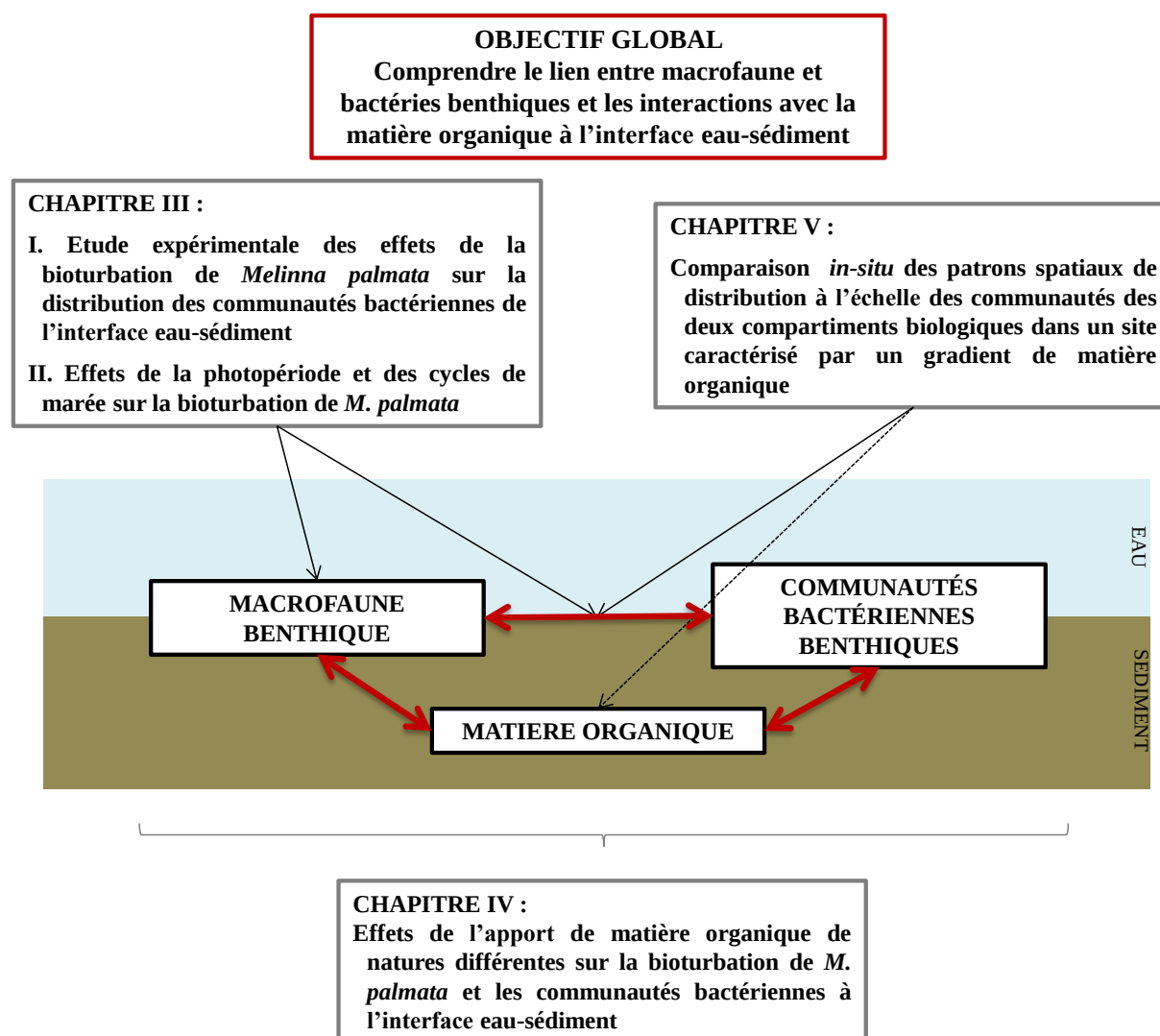


Figure I.13 : Schéma synthétique des différents objectifs de la thèse.

CHAPITRE II

Matériel et méthodes

Ce chapitre se divise en trois parties : la première partie est une description du modèle biologique de bioturbation utilisé, le polychète *Melinna palmata*. La deuxième partie est une description des sites de prélèvement. Enfin, la troisième partie regroupe les protocoles utilisés pour le suivi de l'activité et de la bioturbation de *M. palmata*, pour l'analyse des paramètres sédimentaires et pour l'analyse des communautés procaryotes.

I. Organisme modèle : *Melinna palmata* Grube, 1870

I.1. Description

Melinna palmata est un annélide polychète de la famille des Ampharetidae. Il se compose de 16 segments thoraciques et de 60 segments abdominaux avec un corps effilé postérieurement. Le lobe céphalique est trilobé, avec quelques taches oculaires de chaque côté. Deux groupes de quatre branchies annelées partent sur la partie dorsale du second segment, réunies par une palmure pouvant atteindre la moitié ou les deux tiers de la longueur des branchies. En arrière de ces branchies, deux crêtes latérales sont reliées par une membrane thoracique avec quatre à huit dents arrondies. Deux crocs en forme de crochets partent de la face dorsale du quatrième segment, entre les branchies et la membrane. Dans la partie terminale, le pygidium est dépourvu de cirres. *M. palmata* mesure entre 15 et 30 mm de long pour 2 à 3 mm de diamètre. Sa chair est de couleur rose ou brunâtre, avec parfois des taches rouge sang (Fauvel, 1927 – **Figure II.1.**).

I.2. Ecologie

M. palmata vit dans un tube membraneux de 10 à 15 cm recouvert de vase agglomérée, dans les vases et les sables vaseux (Fauvel, 1927), et est souvent retrouvée dans les herbiers de *Zostera* sp. (Fauvel, 1927 ; Holthe, 1986 ; Hayward & Ryland, 1990). Hily (1984) et Glémarec (1986) ont effectué un classement des espèces benthiques en fonction de leur sensibilité/tolérance à un gradient de stress environnemental. A partir de cette classification, Borja *et al.* (2000) ont classé *M. palmata* dans le « groupe écologique III ». Les espèces de ce groupe sont tolérantes aux excès de matière organique. On les trouve en conditions dites « normales », mais leurs populations sont stimulées par un enrichissement en matière organique. Cette espèce peut résister à des périodes d'hypoxie et à la présence d'H₂S, notamment liées à des blooms phytoplanctoniques (Dragoli, 1960 ; Gomoïu, 1982). *M. palmata* appartient à la guildes trophique des SST : « *Surface deposit feeding, Sessile, Tentaculate* » (Fauchald & Jumars, 1979). Ces organismes prélèvent les particules sur l'interface eau-sédiment à l'aide de tentacules buccaux rétractables. Des observations de zones induites par l'activité de *M. palmata* sur l'interface eau-sédiment ont été faites dès les années 1980, à partir de travaux sur l'accumulation de cuivre par *M. palmata* comme mécanisme d'anti-prédation (Gibbs *et al.*, 1981), ainsi que dans une étude sur son impact sur la structure des communautés de méiofaune (Olafsson *et*

al., 1990). Dans ces deux études, une zone de nutrition a été observée sur plusieurs centimètres autour de l'ouverture du tube, avec la présence d'un cône fécal. Dans l'étude d'Olafsson *et al.* (1990), ce cône fécal a été décrit comme positionné à plusieurs centimètres de l'ouverture du tube.

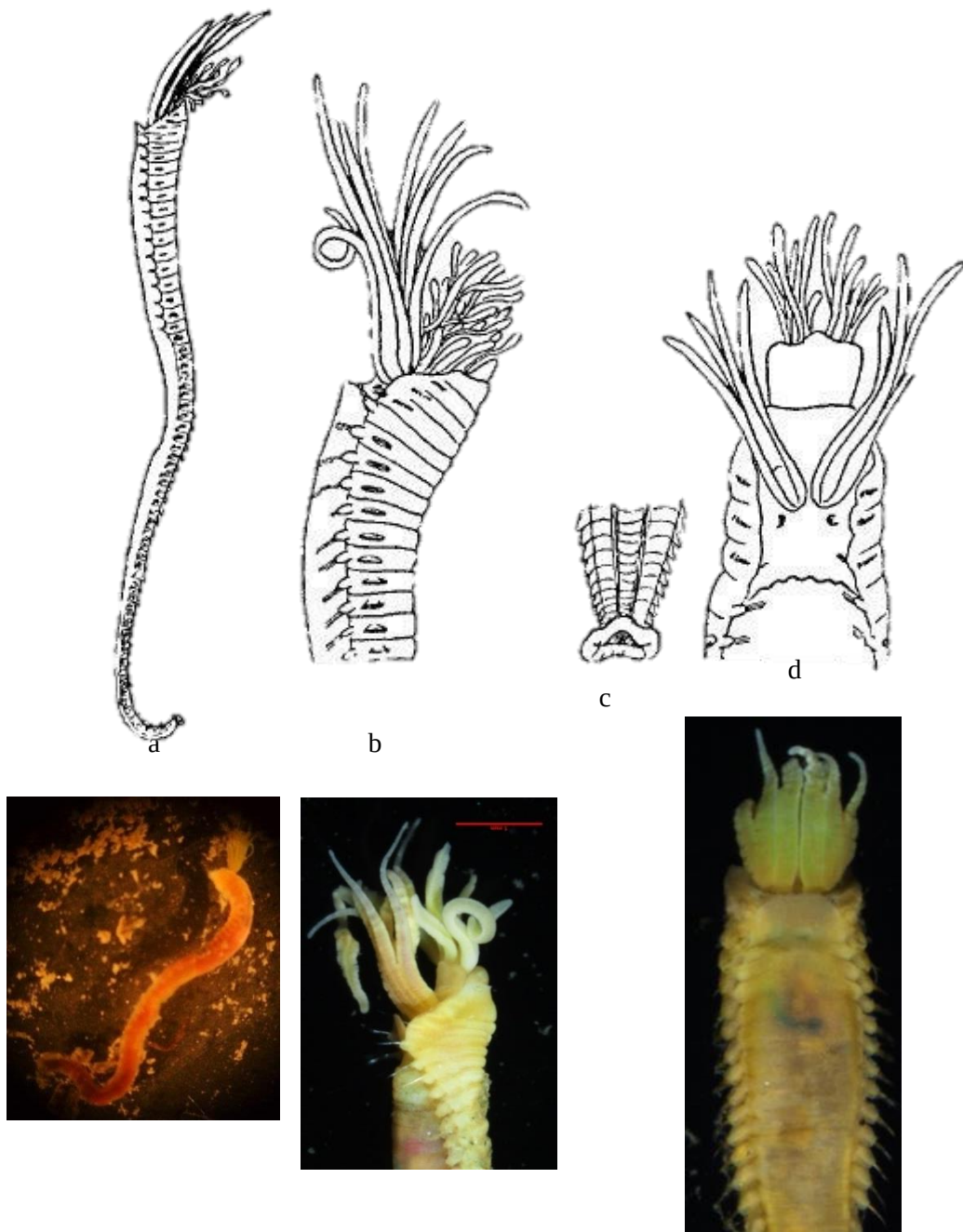


Figure II.1 : *Melinna palmata*. (a) vue latérale entière, (b) vue latérale de la partie antérieure, (c) vue ventrale du pygidium, (d) vue dorsale de la partie antérieure. D'après Fauvel, 1927.

I.3. Distribution géographique

M. palmata a une large distribution, dite boréo-méditerranéenne (Grehan, 1991). Au Nord de l'Europe, elle a été signalée jusque dans les eaux scandinaves (Holthe, 1986). Elle a également été signalée autour de l'Angleterre et de l'Irlande (Hayward & Ryland, 1990 ; Grehan, 1991). En France elle a été signalée sur les côtes de la Manche (Dauvin *et al.*, 2007) ; en Méditerranée sur les côtes françaises avec en moyenne $25.5 \pm 7.8 \text{ ind.m}^{-2}$, ou encore dans le golfe de Tunis (Zaabi & Alfi, 2006) ; et dans le golfe de Gascogne (e.g. Borja *et al.*, 2000 ; Blanchet *et al.*, 2004), de la Bretagne, avec en moyenne à Brest ($174.2 \pm 29.5 \text{ ind.m}^{-2}$) jusqu'en Espagne (Cacabelos *et al.*, 2011). Le **tableau II.1** résume les observations et les abondances de *M. palmata* sur les côtes françaises. C'est dans le bassin d'Arcachon qu'elle a été observée avec une abondance moyenne la plus élevée ($443.8 \pm 70.9 \text{ ind.m}^{-2}$). Dans le bassin d'Arcachon, elle a été retrouvée dans les zones sablo-vaseuses subtidales, intertidales, de vases nues ou recouvertes d'herbiers à *Zostera noltei* ou à *Zostera marina* (Bachelet *et al.*, 1996 ; Blanchet *et al.*, 2004 ; Massé, 2010 ; Bernard *et al.*, 2014).

Tableau II.1 : Résumé des observations de *Melinna palmata* sur les côtes françaises au 10.09.2014. D'après la base de données RESOMAR (REseau des Stations et Observatoires MARins ; <http://resomar.cnrs.fr/bases/index.php>).

Localisations	Dates	Moyenne (ind.m ⁻²) (± es)	Descripteurs
Bassin d'Arcachon	1988 - 2010	443.8 ± 70.9	G. Bachelet, H. Blanchet, T. Do, A. Garcia, B. Gouillieux, X. de Montaudouin, N. Lavesque
Banyuls-sur-Mer	1967 - 2011	10.5 ± 2.8	J.M. Amouroux, P. Bonifacio, M. Desmalades, A. Grémare, C. Labrune
Brest	1974 - 2008	174.2 ± 29.5	M. Glémarec, J. Grall, L. Guérin, C. Hily, F. Le Loch
Dinard	2003 - 2008	105.1 ± 86.6	N. Desroy, J. Fournier, F. Gentil, T. Nebout, F. Olivier, E. Thiébaud, J. Trigui
La Rochelle	1995 ; 2007	17.1 ± 3.8	X. de Montaudouin, N. Lavesque, P.G. Sauriau
Marseille	1967 - 1996	25.5 ± 7.8	G. Bellan, M. Bourcier, C. Falconetti, C. Febvre-Chevalier, C. Nodot, J. Picard, J.C. Romano, B. Tahvildari
Roscoff	1977 - 2011	298.1 ± 26.9	J.C. Dauvin, F. Gentil, C. Houbin, E. Thiébaud

I.4. Intérêts du modèle

Plusieurs arguments nous ont amené à utiliser *Melinna palmata* comme modèle biologique :

- (1) La distribution étendue de *M. palmata* dans l'Atlantique Nord-Est et ses fortes densités dans les milieux côtiers en font une espèce dont il est important de comprendre le rôle dans l'écosystème.

- (2) Les travaux de Gibbs *et al.* (1981) et d'Olafsson *et al.* (1990) sur *M. palmata* ainsi que les travaux de Warwick *et al.* (1986) sur *Streblosoma bairdi* et de Grémare (1988) sur *Eupolymnia nebulosa*, d'autres polychètes de l'ordre des Térébellidés comme *M. palmata*, ont montré l'importance des espèces de cet ordre et de cette espèce en termes de bioturbation et d'impact sur la méiofaune à l'interface eau-sédiment.
- (3) Plus récemment, les travaux de Bernard *et al.* (2014) ont montré les conséquences des fortes densités de *M. palmata* sur le remaniement sédimentaire à l'échelle de la communauté *in situ*.

II. Les écosystèmes étudiés

II.1. Le bassin d'Arcachon

Le bassin d'Arcachon est une lagune semi-fermée de 174 km² sur la côte Atlantique française. Il s'agit d'une lagune macro-tidale soumise à des marées de type semi-diurne. La zone intertidale représente presque les deux tiers de la lagune, soit 110 km², recouverte en grande partie par des herbiers à *Zostera noltei* (70 km²).

II.1.a. Prélèvement des *Melinna palmata* dans le bassin d'Arcachon et maintenance au laboratoire

Le bassin d'Arcachon est donc un écosystème caractéristique qui renferme une importante population de *Melinna palmata*. C'est sur le site de Germanan, au centre du bassin d'Arcachon, que les individus et le sédiment ont été prélevés (44°42'726''N, 1°07'940''W ; **Figure II.2**). Il s'agit d'une zone intertidale colonisée par un herbier à *Zostera noltei* avec des abondances importantes de *M. palmata*, jusqu'à plus de 6000 ind.m⁻² (Bernard *et al.*, 2014).

Pour chaque prélèvement, effectué entre 2012 et 2014, du sédiment d'une zone de vase nue sans herbier a été prélevé puis tamisé au laboratoire sur une maille de 1 mm, sans eau, pour récupérer le sédiment défauné. Ce sédiment a ensuite été mis en stabulation au laboratoire, en eau de mer courante jusqu'aux expérimentations. En parallèle, du sédiment de l'herbier à *Zostera noltei* a été prélevé. Il a été tamisé sur 1 mm au laboratoire, afin de récupérer le refus de tamis contenant les organismes benthiques. Les tubes de *M. palmata* ont été isolés des autres organismes ainsi que des feuilles et racines de *Z. noltei*. Les tubes, contenant les individus, ont ensuite été placés en stabulation dans du sédiment défauné, en eau de mer courante, jusqu'aux expérimentations. Ces individus de *M. palmata* récoltés ont permis de réaliser quatre expérimentations différentes, présentées successivement dans les **chapitres III et IV**. La première a permis de valider l'utilisation de *M. palmata* comme modèle biologique pour l'étude des effets de la bioturbation sur la diversité des communautés procaryotes.

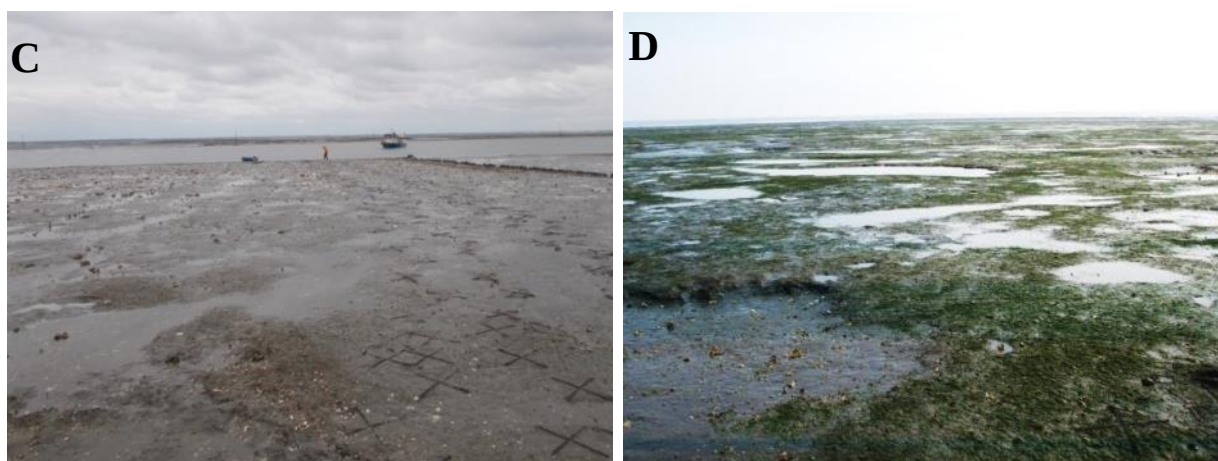
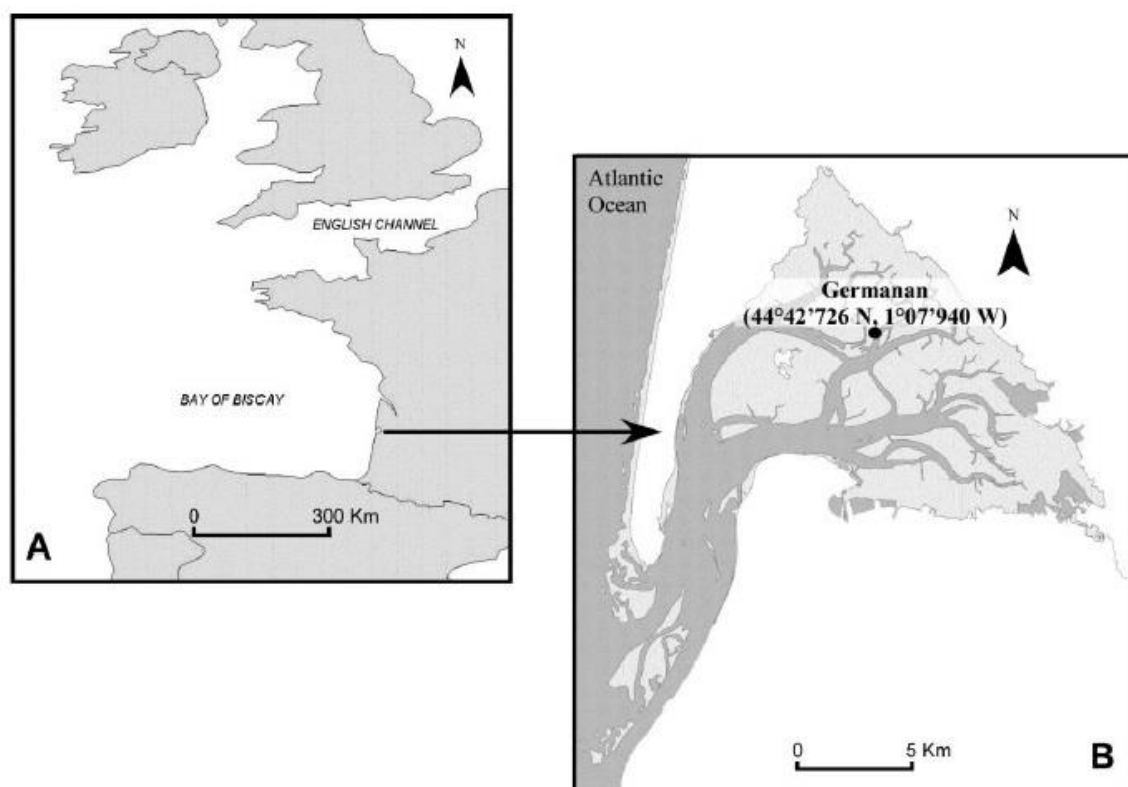


Figure II.2 : Localisation du bassin d'Arcachon (A) et du site de prélèvement Germanan (B) (d'après Bernard *et al.*, 2014) et photographies de la zone de vase nue (C) et de l'herbier à *Zostera noltei* (D) du site de Germanan..

Ensuite, les effets de trois facteurs (la densité de population, la photopériode et les cycles de marée) sur l'activité et la bioturbation de *M. palmata* ont été testés. Enfin, le lien entre la bioturbation de *M. palmata* et les communautés procaryotes a été approfondi en ajoutant les effets de l'enrichissement en matière organique. Les différentes conditions expérimentales sont décrites dans le **tableau II.2**.

Tableau II.2 : Récapitulatif des différentes expérimentations sur l'activité et la bioturbation de *Melinna palmata* et de ses effets sur les communautés procaryotes de l'interface eau-sédiment

Expérimentations	<i>M. palmata</i> comme modèle	Effets de la densité de population	Effets de la photopériode et de la marée	Effets de l'enrichissement en matière organique
N° expérimentation	1	2	3	4
Chapitre	III (partie I)	III (partie II)	III (partie II)	IV
Nombre d'aquariums	14	15	9	35
Nombre de réplicats par condition expérimentale	14	4	9	10
Nombre d'individus par aquarium	1	1, 6, 24 ou 95	1	1
Durées d'incubation (jours)	10	10	7	11 à 22
Température moyenne de l'eau (°C) (± ET)	16,0 ± 1,8	12,3 ± 0,8	15,3 ± 1,2	16,6 ± 1,7

II.1.b. Caractérisation de la population de *Melinna palmata* de Germanan, bassin d'Arcachon

Afin d'obtenir des caractéristiques de taille et de biomasse, des différents individus utilisés pour les expérimentations, 343 individus de *M. palmata* ont été utilisés. Pour cela, les organismes ont été sortis un à un de leur tube, puis mis une heure dans de l'eau de mer filtrée pour qu'ils évacuent leur contenu digestif, afin qu'il ne soit pas pris en compte dans la biomasse individuelle.

• Biomasse

La biomasse fraîche de 343 *M. palmata* a été déterminée après l'heure de dépuración. Le surplus d'eau a été enlevé en déposant délicatement l'organisme sur du papier absorbant, puis les individus pesés un à un. Ils ont ensuite été placés 48h dans une étuve à 60°C puis pesés à nouveau pour déterminer la biomasse sèche. Enfin, les individus séchés ont été regroupés selon l'aquarium d'où ils provenaient et ont été calcinés 4 h à 450°C pour obtenir le poids sec sans cendres.

- **Taille**

Avant d'être placés à l'étuve, les individus ont été photographiés (Nikon ® D7000 Reflex 16.2 Mpx, lens AF-S DX 18-105 mm) afin d'être mesurés. Le logiciel Image J (National Institute of Health, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>) a été utilisé pour déterminer la longueur et la largeur des individus photographiés.

II.2. La vasière Ouest-Gironde

II.2.a. Description

La vasière Ouest-Gironde est un système sédimentaire de 420 km² qui s'étend à 25 km de l'embouchure de l'estuaire de la Gironde dans le golfe de Gascogne (Jouanneau *et al.*, 1989 ; **Figure II.3**). La vasière résulte de l'accumulation d'environ 50% des apports terrigènes provenant de l'estuaire de la Gironde (Lesueur *et al.*, 1989), soit environ $1,5 \times 10^6$ tonnes de particules par an (Castaing & Jouanneau, 1987). Environ 35% de ce matériel est remis en suspension et dispersé vers le sud-ouest par les courants. Des facteurs différents gouvernent les processus sédimentaires entre la partie Est et la partie Ouest océanique de la vasière, ce qui induit un gradient notamment de la taille des particules de surface (Jouanneau *et al.*, 1989). Il y a également un gradient de carbone organique et de labilité de la matière croissant de l'Est vers l'Ouest de la vasière (Relexans *et al.*, 1992).

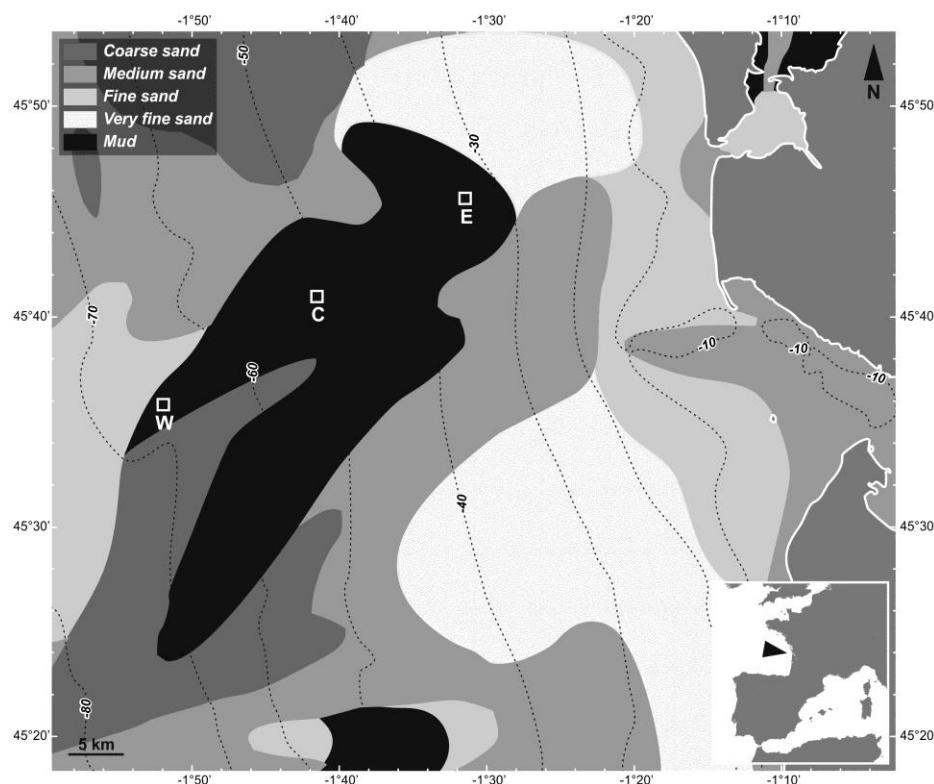


Figure II.3 : Situation géographique de la vasière Ouest-Gironde et localisation des trois stations échantillonnées E, C et W.

II.2.b. Stratégie d'échantillonnage

Trois stations ont été échantillonnées en juillet 2010 lors de la campagne BIOMIN-1 à bord du N/O *Côtes de la Manche* (programme LEFE CYBER « BIOMIN » : étude *in situ* de l'impact de la diversité biologique sur la reminéralisation de la matière organique à l'interface eau-sédiment ; porté par A. Grémare et B. Deflandre). La station E était la station la plus à l'Est de la vasière à 35 m de profondeur, c'est-à-dire la plus proche de l'embouchure de l'estuaire de la Gironde (45°45'648''N; 1°31'458''O). La station C était au centre de la vasière à 55 m de profondeur (45°40'962''N; 1°41'508''O). La station W était la plus à l'Ouest de la vasière à 67 m de profondeur, c'est-à-dire dans la partie la plus océanique (45°35'808''N; 1°51'918''O) (**Figure II.3**).

Les différents réplicats de carottes ont été prélevés à l'aide d'un carottier multitube (Oktopus GmbH, Allemagne) avec 8 tubes en polycarbonate d'un diamètre intérieur de 95 mm. Trois carottes ont été échantillonnées pour l'analyse des communautés bactériennes. Les propriétés sédimentaires (granulométrie, carbone et azote organiques particulaires, chlorophylle *a* et phéophytine *a*) ainsi que la profondeur de pénétration de l'oxygène ont été analysées sur une quatrième carotte.

Pour l'analyse des paramètres sédimentaires, les carottes ont été découpées en 10 tranches : 0-5 mm, 5-10 mm, 10-15 mm, 15-20 mm, 20-30 mm, 30-40 mm, 40-50 mm, 50-70 mm, 70-90 mm et 90-110 mm. Chaque tranche a été homogénéisée puis divisée pour les différentes analyses (cf. paragraphe III.4. et III.6.).

Pour l'analyse de la composition des communautés bactériennes ainsi que pour l'abondance procaryote, chacune des trois carottes a été découpée en 7 tranches : 0-5 mm, 5-10 mm, 10-20 mm, 20-30 mm, 30-50 mm, 50-70 mm et 70-100 mm. Chaque tranche a été homogénéisée dans un récipient stérile et avec une spatule stérile. Dans les quatre heures suivant le découpage des carottes, 1 g de chaque tranche a été placé dans 2 mL de formaldéhyde dilué (concentration finale de 1,7%) pour le dénombrement des cellules procaryotes par cytométrie en flux. Un autre gramme de sédiment a été placé dans 1 ml de tampon de conservation (100 mM Tris-HCl [pH 8.0], 100 mM EDTA [pH 8.0], 1.5 NaCl et 1% [wt/vol] cetyltriméthylammonium bromide) (Zhou *et al.*, 1996) pour l'analyse de la composition des communautés bactériennes par ARISA. Les échantillons ont été placés à -80°C jusqu'à leur traitement au laboratoire.

Pour la macrofaune benthique, le sédiment a été échantillonné à l'aide d'une benne Hamon (0,25 m²). Trois réplicats de benne ont été effectués à chaque station. Le sédiment de chacune des bennes a été tamisé sur une maille de 1 mm. Le refus de tamis a été fixé dans une solution de formol à 4%.

Les prélèvements et traitements des carottes des bennes de sédiments sont synthétisés sur la **figure II.4**.

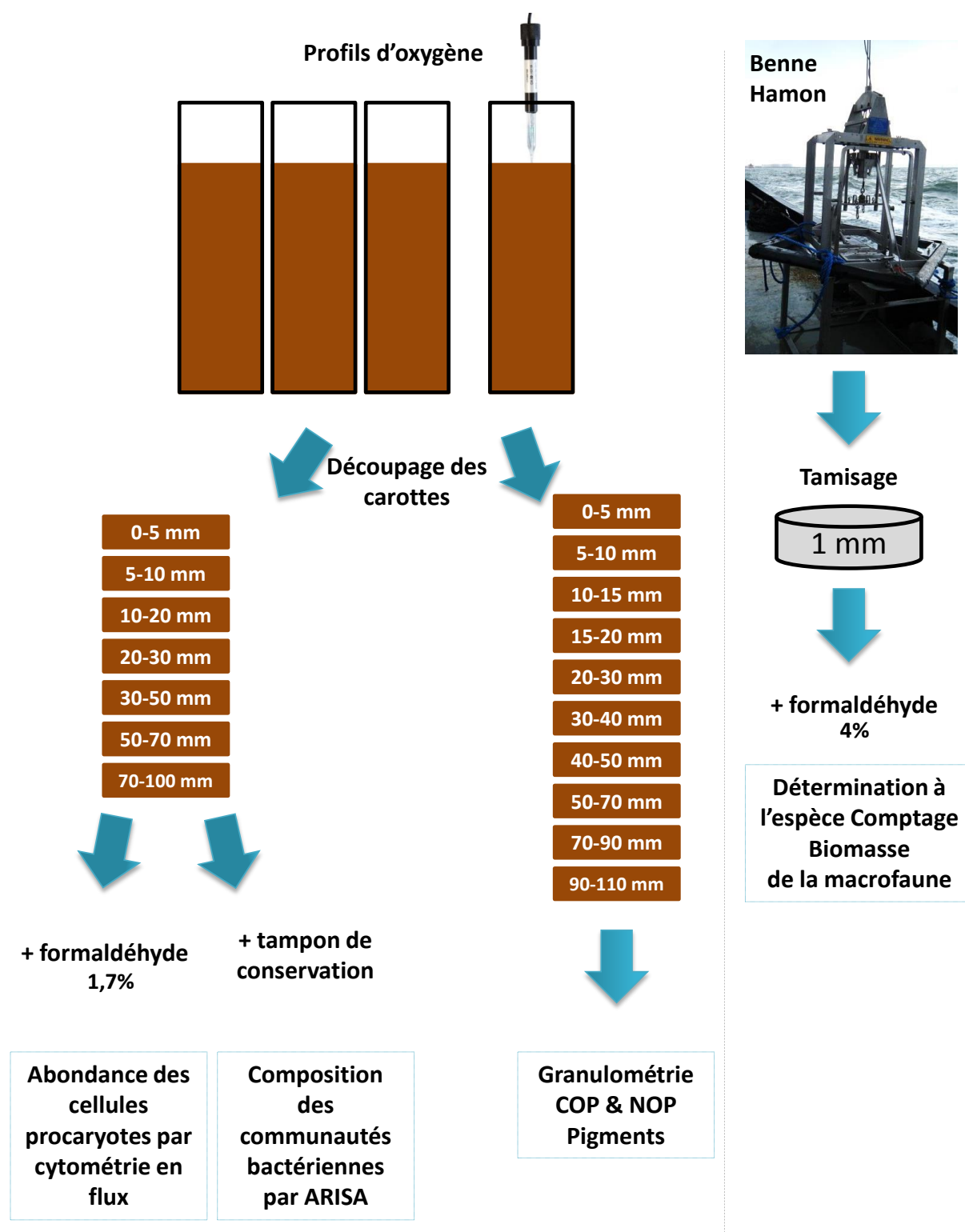


Figure II.4 : Synthèse de l'analyse sur les carottes de sédiment et la macrofaune prélevés dans la vasière Ouest-Gironde.

III. Paramètres étudiés

III.1. Macrofaune

Les organismes ont été triés, comptés et identifiés jusqu'au plus faible niveau taxonomique possible. La biomasse de l'ensemble des organismes regroupés par embranchement a été déterminée en poids sec sans cendres après dessiccation 48 h à 60°C, puis après calcination pendant 4 h à 450°C.

III.2. Suivi du comportement

Les aquariums ont été éclairés sous lumière infra-rouge, sauf dans le cas de mesures de l'effet de la lumière où ils étaient sous lumière ambiante. Une caméra µeye (IDS µeye UI-1580SE-C-HQ, Stemmer Imaging, France) a été positionnée à environ 30 cm au-dessus de l'interface eau-sédiment. Ce système était connecté à un ordinateur et piloté par le logiciel Obvious_MicroLum (développé par Jean-Claude Duchêne, chargé de recherches, CNRS) pour prendre une photo de l'interface eau-sédiment toutes les 10 s (**Figure II.5**). Des séries de 11 à 24 h ont été lancées chaque jour. A la fin de chaque série, les photos étaient assemblées sous le format vidéo « .AVI ».

Les vidéos ont ensuite été visionnées image par image pour déterminer les différents comportements de *M. palmata* et le temps alloué à chacun de ces comportements. A l'aide du logiciel Obvious_AviExplore (développé par Jean-Claude Duchêne), l'intensité d'activité a été mesurée par comparaison entre deux images consécutives du niveau de gris de chaque pixel.

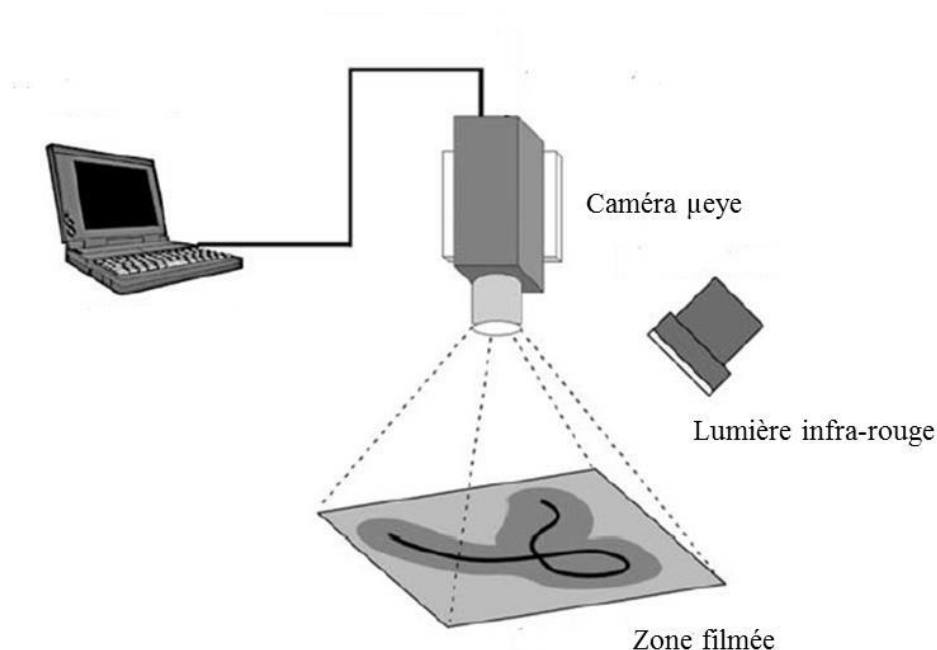


Figure II.5 : Dispositif de suivi du comportement de *Melinna palmata* à l'interface eau-sédiment. D'après Maire et al., (2008).

III.3. Quantification de la bioturbation

III.3.a. Remaniement sédimentaire

Les nombres de conditions et de réplicats utilisés pour mesurer le remaniement sédimentaire sont détaillés ensuite dans chaque chapitre du manuscrit.

- **Remaniement de la colonne sédimentaire**

Pour vérifier l'absence de remaniement de la colonne sédimentaire par *M. palmata*, des individus ont été placés dans des aquariums plats de 5 mm d'épaisseur. Environ 1,5g de traceurs particuliers fluorescents, des luminophores (Ecotrace, Environmental Tracing ®, diamètre médian : 35 µm, $\lambda_{\text{excitation}} = 365 \text{ nm}$) ont été déposés sur la surface du sédiment. Sous lumière UV, une photographie des aquariums a été prise toutes les 24 h pendant 15 jours. Les photographies ont ensuite été analysées avec le logiciel *Lumino* (développé par Alicia Romero) pour compter les luminophores en fonction de la profondeur.

- **Surface de sédiment remanié par *Melinna palmata***

La surface de sédiment remanié a été calculée à partir de photographies (Nikon ® D7000 Reflex 16.2 Mpixels, lens AF-S DX 18-105 mm) prises sous lumière ambiante à la fin des périodes d'incubation. A l'aide du logiciel image J (National Institute of Health, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>), la surface de chaque zone issue du remaniement de *M. palmata* a été mesurée : le cône fécal et la zone de prospection.

- **Volume de sédiment remanié par *Melinna palmata***

Le volume de sédiment remanié a été mesuré par microtopographie (**Figure II.6**). Un télémètre laser (Sick OD80) fixé sur des translateurs motorisés (410XR Parker Hannifin precision linear positioners) et relié à un ordinateur a été piloté par le logiciel Obvious_Topo (développé par Jean-Claude Duchêne) pour scanner un carré de 50×50 mm de l'interface eau-sédiment. Une microtopographie a été lancée entre chaque série de film. Chaque microtopographie a ensuite été comparée à celle la précédant pour déterminer le volume de sédiment remanié par *M. palmata*.

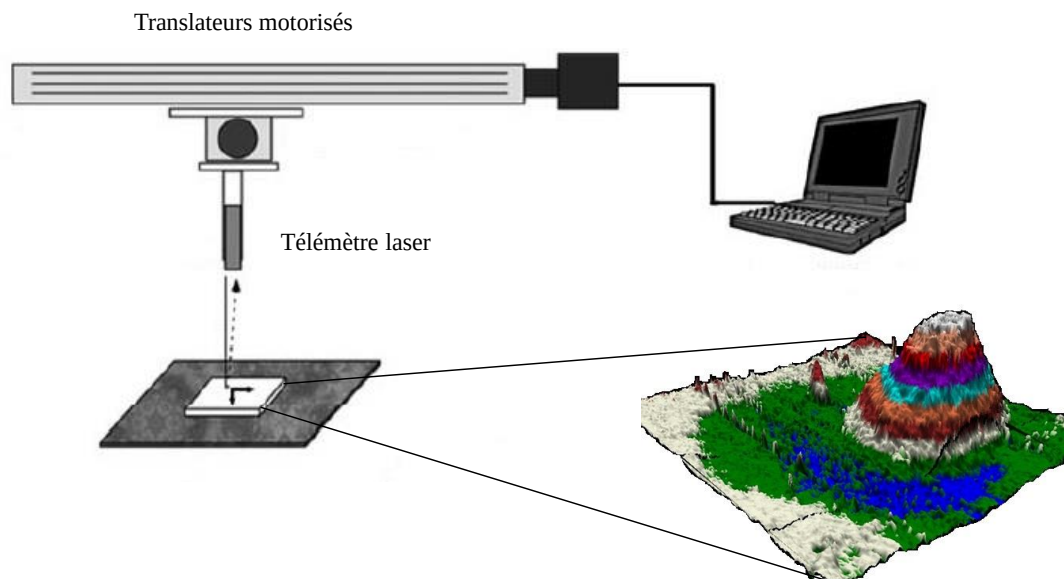


Figure II.6 : Dispositif de mesure de la microtopographie de l'interface eau-sédiment utilisé pour déterminer le volume de sédiment remanié par *M. palmata*. Modifié de Maire *et al.*, (2008).

III.3.b. Bioirrigation par *Melinna palmata*

La bioirrigation de *M. palmata* a été quantifiée selon une approche fluorimétrique utilisant comme traceur dissous de la fluorescéine, et comme outil de mesure des sondes fluorimétriques (Massé, 2010).

- **Dispositif expérimental**

Six carottes de 40 cm de haut et 9,4 cm de diamètre interne ont été remplies de sédiment préalablement tamisé sur 1 mm et placées en eau de mer courante (température : $13,9 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$; salinité : $32,6 \pm 0,3$). Après 10 jours d'équilibration du sédiment, 18 individus ont été sortis de leur tube un à un et répartis dans les différentes carottes comme précisé dans le **tableau II.3**. Les individus ont été déposés à l'interface eau-sédiment puis stabulés 10 jours pour qu'ils s'acclimatent (refassent leur tube, s'enfoncent dans le sédiment). Par la suite, les carottes ont été installées dans un incubateur à température fixée à $13,5^{\circ}\text{C}$ (température de l'eau surnageante), en prenant soin de ne pas perturber l'interface eau-sédiment. Un léger bullage d'oxygène a été installé dans chaque carotte, puis une sonde fluorimétrique (CyclopsTM submersible 7, Turner Design, Sunnyvale, California) a été immergée dans l'eau surnageante de manière à être à 8 cm au-dessus de l'interface eau-sédiment, avec le faisceau dirigé vers l'interface eau-sédiment. Les 6 sondes fluorimétriques ont été reliées à un datalogger (C6TM Multisensor Platform ; Turner Design, Sunnyvale, California), lui-même connecté à un ordinateur piloté par le logiciel C-soft manager (**Figures II.7 & II.8**).

Tableau II.3 : Récapitulatif du dispositif expérimental de quantification de la bioirrigation de *M. palmata*.

Carottes	1	2	3	4	5	6
Nombre d'individus par carotte	0	0	1	2	5	10
Nombre d'individus par m ²	0	0	144	289	722	1443
Poids frais (mg) (± ET)	0	0	53,7	43,7±15,8	43,6±14,6	29,17±17,1

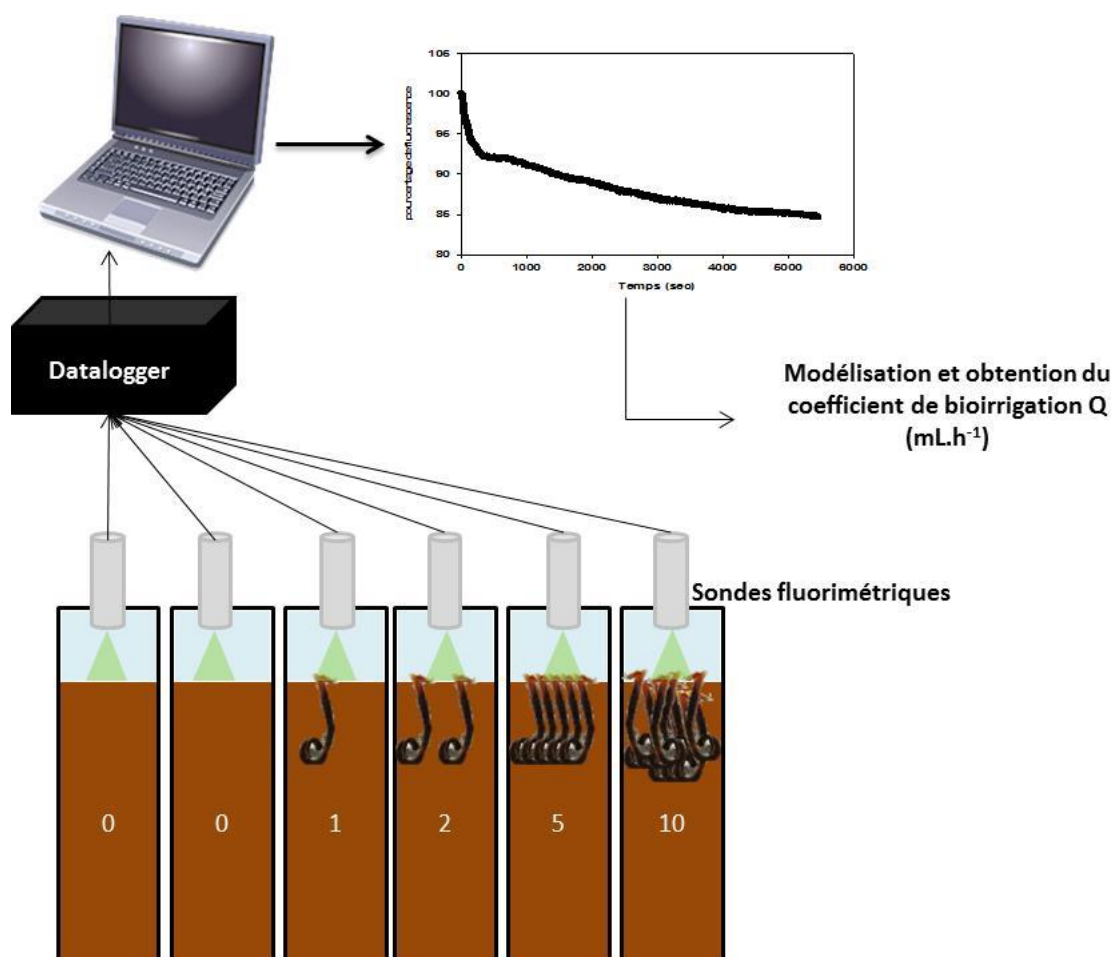


Figure II.7 : Schéma synthétique de la méthode de quantification du taux de bioirrigation de *Melinna palmata*, de la mesure à la modélisation.



Figure II.8 : Photographie du dispositif expérimental de mesure du taux de bioirrigation avec les sondes fluorimétriques plongées dans l'eau surnageante de carottes de sédiment contenant de la fluorescéine.

• Mesures

Après 48 h de stabilisation dans l'incubateur, une solution de fluorescéine a été ajoutée dans l'eau surnageante de chaque carotte, afin d'obtenir une concentration finale de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$, et homogénéisée délicatement. Une fois l'eau surnageante homogénéisée, l'enregistrement de la fluorescence dans l'eau a commencé. Pour cela, toutes les minutes pendant 72 h, un faisceau d'excitation de 490 nm a été émis par la sonde, qui reçoit et mesure en retour la longueur d'onde d'émission de la fluorescéine de 514 nm. Une décroissance de la fluorescence au cours du temps est observée, car (1) la fluorescéine s'adsorbe à la matière organique du sédiment, et (2) l'activité de l'organisme induit un passage de l'eau surnageante avec la fluorescéine vers l'eau porale, où la fluorescence n'est plus détectée par les sondes. A la fin de l'incubation, du sédiment frais du premier centimètre de la carotte a été prélevé, pesé, puis lyophilisé 48 h. Le sédiment sec a été pesé, ce qui a permis de calculer la porosité selon la formule suivante (Berner, 1971), utilisée ensuite pour ajuster le modèle :

$$\Phi = \frac{\frac{M_{\text{eau}}}{\rho_{\text{eau}}}}{\left(\frac{M_{\text{eau}}}{\rho_{\text{eau}}}\right) + \left(\frac{(M_{\text{sed}}) - (S \times M_{\text{eau}})}{\rho_{\text{sed}}}\right)}$$

avec M_{eau} = poids frais – poids sec (g) ; ρ_{eau} = masse volumique de l'eau interstitielle ($= 1,03 \text{ g.cm}^{-3}$) ; ρ_{sed} = masse volumique du sédiment ($= 2,65 \text{ g.cm}^{-3}$) ; M_{eau} = masse d'eau pour le volume de sédiment considéré (g) ; M_{sed} = masse de sédiment pour le volume de sédiment considéré (g) ; S = salinité.

• Modélisation

La décroissance de la fluorescence a été modélisée de manière à obtenir un coefficient de bioirrigation Q , exprimé en mL.h^{-1} , ce qui représente le flux d'eau échangé entre l'eau surnageante et l'eau porale, et ce, selon les équations suivantes, d'après Na *et al.* (2008):

$$C_{ow}(t) = \frac{A}{B} \times C_{ow}^0 + \left(1 - \frac{A}{B}\right) C_{ow}^0 e^{-Bt}$$

où $A = \frac{Q}{V_{pw} + M_s K_{ad}}$ et $B = \frac{Q}{V_{ow}} \left(1 + \frac{V_{ow}}{V_{pw} + M_s K_{ad}}\right)$

où C_{ow} est exprimé en $\mu\text{g.L}^{-1}$, il s'agit de la concentration en fluorescéine et C_{ow}^0 la concentration initiale ; V_{ow} est le volume d'eau surnageante exprimé en mL, V_{pw} est le volume d'eau porale exprimé en mL ; M_s correspond à la masse de sédiment exprimée en g et K_{ad} correspond à la constante d'adsorption de la fluorescéine à la matière organique, exprimée en mL.gPS^{-1} .

La décroissance de la fluorescence dans l'eau surnageante peut se diviser en deux temps, avec deux pentes de décroissance différentes, comme visible sur la **figure II.9**. De ce fait, deux coefficients de bioirrigation peuvent être calculés, Q_1 et Q_2 . Q_1 correspond essentiellement à l'adsorption de la fluorescéine à la matière organique de l'interface eau-sédiment ou de la paroi des terriers. Q_2 est donc le coefficient retenu comme étant le coefficient de bioirrigation induit par l'organisme. Cette étape a été réalisée à l'aide du logiciel MATLAB.

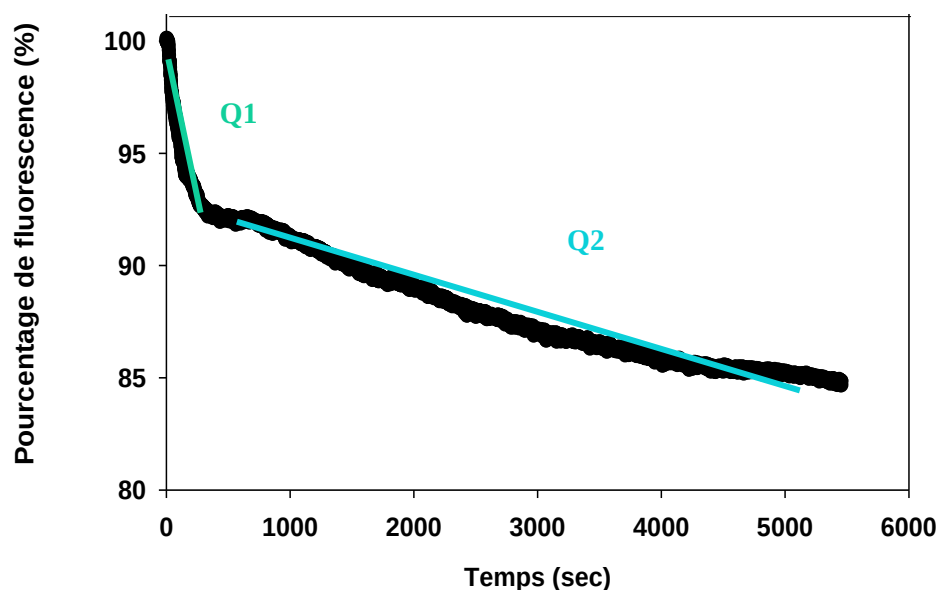


Figure II.9 : Exemple de décroissance de la fluorescence en deux temps dans de l'eau surnageante en présence d'un organisme bioturbateur, *Hediste diversicolor*. Q_1 =coefficient de bioirrigation de la première pente ; Q_2 : coefficient de bioirrigation de la seconde pente.

III.4. Mesure de la profondeur de pénétration de l'oxygène

La profondeur de pénétration de l'oxygène dans le sédiment a été mesurée de la même manière, que ce soit dans les carottes prélevées dans la vasière Ouest Gironde ou dans les aquariums des expérimentations n°1 et n°4 (cf. **tableau II.2**). Des micro-profils ont été réalisés à l'aide de microélectrodes (UNISENSE, A/S) de type *Clark* (Revsbech, 1989) d'un diamètre de 100 μm . Les microélectrodes ont été placées sur un micromanipulateur motorisé (MC-232, UNISENSE) et reliées à un oxymètre (OXY-METER, UNISENSE), tous deux pilotés par le logiciel SensorTrace PRO v3.0 de chez Unisense. Le montage (cf. **Figure II.10**) a été lancé et laissé 12 h avant chaque mesure pour que les micro-électrodes se polarisent.

Les micro-profils ont ensuite été analysés avec le logiciel PRO2FLUX (Deflandre & Duchêne, 2010) pour obtenir les profondeurs de pénétration de l'oxygène en mm. Pour cela, les données de température et de salinité étaient également nécessaires et mesurées à l'aide d'un thermo-salinomètre.

Dans le cas des expérimentations sur les relations entre la bioturbation de *M. palmata* et la composition des communautés procaryotes, cette mesure a permis de cibler l'étude sur les sédiments oxiques de l'interface pour s'affranchir de la distribution verticale des communautés procaryotes.

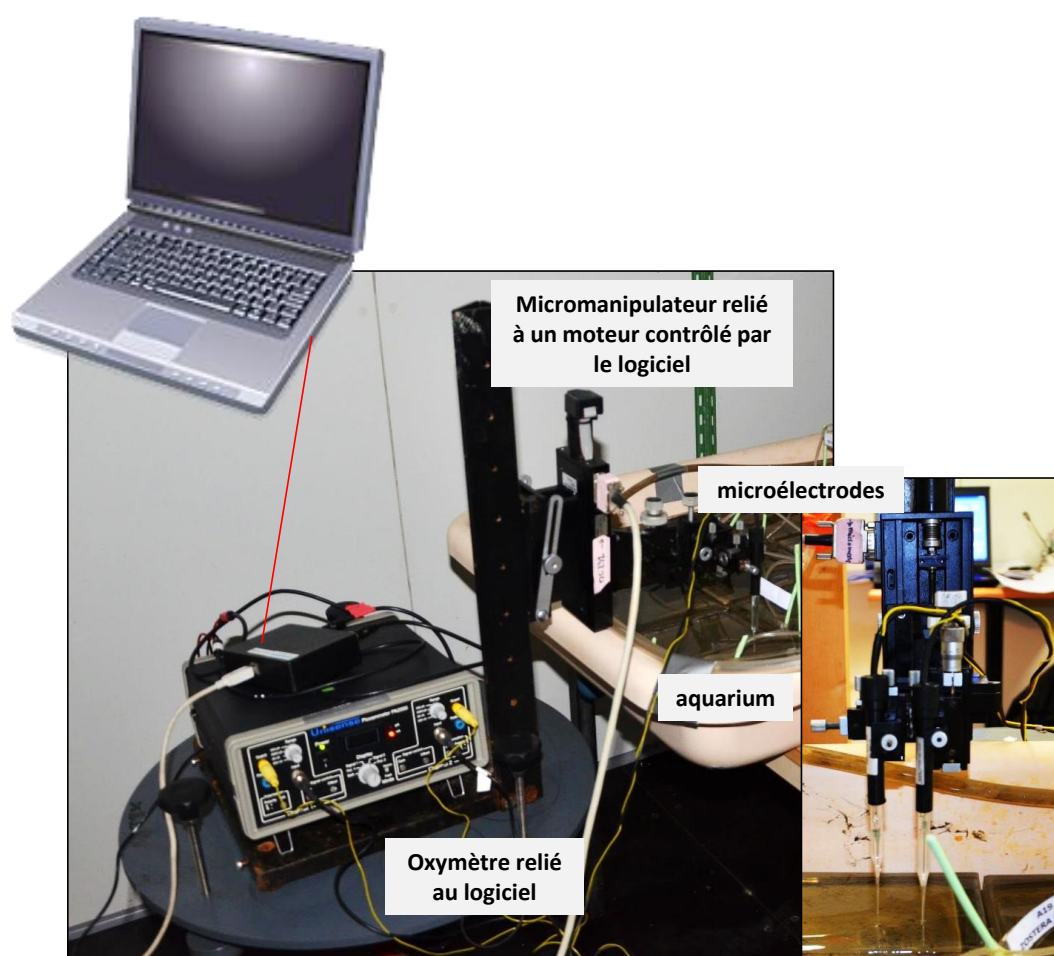


Figure II.10 : Dispositif de mesure de la profondeur de pénétration de l'oxygène dans le sédiment à l'aide de microélectrodes de type Clark.

III.5. Prélèvement du sédiment des zones de bioturbation

A la fin de chaque période d'incubation, une fois les profils d'oxygène effectués, le sédiment des différentes zones a été prélevé. Une carotte de sédiment représentant l'ensemble de la colonne sédimentaire de l'aquarium et non uniquement l'interface eau-sédiment a aussi été prélevée pour :

- (1) Les sédiments de l'expérimentation n°1 de validation de l'utilisation de *M. palmata* comme modèle biologique pour l'étude des impacts de la bioturbation sur les communautés procaryotes à l'interface eau-sédiment.
- (2) Les sédiments de l'expérimentation n°4 sur les effets de la disponibilité et de la qualité de la matière organique sur le remaniement sédimentaire de *M. palmata* et les répercussions sur les communautés procaryotes de l'interface eau-sédiment.

Pour cela, le sédiment est prélevé séparément à l'aide d'une seringue et immédiatement homogénéisé et aliquoté pour les différentes analyses : consommation biologique d'oxygène (expérimentation n°4), propriétés sédimentaires, abondance de l'ADNr 16S bactérien (expérimentation n°4) et composition des communautés procaryotes (expérimentations n° 1 et 4 - **Figure II.11**) ; avec entre 250 µL et 1 mL de sédiment suivant la quantité prélevée. Chaque aliquot a été pesé (sédiment frais). Une fois les prélèvements effectués, le sédiment a été tamisé pour récupérer les individus. Les individus ont été isolés de leur tube sous loupe binoculaire pour déterminer la composition des communautés procaryotes associées.

Pour les analyses des paramètres sédimentaires, les sédiments aliquotés ont été placés directement à -80°C jusqu'aux analyses.

Pour les analyses de composition et d'abondance des communautés, le sédiment et les tubes de *M. palmata* ont été placés dans les deux heures suivant les prélèvements dans environ 1 mL de tampon conservatif (100 mM Tris-HCl [pH 8.0], 100 mM EDTA [pH 8.0], 1.5 NaCl and 1 % [wt/vol] cetyltrimethylammonium bromide) (Zhou *et al.*, 1996). Pour *M. palmata*, après une heure de dépuration dans de l'eau de mer filtrée à 0,22 µm et stérilisée, chaque individu a été placé dans un tampon de broyage (100 mM Tris-HCl [pH 8.0], 100 mM Na EDTA [pH 8.0]), puis broyé (lame OMNI TH). Ensuite, 400 µL de ce broyat a été placé dans 1 mL de tampon conservatif (100 mM Tris-HCl [pH 8.0], 100 mM EDTA [pH 8.0], 1.5 NaCl and 1 % [wt/vol] cetyltrimethylammonium bromide) (Zhou *et al.*, 1996). Les échantillons ont ensuite été conservés à -80°C jusqu'à l'extraction de l'ADN (cf. partie I.8).

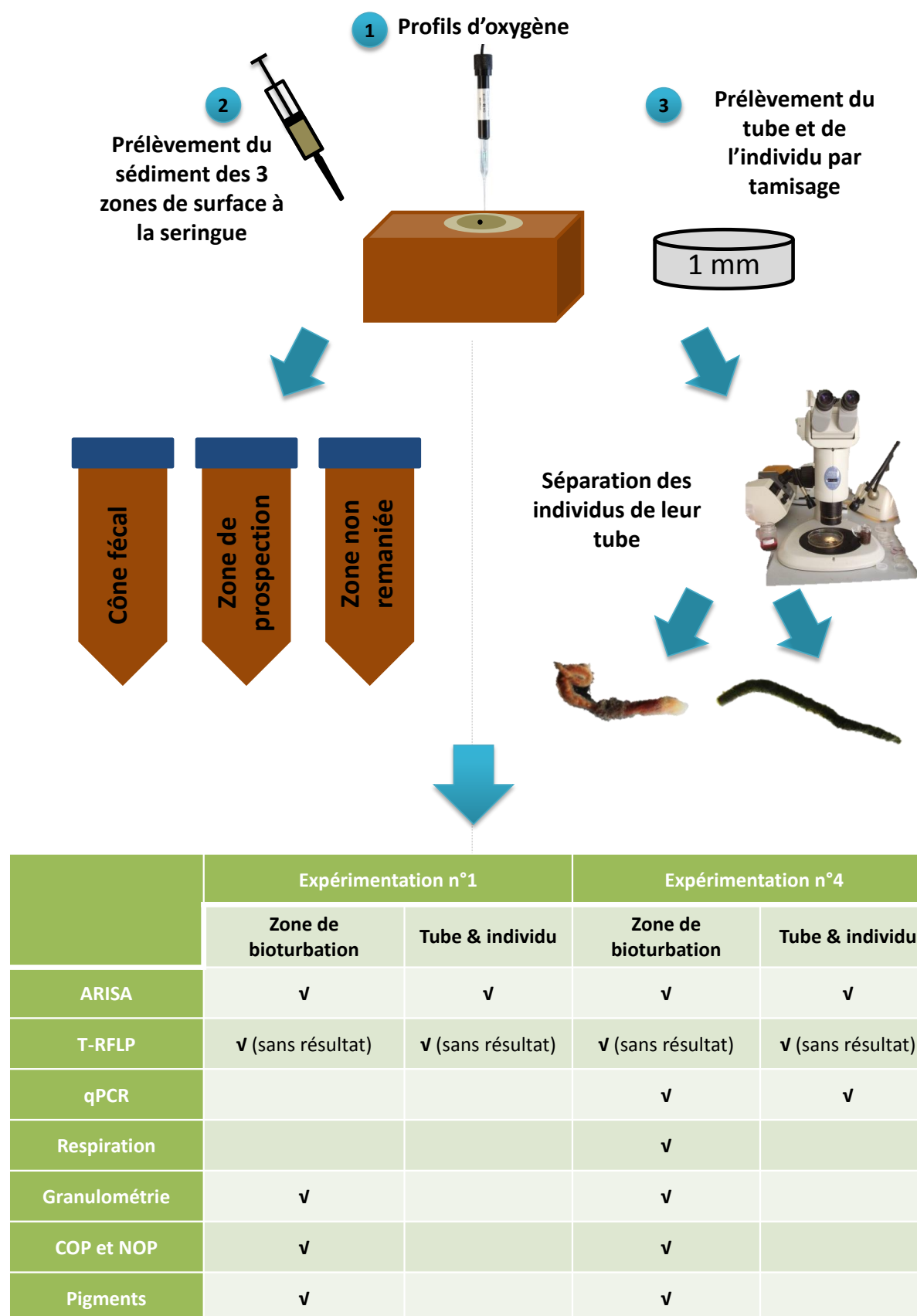


Figure II.11 : Synthèse du protocole expérimental suivi à la fin des incubations de *M. palmata* en aquarium pour les expérimentations 1 et 4. Le tableau recense les analyses effectuées sur le sédiment et sur les organismes et leurs tubes.

III.6. Analyses des paramètres sédimentaires

III.6.a. Carbone et azote organiques particuliers (COP et NOP)

Les aliquots de sédiment congelé ont tout d'abord été lyophilisés pendant 48h. Ensuite, environ 10 mg de sédiment sec ont été placés dans une nacelle en étain pré-pesée, refermée par pliage, puis pesée pour avoir le poids exact de sédiment sec analysé.

Environ 10 mg du même sédiment sec ont également été placés dans une nacelle en argent pré-pesée, puis pesée afin d'avoir le poids sec exact de sédiment analysé, tout en laissant la nacelle ouverte. Deux étapes de décarbonatation ont été réalisées sur ce sédiment : $2 \times 100 \mu\text{L}$ d'HCl 0,2 N avec après chaque ajout un passage à l'étuve à 60°C pour sécher le sédiment. Une fois le sédiment sec, les nacelles en argent ont été refermées par pliage.

Le COP et le NOP ont été mesurés à l'aide de l'analyseur élémentaire ThermoFinnigan® Flash elemental Analyser Series 1112 (Thermo Scientific, France). Après combustion en présence d'oxygène, l'hélium qui est le gaz vecteur permet le transport des gaz issus de la combustion le long d'une colonne de réduction, puis le long d'une colonne chromatographique, et enfin devant un détecteur. C'est la détection du N_2 après deux minutes d'analyse et du CO_2 après quatre minutes d'analyse qui donne les teneurs en COP et NOP en pourcentages dans l'échantillon. Cette technique nécessite au préalable une calibration de l'analyseur, avant chaque série de mesure. Pour cela, une gamme étalon d'un standard d'acétanilide (carbone : 71,09% et azote : 10,36%) est passée.

III.6.b. Pigments et phéopigments

Une partie des aliquots du sédiment frais de chaque zone a été pesée puis lyophilisée et pesée sec. A partir de la différence entre les poids frais et poids sec, le pourcentage en eau du sédiment de chaque zone a été calculé et utilisé pour l'extraction des pigments. Les chlorophylles et phéophytines *a*, *b* et *c*, ont été extraites à partir d'environ 400 mg de sédiment frais pesés précisément. A partir de ce poids frais de sédiment (*PF*) et de la teneur en eau calculée au préalable ($\%_{\text{eau}}$), le volume d'eau (V_{eau}) à ajouter a été calculé pour avoir un volume d'extraction de 6 mL composé d'acétone à 90% :

$$V_{\text{eau}} = 6 - \left(\frac{\%_{\text{eau}}}{100} \right) \times PF$$

Une fois le volume d'eau calculé et ajouté, l'extrait a été complété avec de l'acétone 100% jusqu'à arriver à un volume final de 6 mL, tout en gardant les échantillons dans la glace et à l'obscurité pour ne pas dégrader les pigments. Après homogénéisation à l'aide d'un vortex, l'extrait a été placé à l'obscurité à 4°C pendant 12 h, temps nécessaire à l'extraction de la totalité des pigments. Après les 12 h d'extraction, les échantillons ont été homogénéisés à l'aide d'un vortex puis centrifugés (4°C, 5 min, 3000 rpm). C'est le surnageant contenant les pigments qui a été dosé à l'aide d'un

spectrofluorimètre Perkin Elmer® (Courtaboeuf, France) selon la méthode de Neveux & Lantoine (1993).

III.6.c. Granulométrie

D'autres aliquots de sédiment lyophilisé pendant 48 h ont été utilisés pour déterminer la granulométrie du sédiment. Quelques milligrammes à grammes de sédiment ont été placés dans un microgranulomètre laser Malvern ® Master Sizer (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, England). Les particules sont mises en suspension dans de l'eau puis mises en circulation dans un canal jusqu'à les passer devant une cellule de mesure. Un faisceau laser traverse cette cellule, et c'est la diffraction de la lumière qui permet à l'appareil de calculer la taille des particules.

III.7. Analyse des communautés procaryotes de l'interface eau-sédiment

III.7.a. Techniques d'études utilisées dans les travaux de relations entre bioturbation et communautés procaryotes

De nombreuses techniques permettent de caractériser les communautés bactériennes et archéennes, techniques qui ont beaucoup évolué notamment concernant la structure et la diversité des communautés grâce aux techniques de biologie moléculaire (Forney *et al.*, 2004). Dans cette partie il s'agit de décrire les différentes techniques d'études des communautés qui ont permis de mettre en évidence le contrôle des communautés bactériennes et archéennes par la bioturbation (**Tableau II.4**).

Tableau II.4 : Techniques de caractérisation des abondances, biomasse et diversité bactérienne et archéenne utilisées dans les études d'effets de la bioturbation sur les communautés procaryotes.

Paramètre mesuré	Techniques	Références
Abondances totales	• Comptage direct : microscopie à épifluorescence + acridine orange ou DAPI	1 à 16
Abondances viables	• Acides gras	12
	• Approche culturale	5-7
	• Nombre le plus probable (NPP)	7 ; 17
	• Microscopie à épifluorescence avec sondes marquées spécifiques	9 ; 13 ; 18
Abondances de gènes	• qPCR sur ARN16S bactérien et archéen	19-21
Biomasse totale	• Acides gras phospholipidiques	8 ; 17 ; 22-24
	• Estimation par mesure microscopique de la longueur et de la largeur des cellules	6
Biomasse viable	• Acides gras phospholipidiques	22-23
Production	• Taux d'incorporation de thymidine marquée	2 ; 5
Activité	• Hétérotrophe : incorporation et minéralisation de glucose et d'acétate	5
	• Sulfato-réduction : injection de sulfate marqué	17 ; 25
	• Enzymatique extracellulaire : avec utilisation de diacétate de fluorescéine	8
	• Suivant métabolisme : plaques BIOLOG	9
	• Système de transport d'électrons (ETSA) : réduction INT en INT-Formazan	11
	• Fixation d'azote : réduction d'acétylène	25-27
	• Dénitrification : inhibition par l'acétylène	27
	• Oxydation ammoniacale : accumulation des nitrites	20
	• Consommation d'oxygène : titration par la méthode de Winkler	13
Composition et diversité	• Acides gras phospholipidiques	8 ; 22-24
	• DGGE	12 ; 14-15 ; 19
	• Clonage & Séquençage	12 ; 28 ; 29
	• RISA et ARISA	16 ; 30-31
	• T-RFLP	25 ; 28

1 : Aller & Yingst, 1985 ; 2 : Alongi, 1985 ; 3 : Aller & Aller, 1986 ; 4 : Branch & Pringle, 1987 ; 5 : Reichardt, 1988 ; 6 : Grossman & Reichardt, 1991 ; 7 : Goñi-Urriza et al., 1999 ; 8 : Bird et al., 2000 ; 9 : Wilde & Plante, 2002 ; 10 : Andressen & Kristensen, 2002 ; 11 : Kinoshita et al., 2003 ; 12 : Matsui et al., 2004 ; 13 : Mermillod-Blondin et al., 2005 ; 14 : Papaspyrou et al. ? 2005 ; 15 : Papaspyrou et al., 2006 ; 16 : Bertics & Ziebis, 2009 ; 17 : Hansen et al., 1996 ; 18 : Michaud et al., 2009 ; 19 : Gilbertson et al., 2012 ; 20 : Laverock et al., 2013 ; 21 : Laverock et al., 2014 ; 22 : Dobbs & Guckert, 1988a ; 23 : Dobbs & Guckert, 1988b ; 24 : Steward et al., 1996 ; 25 : Bertics & Ziebis, 2010 ; 26 : Bertics et al., 2010 ; 27 : Bertics et al., 2012 ; 28 : Laverock et al., 2010 ; 29 : Pischedda et al., 2011 ; 30 : Grossi et al., 2006 ; 31 : Cuny et al., 2007.

Certaines techniques utilisées en écologie microbienne et également dans le cadre d'étude des effets de la bioturbation sur la diversité bactérienne sont basées sur une approche culturale. Cependant, moins de 1% des procaryotes présents dans l'environnement sont cultivables (Hugenholtz, 2002).

D'autres techniques, dont celles utilisées dans le cadre de cette thèse, adoptent une approche moléculaire. Dans l'objectif d'obtenir la diversité de l'ensemble de la communauté, l'ADN ribosomique est ciblé car il s'agit de gènes conservés chez tous les êtres vivants, présentant des polymorphismes de taille et/ou de séquence entre les différentes espèces, ce qui permet de les discriminer. Des gènes spécifiques peuvent aussi être ciblés, permettant alors d'obtenir la diversité au sein d'un groupe fonctionnel spécifique. Par exemple, dans le cas de Laverock *et al.* (2013), les bactéries et les archées impliquées dans le cycle de l'azote ont été ciblées via les gènes *amoA* (bactéries et archées oxydant l'ammoniaque), *nirS* (bactéries dénitrifiantes). Diverses méthodes utilisent cette approche moléculaire :

- (1) Méthodes d'empreinte moléculaire ou « *fingerprinting* ». Ces techniques permettent d'obtenir la diversité de l'ensemble des communautés présentes dans les échantillons traités, et sont surtout utilisées pour comparer la structure des communautés, c'est-à-dire pour obtenir la diversité β .
 - a. l'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE). Cette technique se base sur le polymorphisme de séquence d'ADN (ou d'ARN), et de leurs différentes propriétés de dénaturation même si ces séquences sont très proches. La diversité est ensuite révélée par migration sur gel.
 - b. l'analyse de l'espace intergénique ribosomal (Ribosomal Intergenic Spacer Analysis, RISA ; et Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis, ARISA). Il s'agit d'une technique de *fingerprinting*, c'est-à-dire qui donne une empreinte moléculaire des communautés étudiées. Elle permet donc de caractériser la diversité β . Pour cela, elle se base sur le polymorphisme de taille de la séquence intergénique ADNr 16S-23S appelée ITS. Dans le cas de l'ARISA, la phase d'électrophorèse ne se fait pas sur un gel classique d'agarose ou d'acrylamide mais à l'aide d'un séquenceur sur un gel en capillaire. La séquence est alors marquée avec un fluorochrome via l'utilisation d'amorces marquées lors de l'amplification par PCR.
 - c. l'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction terminaux (Terminal-Restriction Length Polymorphism, T-RFLP). Il s'agit également d'une méthode dite de *fingerprinting* qui permet d'obtenir la diversité β . Dans ce cas, c'est le polymorphisme de séquence de l'ADNr 16S qui est utilisé. Le fragment de même taille mais de séquences différentes est découpé au niveau d'une séquence

ciblée en fonction de l'enzyme de restriction utilisée, située à différents niveaux sur le fragment. Des fragments de tailles différentes sont donc obtenus après cette étape de restriction et peuvent être discriminés par électrophorèse classique ou capillaire.

- (2) Clonage et séquençage. Le gène d'intérêt (insert) est amplifié puis inséré dans un plasmide, lui-même cloné dans le génome d'une bactérie, en général *Escherichia coli*, qui est ensuite mise en culture pour produire un grand nombre de copies de l'insert. Les clones sont ensuite séquencés (Sanger *et al.*, 1977). Après analyses de bioinformatique de comparaison des séquences obtenues à des bases de données, les organismes peuvent être identifiés parfois jusqu'à l'espèce, et être situés sur un arbre phylogénétique.
- (3) Approches de métagénomique. La métagénomique permet de caractériser la diversité de communautés entières, et ce grâce à l'utilisation de techniques de séquençage dites à haut débit couplées à de la bioinformatique (Hugenholtz & Tyson, 2008). Elles utilisent des techniques de séquençage de plus en plus perfectionnées, permettant d'obtenir avec une très haute résolution des séquences redondantes que l'on rassemble par bioinformatique pour obtenir des génomes ou bien des séquences d'un gène cible, par exemple l'ARN 16S. Le pyroséquençage est un exemple de technique de séquençage massif, qui peut générer plus de 20 millions de paires de bases en 4 h (Margulies *et al.*, 2005 ; Amend *et al.*, 2010).

III.7.b. Mesures de la diversité

La diversité biologique correspond à la variabilité du monde vivant allant de la diversité génétique au sein d'une même espèce à la diversité écosystémique en passant par la diversité spécifique (Magurran, 2004). Elle peut donc être mesurée à différentes échelles avec la diversité α , la diversité β et la diversité γ (Whittaker, 1972) (**Figure II.12**). Quelle que soit l'échelle, si l'on souhaite mesurer la diversité d'une communauté, la seule prise en compte du nombre d'espèces ne suffit pas. Il faut ajouter à la richesse spécifique l'équitabilité, c'est-à-dire la répartition du nombre d'individus pour chaque espèce.

La diversité α permet de mesurer la diversité locale, à l'intérieur d'un système délimité et homogène. Deux indices sont couramment utilisés pour cela :

- (1) L'indice de Shannon-Wiener H' (Shannon, 1948), qui prend en compte à la fois le nombre d'espèces et l'abondance des individus. Il se calcule selon la formule suivante :

$$H' = - \sum_{i=1}^s p_i \log p_i$$

- (2) L'indice de Simpson λ (Simpson, 1965) mesure la probabilité que deux individus pris au hasard appartiennent à la même espèce. Il se calcule selon la formule suivante :

$$\lambda = \sum_{i=1}^s p_i^2$$

où $p_i = n_i / N_i$; avec n_i le nombre d'individus de l'espèce i , N_i le nombre total d'individus toutes espèces confondues, et S la richesse spécifique.

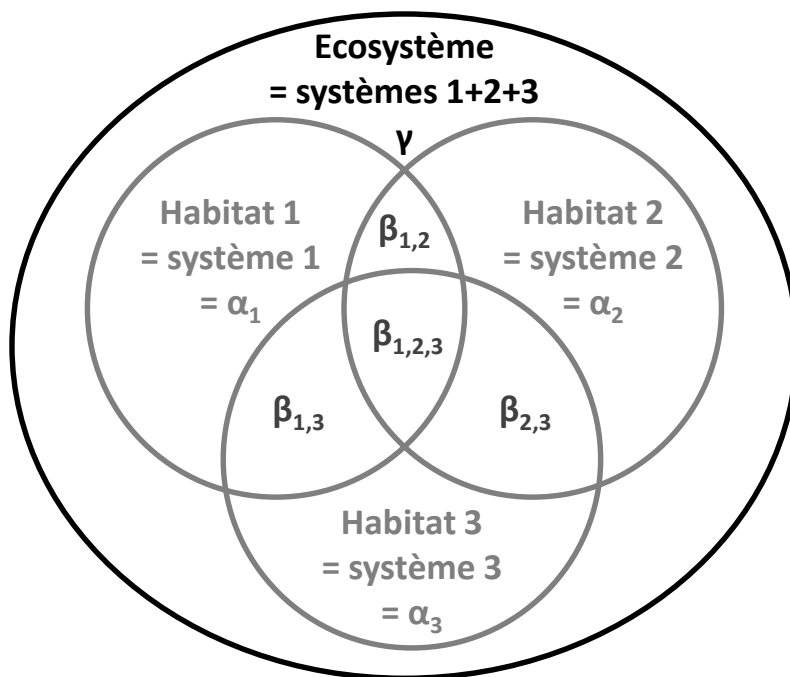


Figure II.12 : Représentation schématique des trois échelles de la diversité : α , β et γ .

La diversité β compare la diversité de plusieurs systèmes différents. La caractérisation de la diversité β nécessite une approche multivariée, basée sur l'utilisation d'indices de similarité/dissimilarité. Ces indices permettent de mesurer la ressemblance de la composition taxonomique des différents systèmes. Parmi les nombreux indices existants, deux sont couramment utilisés :

- (1) L'indice de similarité de Bray-Curtis (Bray & Curtis, 1957) est le plus utilisé car il ne dépend pas de l'unité de mesure, des taxons absents des deux échantillons. Il se mesure

avec la formule suivante : $BC = 100 - \left\{ 1 - \frac{\sum_{i=1}^p |y_{ij} - y_{ik}|}{\sum_{i=1}^p (y_{ij} + y_{ik})} \right\}$

- (2) L'indice de dissimilarité ou distance euclidienne se mesure suivant la formule suivante :

$$d_{jk} = \sqrt{\sum_{i=1}^p (y_{ij} - y_{ik})^2}$$

avec y_{ij} le nombre d'individus de l'espèce i dans la communauté j , et y_{ik} le nombre d'individus de l'espèce i dans la communauté k .

La diversité γ représente la diversité de l'écosystème entier, c'est-à-dire de l'ensemble des systèmes (**Figure II.12**). Les métriques utilisées sont les mêmes que pour la diversité α .

En milieu marin, ces indices de diversité sont surtout utilisés pour caractériser la diversité de la macrofaune benthique, souvent dans un but d'évaluation de la qualité des écosystèmes. Grâce à l'évolution des techniques de biologie moléculaire, les communautés procaryotes de l'environnement sont aujourd'hui accessibles. Les techniques d'acquisition de la diversité procaryote ne sont pas les mêmes que pour la macrofaune (génétique vs morphologique), *in fine*, les deux techniques permettent d'obtenir les espèces et leurs abondances pour la macrofaune, et les OTU et leurs abondances relatives pour les procaryotes. Il est donc possible d'appliquer les mesures des différentes échelles de mesure de la diversité décrites ici pour les communautés procaryotes (Hill *et al.*, 2003).

- **Approches adoptées dans cette étude**

Ce sont des techniques d'empreintes moléculaires qui ont été adoptées dans ce travail. L'ARISA a permis la caractérisation des communautés bactériennes, et la T-RFLP celle des communautés archéennes. Ces deux méthodes ont été utilisées de nombreuses fois en écologie microbienne (e.g. Fisher & Triplett, 1999 ; Ranjard *et al.*, 2000 ; Fuhrman *et al.*, 2008 ; Luna *et al.*, 2009 ; Collins *et al.*, 2010 ; Jami *et al.*, 2014). L'ARISA n'a pas été appliquée pour l'étude de communautés archéennes car certains taxons archéens n'ont pas d'ITS ; cette méthode n'est donc pas la mieux adaptée à l'étude des communautés archéennes. En revanche, elle apparaît comme étant la mieux adaptée à discriminer les différents taxons bactériens par rapport à la T-RFLP, comme l'a montré une étude de comparaison des deux techniques (Danovaro *et al.*, 2006).

III.7.c. Analyse de la composition des communautés bactériennes par ARISA (Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis)

La composition des communautés bactériennes a été déterminée pour les sédiments et les organismes prélevés pour les expérimentations n°1 et n°4, mais aussi sur les sédiments des carottes prélevées dans la vasière Ouest-Gironde. Seule l'étape de dosage de l'ADN diffère avec d'une part l'utilisation d'une technique de spectrophotométrie et d'autre part l'utilisation d'une technique de spectrofluorimétrie.

- **Extraction et purification de l'ADN total**

- i. Du sédiment*

L'extraction de l'ADN total a été réalisée à partir de 700 μ L d'échantillon conservé à -80°C et décongelé. L'ADN total a été extrait et purifié en couplant une méthode de broyage mécanique par « bead beating » en utilisant un broyeur FastPrep (2×30 sec à $5,5 \text{ m.s}^{-1}$) et des tubes contenant une

sphère de verre ainsi que des sphères en silice et en céramique (FastPrep Automated Homogenizer et Lysing Matrix E, MP Biomedicals, Illkrich, France), avec une méthode issue du kit d'extraction-purification PowerSoil® DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, Inc., Carlsbad, CA, USA) contenant différentes solutions permettant de purifier l'ADN total du sédiment, des protéines et des acides humiques. Enfin, une étape d'élution sur colonne avec de l'eau ultra-pure a permis d'obtenir une solution pure d'ADN total. Ces différentes étapes sont schématisées sur la **figure II.13**.

ii. *De Melinna palmata*

L'extraction de l'ADN total a été réalisée à partir de 700 µL d'échantillon décongelé. L'ADN total a été extrait et purifié en couplant une méthode de broyage mécanique par « bead beating » en utilisant un broyeur FastPrep (40 sec à 6 m.s⁻¹) et des tubes contenant une sphère de zirconium et des paillettes de grenat (FastPrep Automated Homogenizer et Lysing Matrix A, MP Biomedicals, Illkrich, France), avec une méthode issue du kit d'extraction-purification QIAamp DNA mini kit (QIAGEN, Courtaboeuf, France) contenant différentes solutions permettant de purifier l'ADN total des tissus et des protéines. Enfin, une étape d'élution sur colonne avec de l'eau ultra-pure a permis d'obtenir une solution pure d'ADN total. Ces différentes étapes sont schématisées sur la **figure II.13**.

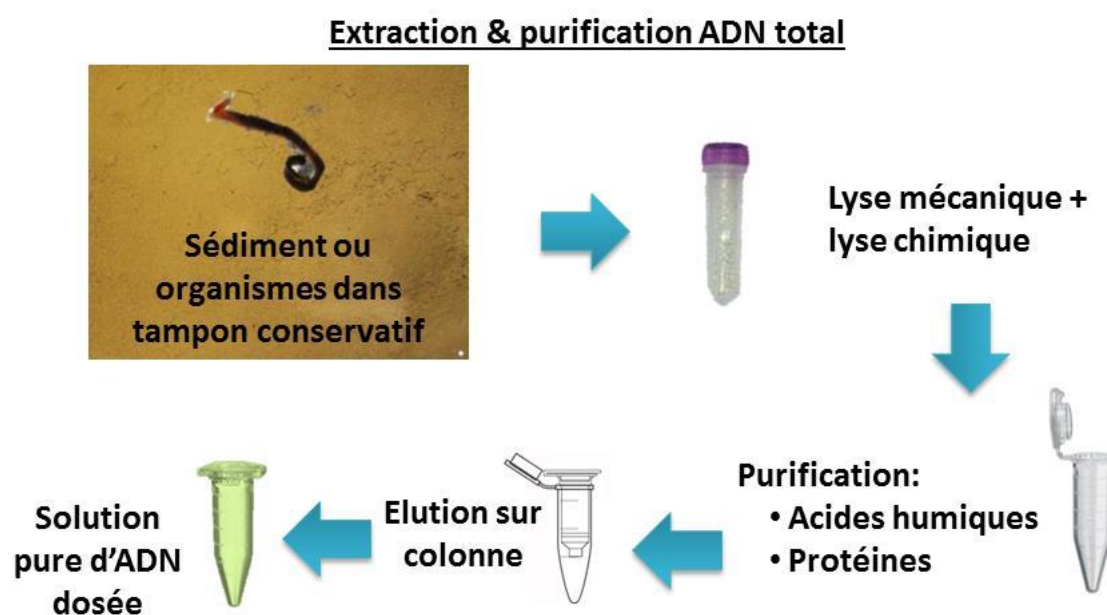


Figure II.13 : Protocole expérimental d'extraction et de purification de l'ADN total du sédiment ou des organismes.

• Dosage de l'ADN

i. *Par spectrophotométrie*

Un volume de 2 µL de solution d'ADN extrait et purifié est utilisé pour doser la quantité d'ADN total de l'échantillon. Cette étape permet à la fois de calculer un rendement d'extraction, mais

aussi de poursuivre les différentes étapes de l'analyse à partir d'une quantité fixée d'ADN (10 ng), et ce pour l'ensemble des échantillons traités. Les 2 μL de solution d'ADN sont déposés sur une microplaque, puis la mesure de la concentration d'ADN se fait à l'aide d'un spectrophotomètre (Epoch Microplate Spectrophotometer, Biotek instruments), qui mesure l'absorbance de l'échantillon à 260 nm et à 280 nm. L'absorbance à 260 nm permet à l'appareil de calculer la concentration en $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ à partir de la loi de Beer Lambert : $A = \varepsilon \times l \times C$ où A est l'absorbance, ε est le coefficient d'absorption moléculaire en $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ qui est de $6200 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ pour de l'ADN double brin, l est la longueur du trajet optique qui est de 0,5 cm dans le cas de notre spectrophotomètre EPOCH. Enfin, C est la concentration. De manière générale, pour $l=1\text{cm}$, une unité d'absorbance correspond à $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ à 260 nm. L'absorbance à 280 nm permet de calculer le ratio d'absorbance 260/280, qui permet de déterminer la pureté de l'ADN vis-à-vis des protéines, plutôt utilisé dans le cas de dosage d'ADN eucaryote.

L'utilisation de cet appareil ne nécessite pas de calibration avant chaque mesure. En revanche, une solution standard d'ADN de thymus de veau à $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (Sigma Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) a été diluée pour effectuer une gamme et vérifier la réponse de l'appareil. Un blanc d'eau ultra-pure (utilisée pour l'élution de l'ADN) a quant à lui été passé avant chaque mesure.

ii. Par spectrofluorimétrie

Un colorant fluorescent, le SYBR® Green I (Molecular Probes, Invitrogen, Cergy Pontoise, France) est mélangé à la solution d'ADN. Ce fluorochrome a la propriété de se fixer à l'ADN double brin et d'émettre à 522 nm pour une longueur d'onde d'excitation de 492 nm. Cette méthode nécessite l'obtention préalable d'une courbe d'étalonnage, effectuée avant chaque mesure à l'aide d'une solution standard d'ADN de thymus de veau à $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (Sigma Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France)

Contrairement à l'étude expérimentale, un spectrofluorimètre (LS55, Perkin Elmer, Courtaboeuf, France) couplé à du SYBR® Green I (Molecular Probes, Invitrogen, Cergy Pontoise, France) et à une solution standard d'ADN de thymus de veau à $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (Sigma Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) a été utilisé pour le dosage de l'ADN issu du sédiment de la vasière Ouest-Gironde.

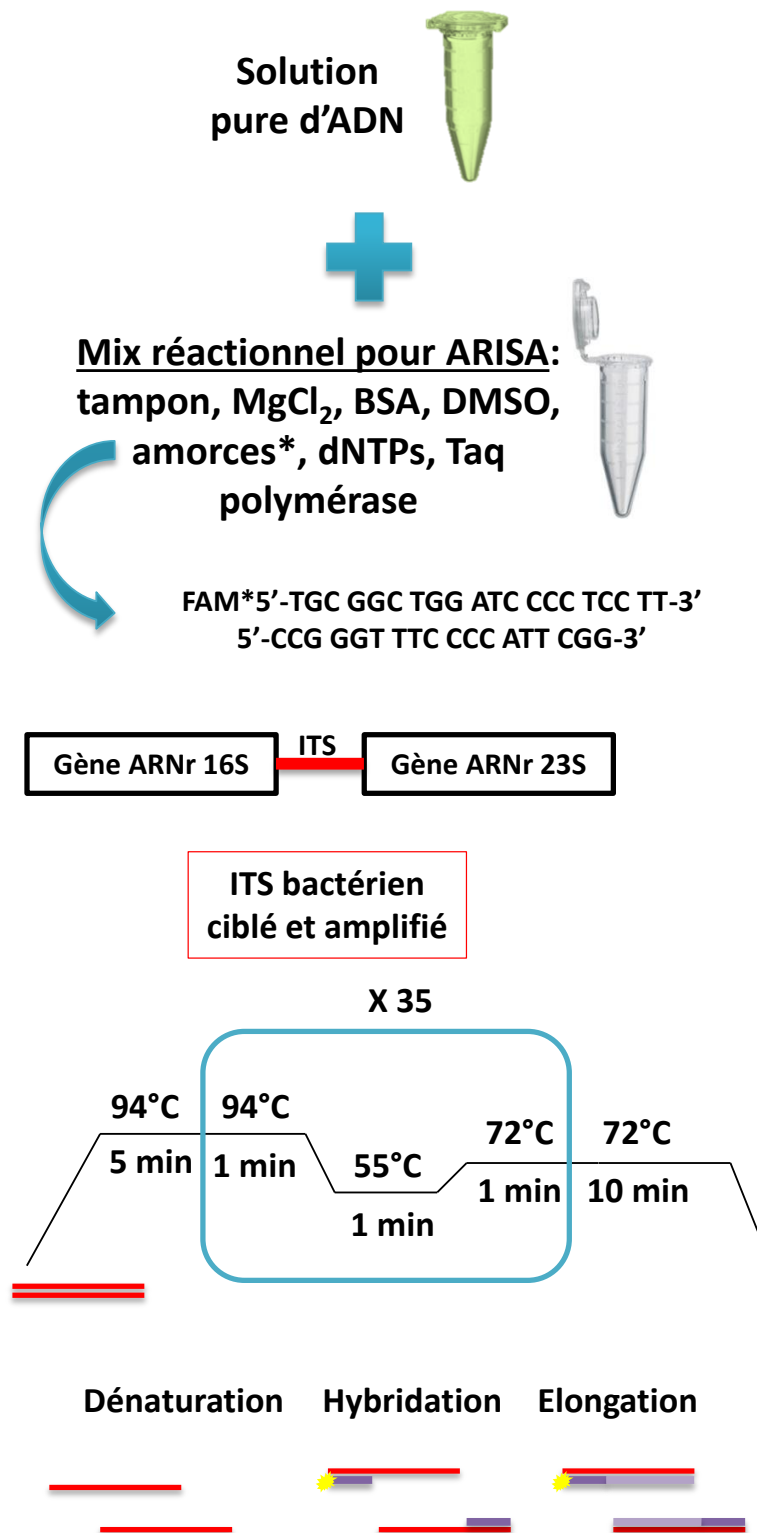
iii. Bilan des deux méthodes utilisées

La méthode par spectrophotométrie a été utilisée pour doser l'ensemble de l'ADN extrait des sédiments et individus de la partie expérimentale de cette thèse. La méthode par spectrofluorimétrie a été utilisée pour les sédiments de la vasière Ouest-Gironde. Ces deux méthodes permettent d'obtenir une valeur précise de la concentration d'ADN permettant de poursuivre les analyses comme souhaité à partir de 10 ng.

- **Amplification de l'intergène ADN_r 16S-23S**

L'amplification par PCR de l'espace intergénique ADN_r 16S-23S a été effectuée en utilisant les amorces bactériennes universelles marquées à l'extrémité 5' avec un fluorochrome FAM : S-D-Bact-1522-B-S-20 (5'-TGC GGC TGG ATC CCC TCC TT-3') et L-D-Bact-132-a-A-18 primers (5'-CCG GGT TTC CCC ATT CGG-3') (Normand *et al.*, 1996). Le mélange réactionnel final (25 µL) était constitué de 1X de tampon PCR (Promega, Charbonnières, France), 1.5 mM de MgCl₂, 0.3 mg mL⁻¹ de BSA (bovine serum albumine), 5 % de DMSO, 200 µM de chaque deoxynucleoside triphosphate (Promega, Charbonnières, France), 0.5 µM de chaque amorce (Invitrogen, Cergy Pontoise, France), 0.25 U de Taq polymérase (Promega) et de 10 ng de matrice d'ADN à 1 ng.µL⁻¹. L'amplification a été réalisée à l'aide d'un thermocycleur (Eppendorf AG, France). Après la dénaturation initiale à 94°C pendant 5 min, 35 cycles de dénaturation (94°C, 1 min), hybridation (55°C, 1 min) et d'élongation (72°C, 1 min) ont été réalisés, suivis d'une phase d'élongation finale (72°C, 10 min). Pour chaque échantillon d'ADN, des triplicats d'amplification ont été effectués à partir de 3×10 ng de matrice d'ADN. La démarche expérimentale est schématisée sur la **figure II.14**.

Amplification intergène 16S-23S bactérien



=> Obtention d'ITS de tailles différentes

Figure II.14 : Protocole expérimental de l'amplification de l'ITS (Intergenic Transcribed Spacer) bactérien.

• Purification de l'ADN bactérien amplifié

Directement après l'amplification, les trois produits d'amplification ont été rassemblés puis purifiés afin d'éliminer les différentes molécules ajoutées (amorces, dNTP...) avec le mélange réactionnel de la PCR. Cette étape a été réalisée à l'aide du kit QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN, Courtaboeuf, France) contenant des solutions de lavage des sels ajoutés pour l'amplification et une colonne d'élution pour obtenir une solution pure d'ADN bactérien (**Figure II.15**). Une fois les produits d'amplification purifiés, l'ADN bactérien a été quantifié par spectrophotométrie ou spectrofluorimétrie comme décrit précédemment.

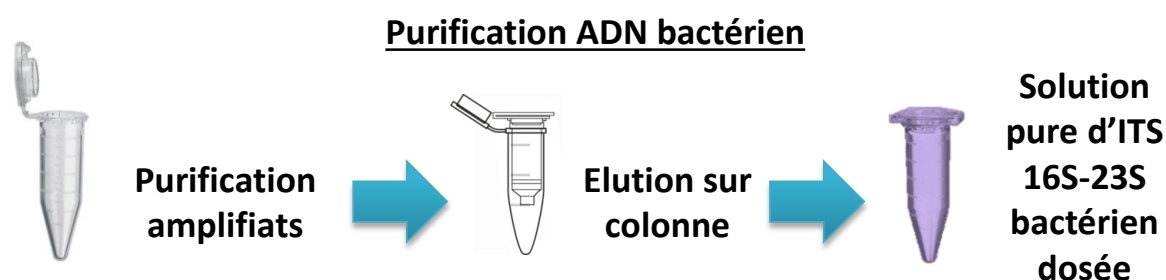


Figure II.15 : Protocole expérimental de purification de l'ADN bactérien.

• Electrophorèse capillaire

Il s'agit de la dernière étape de l'ARISA, qui permet de discriminer les OTU (*Operational taxonomic Units*), et donc d'obtenir l'empreinte moléculaire de la communauté.

Lors de l'amplification, des amorces marquées avec un fluorochrome ont été utilisées, l'ADN amplifié est donc marqué par ce fluorochrome. L'ADN marqué est injecté dans un réseau de capillaires remplis de gel d'agarose (un capillaire par échantillon). Grâce à un courant électrique et à la charge négative de l'ADN, ce dernier migre le long du capillaire et passe devant un fluorimètre qui détecte l'amorce marquée par le fluorochrome : le temps de migration et l'intensité de fluorescence sont enregistrés. On obtient donc un électrophérogramme ou arisogramme, où le nombre de pics correspond à la richesse en OTU, les différentes tailles donnent la composition en OTU, et l'intensité de fluorescence donne l'abondance relative de chaque OTU.

Le produit d'amplification (1,5 μL) ajusté par dilution à 10 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ a été mélangé à 0,1 μL de standard interne GeneScan 1200 LIZ (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France) et à 10 μL d'Hi-Di formamide (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France). Ce mélange a été dénaturé 4 min à 94°C et les fragments ont été discriminés selon leur taille grâce au séquenceur ABI3730XL (Capillary Genetic Analyser, Applied Biosystems Ltd, Courtaboeuf, France) à la Plateforme Genome-Transcriptome Pierroton (INRA, Bordeaux, France).

Les électrophorégrammes obtenus par ARISA ont été analysés avec le logiciel Peak Scanner (Applied Biosystems). Les pics inférieurs à 200 pb et supérieurs à 1200 pb ont été supprimés, car considérés comme du bruit de fond. Ensuite, un « *optimal divisor* » (Od) a été calculé, permettant d'enlever le bruit de fond de fluorescence entre 200 et 1200 pb et entre 35 et 600 pb, selon Osborne *et al.* (2006). Les pics contribuant à moins de 0,1 % (c'est-à-dire l'Od) de l'ADN amplifié total (déterminé par l'intensité de fluorescence relative) ont été éliminés car impossibles à distinguer de la ligne de base. Les profils ont ensuite été alignés selon l'algorithme « *interactive binner* » (Ramette, 2009 - <http://www.ecology-research.com>) sur le logiciel R (<http://cran.r-project.org>). Ceci permet d'éliminer les décalages de pics à plus ou moins une base. On obtient alors une matrice d'abondance relative (fluorescence) des différents ITS représentant les OTU (*Operational Taxonomic Units*). L'ensemble de la démarche est présentée sur la **figure II.16**.

Les ARISA issues des sédiments de la vasière Ouest-Gironde ont été effectuées par Guillaume Meisterhans dans le cadre de sa thèse (Meisterhans, 2012).

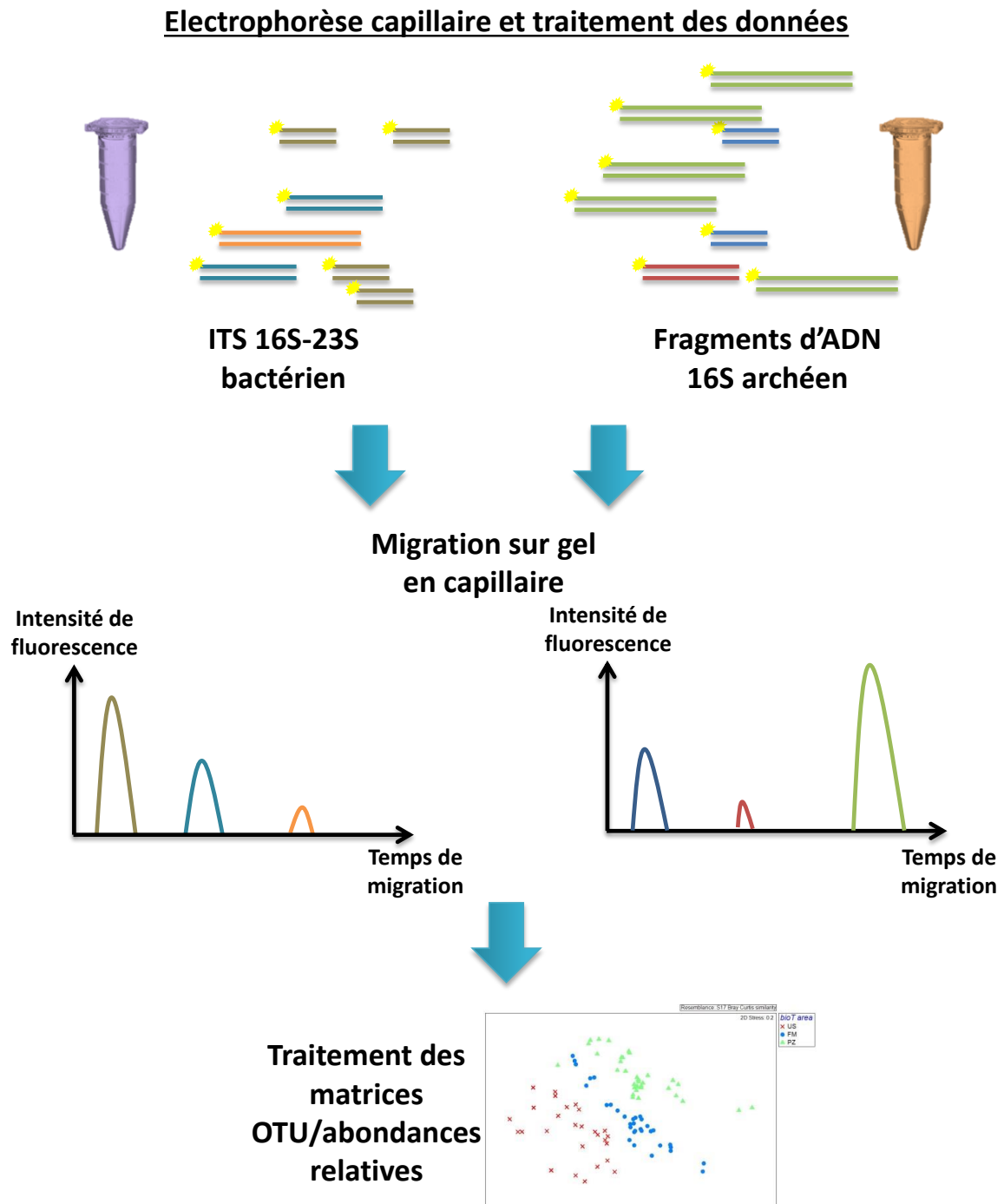


Figure II.16 : Protocole expérimental de l'ARISA et de la T-RFLP, des solutions d'ADN bactérien et archéen pures au traitement des matrices OTU/abondances relatives.

III.7.d. Composition des communautés archéennes par Terminal-Restriction Length Polymorphism (T-RFLP)

Les communautés archéennes des différentes zones de bioturbation, des tubes et des individus de *M. palmata* mais aussi de la vasière Ouest-Gironde ont été analysées par T-RFLP (Terminal-Restriction Length Polymorphism).

- **Amplification de l'ADNr16S archéen**

Cette amplification a été effectuée selon le protocole de Gantner *et al.* (2011), à partir de la même solution d'ADN total extrait et purifié pour l'ARISA, comme décrit dans le paragraphe précédent. Des amorces universelles archéennes ont été utilisées : 340F 5'-CCC TAY GGG GYG CAS CAG-3' marqué avec un fluorochrome FAM en 5', 1000R 5'-GGC CAT GCA CYW CYT CTC-3'. Le mélange réactionnel final (25 µL) était constitué de 1X de tampon PCR (Promega, Charbonnières, France), 2 mM de MgCl₂, 0.3 mg mL⁻¹ de BSA (bovine serum albumine), 0,8 mM de chaque deoxynucleoside triphosphate (Invitrogen, Cergy Pontoise, France), 0.5 µM de chaque amorce (Promega, Charbonnières, France), 0.8 U de Taq polymérase (Promega) et de 10 ng de matrice d'ADN à 1 ng.µL⁻¹. L'amplification a été réalisée à l'aide d'un thermocycleur (Eppendorf AG, France). Après la dénaturation initiale à 98°C pendant 2 min, 30 cycles de dénaturation (95°C, 30 min), d'hybridation (57°C, 30 sec) et d'élongation (72°C, 90 sec) ont été réalisés, suivis d'une phase d'élongation finale (72°C, 7 min). Pour chaque échantillon d'ADN, des triplicats d'amplification ont été effectués à partir de 3×10 ng de matrice d'ADN. Le schéma de la démarche expérimentale est présenté sur la **figure II.17**.

- **Restriction enzymatique des fragments d'ADNr 16S archéens amplifiés**

Cette étape est spécifique de la T-RFLP et utilise le polymorphisme de séquence d'un fragment d'ADN pour créer un polymorphisme de taille en coupant ce fragment d'ADN au niveau d'une séquence précise définie par le choix d'une enzyme de restriction.

Chacun des réplicats d'amplification a été traité séparément afin d'avoir des triplicats de restriction enzymatique. L'enzyme de restriction *AluI* (Promega, Charbonnières-les-bains, France), qui a comme motif de restriction AG▼CT sur un brin, et TC▼GA sur le brin complémentaire, a été utilisée d'après Luna *et al.* (2009). Le volume réactionnel (20 µl) était composé lorsque cela était possible de 50 ng d'ADN amplifié, sinon la quantité la plus élevée possible d'ADN, mais aussi de tampon, de BSA acétylée et d'enzyme *AluI*. La digestion s'est faite à 37°C pendant 4 h, puis a été stoppée à 65°C pendant 20 min (**Figure II.18**).

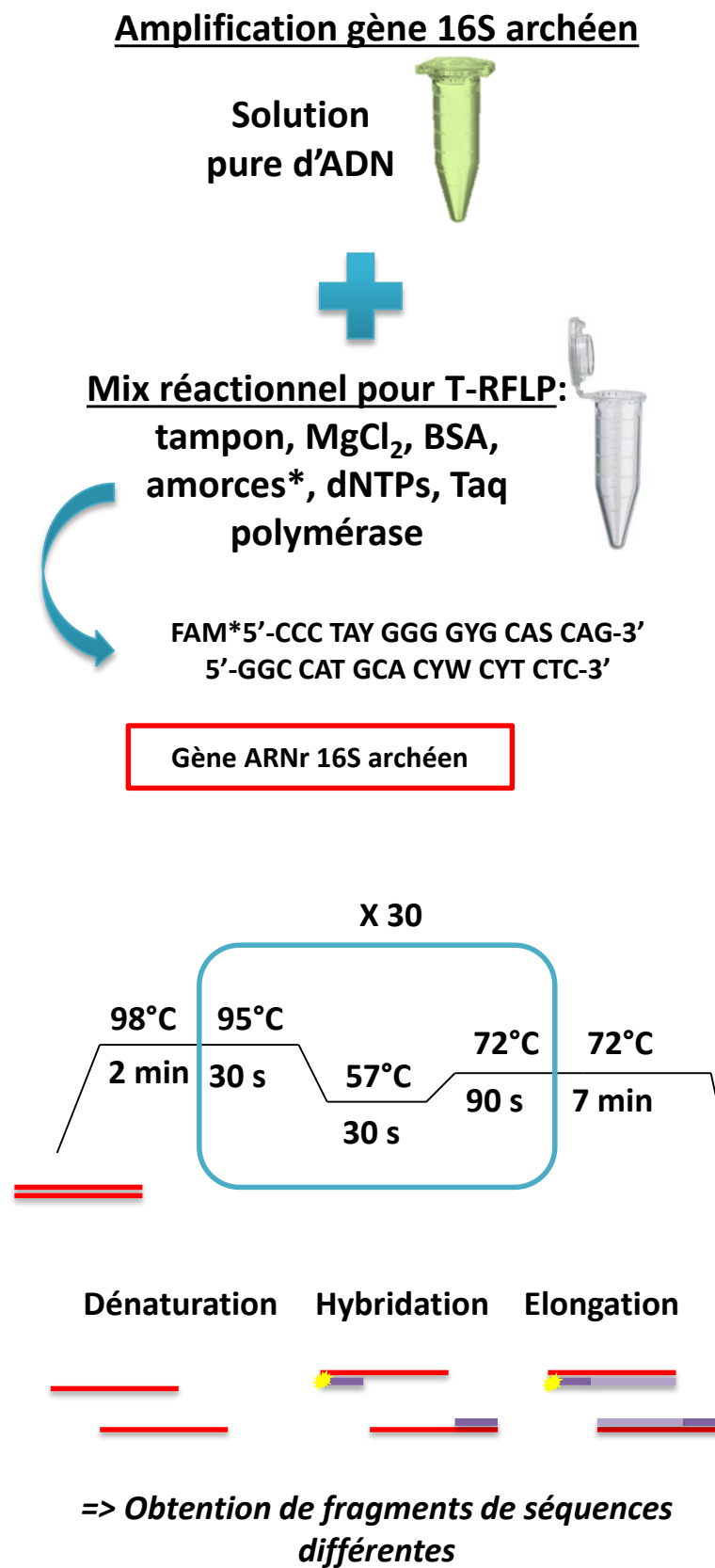
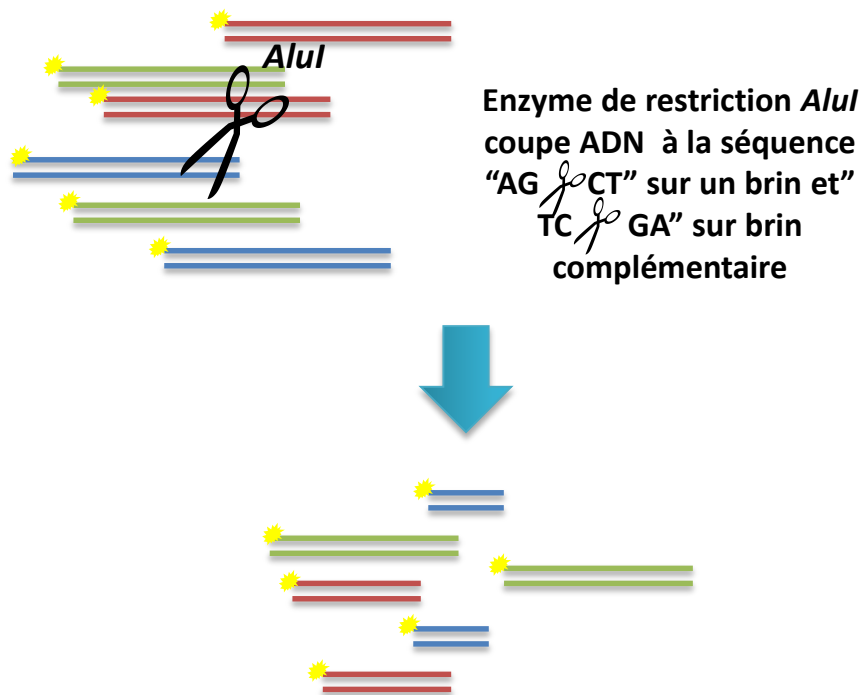


Figure II.17 : Protocole expérimental d'amplification de l'ADNr 16S archéen.

Restriction enzymatique



=> Obtention de fragments de tailles différentes

Figure II.18 : Protocole expérimental de la restriction enzymatique de l'ADN archéen avec l'enzyme de restriction *AluI*.

• Purification de l'ADNr 16S archéen amplifié

Directement après l'amplification, les trois produits d'amplification ont ensuite été rassemblés puis purifiés à l'aide du kit QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN, Courtaboeuf, France), pour éliminer les différentes molécules ajoutées dans le mélange réactionnel de PCR (**Figure II.19**). Un autre kit de purification est nécessaire par rapport à l'ADN bactérien car les fragments obtenus sont de plus petite taille. Une fois les produits d'amplification purifiés, l'ADN bactérien a été quantifié par spectrophotométrie ou spectrofluorimétrie comme décrit précédemment.

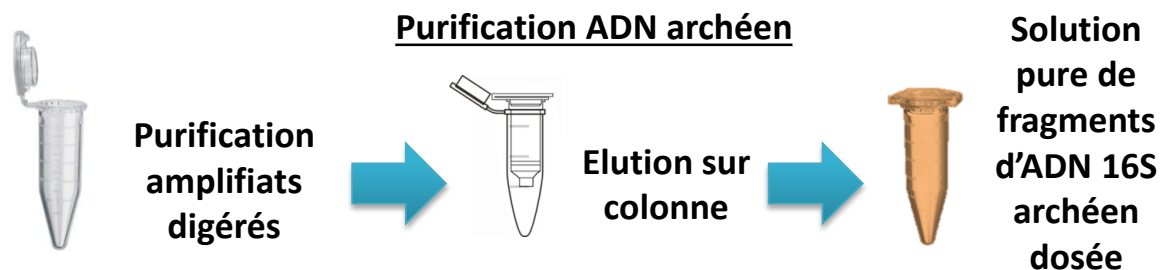


Figure II.19 : Protocole expérimental de purification de l'ADNr 16S archéen amplifié.

- **Electrophorèse capillaire**

La restriction enzymatique ayant permis d'obtenir des fragments de taille différente selon les OTU, le principe est le même que pour l'ARISA, avec une discrimination des OTU en fonction de la taille des fragments. En revanche, les fragments découpés étant plus petits que les ITS bactériens, le marqueur de taille est différent. Il s'agit dans le cas de la T-RFLP de LIZ 600 (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France). Le reste du protocole reste le même, comme cela est synthétisé sur la **figure II.16**.

III.7.e. Traitement des électrophorégrammes

Les électrophorégrammes obtenus par ARISA et T-RFLP ont été analysés avec le logiciel Peak Scanner (Applied Biosystems). Les pics inférieurs à 200 pb et supérieurs à 1200 pb pour l'ARISA et les pics inférieurs à 35 pb et supérieurs à 600 pb pour la T-RFLP ont été supprimés, car considérés comme du bruit de fond. Ensuite, un « *optimal divisor* » (Od) a été calculé, permettant d'enlever le bruit de fond de fluorescence entre 200 et 1200 pb et entre 35 et 600 pb, selon Osborne *et al.* (2006). Les pics contribuant à moins de 0,1 % (c'est-à-dire l'Od) de l'ADN amplifié total (déterminé par l'intensité de fluorescence relative) ont été éliminés car impossibles à distinguer de la ligne de base. Les profils ont ensuite été alignés selon l'algorithme « *interactive binner* » (Ramette, 2009 - <http://www.ecology-research.com>) sur le logiciel R (<http://cran.r-project.org>). Ceci permet d'éliminer les décalages de pics à plus ou moins une base. On obtient alors une matrice d'abondance relative (fluorescence) des différents ITS représentant les OTU. L'ensemble de la démarche est présentée sur la **figure II.16**.

III.7.f. Abondances procaryotes

- **Cytométrie en flux**

La cytométrie en flux est basée sur la fluorescence des cellules marquées au SYBR® Green, après excitation à 488 nm. Le SYBR® Green s'intercale entre les bases nucléotidiques, ce qui les rend fluorescentes. La distinction des cellules procaryotes se fait grâce à leur propriété de diffusion du faisceau lumineux à angle droit due à leur taille, mais aussi grâce à leur fluorescence verte (FL1) mesurée à 530 ± 30 nm.

La première étape correspond à la désorption des cellules procaryotes du sédiment, selon le protocole modifié de Duhamel & Jacquet (2006). Pour cela, l'échantillon de sédiment a été mélangé à du Tween 80 (concentration finale de 0,5%) et à du pyrophosphate de sodium (concentration finale de 0,1%). Ce mélange a été agité délicatement 30 min à 720 rpm puis passé 20 min dans un bain à ultrasons. La fraction contenant les cellules procaryotes a ensuite été purifiée par migration sur gradient de densité Gentodenz ($1,310 \text{ g.mL}^{-1}$) (Amalfatino & Fazi, 2008). Une fois récupérée, la fraction

contenant les cellules a été stockée dans une solution à 3,7% de formaldéhyde, puis stockée à -80°C jusqu'aux analyses. Avant passage dans le cytomètre en flux, les fractions ont été diluées (1 : 100 v : v) dans de l'eau de mer artificielle filtrée sur 0,22 µm, puis colorées pendant 10 min avec du SYBR® Green I pour une concentration de 50 µL.mL⁻¹ (Molecular Probes, Invitrogen, Cergy Pontoise, France). Un standard interne constitué d'une suspension de billes fluorescentes de 0,97 µm de diamètre a été passé avant chaque échantillon à faible flux, 10 µL.min⁻¹, pour avoir un nombre d'événements inférieur à 500 par seconde (Amalfitano & Fazi, 2008).

Le logiciel CellQuest (Becton, Dickinson and company, Franklin lakes, NJ USA) a été utilisé pour l'acquisition des données. Il fournit un nombre d'événements par minute, c'est-à-dire un nombre de cellules procaryotes par minute. Ce comptage a ensuite été normalisé par rapport au flux du cytomètre, puis ramené au volume de sédiment considéré initialement.

Cette technique de numération a été utilisée pour déterminer les abondances de cellules procaryotes dans les sédiments de la vasière Ouest-Gironde. Elles ont été effectuées à la *Plateforme Cytométrie-Imagerie* (Observatoire Océanologique de Banyuls-sur-Mer) par Guillaume Meisterhans dans le cadre de sa thèse (Meisterhans, 2012).

- **PCR quantitative en temps réels (qPCR)**

La qPCR permet la quantification du nombre de copies d'ADN en même temps que le fragment est amplifié, grâce à l'utilisation d'un fluorochrome tel que le SYBR Green qui ne s'intercale et ne fluoresce seulement qu'entre une séquence double brin. La fluorescence est mesurée à chaque cycle et est fonction de la quantité de copies produites. Lorsque le cycle seuil (Ct) est obtenu, c'est-à-dire lorsque la fluorescence est plus élevée que le bruit de fond pendant la phase exponentielle de l'amplification, la concentration d'ADN est dès lors en relation avec le nombre de cycles. Grâce à une courbe standard d'étalonnage réalisée en triplicats pour chaque plaque d'échantillon passée, la quantification est alors possible.

La première étape a consisté à préparer ce standard. Pour cela, un fragment d'ADN a été inséré dans un vecteur, le plasmide pGEM®-T (Promega, Charbonnières, France). Une fois la ligation de l'insert dans le plasmide effectuée (incubation une heure à température ambiante puis 12 h à 4°C), a suivi l'étape de transformation bactérienne. Le mélange de ligation a été mis en présence de bactéries, des *Escherichia coli* thermo-compétentes JM 109 (Promega, Charbonnières, France) : 1 µL du mélange de ligation a été mélangé à 50 µL de bactéries. Le tout a été mis à incuber 20 min dans la glace, puis 45 sec à 42°C pour faire un choc thermique, ce qui fluidifie les membranes des bactéries et permet l'insertion des plasmides. Ensuite, pour solidifier les membranes, le mélange a été incubé 2 min dans la glace. Enfin, du milieu de culture liquide a été ajouté et l'ensemble a été placé 1 h à 37°C, puis étalé sur milieu solide. La culture a été placée à 37°C pendant 12 h. Une dizaine de colonies ont ensuite été récupérées et remises en culture, cette fois dans un milieu liquide, toujours à 37°C. Une amplification par PCR a été réalisée à partir de 5 µL de culture, puis une migration

électrophorétique sur gel d'agarose a été effectuée pour vérifier que le fragment a bien été intégré. Cette étape de vérification validée, le plasmide a été extrait et purifié par lyse alcaline (Maniatis *et al.*, 1982). Cet ADN extrait et purifié en suspension dans de l'eau ultra-pure avec de la RNase a été dosé, la concentration a été transformée en nombre de copies par unité de volume, puis une gamme de dilution a été préparée : de 1×10^3 copies. μL^{-1} à 1×10^8 copies. μL^{-1} . Cette gamme a été utilisée pour réaliser des courbes standard à chaque passage d'échantillon.

L'abondance d'ADNr 16S bactérien des différentes zones de bioturbation et du tube de *M. palmata* a été déterminée par PCR quantitative en temps-réel (qPCR), selon López-Gutiérrez *et al.* (2004). La démarche expérimentale est la même que pour une PCR classique, sauf que la présence du colorant permet la visualisation en temps réel de l'amplification et la quantification du nombre de copies. Pour cela, des amorces bactériennes universelles ont été utilisées, ciblant le gène codant pour l'ARNr 16S : 341f (5'-CCT ACG GGA GGC AGC AG-3') et 515r (5'-ATT CCG CGG CTG GCA-3'). Le GoTaq® qPCR Master Mix (Promega, Charbinnières, France) a été utilisé. Le milieu réactionnel final (22 μL) était constitué de 1X de la solution GoTaq® qPCR Master Mix contenant les dNTPs, la *Taq* polymérase et un colorant dsDNA-binding dans du tampon. Mais aussi d'eau ultra-pure et des amorces à 3 μM . Une quantité de 5 ng de matrice d'ADN a été ajoutée à ce milieu réactionnel. L'amplification a été réalisée avec le Mx3000P QPCR System (Stratagene, Agilent Technologies, France). Après une phase de dénaturation initiale de 10 min à 95°C, 45 cycles de dénaturation (95°C, 30 sec), d'hybridation (50°C, 30 sec) et d'élongation (72°C, 30 sec) ont été effectués, suivis par 1 min à 95°C, 30 sec à 65°C, et 30 sec à 95°C. Cette quantification a été réalisée dans le cadre de la plateforme de biologie moléculaire de la Station Marine d'Arcachon (responsables. P. Gonzalez et C. Daffe).

• Bilan des deux méthodes

Ces deux techniques permettent d'approcher différemment l'abondance microbienne. La cytométrie en flux à l'avantage d'être rapide et automatisée en milieu liquide. Elle permet d'obtenir un nombre de cellules procaryotes par échantillon (Lemarchand *et al.*, 2001). Dans le cas du sédiment, elle s'avère moins rapide car nécessite une étape de désorption des biofilms bactériens associés aux particules (Danovaro *et al.*, 2001b). De plus, la distinction entre les abondances bactérienne et archéenne ne peut être obtenue. La PCR quantitative en temps réel est une approche moléculaire moins rapide et automatisée que la cytométrie en flux. Elle nécessite en effet l'extraction et la purification préalable de l'ADN. En revanche, même si dans notre étude nous avons ciblé le groupe des bactéries dans leur ensemble, cette technique rend possible la détermination de l'abondance d'un groupe taxonomique ou fonctionnel précis, grâce à l'utilisation d'amorces ciblées. La qPCR permet d'obtenir un nombre de gènes qui ne peut être extrapolé à un nombre d'individus comme pour la cytométrie. En effet, certains fragments d'ADN peuvent avoir plus ou moins d'affinité vis-à-vis des amorces sélectionnées, leur nombre de copies peut alors être sur- ou sous-estimé (Reysenbach *et al.*,

1992 ; Acinas *et al.*, 2005 ; Smith & Osborn, 2009), et un individu peut posséder plusieurs copies de l'opéron ciblé et donc son abondance est surestimée (Klappenbach *et al.*, 2000).

Ces deux approches, bien qu'étant utilisées ici dans le même objectif d'obtenir l'abondance bactérienne et procaryote, n'aboutissent pas au même type de résultats. Ces derniers ne sont donc pas comparables. Ceci ne cause pas de problème dans notre travail car chacune de ces deux techniques a été employée dans deux parties distinctes de la thèse où les abondances ne nécessitent pas d'être comparées entre elles.

III.7.g. Consommation biologique d'oxygène

- **Principe de la méthode**

La mesure de la concentration en oxygène est basée sur l'utilisation d'optodes mesurant la concentration en oxygène sans consommation de cet oxygène, méthode développée par Pyroscience (Allemagne). L'optode est une membrane sensible à l'oxygène, qui fluoresce de manière proportionnelle à la concentration en oxygène. Une fibre optique (SPFIB-BARE, PyroScience, GmbH, Allemagne) a été positionnée sur la paroi extérieure de l'incubateur, le faisceau dirigé sur l'optode pour détecter cette fluorescence, en prenant une mesure par seconde. Cette fibre optique était reliée à un datalogger qui récupère et interprète le signal de la fibre optique (Firesting O₂, PyroScience GmbH, Allemagne), lui-même relié à un ordinateur et piloté par le logiciel Firesting Logger pour suivre l'évolution de la concentration d'oxygène au cours du temps dans les incubateurs. Des incubateurs de 4 mL (OXVIAL4, PyroScience GmbH, Allemagne) avec l'optode collée à l'intérieur (sous forme d'une bandelette) ont été utilisés.

- **Dispositif expérimental**

Les incubateurs ont été placés dans un bac d'eau à $16,5 \pm 1^\circ\text{C}$, dans une pièce thermostatée et à l'obscurité, la même que celle où étaient placés les aquariums. De plus, pour que le logiciel puisse calculer la pression partielle d'oxygène, la pression atmosphérique a été rentrée dans le logiciel chaque journée de mesure. Enfin, les incubateurs ont été placés sur des agitateurs magnétiques afin d'homogénéiser constamment le sédiment pendant la mesure. Le montage mis en place est présenté sur la **figure II.20**.

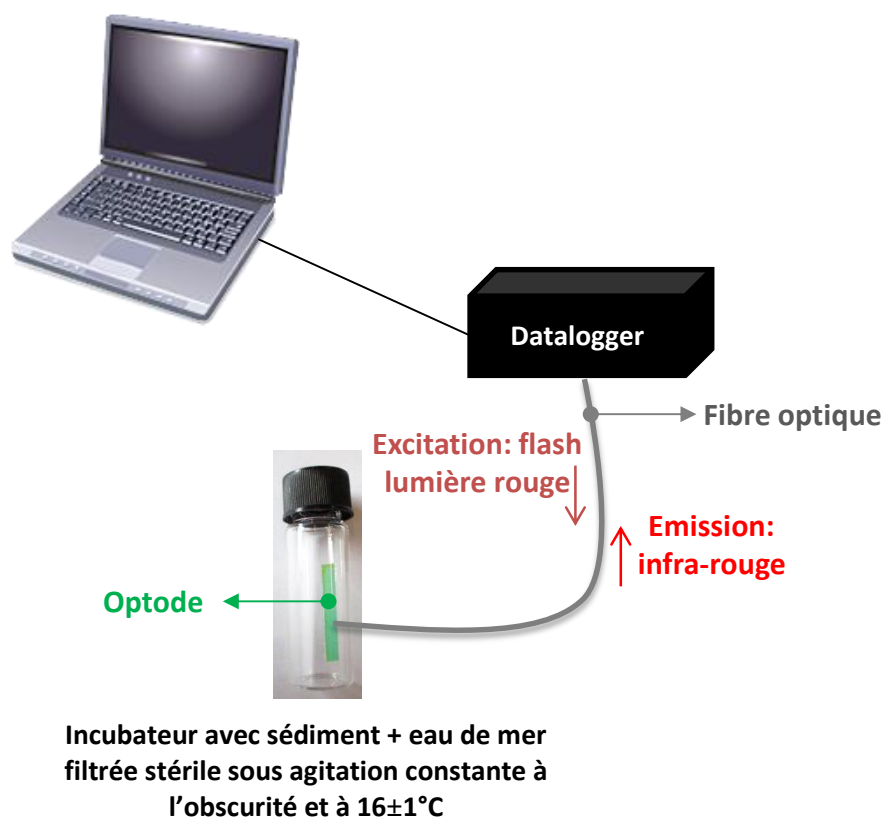


Figure II.20 : Dispositif expérimental de mesure de la consommation biologique d'oxygène à l'aide d'optodes.

- **Témoins de mesure**

Sachant que :

- (1) le sédiment prélevé provient de la couche oxicque ;
- (2) seuls quelques milligrammes sont nécessaires à la mesure ;
- (3) le sédiment est dès son dépôt dans l'incubateur sous agitation pendant environ 2-3 minutes en présence d'oxygène, avant même d'avoir ajouté l'eau pour compléter le volume, et donc avant d'avoir fermé l'incubateur, l'hypothèse de travail selon laquelle seule la consommation biologique est mesurée pendant l'incubation et pas la consommation biologique plus la consommation chimique a été émise. De plus, le sédiment ayant été défauné, il ne peut y avoir de consommation d'oxygène induite par de la macrofaune. Il s'agit donc d'une consommation biologique d'oxygène par les microorganismes et éventuellement par de la méiofaune ;

il s'agit de confirmer l'absence de consommation chimique. Pour cela du sédiment de surface a été prélevé, et divisé en trois : une partie a été traitée comme les échantillons, un autre aliquot a été inactivé par ajout de chlorure mercurique (HgCl_2), et un dernier a été inactivé par autoclavage (cf **Figure II.21**). La consommation d'oxygène des deux sédiments inactifs étant nulle, il en a été déduit

que la mesure de la diminution de la concentration d'oxygène observée pour du sédiment frais correspond uniquement à de la consommation biologique d'oxygène, sans consommation chimique. Les consommations d'oxygène calculées à partir des cinétiques de décroissance de la concentration d'oxygène correspondent donc à de la consommation biologique uniquement, aucune valeur de consommation chimique n'a été ôtée.

• Mesures des bioessais

Dans l'heure suivant les prélèvements, la consommation biologique d'oxygène d'un aliquot de 500 µl environ de sédiment a été mesurée. Parfois, la quantité de sédiment prélevé a été trop faible pour pouvoir effectuer cette mesure. Une fois les 500 µL placés dans l'incubateur sous agitation magnétique, de l'eau de mer filtrée sur 0,22 µm et stérilisée par autoclavage a été ajoutée pour remplir

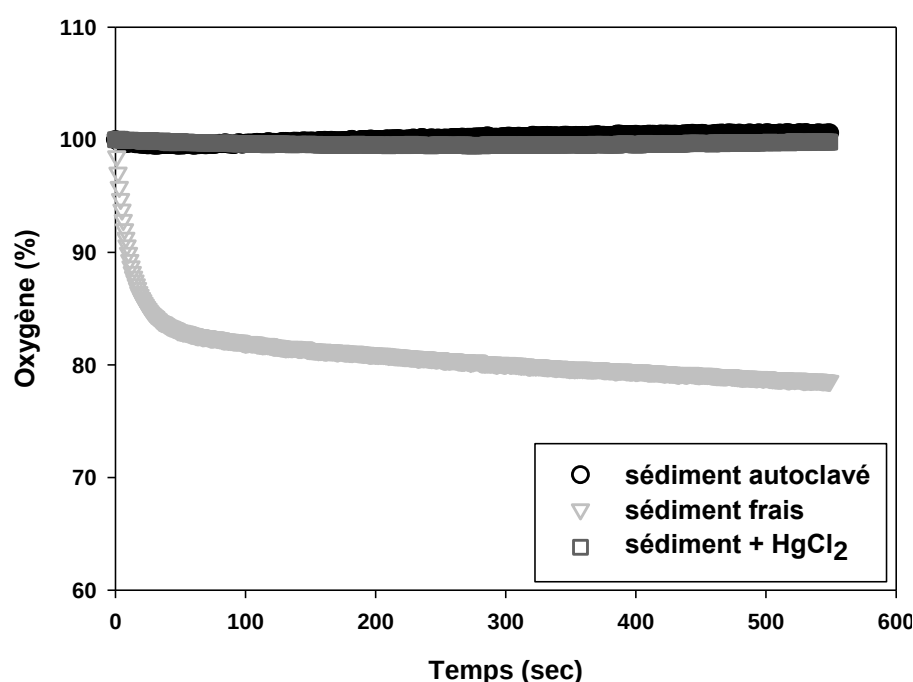


Figure II.21 : Exemple de cinétique de décroissance de l'oxygène de sédiment frais (gris clair), de sédiment avec du chlorure mercurique (gris foncé) et de sédiment autoclavé (noir).

complètement l'incubateur. La mesure (pourcentage d'air saturé) commençait au moment où l'incubateur était fermé et durait 15 minutes avec un pas d'une seconde, toujours sous agitation constante. A la fin, le sédiment a été récupéré puis rincé et lyophilisé pour avoir le poids sec de sédiment incubé.

En parallèle, d'autres aliquots de sédiment ont été prélevés puis autoclavés afin d'inactiver les communautés vivantes. Ce sédiment inactif biologiquement a servi de blanc de mesure.

Comme précédemment, le sédiment a été récupéré, rincé et lyophilisé une fois la mesure effectuée. Le sédiment autoclavé pour certains échantillons a permis de vérifier à chaque journée de mesure que la respiration du sédiment inactivé était bien nulle, comme mesuré pour les témoins de mesure.

- **Traitement des cinétiques obtenues**

A la fin des mesures, un fichier contenant une valeur de pourcentage de pression partielle d'oxygène (%a.s.) par seconde est obtenu. Ce pourcentage est transformé en concentration d'oxygène (en $\mu\text{mol.L}^{-1}$) grâce à l'équation suivante :

$$[O_2] = \frac{\%a.s.}{100} \times C_{100}(T, P, S)$$

où C_{100} est le coefficient de solubilité de l'oxygène, exprimé en $\mu\text{mol.L}^{-1}$ qui est fonction de la température (T), de la pression atmosphérique (P) et de la salinité (S).

Cette concentration est ensuite transformée en mg.L^{-1} grâce à l'équation suivante :

$$[O_2](\text{mg.L}^{-1}) = [O_2](\mu\text{mol.L}^{-1}) \times \frac{32}{1000}$$

Enfin, cette concentration est ramenée à la quantité d'oxygène présente dans le volume d'incubation, puis à la quantité de sédiment (en poids sec). A partir de ces valeurs en $\mu\text{gd}^{\circ}\text{O}_2.\text{gPS}^{-1}$, une courbe est tracée en fonction du temps d'incubation (**Figure II.22** en haut), permettant de choisir la pente maximale qui reflète les conditions initiales comme encadré sur la **figure II.22** en haut. Ensuite, la plage de valeurs correspondante est sélectionnée afin de garder le plus grand nombre de valeur, tout en restant dans la pente maximale linéaire initiale (**Figure II.22** en bas). La consommation biologique d'oxygène correspond enfin à cette pente maximale de décroissance de l'oxygène en fonction du temps, exprimée en $\mu\text{gO}_2.\text{g}^{-1}\text{PS}.\text{sec}^{-1}$.

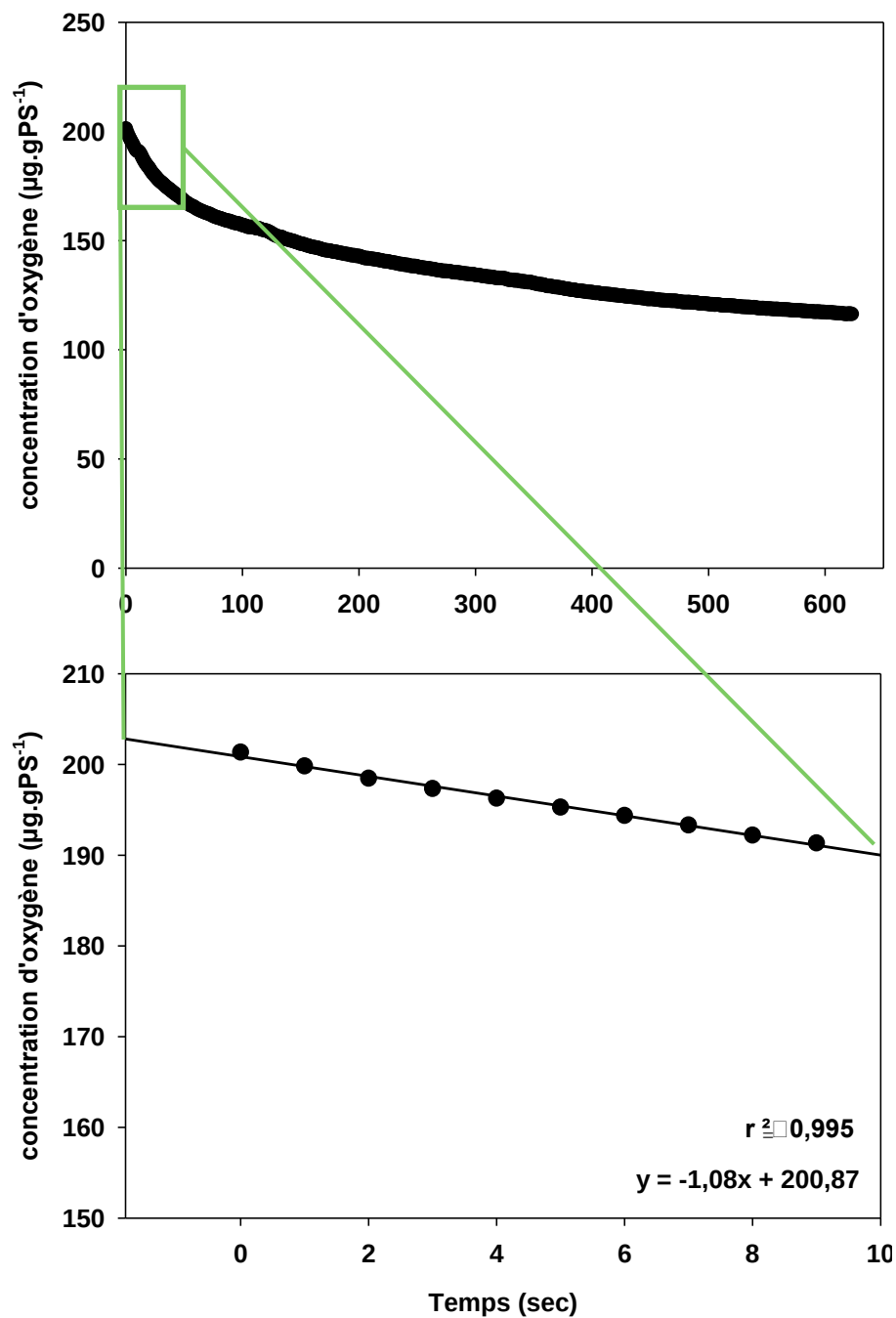


Figure II.22 : Exemple d'évolution de la concentration en oxygène mesurée à l'aide des optodes.

IV. Traitement des données et analyses statistiques

IV.1. Comportement, remaniement sédimentaire et bioirrigation

La modélisation du coefficient de bioirrigation a été effectuée sur le logiciel MatLab (MathWorks), grâce à un module développé par Pascal Lecroart.

L'effet des différents facteurs testés sur ces paramètres (densité de population, disponibilité de la matière organique...) a été testé par *multivariate permutational ANOVA* : PERMANOVA (Anderson, 2001 ; McArdle & Anderson, 2001), à partir des matrices de similarité de Bray-Curtis, via l'utilisation du logiciel PRIMER® v6.0 avec le supplément PERMANOVA+ (Clarke & Warwick, 2001 ; Anderson, 2006).

IV.2. Composition des communautés bactériennes

A partir de la matrice d'abondance relative des OTU obtenue, l'indice de diversité de Simpson a été calculé selon la formule suivante (Simpson, 1949) :

$$\lambda = \left(\sum \left(\frac{N_s}{N_T} \right)^2 \right)$$

où N_s est l'abondance relative d'un OTU et N_T le nombre d'OTU total.

Ensuite, les similarités de Bray-Curtis ont été calculées pour établir une matrice de ressemblance selon l'équation suivante (Bray & Curtis, 1957) :

$$BC = 100 \times \frac{1 - (\sum |OTU_{i,a} - OTU_{i,b}|)}{\sum (OTU_{i,a} + OTU_{i,b})}$$

avec $OTU_{i,a}$ l'abondance relative de l'OTU_i dans l'échantillon *a*, et $OTU_{i,b}$ l'abondance relative de l'OTU_i dans l'échantillon *b*, via l'utilisation du logiciel PRIMER® v6.0 avec le supplément PERMANOVA+ (Clarke & Warwick, 2001 ; Anderson, 2006). A partir de cette matrice, une MDS a été effectuée pour représenter la structure des communautés. Les effets de la bioturbation de *M. palmata* et de la disponibilité en matière organique ont ensuite été testés par *multivariate permutational ANOVA* : PERMANOVA (Anderson, 2001 ; McArdle & Anderson, 2001).

IV.3. Composition des communautés de macrofaune benthique

A partir de la matrice d'abondance, le même traitement a été effectué que pour la composition des communautés bactériennes. Pour la représentation des communautés dans la vasière Ouest Gironde, un cluster a été réalisé, toujours à l'aide du logiciel PRIMER® v6.0 avec le supplément PERMANOVA+ (Clarke & Warwick, 2001 ; Anderson, 2006).

IV.4. Paramètres sédimentaires, profondeur de pénétration de l'oxygène, abondance de l'ADNr 16S et consommation biologique d'oxygène

Les effets de la bioturbation de *M. palmata*, de la disponibilité et de la qualité de la matière organique et de la position dans la vasière Ouest Gironde sur les propriétés sédimentaires ont été testés par *multivariate permutational ANOVA* : PERMANOVA (Anderson, 2001 ; McArdle & Anderson, 2001), à partir des distances euclidiennes entre chaque échantillon pour les propriétés sédimentaires, et à partir des similarités de Bray-Curtis pour les abondances et la consommation biologique d'oxygène.

V. Tests de mise en évidence des communautés archéennes des sédiments par T-RFLP

Le protocole de T-RFLP décrit dans Gantner *et al.* (2011), a été adapté et utilisé pour la caractérisation des communautés archéennes des sédiments du bassin d'Arcachon (Meisterhans, 2012). Des études ont signalé des problèmes d'amplification aspécifique en utilisant ce couple d'amorces (La Rivière, 2013). De notre côté, aucune amplification d'ADNr 16S archéen n'a pu être obtenue de manière reproductible. Plusieurs hypothèses peuvent être à l'origine de cette absence d'amplification :

- (1) Un problème lors de la phase d'extraction et de la purification de l'ADN total : mauvais rendement d'extraction (Smith & Osborn, 2008), présence d'inhibiteur(s) comme de l'éthanol ou des acides humiques dans l'éluât (Wilson, 1997, Schrader *et al.*, 2012).
- (2) Un problème de conservation de l'extrait d'ADN.
- (3) Une mauvaise concentration en chlorure de magnésium ($MgCl_2$) dans le mélange réactionnel : l'ion Mg^{2+} provenant du $MgCl_2$ est un cofacteur essentiel de la *Taq* polymérase. Une concentration trop élevée peut induire des amplifications aspécifiques, et une concentration trop faible à un mauvais fonctionnement de l'enzyme, et donc à de mauvaises amplifications (Wilson, 1997)
- (4) Une température d'hybridation trop élevée peut être à l'origine d'une mauvaise hybridation des amorces sur les fragments à amplifier (Wilson, 1997). Au contraire, une température trop faible ne permet pas une bonne spécificité d'hybridation, ce qui induit des amplifications aspécifiques.
- (5) Un problème au niveau des amorces ou des différents produits du mélange réactionnel.
- (6) L'absence ou la présence en trop faible abondance d'archées dans les échantillons.

La première hypothèse a pu être éliminée rapidement, étant donné que c'est à partir des mêmes éluâts d'ADN total extrait que les intergènes ADNr16S-23S bactériens ont été effectués et aucun problème d'amplification n'a été identifié. Mais la conservation a été supérieure à un an dans des congélateurs ayant subi des aléas électriques.

Les autres hypothèses ont été testées à partir d'échantillons où la présence d'archées avait préalablement été vérifiée, des contrôles positifs constitués d'ADN archéen acheté provenant de deux entreprises : *Halobacterium salinarum* et *Sulfolobus solfataricus* (DSMZ, Braunschweig, Allemagne pour un lot et LGC standards, Molsheim, France) ; un contrôle négatif constitué d'un mélange d'ADN bactérien de bivalves, et un témoin négatif constitué d'eau ultra-pure stérile, et ce avec deux jeux d'amorces 340F/1000R (Invitrogen, Cergy Pontoise pour le lot n°1, France ; Eurogentec, Angers, France pour le lot n°2). Lors d'une seule et unique amplification, ces échantillons, contrôle et le témoin négatif ont été testés avec différents mélanges réactionnels (**Tableau II.5.**), et à différentes

températures d'hybridation, sélectionnées en fonction des températures d'hybridation fournies pour chaque amorce.

Tableau II.5 : Composition des différents mélanges réactionnels préparés et des différentes températures d'hybridations testées pour amplifier l'ADNr 16S archéen. Les températures correspondent aux températures d'hybridation indiquées avec les certificats d'amorces

	Mélange réactionnel 1	Mélange réactionnel 2	Mélange réactionnel 3	Mélange réactionnel 4
Concentration MgCl₂ (mM)	1,5	1,5	2	2
Lot d'amorces	N°1	N°2	N°1	N°2
Température d'hybridation des amorces	340F : 52°C 1000R : 47°C	340F : 62°C 1000R : 58°C	340F : 52°C 1000R : 47°C	340F : 62°C 1000R : 58°C

Sur l'ensemble de la plaque (**Figure II.23**), la présence d'un signal après amplification a été testée sur 28 échantillons (avec un cercle creux sur le plan de plaque) par électrophorèse sur gel d'agarose (1% d'agarose dilué dans du TAE 1X). Tous les témoins et contrôles négatifs vérifiés étaient négatifs. Sur les 23 échantillons vérifiés restant, seuls cinq ont permis d'obtenir un signal après électrophorèse (avec un signe « + » sur le plan de plaque).

Comme observé avec nos échantillons, des amplifications aléatoires ont été obtenues, entre 53,6 et 59,2°C de température d'hybridation, validant la température moyenne de 57°C du protocole de base. De plus, c'est majoritairement avec le mélange réactionnel n°3 (« Mix 3 » sur le plan de plaque) que les amplifications ont fonctionné, c'est-à-dire avec le lot d'amorce utilisé habituellement et la concentration en MgCl₂ du protocole initial, 2 mM.

Il conviendrait, au vu de ces résultats, de tester à partir de lots de produits réactionnels et de contrôles neufs, chaque étape du protocole afin de comprendre comment et pourquoi nous avons pu obtenir à la fois des signaux positifs et négatifs dans des conditions similaires et simultanées, à l'échelle d'une plaque. Par manque de temps et de moyens, l'analyse des communautés archéennes par T-RFLP n'a pas pu être développée dans cette thèse.

Mix 1 Eau ○	Mix 2 eau	Mix 3 Eau ○	Mix 4 eau	Mix 1 Eau ○	Mix 2 eau	Mix 3 Eau ○	Mix 4 eau	Mix 1 Eau ○	Mix 2 eau	Mix 3 Eau ○	Mix 4 eau	Mix 3 eau	Mix 2 eau	Mix 1 Eau ○	Mix 4 eau	Mix 3 eau	Mix 2 eau	Mix 1 Eau ○	Mix 4 eau
Mix 1 ADN bact.	Mix 2 ADN bact.	Mix 3 ADN bact.	Mix 4 ADN bact.	Mix 1 ADN bact. ○	Mix 2 ADN bact.	Mix 3 ADN bact.	Mix 4 ADN bact.	Mix 1 ADN bact. ○	Mix 2 ADN bact.	Mix 3 ADN bact.	Mix 4 ADN bact.	Mix 3 ADN bact.	Mix 2 ADN bact.	Mix 1 ADN bact.	Mix 4 ADN bact.	Mix 3 ADN bact.	Mix 2 ADN bact.	Mix 1 ADN bact.	Mix 4 ADN bact. ○
Mix 1 H.S. n°1 ○	Mix 2 H.S. n°1	Mix 3 H.S. n°1 ○	Mix 4 H.S. n°1	Mix 1 H.S. n°1 ○	Mix 2 H.S. n°1 ○	Mix 3 H.S. n°1	Mix 4 H.S. n°1	Mix 1 H.S. n°1 ○	Mix 2 H.S. n°1 ○	Mix 3 H.S. n°1	Mix 4 H.S. n°1	Mix 3 H.S. n°1	Mix 2 H.S. n°1	Mix 1 H.S. n°1 ○	Mix 4 H.S. n°1	Mix 3 H.S. n°1	Mix 2 H.S. n°1	Mix 1 H.S. n°1 ○	Mix 4 H.S. n°1 ○
Mix 1 S.S. n°1 ○	Mix 2 S.S. n°1 ○	Mix 3 S.S. n°1 ○	Mix 4 S.S. n°1 ○	Mix 1 S.S. n°1 ○	Mix 2 S.S. n°1 ○	Mix 3 S.S. n°1 ○	Mix 4 S.S. n°1 ○	Mix 1 S.S. n°1 ○	Mix 2 S.S. n°1 ○	Mix 3 S.S. n°1 ○	Mix 4 S.S. n°1 ○	Mix 3 S.S. n°1 ○	Mix 2 S.S. n°1 ○	Mix 1 S.S. n°1 ○	Mix 4 S.S. n°1 ○	Mix 3 S.S. n°1 ○	Mix 2 S.S. n°1 ○	Mix 1 S.S. n°1 ○	Mix 4 S.S. n°1 ○
Mix 1 H.S. n°2 ○	Mix 2 H.S. n°2	Mix 3 H.S. n°2 ○	Mix 4 H.S. n°2	Mix 1 H.S. n°2 ○	Mix 2 H.S. n°2 ○	Mix 3 H.S. n°2 ○	Mix 4 H.S. n°2	Mix 1 H.S. n°2 ○	Mix 2 H.S. n°2 ○	Mix 3 H.S. n°2 ○	Mix 4 H.S. n°2	Mix 3 H.S. n°2 ○	Mix 2 H.S. n°2 ○	Mix 1 H.S. n°2 ○	Mix 4 H.S. n°2	Mix 3 H.S. n°2	Mix 2 H.S. n°2	Mix 1 H.S. n°2 ○	Mix 4 H.S. n°2
Mix 1 S.S. n°2 ○	Mix 2 S.S. n°2 ○	Mix 3 S.S. n°2	Mix 4 S.S. n°2	Mix 1 S.S. n°2	Mix 2 S.S. n°2	Mix 3 S.S. n°2	Mix 4 S.S. n°2	Mix 1 S.S. n°2	Mix 2 S.S. n°2	Mix 3 S.S. n°2	Mix 4 S.S. n°2	Mix 3 S.S. n°2 ○	Mix 2 S.S. n°2 ○	Mix 1 S.S. n°2 ○	Mix 4 S.S. n°2	Mix 3 S.S. n°2 ○	Mix 2 S.S. n°2 ○	Mix 1 S.S. n°2 ○	Mix 4 S.S. n°2
Mix 1 Échantillon ○	Mix 2 Échantillon ○	Mix 3 Échantillon ○	Mix 4 Échantillon ○	Mix 1 Échantillon	Mix 2 Échantillon	Mix 3 Échantillon ○	Mix 4 Échantillon	Mix 1 Échantillon	Mix 2 Échantillon	Mix 3 Échantillon ○	Mix 4 Échantillon ○	Mix 3 Échantillon ○	Mix 2 Échantillon	Mix 1 Échantillon	Mix 4 Échantillon ○	Mix 3 Échantillon	Mix 2 Échantillon	Mix 1 Échantillon	Mix 4 Échantillon
53,1°C	53,2°C	53,6°C	54,3°C	55°C	55,9°C	56,8°C	57,7°C	58,6°C	59,2°C	59,7°C	60°C								

Figure II.23 : Plan de la plaque test effectuée pour amplifier l'ADNr16S archéen avec pour chaque puits le mélange réactionnel, la provenance de l'ADN et la température d'hybridation appliquée à chaque colonne. Les cercles creux représentent les échantillons dont l'amplification a été vérifiée par électrophorèse, et la croix verte ceux dont la réponse a été positive avec apparition d'une bande à 650 pb sur le gel de vérification.

CHAPITRE III

Melinna palmata Grube 1870 : un
modèle biologique pour l'étude du
contrôle des communautés bactériennes
de l'interface eau-sédiment par la
bioturbation

Préambule

De nombreuses études ont mis en évidence le contrôle des communautés bactériennes (abondance, biomasse, viabilité, structure ou encore fonction) par la bioturbation induite par invertébrés benthiques. Parmi les différents modèles d'invertébrés utilisés, qu'ils appartiennent au groupe taxonomique des polychètes, des mollusques ou des crustacés, le point commun est le remaniement sédimentaire en profondeur, avec souvent la construction de terriers ou de galeries jusqu'à plusieurs centimètres en profondeur. La problématique récurrente est donc de savoir si les communautés bactériennes de l'interface eau-sédiment ont les mêmes propriétés que celles des parois des terriers ou galeries creusés en profondeur dans le sédiment. Pour cela, la stratification verticale des groupes fonctionnels bactériens dans les sédiments doit être prise en compte, ainsi que les effets des oscillations redox induites par l'activité des invertébrés dans les structures biogènes. Cependant, aucune étude ne s'est focalisée sur les premiers millimètres oxiques de l'interface eau-sédiment. Dans ce contexte, l'objectif de ce chapitre est double. Il s'agit, dans une première partie, de valider l'utilisation de *Melinna palmata* pour étudier l'impact direct d'un invertébré benthique sur la structure des communautés bactériennes aérobies des premiers millimètres oxiques de l'interface eau-sédiment. Le but est de s'affranchir de la stratification verticale et des modifications que peuvent induire les oscillations redox au travers des activités de la macrofaune dans la colonne sédimentaire. Dans une seconde partie, la réponse des individus placés en conditions expérimentales à des facteurs contrôlant leur activité (marée, photopériode, densité de populations) a été testée. L'objectif a été de mettre en perspective les résultats obtenus dans la première partie de manière expérimentale et contrôlée (obscurité et immersion constantes) aux résultats obtenus dans le cas où des facteurs environnementaux de contrôle ont été soumis, afin de voir si nos résultats peuvent être extrapolés au milieu naturel.

I. PARTIE 1 – *Melinna palmata* remanie les premiers millimètres et structure les communautés bactériennes aérobies de l'interface eau-sédiment

***Melinna palmata* bioturbation structures bacterial community composition at the sediment-water interface**

MASSÉ Cécile, GARABÉTIAN Frédéric, DEFLANDRE Bruno, COSTES Laurence, MESMER-DUDONS Nathalie, DUCHÊNE Jean-Claude, GRÉMARE Antoine, CIUTAT Aurélie

UMR CNRS 5805 EPOC, Station marine d'Arcachon, Université de Bordeaux, France

I.1. Abstract

Sediment-water interface plays a key role in ecosystem functioning. Bioturbation by macrofauna inhabiting this sediment is known to control bacterial communities of sediment. The aim of this study was to describe the behaviour and the bioturbation of a species which disturbs essentially the sediment water-interface, and to determine its effects on the bacterial community composition of the sediment surface. The behaviour of the polychaete *Melinna palmata* was assessed by image analysis and we found that it was active 89.5 ± 2.40 % of the time on the sediment-water interface, and reworked on average 49 ± 14 cm² of the sediment-water interface. Image analyses coupled with the use of thin aquaria demonstrated that this bioturbation mode did not belong to any existing functional group of bioturbation. It reworked only the top millimetres of the sediment surface by exerting a non-local transport of particles, which created three distinguishable zones easily collectables: undisturbed sediment, a prospected area and a faecal mound whose sediment properties (size of particles, organic matter contents and oxygen penetration depth) were significantly different. These results were supported by the presence of different bacterial communities assessed by ARISA in each of the three areas, differentiated by the feeding behaviour of *M. palmata*: prospection, ingestion and egestion of some bacteria, and regular disturbance of the sediment surface. To our knowledge, this is the first study on the impact of bioturbation by a macro-invertebrate on the distribution patterns of bacterial community composition at the very oxic layer of the sediment-water interface.

I.2. Introduction

Sediment water interface is the ultimate receptacle of marine or continental organic deposits. It plays a key role in ecosystem functioning, being a hotspot of biogeochemical processes such as nutrient recycling (Graf, 1989; Henrichs, 1992). These processes, catalyzed by prokaryotes, are most efficient in the very sediment-water interface, under aerobic conditions (Glud *et al.*, 2003; Pischedda *et al.*, 2008).

Macrofauna bioturbation induces a redistribution of sediment particles and/or pore-water, by sediment reworking and bioirrigation respectively (Rhoads, 1974; Kristensen *et al.*, 2012). Depending on the behaviour of species, the mixing of particles is different. Five major functional groups of sediment reworking have been described (François *et al.*, 1997; Gerino *et al.*, 2003, and Solan and Whigam, 2006): the biodiffusers, the gallery diffusers, the upward conveyors, the downward conveyors and the regenerators. It has been shown that bioturbation influences biogeochemical processes at the sediment-water interface (e.g. Aller, 1994; Aller and Aller, 1998; Lohrer *et al.*, 2005; Furukawa, 2005) and exerts a control on bacterial communities either by transporting them with particles or by changing their environment. Bioturbation affects bacterial abundance, biomass or viability (e.g. Aller and Yingst, 1985; Reichardt, 1988), community structure (e.g. Bertics and Ziebis, 2009; Laverock *et al.*, 2010) or functions (Bertics *et al.*, 2010; Gilbertson *et al.*, 2012).

There is a common feature between the different bioturbator models used to highlight this control of bacterial communities by bioturbation: all the studied organisms are active within the sediment thickness affecting the vertical organization of the sediment column. The addressed question is whether the bacterial communities of the burrow wall in depth are the same than in the ambient oxic and/or anoxic sediment (e.g. Papaspyrou *et al.*, 2006; Laverock *et al.*, 2010; Pischedda *et al.*, 2011). To answer this question, authors had to take into account the vertical stratification of sediments and thus the vertical distribution of bacterial communities according to their metabolism (Froelich *et al.*, 1979; Burdige, 1993). Authors also had to take into account the redox oscillations induced by the non-constant activity of macrofauna in the sediment, mainly the non-constant irrigation of the structures. The aim of this study was to focus on the direct effect of bioturbation on the structure of bacterial community composition, avoiding the influence of the vertical distribution of bacterial communities in the sediment. For this we had to (1) select a new biological model which is active and induces bioturbation only on the very sediment-water interface, and (2) validate this model by a preliminary study of bioturbation effects on sediment properties and bacterial community composition of the very sediment-water interface.

The polychaete Ampharetidae *Melinna palmata* was a good candidate. It has a large boreo-mediterranean distribution (Grehan, 1991). The species occurs on the Atlantic coasts from Norway to Morocco (Guillou and Hily, 1983; Grehan, 1991; Cacabelos *et al.*, 2011), but also in the Black Sea, the Sea of Azov, the Persian Gulf and the Mediterranean Sea (Holthe, 1986) for example in the gulf of

Tunis (Zaabi and Alfi, 2006). It has been recorded all around the French coasts (RESOMAR – REseau des Stations et Observatoires MARins – <http://resomar.cnrs.fr/bases/index.php> - on October 30, 2013; Dauvin *et al.*, 2003). In addition it could be found in high densities. More than 6000 individuals m⁻² were found in the *Zostera noltei* meadow of Germanan in Arcachon Bay (Bernard *et al.*, 2014). As *M. palmata* belongs to the feeding guild of the “SST: Surface deposit feeding Sessile Tentaculate” worms (Fauchald and Jumars, 1979), an activity on the sediment-water interface was expected. This was supported by the description of faecal mounds of *M. palmata* observed on the sediment surface on the west coast of Scotland (Olafsson *et al.*, 1990). To our knowledge, no study on the feeding behaviour and the bioturbation of *M. palmata* has been conducted so far.

To fill this lack of information we first qualified and quantified the behaviours of *M. palmata* on the sediment surface. For a better understanding of its feeding behaviour, a description of its feeding organs had to be carried out. The bioturbation was then quantified, and its effect on sediment properties and bacterial communities of the very sediment-water interface was assessed.

I.3. Materials and Methods

I.3.a. Organisms collection and maintenance

For the present study, all individuals of *M. palmata* were collected in Arcachon Bay between April 2012 and February 2014, at the site “Germanan” (44°42’726’’N, 1°07’940’’W). Tubes of *M. palmata* were isolated from the sediment by sieving on a 1 mm-mesh, and collected one by one. *M. palmata* were carefully extracted from their tubes under binocular microscope. They were then acclimatised in tanks containing 1 mm-sieved sediment from Germanan and continuous seawater flow until the beginning of the experiments.

I.3.b. Experimental setups

Just before the experiments, the individuals of *M. palmata* were carefully removed from their tube under binocular microscope. After a 10 days stabilisation period of the sediment, one *M. palmata* was added at the centre of each aquarium. Then, another 10 days acclimatisation period allowed the worms to build a new tube and burrow inside the sediment prior to the beginning of the experiments. The experiments were performed in either small aquaria (11.5×17.5×6.5 cm) or thin aquaria (17×33×0.5 cm) filled with 1 mm - sieved sediment and placed under continuous filtered seawater flow from Arcachon Bay. Incubations were all carried out in the dark and under continuous flow of filtered seawater from Arcachon Bay (air temperature 18 ± 2°C; seawater temperature 16.0 ± 1.85 °C; seawater salinity 31 ± 1.7). The weights of the individuals used for experiments were 20.9 ± 8.8 mg WW (wet weight) for the bioturbation experiments and 41.5 ± 16.5 mg WW for the biological description.

I.3.c. Anatomy of *Melinna palmata*

M. palmata Grube, 1870 measures between 15 and 50 mm long for 2 to 3 mm wide. It has 16 thoracic and about 60 abdominal segments. The base of the two sets of four gills is implanted on the dorsal part of the first segment. It lives in a cylindrical tube, membranous inside and coated by muddy particles outside, both in intertidal and subtidal muddy bottoms and seagrass beds (Fauvel, 1927; Hayward and Ryland, 1990; Rouse and Pleijel, 2001). Its secondary production has been measured around $0.42 \text{ g C}^{-2}\text{yr}^{-1}$ in Southampton waters (Oyenekan, 1988) and its life span estimated between 2 and 2.5 yr in the inner Galway Bay in Ireland (Grehan, 1991). Guillou and Hily (1983) highlighted its high capacities of recolonisation in the harbour of Brest thanks to demographic strategies.

The anatomy of the feeding organs of *M. palmata* was studied by scanning electron microscopy (SEM). The heads and tentacles of 15 individuals were fixed in 2.5 % glutaraldehyde with 0.4 M of cacodylate buffer and 7 % of NaCl for 24 h. They were then rinsed 3×30 min in a solution containing 0.4 M of cacodylate and 4 % of NaCl. Samples were post-fixed with 2 % of osmium tetroxide, 0.4 M of cacodylate and 10 % of NaCl. They were next dehydrated by incubations in alcohol: 10 min in 50 % alcohol, 10 min in 70 %, 10 min in 90 %, 10 min in 95 %, 2×10 min in absolute and 15 min in propylene oxide. Critical-point-dried reached, there were coated with gold and observed with a Quanta 200 SEM (FEI Company, Mérégnac, France), operated by the Bordeaux Imaging Centre (microscopy pole, Bordeaux University). The number of tentacles of 10 individuals was quantified with a stereomicroscope (SMZ25, Nikon ®). To ensure that tentacles were out of the mouth and visible, individuals were beforehand left one hour in filtered ($0.22 \mu\text{m}$) and sterilised seawater.

I.3.d. Behaviour of *Melinna palmata*

Surface sediment was lighted with infrared light and a peye video captor (IDS peye UI-1580SE-C-HQ, Stemmer Imaging, France) was positioned at about 30 cm above the sediment water interface. This system was connected to a computer and piloted by the acquisition software Obvious_MicroLum (developed by Jean-Claude Duchêne). During periods of 12 to 24 h, the activity of 14 *M. palmata* was monitored separately, based on a photo every 10 s assembled at the end in an AVI video format. AVI films were then used (1) to determine the different behaviours of *M. palmata* viewing each film image by image, (2) to quantify the percentage of time allocated to each behaviour, and (3) to quantify the intensity of each behaviour in $\text{cm}^2 \text{min}^{-1}$. For the latter, the software Obvious_AviExplore (developed by Jean-Claude Duchêne) was used. It compares the grey level differences between two consecutive images, pixel by pixel.

I.3.e. Sediment reworking by *Melinna palmata*

Sediment reworking with depth induced by *M. palmata* was followed using a particulate-tracer method in a thin aquarium (Maire *et al.*, 2008). About 1.5 g of luminophores (Ecotrace, Environmental Tracing ®, median diameter = 35 µm, $\lambda_{\text{excitation}} = 365$ nm) were spread on the sediment-water interface at the beginning of the experiment. Every 24 h during 15 days, a photography of one side of each aquarium was taken (Nikon ® D7000 Reflex 16.2 Mpixels, lens AF-S DX 18-105 mm) under UV light ($\lambda = 302$ nm) to discriminate luminophores from the surrounding sediment. Photographs were then analysed using the software *Lumino* (developed by Alicia Romero) to count luminophores depending on depth.

The surface of sediment reworked was quantified using photos (Nikon ® D7000 Reflex 16.2 Mpixels, lens AF-S DX 18-105 mm) taken every day under ambient light of the sediment-water interface of each aquarium. The areas on the sediment water interface induced by the bioturbation of *M. palmata*, the prospected area and the faecal mound surrounded by the undisturbed sediment, were then calculated with the software Image J (National Institutes of Health, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>).

The volume of sediment reworked on the sediment-water interface was determined by microtopography mapping, using a laser telemeter (Sick OD80) fixed on a set of motorised cross tables (410XR Parker Hannifin precision linear positioners) connected to Vix500 Microstepper Indexer Drives with XL PSU power supplies (Maire *et al.*, 2008; Duchêne, 2012). This system was connected to a computer and piloted by the software *Obvious_Topo* (developed by Jean-Claude Duchêne). Data acquired in volts were transformed in mm by calibration with an object of known size. Then the reworked sediment volume per unit of time was calculated comparing the values between two consecutive microtopographies.

I.3.f. Measurements of sediment properties and bacterial community composition of the sediment-water interface

Sampling procedure. Sediment from each area resulting from the bioturbation of *M. palmata* was sampled: the prospected area, the faecal mound, and the undisturbed sediment. A core of undisturbed sediment, the tube of *Melinna palmata* and the organism itself were also systematically sampled. To this purpose, a pipette tip has been cut to allow the passage of the largest particles and fixed instead of the needle on a 10 mL syringe. Surface sediment of each area was aspirated with this system, homogenised and divided for the different physico-chemical and bacterial analyses.

Sediment properties. Dissolved oxygen in the sediment was measured by microprofiles with Clark-type sensors (Revsbech, 1989) from Unisense A/S with a tip diameter of 100 µm. Depth increment was 100 µm thanks to the use of a motor controlled micromanipulator (MC-232, Unisense). Sensors were connected to an OXY-METER (Unisense), connected itself to a computer and piloted by the SensorTrace PRO v3.0 (Unisense A/S) software. Oxygen profiles were analysed using the

PRO2FLUX software (Deflandre and Duchêne, 2010) to obtain the penetration depth and fluxes of oxygen. Grain size of sediments from the prospected area, the faecal mound, the undisturbed sediment and the undisturbed sediment column sediments was assessed using a Malvern® Master Sizer laser microgranulometer (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, England). Chlorophylls *a*, *b* and *c* and phaeophytin *a*, *b* and *c* were measured on a 6 mL 90 % acetone extract of around 400 mg of sediment using a Perkin Elmer® spectrofluorometer (Courtaboeuf, France) according to Neveux and Lantoiné (1993) for sediments from the prospected area, the faecal mound, the undisturbed sediment and the undisturbed sediment column. Particulate organic carbon (POC) and nitrogen (PON) of sediment and tubes were measured using a ThermoFinnigan® Flash Elemental Analyser Series 1112 (Thermo Scientific, France). POC was measured after decarbonation with HCl at 0.2 N.

Bacterial community composition. Bacterial community composition was characterized by ARISA (Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis), a PCR-based whole-community fingerprinting method (Fisher and Triplett, 1999). Within two hours after collection, 0.465 ± 0.003 g of sediment of each zone and tubes of organisms were placed in preservative buffer (100 mM Tris-HCl [pH 8.0], 100 mM EDTA [pH 8.0], 1.5 NaCl and 1 % [wt/vol] cetyltrimethylammonium bromide) (Zhou *et al.*, 1996). Samples were stored at -80°C until analysis. DNA extraction was realised on 700 μL of homogenised thawed sediment sample. DNA was extracted and purified coupling a bead beating method (Lysing matrix E tubes) and Fast Prep (MP Biomedicals, Illkirch, France): two runs at 5.5 m s^{-1} during 30 s with the use of an extraction kit UltraClean® Soil DNA Isolation Kits (MO BIO Laboratories, Inc., Carlsbad, CA, USA). The amount of extracted and purified DNA was quantified by spectrophotometry with 2 μL of DNA solution, using an Epoch microplate spectrophotometer (Biotek instruments). The bacterial community composition in and around *M. palmata* was also analysed. After one hour of depuration of organisms in sterilised seawater, each organism was placed in a grinding buffer (100 mM Tris-HCl [pH 8.0], 100 mM Na EDTA [pH 8.0]). Organisms were grinded with a tissue homogenizer (blade OMNI TH) and 400 μL of the ground product were placed in 1 mL of preservative buffer (100 mM Tris-HCl [pH 8.0], 100 mM EDTA [pH 8.0], 1.5 NaCl and 1 % [wt/vol] cetyltrimethylammonium bromide) (Zhou *et al.*, 1996). Samples were stored at -80°C until analysis. DNA extraction was realised on 700 μL (5 mg) of homogenised thawed organism sample. DNA was extracted and purified coupling a bead beating method (Lysing matrix A tubes and Fast Prep (MP Biomedicals, Illkirch, France): 6 m s^{-1} during 40 s) to the QIAamp DNA mini kit (QIAGEN, Courtaboeuf, France). The amount of extracted and purified DNA was quantified by spectrophotometry with 2 μL of DNA solution using the Epoch microplate spectrophotometer (Biotek instruments). DNA samples of sediment and organisms were then processed in the same manner. PCR amplification of the 16S-23S rDNA intergenic spacer was carried out using 5'FAM labeled S-D-Bact-1522-B-S-20 (5'-TGC GGC TGG ATC CCC TCC TT-3') and L-D-Bact-132-a-A-18 primers (5'-CCG GGT TTC CCC ATT CGG-3') (Normand *et al.*, 1996). The final reaction mix (25 μL) consisted of 1X PCR buffer (Promega, Charbonnières, France), 1.5 mM MgCl_2 , 0.3 mg mL^{-1} bovine serum albumine,

5 % DMSO, 200 μM of each deoxynucleoside triphosphate (Invitrogen, Cergy Pontoise, France), 0.5 μM of each primer (Invitrogen, Cergy Pontoise, France), 0.25 U of Taq polymerase (Promega) and 10 ng of template DNA at about 1 ng μL^{-1} . Amplification was performed with a Thermocycler (Eppendorf AG, France). After an initial denaturation at 94°C for 5 min, 35 cycles of denaturation (94°C, 1 min), annealing (55°C, 1 min) and extension (72°C, 1 min) were performed, followed by a final extension (72°C, 10 min). For each extracted DNA sample, triplicate PCR assays were performed using 3 x 10 ng of template DNA. Amplification products of the 3 assays were pooled and purified using QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN, Courtaboeuf, France). The purified amplification products were then quantified using the spectrophotometric method previously described. Finally, 1.5 μL of amplification product adjusted by dilution to about 10 ng μL^{-1} were mixed with 0.1 μL GeneScan 1200 LIZ internal size standard (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France) and 10 μL Hi-Di formamide (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France). The mixture was denatured at 94°C for 4 min and fragments were discriminated using an ABI 3730XL automated sequencer (Applied Biosystems Ltd, Courtaboeuf, France) operated by the *Plateforme Genome-Transcriptome Pierroton* (INRA, Bordeaux, France).

The resulting electrophoregrams were analysed using the Applied Biosystems Peak Scanner software. Peak sizes inferior to 200 bp and superior to 1200 bp were considered as background noise and eliminated. Then, an “optimal divisor” (Od) was determined to remove fluorescence background within remaining peaks (Osborne *et al.*, 2006). Peaks contributing less than 0.1% (i.e. Od value) of the total amplified DNA (as determined by relative fluorescence intensity) were indistinguishable from baseline noise and eliminated from profiles. Binning was carried out under the R software (available on <http://cran.r-project.org>) using the algorithm “Interactive binner” (available on <http://www.ecology-research.com>), according to Ramette (2009). Finally, a matrix of relative abundances (fluorescence) of the different ITS representing the operational taxonomic units OTU was generated. Bray-Curtis similarities were then calculated using the following equation (1):

$$BC = 100 \times \frac{1 - (\sum |OTU_{i,a} - OTU_{i,b}|)}{\sum (OTU_{i,a} + OTU_{i,b})} \quad (1)$$

where $OTU_{i,a}$ is the relative abundance of OTU_i in the sample a , and $OTU_{i,b}$ is the relative abundance of OTU_i in the sample b .

Simpson’s diversity index was calculated from the relative abundances matrix, according to the equation (2):

$$\lambda = \left(\sum \left(\frac{N_s}{N_T} \right)^2 \right) \quad (2)$$

where N_s is the relative abundance of one OTU or one species, and N_T is the total number of OTU.

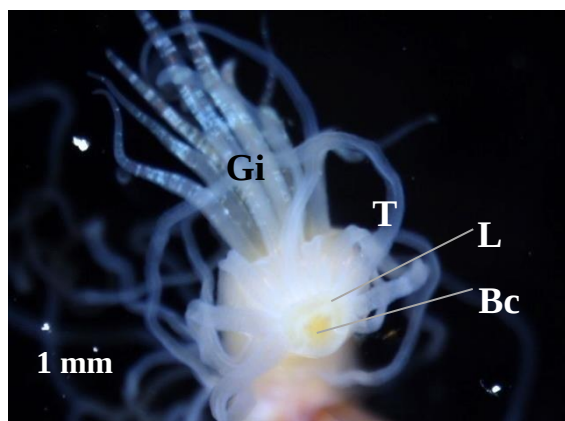
I.3.g. Statistical analyses

Statistics were performed using the software PRIMER 6 (PRIMER-E, Ltd, Lutton, UK). The 5% significance level was considered for all tests. The importance of the time allocated to prospection was tested using multivariate permutational ANOVAs (PERMANOVAs; Anderson 2001, McArdle and Anderson, 2001), based on Euclidean distances without preliminary transformation of data. Sediment properties were represented using a non-metric Multi-Dimensional Scaling (MDS) plot, based on Euclidean distances, where the relevance of the graphical representation is given by a stress value (a stress value lower than 0.2 indicates a good representation). The effect of the bioturbated zone on these parameters was assessed using PERMANOVAs. To find the parameters contributing most to the dissimilarity between two bioturbated zones, a SIMPER analysis was performed. Statistics of bacterial community composition were based on Bray-Curtis similarity analyses (Clarke and Warwick, 2001). Similarity matrices were represented using a (MDS) plot where the relevance of the graphical representation is given by a stress value (a stress value lower than 0.2 indicates a good representation). Effect of the disturbed zone on bacterial community composition was assessed using PERMANOVAs. A BIOENV analysis was performed to discriminate sediment parameters that best explained the bacterial community composition. It was based on the Bray-Curtis similarities of bacterial communities' data (transformed by square root), and on the Euclidean distances of sediment properties data (normalised).

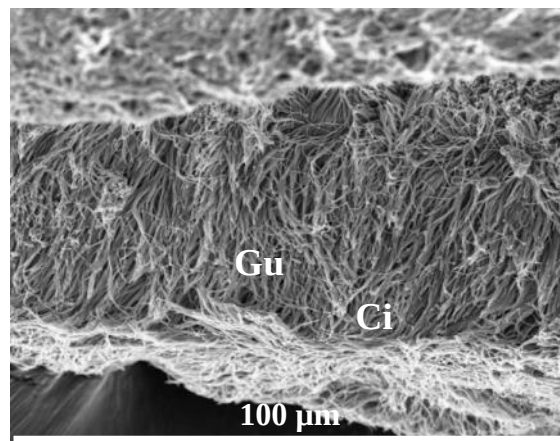
I.4. Results

I.4.a. Anatomy of *Melinna palmata*

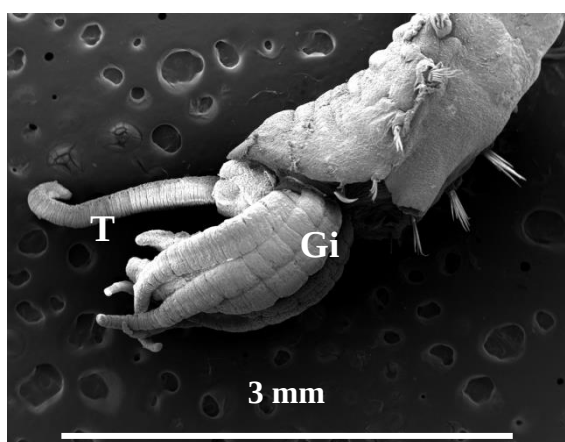
From 11 to 15 tentacles (12.6 ± 1.3) were numerated on the 10 individuals of *M. palmata*. Tentacles were implanted side by side around the upper lip of the mouth, as shown on **Figure III.1A**. A precise analysis of the structure of these feeding tentacles was performed using scanning electron microscopy. When the tentacles were out of the mouth and contracted (**Figure III.1B**), they measured only a few millimetres as visible on **Figure III.1B**. Tentacles had the shape of a gutter (**Figure III.1C**). The inside of the gutter was composed of numerous cilia (**Figure III.1D**). The outer part was folded into an accordion structure, with only a few dispersed clumps of cilia (**Figure III.1E**). A particular structure without cilia was visible at the tip of the tentacles, possibly to prospect the sediment-water interface and select the particles to feed (**Figure III.1F**).



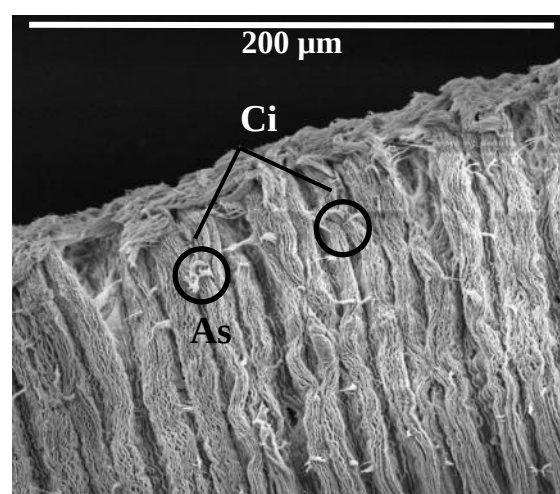
A: Mouth with tentacles and gills in background



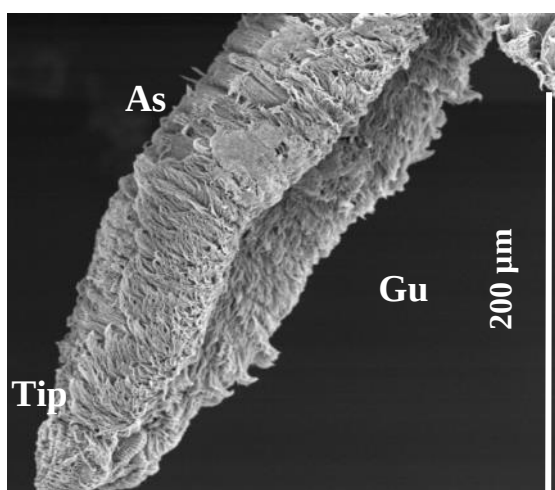
D: Gutter of a tentacle covered by cilia



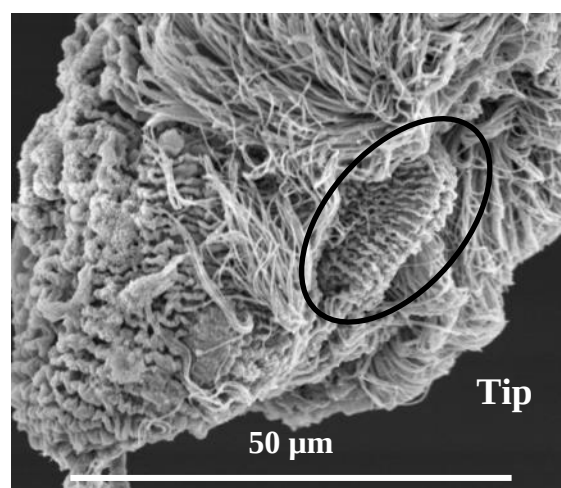
B: Head on lateral view with gills and a tentacle



E: Accordion structure on the other side of the tentacle



C: Extremity of a tentacle with the gutter and the accordion structure on opposite side



F: Particular structure of the extremity of the tentacle

Figure III.1: Photographs of *Melinna palmata* obtained by scanning electron microscopy (B - F) and photography of buccal cavity with tentacles of *Melinna palmata* obtained by stereomicroscopy (A). Gi: gills; T: tentacles; L: lip; Bc: buccal cavity; As: Accordion structure; Gu: gutter; Tip: tip of the tentacle; Ci: cilia.

I.4.b. Behaviour of *Melinna palmata*

The behaviour of *M. palmata* was observed in a thin aquarium filled with agarose ($n = 3$ individuals). All the activities of *M. palmata* took place outside the tube on the sediment-water interface during a 48-hour monitoring. The tentacles were never observed at the buried extremity of the tube. For defecation, the worm bended its body in two to exit its pygidium out of the tube, and deposited faecal pellets on the sediment water interface.

The behaviour of 14 individuals was monitored in top view, for a total of 512.8 hours of monitoring. Results show that *M. palmata* was active 89.5 ± 2.4 % of the time (**Figure III.2**). The remaining time, it was either immobile with gills out of the tube (7.0 ± 8.9 % of the total time), or entirely hidden in the tube (3.5 ± 3.6 % of the time). During the active and visible phase, four behaviours were identified: (1) tentacles' prospection of the sediment-water interface (84.6 ± 10.1 % of the time); (2) gills' movement at the outlet of the tube (3.3 ± 3.8 %); (3) maintenance of the tube opening (1.2 ± 1.2 %); (4) fast input and output of the head from the tube (0.4 ± 0.8 %), (**Figure III.2**). *M. palmata* significantly allocated the major part of its time to prospect the sediment-water interface (PERMANOVA $p(\text{perm}) < 0.05$).

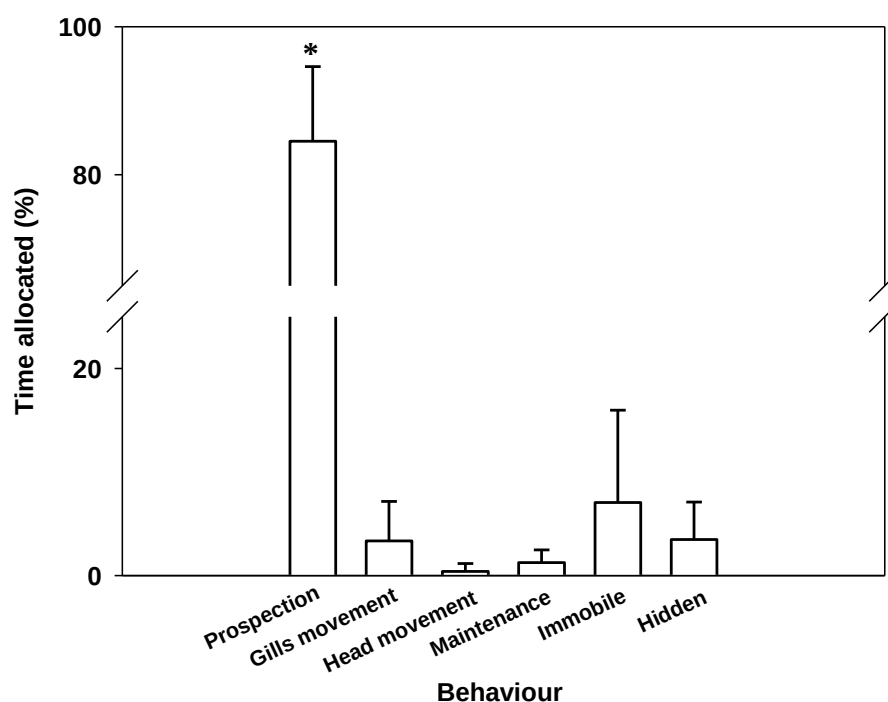


Figure III.2: Histogram of the percentage ($\pm$ SD) of time allocated by *Melinna palmata* to each behaviour.

Defecation occurred on average every 45.4 ± 3.9 min, mainly during periods of prospection but also sometimes during periods of other behaviours. The current activity was not stopped during

defecation. Accumulation of faeces created the faecal mound. Depending on the individuals, the faecal mound sometimes encircled the tube and sometimes was on one side only (**Figure III.3A and B**).

The intensity of activity, for all behaviours, on the sediment surface could be calculated for 11 over 14 individuals depending on the images quality, with a total of 404.3 h monitored. It varied from 0.5 to 69.4 cm² h⁻¹ with a mean of 11.8 ± 19.7 cm² h⁻¹. The intensity of prospection only varied from 0.5 to 80.0 cm² h⁻¹ with a mean of 13.6 ± 22.7 cm² h⁻¹.

Microtopography of the sediment water interface showed the volume of the prospected area and the faecal mound (example on **Figure III.3E**). The comparison of two consecutive microtopographic maps was used to obtain a mean value of the sediment reworking by *M. palmata*, without distinction of zones. It was 31.0 ± 8.2 mm³ h⁻¹ with a minimum of 21 mm³ h⁻¹ and a maximum of 44 mm³ h⁻¹, on a surface of 2500 mm². This value of sediment reworking included both the digging of the prospected area, the expansion of the faecal mound and the natural sedimentation of particles on the sediment surface. The sediment reworking was also calculated in the different zones. In the undisturbed sediment the average particle movement was $4.90 \cdot 10^{-6} \pm 1.30 \cdot 10^{-6}$ mm³ h⁻¹. The average sediment reworking calculated in the faecal mound and in the prospected area were 6.83 ± 5.07 mm³ h⁻¹ and -4.58 ± 7.14 mm³ h⁻¹ respectively.

Neither bioadvection nor biodiffusion were detected in the sediment column. Only conveying of particles from the prospected area to the faecal mound was observed, putatively after a passage through the gut.

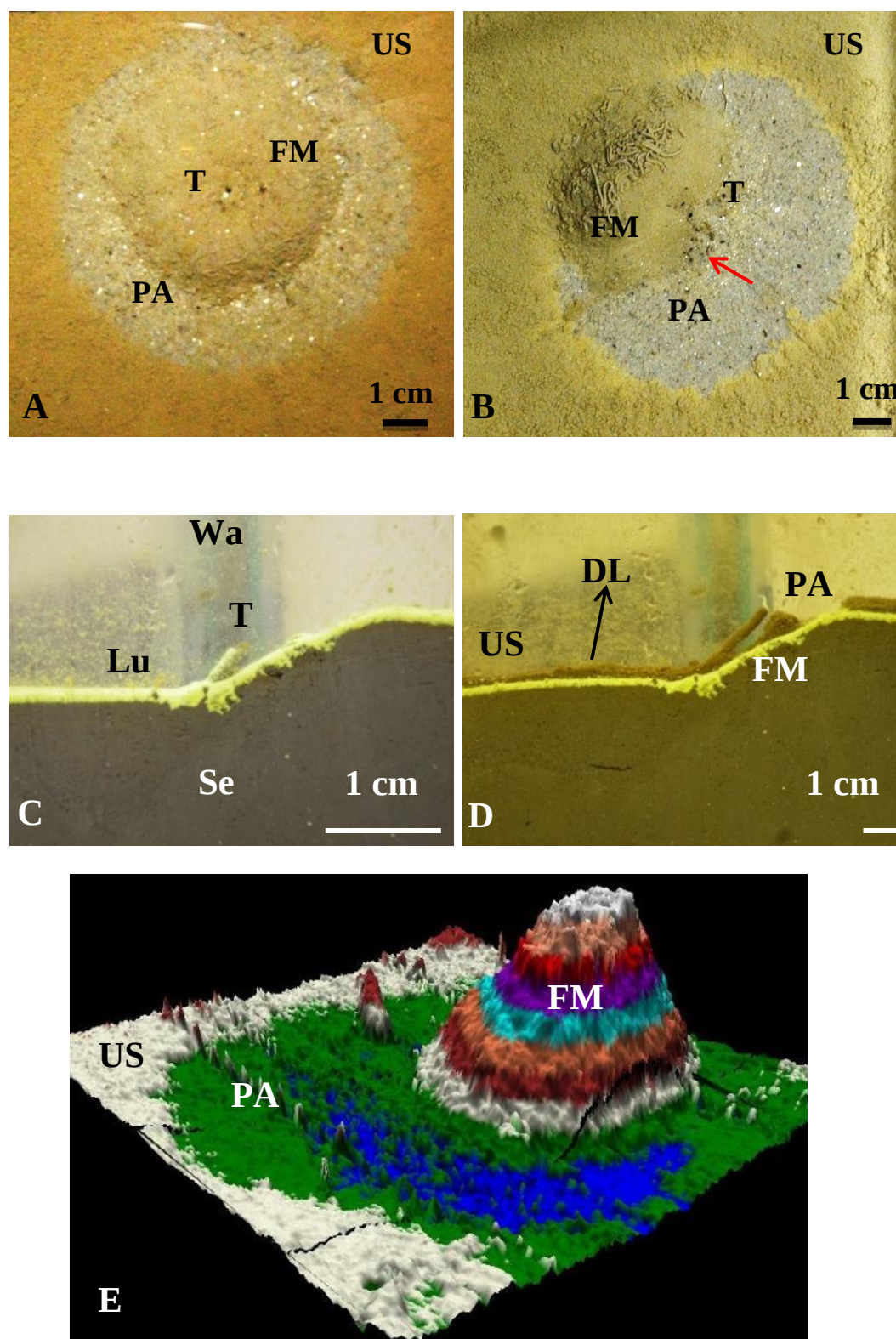


Figure III.3: A and B: Pictures in plan view of disturbed sediment surface induced by two *Melinna palmata*; C and D: Pictures of a cross sectional view in a thin aquarium with luminophores showing the advection of sediment under ambient light at T_{0d} and at T_{5d} ; E: microtopography map (5×5 cm) of the sediment-water interface disturbed by an individual of *M. palmata*. Wa: water; Se: sediment column; Lu: luminophores; T: tube; US: undisturbed sediment; PA: prospected area; FM: faecal mound; DL: deposit layer. The red arrow shows large particles abandoned by tentacles.

I.4.c. Physico-chemical and bacterial characteristics of the sediment-water interface

Sediment characteristics. Oxygen penetration depth was significantly lower in the prospected area (4.0 ± 0.1 cm) than in the faecal mound and the undisturbed sediment (7.2 ± 0.4 and 4.9 ± 0.2 cm respectively). It was significantly higher in the faecal mound than in the undisturbed sediment and the prospected area (**Figure III.4A**). Oxygen fluxes, calculated based on the Fick's law, were low but significantly different between the faecal mound (-4.17 ± 0.91 mmolO₂ m⁻² d⁻¹) and the prospected area (-5.99 ± 0.94 mmolO₂ m⁻² d⁻¹) on the one side, and in the undisturbed area (5.72 ± 1.63 mmolO₂ m⁻² d⁻¹) on the other side (**Figure III.4B** - PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0.05$).

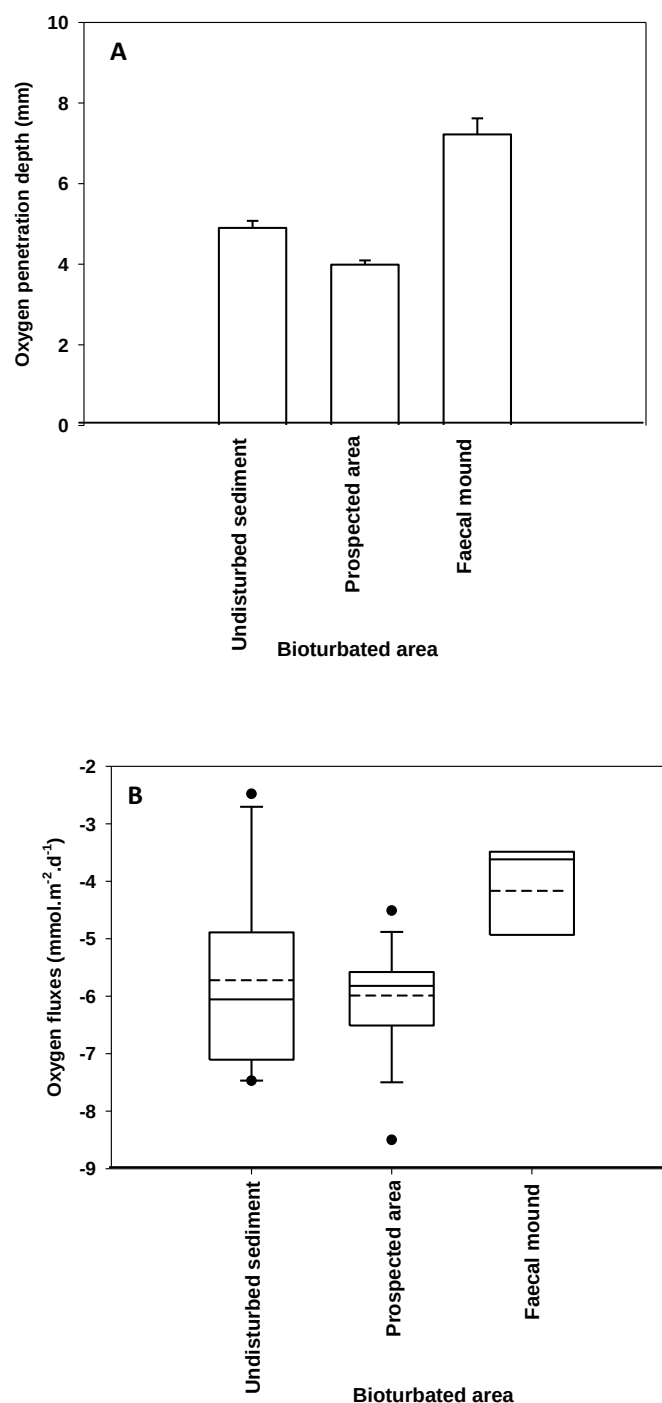


Figure III.4: Oxygen penetration depth (A) and oxygen fluxes (B) in the three zones of surface sediments measured with Clark-type sensors. $N_{\text{prospected area}}=15$; $N_{\text{faecal mound}}=9$ and $N_{\text{undisturbed sediment}}=13$. Error bars indicate standard error.

The MDS with a stress of 0.02 showed distinct sediment clusters (**Table III.1**; **Figure III.5** - PERMANOVA with pairwise test; $p(\text{perm}) < 0.05$). Sediment of the undisturbed sediment column was characterised by larger particles ($32.4 \pm 2.5 \mu\text{m}$) whereas undisturbed sediment and faecal mound were characterised by higher POC contents, 33.6 ± 3.9 and $28.7 \pm 3.7 \text{ mg g}^{-1}$ respectively. The prospected area was intermediate between the depth and the surface sediment, based on the vectors

defining correlations between variables plotted on this MDS. A SIMPER test showed that the POC variable contributed to 59.2 % of the dissimilarity between the faecal mound and the prospected area, to 62.8 % of the dissimilarity between the faecal mound and the undisturbed sediment, and to 64.3 % of the dissimilarity between the prospected area and the undisturbed sediment. The median grain size accounted for 57.6 % of the dissimilarity between the undisturbed sediment column and the faecal mound, for 60.3 % with the prospected area, and for 49.3 % with the undisturbed sediment.

Table III.1: Median $\pm$ standard error of each sediment parameter in each bioturbated area: median grain size (D50), chlorophylls and phaeophytins *a*, *b* and *c*, particulate organic carbon (POC) and nitrogen (PON).

	Median $\pm$ Std. dev.			
	Undisturbed sediment column	Undisturbed sediment	Faecal mound	prospected area
D50 (μm)	32.4 $\pm$ 2.5	13.3 $\pm$ 2.0	14.7 $\pm$ 2.2	17.3 $\pm$ 2.1
Chlorophyll <i>a</i> ($\mu\text{g/g DW}$)	0.1 $\pm$ 0.6	1.3 $\pm$ 1.5	1.0 $\pm$ 1.1	0.9 $\pm$ 1.2
Phaeophytin <i>a</i> ($\mu\text{g/g DW}$)	0.5 $\pm$ 1.1	7.1 $\pm$ 2.8	6.4 $\pm$ 1.9	3.4 $\pm$ 2.5
Chlorophyll <i>b</i> ($\mu\text{g/g DW}$)	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.8
Phaeophytin <i>b</i> ($\mu\text{g/g DW}$)	0.0 $\pm$ 0.2	0.8 $\pm$ 0.3	0.9 $\pm$ 0.3	0.6 $\pm$ 0.6
Chlorophyll <i>c</i> ($\mu\text{g/g DW}$)	0.0 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.1
Phaeophytin <i>c</i> ($\mu\text{g/g DW}$)	0.3 $\pm$ 0.2	0.0 $\pm$ 2.1	0.0 $\pm$ 0.5	1.0 $\pm$ 1.1
POC (mg/g DW)	15.9 $\pm$ 0.9	33.6 $\pm$ 3.9	28.7 $\pm$ 3.7	26.8 $\pm$ 5.3
PON (mg/g DW)	1.6 $\pm$ 0.7	3.2 $\pm$ 1.7	2.9 $\pm$ 0.6	2.1 $\pm$ 0.7

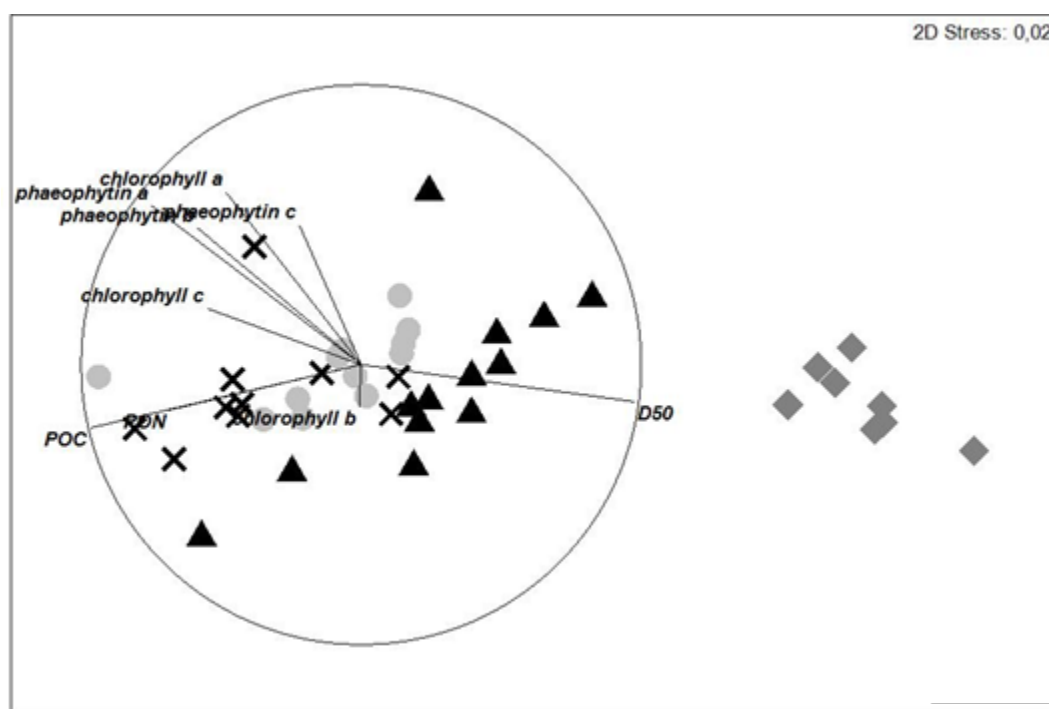


Figure III.5: MDS plot based on Euclidean distances of the sediment parameters: median grain size (D50), chlorophyll and phaeophytin *a*, *b* and *c*, particular organic carbon (POC) and nitrogen (PON) with their projection; in the undisturbed sediment (black cross), in the faecal mound (grey circles), in the prospecting zone (black triangles), and in the undisturbed sediment column (dark grey lozenges).

Bacterial community composition. For all matrices (sediment, tubes and organisms), 317 OTU were found, ranging from 200 to 1166 bp. In the undisturbed sediment column (n=25), corresponding to the sediment from the sediment-water interface to the bottom of the aquarium, 192 OTU were found ranging from 200 to 1034 bp. In the undisturbed sediment (n=30), 209 OTU were found, ranging from 200 to 1032 bp; in the faecal mound (n=32), 218 OTU from 200 to 1032 bp and in the prospected area (n=36), 238 OTU from 200 to 166 bp. In the *M. palmata* tubes (n=10), 204 OTU were found ranging from 200 to 1072 bp. In the *M. palmata* (n=8), 120 OTU were found ranging from 200 to 1028 bp. Bacterial communities associated to *M. palmata* individuals significantly differed from the tube and sediment communities (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0.05$ - **Figure III.6A**). Bacterial communities significantly different were observed in the undisturbed sediment column compared to the undisturbed sediment from the surface, the prospected area and the faecal mound (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0.05$ - **Figure III.6B**). Bray-Curtis similarity for all matrices confounded was 51.5% for 73.5% in the undisturbed sediment column, 61.2% in the undisturbed sediment, 66.2% in the faecal mound, 66.0% in the prospected area, 63.6% in the *M. palmata* tubes, and 42.5% in the *M. palmata* individuals.

Particulate organic carbon, phaeophytin *a* and chlorophyll *a* were the three sediment properties which best explained the bacterial community composition (BIOENV, $\rho = 0.447$; $p = 0.1\%$). Note that the sediment properties and the bacterial community composition were studied from the same sediment samples.

Simpson's diversity index was significantly higher in the organisms with 0.213 ± 0.032 than in the tubes with 0.052 ± 0.006 , the undisturbed sediment column with 0.062 ± 0.002 , the undisturbed sediment with 0.082 ± 0.008 , the faecal mound with 0.060 ± 0.002 and the prospected area with 0.049 ± 0.002 . It was also significantly higher in the undisturbed sediment than in the undisturbed sediment column, the prospected area, the faecal mound, the tube and the organisms. Finally, it was significantly lower in the prospected area than in the two other surface sediment zones (**Figure III.7** and **Table III.2**).

Table III.2: p-values obtained by PERMANOVAs with pairwise comparison between the three zones of surface sediments for the bacterial diversity; values in bold indicates a significant difference ($p < 0.05$).

<i>Simpson's index</i>	Prospected area	Faecal mound	Undisturbed sediment	Undisturbed sediment column	Tube	Organism
Prospected area						
Faecal mound	0.007					
Undisturbed sediment	0.001	0.009				
Undisturbed sediment column	0.001	0.393	0.021			
Tube	0.561	0.104	0.015	0.03		
Organism	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	

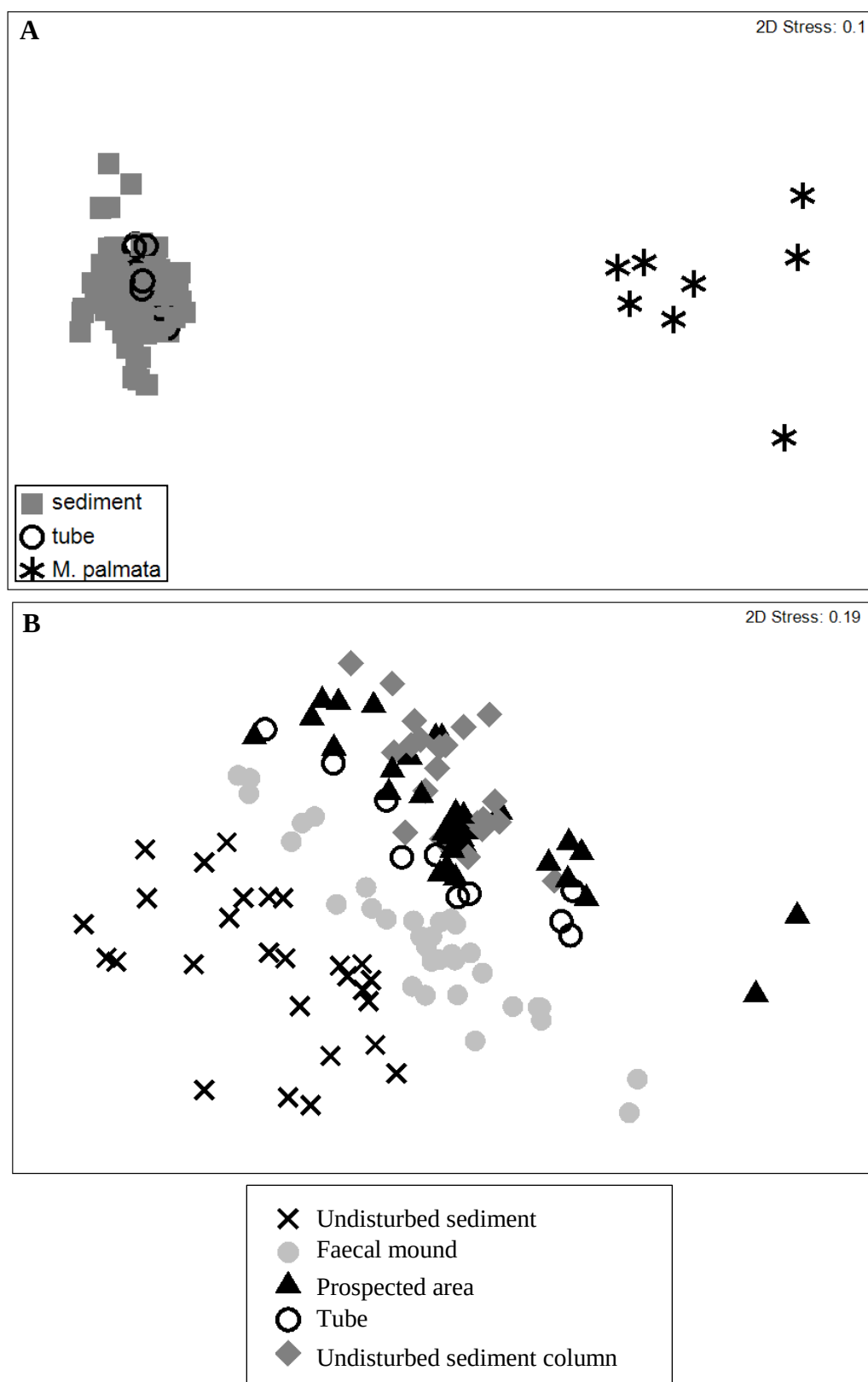
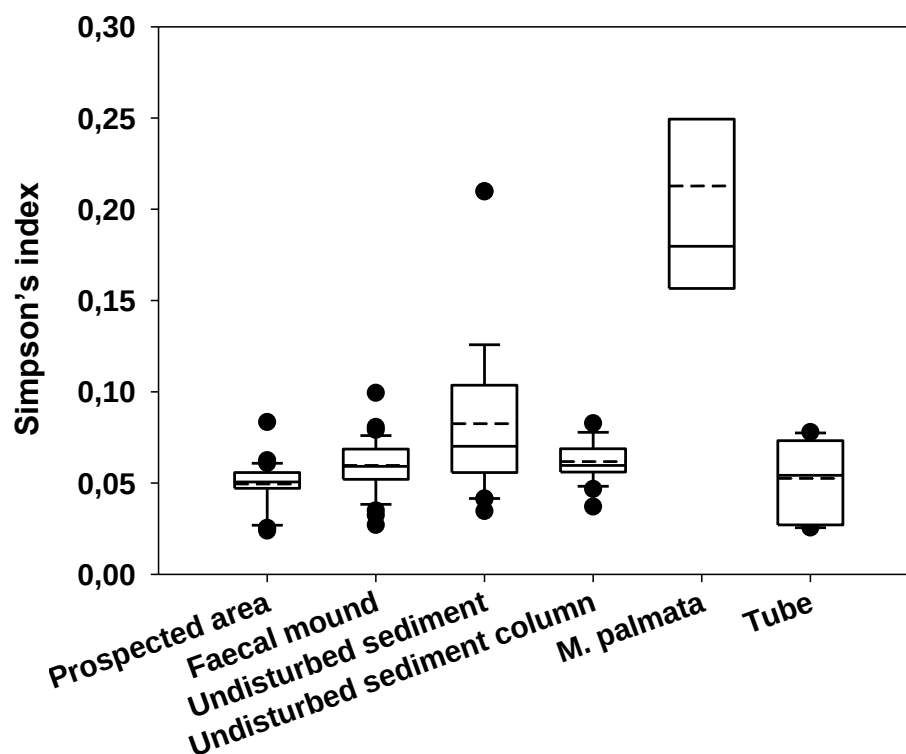


Figure III.6 : MDS plot based on Bray-Curtis similarities of the relative abundances of bacterial OTU as determined by ARISA; A: in the sediment without distinction of disturbed zones (grey squares), in the tube (white circles), and in the organisms (black asterisks); and B: in the undisturbed sediment (black cross), in the faecal mound (grey circles), in the prospecting area (black triangles), in the tube (white circles), and in the undisturbed sediment column (dark grey lozenges).



Matrices (sediment, organisms and tubes)

Figure III.7: Boxplot of Simpson's index indicating bacterial diversity in the prospected area (n=37), the faecal mound (n=33), the undisturbed sediment (n=30), the undisturbed sediment column (n=25), the tube (n=10) and the organisms (n=8). The boundary of the box closest to zero indicates the 25th percentile and the farthest to zero the 75th percentile. Error bars indicate the 10th and 90th percentiles. The entire line indicates the median and the dotted line the mean. Black circles indicate outlying values.

I.5. Discussion

We proposed in this study the polychaete *Melinna palmata* as a new biological model to study the effects of macrofauna bioturbation on the bacterial community composition at the sediment-water interface.

On our experimental conditions, the sedentary polychaete *M. palmata* was active 89.5 ± 2.40 % of the time on the sediment-water interface, mainly to prospect using its ciliated tentacles (84.6 ± 2.7 %). We propose that tentacle prospection is linked to nutrition, i.e. prospection for food.

Observation of records has highlighted the ability of extension of the buccal tentacles during food prospection. The description of these buccal tentacles, sometimes called palps in the literature, was not accurate. Moreover, it did not explain how particles were transported to the mouth (Fauvel, 1927; Hayward and Ryland, 1990). Because of this lack of information, a description of the anterior part of *M. palmata* was performed to get a better comprehension of the main behaviour on the sediment-water interface: the prospection. Photographies obtained by stereomicroscopy and SEM

(Figures III.1A, C, D, E and F) coupled with observations of its behaviour has led to a better understanding of the feeding mode consistent with Fauchald and Jumars (1979):

- (1) The upper lip is eversible to stretch out the tentacles as described for *M. pacifica* by Zhadan and Tzetlin (2002). When this upper lip is everted (Figures III.1A and G), tentacles stretched until 3.9 ± 0.2 cm on the sediment-water interface. Compared to a resting tentacle it is almost four times longer. This extension is possible thanks to the structure in accord of the outer part of the tentacle (Figure III.1E); this was not observed by Fauchald and Jumars (1979).
- (2) The tip of the tentacle (Figure III.1F) prospects the sediment-water interface to select particles. The selection of particles by deposit feeders was the subject of various studies, which highlighted different theories: the probability of encounter particles which means a sampling of largest particles because of a higher probability to encounter. This passive selection was observed for the polychaete *Polydora ligni* (Taghon, 1982). Taghon *et al.*, (1978) suggested an “optimal foraging” of deposit feeders, with an active selection of smallest and energetically more valuable particles, to maximize the energy gain. But in its following work (Taghon, 1982), he noted that in reality, this perfect selection never occurred. The observation of records suggests that *M. palmata* does not select actively the particles sampled with its tentacles because even fragments of several centimetres were taken by tentacles.
- (3) Particles are transported to the lips along the gutter of cilia (Figures III.1C and D), coated with mucus (Jumars *et al.*, 1982; Taghon, 1982; Grémare, 1988). Another selection, passive, is possible during the passage along the tentacle, mainly depending on the adhesive strength of the mucus: lower the mucus is adhesive, higher is the quantity of smaller and lighter particles selected compared to large particles that fall (Jumars *et al.*, 1982).
- (4) Particles are ingested. A third selection is possible at this fourth step, when the particles have to pass through the mouth. In this case, the selection is more dependent on the size of the organism than on the species (Whitlatch, 1974; Taghon, 1982). It was observed for *M. palmata* with a little area around the opening of the tube with largest particles abandoned, as visible at the tip of the arrow on Figure III.3B. Moreover, these accumulated particles seem to be mineral particles, because of their brightness (Figure III.3B).

A common characteristic of deposit feeders is that the large amount of time allocated to feeding behaviour is certainly a typical strategy, because they have to ingest a massive quantity of sedimentary matter to extract a sufficient fraction of organic matter contained therein (Taghon, 1982; Andersen and Kristensen, 2002).

The percentage of time activity on the sediment-water interface was higher than for other deposit-feeders. The bivalve *Abra ovata* was on average active on the sediment surface 40.5 % of the time, and *Abra nitida* 54.6 % (Grémare *et al.*, 2004). For the terebellid polychaete *Eupolyornia*

nebulosa, a maximum of 66.6 % was found by Grémare (1988), and an average of 74.2 % by Maire *et al.*, (2007a).

The feeding behaviour, gathering the prospection and the defecation, is important both in term of time allocated and intensity. It is at the origin of a distinct horizontal zonation of the sediment surface (**Figures III.3C and D**). In the existing literature, the presence of a feeding area and a faecal mound with undisturbed sediment around was also observed for the polychaete *Streblosoma bairdi* by Warwick *et al.* (1986). Olafsson *et al.* (1990) observed also this for *M. palmata*, but with the feeding area located between the tube and the faecal mound. On more than 40 individuals observed, the authors never noted such a structuration of the prospected area and the faecal mound as we did here. The surface of the disturbed zone was large, up to 71 cm² here. This value has to be put in perspective with the small size of *M. palmata*. The reworking of the sediment-water interface was also important in the three dimensions with the creation of the faecal mound of a few centimetres high, and the digging of a few millimetres depth for the prospected area (**Figure III.3E**). The handling rate of *M. palmata* is lower than those measured for *Abra ovata*, with the same method: 907.7 mm³ h⁻¹ maximum (Maire *et al.*, 2007b). The surface reworking by deposit-feeders has been shown to impact physical properties of the sediment-water interface. By increasing water content and creating loose sediment with faecal pellets, it causes instability of the sediment-water interface (Rhoads and Young, 1970), especially in intertidal environments where these zones can be destroyed and rebuilt every low and high tides. This surface activity can be called biogenic matrix. The bioturbation of the sediment surface was associated with an absence of bioturbation out of the tube at depth as shown by the absence of luminophores in the sediment column and the absence of bioirrigation.

This absence of bioturbation with depth suggests that the mucus with the sediment layers constituent the tube create a barrier to particles and solutes exchanges, both laterally and vertically in depth. As it was observed by Hannides *et al.* (2005), the diffusion of organic and inorganic solutes was decreased by factors between three and eight fold across the mucus of different species whose the polychaete *Melinna cristata* compared to ambient sediment. This matched with the lower *in situ* rates of sediment reworking with depth highlighted by Bernard *et al.* (2014) when *M. palmata* was abundant in the Arcachon bay. Authors explained the low sediment reworking by the network of tubes created by *M. palmata* individuals which may have affected the movements of other species (Brenchley, 1982). *M. palmata* does not correspond to any description of functional groups of bioturbation presented by François *et al.* (1997), Gerino *et al.* (2003), Solam and Whigham (2005) and Kristensen *et al.* (2012). Upward conveyors transport particles from depth to the sediment-water interface; conversely downward conveyors transport particles from the sediment-water interface to deeper sediments. Thus *M. palmata* cannot be qualified as upward or downward conveyor as specified in Queirós *et al.* (2013). Regenerators transfer essentially particles from depth to the sediment surface, and conversely when the structure collapses. The functional group that disturb only the sediment surface are the epifaunal biodiffusors, but *M. palmata* does not belong to epifauna and does not

perform biodiffusion of sediment particles. *M. palmata* performed a non-local transport of particles only on the sediment-water interface, except during the passage in the gut because the body of the organism is in the tube in the sediment column (**Figure III.4**). With the presence of the tube and the position of the gills in the overlying water, it is characterized by an absence of bioirrigation. Thus, this species does not belong to any existing functional group of bioturbation. Because of the conveying of particles on the sediment surface, we propose to name this new functional group of bioturbation *surface conveyor* (**Figure III.8**).

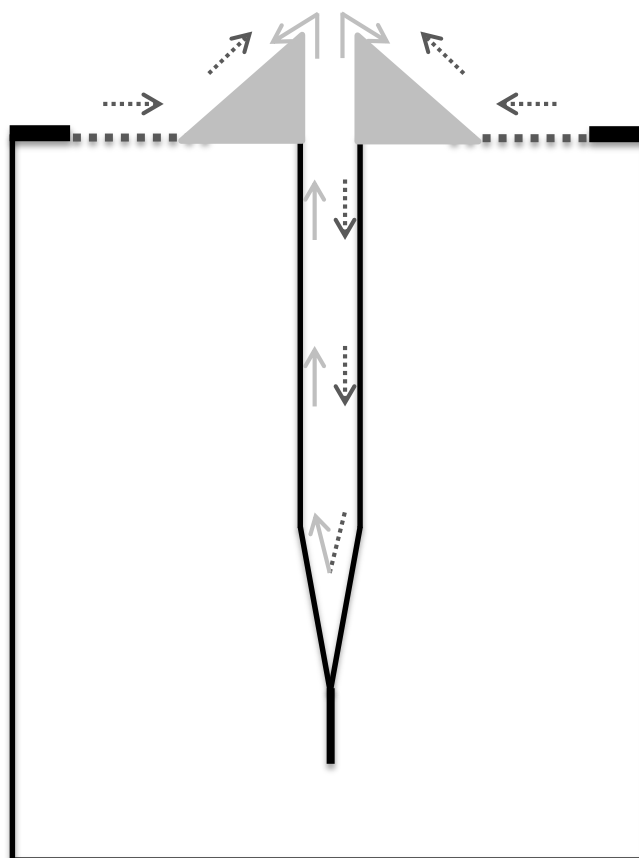


Figure III.8: Schematic representation of particle reworking by *Melinna palmata* proposed as a new type of functional group: surface conveyor. Sampled particles from the prospected area (dotted sediment surface) are represented by dotted arrows, which pass in the tube via the gut and are egested (solid grey arrows) on the faecal mound represented by grey triangles at the opening of the tube.

By exerting this interface sediment reworking mainly with its feeding behaviour, *M. palmata* creates three distinct micro-habitats. They were characterized by different physico-chemical properties, with an increase of oxygen penetration and a decrease of the incoming oxygen flux in the faecal mound which could be explained by the creation of uncompact sediment (Rhoads and Young, 1970). Conversely the decrease in the prospected area could correspond to the disappearance of a first thin layer of oxic sediment. With the decrease of organic contents in the bioturbated areas and the decrease of small particles in the prospected area, the creation of these different physico-chemical

micro-habitats could also be explained by the feeding behaviour (prospection and egestion). In the prospected area, it just remained largest particles.

In these different micro-habitats, bacterial community composition obtained by ARISA was different, and an increase of bacterial diversity, based on Simpson's index, was observed on the prospected area. An increase of meiofaunal diversity was observed in the feeding area of the polychaete *Streblosoma bairdi* (Warwick *et al.*, 1986). Olafsson *et al.* (1990) observed around tubes of *M. palmata* a structuration of copepod abundance between the three zones, but not for the nematode diversity and trophic structure. Consistent with the intermediate disturbance hypothesis (Grime, 1973), the prospecting *M. palmata* likely enhanced the bacterial diversity in the prospected area. By removing part of the bacterial biomass, *M. palmata* prospection forms a moderate disturbance that favours the co-occurrence of new bacteria colonizing the sediment, and of old taxa that maintained themselves despite grazing. This could cause modifications of biogeochemical processes as an increase of nutrient recycling at the sediment-water interface, which is already a hotspot of these biogeochemical processes (Graf, 1989; Henrichs 1992).

More than 30 studies have investigated the effect of macrofauna bioturbation on the bacterial abundance, biomass, structure or activity (**Table III.3**). A large number of species were used, belonging to different functional groups of bioturbation. In most cases, comparisons were made with depth, most of the time to compare bacterial abundance, structure or activity between burrow walls, with ambient oxic and anoxic sediment (e.g. Dobbs and Guckert, 1988a; Laverock *et al.*, 2010; Pischedda *et al.*, 2011). Gilbertson *et al.* (2012) worked on the sediment surface but without distinction of zones. Dobbs and Guckert (1988b) and Wilde and Plante (2002) were the only ones to distinguish faecal mounds with respectively feeding depressions (up to 5 cm deep) and ambient surface sediments for two enteropneusts. Dobbs and Guckert (1988b) found no differences between faecal mound and depressions of *Ptychodera bahamensis* in median grain size, percentages of silt-clay, chlorophyll *a* and phaeophytin and meiofauna abundances, but viable microbial measures were 30 % lower in the faecal mounds than in the depression. Wilde and Plante (2002), with another Enteropneust *Balanoglossus aurantiacus*, found differences in bacterial assemblages from the faecal mound and the ambient sediment.

Table III.3: Summary of studies on impacts of macrofaunal bioturbation on microbial abundance, biomass, structure or activity with the biological model used and the sediment sampling procedures. UC: upward conveyor; DC: downward conveyor; GD: gallery diffusor; B: biodiffusor; N: nitrogen; C: carbon; S: sulfur.

Biological model	Bioturbation mode	Study type		Impact on bacterial				Comparison with		References
		Experimental	<i>In situ</i>	Abundance biomass viability	Production	Activity	Structure	depth	surface only	
Polychaeta										
<i>Heteromastus filiformis</i>	UC	X		X				X		1
<i>Capitella capitata</i>	UC/DC	X		X	X			Tubes		2
<i>Amphicteis</i> sp.	UC/DC		X	X				X		3
<i>Arenicola marina</i>	UC	X	X	X			X	X		4, 5, 7, 11, 12
<i>Hediste diversicolor</i>	GD	X	X	X		N	X	X		8, 10, 13, 14, 16, 17
<i>Alitta virens</i>	GD	X	X	X			X	X		13, 15
<i>Notomastus lobatus</i>	UC		X	X			X	X		6
<i>Branchyoasicus americana</i>	UC		X	X			X	X		6
<i>Diopatra cuprea</i>	TD			X			X	Tubes		9
Bivalvia										
<i>Macoma balthica</i>	B	X		X				X		1, 15
<i>Tellina texana</i>	B	X		X				X		1
<i>Mya arenaria</i>	B	X	X	X				X		15, 19
<i>Arctica atlantica</i>	B	X		X				X		18
<i>Cerastoderma edule</i>	B	X	X	X				X		7, 8, 10

Gastropoda								
<i>Hydrobia ulvae</i>	SB	X		X	N		X	17
Crustacea								
<i>Corophium volutator</i>	GD	X		X	N		X	8, 10, 17
<i>Pestarella tyrrhena</i>	GD		X	X		X	X	20
<i>Upogebia deltaura</i>	GD	X		X	N	X	X	21, 22, 23
<i>Upogebia major</i>	GD	X	X	X	X		X	30
<i>Uca crenulata</i>			X	X		X	X	24
<i>Neotrypaea californiensis</i>	GD	X	X		N and S	X	X	24, 25, 26, 27
<i>Callianassa kraussi</i>	GD		X	X			X	31
<i>Callianassa trilobata</i>	GD		X	X		X	X	29
<i>Callianassa subterranea</i>	GD	X				X	X	21
<i>Biffarius arenosus</i>			X	X	X		X	28
Hemichordata								
<i>Balaglonossus aurantiacus</i>	UC		X	X	C		X	6, 32
<i>Ptychodera bahamensis</i>	UC		X	X		X	X	33

1: Aller and Yingst, 1985; 2: Alongi, 1985; 3: Aller and Aller, 1986; 4: Reichardt, 1988; 5: Grossman and Reichardt, 1991; 6: Steward *et al.*, 1996; 7: Goñi-Urriza *et al.*, 1999; 8: Mermillod-Blondin *et al.*, 2004; 9: Matsui *et al.*, 2004; 10: Mermillod-Blondin *et al.*, 2005; 11: Grossi *et al.*, 2006; 12: Andersen and Kristensen, 2002; 13: Papaspyrou *et al.*, 2006; 14: Cuny *et al.*, 2007; 15: Michaud *et al.*, 2009; 16: Pischedda *et al.*, 2011; 17: Gilbertson *et al.*, 2012; 18: Bussmann and Reichardt, 1991; 19: Hansen *et al.*, 1996; 20: Papaspyrou *et al.*, 2005; 21: Laverock *et al.*, 2010; 22: Laverock *et al.*, 2014; 23: Laverock *et al.*, 2013; 24: Bertics and Ziebis, 2009; 25: Bertics and Ziebis 2010; 26: Bertics *et al.*, 2010; 27: Bertics *et al.*, 2012; 28: Bird *et al.*, 2000; 29: Dobbs and Guckert 1988a; 30: Kinoshita *et al.*, 2003; 31: Branch and Pringle, 1987; 32: Wilde and Plante, 2002; 33: Dobbs and Guckert, 1988b.

In the frame of our work, bacterial community composition was also different between sediment and the organisms. This result could mean that *M. palmata* had its proper microbiota which differed from the ambient sediment, despite the presence of the gut in the organisms during analysis. This was also observed for other invertebrates as mussels (Frischer *et al.*, 2000), sponges (Gerçe *et al.*, 2011) or cockles (Meisterhans, 2012). The tube of *M. palmata* had a bacterial community composition significantly different from the sediment and from organisms as visible on the MDS (**Figure III.6A**). Our results were in agreement with Matsui *et al.* (2004) who found that the sulfate-reducing bacteria assemblage of the tube of the polychaete *Diopatra cuprea* was strongly influenced by the habitat, and not by the organism.

I.6. Conclusion

Description of *M. palmata*, its behaviour and its bioturbation allowed finding an organism which reworked the oxic layer of the very sediment-water interface, especially through its prospecting behaviour. This mode of bioturbation does not correspond to any functional group of bioturbation existing and has been called *Surface conveyor*. This surface conveying of particles induced the creation of two different micro-habitats, supporting distinctive bacterial communities while remaining in the oxic layer. The new structure of bacterial communities could be explained by a direct mixing by *M. palmata* of bacteria associated to particles, with some OTU which can be ingested, egested or not, from the gut or uncovered by prospection. But it can also be explained by an indirect reorganization of communities because of the modifications of their habitat and because of the easiness and non-destructive methods usable to sample the disturbed zones of the sediment-water interface. This biological model could be used to study evolution of microbial community composition and functions at more or less time scale, while avoiding the vertical stratification of microbial communities.

AKNOWLEDGMENTS

We thank Isabelle Svahn from the Bordeaux Imaging Center (BIC) – Electronic Microscopy Pole of the University of Bordeaux. We also thank Franck Salin, head of *Plateforme Genome-Transcriptome Pierroton* (INRA, Bordeaux, France) for ARISA analyses.

II. PARTIE 2 – Influence des cycles tidaux, de la photopériode et de la densité de population sur l'activité de *Melinna palmata*

II.1. Introduction

Melinna palmata est une espèce qui a une large distribution, boréo-méditerranéenne (Grehan, 1991), retrouvée dans les milieux côtiers à la fois en zone intertidale et en zone subtidale. Elle est donc soumise à différents facteurs environnementaux tels que les cycles tidaux et nycthéméraux. L'influence de la photopériode et de la marée sur l'activité a été montrée sur diverses espèces de différents groupes taxonomiques, notamment avec des études sur la chronobiologie des organismes marins. Par exemple sur le polychète *Alitta virens* où les rythmes d'enfouissement ou de sortie des galeries peuvent être liés aux cycles de marée, aux cycles d'alternance jour/nuit ou encore aux phases lunaires (Last *et al.*, 2009). Pour le mollusque bivalve *Crassostrea gigas*, les rythmes d'ouverture et de fermeture des valves sont principalement dus à une horloge circadienne, c'est-à-dire à l'alternance jour/nuit (Mat *et al.*, 2012). Par ailleurs, *M. palmata* peut être trouvée avec des densités élevées : jusqu'à $6745 \pm 2013 \text{ ind.m}^{-2}$ sur le site de prélèvement Germanan dans le bassin d'Arcachon (Massé, 2010 ; Bernard *et al.*, 2014). Des travaux ont montré l'importance et les conséquences de la densité de population sur l'activité, la bioturbation avec par exemple une diminution du taux de remaniement sédimentaire du polychète *Hediste diversicolor* en fonction de sa densité de population de $0,5 \text{ cm}^2.\text{an}^{-1}.\text{ind}^{-1}$ pour 144 ind.m^{-2} à $0,24 \text{ cm}^2.\text{an}^{-1}.\text{ind}^{-1}$ pour 1153 ind.m^{-2} (Duport *et al.*, 2006). Un impact sur les processus biogéochimiques à l'interface eau-sédiment a également été mis en évidence, avec par exemple une augmentation significative des flux d'ammonium en parallèle de la densité d'*Abra alba* (Braeckman *et al.*, 2010).

On peut alors se demander si ces facteurs modifient l'activité de *M. palmata* par rapport aux conditions expérimentales mises en œuvre dans la première partie. Connaître l'éventuel impact des cycles de marée et de photopériode ou encore de la densité d'individus a donc pour objectif de vérifier et quantifier les éventuelles surestimations ou sous-estimations de l'impact de la bioturbation de *M. palmata* sur l'interface eau-sédiment, mesuré à l'obscurité et en immersion totales dans la partie précédente.

Dans ce contexte, il s'agit ici de complexifier le système d'étude de la première partie et de se rapprocher des conditions *in situ* pour voir si l'activité de *M. palmata* observée précédemment est impactée par (1) l'alternance jour/nuit, (2) les cycles tidaux, et (3) le couplage alternance jour/nuit et cycles tidaux et (4) la densité de population.

Pour cela, une première série d'aquariums avec un individu dans chaque a été soumise à des cycles artificiels de marée et d'alternance jour/nuit. Une seconde série était constituée d'aquariums avec différentes densités de population. Ces densités correspondaient aux densités moyennes

retrouvées sur le site de prélèvement Germanan, dans la vase nue et dans l'herbier. Pendant les incubations, l'activité de *M. palmata*, la surface et le volume de sédiment remanié ont été mesurés.

II.2. Matériel et méthodes

II.2.a. Caractérisation de la population de *M. palmata* de Germanan

Comme décrit dans la partie **II.1.b.** du **chapitre II**, les tailles et poids de 343 individus de *M. palmata* provenant de Germanan, site de prélèvement des individus pour les différentes expérimentations, ont été mesurés.

II.2.b. Plans d'expériences

- **Photopériode et cycles de marée**

Quatre conditions expérimentales ont été testées sur 9 réplicats d'aquariums (**Figure III.9**) afin de déterminer l'influence de la photopériode et des cycles de marée sur l'activité et la bioturbation de *M. palmata* :

- (1) Condition *témoin* où les individus ont été constamment à l'obscurité et immergés pendant 7 jours
- (2) Condition *photopériode* où les individus ont été pendant 7 jours soumis chaque jour à 12 h de lumière artificielle (de 8 h à 20 h) puis 12h d'obscurité (de 20 h à 8 h).
- (3) Condition *cycles de marée* où les individus ont été soumis 7 jours à des cycles de marée semi-diurnes artificiels : deux marées hautes et deux marées basses par jour
- (4) Condition *photopériode + cycles de marée* où les individus ont été soumis à la fois à 12 h de lumière et 12 h d'obscurité et des cycles de marée : une marée haute et une marée basse entre 8 h et 20 h et un autre cycle entre 20 h et 8 h.

Pour cela, neuf réplicats d'aquariums (dimension interne : 11,5×17,5×6,5 cm) ont été remplis avec du sédiment provenant de Germanan (cf. **Figure II.3**) tamisé sur 1 mm, et placés en circuit d'eau ouvert dans une pièce thermostatée (température de l'eau : $15,3 \pm 1,2$ °C ; salinité : $29,2 \pm 1,2$). Après 10 jours d'équilibration, un individu de *M. palmata* a été ajouté au centre de chaque aquarium. Les individus ont été préalablement sortis de leur tube sous loupe binoculaire, pesés puis déposés délicatement sur l'interface eau-sédiment. L'acclimatation a duré 10 jours, le temps qu'ils fabriquent un nouveau tube et qu'ils s'enfoncent dans le sédiment. Ensuite, l'expérience à proprement parler a commencé. Pendant les incubations, chaque aquarium a été pris quotidiennement en photo pour mesurer la surface des zones de bioturbation. Dans la condition *témoin*, 6 réplicats d'individus ont été filmés pour déterminer l'activité et l'intensité d'activité. Pendant la condition *photopériode*, 6 individus ont été suivis. Pendant la condition *cycles de marée*, quatre individus ont été filmés.

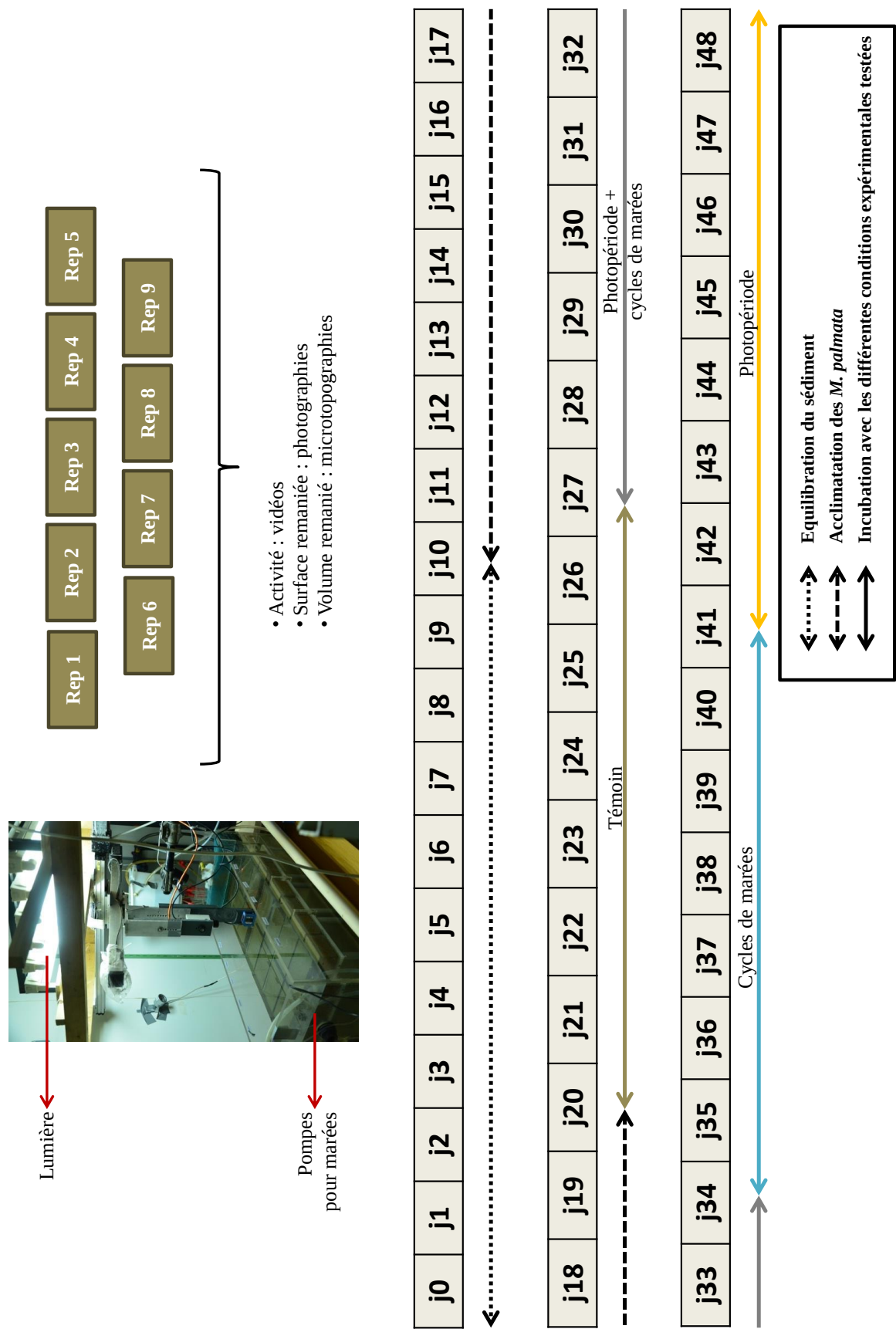


Figure III.9 : Dispositif expérimental mis en place pour suivre les effets de la photopériode et des cycles de marée sur l'activité et la bioturbation de *M. palmata*.

Enfin, pendant la condition *photopériode* + *cycles de marée*, 5 individus ont été filmés. Les microtopographies ont été réalisées sur quatre aquariums pour déterminer le volume de sédiment remanié pour chacune des conditions.

II.2.c. Densité de population

Comme décrit précédemment, 15 aquariums ont été remplis de sédiment puis laissés 10 jours à équilibrer en circuit ouvert (température de l'eau : $12,3 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$; salinité : $26,7 \pm 0,8$). Les individus de *M. palmata* ont ensuite été ajoutés selon quatre conditions de densité :

- (1) trois réplicats d'aquariums pour la condition « faible densité » avec un individu par aquarium, ce qui représente une densité de 50 ind.m^{-2} ;
- (2) quatre réplicats pour la condition « intermédiaire » avec 6 individus par aquarium, correspondant à une densité de 296 ind.m^{-2} ;
- (3) quatre réplicats pour la condition « vase nue » avec 24 individus par aquarium. Cette condition correspond à une densité de 1184 ind.m^{-2} , qui est la moyenne des densités observées dans la vase nue du site de prélèvement (Bernard *et al.*, 2014).
- (4) quatre réplicats pour la condition « herbier » avec 95 individus par aquarium, ce qui correspond à la moyenne des densités observées dans l'herbier à *Zostera noltei* du site de prélèvement, c'est à dire 4731 ind.m^{-2} (Massé, 2010 ; Bernard *et al.*, 2014).

Après 10 jours d'acclimatation, leur activité et le remaniement en surface induit ont été suivis pendant 20 jours. Pendant les 20 jours d'incubation, une photographie de chaque aquarium a été prise quotidiennement. Pour l'activité, deux individus de deux réplicats différents ont été filmés pour 50 ind.m^{-2} , 10 individus de quatre réplicats différents ont été filmés pour 296 ind.m^{-2} , 9 individus de trois réplicats pour 1184 ind.m^{-2} et 19 individus de quatre réplicats pour la condition de densité similaire à celle de l'herbier, 4731 ind.m^{-2} . Les microtopographies ont été réalisées sur un réplicat de la condition *faible densité*, un réplicat pour 296 ind.m^{-2} , deux réplicats pour 1184 ind.m^{-2} , et trois réplicats pour 4731 ind.m^{-2} . Le dispositif expérimental est présenté sur la **figure III.10**.

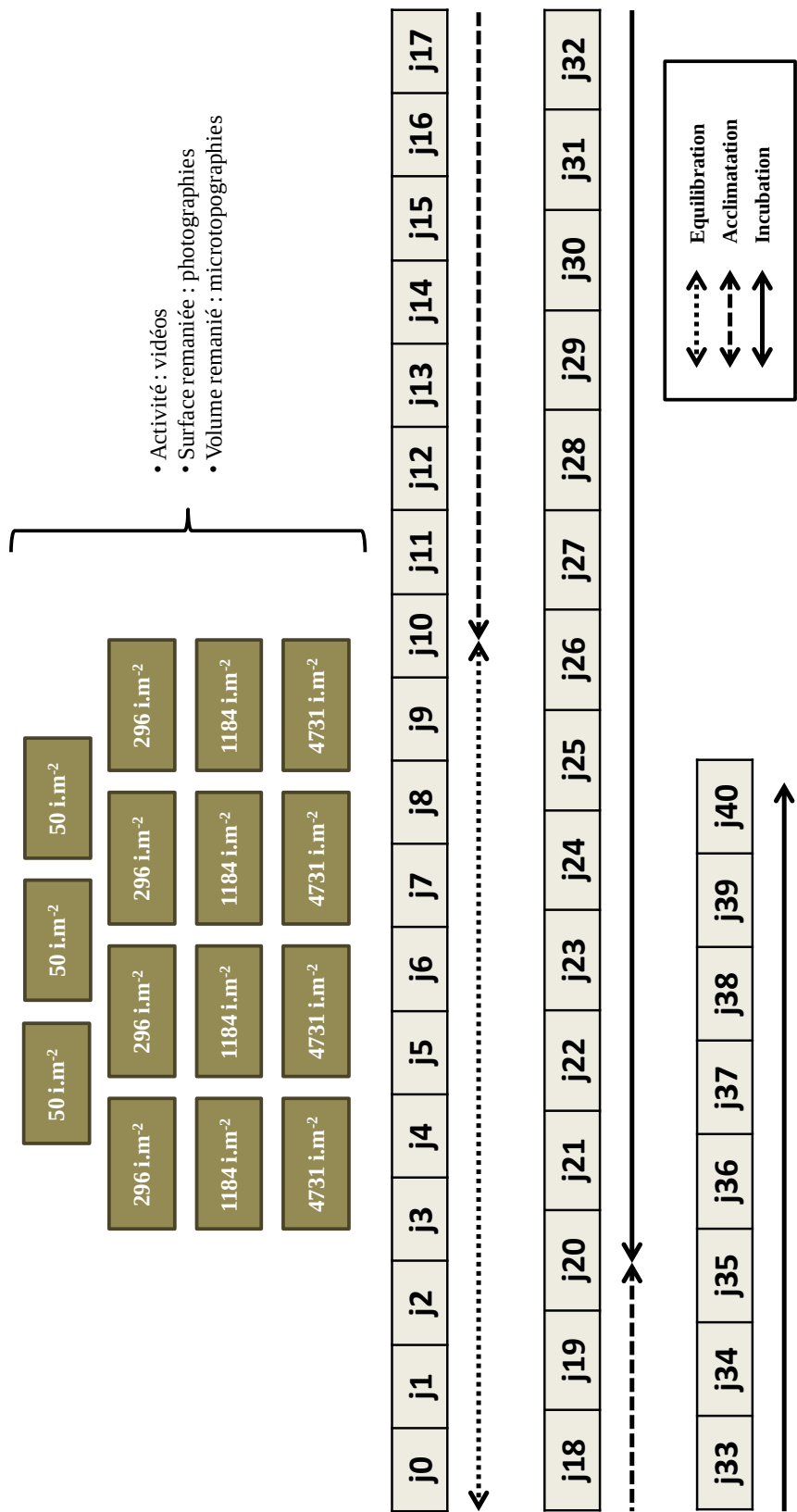


Figure III.10 : Dispositif mis en place pour suivre les effets de la densité de population sur l'activité et la bioturbation de *Melinna palmata*

II.2.d. Bioirrigation

La ventilation de *M. palmata* a également été mesurée, à partir de 6 carottes de sédiment avec respectivement zéro (deux carottes contrôles), un, deux, cinq et 10 individus. Ces densités correspondent respectivement à 0, 144, 289, 722 et 1443 ind.m⁻². Le détail de la mesure et de la modélisation qui suit cette mesure sont présentés dans la partie **III.3.b.** du **chapitre II**. La carotte avec un individu n'a pas pu être traitée, seuls les résultats pour zéro, deux, cinq et dix individus sont donc présentés.

II.3. Résultats

II.3.a. Biométrie de *Melinna palmata*

Le poids frais, le poids sec, la longueur et la largeur de 343 individus ont été mesurés. Les individus, prélevés au hasard, pesaient en moyenne $30,0 \pm 10,7$ mg PF (poids frais), $3,0 \pm 1,2$ mg PS (poids sec) et $0,36 \pm 0,14$ mg PSSC (poids sec sans cendres). Ils mesuraient $26,4 \pm 5,7$ mm de long et $1,6 \pm 0,6$ mm de large. Le poids frais était corrélé positivement au poids sec (Spearman, $\rho = 0,823$; $p < 0,01$) ainsi qu'à la longueur des individus (Spearman, $\rho = 0,739$; $p < 0,01$ – **Figures III.11**).

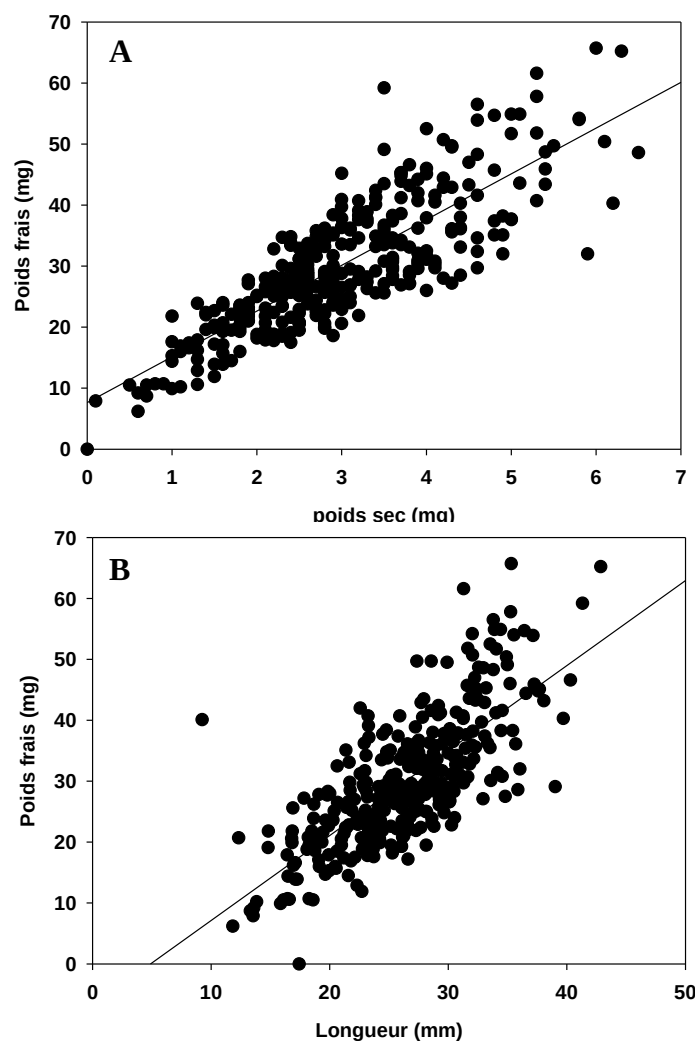


Figure III.11 : Relation entre (A) poids frais et poids sec ($R^2 = 0,68$) et (B) poids frais et longueur ($R^2 = 0,55$) de 343 individus de *Melinna palmata*.

II.3.b. Activité

- **Influence de la photopériode et des cycles de marée**

En condition témoin, la majorité du temps a été allouée à la prospection avec $90,7 \pm 20,5$ % du temps. Les individus sont restés immobiles $3,6 \pm 8,8$ % du temps, cachés $2,3 \pm 4,8$ % du temps, et les branchies mobiles $2,8 \pm 6,8$ % du temps. Seulement $0,6 \pm 1,1$ % du temps a été alloué à la maintenance de l'ouverture du tube. Enfin, la tête entraînait et sortait du tube $0,1 \pm 0,1$ % du temps. Un effet de la marée et de la photopériode sur le temps alloué à la prospection a été mesuré : le temps alloué à la prospection était plus faible lorsque les *M. palmata* étaient à la lumière avec $56,4 \pm 35,6$ % du temps pendant la condition « lumière », et $78,9 \pm 25,1$ % du temps pendant la condition « marée haute + lumière » (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$). Le temps de prospection était en revanche proche de la condition témoin lorsque les individus étaient à l'obscurité avec $89,1 \pm 14,4$ % du temps pendant la condition « marée » et $93,6 \pm 3,2$ % du temps pendant la condition « marée + lumière » (**Figure**

III.12). Toutes conditions de marée et de lumière confondues, le pourcentage total de temps de prospection lorsque *M. palmata* était soumis à l'alternance jour/nuit et aux cycles tidaux était de $45,9 \pm 46,3 \%$.

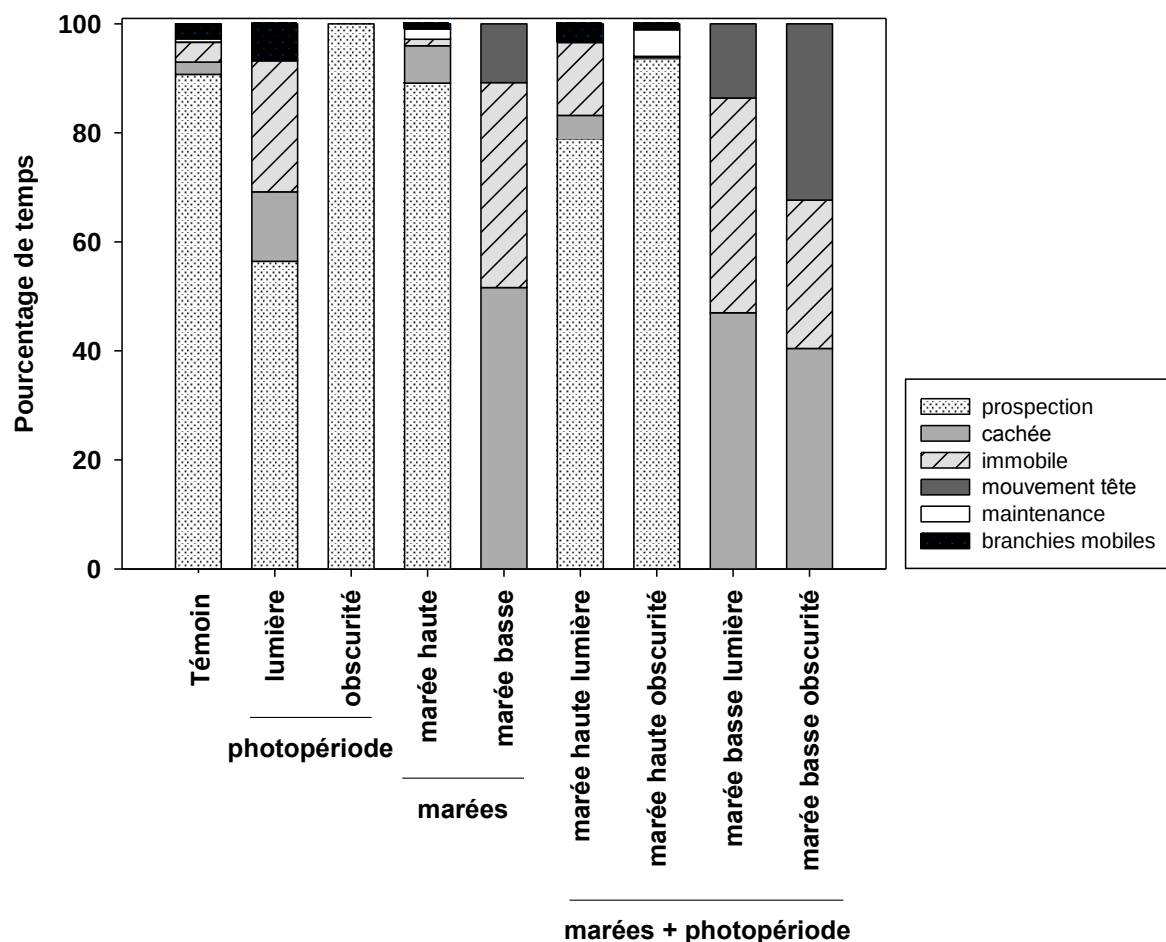


Figure III.12 : Pourcentage de temps alloué à chaque activité en fonction de la condition de lumière et de marée. Témoin : n=6 individus ; lumière : n=5 individus ; obscurité, n=2 individus ; marée haute : n=4 individus ; marée basse : n=5 individus ; marée haute lumière : n=4 individus ; marée haute obscurité : n=3 individus ; marée basse lumière : n=3 individus ; marée basse obscurité : n=3 individus.

Un des résultats inattendus de cette expérimentation est la possibilité d'égestion de *M. palmata* à marée basse. Le nombre d'égestions par heure a varié entre $0,20 \pm 0,05$ égestion.h⁻¹ à marée basse à la lumière et $1,89 \pm 0,18$ égestion.h⁻¹ à marée haute à l'obscurité. Il était significativement plus faible à marée basse qu'à marée haute, en revanche aucun effet de la lumière n'a été mis en évidence (PERMANOVA – **Figure III.13A**). Lorsque *M. palmata* était soumis à l'alternance jour/nuit et aux marées, il était en moyenne de $1,3 \pm 0,8$ égestion.h⁻¹.

C'est pour la condition témoin que l'intensité d'activité était la plus élevée avec $32,2 \pm 14,7$ cm².h⁻¹, de manière significative par rapport aux autres conditions (PERMANOVA, p(perm) < 0,05), sauf lorsque les individus étaient à la lumière avec $18,5 \pm 12,5$ cm².h⁻¹ (**Figure**

III.13B). Lorsque *M. palmata* était soumis à l'alternance jour/nuit et aux marées, l'intensité d'activité moyenne était de $9,9 \pm 11,2 \text{ cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ (données marée haute lumière, marée haute obscurité, marée basse lumière et marée basse obscurité moyennées).

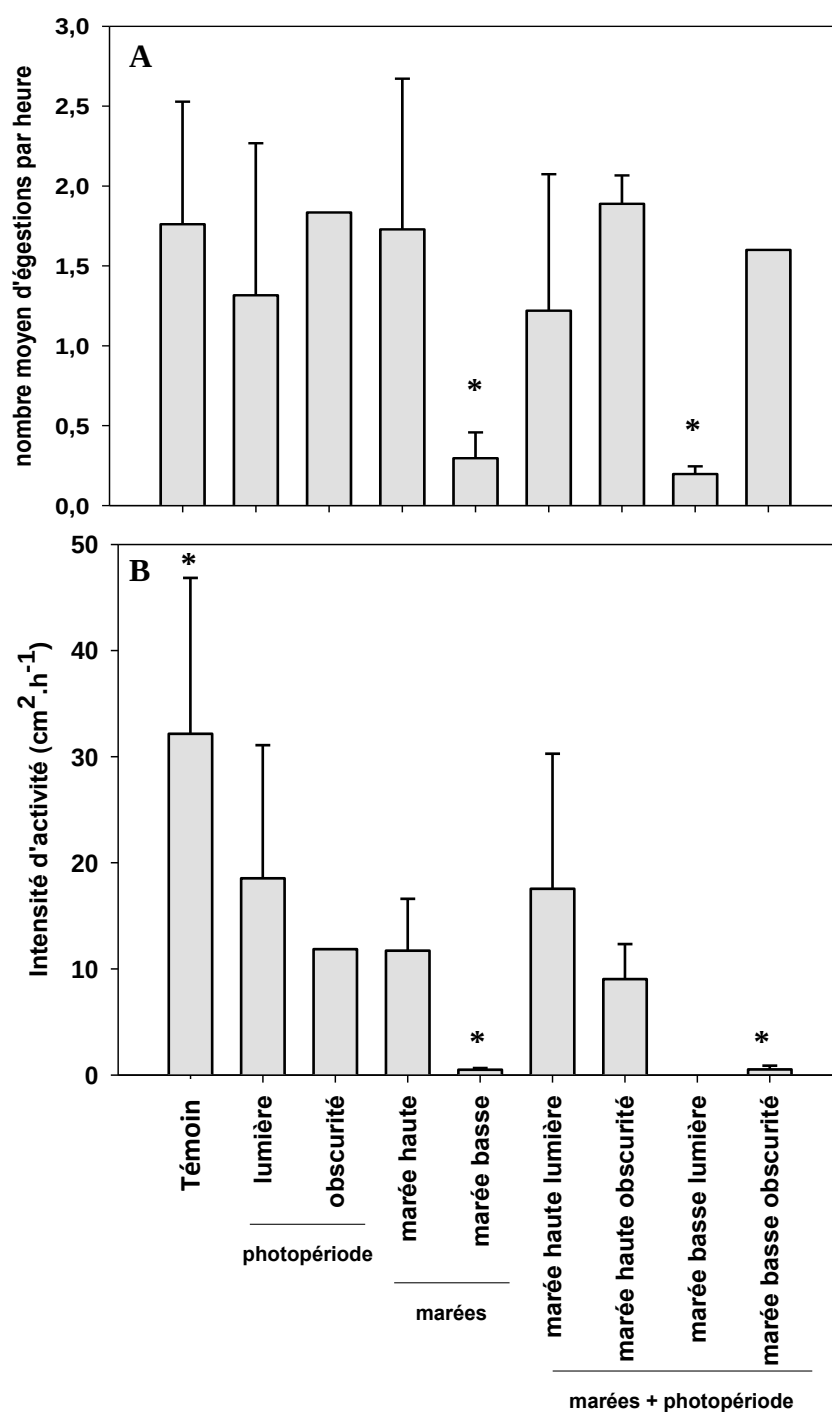


Figure III.13 : (A) Nombre moyen d'égestions par heure et par individu ; (B) intensité d'activité par individu $\pm$ écart-type. Témoin : n=6; lumière : n=5; obscurité, n=2; marée haute : n=4; marée basse : n=5; marée haute lumière : n=4; marée haute obscurité : n=3; marée basse lumière : n=3; marée basse obscurité : n=3. Les étoiles indiquent une différence significative (PERMANOVA).

• Influence de la densité de population

Quelle que soit la densité d'individus, les activités de *M. palmata* observées (**Figure III.14**) étaient les mêmes que celles décrites dans la première partie de ce chapitre. La plus grande partie du temps était allouée à la prospection, avec en moyenne $74,5 \pm 8,4$ % du temps pour les individus seuls (condition « faible densité », 50 ind.m^{-2}), $84,4 \pm 12,4$ % du temps pour 296 ind.m^{-2} , $87,0 \pm 16,8$ % du temps pour 1184 ind.m^{-2} , et $73,7 \pm 21,9$ % du temps pour 4731 ind.m^{-2} . Il était significativement plus faible pour à la fois la plus forte et la plus faible densité, que pour les deux densités intermédiaires (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$).

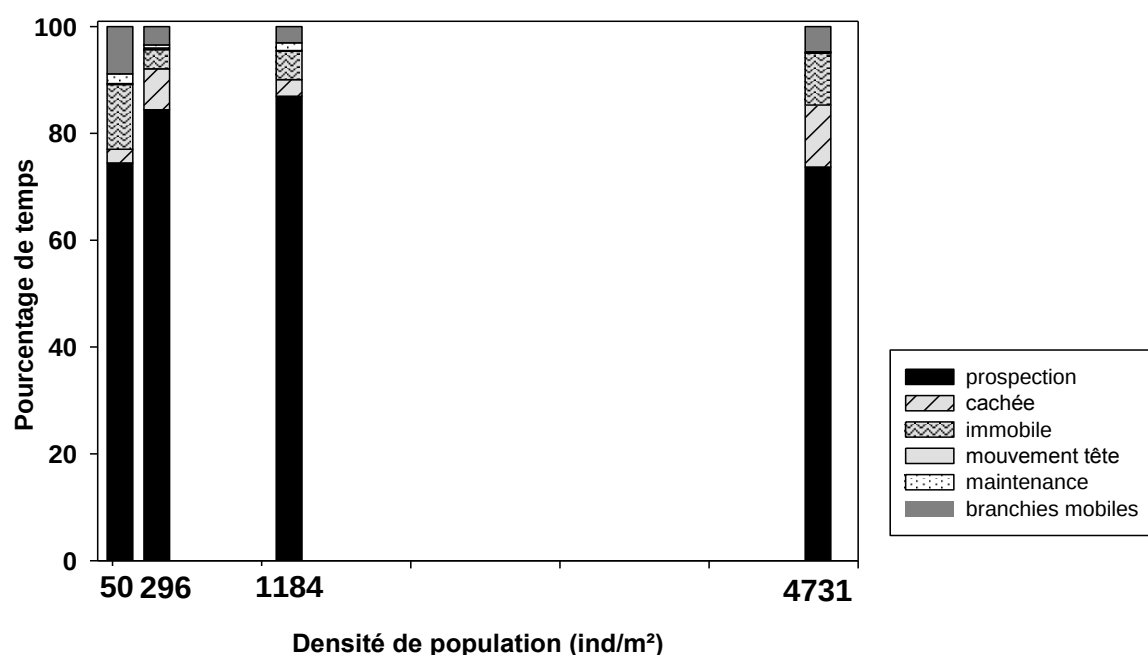


Figure III.14 : Pourcentage de temps alloué aux différentes activités en fonction de la condition de densité de population 50 ind.m^{-2} : $n=2$; 296 ind.m^{-2} : $n=10$; 1184 ind.m^{-2} : $n=9$; 4731 ind.m^{-2} : $n=19$.

Le nombre moyen d'égestions par heure était significativement plus faible pour la plus forte densité (4731 ind.m^{-2}) avec $0,76 \pm 0,26$ égestion. h^{-1} , que pour la plus faible densité avec $1,33 \pm 0,38$ égestions. h^{-1} , que pour 296 ind.m^{-2} avec $1,22 \pm 0,42$ égestions. h^{-1} , et que pour 1184 ind.m^{-2} avec $1,95 \pm 1,49$ égestion. h^{-1} (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$ – **Figure III.15A**).

L'intensité d'activité était significativement plus élevée pour la densité maximale avec $116,3 \pm 74,1 \text{ cm}^2\text{h}^{-1}$, que pour 296 ind.m^{-2} avec $23,1 \pm 14,1 \text{ cm}^2\text{h}^{-1}$ et « faible densité » avec $8,0 \pm 9,8 \text{ cm}^2\text{h}^{-1}$ (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$). Pour 1184 ind.m^{-2} , l'intensité d'activité était proche de celle pour la densité maximale avec $108,3 \pm 95,4 \text{ cm}^2\text{h}^{-1}$ (données non montrées). En ramenant les intensités pour un individu, il n'y a pas d'effet significatif de la densité de population (PERMANOVA, $p(\text{perm}) > 0,05$), mais c'était pour la plus forte densité que l'intensité d'activité était la plus faible avec $1,9 \pm 1,2 \text{ cm}^2\text{h}^{-1}$, puis pour 296 ind.m^{-2} avec $5,9 \pm 3,6 \text{ cm}^2\text{h}^{-1}$, puis pour

1184 ind.m⁻² avec $6,9 \pm 6,1$ cm².h⁻¹, et enfin l'intensité d'activité par individu était la plus élevée pour la condition « faible densité » (50 ind.m⁻²) avec $8,0 \pm 9,8$ cm².h⁻¹ (**Figure III.15B**)

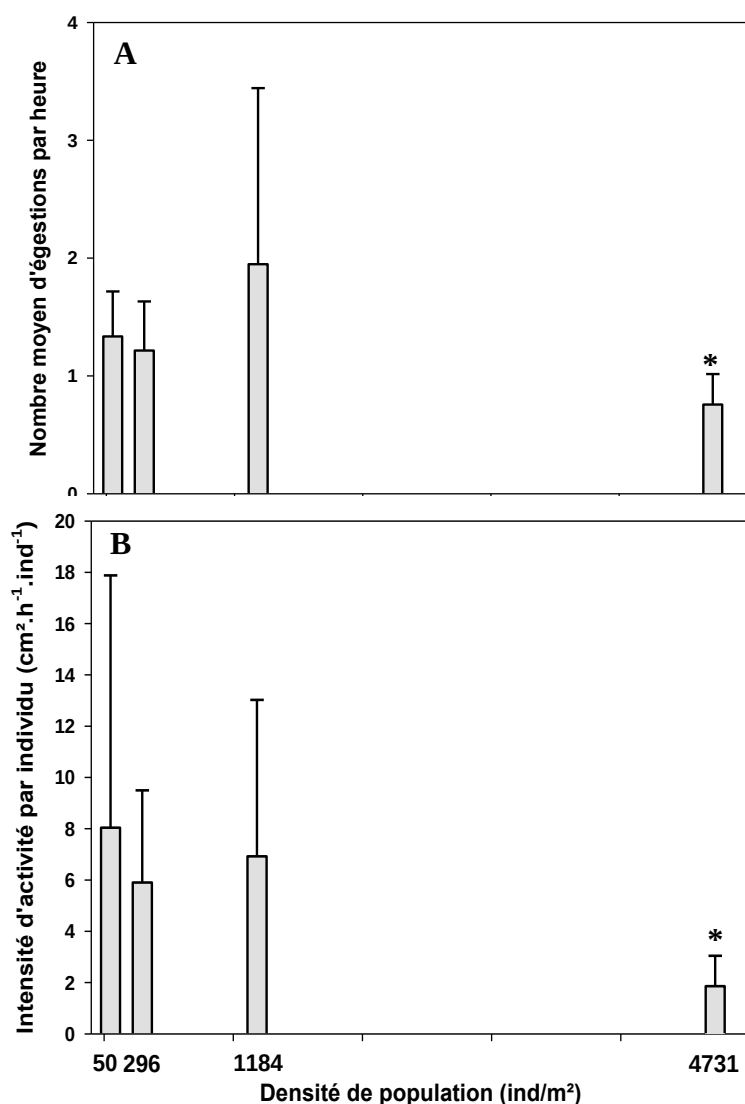


Figure III.15 : (A) Nombre moyen d'égestions par heure et (B) intensité d'activité $\pm$ écart-type. 50 ind.m⁻² : n=2 ; 296 in.m⁻² : n=10 ; 1184 ind.m⁻² : n=9 ; 4731 ind.m⁻² : n=19. L'étoile signifie une différence significative (PERMANOVA).

II.3.c. Remaniement sédimentaire de l'interface eau-sédiment

• Influence de la lumière et de la marée

Des exemples de zones de bioturbation d'un aquarium à marée haute et marée basse sont visibles sur les photographies de la **figure III.16**.

Concernant la surface de sédiment remanié, en condition témoin sans marée ni lumière, les cônes fécaux mesuraient en moyenne $9,6 \pm 4,6$ cm² et les zones de prospection $32,1 \pm 7,7$ cm². Après 7

jours sous influence des marées et de la photopériode, les cônes fécaux mesuraient en moyenne $10,6 \pm 4,6 \text{ cm}^2$ et les zones de prospection $43,8 \pm 13,6 \text{ cm}^2$. Avec seulement l'influence des marées, les cônes fécaux mesuraient en moyenne $14,9 \pm 11,0 \text{ cm}^2$ et les zones de prospection $50,4 \pm 15,8 \text{ cm}^2$. Enfin, avec l'alternance jour/nuit sans marée, les cônes fécaux mesuraient en moyenne $13,3 \pm 5,0 \text{ cm}^2$ et les zones de prospection $50,7 \pm 17,8 \text{ cm}^2$. Aucune différence significative entre les tailles des cônes fécaux n'a été mesurée. En revanche, un effet de la photopériode ainsi que de la marée ont été mesurés pour les zones de prospection, avec celles de la condition témoin qui étaient significativement plus petites que pour les trois autres conditions (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$ – **Figure III.17**).

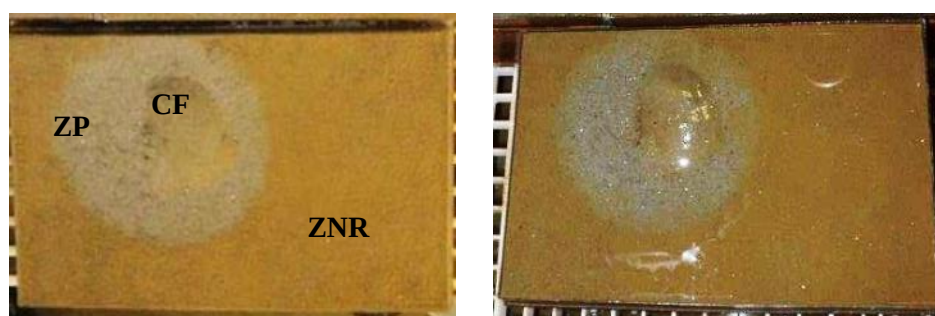


Figure III.16 : Photographie d'un même aquarium : à gauche à marée haute et à droite à marée basse. CF : cône fécal ; ZP : zone de prospection, ZNR : zone non remaniée.

Les résultats du volume de sédiment remanié ne sont pas présentés ici car ils ont été surestimés par les marées, ne permettant pas d'isoler le remaniement sédimentaire de *M. palmata*. Seules les valeurs de la condition témoin et les mesures de l'effet de la photopériode n'ont pas été surestimées avec $65,5 \pm 26,6 \text{ mm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ pour l'obscurité et l'immersion constantes, $76,0 \pm 3,9 \text{ mm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ à l'obscurité pendant les mesures des effets de la photopériode, et $93,8 \pm 23,2 \text{ mm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ à la lumière. Aucune différence significative entre ces trois valeurs de remaniement sédimentaire n'a été observée.

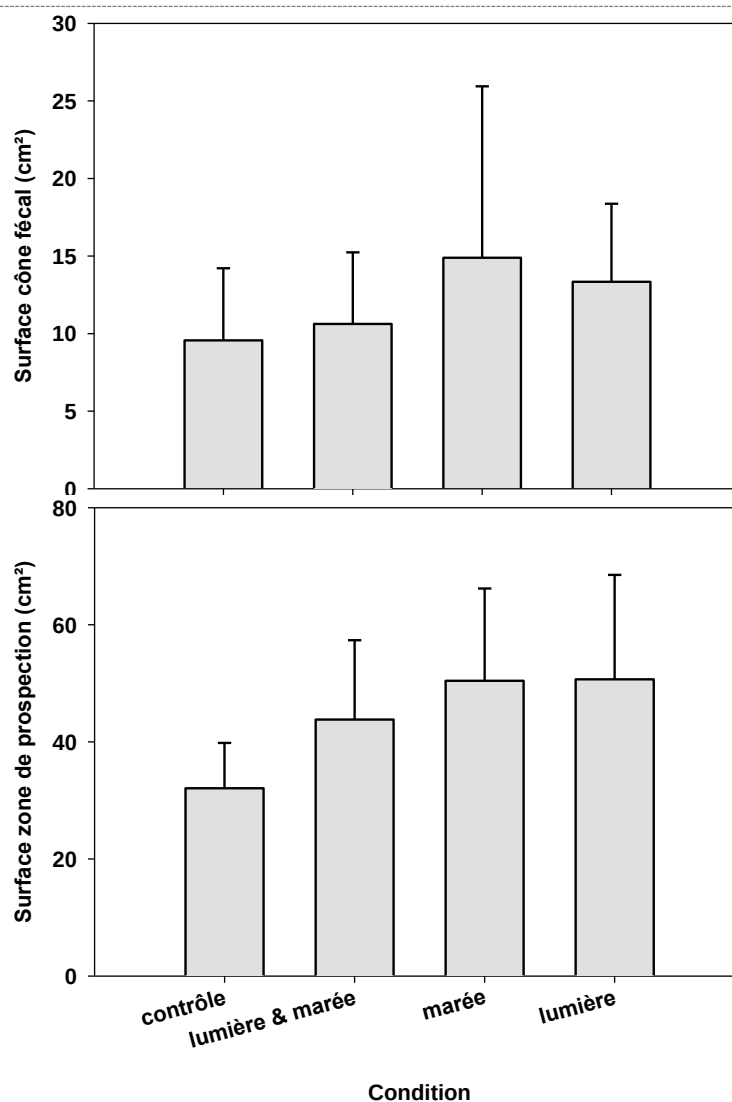


Figure III.17 : Surface des cônes fécaux et des zones de prospection des aquariums soumis aux différentes conditions de marée et de lumière.

• Influence de la densité de population

Des exemples d'interfaces eau-sédiment de quatre aquariums correspondant aux quatre densités sont présentés sur la **figure III.18**.

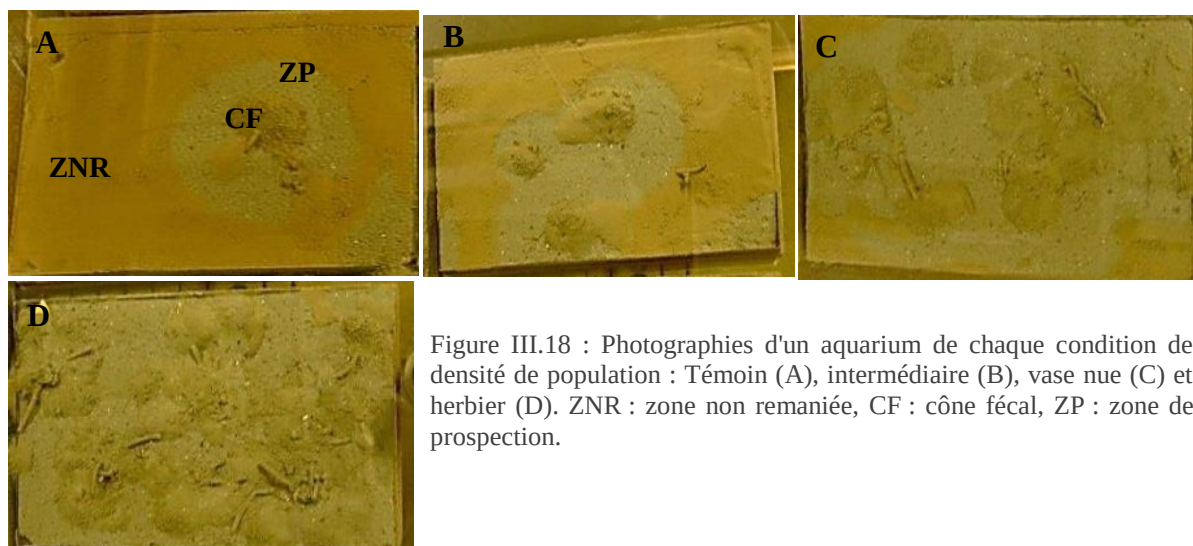


Figure III.18 : Photographies d'un aquarium de chaque condition de densité de population : Témoin (A), intermédiaire (B), vase nue (C) et herbier (D). ZNR : zone non remaniée, CF : cône fécal, ZP : zone de prospection.

Les surfaces totales de cônes fécaux étaient significativement plus faibles pour 50 ind.m⁻² avec 12,7 ± 1,7 cm², 52,6 ± 13,3 cm² pour 296 ind.m⁻², 103,5 ± 24,5 cm² pour 1184 ind.m⁻² et 145,6 ± 10,0 cm² pour 4731 ind.m⁻² (PERMANOVA, p(perm) < 0,05). La surface totale de zone de prospection était significativement plus faible pour la plus faible densité avec 25,1 ± 17,1 cm² que pour les trois autres conditions avec 68,8 ± 24,9 cm² pour 296 ind.m⁻², 86,9 ± 24,5 cm² pour 1184 ind.m⁻² et 55,7 ± 10,0 cm² pour 4731 ind.m⁻² (PERMANOVA, p(perm) > 0,05 – données non montrées). Les surfaces individuelles étaient les plus élevées pour la condition avec 50 ind.m⁻². La surface du cône fécal comme de la zone de prospection a diminué avec l'augmentation de la densité. La surface du cône fécal a diminué à 8,8 ± 2,2 cm².ind.⁻¹ pour 296 ind.m⁻², à 4,3 ± 1,0 cm².ind.⁻¹ pour 1184 ind.m⁻², et à 1,5 ± 0,1 cm².ind.⁻¹ pour 4731 ind.m⁻². La surface de la zone de prospection est passée de 11,5 ± 4,2 cm².ind.⁻¹ pour 296 ind.m⁻², à 3,6 ± 1,0 cm².ind.⁻¹ pour 1184 ind.m⁻², et à 0,6 ± 0,1 cm².ind.⁻¹ pour 4731 ind.m⁻². Un effet de la densité a été mesuré, avec les surfaces des cônes fécaux et des zones de prospection individuelles significativement plus petites pour 1184 ind.m⁻² et pour 4731 ind.m⁻² que pour les deux autres densités (PERMANOVA, p(perm) < 0,05 – **Figure III.19**).

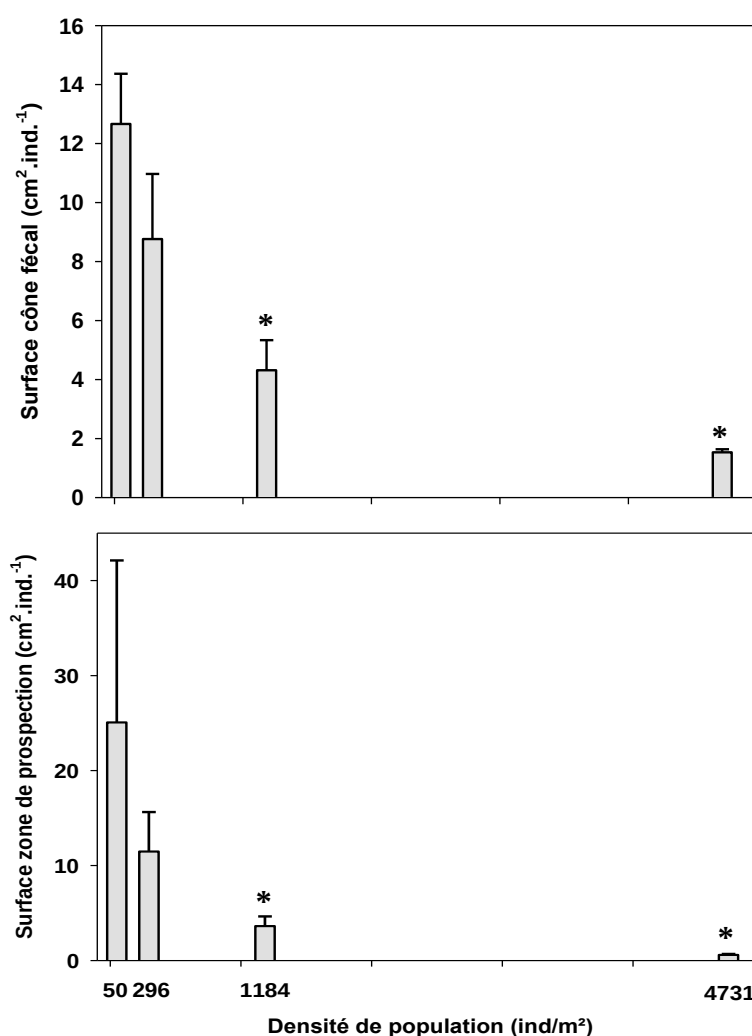


Figure III.19 : Surfaces de la zone de prospection et du cône fécal en fonction de la densité de population.

Un effet de la densité de population a été mesuré sur le volume de sédiment remanié, avec des valeurs significativement plus élevées pour 296 ind.m⁻² (284,6 mm³.h⁻¹), que pour 50 ind.m⁻² avec 103,4 ± 61,6 mm³.h⁻¹ et pour la densité la plus élevée avec 52,2 ± 3,0 mm³.h⁻¹ (PERMANOVA, p(perm) < 0,05). Ce volume remanié était intermédiaire pour 1184 ind.m⁻² avec 206,6 ± 121,2 mm³.h⁻¹ (non montré). Pour le remaniement individuel, un effet significatif de la densité a également pu être mesuré, mais les comparaisons deux à deux n'ont pas permis de discriminer les densités deux à deux. C'est pour 296 ind.m⁻² que le volume de sédiment remanié a été le plus important, avec 384,6 mm³.h⁻¹.ind⁻¹, puis pour 50 ind.m⁻² avec 103,6 ± 61,6 mm³.h⁻¹.ind⁻¹, ensuite pour 1184 ind.m⁻² avec 69,8 ± 40,9 mm³.h⁻¹.ind⁻¹, et enfin pour 4731 ind.m⁻² avec 4,4 ± 0,2 mm³.h⁻¹.ind⁻¹ (**Figure III.20**).

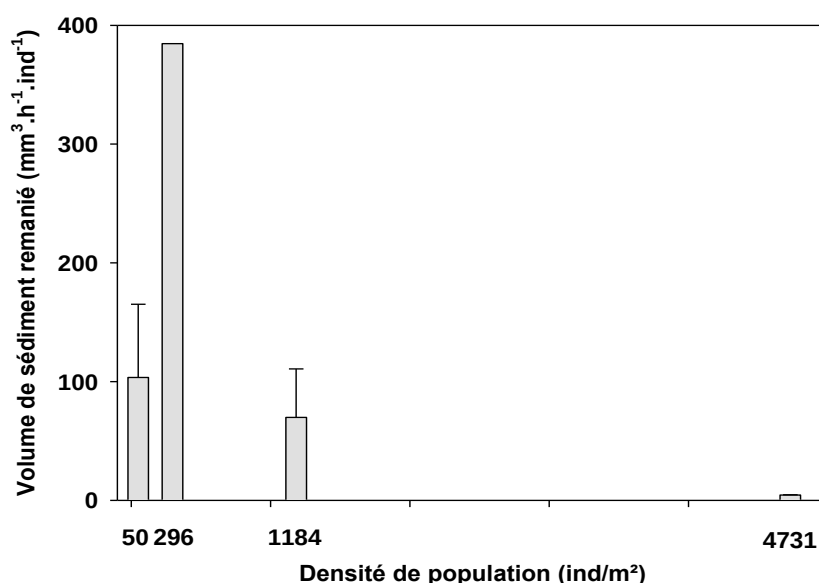


Figure III.20 : Volume de sédiment remanié suivant la densité de population, par individu.

II.3.d. Bioirrigation de *Melinna palmata*

Le coefficient de bioirrigation Q1 correspondant à la pente maximale de décroissance de la concentration en fluorescéine en début d'incubation était maximal pour 10 individus avec 1,43 mL.h⁻¹ et minimal pour deux individus avec 0,96 mL.h⁻¹. Cette valeur est supérieure au Q1 moyen des deux carottes témoins : 1,21 ± 0,70 mL.h⁻¹. Le second coefficient de bioirrigation Q2 calculé à partir de la seconde pente de décroissance (cf. partie **III.3.b. chapitre II**) a peu varié avec le nombre d'individus. Il était maximal pour 5 individus avec 0,50 mL.h⁻¹ et minimal pour deux individus avec 0,20 mL.h⁻¹, ce qui est inférieur au Q2 moyen des deux carottes témoins avec 0,34 ± 0,07 mL.h⁻¹ (**Figure III.21**).

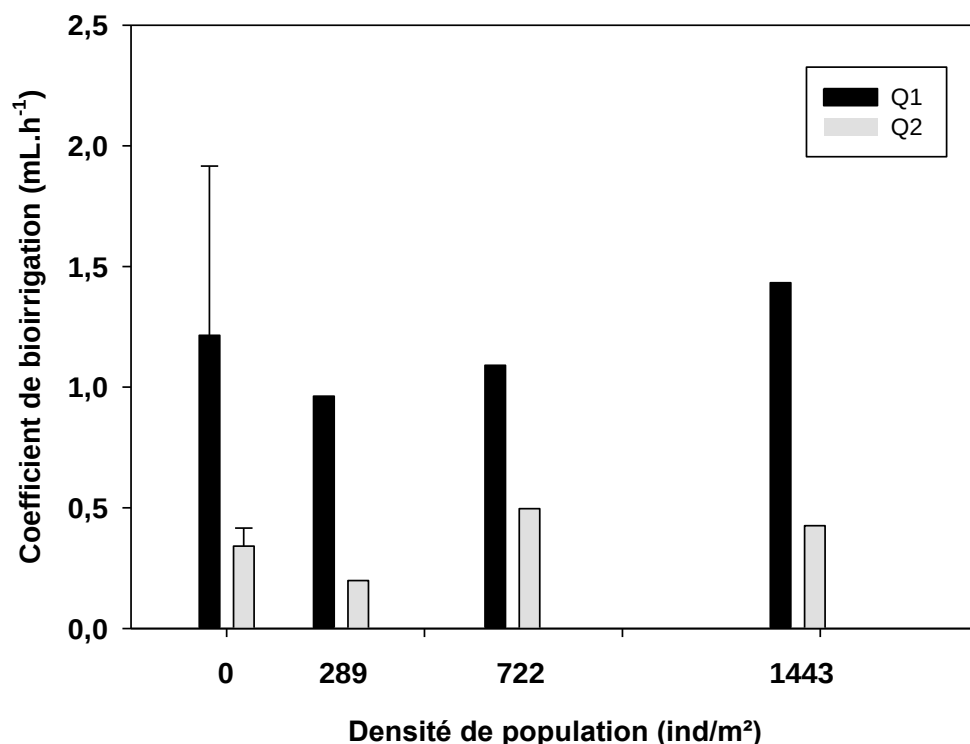


Figure III.21 : Coefficients de bioirrigation mesurés pour différentes densités de *Melinna palmata*.

II.4. Discussion

II.4.a. Les cycles tidaux et l'alternance jour/nuit influencent l'activité de *Melinna palmata*

Un effet significatif de l'éclairement a pu être mis en évidence sur le temps alloué par *M. palmata* à la prospection de l'interface eau-sédiment. Ce temps était en effet plus important à l'obscurité qu'à la lumière. Ceci s'est vérifié par rapport à la condition témoin, mais aussi avec une photopériode, et photopériode avec des marées. La marée a également eu un effet significatif sur l'activité des organismes. En effet, sans eau, *M. palmata* ne peut plus prospecter l'interface eau-sédiment. Le temps moyen de prospection est donc passé de plus de 90 % sans lumière et sans marée, à 46 % avec une alternance jour/nuit et des cycles de marée. Grémare (1988) et Miron *et al.* (1991) ont pu observer chez deux polychètes, respectivement *Eupolymnia nebulosa* et *Alitta virens*, que l'activité de nutrition avait lieu quasi exclusivement à l'obscurité. Au contraire, Lindqvist *et al.* (2013) ont montré que *Hediste diversicolor* était environ 30% moins actif à l'obscurité que sous un régime de 12 h de lumière et 12 h d'obscurité. Des travaux sur l'activité du mollusque gastéropode *Hydrobia ulvae* était plus actif lors des phases d'immersion (Little & Nix, 1976 ; Orvain & Sauriau, 2002). Dans le bassin d'Arcachon, les densités les plus fortes recensées (Bernard *et al.*, 2014) sont retrouvées dans la zone intertidale, là où les individus sont soumis aux cycles nycthéméraux et aux cycles de marée. Il est donc important de prendre en compte l'impact de ces facteurs.

Melinna palmata est également retrouvée en zone subtidale, comme par exemple en Manche (Dauvin *et al.*, 2007), dans le port de Brest (Guillou & Hily, 1983) ou dans le bassin d'Arcachon (Bachelet *et al.*, 1996), et jusqu'à plus de 380 m de profondeur au nord de l'Europe (Holthe, 1986). Des conditions sans marée et sans lumière ne sont donc pas des conditions forcées qui modifient complètement l'activité de *M. palmata*. En effet, malgré une modification des temps alloués aux différentes activités, le patron des activités reste le même : l'activité pour laquelle le plus de temps est alloué reste la prospection. Nos observations montrent que la zone de prospection et le cône fécal restent visibles suggérant un maintien des structures et donc des différences de propriétés sédimentaires et de structure des communautés bactériennes.

En revanche, la marée influence également directement l'interface eau-sédiment et notamment sa microtopographie. En effet, un facteur 20 a été mis en évidence entre le volume de sédiment remanié uniquement par *M. palmata* (mesuré en condition de faible densité) avec $65,5 \pm 26,6 \text{ mm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, et le volume de sédiment remanié par *M. palmata* et par la marée avec jusqu'à $1427,4 \pm 801,7 \text{ mm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$. Les observations des films et les mesures des surfaces des zones de bioturbation ont montré que la marée descendante avait tendance à étaler davantage les zones de bioturbation, et la marée montante à remettre en suspension les particules avec une zone de prospection qui mesurait en moyenne $32,1 \pm 7,7 \text{ cm}^2$ en condition de faible densité et $50,7 \pm 17,8 \text{ cm}^2$ avec la photopériode et les cycles de marée. Il a effectivement été montré que les dépositivores de surface, en remaniant intensément les premiers centimètres du sédiment, font que cette couche est plus facilement remise en suspension par les courants de marée (Rhoads & Young, 1970). Il pourrait donc y avoir un effet direct sur la structure des communautés bactériennes, avec l'érosion des cellules bactériennes due aux courants, comme cela a pu être montré par Blanchard *et al.* (1997).

II.4.b. Influence de la densité de population

Un effet de la densité de population sur l'activité de *M. palmata* a été observé. De 1 à $1184 \text{ ind} \cdot \text{m}^{-2}$ (densité observée dans la vase nue), le temps moyen alloué à la prospection a augmenté de $74,5 \pm 8,4\%$ à $87,0 \pm 16,8\%$. Pour la plus forte densité observée dans l'herbier ($4371 \text{ ind} \cdot \text{m}^{-2}$), le temps moyen alloué à la prospection était le même que pour un individu seul avec $73,7 \pm 21,9\%$. Ceci a également été observé pour l'activité d'égestion, avec le plus faible nombre d'égestions par heure pour la plus forte densité ($0,76 \pm 0,26 \text{ égestion} \cdot \text{h}^{-1}$), ainsi que pour le volume de sédiment remanié ($52,2 \pm 3,0 \text{ mm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$). Ce patron de diminution de l'activité individuelle avec l'augmentation de la densité a été observé sur l'intensité du remaniement sédimentaire du diffuseur à galerie *Hediste diversicolor* (Duport *et al.*, 2006) et la bioturbation de *Nephtys* sp. (Braeckman *et al.*, 2010).

Dans la condition « faible densité », avec un seul individu par aquarium, lorsque les organismes ne prospectaient pas le sédiment, ils étaient majoritairement visibles mais immobiles. Avec densité de l'herbier, les organismes étaient majoritairement cachés ($11,6 \pm 12,6\%$ du temps) dans

leur tube et donc non visibles lorsqu'ils ne prospectaient pas. Ceci pourrait s'expliquer par la présence d'un réseau de tubes complexe dans le sédiment (95 tubes dans 1,3 L de sédiment), qui nécessite certainement plus d'entretien à l'intérieur du tube que lorsque l'individu est seul ou que le réseau est moins complexe. Les densités importantes d'espèces tubicoles, en induisant ces réseaux complexes de tubes dans les sédiments influencent l'installation et le déplacement des autres espèces dans le sédiment (Branchley, 1982). Dans le bassin d'Arcachon, sur le site de Germanan où les individus ont été récoltés, les fortes abondances de *M. palmata* et le réseau de tubes associé sont corrélés aux faibles intensités de remaniement sédimentaire en profondeur, montrant le rôle stabilisateur de cette espèce (Bernard *et al.*, 2014). Dans cette étude, l'augmentation de la densité d'individus a induit une augmentation de la surface totale des cônes fécaux, et donc une diminution de la surface des zones de prospection. Cependant ce résultat est associé à une diminution de la surface individuelle de ces deux zones.

L'ensemble de l'interface eau-sédiment étant soit de la zone de prospection soit du cône fécal pour les deux plus fortes densités, les individus prospectaient donc indifféremment des particules soit de la zone de prospection, soit des cônes fécaux voisins. Ceci n'a pas été observé dans le cas d'individus isolés. Il y a donc un changement de l'activité de prospection de *M. palmata* avec l'augmentation de la densité. Des changements d'activité ont aussi été observés chez *Alitta virens*, et l'hypothèse du temps consacré à la consolidation des galeries à la place du temps de prospection a également été émise (Miron *et al.*, 1991).

Comme pour la marée et l'alternance jour/nuit, malgré une diminution du temps alloué à la prospection pour la plus forte densité de population, ce dernier reste tout de même supérieur à 70 %. Le patron d'activité de *M. palmata* n'est pas différent par rapport à l'étude présentée en première partie avec un individu par aquarium, constamment immergé et à l'obscurité. Les zones de prospection et les cônes fécaux restaient distincts sur l'interface eau-sédiment, mais le visionnage des enregistrements a montré que certains individus de *M. palmata* pouvaient prospecter dans le cône fécal d'un individu voisin lorsqu'ils ne pouvaient faire autrement. Il est donc probable que les communautés bactériennes de chacune des zones soient homogénéisées par ce phénomène, en raison d'un déplacement plus diffus des particules dû au nombre important d'individus actifs.

Différentes densités de population ont également été testées pour la bioirrigation, proche de la densité moyenne retrouvée dans la vase nue du site de Germanan (Bernard *et al.*, 2014). Le coefficient Q1 correspond aux premières minutes à heure(s) de l'expérimentation, il est donc plus lié à l'adsorption de la fluorescéine sur les particules organiques à l'interface eau-sédiment et dans les parois du tube. C'est certainement pour cela que le coefficient Q1 est le plus élevé pour la densité maximale : les tubes étant creux, de l'eau surnageante y entre et la fluorescéine peut s'adsorber sur les parois riches en composés organiques (mucus). Le coefficient Q2 est calculé à partir de la pente une fois que la fluorescéine est adsorbée. Il s'agit donc d'une valeur représentant mieux la bioirrigation de l'organisme. Quelle que soit la densité de population, le coefficient reste très faible (Q2 entre

0,2 mL.h⁻¹ pour deux individus et 0,5 mL.h⁻¹ pour cinq individus), soit supérieur au coefficient Q2 témoin sans individu à $0,34 \pm 0,07$ mL.h⁻¹, comparé à d'autres polychètes. Par exemple, lorsque *Hediste diversicolor* est dépositore, son coefficient de bioirrigation individuel est de 1,3 mL.min⁻¹, et lorsqu'il est suspensivore, de 3,1 mL.min⁻¹ (Christensen *et al.*, 2000). Nos résultats sont également à mettre en perspective de mesures de la bioirrigation faites dans l'herbier de *Zostera noltei* et dans la vase nue de Germanan dans le bassin d'Arcachon, site de prélèvement des individus et du sédiment. À partir de la même méthode, c'est-à-dire à partir de l'utilisation de fluorescéine et de sondes fluorimétriques, un coefficient de bioirrigation de $6,9 \pm 1,3$ mL.h⁻¹ a été mesuré dans l'herbier, et de $3,2 \pm 0,9$ mL.h⁻¹ dans la vase nue (Massé, 2010). Malgré les abondances élevées de *M. palmata* sur Germanan, il semblerait que la présence d'autres espèces de macrofaune mais aussi la présence de l'herbier permettent l'augmentation du coefficient de bioirrigation. En effet, la bioirrigation de *M. palmata* pourrait être considérée comme négligeable, étant donné que les valeurs sont proches voire parfois inférieures aux valeurs des témoins sans individu.

Il est important de rappeler que les deux densités maximales correspondent aux densités de population moyennes retrouvées sur Germanan, 1184 ind.m⁻² dans la vase nue, et 3741 ind.m⁻² dans l'herbier. Les mesures d'activité et de bioturbation à ces densités sont donc les plus proches de l'*in situ*. Il ressort de l'ensemble de nos mesures que l'augmentation de la densité de population limite le remaniement individuel de la couche de surface. Mais à cela est couplé un mélange moins orienté des particules que lorsqu'un individu est isolé. En effet des particules ingérées puis déposées sur le cône fécal d'un individu peuvent à nouveau être ingérées par un autre individu... etc. Ceci a donc probablement des conséquences sur la composition des communautés bactériennes qui doivent être plus homogènes entre les différentes zones.

III. Conclusions et perspectives

La première partie de ce travail a permis de montrer que *M. palmata* appartenait à un groupe de bioturbation qui n'avait pas encore été décrit : convoyeur de surface. En effet, tout le sédiment est prélevé en surface par prospection, puis, après passage dans le tube digestif, est déposé par égestion toujours en surface. Il n'y a donc un remaniement que des premiers millimètres oxygènes de l'interface eau-sédiment. Cette particularité fait de *M. palmata* un bon et innovant modèle d'étude du contrôle de la structure des communautés bactériennes par la bioturbation à la surface du sédiment. Il permet en effet de s'affranchir de la diversité fonctionnelle et taxonomique des communautés bactériennes induite par la stratification verticale des sédiments, et donc de déterminer directement l'impact de l'organisme bioturbateur sur la répartition des communautés bactériennes.

La seconde partie visait à tester l'influence de deux paramètres environnementaux : la lumière et la marée, ainsi que l'influence de la densité de population sur *M. palmata*. L'objectif était de complexifier le système pour se rapprocher des conditions de vie du polychète. Ce travail a montré une

diminution du temps de prospection et donc du nombre d'égestions ainsi que de l'intensité d'activité avec l'alternance jour/nuit et les cycles de marée par rapport à la condition d'obscurité totale sans marée du dispositif expérimental de la première partie. Un effet similaire sur le temps de prospection et le nombre d'égestions a été observé dans le cas de densités supérieures à 4000 ind.m⁻².

Malgré cela, aucun changement majeur de l'activité de *M. palmata* n'a été observé (diminution ou augmentation drastique du temps alloué à une activité, apparition ou disparition d'activités), sauf lorsque le polychète était dans l'incapacité de prospecter lors des phases d'émersion. Ces résultats confortent donc le bien fondé des expérimentations mises en place pour évaluer l'impact de la bioturbation de *M. palmata* sur la composition des communautés à l'interface eau-sédiment, même si les conditions expérimentales restent loin des conditions *in situ*. Par ailleurs, nous avons vu dans la première partie que l'activité de prospection de *M. palmata* crée un milieu perturbé, la zone de prospection. A cela s'ajoute les marées, la photopériode et la densité de population qui modulent cette perturbation. Selon l'hypothèse de perturbation intermédiaire (Grime, 1973), le niveau de perturbation contrôlerait la structure des communautés procaryotes avec (1) dans un milieu perturbé des stratégies *r* (MacArthur & Wilson, 1968) qui sont des espèces colonisatrices, généralistes et à fort taux de croissance, qui consomment la matière organique la plus labile et les monomères ; (2) dans un milieu non perturbé, comme la zone non remaniée, des stratégies *K* (MacArthur & Wilson, 1968) qui sont des espèces compétitrices et spécialistes, qui produisent des exo-enzymes permettant la consommation de matière organique plus réfractaire comme les polymères ; (3) dans un milieu où la perturbation est intermédiaire, des espèces à stratégie *r* et des espèces à stratégie *K*, où la diversité est accrue. Pour vérifier que l'activité de prospection de *M. palmata*, modulée par les cycles tidaux, la photopériode et les fortes densités, contrôle la diversité et la dégradation de la matière organique dans une zone de plusieurs dizaines de centimètres carrés autour de l'individu, il faudrait mesurer les diversités taxonomique, par exemple, avec des techniques de metabarcoding, et fonctionnelle, par exemple via l'utilisation de plaques BIOLOG pour déterminer les profils métaboliques, ou encore par des mesures de respiration ou de DNA-SIP, dans la zone de prospection d'aquariums au sein desquels l'activité de *M. palmata* serait modulée par les différents facteurs.

CHAPITRE IV

*L'enrichissement en matière organique
particulaire simulant la production primaire
autochtone influence le lien entre *Melinna
palmata* et les bactéries aérobies du sédiment*

Préambule

La première partie de ce travail a montré l'importance des processus de bioturbation sur la composition des communautés bactériennes des premiers millimètres oxiques de l'interface eau-sédiment. Ceci s'est fait grâce à l'utilisation d'un nouveau modèle biologique, *Melinna palmata*, qui a permis de relier le comportement du macroinvertébré au remaniement sédimentaire et au devenir de la composition des communautés bactériennes, tout en restant dans les premiers millimètres oxiques de l'interface eau-sédiment. Or, c'est précisément dans cette couche oxique que les processus de minéralisation de la matière organique sont les plus efficaces.

Dans ce chapitre IV, nous avons approfondi les processus de contrôle des communautés bactériennes par la bioturbation de *M. palmata* à l'interface eau sédiment, en intégrant la matière organique, paramètre qui contrôle le fonctionnement de cette interface dans les conditions naturelles. Pour cela, les effets de l'enrichissement (avec ou sans apport de matière organique) de deux types de matière organique de qualité différentes (plus ou moins labiles, cf. définitions **chapitre I**) ont été testé sur : (1) l'activité et le remaniement sédimentaire de *M. palmata*, (2) les propriétés physico-chimiques de l'interface eau-sédiment, (3) la diversité bactérienne et l'activité hétérotrophe, toujours au niveau des premiers millimètres oxiques de l'interface eau-sédiment.

Une expérimentation a été conduite avec une condition contrôle sans enrichissement en matière organique, et deux conditions d'enrichissement avec deux types de matière organique différentes : des cellules phytoplanctoniques utilisées en mariculture pour leur qualité nutritive d'une part, et des fragments de phanérogames marines caractéristiques de l'habitat de *M. palmata* d'autre part.

I. Introduction

Les milieux côtiers, bien qu'ils ne représentent que 7 à 10% de la surface totale des océans, supportent 25% de la production primaire océanique (Smith & Hollibaugh, 1993 ; Rabouille *et al.*, 2001). Cette production primaire est variée, avec des cellules phytoplanctoniques, du microphytobenthos, des macroalgues ou encore des macrophytes (Bouillon & Boschker, 2006). Suivant le type de producteur primaire, la proportion de molécules carbonées varie. En effet, le rapport C/N/P établi par Redfield pour les cellules phytoplanctoniques est de 106/16/1 (Redfield *et al.*, 1963), alors que pour les phanérogames, le rapport médian établi à partir de 27 espèces différentes est de 474/24/1 (Duarte, 1990). Ce rapport est lié à une proportion de molécules carbonées telles que la lignine ou la cellulose dans les végétaux supérieurs, comparés aux unicellulaires (planctoniques ou benthiques) (Duarte, 1992 ; Enriquez *et al.*, 1993). La matière organique caractérisée par les plus faibles rapports C/N peut être qualifiée de labile, par rapport à la matière dont le rapport C/N est plus élevé, qualifiée de réfractaire. A ces différences de composition et de qualité de la matière s'ajoute un large spectre de taille des producteurs primaires. Cela va de la cellule phytoplanctonique de quelques micromètres aux macroalgues et végétaux supérieurs mesurant de quelques centimètres à quelques mètres comme par exemple les laminaires *Laminaria digitata*. Cette matière se décompose ensuite sur l'interface eau-sédiment, forme des fragments de plus en plus petits, et libère aussi des composés organiques dissous. Ces fragments sont colonisés par les microorganismes qui minéralisent la matière. Ces étapes de fragmentation et de colonisation permettent d'augmenter la palatabilité et la disponibilité de la matière pour les herbivores, qui ne peuvent pour des raisons physiologiques consommer de trop gros fragments (Pellikaan, 1984 ; Cebrián, 1999). Par ailleurs, les premiers microorganismes colonisateurs favorisent la transformation des macromolécules complexes en molécules plus petites via la sécrétion d'exoenzymes, permettant à d'autres microorganismes de pouvoir les assimiler et les minéraliser. A cela s'ajoute de la matière organique d'origine continentale apportée par les fleuves, autour de $38,6 \pm 21,1 \times 10^{12} \text{ molC}_{\text{org}}.\text{an}^{-1}$ (Smith & Hollibaugh, 1993). Dans le bassin d'Arcachon, site de cette étude, la matière organique sédimentaire est composée en moyenne de 25% de phanérogames dégradées, 20% de phytoplancton, 19% de microphytobenthos, 19% de matière terrestre, et 17% de macroalgues (Dubois *et al.*, 2012).

Ce mélange de matière organique allant de la molécule plus ou moins complexe aux fragments de plusieurs centimètres a plusieurs devenir possibles :

- (1) une partie est utilisée par les consommateurs primaires et les détritivores comme source de nourriture. En particulier, les dépositivores de surface qui se nourrissent de ce mélange de matière organique plus ou moins complexe juste déposé, voient leur comportement de nutrition influencé lors d'un apport de matière organique (Grémare *et al.*, 2004). Les dépositivores doivent également s'adapter au large spectre de quantité et de qualité de leur source de nourriture (Lopez & Levinton, 1987 ; Jumars & Wheatcroft, 1989 ; Kihlslinger

& Woodin, 2000). Il a été montré que les détritiques de phanérogames marines, qui ont plus de macromolécules complexes telles que la cellulose (Duarte, 1992), sont peu consommés par les organismes benthiques (e.g. Mateo *et al.*, 2006 ; Lebreton *et al.*, 2011), et notamment les dépositivores de surface, contrairement aux cellules phytoplanctoniques qui ont une meilleure qualité nutritive telle que définie ci-dessus (Cammen, 1989 ; Jumars, 1993). A cela s'ajoute la sélection par la taille. En effet, en plus d'une possible sélection par les appendices buccaux, la taille des organismes et de leur bouche limite l'ingestion des fragments dont la taille est supérieure à la largeur de l'organisme (Whitlatch, 1974 ; Taghon, 1982).

- (2) une autre grande partie est minéralisée en nutriments par les communautés microbiennes (Canfield 1993 ; Kristensen & Holmer, 2001). Suivant la nature de la matière, cette minéralisation est précédée de différentes étapes de décomposition. Par exemple, comme décrit en détail dans le **chapitre I**, les macrophytes constitués de feuilles de plusieurs centimètres de long subissent d'abord une étape de solubilisation (*leaching*) des composés les plus labiles avant d'être colonisée par les microorganismes (champignons et bactéries), qui permettent ensuite la fragmentation des feuilles, aidés par les macroinvertébrés et les facteurs abiotiques tels que les courants (Pellikaan, 1984 ; Peduzzi & Herndl, 1991). Les fragments et les composés issus de ces étapes de dégradation permettent de rendre biodisponible la matière pour les consommateurs secondaires et pour la minéralisation par les microorganismes. Ces étapes ne sont en revanche pas nécessaires pour le phytoplancton ou le microphytobenthos qui sont unicellulaires. Presque tous les microorganismes aérobies possèdent les enzymes capables d'effectuer une minéralisation totale de substrats organiques (Kristensen & Holmer, 2001). Autrement, ce sont des consortia et des successions de différents groupes fonctionnels bactériens qui permettent la minéralisation. Canuel & Martens (1996) ont montré que les acides gras issus de matière phytoplanctonique avaient un taux de dégradation plus important que les acides gras issus des plantes vasculaires, avec les plus forts taux dans les 2,5 premiers centimètres du sédiment.
- (3) une troisième partie est enfouie dans les couches plus profondes des sédiments (Henrichs, 1992). Cela se produit en partie sous l'action des invertébrés benthiques, via les processus de bioturbation. De la matière organique déposée en surface peut être enfouie, ou de la matière organique enfouie peut être remise dans les couches supérieures, voire être remise en suspension dans l'eau surnageante par la bioturbation (Kristensen *et al.*, 2012 ; Arndt *et al.*, 2013).

Le devenir de la matière organique dans les sédiments est donc directement et indirectement influencé par les invertébrés benthiques. Indirectement, car les microorganismes sont eux aussi une

source de nourriture comme cela a été montré avec *Nereis succinea* (Cammen, 1980) ou avec des dépositores de surface (Newell, 1965 ; Kemp, 1987), mais aussi directement, via la bioturbation. En effet, la bioturbation de la macrofaune benthique contrôle l'abondance ou la biomasse (Aller & Yingst, 1985 ; Reichardt, 1988), la structure (Bertics & Ziebis, 2009 ; Laverock *et al.*, 2010) ou les activités (Bertics *et al.*, 2010 ; Gilbertson *et al.*, 2012) des communautés bactériennes et donc les processus biogéochimiques de décomposition de la matière organique (Aller, 1994 ; Kristensen & Holmer, 2001 ; Fanjul *et al.*, 2014).

Melinna palmata est un dépositore de surface que l'on retrouve abondamment dans les herbiers de *Zostera* spp. (Fauvel, 1927), par exemple jusqu'à plus de 6000 individus.m⁻² dans l'herbier à *Zostera noltei* du site de Germanan dans le bassin d'Arcachon (Bernard *et al.*, 2014). Il s'agit d'une espèce tolérante à l'excès de matière organique dont les populations sont stimulées par un enrichissement en matière organique (Guillou & Hily, 1983 ; Grehan, 1991 ; Borja *et al.*, 2000). Nous avons montré dans le chapitre III que cette espèce est à l'origine de modifications de la composition des communautés bactériennes dans la zone clé de minéralisation de la matière organique en ne remaniant que les premiers millimètres oxiques du sédiment. Les dépositores de surface en général ont dû développer une stratégie de nutrition qui consiste à prélever et ingérer d'importants volumes de sédiment pour récupérer au maximum la matière organique. Les zones riches en matière organique forment des tâches qui peuvent évoluer rapidement dans le temps et dans l'espace. Les dépositores de surface ont également la capacité de changer d'activité de nutrition suivant les conditions (Lopez & Levinton, 1987 ; Mayer *et al.*, 1993 ; Kihlslinger & Woodin, 2000).

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude a été double :

- (1) Mettre en évidence l'effet de l'enrichissement et de la qualité de la matière organique sur les communautés bactériennes de la zone oxique de l'interface eau-sédiment.
- (2) Vérifier si cet enrichissement influence l'activité et la bioturbation de *M. palmata* et donc son impact sur les communautés bactériennes de l'interface eau-sédiment.

Pour cela, deux types de matière organique de qualité différente ont été sélectionnées pour simuler le devenir de la production primaire autochtone : la sédimentation de cellules phytoplanctoniques et l'accumulation de débris foliaires de phanérogames. Pour les cellules phytoplanctoniques, une culture de *Tetraselmis* sp. a été utilisée pour sa valeur nutritionnelle élevée. Elle est donc fréquemment utilisée en aquaculture (e.g. Robert *et al.*, 2002). Sa haute valeur nutritionnelle due à une composition riche en lipides associée à sa petite taille fait que l'enrichissement en *Tetraselmis* sp. simule un apport de matière organique moins riche en composés ligno-cellulosiques et plus accessible à la dégradation et/ou à la consommation que les feuilles de phanérogames. Il s'agit de feuilles de *Zostera noltei* provenant du même site de prélèvement que les individus de *M. palmata*. Les feuilles fraîches ont été broyées pour simuler les premières étapes de décomposition et de fragmentation. En revanche, les fragments de plusieurs millimètres ont été autoclavés ; ils n'étaient

donc pas colonisés par les microorganismes et peu dégradés, donc moins accessibles à la dégradation et/ou à la consommation. Cet enrichissement correspond donc à un apport de matière plus riche en composés ligno-cellulosiques, relativement à l'apport de *Tetraselmis* sp.

Ces enrichissements ont été effectués en aquariums (n=35) avec un individu par aquarium pendant 0, 11 ou 22 jours, dans des conditions de température et de lumière contrôlées. Les analyses de surface de sédiment remanié, d'impact sur les propriétés sédimentaires (granulométrie, carbone et azote organiques particulaires, pigments, phéopigments, profondeur de pénétration de l'oxygène) et sur les communautés bactériennes (qPCR, ARISA et consommation biologique d'oxygène du sédiment) ont quant à elles été effectuées pour l'ensemble des réplicats. Le comportement et le volume de sédiment remanié a été suivi pour trois individus (un avec apport de *Tetraselmis* sp., un avec apport de *Z. noltei*, et un contrôle sans enrichissement).

II. Expérimentation

II.1. Matière organique apportée

II.1.a. *Tetraselmis* sp.

Le genre *Tetraselmis* est composé d'espèces unicellulaires flagellées. Les cellules sont ovoïdes voire presque sphériques, et possèdent quatre flagelles (Thronsdén, 1996). Les cellules mesurent quelques micromètres de diamètre. Suivant les espèces, on trouve des cellules de *Tetraselmis* dans les eaux européennes (e.g. Álvarez Cobelas & Gallardo, 1986) mais aussi d'Asie (e.g. Hori *et al.*, 1986) ou d'Amérique du Nord (Mathieson & Hehre, 1986). Il s'agit d'une chlorophycée ; elle possède donc des parois cellulaires pouvant contenir de la cellulose (Domozych *et al.*, 2012). Cependant, il s'agit d'une micro-algue largement utilisée en aquaculture pour ses qualités nutritionnelles. Les différentes classes de cellules utilisées en mariculture dont plusieurs espèces du genre *Tetraselmis* sont composées de 6 à 52% de protéines, 5 à 23% de sucres et 7 à 23% de lipides (Brown 1997). Rappelons que le rapport élémentaire du phytoplancton en général est de 106 atomes de carbone pour 16 atomes d'azote et un atome de phosphore (Redfield *et al.*, 1963) ce qui fait un rapport C/N de 6,625.

II.1.b. *Zostera noltei*

Zostera noltei est une espèce de phanérogame marine de la famille des Zostéracées. Elle possède un système de racines et de rhizomes et des feuilles linéaires d'une vingtaine de centimètres pour quelques millimètres de large (Cabioc'h *et al.*, 2006). Il s'agit d'une angiosperme, connue pour contenir une proportion plus importante de polysaccharides telle que la cellulose ou la lignine (Dawes *et al.*, 1987 ; Duarte, 1992), avec par exemple les fibres de *Zostera marina* composées à 57% de cellulose (Davies *et al.*, 2007). La présence importante de cellulose ou de lignine chez les angiospermes marines induit un rapport élémentaire plus riche en carbone avec 474 atomes de

carbones pour 24 atomes d'azote et un atome de phosphore (Duarte, 1990), ce qui fait un rapport C/N de 19,75. Dans le bassin d'Arcachon, l'herbier de *Z. noltei* contribue à 20% à la production primaire totale, avec une production annuelle estimée entre 8880 et 12709 tC (Auby, 1991). A l'inverse des cellules de *Tetraselmis* sp. utilisées en mariculture, les feuilles de *Z. noltei* fraîches sont peu consommées car en plus d'une étape de fragmentation et de broyage mécanique pour leur ingestion, leur assimilation nécessite d'avoir l'enzyme permettant de dégrader la cellulose, la cellulase, ce qui n'est pas le cas pour tous les organismes. Les feuilles sont donc plus souvent consommées une fois dégradées (Cebrian & Duarte, 1998).

II.1.c. Préparation des rations

Il s'agissait d'apporter à *M. palmata* une ration journalière d'azote organique correspondant à un rapport de Ration d'azote (g)/Biomasse d'azote (g) égal à 1 (Tenore & Chesney, 1985 ; Grémare *et al.*, 1989a). La biomasse d'azote de 21 *M. palmata* a donc été préalablement déterminé à l'aide d'un analyseur ThermoFinnigan®Flash EA112. Pour cela, les individus ont été pesés pour obtenir le poids frais, puis lyophilisés pendant 24 h et pesés pour obtenir le poids sec. Chaque individu lyophilisé a été broyé, puis passé dans l'analyseur.

Les feuilles de *Z. noltei* ont été prélevées sur le site de Germanan, découpées, placées dans de l'eau de mer stérile (filtration sur 0,22 µm + autoclavage), broyées, puis autoclavées. En parallèle, une culture commerciale de *Tetraselmis* sp. (Marine-Life ®, ~ 2 000 000 cellules.mL⁻¹) a été autoclavée. La biomasse d'azote de ces deux types de matière organique a ensuite été évaluée, comme pour *M. palmata*. Pour cela, cinq réplicats de culture et cinq réplicats de broyat ont été pesés, lyophilisés, puis à nouveau pesés pour déterminer le poids sec. Chaque réplicat a ensuite été passé à l'analyseur.

La biomasse moyenne en azote organique d'un individu de *M. palmata* était de 0,47 mg, celle de *Tetraselmis* sp. était de 0,073g d'N.gPS⁻¹, et celle de *Z. noltei* était de 0,041g d'N.gPS⁻¹. Des rations de 0,47 mg d'azote organique de *Tetraselmis* sp. (1 mL) et de *Z. noltei* (1,5 mL) ont été aliquotées et stockées à -20°C. Chaque jour, une ration a été décongelée pour chaque aquarium et déposée délicatement dans l'eau surnageante.

II.2. Plan d'expérience

Trois conditions expérimentales ont été mises en place afin de tester les effets de l'enrichissement et de la qualité de la matière organique sur l'activité et la bioturbation de *M. palmata* et sur les communautés procaryotes des premiers millimètres oxiques de l'interface eau-sédiment :

- (1) Une condition témoin sans enrichissement en matière organique. Seule la matière organique provenant de l'eau pompée dans le bassin d'Arcachon a été apportée. Cette eau est filtrée au moment de son pompage puis est stockée dans une cuve, où les plus grosses particules décantent avant d'être redistribuées à l'ensemble des aquariums.

- (2) Une condition pour laquelle une ration de suspension de *Tetraselmis* sp. a été apportée quotidiennement.
- (3) Une condition pour laquelle une ration de feuilles *Z. noltei* broyées a été apportée quotidiennement.

Pour ce faire, 35 aquariums (taille intérieure de 11,5×17,5×6,5 cm) ont été remplis avec du sédiment provenant de Germanan tamisé sur 1 mm et placés en eau courante dans une pièce thermostatée à l'obscurité (température de l'eau : $16,6 \pm 1,7$ °C, salinité : $29,3 \pm 1,8$ et température de l'air : 18 ± 2 °C). Après 10 jours d'équilibration du sédiment, un individu de *M. palmata* a été ajouté au centre de chaque aquarium. Pour cela, les organismes ont été préalablement sortis de leur tube sous loupe binoculaire, pesés, puis déposés un à un délicatement sur l'interface eau-sédiment. L'acclimatation des 35 individus a duré 10 jours, le temps qu'ils fabriquent un nouveau tube et qu'ils s'enfoncent dans le sédiment. Ces 35 aquariums ont été divisés de manière à obtenir cinq réplicats pour chacune des conditions de temps et d'enrichissement, comme présenté sur la **figure IV.1**.

Aux temps T_{0j} , T_{11j} et T_{22j} , des profils d'oxygène ont été effectués dans les aquariums concernés pour déterminer la profondeur de pénétration de l'oxygène, selon le protocole décrit dans le **chapitre II**. Ensuite, une photographie de l'interface a été prise pour mesurer la surface de sédiment remanié par chaque individu, puis l'eau surnageante a été délicatement retirée à l'aide d'une seringue, sans perturber l'interface eau-sédiment. Enfin, l'aquarium a été sacrifié car le sédiment de chaque zone de bioturbation a été prélevé comme décrit dans la partie **III.5** du **chapitre II**. Environ 2 gPF (poids frais) de zone de prospection, 4 gPF de cône fécal et 20 gPF de zone non remaniée ont été prélevés pour chacun des aquariums. Ce sédiment a ensuite été aliquoté pour les différentes analyses des propriétés sédimentaires : teneurs en carbone et azote organiques particulières, teneurs en pigments, granulométrie ; mais aussi pour les différentes analyses des communautés procaryotes : composition des communautés (ARISA et T-RFLP), abondances (qPCR) et consommation biologique d'oxygène. Selon la quantité de sédiment, la priorité a été de garder le sédiment pour l'analyse des communautés procaryotes (entre 250 mg et 1 g) si possible. Pour les aliquots des autres analyses, entre 500 mg et 1 g ont été prélevés lorsque cela a été possible. Le reste de sédiment de l'aquarium a ensuite été tamisé afin de récupérer l'individu, qui a été sorti de son tube pour pouvoir analyser la composition des communautés bactériennes associées à l'un et à l'autre séparément. Le prélèvement de 15 aquariums en une seule journée étant impossible, chaque réplicat (A à E) a été lancé avec quelques jours de décalages, pour que les T_{0j} , T_{11j} et T_{22j} de prélèvements de chaque réplicat ne se superposent pas.

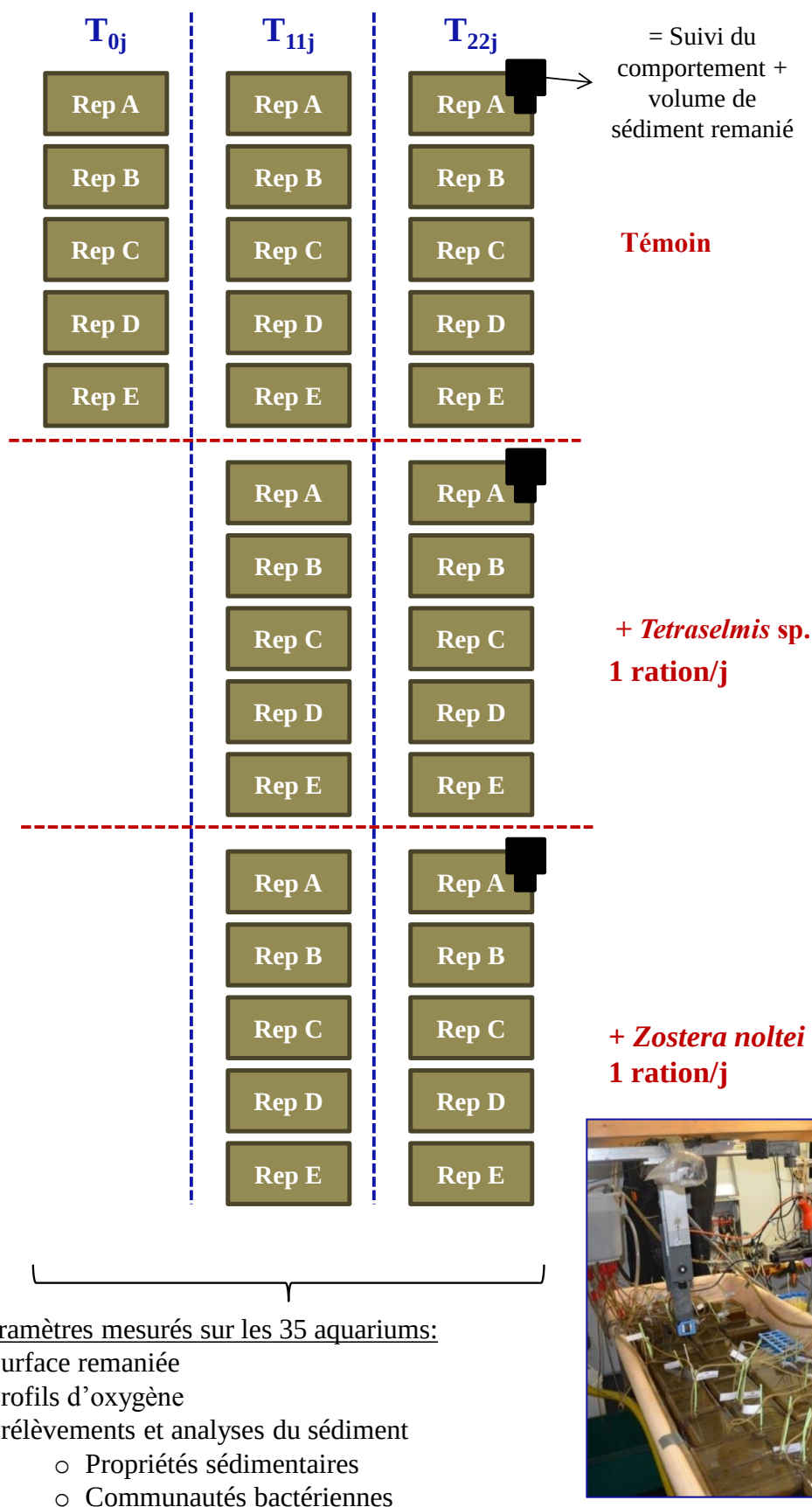


Figure IV.1 : Schéma et photographie présentant le plan expérimental avec les différentes conditions d'enrichissement et de temps de prélèvement, les différents paramètres mesurés et les réplicats (Rep).

L'expérimentation a donc duré 56 jours au total. Le plan d'expérimentation est présenté sur la **figure IV.2**.

Pendant les périodes d'incubations, c'est-à-dire entre T_{0j} et T_{22j} , l'activité et le volume de sédiment remanié de trois individus ont été suivis. Un individu témoin (3×11 h avec une microtopographie entre chaque film), un individu recevant quotidiennement une ration de suspension *Tetraselmis* sp. (8×11 h avec une microtopographie entre chaque film), et un individu recevant quotidiennement une ration de broyat de *Z. noltei* (4×11 h avec une microtopographie entre chaque film). Le nombre de films n'est pas équivalent car il correspond au nombre de films ayant pu être analysés ; or plusieurs films de l'individu témoin n'ont pas pu être traités. Les protocoles de suivi de l'activité et de microtopographie sont présentés dans la partie **III.3** du **chapitre II**.

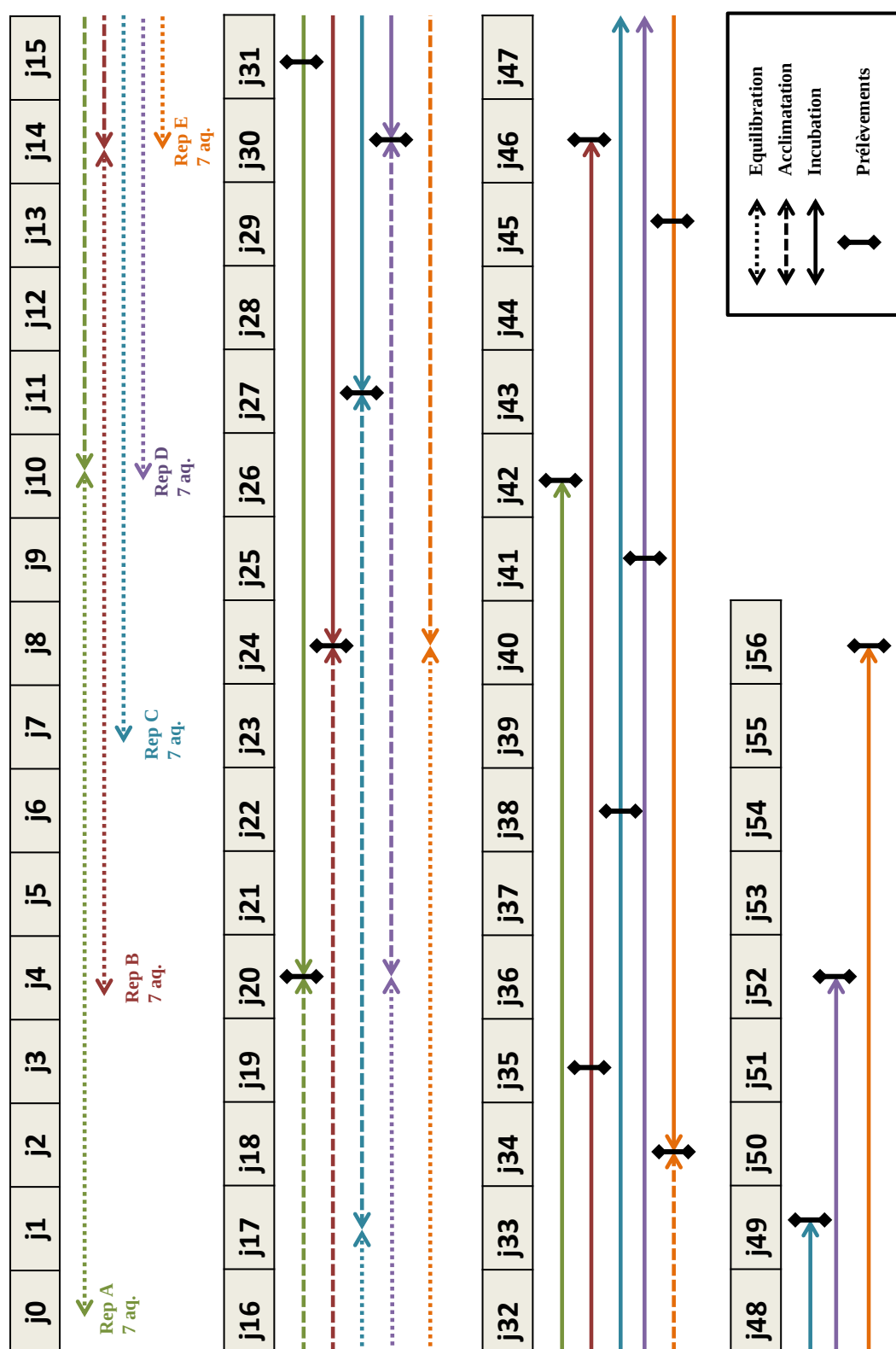


Figure IV.2 : Schéma de répartition dans le temps des différentes étapes de l'expérimentation : équilibration du sédiment, acclimatation des *Melinna palmata*, incubation et prélèvements du sédiment pour les différents réplicats décrits sur la figure IV.1.

III. Résultats

III.1. Hypothèses posées pour l'analyse des résultats

A partir des observations faites pendant l'expérimentation et au cours de l'analyse des premiers résultats acquis après l'incubation, deux hypothèses simplificatrices de travail se sont imposées :

- (1) A partir de 11 jours, le système doit avoir atteint un équilibre par rapport aux apports de matière organique et au remaniement sédimentaire induit par *M. palmata*. Pour cela, les résultats des différents paramètres sédimentaires ainsi que la surface de sédiment remanié ont été comparés pour les aquariums dont le sédiment a été prélevé à T_{11j} et ceux dont le sédiment a été prélevé à T_{22j} .
- (2) Les apports de *Tetraselmis* sp. et de *Z. noltei* doivent être mesurables par des teneurs plus élevées en pigments et en carbone et azote organiques. Pour cela, les zones non remaniées par *M. palmata* ont été comparées en fonction de la nature de la matière organique ajoutée.

Si ces deux hypothèses sont vérifiées, alors le design expérimental est validé car cela signifie que l'enrichissement en matière organique a bien affecté l'interface eau-sédiment, et que les aquariums des temps T_{11j} et T_{22j} peuvent être regroupés. Ceci permettrait d'avoir 10 réplicats au lieu de cinq par condition d'enrichissement, de mieux tenir compte de la variabilité inter-individuelle et donc de pouvoir plus facilement faire ressortir des tendances entre les conditions expérimentales.

III.1.a. Les temps 11 et 22 jours correspondent à un état d'équilibre

L'évolution de la surface remaniée en fonction du temps présentée sur la **figure IV.3** a montré qu'il n'y avait plus d'évolution significative de la surface des zones de bioturbation après 11 jours d'incubation (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$). A la fin de la période d'acclimatation de 10 jours, T_{0j} , la surface du cône fécal était de $5,0 \pm 2,1 \text{ cm}^2$ et celle la zone de prospection de $11,8 \pm 5,4 \text{ cm}^2$. Sans ajout de matière organique, la surface a augmenté à $13,6 \pm 4,7 \text{ cm}^2$ pour le cône fécal et à $28,3 \pm 20,9 \text{ cm}^2$ pour la zone de prospection. Après 11 jours, leurs surfaces n'ont significativement pas évolué avec $11,3 \pm 3,2 \text{ cm}^2$ pour le cône fécal et $23,2 \pm 6,6 \text{ cm}^2$ dans la zone de prospection à T_{22j} (22 jours d'incubations après les 10 jours d'acclimatation) (PERMANOVA, $p(\text{perm}) > 0,05$).

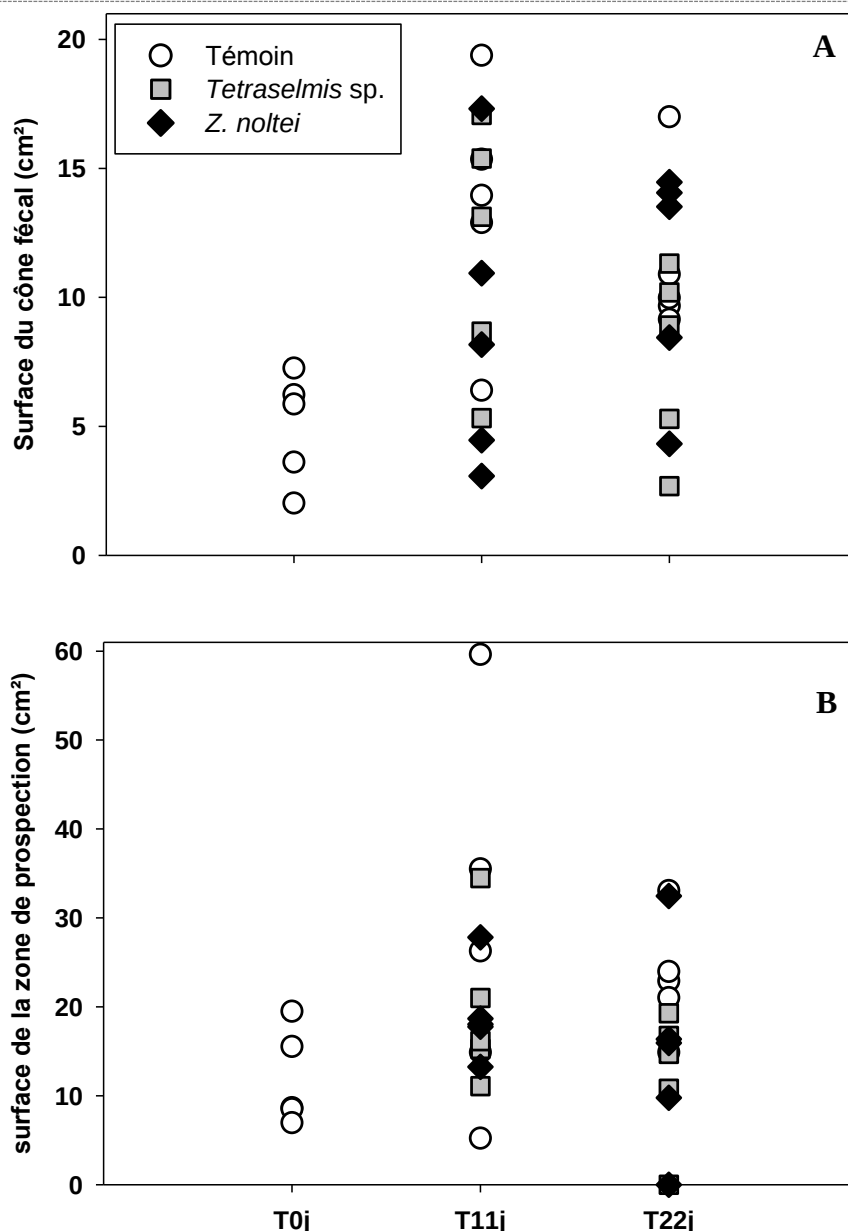


Figure IV.3 : Surface remaniée du cône fécal (A) et de la zone de prospection (B) au début de l'incubation (T_{0j}), après 11 jours d'incubation (T_{11j}), et après 22 jours d'incubation (T_{22j}) pour les conditions témoin, apport de *Tetraselmis* sp. et apport de *Zostera noltei*.

Ceci suggère que la bioturbation de *M. palmata* a atteint l'équilibre à, ou avant, T_{11j} et que l'animal ne fait que maintenir les zones de bioturbation créées. Ceci étant vérifié, il faut ensuite vérifier que les teneurs en COP, NOP, phéophytines *a* et *b* et granulométrie n'ont également pas évolué de manière significative entre T_{11j} et T_{22j}.

Les teneurs en COP, NOP, les phéophytines *a* et *b* et la médiane de répartition de taille des particules (D₅₀) n'étaient pas différentes significativement entre T_{11j} et T_{22j} quelle que soit la zone de bioturbation et la matière organique apportée (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$). L'évolution des teneurs en COP et en phéophytine *a* est présentée sur la **figure IV.4**, pour chacune des zones de bioturbation, et chacune des conditions d'enrichissement. A T_{11j}, un état d'équilibre est atteint entre le remaniement sédimentaire de *M. palmata*, l'apport de matière organique et sa dégradation. Cette

première analyse des données après 11 et 22 jours d'expérimentation indique que des conditions stationnaires sont obtenues après 11 jours (ou moins) d'expérience. Nous pouvons donc considérer les aquariums analysés après 11 et 22 jours comme des réplicats expérimentaux.

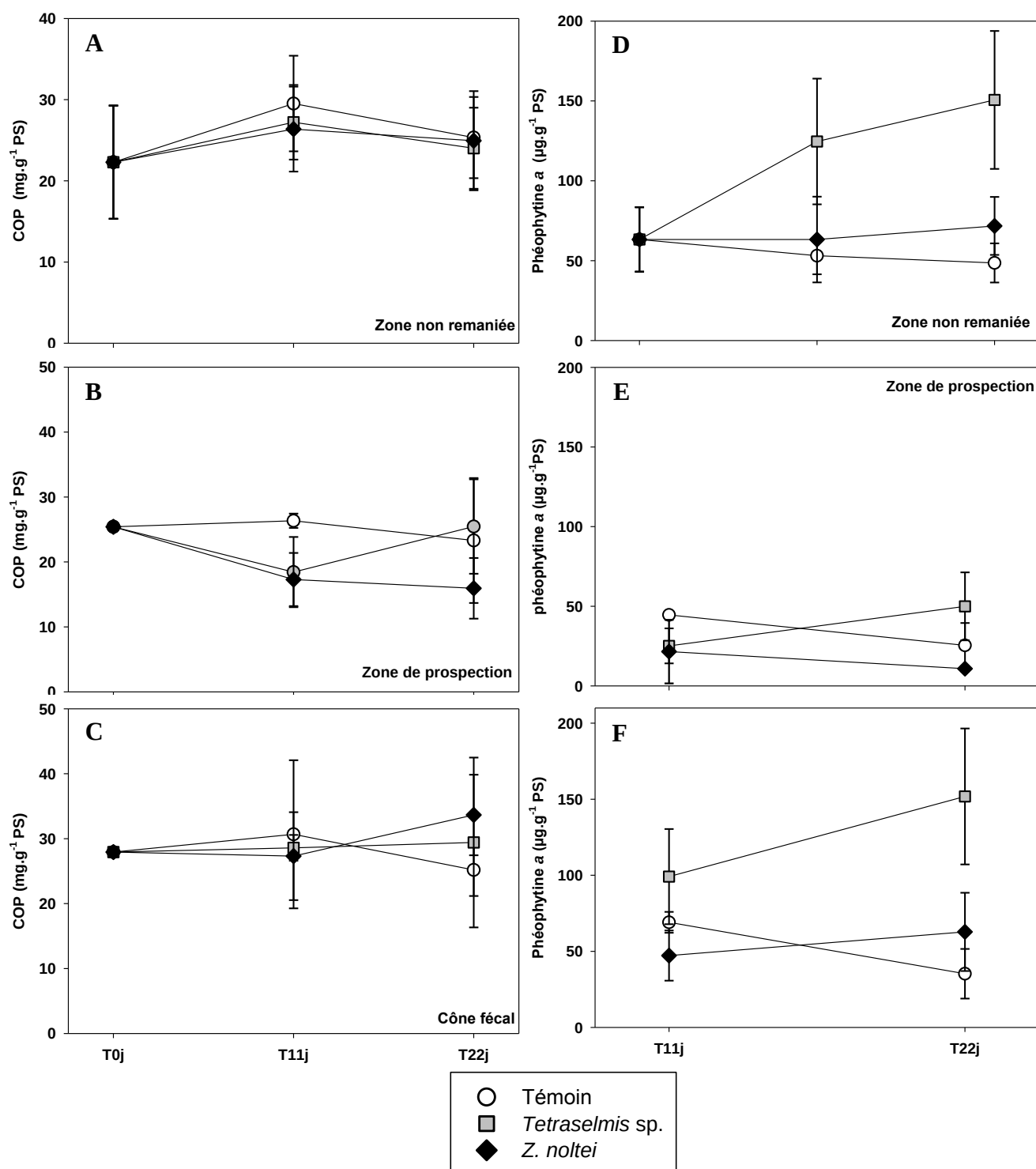


Figure IV.4 : Teneurs moyennes ($\pm$ écarts types) en carbone organique particulaire (A) dans la zone non remaniée, (B) dans la zone de prospection, (C) dans le cône fécal et teneurs moyennes ($\pm$ écarts types) en phéophytine a (D) dans la zone non remaniée, (E) dans la zone de prospection et (F) dans le cône fécal.

III.1.b.Modification des propriétés sédimentaires par apports de phytoplancton ou de phanérogame

Il s'agit ici de vérifier que les apports de matière organique de qualité différente ont induit une modification mesurable des paramètres sédimentaires de l'interface eau-sédiment. Pour cela, une analyse en composantes principales (ACP ; **Figure IV.5**) a été effectuée sur les différents paramètres mesurés : COP, NOP, D50, chlorophylles *a*, *b* et *c*, phéophytines *a*, *b* et *c* et profondeur de pénétration de l'oxygène. La première composante de l'analyse explique 78,5 % de la variance totale et la seconde 15,1 %. C'est la première composante qui permet de discriminer les trois zones à l'interface eau-sédiment. Les phéophytines *a* et *b* sont positivement corrélées à la première composante, respectivement 81% et 58%. De plus, les trois sédiments non remaniés sont significativement différents en terme de signature pigmentaire (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$). Les apports de cellules phytoplanctoniques et de phanérogame marine ont un impact mesurable sur la signature pigmentaire des sédiments. Comme on pouvait s'y attendre, les sédiments des aquariums subissant un apport quotidien de matière organique particulaire végétale se distinguent des sédiments de la condition témoin. Ces différences sont observables à la surface des aquariums comme montré sur la **figure IV.6**.

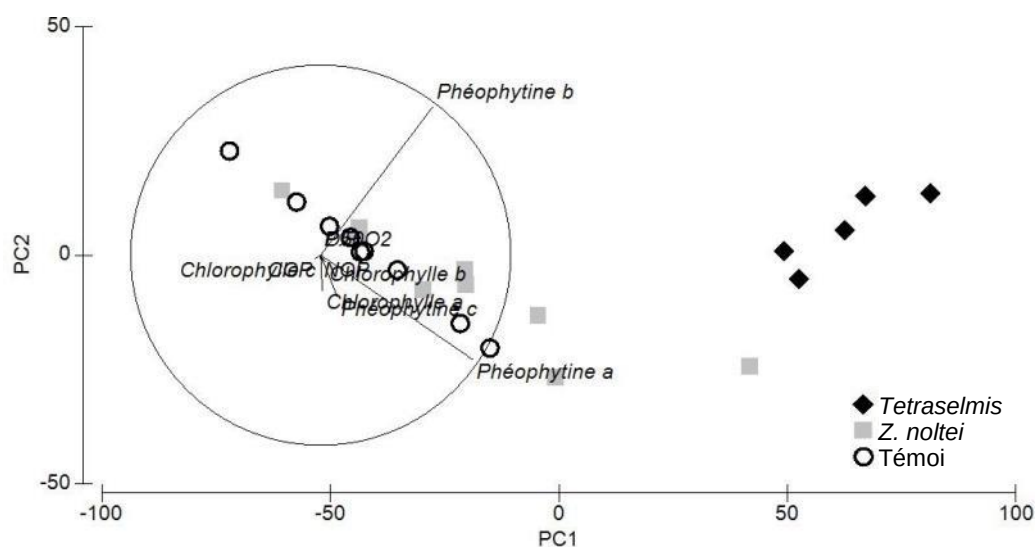


Figure IV.5 : Analyse en composantes principales (ACP) des différents paramètres sédimentaires en fonction du type d'apport (*Tetraselmis* sp., *Zostera noltei*, témoin). COP : carbone organique particulaire, NOP : azote organique particulaire, D50 : médiane de taille des particules.



Figure IV.6 : photographies de l'interface eau-sédiment de trois aquariums (taille intérieure de 11,5×17,5 cm). A gauche un aquarium témoin, au centre un aquarium après apport de *Tetraselmis* sp. et à droite un aquarium après apport de débris de *Zostera noltei*.

III.1.c. Hypothèses simplificatrices et validation du design expérimental

Les deux hypothèses de travail sont vérifiées, à savoir d'une part que le système est à l'équilibre aux temps T_{11j} et T_{22j} d'incubation, et d'autre part que le dispositif expérimental est validé car le sédiment des zones non remaniées par *M. palmata* a des propriétés différentes. Nous pouvons maintenant nous intéresser aux deux objectifs de cette étude : (1) tester si l'apport journalier de matière organique de qualité différente a un effet sur l'activité et la bioturbation de *M. palmata*, et (2) tester si cela a des conséquences sur l'abondance, la composition des communautés bactériennes, ainsi que sur l'activité respiratoire hétérotrophe.

III.2. Effet de l'apport de deux types de matière organique végétale sur l'activité et la bioturbation de *Melinna palmata*

III.2.a. Activité de *Melinna palmata*

L'observation image par image des 18 films de 11 h chacun, sur les trois individus suivis, a permis de mettre en évidence sept activités, toutes conditions confondues : la prospection de l'interface eau-sédiment, l'égestion des fèces, le mouvement des branchies à la sortie du tube, les mouvements d'entrée et de sortie de la tête du tube, la maintenance de l'ouverture du tube, branchies visibles hors du tube et immobiles, et enfin lorsque l'organisme est entièrement caché dans son tube. Les pourcentages de temps alloués à chacun de ces comportements sont présentés sur la **figure IV.7**. Un graphique ne présentant que les activités visibles à l'interface eau-sédiment aurait pu être présenté, mais les pourcentages de temps immobile et ou dans le tube étant faibles, nous avons fait le choix de tout présenter. Pour les trois conditions, le temps est majoritairement alloué à la prospection de l'interface eau-sédiment avec $94,2 \pm 5,0$ % pour l'individu *témoin*, $84,7 \pm 15,4$ % pour l'individu +*T.sp.*, et $90,8 \pm 9,3$ % pour l'individu +*Z.n.* L'individu *témoin* qui n'a subi aucun apport de matière organique a alloué le plus de temps à la prospection. A l'inverse, l'individu ayant reçu des apports journaliers de *Tetraselmis sp.* est celui qui a alloué le moins de temps à prospecter la surface du sédiment.

L'égestion des fèces se faisait en même temps que les autres activités, sans interruption de ces derniers. Une fréquence d'égestion (min^{-1}) a été calculée pour les trois individus (**Figure IV.8A**). Cette fréquence était plus faible chez l'individu *témoin* avec $0,03 \pm 0,00 \text{ min}^{-1}$ que chez l'individu +*Z.n* avec $0,04 \pm 0,02 \text{ min}^{-1}$ et que chez l'individu +*T.sp.* avec $0,05 \pm 0,01 \text{ min}^{-1}$.

L'intensité d'activité la plus faible était pour l'individu +*T.sp* avec $5,3 \pm 3,2 \text{ cm}^2.\text{h}^{-1}$. Elle était plus élevée et proche pour les individus +*Z.n* et *témoin* avec respectivement $18,8 \pm 12$ et $19,2 \pm 10,9 \text{ cm}^2.\text{h}^{-1}$ (**Figure IV.8B**).

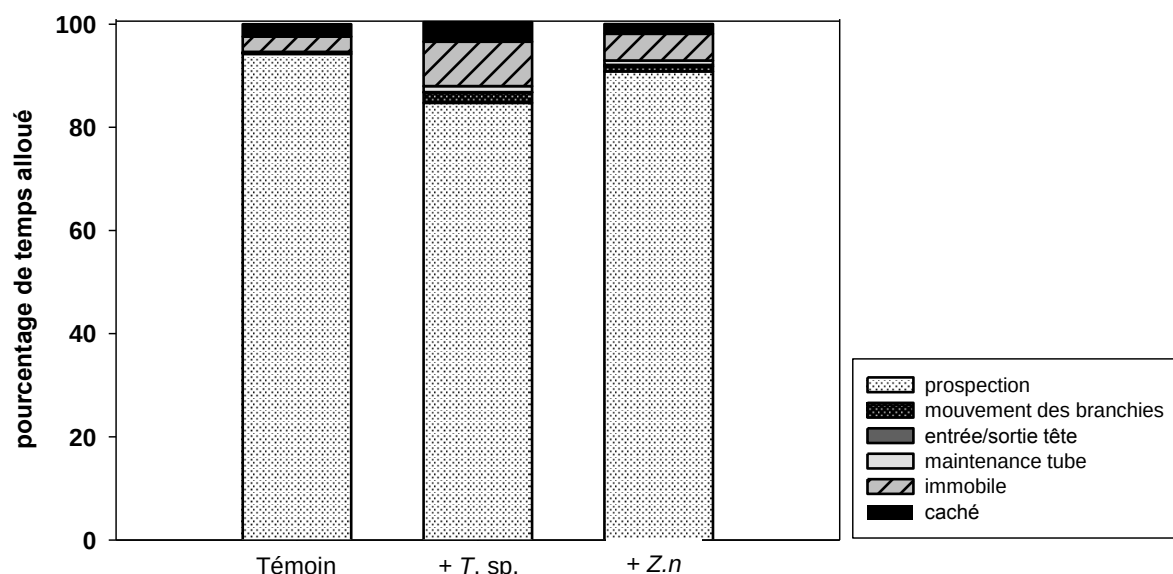


Figure IV.7 : Pourcentage de temps alloué par *Melinna palmata* aux différents comportements en fonction de la condition d'apport en matière organique. Témoin : n=3 films, +T. sp. : n=8 films ; +Z.n : n=4 films ; pour un individu de chaque condition.

III.2.b. Remaniement sédimentaire par *Melinna palmata*

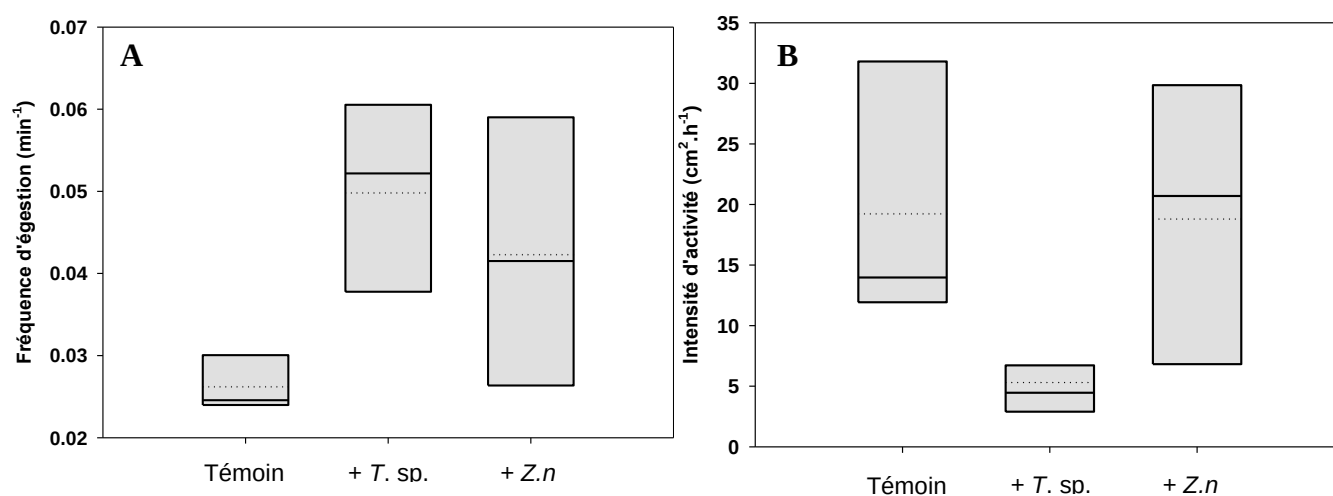


Figure IV.8 : (A) Fréquences d'égestion (min^{-1}) et (B) intensité d'activité ($\text{cm}^2.\text{h}^{-1}$) de *Melinna palmata* en fonction de la condition d'enrichissement en matière organique. Le trait plein dans la boîte représente la médiane, le trait pointillé représente la moyenne. Témoin : n=3, + T.sp. : n = 8 ; + Z.n : n=4.

L'activité de prospection de l'interface eau-sédiment a été à l'origine de la création d'une zone distincte de la zone non remaniée, la zone de prospection. L'égestion a induit la création d'un cône fécal, distinct de la zone non remaniée et de la zone de prospection. La surface et le volume de sédiment remanié dans chacune de ces zones ont pu être mesurés.

La surface de sédiment remanié est présentée sur la **figure IV.3**. En regroupant les réplicats des T_{11j} et T_{22j}, la surface du cône fécal était de $12,5 \pm 4,0 \text{ cm}^2$ pour la condition témoin, $9,8 \pm 4,6 \text{ cm}^2$ pour la condition +T.sp, et $9,9 \pm 4,9 \text{ cm}^2$ pour la condition +Z.n. La surface de la zone de prospection

était de $25,7 \pm 14,9 \text{ cm}^2$ pour la condition témoin, de $15,9 \pm 8,7 \text{ cm}^2$ pour la condition $+T. \text{ sp}$ et de $17,0 \pm 8,9 \text{ cm}^2$ pour la condition $+Z.n$. Pour le cône fécal comme pour la zone de prospection, les surfaces n'étaient pas significativement différentes en fonction des apports en matière organique (PERMANOVA, $p(\text{perm}) > 0,05$).

En comparant les microtopographies consécutives de l'interface eau-sédiment, le volume de sédiment remanié dans chaque zone a pu être calculé (**Figure IV.9**). Pour l'individu témoin, le volume de sédiment remanié a varié entre $-10,7$ et $+15,7 \text{ mm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ selon le jour dans la zone de prospection, et entre $+0,3$ et $+60,3 \text{ mm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ dans le cône fécal. Pour l'individu $+T. \text{ sp}$, le volume de sédiment prospecté a varié entre $-277,2$ et $+253,42 \text{ mm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ dans la zone de prospection et entre $-119,1$ et $+748,6 \text{ mm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ dans le cône fécal. Pour l'individu $+Z.n$, le volume de sédiment remanié a varié entre $-76,6$ et $+4,6 \text{ mm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ dans la zone de prospection, et entre $-41,4$ et $+8,13 \text{ mm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ dans le cône fécal.

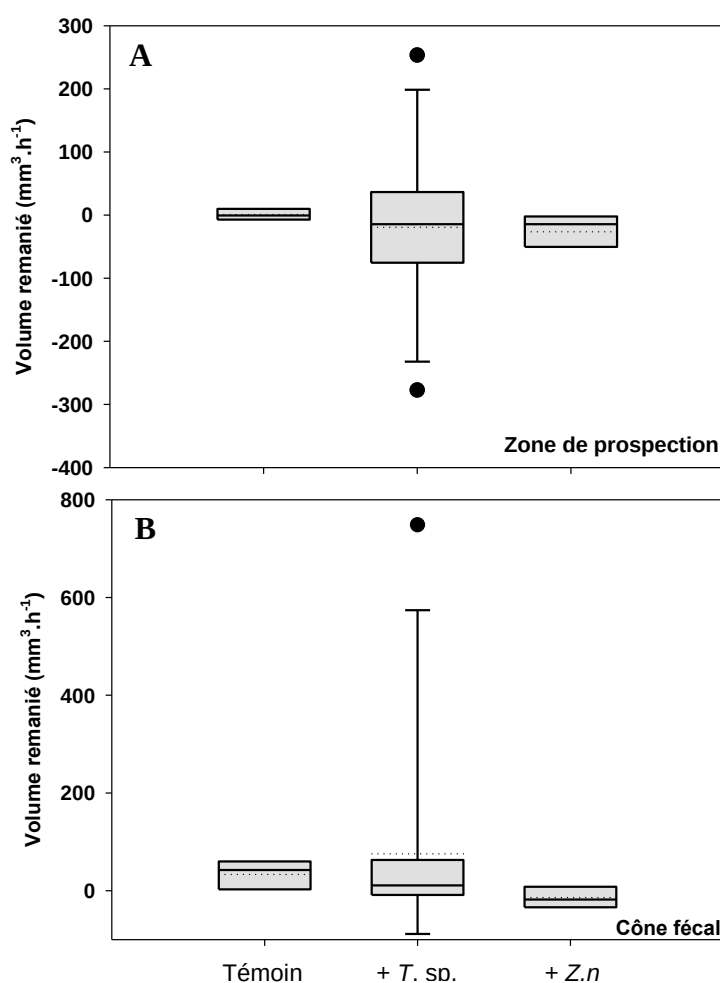


Figure IV.9: Volume de sédiment remanié sur l'interface eau-sédiment dans la zone de prospection (A) et dans le cône fécal (B). Témoin : $n=5$, $+T.\text{sp}$: $n=12$, et $+Z.n$: $n=7$. Le trait plein dans la boîte représente la médiane, le trait pointillé représente la moyenne, les barres d'erreur représentent le 10^{ème} et le 90^{ème} percentile, et les points représentent les valeurs extrêmes.

III.3. Conséquences sur les propriétés du sédiment à l'interface

Une MDS (**Figure IV.10**) a été réalisée à partir des différentes propriétés sédimentaires mesurées dans les trois zones et pour chaque type d'apport (*Tetraselmis* sp., *Z. noltei*) et le témoin. Les variables corrélées à plus de 50 % (corrélations de Spearman) ont été ajoutées dans le plan de la MDS pour visualiser celles qui expliquent le mieux la structuration des trois zones et des trois conditions d'apports organiques. La zone non remaniée ayant reçu des apports de *Tetraselmis* sp. était caractérisée par de fortes teneurs en phéophytines *a*, *b* et en chlorophylle *b* par rapport aux autres zones de bioturbation et aux autres conditions d'apports. À l'inverse, la zone de prospection, toutes conditions d'apports confondues, était caractérisée par les plus faibles teneurs en composés organiques : COP, NOP et pigments, mais aussi par la présence de particules moins fines que pour les autres sédiments. Un effet des facteurs « zone de bioturbation » et « matière organique » sur la structure des propriétés sédimentaires a effectivement été vérifié statistiquement (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$). Pour chaque type d'apport, *Tetraselmis* sp., *Z. noltei* et témoin, la zone de prospection était significativement différente du cône fécal et de la zone non remaniée ($p(\text{perm}) < 0,05$).

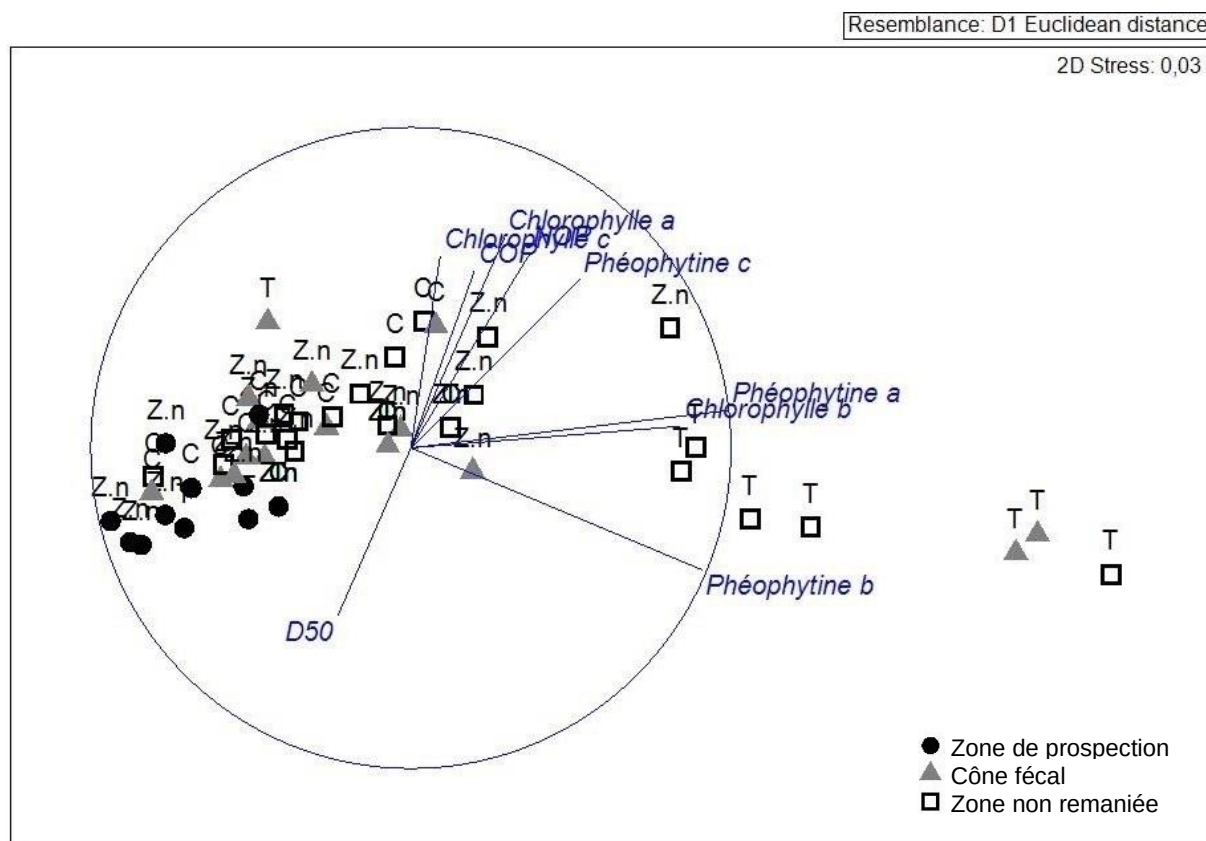


Figure IV.10 : MDS des propriétés sédimentaires de la zone de prospection, du cône fécal, de la zone non remaniée, suivant la condition d'apport en matière organique : témoin (C), *Tetraselmis* sp. (T), *Zostera noltei* (Z.n). Les variables corrélées à plus de 50 % (Spearman) aux données sont représentées : les chlorophylles *a* et *b*, les phéophytines *a*, *b* et *c*, la médiane de taille des particules (D50) et l'azote organique particulaire (NOP).

En revanche, le cône fécal et la zone non remaniée n'étaient pas significativement différents ($p(\text{perm}) > 0,05$). De plus, les zones de prospection et non remaniée étaient significativement différentes entre les trois conditions d'apports ($p(\text{perm}) < 0,05$). Le cône fécal après apports journaliers de *Tetraselmis* sp. était significativement différent des autres ($p(\text{perm}) < 0,05$) ; en revanche, le cône fécal témoin n'était pas significativement différent du cône fécal après apports de *Z. noltei* ($p(\text{perm}) > 0,05$).

Les valeurs des teneurs en COP, NOP, pigments et phéopigments, de la médiane de taille des particules ainsi que de la profondeur de pénétration de l'oxygène des différentes zones de bioturbation suivant le type d'apport sont présentées dans le **tableau IV.1**. Globalement, quelle que soit la condition d'enrichissement, les teneurs en matière organique ainsi qu'en pigments étaient proches, voire similaires, dans la zone non remaniée et dans le cône fécal ($27,5 \pm 5,8 \text{ mgCOP.g}^{-1}\text{PS}$ et $27,7 \pm 8,6 \text{ mgCOP.g}^{-1}\text{PS}$ respectivement, en condition témoin), et supérieures à celles de la zone de prospection (par exemple $23,8 \pm 8,9 \text{ mgCOP.g}^{-1}\text{PS}$ pour la condition témoin). Pour la granulométrie, la zone non remaniée était caractérisée par la présence des particules les plus fines ($12,9 \pm 2,0 \mu\text{m}$ pour la condition témoin), contrairement à la zone de prospection où les particules les plus grossières ont été trouvées ($22,6 \pm 17,1 \mu\text{m}$ en condition témoin). Dans le cône fécal, la taille des particules était intermédiaire ($17,0 \pm 1,7 \mu\text{m}$ pour la condition témoin). Enfin, pour la profondeur de pénétration de l'oxygène, des patrons différents ont été observés entre les aquariums témoins et les aquariums avec enrichissement en matière organique. Pour la condition témoin, c'est dans la zone de prospection que la profondeur de pénétration était la plus faible avec $3,6 \pm 1,8 \text{ mm}$, et dans le cône fécal qu'elle était la plus importante avec $4,9 \pm 0,8 \text{ mm}$. En revanche, après enrichissement avec *Tetraselmis* sp. et *Z. noltei*, c'est dans la zone de prospection que la profondeur de pénétration était la plus importante avec $6,9 \pm 5,6 \text{ mm}$ après apport de *Tetraselmis* sp. et $4,9 \pm 2,1 \text{ mm}$ après apport de *Z. noltei*, et dans le cône fécal qu'elle était la plus faible avec $4,4 \pm 0,8 \text{ mm}$ après apport de *Tetraselmis* sp. et $4,2 \pm 1,1 \text{ mm}$ après apport de *Z. noltei*.

Tableau IV.1 : Valeurs moyennes ($\pm$ écart-types) des teneurs en carbone organique particulaire (COP), en azote organique particulaire (NOP), en chlorophylles et phéophytines *a*, *b* et *c*, de la médiane de taille des particules et de la profondeur de pénétration de l'oxygène. PS = poids sec.

	Témoïn			+ <i>Tetraselmis</i> sp.			+ <i>Zostera noltei</i>		
	Zone non remaniée	Zone de prospection	Cône fécal	Zone non remaniée	Zone de prospection	Cône fécal	Zone non remaniée	Zone de prospection	Cône fécal
COP (mg.g ⁻¹ PS)	27,5 $\pm$ 5,8	23,8 $\pm$ 8,9	27,7 $\pm$ 8,6	25,6 $\pm$ 5,0	20,8 $\pm$ 6,6	29,0 $\pm$ 8,7	25,7 $\pm$ 5,5	16,9 $\pm$ 4,2	30,6 $\pm$ 7,1
NOP (mg.g ⁻¹ PS)	3,1 $\pm$ 0,6	2,4 $\pm$ 0,6	3,2 $\pm$ 0,7	3,2 $\pm$ 1,1	2,2 $\pm$ 0,5	3,0 $\pm$ 0,5	3,1 $\pm$ 0,6	1,9 $\pm$ 0,6	3,5 $\pm$ 0,6
Chlorophylle <i>a</i> (µg.g ⁻¹ PS)	14,8 $\pm$ 9,7	14,3 $\pm$ 16,2	14,5 $\pm$ 4,2	34,4 $\pm$ 43,4	8,0 $\pm$ 5,9	20,9 $\pm$ 11,2	18,6 $\pm$ 15,5	8,1 $\pm$ 11,6	18,0 $\pm$ 13,2
Chlorophylle <i>b</i> (µg.g ⁻¹ PS)	0,5 $\pm$ 0,4	0,3 $\pm$ 0,3	0,2 $\pm$ 0,2	3,2 $\pm$ 1,8	1,3 $\pm$ 2,1	3,8 $\pm$ 1,7	2,9 $\pm$ 2,9	0,3 $\pm$ 0,5	1,8 $\pm$ 1,8
Chlorophylle <i>c</i> (µg.g ⁻¹ PS)	0,9 $\pm$ 0,8	1,1 $\pm$ 1,5	0,9 $\pm$ 0,3	2,5 $\pm$ 4,2	0,5 $\pm$ 0,4	1,2 $\pm$ 1,0	1,3 $\pm$ 1,4	0,6 $\pm$ 1,0	1,3 $\pm$ 1,2
Phéophytine <i>a</i> (µg.g ⁻¹ PS)	50,2 $\pm$ 11,9	27,3 $\pm$ 14,6	45,4 $\pm$ 21,2	138,1 $\pm$ 42,7	31,3 $\pm$ 16,8	127,5 $\pm$ 46,4	67,2 $\pm$ 23,2	19,4 $\pm$ 18,2	56,2 $\pm$ 23,2
Phéophytine <i>b</i> (µg.g ⁻¹ PS)	6,0 $\pm$ 8,5	3,2 $\pm$ 1,4	3,3 $\pm$ 1,4	65,0 $\pm$ 41,2	30,7 $\pm$ 49,3	70,2 $\pm$ 38,6	10,2 $\pm$ 9,1	2,6 $\pm$ 2,6	8,0 $\pm$ 6,8
Phéophytine <i>c</i> (µg.g ⁻¹ PS)	27,4 $\pm$ 11,7	11,5 $\pm$ 6,8	24,1 $\pm$ 14,0	32,5 $\pm$ 9,0	9,9 $\pm$ 7,2	19,7 $\pm$ 7,8	19,8 $\pm$ 8,5	7,1 $\pm$ 4,7	19,2 $\pm$ 9,0
D50 (µm)	12,9 $\pm$ 2,0	22,6 $\pm$ 17,1	17,0 $\pm$ 1,7	14,4 $\pm$ 2,0	22,9 $\pm$ 3,1	17,3 $\pm$ 2,0	14,3 $\pm$ 1,8	24,9 $\pm$ 12,5	17,7 $\pm$ 3,4
Profondeur de pénétration de l'oxygène (mm)	4,1 $\pm$ 2,2	3,6 $\pm$ 1,8	4,9 $\pm$ 0,8	6,3 $\pm$ 4,0	6,9 $\pm$ 5,6	4,4 $\pm$ 0,8	4,6 $\pm$ 1,8	4,9 $\pm$ 2,1	4,2 $\pm$ 1,1

III.4. Conséquences sur les communautés bactériennes benthiques de l'interface eau-sédiment

III.4.a. Abondance bactérienne

Les abondances bactériennes ont été obtenues en quantifiant le gène codant pour l'ARN ribosomique 16S bactérien par PCR quantitative. Les facteurs *zone de bioturbation* et *matière organique* n'ont pas eu d'effet significatif sur les abondances d'ADNr 16S bactérien (PERMANOVA, $p(\text{perm}) > 0,05$). Cependant, des tendances sont observables (**Figure IV.11**) : dans la zone non remaniée, les abondances étaient plus faibles pour la condition témoin avec $1,37 \times 10^8 \pm 1,17 \times 10^8$ copies.g⁻¹, que pour les conditions d'enrichissement en *Tetraselmis* sp. et en *Z. noltei* avec respectivement $4,61 \times 10^8 \pm 4,71 \times 10^8$ copies.g⁻¹ et $4,44 \times 10^8 \pm 5,16 \times 10^8$ copies.g⁻¹. Dans la zone de prospection, c'est pour la condition d'enrichissement avec *Tetraselmis* sp. que l'abondance était la plus élevée avec $2,61 \times 10^8 \pm 5,43 \times 10^8$ copies.g⁻¹ ; $1,82 \times 10^8 \pm 1,11 \times 10^8$ copies.g⁻¹ pour la condition témoin et $1,78 \times 10^8 \pm 1,37 \times 10^8$ copies.g⁻¹ après apport de *Z. noltei*. Le même patron d'abondances a été observé dans le cône fécal avec $2,71 \times 10^8 \pm 2,60 \times 10^8$ copies.g⁻¹ pour l'enrichissement avec *Tetraselmis* sp., $1,46 \times 10^8 \pm 6,41 \times 10^7$ copies.g⁻¹ pour la condition témoin et $1,55 \times 10^8 \pm 1,06 \times 10^8$ copies.g⁻¹ après enrichissement en feuilles de *Z. noltei*. Au seuil de précision de ces techniques, les écarts observés restent faibles (inférieurs à un log). On peut donc considérer les abondances comme relativement homogènes, autour de 10^8 copies.g⁻¹, quelle que soit la modalité, et quelle que soit la zone de bioturbation.

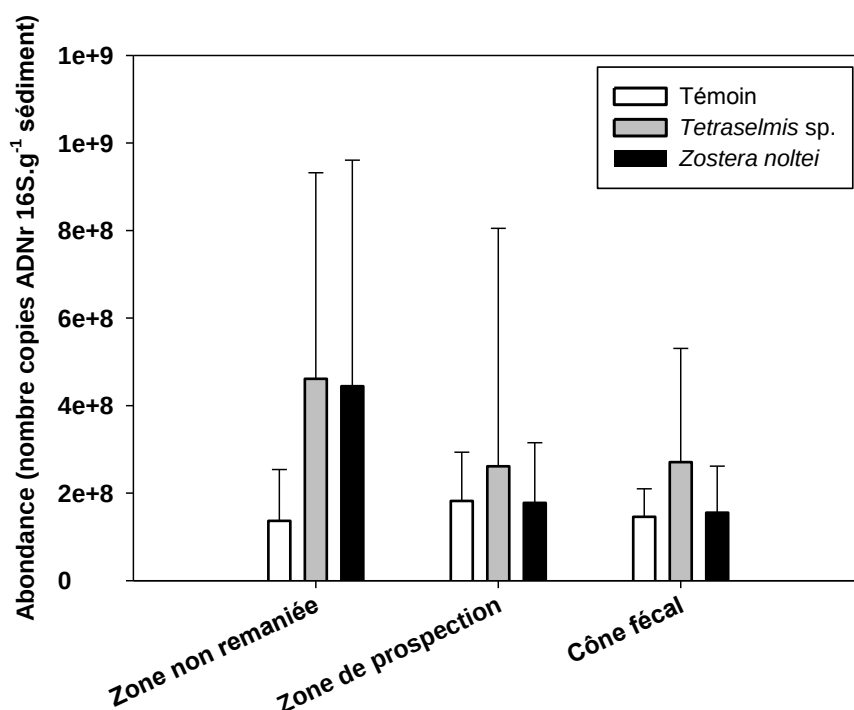


Figure IV.11 : Abondances bactériennes en nombres de copies de l'ADNr 16S bactérien dans les trois zones de bioturbation et pour les trois conditions d'apport de matière organique.

III.4.b. Composition des communautés bactériennes

- **Sédiment vs organismes et leurs tubes**

Un total de 436 OTU entre 200 et 1188 pb ont été mis en évidence sur l'ensemble des sédiments, individus et tubes. 426 OTU de 200 à 1188 pb ont été trouvés dans les sédiments, 345 OTU entre 200 et 1662 pb dans les tubes des *M. palmata* et 329 OTU entre 200 et 1048 pb dans les organismes.

En termes de présence/absence, sur les 436 OTU, 68% étaient ubiquistes et présents dans les trois matrices, 78 % présents dans le sédiment et dans les tubes, 73 % présents dans le sédiment et dans les organismes, et 69 % présents à la fois dans les organismes et dans les tubes (**Figure IV.12**).

La composition des communautés bactériennes des différentes matrices traitées est présentée sur la MDS **figure IV.13**, basée sur la similarité de Bray-Curtis de l'abondance relative de chaque OTU. Toutes conditions d'apport en matière organique confondues, les communautés bactériennes des 30 individus de *M. palmata* étaient significativement différentes de celles du sédiment (toutes zones de bioturbation confondues) et de celles des tubes des organismes. De même, les communautés bactériennes des tubes et du sédiment étaient significativement différentes (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$).

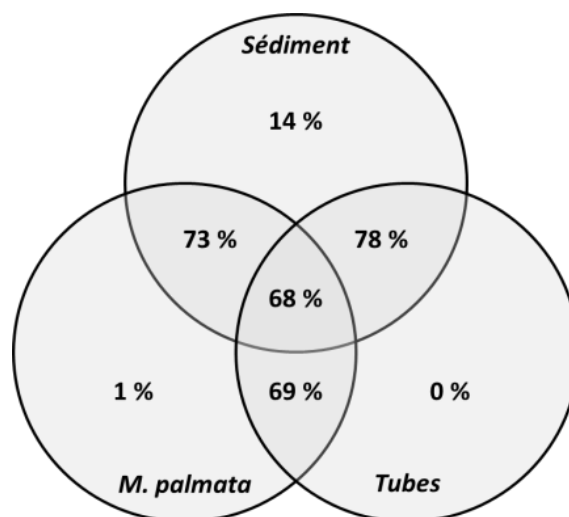


Figure IV.12 : Pourcentage d'OTUs propres et/ou communes à chaque matrice, basé sur la présence/absence.

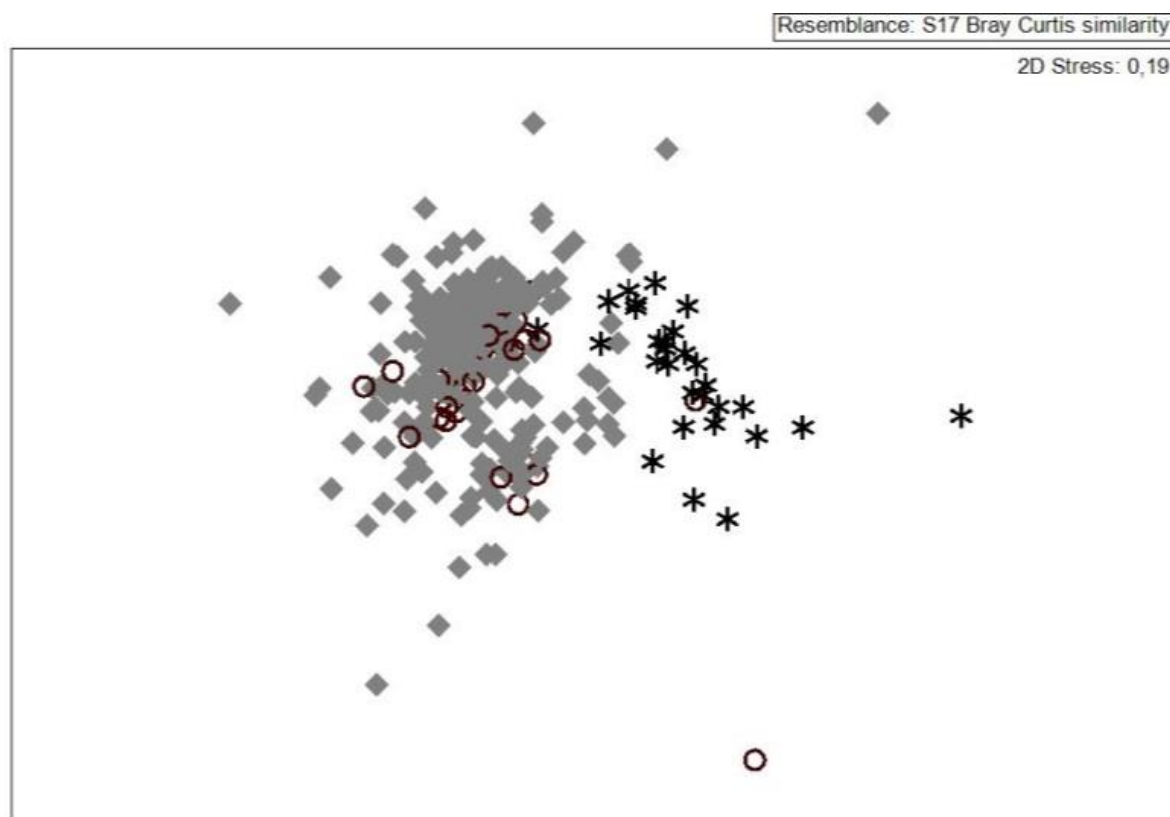


Figure IV.13 : MDS basée sur les ressemblances de Bray-Curtis des abondances d'OTU pour chaque échantillon des trois matrices : sédiment (losanges gris), *Melinna palmata* (astérisques noirs) et le tube (cercles).

• Zone non remaniée vs zone de prospection et cône fécal

La composition des communautés bactériennes basée sur la ressemblance de Bray-Curtis des abondances relatives pour chacune des zones et pour chaque type d'apport en matière organique est présentée sur la MDS **figure IV.14**.

Pour la condition témoin sans enrichissement, 394 OTU de 200 à 1172 pb ont été trouvés : 339 OTU de 200 à 1166 pb dans la zone non remaniée, 348 OTU de 200 à 1172 pb dans le cône fécal, et 334 OTU entre 200 et 1158 pb dans la zone de prospection. En se basant sur la présence/absence des OTU, 75 % des OTU étaient communs aux trois zones, 4% spécifiques à la zone non remaniée, 4 % spécifiques à la zone de prospection et 6 % spécifiques au cône fécal (**Figure IV.16**). En se basant sur les abondances relatives, seules les communautés du cône fécal et de la zone de prospection étaient significativement différentes entre elles (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$).

Lorsque *Tetraselmis* sp. a été ajoutée, 379 OTU de 200 à 1188 pb ont été identifiées au total : 325 OTU de 200 à 1068 pb dans la zone non remaniée, 335 OTU de 200 à 1174 pb dans le cône fécal, et 340 OTU de 200 à 1188 pb dans la zone de prospection. 77 % des 379 OTU étaient communs aux trois zones, 2 % spécifiques à la zone non remaniée, 4 % à la zone de prospection et 6 % au cône fécal (**Figure IV.15**). Les communautés de ces trois zones étaient significativement différentes entre elles (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$).

Après apport de *Z. noltei*, 368 OTU de 200 à 1172 pb ont été mis en évidence : 335 OTU entre 200 et 1162 pb dans la zone non remaniée, 328 OTU entre 200 et 1172 pb dans le cône fécal, et 333 OTU entre 200 et 1070 pb dans la zone de prospection. 80 % des 368 OTU étaient communs aux trois zones, 2 % spécifiques à la zone non remaniée, 3 % à la zone de prospection et 4 % au cône fécal. Les communautés de ces trois zones étaient significativement différentes entre elles (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0.05$).

Si la zone de bioturbation a un effet sur la composition des communautés bactériennes, un effet de la matière organique a également été mis en évidence (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$). En effet, les communautés bactériennes de la zone non remaniée après apport de *Tetraselmis* sp. étaient significativement différentes des communautés bactériennes après apport de *Z. noltei* ou sans apport (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$ – **Figure IV.15**). Ce même résultat a été observé pour la zone de prospection et pour le cône fécal.

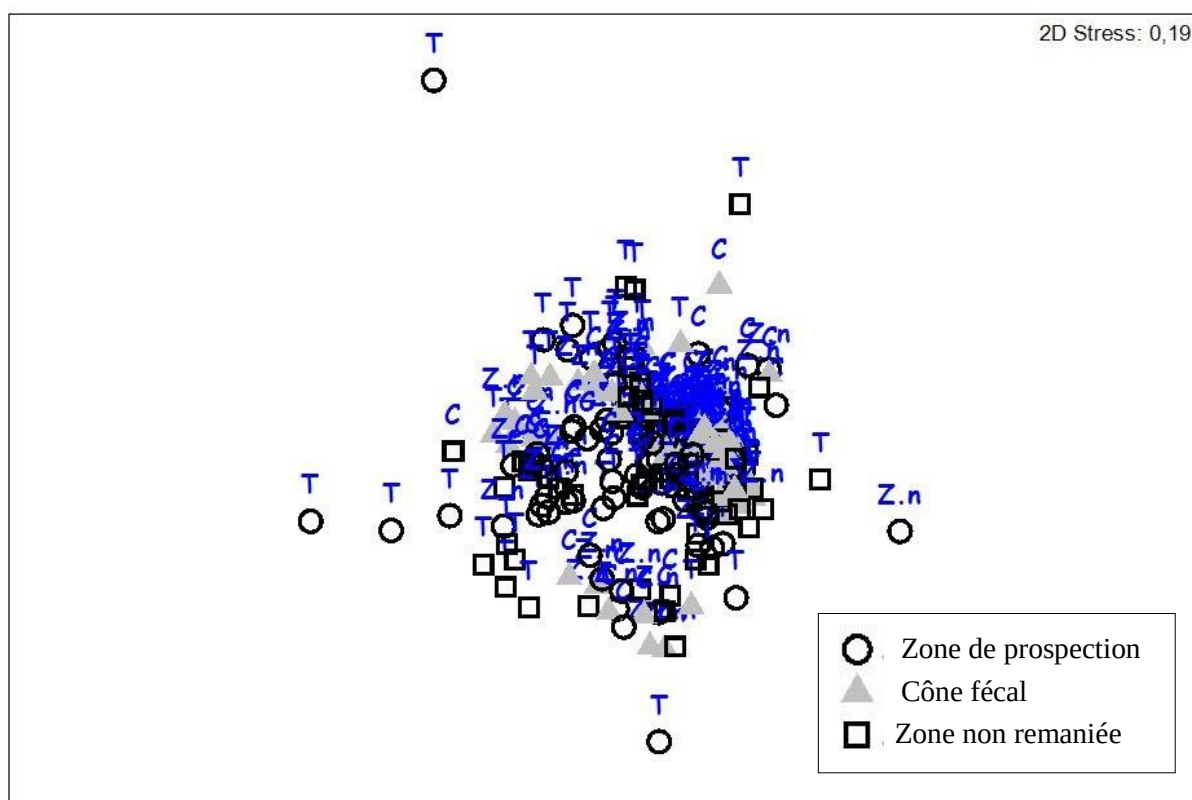


Figure IV.14 : MDS basée sur les ressemblances de Bray-Curtis des communautés bactériennes de chaque zone de bioturbation pour les différents apports de matière organique.

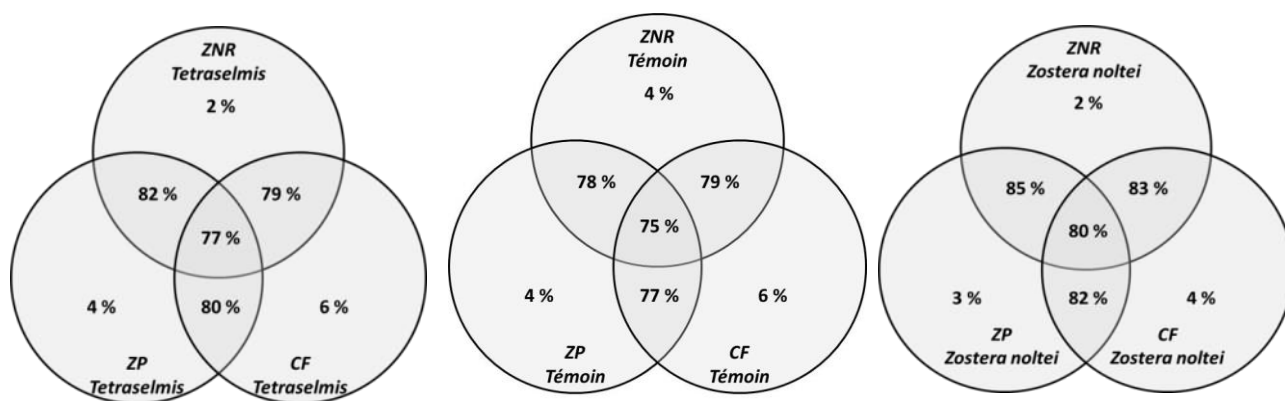


Figure IV.15 : Pourcentages d'OTU propres et/ou communes à chaque zone de bioturbation et communes à chaque couple de zones pour les trois conditions d'apport en matière organique.

• Matière organique apportée

Dans la ration quotidienne de *Tetraselmis* sp., 91 OTU entre 200 et 864 pb ont été mises en évidence, et 86 OTU entre 200 et 634 pb dans la ration de *Z. noltei*. Ces OTU ont été retrouvées en grande majorité dans le sédiment, les organismes et les tubes des trois conditions (**Tableau IV.2**).

Pour la condition témoin, 84 OTU étaient communes entre les organismes et le tube avec *Z. noltei* et les 86 OTU déterminés dans *Z. noltei* ont été retrouvées dans les trois zones de surface. Concernant les OTU trouvées dans les rations de *Tetraselmis* sp., il y avait entre 88 et 90 OTU sur les 91 qui ont été retrouvées dans les différentes zones de bioturbation, les organismes et les tubes.

Pour la condition d'apport de *Tetraselmis* sp., la totalité des OTU mises en évidence dans les rations (*Tetraselmis* sp. comme *Z. noltei*) ont été retrouvées dans les zones non remaniées et de prospection. Sur les 91 OTU, 90 OTU de *Z. noltei* ont été déterminées dans le cône fécal, et 85 sur 86 pour la ration de *Tetraselmis* sp. Dans les organismes et leur tube, 89 et 90 OTU étaient en commun avec la ration de *Tetraselmis* sp., et 83 et 86 avec la ration de *Z. noltei*.

Pour la condition d'apport quotidien de *Z. noltei*, entre 88 et 90 OTU sur les 91 de la ration de *Tetraselmis* sp. ont été trouvées dans les trois zones de bioturbation ainsi que dans les organismes et leur tube. D'autre part, 85 et 86 OTU sur les 86 trouvées dans la ration de *Z. noltei* ont été également observées dans les sédiments des trois zones de bioturbation, dans les organismes et dans leurs tubes.

Tableau IV.2 : Nombre d'OTU communs entre les différentes zones de bioturbation, les organismes et leurs tubes avec les deux matières végétales ajoutées. Le nombre total d'OTU pour *Tetraselmis* sp. est 91, et pour *Z. noltei* 86.

		<i>Tetraselmis</i> sp. <i>Zostera noltei</i>	
Témoin	ZNR	89	86
	ZP	90	86
	CF	90	86
	<i>M. palmata</i>	89	84
	Tubes	88	84
+ <i>Tetraselmis</i> sp.	ZNR	91	86
	ZP	91	86
	CF	90	85
	<i>M. palmata</i>	90	83
	Tubes	89	86
+ <i>Zostera noltei</i>	ZNR	89	86
	ZP	90	86
	CF	89	85
	<i>M. palmata</i>	90	85
	Tubes	88	86

• Diversité des communautés bactériennes

Pour la condition témoin, la diversité bactérienne mesurée par l'indice de Simpson (**Figure IV.16**) était significativement plus faible pour *M. palmata* avec $0,07 \pm 0,02$ que pour le sédiment et le tube (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$) où l'indice était le plus faible avec $0,04 \pm 0,01$. Entre les trois zones de l'interface eau-sédiment, c'est dans la zone non remanié que l'indice était le plus faible et donc la diversité la plus élevée avec $0,05 \pm 0,01$. Après ajout de *Tetraselmis* sp., c'est dans le cône fécal que la diversité était la plus élevée avec $0,04 \pm 0,01$. Elle y était significativement plus élevée que dans la zone de prospection ($0,06 \pm 0,05$) et que pour *M. palmata* où l'indice était de $0,06 \pm 0,02$ (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$). Après ajout de *Z. noltei*, c'est dans le tube que la diversité était la plus élevée avec $0,04 \pm 0,01$. Elle y était significativement plus élevée que pour *M. palmata* avec $0,07 \pm 0,03$ (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$).

Concernant l'effet du facteur matière organique, il n'y a que pour le cône fécal qu'il y a eu une différence significative, avec une diversité plus importante après apport de *Tetraselmis* sp. que sans apport (PERMANOVA, $p(\text{perm}) < 0,05$).

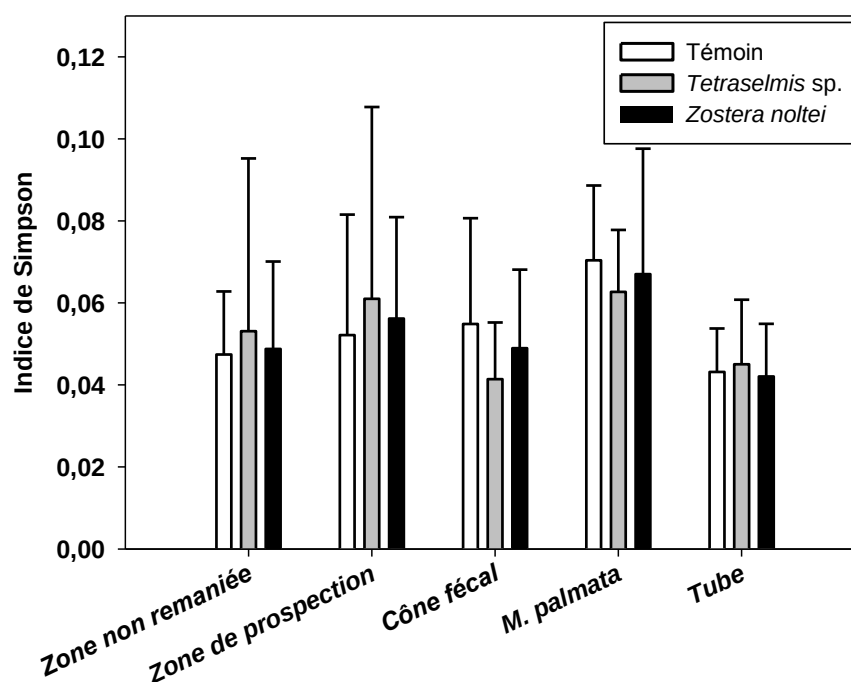


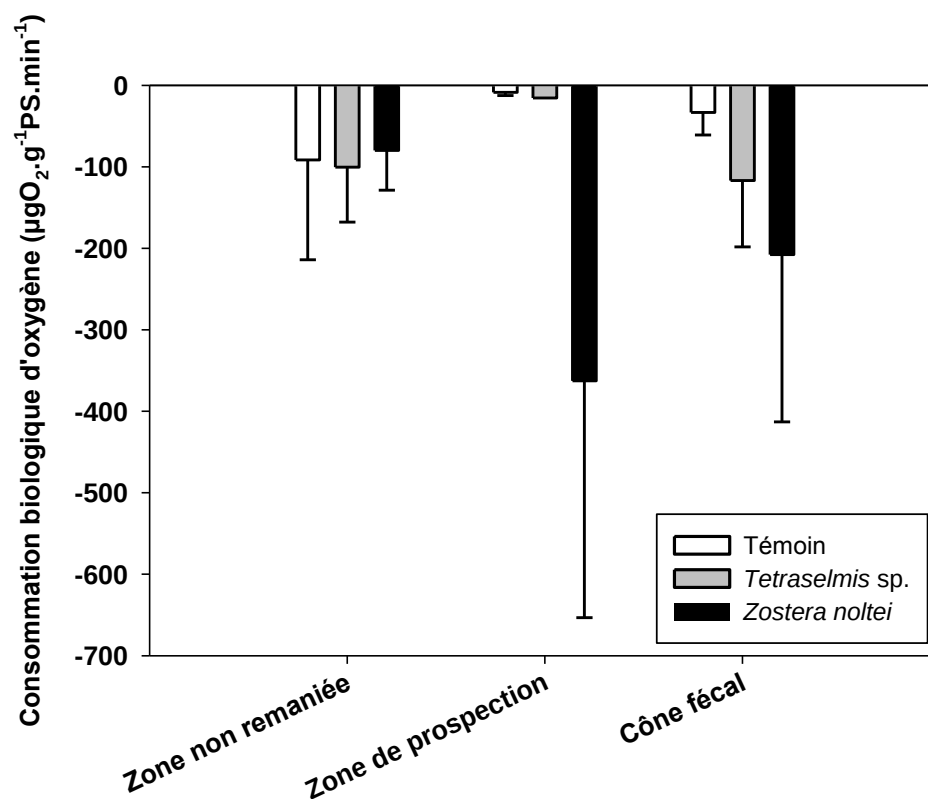
Figure IV.16 : Indice de diversité de Simpson des zones de bioturbation, des organismes et de leurs tubes suivant le type d'apport de matière organique.

III.4.c. Consommation biologique d'oxygène

La **figure IV.17** montre que le facteur bioturbation ainsi que l'apport de matière organique n'ont pas d'effet significatif sur la consommation biologique d'oxygène du sédiment (PERMANOVA, $p(\text{perm}) > 0,05$). Cependant des tendances sont à souligner. Pour la condition témoin, la plus forte consommation d'oxygène était dans la zone non remaniée avec $-91,6 \pm 122,4 \mu\text{gO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{PS} \cdot \text{min}^{-1}$, la plus faible dans la zone de prospection avec $-8,5 \pm 4,0 \mu\text{gO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{PS} \cdot \text{min}^{-1}$, et une consommation intermédiaire dans le cône fécal avec $-33,3 \pm 27,6 \mu\text{gO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{PS} \cdot \text{min}^{-1}$. Après ajout de *Tetraselmis sp.*, c'est dans le cône fécal que la consommation biologique d'oxygène était la plus importante avec $-116,8 \pm 81,4 \mu\text{gO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{PS} \cdot \text{min}^{-1}$, dans la zone de prospection qu'elle était également la plus faible avec $-15,5 \mu\text{gO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{PS} \cdot \text{min}^{-1}$, et dans la zone non remaniée qu'elle était intermédiaire avec $-100,4 \pm 67,4 \mu\text{gO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{PS} \cdot \text{min}^{-1}$. Enfin, après ajout de *Z. noltei*, c'est dans la zone de prospection que la consommation biologique d'oxygène était la plus importante avec $-362,7 \pm 290,5 \mu\text{gO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{PS} \cdot \text{min}^{-1}$, dans la zone non remaniée qu'elle était la plus faible avec $-80,0 \pm 48,8 \mu\text{gO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{PS} \cdot \text{min}^{-1}$, et dans le cône fécal qu'elle était intermédiaire avec $-207,8 \pm 205,3 \mu\text{gO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{PS} \cdot \text{min}^{-1}$.

Aucune corrélation significative n'a été trouvée entre la composition des communautés bactériennes et les propriétés sédimentaires (BIOENV, $p > 5\%$). De plus aucune corrélation n'a été mise en évidence entre l'abondance bactérienne et la consommation biologique d'oxygène, ainsi qu'entre la composition des communautés et la consommation d'oxygène (RELATE, $p < 5\%$). En

revanche, l'abondance bactérienne est positivement corrélée à la composition des communautés bactériennes (RELATE, $\rho=0,98$, $p < 5 \%$).



FigureIV.17: Consommation biologique d'oxygène du sédiment mesurée dans les trois zones de bioturbation et pour chacun des types d'apport en matière organique.

IV. Discussion

IV.1. Rappel des objectifs

Il est maintenant admis que la matière organique, sa qualité et/ou sa quantité, influence à la fois la macrofaune et les procaryotes, mais aussi que les deux compartiments biologiques influencent le devenir de la matière organique (e.g. Grémare *et al.*, 1989a ; Albertelli *et al.*, 1999 ; Fontaine *et al.*, 2003 ; Arndt *et al.*, 2013). Cette étude avait pour objectif d'approfondir la compréhension du lien entre la bioturbation de *M. palmata* et les communautés bactériennes oxygènes de l'interface eau-sédiment en ajoutant un facteur : l'enrichissement en matière organique de deux qualités différentes. Cet objectif peut se décliner sous la forme de trois interrogations :

- (1) L'enrichissement en matière organique particulière détritique affecte-t-il l'activité et la bioturbation de *M. palmata*, l'abondance, la composition des communautés bactériennes et la consommation biologique d'oxygène ?

- (2) Deux types de matière organique particulaire détritique ont-ils des effets sur ces mêmes descripteurs ?
- (3) L'enrichissement en matière organique particulaire détritique modifie-t-il les relations entre la bioturbation et les communautés bactériennes à l'interface eau-sédiment ?

IV.2. Synthèse des principaux résultats

L'apport de matière organique particulaire issue de *Tetraselmis* sp. ou *Z. noltei* inactivée par autoclavage affecte le comportement de *M. palmata*. Quand on lui apporte des cellules de *Tetraselmis* sp., *M. palmata* ne consacre plus que $85 \pm 15\%$ de son temps à prospecter, et ralentit sa fréquence de défécation à $0,05 \pm 0,01 \text{ min}^{-1}$.

Sur le sédiment, l'impact de ces apports est particulièrement visible dans le cas des aquariums enrichis avec *Tetraselmis* sp. Sa principale signature est l'accroissement des concentrations en phéophytine *a* avec $50,2 \pm 11,9 \mu\text{g.g}^{-1} \text{ PS}$ dans le sédiment non remanié témoin et $138,1 \pm 42,7 \mu\text{g.g}^{-1} \text{ PS}$ dans le sédiment non remanié après apport de *Tetraselmis* sp., mais aussi en phéophytine *b* avec $6,0 \pm 8,5 \mu\text{g.g}^{-1} \text{ PS}$ dans le sédiment non remanié de la condition témoin et $65,0 \pm 41,2 \mu\text{g.g}^{-1} \text{ PS}$ dans la zone non remaniée après apport de *Tetraselmis* sp. (cf. **Tableau IV.1** et **Figure IV.5**).

Dans le temps, les conditions expérimentales que nous avons créées s'avèrent stables et permettent vraisemblablement d'atteindre en 11 jours ou moins un état stationnaire. En témoignent les évolutions des différents paramètres sédimentaires mesurés avec par exemple le COP dans la zone non remaniée qui était à $22,3 \pm 7,0 \text{ mg.g}^{-1} \text{ PS}$ à T_{0j} , à $29,5 \pm 5,9 \text{ mg.g}^{-1} \text{ PS}$ à T_{11j} de la condition témoin, $27,2 \pm 4,6 \text{ mg.g}^{-1} \text{ PS}$ à T_{11j} après apport de *Tetraselmis* sp., $26,4 \pm 5,2 \text{ mg.g}^{-1} \text{ PS}$ à T_{11j} après apport de *Z. noltei*, à $25,3 \pm 5,0 \text{ mg.g}^{-1} \text{ PS}$ à T_{22j} pour la condition témoin, $24,0 \pm 5,0 \text{ mg.g}^{-1} \text{ PS}$ à T_{22j} après apport de *Tetraselmis* sp. et enfin à $24,9 \pm 6,1 \text{ mg.g}^{-1} \text{ PS}$ à T_{22j} après apport de *Z. noltei*.

IV.3. Hétérogénéité de l'interface eau-sédiment sans apport de matière organique

Les différents paramètres sédimentaires mesurés (teneurs en matière organique, en pigments et phéopigments, granulométrie et profondeur de pénétration de l'oxygène) ont permis de distinguer la zone de prospection du cône fécal, ou de la zone non remaniée. En revanche, le cône fécal et la zone non remaniée n'étaient pas significativement différents. La différence entre le cône fécal et la zone de prospection concerne les communautés bactériennes, avec deux compositions significativement différentes. Ni l'une ni l'autre n'étaient différentes de la zone non remaniée. De plus, une majorité des OTU accueillies étaient communes aux trois zones de bioturbation (75%), et les abondances d'ADNr 16S étaient proches entre les trois zones, ne variant que de $1,37 \times 10^8 \pm 1,17 \times 10^8 \text{ copies.g}^{-1}$ à $1,82 \times 10^8 \pm 1,11 \times 10^8 \text{ copies.g}^{-1}$. La consommation biologique d'oxygène était elle aussi proche entre les trois zones, variant entre $-8,5 \pm 4,0 \mu\text{gO}_2.\text{g}^{-1} \text{ PS.min}^{-1}$ dans la zone de prospection à

$-91,6 \pm 122,4 \mu\text{gO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{PS} \cdot \text{min}^{-1}$ dans la zone non remaniée. Ce résultat est en accord avec Kristensen & Kostka (2005) qui ont regroupé les résultats de plusieurs études concernant les effets de la bioturbation sur l'abondance bactérienne, et ont pu conclure à un effet relativement modéré de la construction de structures biogènes sur les abondances microbiennes. Par ailleurs, la technique de qPCR ne reste qu'un indicateur de l'abondance bactérienne. En effet, une bactérie peut avoir plusieurs copies de l'opéron ribosomique (1 à 15) (Klappenbach *et al.*, 2000), son abondance est alors surestimée. De plus, de l'ADNr 16S de reliquats bactériens peut être amplifié et peut donc également surestimer l'abondance bactérienne réelle (Fogel *et al.*, 1999 ; López-Gutiérrez *et al.*, 2004). Mais aussi, malgré l'absence d'apports de matière végétale en condition témoin, des pigments ont été dosés, provenant du microphytobenthos et/ou du dépôt de matière organique d'origine végétale provenant de la source d'eau. Les plastes contenus dans cette matière végétale sont de proches parents, phylogénétiquement, des bactéries (Woese, 1987), ce qui peut avoir limité l'interprétation des patrons de diversité des communautés bactériennes étant donné qu'elles ne sont pas les seules à avoir été prises en compte lors des analyses (Shah, 1983).

En prospectant $19,2 \pm 10,9 \text{ cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ l'interface eau-sédiment $94,2 \pm 5,0\%$ du temps, *M. palmata* découvre régulièrement une couche de sédiment caractérisée par des particules de plus grande taille et des teneurs en phéophytines *a*, *b* et *c* plus faibles. Les communautés bactériennes associées à ces particules prospectées ont donc elles aussi été prospectées, ingérées et plus ou moins digérées puis rejetées dans le cône fécal. De plus, en enlevant la première couche par prospection, *M. palmata* a également découvert une couche de particules avec ses propres communautés aérobies associées. Ceci correspond à un impact direct de déplacement des communautés bactériennes par l'activité et la bioturbation de *M. palmata*. Enfin, comme nous l'avons évoqué dans le **chapitre III**, la prospection de la surface du sédiment par *M. palmata* revêt le caractère d'une perturbation. En effet, ces effets directs de la bioturbation de *M. palmata* ont été particulièrement bien mis en évidence dans l'expérimentation similaire à cette condition témoin présentée dans le **chapitre III**. Mais ici, les communautés bactériennes de la zone de prospection et de la zone non remaniée n'étaient pas significativement différentes, de même que les abondances, ce qui pourrait être dû soit à une activité d'une plus faible intensité à l'échelle des 10 réplicats, soit à la prise en compte de l'ADN de plastes lors des ARISA qui masquerait les patrons de distribution des communautés bactériennes. Concernant le cône fécal, il semblerait que les particules prélevées avec la matière organique et les communautés associées aient été peu influencées par le passage dans le tube digestif de *M. palmata*, car ni les propriétés physico-chimiques, ni les communautés bactériennes du cône fécal n'étaient différentes par rapport à la zone non remaniée. Cette absence de différences physico-chimique et biologique entre les deux zones pourrait être expliquée par la présence non limitante de matière organique notamment d'origine végétale dans la zone non remaniée, impliquant que la différence induite par la digestion de *M. palmata* ne peut être détectée. Mais aussi, l'observation de son activité a montré qu'elle ne prospectait pas le cône fécal. Il y a donc les mêmes particules et leurs communautés bactériennes associées qui se

déposent d'une part sur la zone non remaniée et d'autre part sur le cône fécal. En revanche, le sédiment et les communautés bactériennes y étaient différents de celle de la couche découverte dans la zone de prospection, ce qui démontre un impact de la bioturbation et plus précisément du *grazing* sur la distribution des communautés bactériennes. Ce n'est pas la première fois que l'impact de la bioturbation de la macrofaune sur les communautés bactériennes a été démontré, mais avec des espèces dont le mode de bioturbation était différent, par exemple avec *Hediste diversicolor* (Pischedda *et al.*, 2011), *Upogebia deltaura* (Laverock *et al.*, 2010). Leur point commun étant la bioturbation en profondeur dans la colonne sédimentaire, contrairement au convoyeur de surface *M. palmata* qui ne remanie que les premiers millimètres de l'interface eau-sédiment. Finalement, ce qui distingue *M. palmata* d'*Hediste diversicolor* ou d'*Upogebia deltaura*, c'est la nature de l'activité qui sous-tend le remaniement sédimentaire. Les uns déplacent de grandes quantités de sédiment pour construire et entretenir leurs galeries, tandis que *M. palmata* le fait pour se nourrir uniquement. En revanche, elle ingère une grande quantité de particules, pour n'en assimiler que peu, d'autant plus lorsque le sédiment est riche en particules nutritives (Jumars & Wheatcroft, 1989).

Malgré un temps de prospection plus important de *M. palmata* par rapport à celui observé dans le **chapitre III** ($94,2 \pm 5,0\%$ ici pour $84,6 \pm 2,7\%$ dans le chapitre précédent) où les conditions étaient similaires, les conséquences sur la composition des communautés bactériennes ne sont pas aussi marquées. Ceci peut venir du fait que pour les analyses des communautés bactériennes, 10 réplicats d'aquariums ont été utilisés, alors que pour l'activité de *M. palmata*, la variabilité inter-individuelle n'a pas pu être prise en compte car un seul individu de chaque condition a été suivi. Le résultat de l'activité d'un individu ne peut donc pas forcément expliquer les résultats basés sur 10 réplicats. Il est probable que ce pourcentage de temps alloué à la prospection ait été surestimé. Plusieurs études de suivi de l'activité et de la bioturbation d'autres espèces benthiques ont montré l'importance de la variabilité inter-individuelle dans ce type de travaux (Grémare *et al.*, 2004 ; Maire *et al.*, 2006 ; Bernard, 2013), avec par exemple pour le bivalve *Abra ovata* des temps d'activités pouvant varier entre 0 et 90% d'un individu à l'autre, pourtant placés dans les mêmes conditions. Le fait que le pourcentage de temps de prospection ait été ici surestimé par la prise en compte d'un seul individu sur 10 est appuyé par les données de remaniement sédimentaire, basées elles sur 10 réplicats, qui montrent un remaniement sédimentaire plus faible avec des cônes fécaux et des zones de prospection plus petits (respectivement $12 \pm 4 \text{ cm}^2$ et $26 \pm 15 \text{ cm}^2$) que lors de la première expérimentation avec respectivement $21 \pm 7 \text{ cm}^2$ et $28 \pm 10 \text{ cm}^2$ où le pourcentage de temps de prospection était pourtant plus faible.

IV.4. Hétérogénéité de l'interface eau-sédiment après enrichissement avec des cellules phytoplanctoniques

L'enrichissement du système par apports quotidiens d'une suspension de cellules phytoplanctoniques, *Tetraselmis* sp., a induit une modification significative des paramètres physico-

chimiques du sédiment de surface non remanié par *M. palmata* au regard de la condition sans enrichissement. Comme pour la condition témoin, les différents paramètres sédimentaires mesurés ont permis de distinguer la zone de prospection du cône fécal de la zone non remaniée, mais le cône fécal et la zone non remaniée n'étaient cependant pas différents. En revanche, les communautés bactériennes étaient significativement différentes dans les trois zones, bien qu'il y ait 77% d'OTU communes aux trois zones, mais également différentes de leur zone homologue sans apport de matière organique. Un autre fait important est que la majorité, voire l'ensemble, des OTU présentes dans les rations de *Tetraselmis* sp. sont trouvées dans les trois zones de bioturbation ; respectivement 90 sur 91 dans le cône fécal et 91 sur 91 dans les zones de prospection et non remaniée. Les apports réalisés pour simuler un apport nutritif ne se révèlent donc pas sans ambiguïté. Choisie pour leur représentativité écologique, les matières organiques particulières utilisées comme apports sont d'origine végétale, et donc comme décrit dans la partie précédente, contiennent des plastes, c'est-à-dire des structures phylogénétiquement proches de cyanobactéries et donc des bactéries (Woese, 1987). Ni *Tetraselmis* sp., ni *Z. noltei* n'ont été produits, puis récoltés en condition axénique. Il est aussi vraisemblable qu'une partie des OTU ne soit pas plastidiale mais bactérienne, provenant des bactéries associées à *Tetraselmis* sp. ou *Z. noltei*. Il n'est donc pas étonnant de retrouver ce grand nombre d'OTU en commun lorsque les échantillons sont analysés par ARISA. Par contre, il devient délicat d'interpréter les patrons de diversité des sédiments exposés à ces « apports d'OTU ». L'effet de l'activité et de la bioturbation est le même que pour la condition témoin, avec un déplacement des particules et des bactéries associées par prospection, de la zone de prospection vers le cône fécal, découvrant ainsi une couche de sédiment caractérisé par des particules plus grossières, moins de matière organique, de pigments et de phéopigments, mais aussi des bactéries associées différentes. Aucun effet significatif n'a par contre été décelé sur la consommation biologique d'oxygène.

Les résultats de distribution des communautés montrent un effet de l'enrichissement en matière organique sur les communautés bactériennes en lien avec la bioturbation. Malgré un plus faible pourcentage de temps alloué à la prospection par rapport à la condition témoin (10% de moins), on observe une plus faible intensité d'activité avec $5,3 \pm 3,2 \text{ cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$, une fréquence d'égestion plus élevée ($0,05 \pm 0,01 \text{ min}^{-1}$) et de plus petites zones de bioturbation ($9,8 \pm 4,6 \text{ cm}^2$ pour le cône fécal et $15,9 \pm 8,7 \text{ cm}^2$ pour la zone de prospection). Les communautés bactériennes sont donc mieux différenciées entre les trois zones. Par contre, la consommation biologique d'oxygène et les abondances ne présentent pas de différences significatives entre les différentes zones de bioturbation. Ceci est couplé aux résultats d'activité de *M. palmata* qui ne semble pas être stimulée. Ceci est probablement dû au fait que l'individu a moins besoin de prospecter l'interface eau-sédiment et a besoin d'un plus faible taux d'assimilation si ce qu'il prélève est assez riche en particules nutritives. Or, c'est pour ses qualités nutritives que *Tetraselmis* sp. est utilisée en mariculture (Montaini *et al.*, 1995 ; Brown 1997 ; Ponis *et al.*, 2002), notamment pour sa teneur élevée en lipides qui peut représenter jusqu'à 15% du poids sec de la cellule (Chisti, 2007). Les lipides sont effectivement

considérés comme des biopolymères simples à dégrader au regard de macromolécules plus complexes telles que la cellulose (Danovaro *et al.*, 2001a), présente en plus faible proportion chez les algues par rapport aux phanérogames (Domozych *et al.*, 2012). Cammen (1980) a montré que le taux d'ingestion de *Nereis succinea*, qu'il a classé comme dépositore, est corrélé négativement à la teneur en matière organique de la source de nourriture.

IV.5. Hétérogénéité de l'interface eau-sédiment après enrichissement avec des feuilles de phanérogame marine

Après apport de broyat de feuilles de *Z. noltei*, les paramètres sédimentaires ont permis de distinguer significativement la zone de prospection de la zone non remaniée et du cône fécal, mais pas la zone non remaniée et le cône fécal. Comme après apport de *Tetraselmis* sp., les teneurs en carbone et azote organiques particuliers, ainsi que les pigments et phéopigments étaient plus élevés et les particules plus fines dans la zone non remaniée par rapport à la zone de prospection. Les valeurs des paramètres dans le cône fécal et dans la zone non remaniée étaient proches. Ces différences de propriétés sédimentaires sont associées à des modifications du compartiment bactérien, avec la présence de trois communautés distinctes dans les trois zones, malgré 80% d'OTU communes aux trois zones. Comme précédemment, la majorité des OTU des sources de matière organique apportées sont également retrouvées dans les trois zones de bioturbation, jusqu'à la totalité des OTU trouvées dans *Z. noltei* (86 OTU), ce qui s'explique encore par la proximité phylogénétique des plastes avec les bactéries ou par la présence des bactéries associées aux cultures de *Tetraselmis* sp. ou aux fragments de *Z. noltei*. En revanche, ces différences de structure ne sont pas accompagnées de différences d'abondances et de consommation biologique d'oxygène. Le pic de consommation d'oxygène induisant une moyenne à $-362,7 \pm 290,5 \mu\text{gO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{PS} \cdot \text{min}^{-1}$ pourrait être dû à des fragments colonisés par les microorganismes qui ont pu se retrouver dans l'incubateur avec le sédiment lors des mesures de la consommation d'oxygène et induire les fortes valeurs, comparés à une incubation sans débris de feuille, la dégradation de la matière organique étant à l'origine d'une augmentation de l'activité microbienne (e.g. Rice & Tenore, 1981 ; Gulis & Suberkropp, 2003). Par exemple, chez la phanérogame marine *Posidonia oceanica*, la respiration hétérotrophe peut expliquer jusqu'à 40% de la perte de poids de carbone lors de sa dégradation (Mateo & Romero, 1996). Cependant, seule une valeur importante a été mesurée, même avec apport de *Tetraselmis* sp. ; nous ne pouvons donc conclure à une augmentation de l'activité microbienne dans notre étude.

Ces résultats confirment nos observations précédentes (cf. **chapitre III**) sur les effets de l'activité et de la bioturbation de *M. palmata* sur les communautés procaryotes de l'interface eau-sédiment. Cela se manifeste par la présence de communautés bactériennes différentes suivant les zones de bioturbation. Entre les zones de prospection et non remaniée comme pour la condition témoin, et également entre ces mêmes zones et le cône fécal, comme après apport de *Tetraselmis* sp. Ceci est aussi dû aux activités de prospection et d'égestion, qui déplacent les particules et les bactéries

associées. Les temps de prospection, fréquence d'égestion et intensité d'activité étaient plus proches de la condition témoin que de la condition + *Tetraselmis* sp., avec $90,8 \pm 9,3\%$ de temps alloué à la prospection, une fréquence d'égestion de $0,04 \pm 0,02 \text{ min}^{-1}$, et une intensité d'activité de $18,8 \pm 12 \text{ cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$. En revanche, la taille des zones de bioturbation était plus proche de celles de la condition avec enrichissement en *Tetraselmis* sp. avec le cône fécal à $9,9 \pm 4,9 \text{ cm}^2$ et la zone de prospection à $17,0 \pm 8,9 \text{ cm}^2$. Ces résultats d'activité de *M. palmata* et de bioturbation montrent l'impact de l'enrichissement et de la nature de la matière organique. En effet, les phanérogames marines surtout fraîches sont peu appréciées par les invertébrés benthiques (Kitting *et al.*, 1984), notamment en raison de la trop forte proportion de macromolécules carbonées complexes telles que la cellulose, qui nécessite d'avoir certaines enzymes spécifiques comme la cellulase (Cebrian & Duarte, 1998). A ceci s'ajoute la question de sélection des particules déjà discutée dans le **chapitre III** de ce manuscrit. L'observation des enregistrements vidéo de *M. palmata* dans cette expérimentation ne suggère pas de sélection des particules au niveau des tentacules. En effet, les fragments de plusieurs millimètres de *Z. noltei* étaient prélevés comme les autres particules. Cependant, étant de trop grande taille pour le passage par la bouche de l'organisme, ils étaient laissés à côté de l'ouverture du tube. Deux hypothèses de sélection sont donc possibles : (1) il y a une sélection non pas par rapport à la taille, par exemple comme ont pu le mettre en évidence Self & Jumars (1988), mais par rapport à la palatabilité, étant donné que ces fragments étaient certainement colonisés par les microorganismes que les dépositores de surface consomment (Newell, 1965 ; Cammen, 1980b ; Kihlslinger & Woodin, 2000 ; Mahon & Dauer, 2005) ; (2) il n'y a aucune sélection, juste la limitation due à la taille de l'animal et de sa bouche (Whitlatch, 1974 ; Fenchel, 1975 ; Taghon 1982 ; Hentschel, 1996).

IV.6. Comparaison des trois conditions

La relativement faible différence de temps alloué à la prospection entre les trois individus des trois conditions peut s'expliquer de plusieurs manières. D'une part, par le manque de réplicats et la variabilité inter-individuelle qui peut être à l'origine d'une sous- ou surestimation de ce temps et d'autre part, du fait que les aquariums étaient en système ouvert, avec un apport constant d'eau de mer prélevée dans le bassin d'Arcachon puis distribuée, après une phase de décantation dans un réservoir. De plus, l'expérimentation a eu lieu au printemps, période de blooms phytoplanctoniques. L'individu témoin n'était donc pas en conditions limitantes en termes de disponibilité de nourriture. Des études d'impact de l'ajout de nourriture sur d'autres dépositores de surface ont montré qu'à plus petite échelle de temps, jusqu'à quelques heures après l'ajout de la matière organique, l'activité de nutrition est plus importante, puis ensuite diminue. Par exemple, Duchêne & Rosenberg (2001) ont montré que la surface de recherche de nourriture de la macrofaune benthique pouvait presque doubler dans les quatre heures suivant l'ajout de nourriture. Un temps moyen de prospection comme nous l'avons mesuré ici a donc pu masquer l'effet à court terme de l'ajout de matière organique. Enfin, de manière

générale, les dépositores de surface prélèvent d'importants volumes de sédiment et sont adaptés aux changements de conditions, notamment vis-à-vis des « patchs » de nourriture qui évoluent (Lopez & Levinton, 1987). Avec des temps de prospection élevés, comme montré ici avec *M. palmata*, nous pouvons nous demander s'il est possible que le temps de prospection augmente encore.

Concernant les propriétés sédimentaires, un point commun entre les trois conditions d'enrichissement a été que le cône fécal n'a jamais pu être significativement distingué de la zone non remaniée. Il est probable que le sédiment ingéré par *M. palmata* soit suffisamment riche en matière organique, même sans apport, et que de ce fait, les fèces rejetées contiennent encore une importante quantité de matière organique, bien que la différence ne soit pas détectable par nos mesures. Des mesures des taux d'ingestion et d'assimilation pourraient confirmer cette hypothèse, comme cela a été fait avec le polychète dépositore de surface à tentacules *Eupolyornia nebulosa* (Grémare *et al.*, 1989b). Le cône fécal supportait pourtant des communautés bactériennes significativement différentes. Ceci est donc certainement lié directement à *M. palmata* et notamment à l'impact que peut avoir le passage dans son tube digestif. En effet, certaines bactéries peuvent être digérées partiellement à totalement, d'autres peuvent passer le tube digestif sans être affectées, et d'autres peuvent voir leur croissance stimulée (Dobbs & Guckert, 1988b ; Plante & Shriver, 1998).

Que ce soit pour les conditions d'enrichissement en *Tetraselmis* sp. ou en *Z. noltei*, le patron de profondeur de pénétration de l'oxygène était inversé par rapport à la condition sans enrichissement. Pour la condition témoin, la profondeur de pénétration avait tendance à être plus faible dans la zone de prospection et plus élevée dans le cône fécal par rapport à la zone non remaniée (différence non significative). Ce résultat est conforté par les travaux du **chapitre III** dans lesquels cette tendance était significative. A l'inverse, dans le cas où de la matière organique a été ajoutée, quelle que soit la qualité de celle-ci, c'est dans la zone de prospection que la profondeur de pénétration était la plus importante et dans le cône fécal qu'elle était la plus faible. Ce résultat suggère une plus forte consommation d'oxygène, certainement due à une minéralisation aérobie de la matière organique plus forte dans les deux zones les plus riches en matière organique, comme cela a pu être observé après déposition de blooms phytoplanctoniques sur des sédiments côtiers (Graf, 1992 ; Franco *et al.*, 2009). Dans la zone de prospection, cette couche de matière organique a été ingérée par *M. palmata*, il y a donc moins de matière organique réduite à oxyder, l'oxygène peut donc pénétrer plus en profondeur dans le sédiment. Les conséquences de la minéralisation de la matière organique sur la consommation d'oxygène devaient être mises en évidence avec les résultats de respirométrie. Toutes zones de bioturbation confondues, la consommation biologique d'oxygène à l'interface eau-sédiment était de $-48,8 \pm 78,1 \mu\text{gO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{PS} \cdot \text{min}^{-1}$ pour la condition témoin, $-98,3 \pm 72,2 \mu\text{gO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{PS} \cdot \text{min}^{-1}$ pour la condition d'enrichissement en *Tetraselmis* sp. et $-148,1 \pm 202,4 \mu\text{gO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{PS} \cdot \text{min}^{-1}$ pour la condition d'apport en *Z. noltei*. Une tendance à une minéralisation plus importante lors d'apports n'a pas été confirmée statistiquement. Le processus de stimulation de la minéralisation de la matière organique par l'apport de matière organique fraîche est appelé *priming effect* (Fontaine *et al.*, 2003 & 2004 ;

Nugteren *et al.*, 2009). Ce processus de *Priming effect* dans le sens d'une stimulation n'a pas toujours été mis en évidence. Il arrive en effet qu'à l'inverse le taux de minéralisation diminue avec les apports de matière organique. Dans ce cas, on parle d'utilisation du substrat préférentiel, c'est-à-dire que les communautés bactériennes minéralisent préférentiellement le substrat frais apporté par rapport à la matière organique déjà présente. Ceci a été observé dans des sédiments provenant de la marge continentale de l'Atlantique Nord-Est (Gontikaki *et al.*, 2013). Dans notre étude, la matière organique a été préalablement stérilisée par autoclavage, il ne s'agissait donc probablement pas de matériel assez frais permettant d'induire ce transfert de substrat par les communautés bactériennes. Une autre explication serait que la dynamique des apports n'ait eu aucun impact sur les teneurs intrinsèques en matière organique des sédiments étudiés. Certaines de nos mesures valident cette explication (COP par exemple), et d'autres la contredisent (phéophytine *b* par exemple).

V. Conclusions et perspectives

Nous avons pu mettre en évidence que l'enrichissement en matière organique, en modifiant les conditions physico-chimiques des sédiments de surface non remaniés, induisait la présence de communautés bactériennes différentes. Mais ces différences sont à prendre avec réserve du fait de l'apport d'OTU via les apports de rations de matière organique.

Une relative stabilité de la taille des zones de bioturbation, des volumes de sédiment remanié, et des concentrations en pigments, carbone ou azote organiques particuliers. Au contraire, au niveau des communautés bactériennes, des résultats contrastés ont été recueillis. Si la composition des communautés bactériennes s'est avérée différente dans les aquariums enrichis, 77% d'OTU étaient communes entre les zones après apport de *Tetraselmis* sp. et 80% après apport de *Z. noltei*. Par ailleurs, les abondances mais aussi la consommation biologique d'oxygène n'étaient pas différentes d'une modalité à l'autre. L'apport de matière organique particulière semble donc n'avoir eu un impact que sur la diversité, et pas sur l'abondance, ni sur l'activité des microorganismes du sédiment.

Les communautés archéennes sont elles aussi impliquées dans la minéralisation de la matière organique. Lloyd *et al.* (2013) ont notamment montré les importantes abondances d'archées benthiques à l'échelle globale, et leur implication dans la minéralisation des protéines en milieu anoxique. Par ailleurs, les communautés archéennes, sont au même titre que les communautés bactériennes, impactées directement (déplacements) et indirectement (modification des conditions biogéochimiques) par la bioturbation (Laverock *et al.*, 2013, 2014). Il serait donc intéressant de pouvoir compléter ce travail en ajoutant les communautés archéennes, afin de tester les effets de la bioturbation et de l'enrichissement en matière organique sur les communautés procaryotes dans leur ensemble. Malgré la présence avérée d'archées dans les sédiments de surface du bassin d'Arcachon (Cifuentes *et al.*, 2000 ; Meisterhans, 2012), comme expliqué dans la partie V. du **chapitre II**, aucune communauté archéenne n'a pu être déterminée à partir des ADN totaux, les mêmes que ceux utilisés pour la détermination des

communautés bactériennes. Il serait donc pertinent de trouver comment adapter le protocole de manière à compléter ce travail.

Enfin, ce travail pourrait être approfondi en caractérisant de manière beaucoup plus précise les interactions entre la dégradation de la matière organique et l'activité procaryote. La technique SIP (*Stable Isotope Probing*) permet d'isoler les procaryotes actifs, qui ont assimilé le carbone issu de la matière organique. Pour cela, les cellules de *Tetraselmis* sp. et *Z. noltei* (comme toute autre source de matière organique) sont marquées avec du carbone 13. En l'assimilant, les procaryotes sont à leur tour marqués au ^{13}C . L'ADN extrait des procaryotes actifs est alors plus dense que celui des procaryotes inactifs, et peut être isolé par ultracentrifugation et fractionnement sur gradient. Ensuite, les techniques de caractérisation de la diversité procaryotes comme l'ARISA et la T-RFLP, mais aussi d'abondance avec la qPCR, peuvent être appliquées.

Plus globalement, nous pouvons conclure sur le fait que les interactions entre matière organique, microorganismes et macrofaune benthique sont complexes, chacun des compartiments influençant les autres. La matière organique qui se dépose à l'interface eau-sédiment est en partie minéralisée par les communautés bactériennes qui sont alors stimulées. Cette stimulation peut se faire au niveau de l'abondance ou de la biomasse, de la composition ou encore de l'activité, et diffère suivant la quantité et la qualité de la matière organique. En parallèle, cette matière organique est aussi ingérée par les invertébrés benthiques, plus ou moins selon sa qualité. Ils consomment donc également les bactéries qui y sont associées. Cette consommation module donc les effets de l'enrichissement. De plus, les invertébrés benthiques, par leur activité de bioturbation, modifient les propriétés physico-chimiques du sédiment, et donc influencent l'abondance, la biomasse, la diversité et l'activité des communautés bactériennes, et donc la minéralisation de la matière organique.

CHAPITRE V

*Les patrons spatiaux de distribution des
communautés bactériennes suivent ceux
de la macrofaune benthique dans la
vasière Ouest-Gironde*

Préambule

Les expérimentations présentées dans les chapitres précédents ont montré qu'il existe un lien entre les communautés de bactéries et la macrofaune à l'interface eau-sédiment. Cette démonstration faite à l'échelle de l'individu et en conditions contrôlées présentait l'intérêt de supprimer un grand nombre de facteurs confondants. Nous avons par exemple constaté que la matière organique, les cycles tidaux et nycthémeraux pouvaient influencer l'activité et la bioturbation de la macrofaune et/ou la composition des communautés bactériennes. Cependant, ces expérimentations restent éloignées de la réalité écologique en termes d'échelle d'étude ou de complexité des processus pris en compte.

Le site de la vasière Ouest-Gironde présentait une grande pertinence pour mettre en évidence ce lien entre la macrofaune et les communautés bactériennes benthiques. Il est en effet caractérisé par un gradient Nord-est / Sud-ouest de particules de plus en plus fines en surface, et de matière organique de plus en plus fraîche. A cela s'ajoute une bioturbation de plus en plus intense (Jouanneau *et al.*, 1989). C'est d'ailleurs cette bioturbation qui a permis d'expliquer l'absence de stratification verticale des abondances de la méiofaune (Relexans *et al.*, 1992). En revanche, les communautés d'invertébrés benthiques n'avaient jamais été étudiées. De même, les relations entre macrofaune et diversité bactérienne n'ont jamais été étudié à cette échelle, ce que se propose de faire ce travail.

Bacterial and macrofaunal communities in the sediments of the West Gironde mud patch, Bay of Biscay (France)

Authors: Cécile Massé^a, Guillaume Meisterhans^{a,b}, Bruno Deflandre^a, Guy Bachelet^a, Line Bourasseau^a, Sabrina Bichon^a, Aurélie Ciutat^a, Florence Jude-Lemeilleur^a, Nicolas Lavesque^a, Natalie Raymond^a, Antoine Grémare^a, Frédéric Garabetian^a

^a Université de Bordeaux, CNRS, UMR 5805 EPOC, Station Marine d’Arcachon, 2 Rue du Professeur Jolyet, 33120 Arcachon, France

^b Marine Productivity Laboratory - Freshwater Institute, Department Fisheries and Oceans Canada, University Crescent, Winnipeg MB R3T2N6, Canada

Corresponding author: Cécile Massé, c.masse@epoc.u-bordeaux1.fr, +33 5 56 22 39 36

I. Abstract

Changes in benthic bacterial and macrofaunal communities were simultaneously addressed based on the sampling of three stations located in the eastern (E), central (C) and western (W) zones of the West Gironde mud patch during the BIOMIN-1 cruise (July 2010). Except in the top centimetre where a sandy layer was found in station E, the muddy sediments were coarser and richer in photosynthetic pigments and particulate organic carbon and nitrogen in stations C and W as compared to station E. Macrofaunal abundances, biomass and species richness decreased in the westward direction. Benthic macrofaunal community composition significantly differed westward. Prokaryotic cell densities increased from $1.7 \pm 1.2 \times 10^7$ cell gDW⁻¹ in station E to $2.9 \pm 1.4 \times 10^7$ cell gDW⁻¹ and $2.4 \pm 0.7 \times 10^7$ cell gDW⁻¹ in stations C and W respectively. Bray-Curtis similarities based on ARISA (Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis) fingerprints discriminated bacterial community composition in station E (less than 40% similarity with stations C or W) from communities in stations C and W, the latter sharing 57% similarity. Within the sediment column, prokaryotic cell density decreased from the top to the bottom layer but no vertical stratification of bacterial community composition was evidenced, suggesting bioturbation mediated sediment stratification disruption. Along the studied transect, macrofaunal and bacterial communities showed similar patterns of community changes, likely explained by fresh organic matter enrichment of the sediments in the central and Western zone of the WGMP.

Keywords: Atlantic Ocean, West Gironde mud patch, benthos, bacterial community, macrofauna

II. Introduction

In soft bottom coastal sediments, bioturbation mediated interactions between benthic macrofauna and microbial communities are critical for key biogeochemical processes including organic matter remineralisation (Kristensen and Kostka, 2005; Solan and Wigham, 2005; Aller, 2014). Bioturbation by engineer species of the benthic macrofauna induces the differentiation of biogenic structures from the bulk sediment (Jones et al., 1994; Cardinale et al., 2004; Mermillod-Blondin and Rosenberg, 2006). This affects microbial community density or biomass (Aller and Yingst, 1985; Reichardt, 1989; Aller, 1994), composition (Marinelli et al., 2002; Bertics and Ziebis, 2009; Laverock et al., 2010) or functions such as potential exoenzyme activity (Stief et al., 2004), nitrification and/or denitrification (Svensson and Leonardson, 1996; Gilbert et al., 2003; Bertics et al., 2012), nitrogen fixation (Bertics et al., 2010, 2012) or sulfate reduction (Bertics and Ziebis, 2010).

In the fields, community bioturbation potential may be calculated from the inventories of macrofaunal species thanks to a functional classification of organism traits associated with sediment mixing (Queiros et al. 2013). Besides, benthic macrofauna assemblages proved to be useful biological indicators of the environmental status (Dauer, 1993; Borja et al., 2000). Along a gradient of organic matter enrichment, oxygen depletion and/or physical disturbances, structural changes in benthic macrofaunal communities follow a generalized successional model characterized by typical spatio-temporal gradients in species richness, biomass and abundances (e.g. Pearson and Rosenberg, 1978; Rosenberg, 2001). Variations in the spatial patterns of macrofaunal community composition relate to the abiotic filter that structures communities at the regional and/or local scale and, therefore, reflect changes in the benthic habitat (Pearson and Rosenberg, 1978; Dauer 1993; Borja et al., 2000; Grémare et al., 2009).

To date, factors influencing the kilometre-scale distribution of bacterial communities inhabiting marine sediments have been seldom addressed. Changes in macro- and meiofauna community compositions were related to changes in bacterial biomass along a seaward transect in a Mediterranean beach (Papageorgiou et al., 2007). Density and biomass of bacteria, meio- and macrofauna also changed relatedly along a transect of quality and quantity of organic matter in the North-West Mediterranean Sea (Albertelli et al., 1999) and in the deep Eurasian Arctic Ocean (Kröncke et al., 2000). Water depth, sediment edaphic conditions and distance between sites explained the spatial patterns of bacterial community composition in Mediterranean (Polymenakou et al., 2005; Semprucci et al. 2010) and Pacific sediments (Hewson et al., 2007). Surprisingly, no study however addressed the direct link between macrofauna and bacterial community composition. As mentioned above, various studies showed that benthic macrofaunal species bioturbation can result in micro niche differentiation and subsequent structural and compositional changes in sediment bacterial communities at the centimetre scale of the burrow (Marinelli et al., 2002; Bertics and Ziebis, 2009; Laverock et al., 2010). These studies were specifically based on laboratory experiments and *in situ* data is lacking. The

link between the two benthic communities should thus be investigated under *in situ* conditions, straight in the field.

The West Gironde mud patch (WGMP) is a 420 km² clay-silt sedimentary patch of ca. 4 m in thickness, located on the French Atlantic coast, 25 km off the mouth of the Gironde Estuary in the Bay of Biscay (Jouanneau et al., 1989). The WGMP results from trapping about 50% of the terrigenous particle discharge from the Gironde Estuary (Lesueur et al., 1989), i.e. 1.5×10^6 tons of particles per year (Castaing and Jouanneau, 1987). Sedimentary processes are different between the eastern and western parts of the mud patch (Weber et al., 1991): in the western and deeper part, surficial sediments are supplied with particulate organic matter (7.5 µm grain size mode particles) originating from the Gironde estuary while in the inner eastern part, surficial sediments are supplied with an inorganic sandy shelf deposit (50-60 µm grain size mode micas). This difference induces a gradient in the surficial sediment grain size in the WGMP with smaller particles in the western part (Jouanneau et al., 1989). Moreover, the differentiated sedimentary processes result in an east-west increasing gradient in organic carbon content and lability which was linked to micro-biomass respiratory activity, as measured by ETS (Electron Transfer System) activities, but not to the meiofauna abundance (Relexans et al., 1992). While sedimentary processes have been extensively studied in the WGMP (Jouanneau et al., 1989; Lesueur et al., 1989, 2002; Weber et al., 1991; Gadel et al., 1997; Parra et al., 1999), the associated biota was poorly investigated (Relexans et al., 1992) and the inventory of benthic macrofauna community has never been achieved despite bioturbation was evidenced by core radiography (Jouanneau et al., 1989).

In the present study, we hypothesized that (i) bioturbation mediated interactions between benthic macrofaunal and bacterial communities and (ii) respective sensitivity of benthic macrofaunal and bacterial communities to the gradient of organic matter would result in linked distribution patterns of benthic macrofaunal and bacterial communities in the WGMP. Possible changes in benthic macrofaunal and bacterial communities were simultaneously addressed in three stations of the WGMP, along the putative organic carbon gradient. Benthic macrofaunal and bacterial community compositions were respectively assessed based on either species identification or ARISA (Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis) fingerprinting concomitantly with measurements of some distinctive physicochemical parameters of the sediment.

III. Material and methods

III.1. Sampling

Three stations were sampled in July 2010 on board of the RV *Côtes de la Manche* during the BIOMIN-1 cruise: station E in the east of the WGMP (45°45'648N; 1°31'458W), station C in the center (45°40'962N; 1°41'508W) and station W in the west (45°35'808N; 1°51'918W) (**Fig. V.1**).

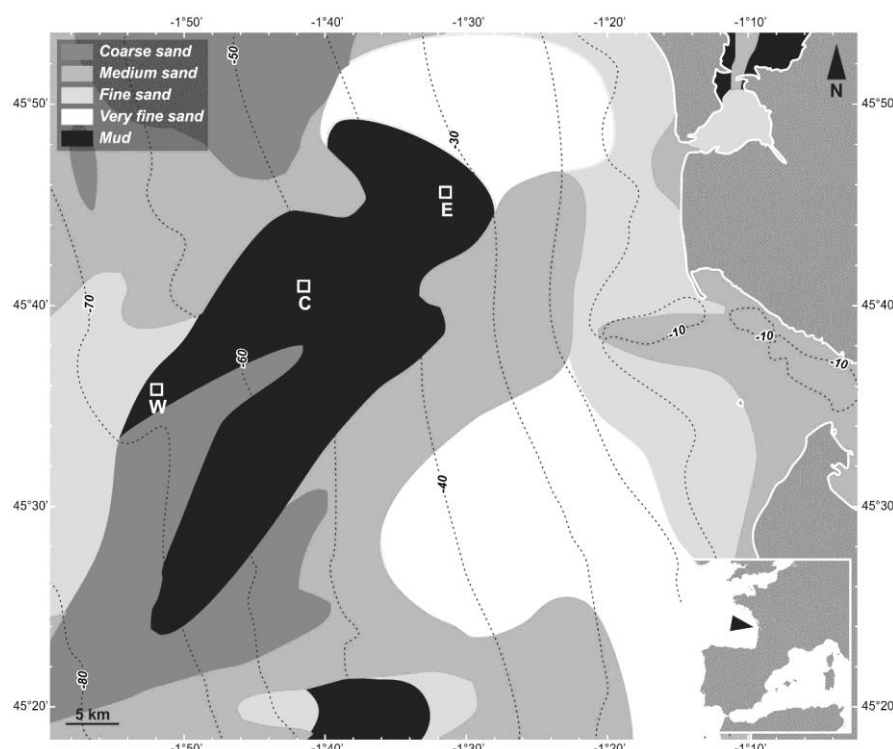


Figure V.1: Location of the stations sampled during the BIOMIN-1 cruise in July 2010, in the West Gironde mud patch (Bay of Biscay, Atlantic Ocean).

Replicate cores were collected in each station using a multiple corer (Oktopus GmbH, Germany) fitted with 8 polycarbonate tubes (inner diameter 95 mm). The corer allowed sampling of the first two decimetres of sediment and the overlying bottom waters, with a comparatively undisturbed sediment-water interface. Triplicate cores with undisturbed sediment-water interface were used for bacterial community analysis. Sediment characteristics (median grain size, total organic carbon and nitrogen contents, oxygen penetration depth, chlorophyll *a* and phaeophytin *a*) were analyzed on a fourth single core with undisturbed sediment-water interface. Cores for sediment analysis were sliced at 0-5 mm, 5-10 mm, 10-15 mm, 15-20 mm, 20-30 mm, 30-40 mm, 40-50 mm, 50-70 mm, 70-90 mm and 90-110 mm. Cores for bacterial composition analysis were sliced at 0-5 mm, 5-10 mm, 10-20 mm, 20-30 mm, 30-50 mm, 50-70 mm and 70-100 mm. For each slice, sediment was collected in a sterile container and homogenized with a sterile spatula prior to aliquoting for the various analyses. Within 2 hours after collection of every core slices, 1 g of sediment was preserved in 2 mL of diluted formalin (final concentration 3.7%) for the later determination of prokaryotic abundances. One g of sediment was preserved in 1 ml of preservative buffer (100 mM Tris-HCl [pH 8.0], 100 mM EDTA [pH 8.0], 1.5 NaCl and 1% [wt/vol] cetyltrimethylammonium bromide) (Zhou et al., 1996) for later analysis of bacterial community composition. Samples were stored at -80°C until treatment.

Benthic macrofauna was sampled with a Hamon grab (0.25 m², 3 replicates). Sediment was sieved through a 1-mm mesh and the remaining fraction was fixed in 4% formalin for later species identification.

III.2. Sediment analyses

Median grain size (D50) was assessed using a Malvern® Master Sizer laser microgranulometer (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, England). Organic carbon and nitrogen contents were measured using a ThermoFinnigan® Flash Elemental Analyser Series 1112 (Thermo Scientific, France). Chlorophyll *a* and phaeophytin *a* contents were measured on a 6 mL 90% acetone extract from 400 mg of sediment using a Perkin Elmer® spectrofluorometer (Courtaboeuf, France) according to Neveux and Lantoiné (1993). Oxygen microprofiles were measured at *in situ* temperature in a temperature-controlled incubator kept in darkness at 100 mm depth increments with Clark-type sensors (Revsbech, 1989) manufactured by Unisense, Denmark (OX100). Microelectrodes were connected to a high-sensitivity 4-ways picoammeter (Unisense, Denmark). Linear calibrations were done between the bottom-water oxygen content, precisely determined by a Winkler titration and the zero oxygen in the anoxic part of the sediment. Up to 15 steady-state profiles were randomly performed in the collected sediment core from each site to account for spatial heterogeneities. The position of the sediment-water interface was determined from a break in the oxygen-concentration gradient. Oxygen penetration depths were calculated using the software PRO2FLUX (Deflandre and Duchêne, 2010) providing 11 (stations E and W) and 7 (station C) oxygen penetration depth values per core.

III.3. Prokaryotic abundances

Prokaryotic cells were desorbed from sediment particles using a protocol modified from Duhamel and Jacquet (2006). Tween 80 (0.5% final) and sodium pyrophosphate (0.1% final) were mixed with the sample by gentle shaking (30 min, 720 rpm) and then the suspension was sonicated (ultrasonic bath, 20 min). Finally, cellular fraction containing prokaryotes was purified using a migration on Gentodenz density gradient (1.310 g mL⁻¹) according to Amalfitano and Fazi (2008). Cellular fractions were preserved in formalin (3.7% final) at -80°C until flow cytometry analysis at the *Plateforme Cytométrie-Imagerie* (Observatoire Océanologique de Banyuls-sur-Mer). Extemporaneously, cellular fractions were diluted (1:100 v:v) in artificial filtered seawater (0.22 µm porosity filter) and were stained during 10 min with SYBR®Green I (50 µL mL⁻¹; 25 X; Molecular Probes, Invitrogen Cergy Pontoise, France). Then a standard 0.97 µm fluorescent bead suspension was added as internal reference in each sample before running, under a low flow rate (10 µL min⁻¹), allowing a single cell analysis (Amalfitano and Fazi, 2008). Data were acquired by CellQuest software (Becton, Dickinson and company, Franklin Lakes, NJ USA). Cytogram analysis provided event numbers, identified as prokaryotic cell numbers, during the counting time (1 min). Counts were subsequently normalized to flow rate and to the mass of extracted sediment to calculate a density number in cells per gram of sediment. Stained prokaryotic cells, excited at 488 nm, were discriminated according to their right angle light scatter (SSC, related to cell size) and green fluorescence (FL1)

emission measured at 530 ± 30 nm. Photosynthetic prokaryotes were eliminated by discrimination on a plot of FL1 versus red fluorescence (FL3) (Lebaron et al., 2002).

III.4. Bacterial community composition

Bacterial community composition was characterized by ARISA (Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis), a PCR-based whole-community fingerprinting method (Fisher and Triplett, 1999).

DNA extraction was realized on 700 μ L of homogenized thawed sediment sample. DNA was extracted and purified by coupling a bead beating method (Lysing matrix E tubes and Fast Prep; MP Biomedicals, Illkirch, France: two runs at 5.5 m s^{-1} during 30 s) to the UltraClean® Soil DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, Inc., Carlsbad, CA, USA). The amount of extracted and purified DNA was quantified by spectrofluorimetry (LS 55, Perkin Elmer, Courtaboeuf, France) using SYBR®Green I (Molecular Probes, Invitrogen, Cergy Pontoise, France) and a standard DNA of calf thymus solution at 1 mg mL^{-1} (Sigma Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France).

PCR amplification of the 16S-23S rDNA intergenic spacer was carried out using 5'FAM labeled S-D-Bact-1522-B-S-20 (5'-TGC GGC TGG ATC CCC TCC TT-3') and L-D-Bact-132-a-A-18 primers (5'-CCG GGT TTC CCC ATT CGG-3') (Normand et al., 1996). The final reaction mix (25 μ L) consisted of 1X PCR buffer (Promega, Charbonnières, France), 1.5 mM MgCl_2 , 0.3 mg mL^{-1} bovine serum albumine, 5 % DMSO, 200 μ M of each deoxynucleoside triphosphate (Invitrogen, Cergy Pontoise, France), 0.5 μ M of each primer (Invitrogen, Cergy Pontoise, France), 0.25 U of Taq polymerase (Promega) and 10 ng of template DNA at about $1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Amplification was performed in a thermocycler (Eppendorf AG, France) consisting to an initial denaturation at 94°C for 5 min, followed by 35 cycles of denaturation (94°C , 1 min), annealing (55°C , 1 min) and extension (72°C , 1 min) and a final extension (72°C , 10 min). For each extracted DNA sample, triplicate PCR assays were performed using 3 x 10 ng of template DNA. Amplification products of the 3 assays were pooled and purified using QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN, Courtaboeuf, France). The purified amplification products were then quantified using the spectrofluorimetric method previously described for extracted DNA quantification. Finally, 2 μ L of amplification product adjusted by dilution to about $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ were mixed with 0.5 μ L GeneScan 1200 LIZ internal size standard (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France) and 9 μ L Hi-Di formamide (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France). The mixture was denatured at 95°C for 3 min and fragments were discriminated using an ABI 3730XL automated sequencer (Applied Biosystems Ltd, Courtaboeuf, France) operated by the *Plateforme Genome-Transcriptome Pierroton* (INRA, Bordeaux, France).

The resulting electrophoregrams were analyzed using the Applied Biosystems Peak Scanner software. Peak sizes inferior to 200 bp and superior to 1200 bp were eliminated, considered as background noise. Then, an “optimal divisor” (Od) was determined to remove fluorescence background within peaks between 200 and 1200 bp (Osborne et al., 2006). Consequently, peaks

contributing less than 0.1% (i.e. Od value) of the total amplified DNA (as determined by relative fluorescence intensity) were eliminated from profiles as being indistinguishable from baseline noise. Binning was carried out under the R software (available on <http://cran.r-project.org>) using the algorithm “Interactive binner” (available on <http://www.ecology-research.com>), according to Ramette (2009). Finally, a matrix of relative abundances (fluorescence) of the different Intergenic Transcribed Spacers (ITS) representing the Operational Taxonomic Units (OTU) was generated.

Bray-Curtis similarities were calculated using equation (1):

$$BC = 100 \times \frac{1 - (\sum |OTU_{i,a} - OTU_{i,b}|)}{\sum (OTU_{i,a} + OTU_{i,b})} \quad (1)$$

with $OTU_{i,a}$ the relative abundance of OTU_i in the sample a , and $OTU_{i,b}$ the relative abundance of OTU_i in the sample b .

Simpson’s diversity index (Simpson, 1949) was calculated from relative abundances matrix, according to equation (2):

$$\lambda = \left(\sum \left(\frac{N_s}{N_T} \right)^2 \right) \quad (2)$$

with N_s the relative abundance of one OTU and N_T the total number of OTU.

III.5. Benthic macrofauna

Organisms were sorted, counted and identified to the lowest possible taxonomic level. Biomass was determined at the phylum level as ash-free dry weight (AFDW) after desiccation (60°C, 48 h) and calcination (450°C, 4 h). This allowed to assess benthic macrofauna abundance, biomass and species richness. Bray-Curtis similarity and Simpson diversity indices were calculated according to equations (1) and (2), respectively, replacing OTU by species.

The functional diversity of the benthic macrofaunal community was assessed by considering the score of mobility in the sediment (M_i) and sediment reworking (R_i) for each taxa according to Queiros et al. (2013). M_i scores were 1 for organisms that lived in fixed tubes, 2 organisms with limited movement, 3 organisms with slow but free movement through the sediment matrix, 4 organisms with free movement via burrow system. R_i scores were 1 for epifauna, 2 for surficial modifiers, 3 for upward and downward conveyors, 4 for biodiffusors and 5 for regenerators. Accordingly, in the present study, taxa for which $R_i \times M_i \geq 12$ were considered as potentially strong bioturbating taxa.

III.6. Statistical analyses

Statistics on community composition were performed using the software PRIMER 6 (Clarke and Warwick, 2001) and were based on Bray-Curtis similarity analyses (Clarke and Warwick, 2001). Similarity matrices were represented using a Non-metric Multi-Dimensional Scaling (MDS) plot where the relevance of the graphical representation is given by a stress value. A stress value lower than 0.2 indicates a satisfactory representation. Combined effects of station and sediment depth on

community composition were assessed using PERMANOVA (Anderson, 2001; McArdle and Anderson, 2001). Similarity Percentage analysis (SIMPER) was performed to assess the contribution of benthic macrofauna species to the intra-station similarity or to the inter-station dissimilarity. The effect of station and sediment depth on the dispersion of community composition were tested using the PERMDISP procedure (Anderson, 2006).

PERMANOVA was used to assess the combined effects of depth and station on chlorophyll *a* and phaeophytin *a* contents, oxygen penetration depth, prokaryotic abundance, Simpson index, benthic macrofaunal abundance and species richness. Similarity matrices were based on Bray-Curtis similarities for community composition data and Euclidean distances for other data, according the equation (3).

$$E = \sqrt{\sum_{i=1}^n (x_{ij} - x_{ik})^2} \quad (3)$$

The relationship between macrofaunal and bacterial communities' composition was addressed using a Mantel test (Mantel, 1967; RELATE on PRIMER-E, Ltd, Lutton, UK). Bray-Curtis similarity matrices of bacterial and benthic macrofaunal communities were correlated by calculating a Spearman's rank coefficient. As uncoupled sampling operations (i.e. sediment cores for bacterial community and grabs for benthic macrofaunal community) were to be correlated, a total of $216 = 3! \times 3! \times 3!$ combinations of core and grab pairs (i.e. $3!$ combinations of core and grab pairs per station) was possible. The 216 combinations were exhaustively tested by means of the Mantel test and the Holm-Bonferroni method (Holm, 1979) to correct the P-value for multiple comparisons was applied.

The 5% significance level was considered for all tests.

IV. Results

IV.1. Sediment features

The eastern station E exhibited different sediment properties as compared to the central C and western W stations (**Fig. V.2**). In station E, particles (D50) were coarser in the top 10 mm layer (D50 : 19 - 46µm) than in the 10-100 mm layer of sediment (D50 < 8 - 11µm; **Fig. V.2A**) and particulate organic carbon and nitrogen content was lower in the top 10mm layer (carbon: 0.4 – 0.6%; nitrogen: 0.05 – 0.07%) than in the 10-100 mm layer (carbon: 0.7-1%; nitrogen: 0.10-0.12%; **Fig. V.2B and C**). Conversely, in stations C and W, homogeneous values of median grain size, about 21 µm and 22 µm, organic carbon, about 0.98% and 1.10% and nitrogen, about 0.12% and 0.14% were respectively found along the sediment depth. As no replicates were available, statistical assessment of station and depth related effects was not possible. In the whole surficial sediment column (0 - 100mm layer), the respective particulate organic carbon and nitrogen content were increasing from station E (89 and 11 mg cm⁻²) to stations C (108 and 11 mg cm⁻²) and W (132 and 16 mg cm⁻²).

Station and sediment depth had a significant effect on the chlorophyll *a* and phaeophytin *a* vertical profiles (**Figs. V.2D** and **V.2E**), with an interaction between these two factors (PERMANOVA, $P(\text{perm}) < 0.05$). Both the chlorophyll *a* and phaeophytin *a* maxima sank from the top 5 mm layer in station E to the 10 – 20mm subsurface layer in station C and W. The respective chlorophyll *a* and phaeophytin *a* contents of the surficial sediment column (0 - 100mm layer), were lower in station E (1.96 and 16.7 $\mu\text{g cm}^{-2}$) than in station W (2.08 and 23.0 $\mu\text{g cm}^{-2}$) and station C (3.02 and 24.7 $\mu\text{g cm}^{-2}$), the latter being the station where the highest pigment content was observed.

Oxygen penetration depth in the sediment (**Fig. V.3**) was significantly lower in station E (0.29 ± 0.01 cm) than in stations C (0.39 ± 0.08 cm) and W (0.37 ± 0.01 cm) (PERMANOVA, $P(\text{perm}) < 0.05$).

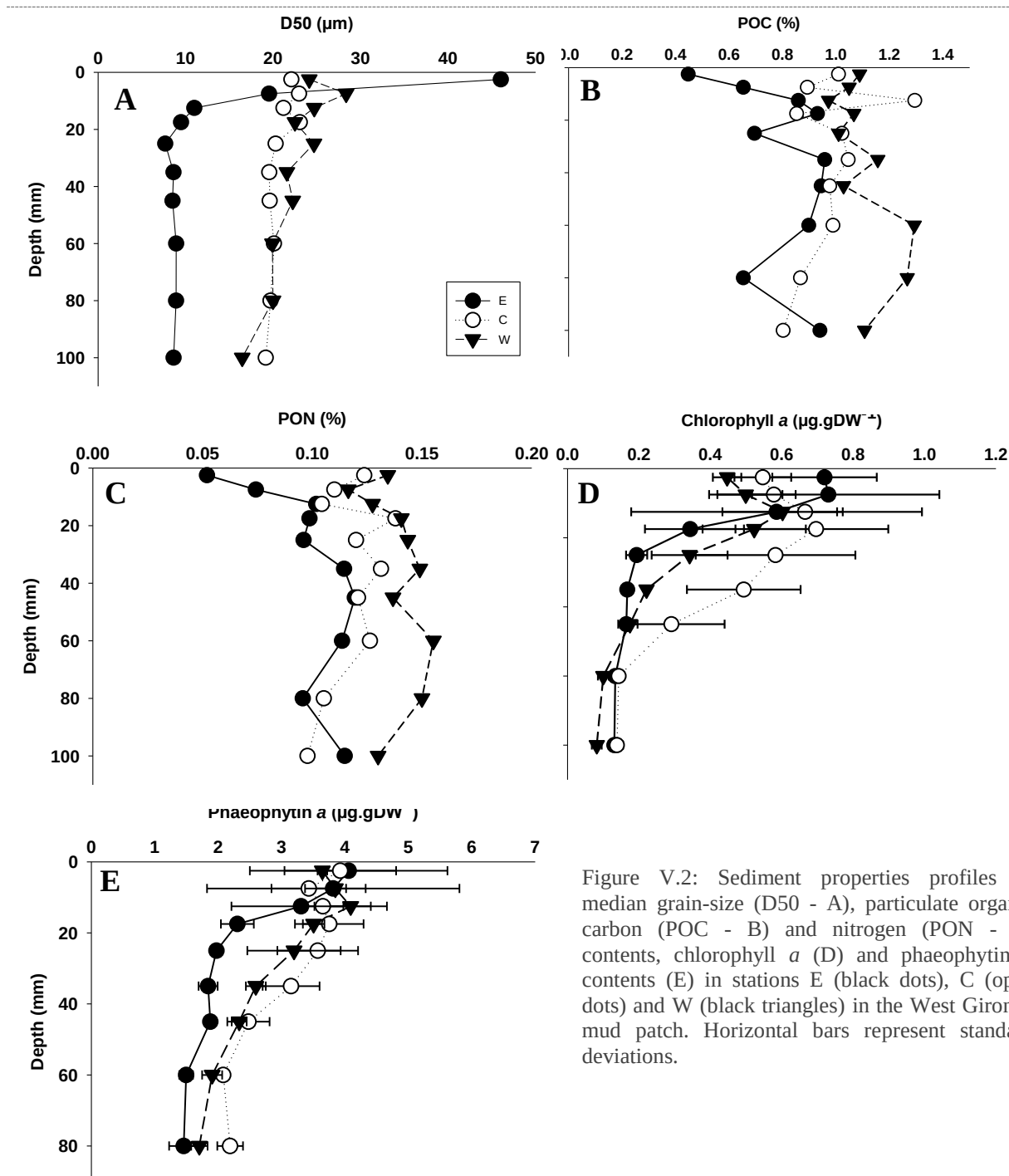


Figure V.2: Sediment properties profiles of median grain-size (D50 - A), particulate organic carbon (POC - B) and nitrogen (PON - C) contents, chlorophyll *a* (D) and phaeophytin *a* contents (E) in stations E (black dots), C (open dots) and W (black triangles) in the West Gironde mud patch. Horizontal bars represent standard deviations.

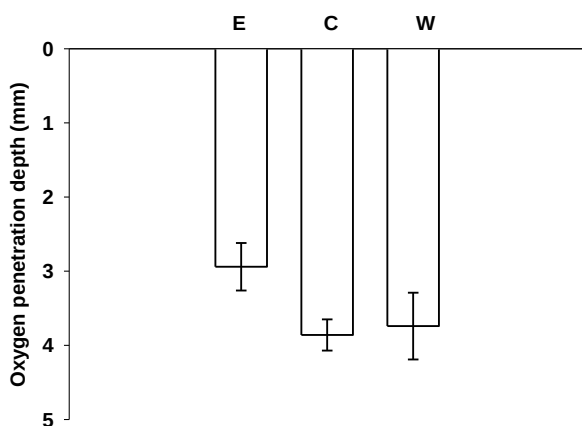


Figure V.3: Oxygen penetration depth in sediment in stations E (n = 11), C (n = 7) and W (n = 11) in the West Gironde mud patch. Vertical bars = standard deviations.

Both station and sediment depth had an effect on prokaryotic abundance (PERMANOVA, $P(\text{perm}) < 0.05$) but no interaction was found between these two factors (PERMANOVA, $P(\text{perm}) > 0.05$). Except in station W, prokaryotic abundance decreased with sediment depth from 3.6 and 5.5×10^7 cells gDW^{-1} of sediment in the 0 – 10mm layer to 1 and 1.5×10^7 cells gDW^{-1} of sediment in the 80 – 110mm layer in station E and C, respectively (**Fig. V.4**). In the whole surficial sediment column (0 - 100mm layer), the average prokaryotic cell number was slightly lower in station E (9.8×10^7 cells cm^{-2}) than in station W (2.1×10^8 cells cm^{-2}) and station C (2.1×10^8 cells cm^{-2}).

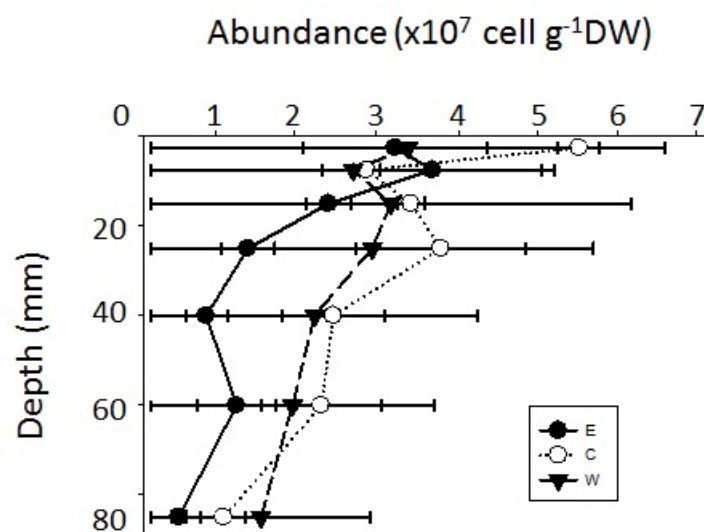


Figure V.4: Prokaryotic abundances in different sediment layers in stations E, C and W in the West Gironde mud patch. Horizontal bars represent standard deviations.

IV.3. Bacterial community composition

Regardless of the sediment layers, a total of 306 OTU ranging from 200 to 1120 bp was detected in the three studied stations ($n = 60$), with 274 OTU in station E ($n = 20$), 191 OTU in station C ($n = 20$) and 227 OTU in station W ($n = 20$). Fifty-two percent of the retrieved OTU were present in the three stations. There was no significant effect of sediment depth on the bacterial community structure (PERMANOVA, $P(\text{perm}) > 0.05$). Simpson's diversity index ranged from 0.031 ± 0.001 (station E, 30-50 mm) to 0.114 ± 0.057 (station E, 20-30 mm), but did not significantly vary with respect to sediment depth (PERMANOVA, $P(\text{perm}) > 0.05$). Bacterial community structures in stations E, C and W were plotted on a two-dimensional MDS (stress: 0.12) (**Fig. V.5**). Bacterial communities from station E were more dispersed and heterogeneous (intra-group Bray Curtis similarity = 38%) than those from stations C and W (respective intra-group Bray Curtis similarity = 59 and 61%). The bacterial community structure was significantly different among stations (PERMANOVA, $P(\text{perm}) < 0.05$) with Bray-Curtis similarity of 36% between stations E and C, 34 % between stations

E and W and 57% between stations C and W. Simpson's diversity index was not significantly different between the three stations (PERMANOVA, $P(\text{perm}) > 0.05$) with on average 0.056 ± 0.011 in E, 0.042 ± 0.002 in C and 0.040 ± 0.002 in W.

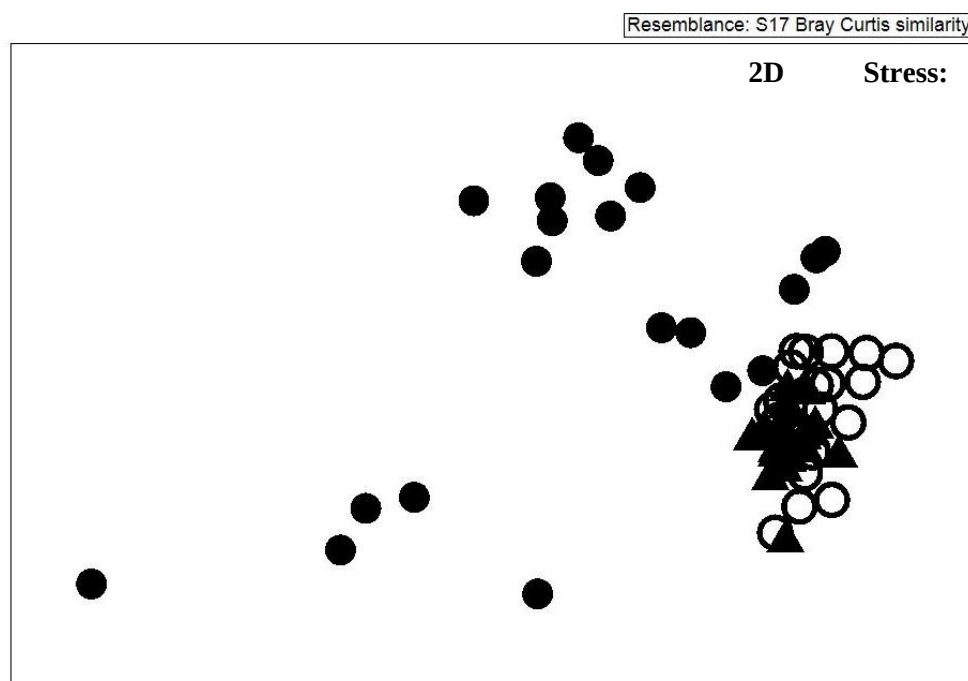


Figure V.5: nMDS plot based on Bray-Curtis similarities of the relative abundances of bacterial OTU as determined by ARISA at stations E (black dots), C (open dots) and W (black triangles) in the West Gironde mud patch.

IV.4. Benthic macrofauna

In station E, macrofaunal community was composed by 1628 ± 274 individuals m^{-2} belonging to 32 species (23.3 ± 2.0 species grab^{-1}), for a total biomass of 4.7 ± 0.7 gAFDW m^{-2} (Fig. V.6 and Table V.1). Four species (3 deposit feeders: *Kurtiella bidentata*, *Amphiura filiformis*, *Owenia fusiformis* and one carnivore: *Malmgrenia andreapolis*) contributed to 90% of the intra-station Bray-Curtis similarity which was 72.4% (SIMPER analysis). Among these species the bivalve mollusk *Kurtiella bidentata* contributed to 66.8% of the intra-station similarity (SIMPER analysis). Seven species out of 32 (22%), representing a 21% of relative abundance, were potentially strong bioturbating (i.e. $R_i * M_i > 12$ according to Queiros et al. (2013).

In station C, macrofaunal community was composed by 328 ± 104 individuals m^{-2} , belonging to 22 species (13.7 ± 2.0 species grab^{-1}), for a total biomass of 3.5 ± 1.7 gAFDW m^{-2} (Fig. V.6 and Table V.1). Six taxa/species (5 deposit feeders: Rissoidae, *Scalibregma inflatum*, *Terebellides stroemii*, *Amphiura filiformis*, *Hilbigneris gracilis* and one carnivore: *Nephtys incisa*) contributed to 90% to the intra-station similarity which was 40.1%. Among these taxa/species, the Rissoidae contributed to

39.2% to this intra-station similarity (SIMPER analysis). Nine species out of 22 (41%), representing a 41% of relative abundance, were potentially strong bioturbating species.

In station W, macrofaunal community was composed by 119 ± 15 individuals m^{-2} , belonging to 21 species (12.0 ± 1.2 species grab⁻¹), for a total biomass of 1.9 ± 0.4 gAFDW m^{-2} (**Fig. V.6** and **Table V.1**). Six deposit feeder taxa (Rissoidae, *Oestergrenia digitata*, *Malmgrenia andreapolis*, *Terebellides stroemii*, *Callianassa subterranea* and *Hilbigneris gracilis*) contributed to 90% of the intra-station similarity which was 54.8%. The Rissoidae accounted for 49.4% of this intra-station similarity (SIMPER analysis). Nine species out of 21 (43%), representing a 33% of relative abundance, were potentially strong bioturbating species.

Abundance, species richness, composition but not Simpson diversity index were significantly different among the 3 stations (PERMANOVA, $P(\text{perm}) < 0.05$). Exhibiting the highest abundance, biomass and species richness, station E contrasted with stations C and W which conversely clustered (**Fig. V.7**). Nine species contributed to 90% to the average dissimilarity between E and either C or W. Among them, *Kurtiella bidentata* characterizing station E mainly contributed (> 60%) to the inter-station dissimilarity (SIMPER analysis).

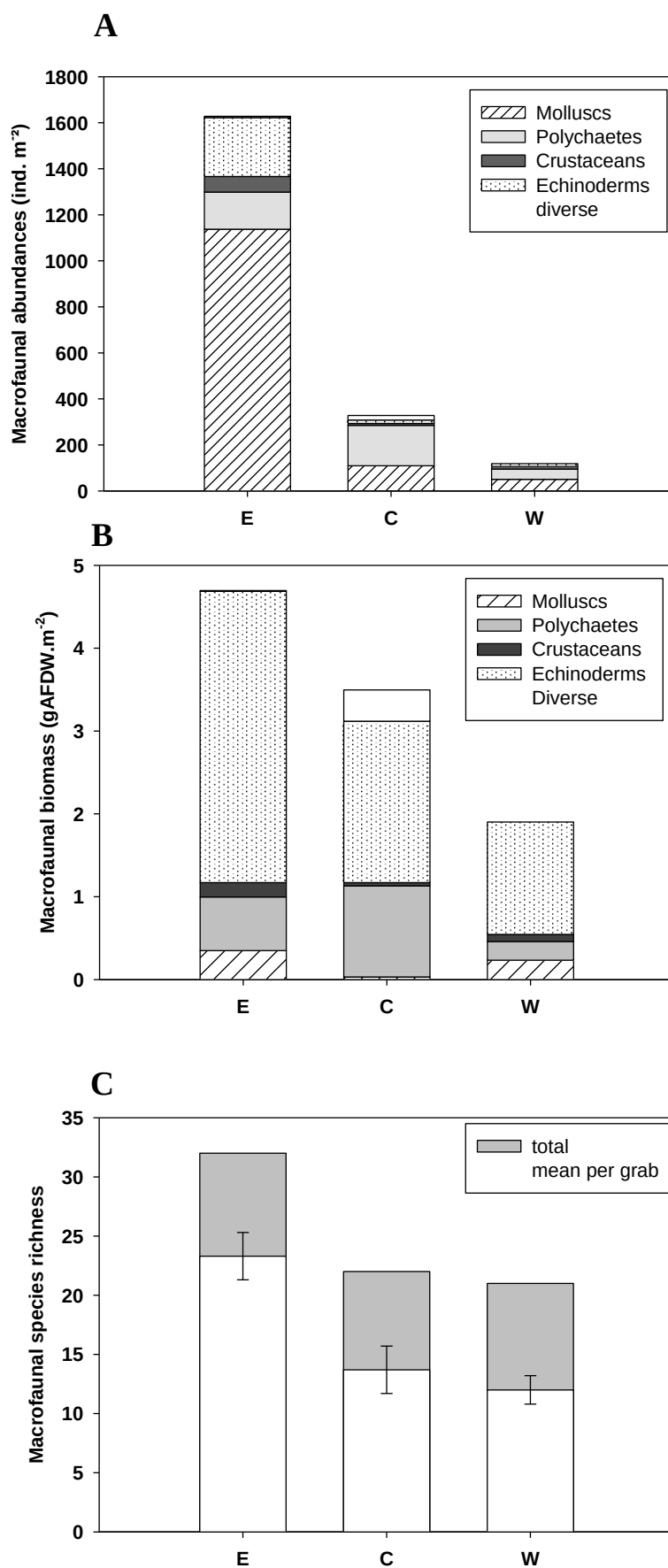


Figure V.6: Benthic macrofauna species richness (A), total abundances (B) and biomass (C) at stations E, C and W in the West Gironde mud patch. Vertical bars = standard errors.

Table V.1: Abundance (mean $\pm$ standard error), mobility (Mi) and sediment reworking (Ri) of benthic macrofauna taxa in stations E, C and W in the West Gironde mud patch. A: amphipods; An: anthozoans; B: bivalves; C: cumaceans; D: decapods; G: gastropods; H: holothurians; O: ophiuroids; P: polychaetes; Ph: phoronids. Mi: 1 for organisms that live in fixed tubes, 2 for limited movement, 3 for slow and free movement through the sediment matrix and 4 for free movement via burrow system. Ri: 1 for epifauna, 2 for surficial modifiers, 3 for conveyors and 4 for biodiffusors, from Queiros et al., 2013.

Species / Taxa	E	C	W	Mi	Ri
<i>Abra alba</i> (B)	2.7 $\pm$ 1.3	-	-	2	2
<i>Abra nitida</i> (B)	1.3 $\pm$ 1.3	-	1.3 $\pm$ 1.3	2	2
<i>Ampelisca spinipes</i> (A)	42.7 $\pm$ 40.7	4.0 $\pm$ 2.3	1.3 $\pm$ 1.3	1	2
<i>Ampharete acutifrons</i> (P)	-	5.3 $\pm$ 3.5	-	2	3
<i>Amphiura filiformis</i> (O)	245.3 $\pm$ 35.0	9.3 $\pm$ 1.3	-	3	4
<i>Callianassa subterranea</i> (D)	1.3 $\pm$ 1.3	2.7 $\pm$ 21.	5.3 $\pm$ 1.3	4	4
<i>Chaetozone</i> sp. (P)	-	1.3 $\pm$ 1.3	-	2	2
<i>Chamelea striatula</i> (B)	1.3 $\pm$ 1.3	-	-	2	2
<i>Corbula gibba</i> (B)	8.0 $\pm$ 4.0	2.7 $\pm$ 1.3	-	2	2
<i>Cylichna cylindracea</i> (G)	9.3 $\pm$ 1.3	-	-	3	2
<i>Diastylis bradyi</i> (C)	-	-	1.3 $\pm$ 1.3	3	2
<i>Diastylis laevis</i> (C)	16.0 $\pm$ 6.1	-	-	3	2
<i>Edwardsia clapedii</i> (An)	-	18.7 $\pm$ 14.8	-	2	2
<i>Euclymene oerstedii</i> (P)	6.7 $\pm$ 3.5	-	-	1	3
<i>Euspira nitida</i> (G)	1.3 $\pm$ 1.3	-	-	3	2
<i>Glycera tridactyla</i> (P)	8.0 $\pm$ 2.3	-	2.7 $\pm$ 1.3	3	4
<i>Heteromastus filiformis</i> (P)	4.0 $\pm$ 2.3	-	2.7 $\pm$ 2.7	2	3
<i>Hilbigneris gracilis</i> (P)	25.3 $\pm$ 2.7	13.3 $\pm$ 8.1	13.3 $\pm$ 8.1	3	4
<i>Kurtiella bidentata</i> (B)	1028.7 $\pm$ 232.3	4.0 $\pm$ 2.3	-	2	2
<i>Labioleanira yhleni</i> (P)	-	1.3 $\pm$ 1.3	1.3 $\pm$ 1.3	3	4
<i>Lagis koreni</i> (P)	8.0 $\pm$ 4.6	-	-	1	3
<i>Leptopentacta elongata</i> (H)	-	1.3 $\pm$ 1.3	-	3	2
<i>Malmgrenia andreapolis</i> (P)	36.0 $\pm$ 9.2	1.3 $\pm$ 1.3	5.3 $\pm$ 1.3	3	4
<i>Melinna palmata</i> (P)	17.3 $\pm$ 6.7	2.7 $\pm$ 2.7	-	1	3
<i>Nemertea</i>	-	1.3 $\pm$ 1.3	-	3	4
<i>Nephtys incisa</i> (P)	-	28.0 $\pm$ 12.9	2.7 $\pm$ 1.3	3	4
<i>Nucula nucleus</i> (B)	2.7 $\pm$ 2.7	-	-	3	2
<i>Oostergrenia digitata</i> (H)	-	4.0 $\pm$ 2.3	12.0 $\pm$ 0.0	3	2
<i>Ophiura ophiura</i> (O)	10.7 $\pm$ 5.8	-	-	2	2
<i>Owenia fusiformis</i> (P)	28.0 $\pm$ 2.3	-	-	1	2
<i>Paraonidae</i> (P)	1.3 $\pm$ 1.3	-	1.3 $\pm$ 1.3	3	2
<i>Phaxas pellucidus</i> (B)	1.3 $\pm$ 1.3	-	-	2	2
<i>Philocheras bispinosus</i> (D)	4.0 $\pm$ 4.0	-	2.7 $\pm$ 1.3	4	2
<i>Pholoe baltica</i> (P)	6.7 $\pm$ 1.3	-	-	2	2
<i>Phoronis muelleri</i> (Ph)	5.3 $\pm$ 1.3	-	-	1	2
<i>Phyllodoce lineata</i> (P)	-	-	1.3 $\pm$ 1.3	3	4
<i>Prionospio malmgreni</i> (P)	2.7 $\pm$ 1.3	-	-	2	3
<i>Processa nouveli holthuisi</i> (D)	-	1.3 $\pm$ 1.3	1.3 $\pm$ 1.3	4	1

Rissoidae (G)	18.7 ± 7.1	102.7 ± 42.7	48.0 ± 14.4	3	2
<i>Scalibregma inflatum</i> (P)	16.0 ± 8.3	89.3 ± 47.3	4.0 ± 2.3	4	4
<i>Spiophanes kroyeri</i> (P)	1.3 ± 1.3	2.7 ± 2.7	1.3 ± 1.3	1	3
<i>Sternaspis scutata</i> (P)	-	6.7 ± 4.8	2.7 ± 1.3	3	4
<i>Terebellides stroemii</i> (P)	-	24.0 ± 10.1	5.3 ± 1.3	1	3
<i>Upogebia deltaura</i> (D)	4.0 ± 0.0	-	-	4	3
<i>Venus casina</i> (B)	8.0 ± 4.0	-	1.3 ± 1.3	2	2

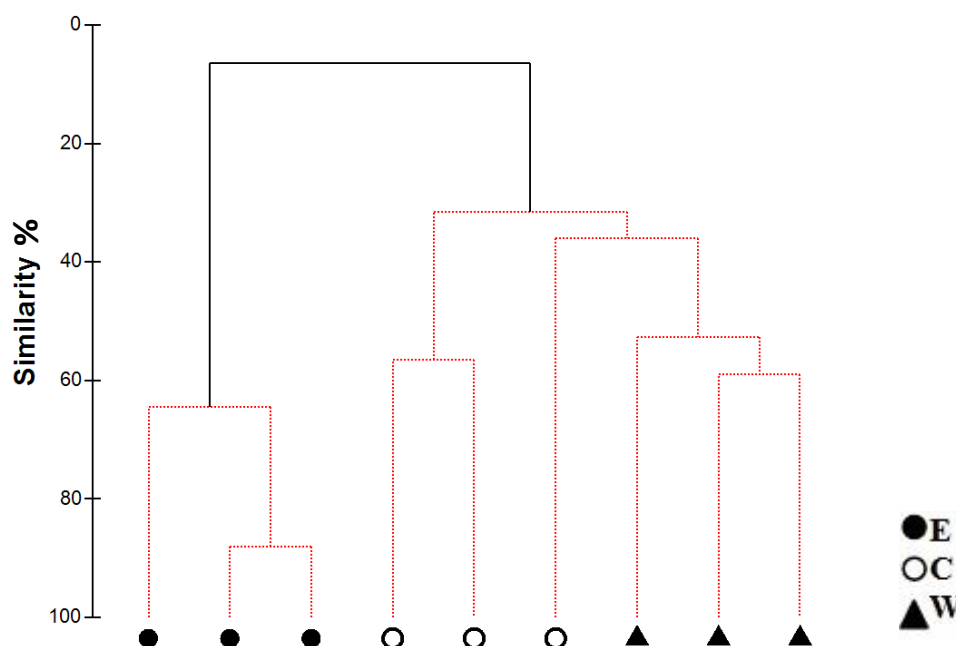


Figure V.7: Dendrogram and associated SIMPROF of cluster analysis based on Bray-Curtis similarities of the abundances of macrofaunal species at stations E (black dots), C (open dots) and W (black triangles) in the West Gironde mud patch.

IV.5. Comparison of bacterial and macrofaunal communities

The concordance between the spatial changes in bacterial and macrofaunal community composition was evaluated on 216 combinations (core x grab replicates) of bacteria and macrofauna Bray-Curtis similarity matrices. No significant correlation between the bacteria and macrofauna matrices was found using the Holm – Bonferroni method to correct the P-value for multiple comparisons (**Supplementary Table V.1**). Prokaryotic and macrofaunal abundance showed opposite trends with simultaneous increasing prokaryotic abundance and decreasing macrofaunal abundance westward (see above). This trend could not be supported by correlation tests due to the low number of abundance data (replicate x station).

V. Discussion

V.1. The West Gironde mud patch sediments

The WGMP is a mud patch contrasting with the sandy soft bottom floor forming the south-eastern shelf of the Bay of Biscay on the Atlantic French coast (Longère and Dorel, 1970). Within this mud bank, previous studies have reported substantial differences in sediment composition from east to west (Jouanneau et al., 1989; Weber et al., 1991, Relexans et al., 1992). According to Weber et al. (1991), the WGMP surficial sediments in the eastern part are characterized by organic carbon poor and sandy-silty sediments while those in the western part are temporarily enriched in chlorophyll *a* supplied by a constant fine sedimentation of particles originating from the Gironde estuary. With the exception of grain size, sediment data in the present study were in agreement with the former studies. The occurrence of coarse sediment in the uppermost layer of the eastern station might be linked to an episode of strong wind and heavy sea the day before sampling. This observation suggested that the eastern station which is the shallowest and the closest to the estuarine mouth, was likely to be markedly disturbed by hydrodynamics (tide, waves) as hypothesized by Jouanneau et al. (1989). Besides, our data (particulate organic carbon and nitrogen, phaeophytin *a* and chlorophyll *a*) were consistent with the assumption according to which sedimentary processes provided the central and western zone of the WGMP with a fresh organic matter supply (Relexans et al., 1992). Moreover, depth profiles of chlorophyll *a* and phaeophytin *a* concentrations in the sediments suggested the occurrence of burial processes in the central and western stations in agreement with the hypothesis of an enhanced bioturbation activity in the western zone of the WGMP (Jouanneau et al., 1989; Relexans et al., 1992).

V.2. Benthic macrofauna

The present study is the first inventory of the WGMP macrofauna. Expectedly, the species which most contributed to the WGMP intra-station similarity such as *Amphiura filiformis* or *Terebellides stroemii* were also found in other mudflat systems of the Bay of Biscay (Glémarec, 1969; Le Loc'h et al., 2008).

The macrofaunal community composition has long been used as an integrative descriptor of the ecosystem status (e.g. Dauer, 1993; Borja et al., 2000; Grémare et al., 2009). In the present study, the eastern part of the WGMP was dominated by species slightly stimulated by unbalance situation and tolerant to excess organic matter (*Kurtiella bidentata*, Borja et al., 2000) whereas species indifferent to organic carbon enrichment and usually present at low densities with non-significant variations with time (*Hilbigneris gracilis*, Borja et al., 2000) dominated the central and western part of the WGMP. In agreement with the organism-sediment successional paradigm (Pearson and Rosenberg, 1978; Rhoads

and Germano, 1986), the macrofauna data suggested that WGMP might be characterized by slightly disturbed condition in its eastern part to more stable condition in the western part.

In the present study, changes in sediment grain-size, particulate organic carbon and nitrogen content, chlorophyll *a* and phaeophytin *a* concentration, oxygen penetration depth were consistent with changes in the benthic macrofauna composition, abundance and biomass. More precisely macrofauna abundance and biomass decreased along the studied transect from East to West, seaward, showing an opposite trend to sediment particulate organic carbon and nitrogen content, chlorophyll *a* and phaeophytin *a* concentration. Seaward decrease of macrofauna abundance and biomass has been previously explained by resource limitation linked to increasing water depth and distance from the shore (e.g. Albertelli et al. 1999). Discrepancies between spatial patterns of meiofauna abundance and chlorophyll *a*, particulate organic carbon, carbohydrates, proteins or lipids analyses have been previously observed suggesting that other factors could control the biota in the WGMP (Relexans et al., 1992). Divergent meio- and macrofaunal community patterns were observed in a Mediterranean system (Papageorgiou et al., 2004) suggesting that the two benthic compartments could perform differently.

Despite abundances, biomasses and species richness were higher in the eastern station than in central and western stations, potentially strong bioturbating species (i.e. species with $R_i \times M_i > 12$ according to Queiros et al. (2013)) represented a lower fraction of the community. Acknowledging the limitation of this functional classification, the enhanced relative abundance of strong bioturbating species in the central and western prospected zones was here interpreted as indication of a possible enhanced bioturbation activity in the central and western part of the WGMP. This was consistent with (i) observed changes in the maximum of chlorophyll *a* and phaeophytin *a* with sediment depth and (ii) with previous radiographic investigations showing deeper biogenic structures in sediment cores collected in the western WGMP as compared to cores collected in the eastern WGMP (Jouanneau et al., 1989). A seasonal based inventory of the WGMP macrofauna including species biomass measurement for the calculation of the community bioturbation potential would allow to confirm this preliminary analysis.

V.3. Bacterial community

The ARISA fingerprinting method was successfully used at different spatial scales, from a few millimetre to kilometre, to assess the dynamics of bacterial community composition in sediment (e.g. Hewson and Fuhrman, 2006; Hewson et al., 2007; Fuhrman and Steele, 2008; Bertics and Ziebis, 2009). In the WGMP, we observed marked differences in bacterial community fingerprints from 20-km distant stations suggesting spatial changes in the WGMP sediment bacterial community composition. These spatial changes were consistent with spatial changes in the sediment particulate organic carbon and nitrogen content, chlorophyll *a* and phaeophytin *a* concentrations and oxygen penetration which relate to the availability of organic matter for bacteria in the sediments. As

previously observed in the WGMP (Relexans et al., 1992), the prokaryotic abundance increased from East to West, seaward. The highest values of prokaryotic abundance were thus observed in the central and western part of the WGMP where the highest values of particulate organic carbon and nitrogen content and/or chlorophyll *a* and phaeophytin *a* concentrations were recorded in agreement with previous study reporting positive correlation between bacterial abundance and organic matter quality (Albertelli et al., 1999). The availability of organic matter in the sediments likely controlled the benthic bacterial community in the WGMP. Moreover, in agreement with a deterministic community assembly mechanism (Nemergut et al., 2013), such distance dependent changes at the kilometre scale (i.e. geographical patterns) were previously reported and interpreted as a local selection of dispersed OTU by environmental conditions (Hewson et al., 2007). The WGMP is the receptacle of the Gironde Estuary particles (Jouanneau et al., 1989; Weber et al., 1991; Relexans et al., 1992). Free and particle-attached bacteria originating from the Gironde Estuary could settle in the WGMP sediments emphasizing the role of dispersal (*sensu* Nemergut et al., 2013: “movement of organisms across space [...] including the rate and the order in which taxa are added to communities”) for the WGMP bacterial community. The observed patterns in bacterial community composition in the WGMP sediments could thus also result from the gradual renewal of estuarine bacterial populations by marine populations from East to West seaward. Additional information on the bacterial composition of the Gironde Estuary sedimentary particles and further experiment dedicated to assess the temporal dynamics of the sediment bacterial community composition would allow testing this hypothesis.

For the WGMP benthic bacterial community, the Simpson's diversity index, ranging from 0.04 to 0.05, was close to values reported for so-called diversified and balanced communities in mats (Nübel et al., 1999), Mediterranean plankton (Schauer et al., 2000) and phototrophic river biofilms (Lyautey et al., 2003). In marine sediments, values up to 0.01 were however reported (Hewson et al., 2003; Zinger et al., 2011). The use of pic relative intensity to calculate diversity indices is controversial due to possible biases in PCR amplification (e.g. Wintzingerode et al., 1997) but the main limitation to an in-deeper analysis of our data is the lack of replication in sampling preventing from considering e.g. seasonal variations.

V.4. Linking bacterial and macrofaunal communities

In this study, we simultaneously addressed benthic bacterial and macrofaunal communities in a well-defined marine ecosystem. We aimed to address the link between the two benthic communities under *in situ* conditions, straight in the field. Changes concerned both the macrofaunal and bacterial communities and differentiated the Eastern part of the WGMP from its central and Western part, in agreement with the seaward modification of the sediment conditions shaped by sedimentary processes off the mouth of the Gironde estuary. However, no significant correlation could be found due to the structure of the dataset. Such a link was assessed at the centimetre scale of the burrows in various conditions (e.g. Dobbs and Guckert, 1988; Papaspyrou et al., 2005; Bertics and Ziebis 2009;

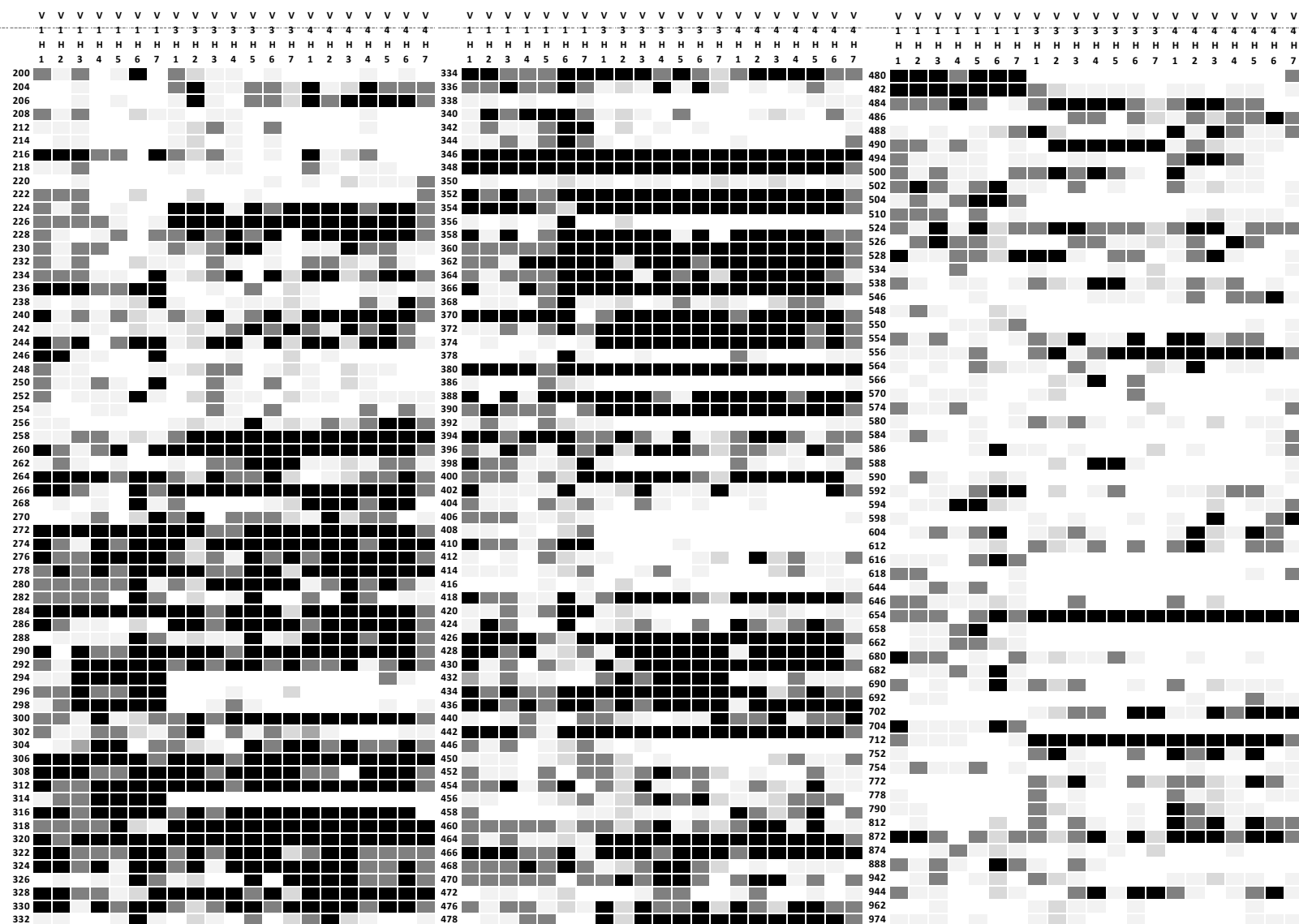
Pischedda et al., 2011). At a larger scale, a strong link between benthic macrofauna functional diversity and biogeochemical cycling was reported in the fine sandy sediments of the North Sea (Braeckman et al., 2014) and, obviously, bacteria should be involved. Community changes may indicate that similar processes structure both communities of macro- and microorganisms and that the two communities are interdependent (Horner-Devine et al., 2007). In the case of soft bottom sediment communities examined in the present study none of these alternatives could be excluded. It would be interesting to further investigate for any correlation with an extended set of sites in order to address the co-occurrence of patterns. The planned analyses of interfacial fluxes assessed based on core incubations performed during the BIOMIN-1 cruise will allow further investigations on the functional implications of such community changes.

VI. Conclusion

With respect to the autecology of dominant species, the benthic macrofauna data suggested that WGMP benthos might be characterized by a seaward gradient from disturbed in the eastern station, to more stable condition in the western stations. Changes in species likely resulted in changes in the functional diversity of the benthic macrofaunal community. Community composition of bacterial assemblages indicated that surficial sediments were laterally structured, fitting with previous reports on bacteria and meiofauna (Relexans et al., 1992). Such community patterns might have functional implications and should control the ecosystemic services delivered by the WGMP benthic communities in the Bay of Biscay.

Acknowledgements:

This study stems from the projects “*Diagnostic de la qualité des milieux littoraux*” funded by *Région Aquitaine*, OSQUAR and FEBBA funded by *Région Aquitaine and FEDER-EUROPE*, BIOMIN funded by LEFE-CYBER / INSU and EC2CO-PNEC/INSU. Guillaume Meisterhans was supported by a doctoral fellowship from *Région Aquitaine* and Cécile Massé by a doctoral fellowship from French *Ministère de l’Enseignement Supérieur et de la Recherche*. We thank the captain and the crew of the RV *Côtes de la Manche*; Pierre Anschutz, Aurélie Garcia, Olivier Maire, Edouard Metzger, Alicia Romero Ramirez, and Florian Cesbron for sampling assistance and cheerful exchanges during the BIOMIN-1 cruise; Franck Salin, head of *Plateforme Genome-Transcriptome Pierroton* (INRA, Bordeaux, France) for ARISA analyses; Claude Courties, head of *Plateforme Cytométrie-Imagerie* (Observatoire Océanologique de Banyuls sur Mer, Université Pierre et Marie Curie) for cytometry analyses; Vincent Hanquiez, *Service géomatique - traitement de données* (EPOC) for the map.



Supplementary figure V.1: Frequency of bacterial OTU detected in more than 10% of sediment samples from stations E, C and W at each sediment depth (0 to 100 mm) in the West Gironde mud patch. OTU frequency is represented by shades of gray: white represents the absence in the three replicates cores of the OTU, light gray 33%, medium gray 50% (for samples with only two replicates usable), dark gray 66% and black 100% of occurrence.

Supplementary table V.1: Table presenting the different permutations performed - between core replicates used for the bacterial community composition (C1, C2 and C3), and grab replicates used for the macrofaunal community composition (G1, G2 and G3) – for the procrustean analysis.

	Permutations	Sample statistic (Rho)	Significance level of sample statistic	Adjusted p-value (Holm-Bonferroni)
1	E (C1-G1; C2-G2; C3-G3)	0.808	0.0001	3.3E-06
	C (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
	W (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
2	E (C1-G1; C2-G2; C3-G3)	0.809	0.0001	3.4E-06
	C (C1-G2; C2-G1; C3-G3)			
	W (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
3	E (C1-G1; C2-G2; C3-G3)	0.81	0.0001	3.5E-06
	C (C1-G3; C2-G2; C3-G1)			
	W (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
4	E (C2-G3; C3-G2; C1-G1)	0.804	0.0001	3.7E-06
	C (C3-G3; C1-G2; C2-G1)			
	W (C2-G3; C3-G2; C1-G1)			
5	E (C1-G1; C2-G3; C3-G2)	0.816	0.0002	7.6E-06
	C (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
	W (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
6	E (C1-G1; C2-G2; C3-G3)	0.814	0.0002	8.0E-06
	C (C1-G1; C2-G3; C3-G2)			
	W (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
7	E (C1-G1; C2-G2; C3-G3)	0.827	0.0002	8.3E-06
	C (C1-G2; C2-G3; C3-G1)			
	W (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
8	E (C1-G1; C2-G2; C3-G3)	0.798	0.0002	8.6E-06
	C (C1-G3; C2-G1; C3-G2)			
	W (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
9	E (C1-G2; C2-G3; C3-G1)	0.774	0.0004	1.8E-05
	C (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
	W (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
10	E (C2-G2; C1-G1; C3-G3)	0.782	0.0006	2.84E-05
	C (C1-G2; C2-G1; C3-G3)			
	W (C2-G1; C1-G2; C3-G3)			
11	E (C1-G1; C2-G2; C3-G3)	0.79	0.0008	4.0E-05
	C (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
	W (C1-G1; C2-G3; C3-G2)			
12	E (C1-G1; C2-G3; C3-G2)	0.779	0.0009	4.7E-05
	C (C1-G2; C2-G1; C3-G3)			
	W (C1-G3; C2-G2; C3-G1)			
13	E (C1-G1; C2-G2; C3-G3)	0.781	0.001	5.5E-05
	C (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
	W (C1-G2; C2-G1; C3-G3)			

14	E (C1-G1; C2-G2; C3-G3)	0.758	0.0017	1.0E-04
	C (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
	W (C1-G3; C2-G2; C3-G1)			
15	E (C1-G1; C2-G2; C3-G3)	0.765	0.0017	1.0E-04
	C (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
	W (C1-G2; C2-G3; C3-G1)			
16	E (C1-G1; C2-G2; C3-G3)	0.763	0.0028	1.8E-04
	C (C2-G1; C3-G2; C1-G3)			
	W (C1-G2; C3-G1; C2-G3)			
17	E (C1-G1; C2-G2; C3-G3)	0.756	0.0031	2.2E-04
	C (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
	W (C1-G3; C2-G1; C3-G2)			
18	E (C2-G3; C1-G2; C3-G1)	0.742	0.0035	2.6E-04
	C (C2-G1; C1-G2; C3-G3)			
	W (C1-G2; C2-G3; C3-G1)			
19	E (C1-G2; C1-G2; C3-G3)	0.744	0.0037	3.1E-04
	C (C1-G2; C2-G3; C3-G1)			
	W (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
20	E (C1-G2; C2-G1; C3-G3)	0.756	0.004	3.6E-04
	C (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
	W (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
21	E (C1-G2; C2-G1; C3-G3)	0.717	0.005	5.0E-04
	C (C1-G1; C3-G2; C2-G3)			
	W (C2-G3; C3-G1; C1-G2)			
22	E (C1-G2; C2-G3; C3-G1)	0.723	0.0052	5.7E-04
	C (C1-G3; C2-G1; C3-G2)			
	W (C1-G3; C2-G1; C3-G2)			
23	E (C1-G3; C2-G1; C3-G2)	0.682	0.0078	9.8E-04
	C (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
	W (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
24	E (C2-G1; C1-G3; C3-G2)	0.636	0.0085	1.2E-03
	C (C3-G2; C1-G1; C2-G3)			
	W (C1-G3; C3-G1; C2-G2)			
25	E (C3-G2; C2-G1; C1-G3)	0.691	0.0088	1.4E-03
	C (C3-G1; C2-G2; C1-G3)			
	W (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
26	E (C1-G3; C2-G2; C3-G1)	0.692	0.0089	1.7E-03
	C (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
	W (C1-G1; C2-G2; C3-G3)			
27	E (C2-G1; C3-G2; C1-G3)	0.634	0.0092	2.3E-03
	C (C2-G3; C3-G2; C1-G1)			
	W (C2-G1; C3-G2; C1-G3)			
28	E (C3-G2; C1-G3; C2-G1)	0.637	0.0093	3.1E-03
	C (C1-G3; C2-G1; C3-G2)			
	W (C2-G3; C3-G1; C1-G2)			
29	E (C1-G3; C2-G2; C3-G1)	0.637	0.0095	4.7E-01

	C (C2-G1; C1-G2; C3-G3)			
	W (C1-G3; C3-G2; C2-G1)			
	E (C1-G3; C2-G1; C3-G2)			
30	C (C1-G3; C2-G2; C3-G1)	0.651	0.0097	9.7E-03
	W (C1-G2; C2-G3; C3-G1)			

Postambule

L'étude réalisée en 2010 dans la vasière Ouest-Gironde a permis de retrouver une situation tout à fait comparable à celle décrite par Jouanneau et al. en 1989, avec une sédimentation qui enrichi la colonne sédimentaire en matière organique fraîche, comme l'indiquent les concentrations plus importantes de chlorophylle *a* au centre et à l'Ouest sous les 15 premiers centimètres. De plus, la partie Nord-Est de la vasière est caractérisée par la présence de particules fines déposées il y a 3000 ans, qui subissent l'érosion due à l'hydrodynamisme plus important.

Les traces importantes de bioturbation observées par Jouanneau et al. en 1989, surtout dans la partie Sud-ouest de la vasière, ont été reprises par Relexans et al. en 1992 pour expliquer l'absence de stratification verticale de la méiofaune dans les sédiments de la vasière Ouest-Gironde. Or l'étude de Relexans et al. (1992) qui est la seule étude réalisée jusque-là sur le biotope de la vasière n'a pas effectué et donc n'a pas pris en compte la distribution de la macrofaune benthique. Les résultats acquis au cours de la campagne BIOMIN confirment et appuient les résultats de Jouanneau et al. (1989) et Relexans et al. (1992) qu'il existe des communautés de macrofaune différentes de l'Est vers l'Ouest, accompagnées d'une diminution des abondances, de la biomasse et de la richesse spécifique, mais aussi d'une évolution des groupes fonctionnel trophiques et de bioturbation.

Les communautés bactériennes dont les densités et la composition ont été mesurées simultanément aux mêmes stations présentent elles aussi une différenciation spatiale marquée avec des communautés significativement différentes à l'Est, au centre et à l'Ouest.

Même si nous n'avons pas pu établir de façon irréfutable que les patrons spatiaux sont liés, nos données combinant de façon inédite macrofaune et bactéries suggèrent un lien entre les deux patrons de distribution des deux compartiments biologiques, avec 26 tests de corrélation significatifs sur les 30 effectués. Il s'agit certainement du nombre de facteurs influençant les communautés dans le milieu naturel qui modulent et interviennent dans le lien direct qu'il peut y avoir entre la macrofaune et les communautés procaryotes, d'où la nécessité de coupler les études *in-situ* aux études expérimentales.

*SYNTHESE DES RESULTATS,
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES*

L'objectif principal de ce travail de thèse a été de mesurer l'impact de la macrofaune benthique sur les communautés procaryotes à l'interface eau-sédiment et de mieux comprendre le(s) mécanisme(s) qui lie(nt) directement ces deux compartiments biologiques. Cela s'est fait selon deux approches (**Figure I.13**) : (1) une approche mécaniste expérimentale à l'échelle de l'individu, pour caractériser les effets de la bioturbation sur les communautés procaryotes de l'interface eau sédiment (**chapitres III et IV**) ; (2) une approche globale *in situ* de comparaison des patrons de distribution des communautés des deux compartiments (**chapitre V**).

I. *Melinna palmata*, un bon modèle biologique pour simplifier l'étude des effets de la bioturbation sur les communautés procaryotes benthiques

Pour approfondir et enrichir les travaux antérieurs sur les effets de la bioturbation sur les communautés procaryotes à l'interface eau-sédiment, nous avons choisi d'explorer les caractéristiques d'un organisme modèle qui ne remanie que les premiers millimètres oxiques de la surface du sédiment. Travailler à l'interface eau-sédiment simplifie la démarche intellectuelle en retirant les effets de la variabilité spatiale et temporelle des conditions redox du sédiment, qui influencent directement les communautés procaryotes du sédiment. Ce type d'organisme modèle permet donc de se focaliser sur l'impact direct de la bioturbation sur la distribution des communautés procaryotes aérobies. Différents arguments bibliographiques nous ont amené à choisir le polychète de la famille des Ampharetidae *Melinna palmata* :

- (1) Son potentiel de bioturbation à l'interface eau-sédiment que nous avons pu interpréter à partir des travaux de détermination des effets de *M. palmata* sur la distribution de la méiofaune à l'interface eau-sédiment (Olafsson *et al.*, 1990), et des observations de *M. palmata* faites en aquarium dans le cadre de la recherche de production de cuivre dans les branchies par *M. palmata* comme mécanisme d'anti-prédation (Gibbs *et al.*, 1981).
- (2) Sa distribution étendue dans l'Atlantique Nord-Est et ses populations denses (e.g. Guillou & Hily, 1983 ; Grehan, 1991).
- (3) Son effet de limitation du remaniement sédimentaire de profondeur mis en avant en *in situ* (Bernard *et al.*, 2014).

La validité de ce choix a été confirmée par différentes expérimentations (**chapitres III et IV**), menées dans des aquariums plats dans du sédiment ou de la gélose, ou encore dans des aquariums classiques pour caractériser au mieux l'activité de l'animal, le remaniement sédimentaire qu'il engendre ainsi que les flux de solutés (bioirrigation), à partir d'individus de *M. palmata* provenant du site de Germanan dans le bassin d'Arcachon. L'ensemble a permis d'obtenir un état des lieux précis et complet de sa bioturbation qui a permis le rattacher à un nouveau groupe fonctionnel de remaniement sédimentaire.

I.1. Son activité

Une première étape a consisté à situer l'activité de *M. palmata* par rapport aux deux ouvertures de son tube : à l'interface eau-sédiment et dans la colonne sédimentaire. L'utilisation d'aquariums plats a permis de confirmer que l'ensemble des activités de *M. palmata* ($n=3$ individus) lorsqu'il n'est pas complètement dans son tube, a lieu à l'interface eau-sédiment. À partir de ce résultat, les organismes ont été placés dans des aquariums « classiques » et filmés de dessus ($n_{\text{témoin}}=25$ individus ; $n_{\text{M.O.}}=2$ individus ; $n_{\text{marée+photopériode}}=4$ individus ; $n_{\text{densité}}=38$ individus). Sept activités (dont les résultats sont regroupés sur la **figure récapitulative 1**) ont pu être distinguées sur l'ensemble des films réalisés au cours de ces trois dernières années :

- (1) La prospection de l'interface eau-sédiment par extension des tentacules buccaux.
- (2) L'égestion des fèces. Pour cela, l'organisme se plie en deux dans son tube, sort son pygidium hors du tube et dépose les fèces sur le cône fécal. Une variation inter-individuelle est notable pour cette activité. Parfois les individus déposent les fèces toujours au même endroit, créant un cône fécal situé d'un seul côté du tube ; parfois les fèces sont déposés tout autour du tube, créant un cône fécal en anneau autour du tube (cf. **Figure III.3A et B**).
- (3) Le mouvement des branchies à la sortie du tube, sans tentacules visibles. Cette activité est probablement liée à la respiration de l'organisme.
- (4) Lorsque l'organisme était immobile, les branchies sorties dans l'eau surnageante. Cette activité doit également être associée à la respiration de l'organisme.
- (5) La maintenance de l'ouverture du tube. En accumulant ses fèces autour de la sortie du tube, l'organisme rehausse l'interface eau-sédiment à cet endroit. Il est donc nécessaire pour l'individu d'agrandir au fur et à mesure son tube vers le haut. Il utilise pour cela les particules qui se trouvent à proximité du tube et les agglomère avec ses tentacules en tournant sur lui-même pour faire le tour du tube.
- (6) Lorsque l'individu était entièrement caché dans son tube. Dans ce cas, il est probable qu'il y ait des phases d'immobilité et des phases d'activité comme par exemple de la maintenance, mais cela n'a pas pu être quantifié.
- (7) Les mouvements de la tête, qui sont des mouvements rapides, moins d'une minute. Si l'individu a la tête visible, par exemple en prospection, il arrive qu'il rentre ses tentacules et sa tête pour les ressortir aussitôt. A l'inverse, lorsqu'il est caché dans son tube, il est possible de voir la tête sortir puis rentrer aussitôt. Cette augmentation des mouvements de la tête visibles à la sortie du tube en périodes de marées basses est peut-être

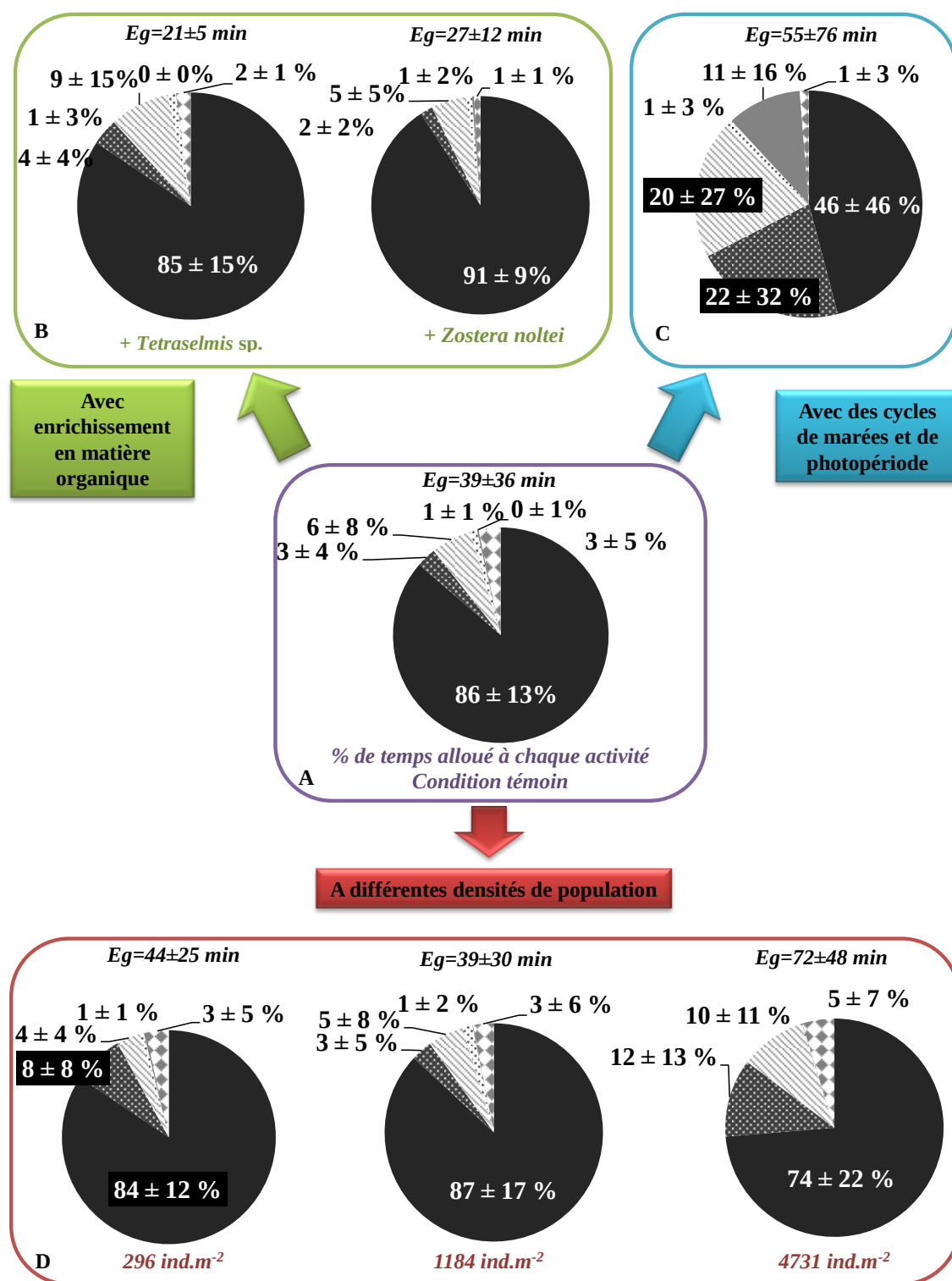


Figure récapitulative 1 : Pourcentages de temps moyens (±ET) alloués par *Melinna palmata* aux différentes activités (A) en conditions contrôles (1 individu par aquarium, obscurité, immersion) ; (B) après apports de *Tetraselmis* sp. d'une part et de *Zostera noltei* d'autre part ; (C) lorsque des cycles de marée et de photopériode ont été appliqués ; (D) pour trois densités de populations différentes : 296, 1184 et 4731 ind.m⁻². Eg = Temps moyen (±ET) entre deux égestions.

liée à la respiration de l'organisme, comme un moyen d'oxygéner l'eau qui reste dans le tube.

C'est le comportement de nutrition (prospéction et égestion) qui est le plus régulier et fréquent, et qui impacte le plus l'interface eau-sédiment. En effet, la majorité du temps est alloué à la prospection de l'interface eau-sédiment, quelles que soient les conditions testées (**Figure récapitulative 1**). Dans les conditions témoins de chacune des expérimentations, c'est-à-dire dans des conditions d'obscurité et d'immersion continues, le temps alloué à la prospection a été en moyenne de $86 \pm 13\%$, et le temps entre deux égestions de 39 ± 36 minutes (**Figure récapitulative 1**).

Le comportement de nutrition (prospéction et égestion) n'a été que légèrement influencé par les différents facteurs testés. Il n'y a que lors de la condition avec les cycles de marée et la photopériode où le temps alloué à la prospection a été divisé par deux avec $46 \pm 46\%$, le temps d'immersion ayant été divisé par deux. Que ce soit lors de l'enrichissement en matière organique ou avec des densités élevées, les temps alloués à chaque activité restaient relativement proches de ceux observés en condition témoin avec $85 \pm 15\%$ du temps avec enrichissement en *Tetraselmis* sp., $91 \pm 9\%$ avec apport de *Z. noltei*, $84 \pm 12\%$ du temps avec une densité de 296 ind.m^{-2} , 87 ± 17 avec une densité de 1184 ind.m^{-2} , $74 \pm 22\%$ avec 4731 ind.m^{-2} et $86 \pm 13\%$ du temps pour la condition témoin de toutes expérimentations confondues (cf. **Figure récapitulative 1**). En comparaison, des changements d'activité de locomotion et de nutrition ont été observés chez *Hediste diversicolor*, qui augmente la taille de sa zone de prospection plus loin autour de sa galerie lorsque les densités de populations augmentent, associé à une augmentation du remaniement sédimentaire globale, et à une diminution du remaniement sédimentaire par individu (Duport *et al.*, 2006). Dans le cas du gastéropode *Hydrobia ulvae*, comme pour *M. palmata*, l'activité est plus limitée pendant les périodes émergées que pendant les périodes immergées car les organismes ont besoin d'une couche d'eau pour pouvoir se déplacer, avec aussi une baisse de prospection lorsque le sédiment est enrichi en matière organique d'origine microphytobenthique, il s'agit de l'« *optimum foraging hypothesis* » (Orvain & Sauriau, 2002). Enfin, pour le bivalve *Abra ovata*, l'enrichissement en matière organique induit dans les faibles proportions ($0,7$ et $1,4 \text{ mgC.m}^{-2}$) une augmentation significative du pourcentage de temps actif d'environ 20% à 50% avec apport de $0,7 \text{ mgC.m}^{-2}$ et de moins de 20% à environ 70% après apport de $1,4 \text{ mgC.m}^{-2}$. A l'inverse, il induit dans les fortes proportions ($28,6 \text{ mgC.m}^{-2}$) une chute drastique du pourcentage de temps actif d'environ 40% à moins de 10% . Chez *Abra nitida*, le pourcentage de temps n'augmente significativement que pour la plus forte proportion d'enrichissement, d'environ 20% à 60% (Grémare *et al.*, 2004). Nos résultats suggèrent donc que, lors de la mise en évidence des effets de la bioturbation sur la composition des communautés bactériennes aérobies à l'interface eau-sédiment (**partie I du chapitre III**), l'activité des organismes n'a été ni stimulée ni inhibée par les conditions expérimentales, et que cela a bien permis de caractériser le mécanisme d'impact direct de la bioturbation de *M. palmata* sur les communautés bactériennes de

l'interface eau-sédiment, bien que ces facteurs aient des impacts significatifs sur l'activité et la bioturbation d'espèces benthiques appartenant à différents groupes taxonomiques et différents groupes fonctionnels de bioturbation.

I.2. Sa biologie liée au processus de prospection

Melinna palmata est un organisme de petite taille (quelques centimètres de long et quelques millimètres de diamètre). De ce fait, l'analyse des images issues des enregistrements vidéos ne permettait que de distinguer les différentes activités, mais pas d'expliquer ce processus clé de prospection de la couche superficielle du sédiment. De plus, des descriptions issues de la littérature de taxonomie (Fauvel, 1927 ; Hayward & Ryland, 1990 ; Holthe, 1986) des organismes benthiques n'étaient pas toujours cohérentes avec nos observations et ont donc dû être clarifiées. Par exemple, Fauvel (1927) avait qualifié les tentacules buccaux de « peu nombreux, lisses, presque aussi longs et aussi gros que les branchies ». Grâce au couplage des techniques de microscopie électronique à balayage et de stéréomicroscopie, en plus de la visualisation des enregistrements vidéo effectués dans notre étude, nous avons pu constater que les tentacules ne sont de taille proche de la taille des branchies que lorsqu'ils sont contractés et non utilisés. Autrement, ils peuvent s'étirer jusqu'à environ 5 centimètres (cf. la taille des zones de prospection). Par ailleurs, ils sont caractérisés par une partie externe en accordéon qui est certainement à l'origine de cette extension, et d'une partie interne creusée en forme de gouttière entièrement tapissée de cils, permettant le transfert des particules jusqu'à la bouche. Enfin, une structure particulière a été observée à l'extrémité des tentacules (**Figure II.1F**), qui est vraisemblablement le point de contact entre le tentacule et le sédiment, là où le tentacule prélève les particules. De la variabilité inter-individuelle a été observée au niveau morphologique, non pas en ce qui concerne les structures citées ci-dessus, mais concernant le nombre de tentacules. En effet, le nombre de tentacules varie entre 11 et 15 (n=10). De plus, différentes tailles des tentacules ont été observées : une majorité inférieure à 5 mm, avec au milieu et sur les extrémités de la cavité buccale des tentacules dont la taille était supérieure à 10 mm. Ce type de variabilité est commun chez les polychètes Ampharetidae notamment chez le genre *Melinnopsis* (Hilbig, 2005). Malgré ces différences, sur les enregistrements vidéo, jamais plus de 5 tentacules en même temps n'ont été détectés à prospecter le sédiment. Plusieurs hypothèses sont alors possibles : (1) les tentacules restants ne sont utilisés que dans une situation de milieu très pauvre en éléments organiques, ce qui n'a jamais été le cas ; (2) ils flottent en suspension dans l'eau pour récupérer des particules mais n'ont pas pu être détectés par la caméra du fait de leur taille ; (3) ils restent au niveau de la bouche (probablement les plus petits) pour aider au transfert des particules. Filmer les individus à partir d'une loupe binoculaire permettrait de sélectionner une de ces trois hypothèses et expliquer comment se répartit l'activité des différents tentacules.

Le couplage des informations d'activité et de biologie amène à une problématique récurrente concernant les dépositores de surface : y a-t-il une sélection des particules ? Selon quels critères ? Et à quel(s) niveau(x) anatomique(s) le tri s'effectue-t-il ? La première sélection possible peut être au moment du prélèvement de la particule par le tentacule. Certaines espèces prospectent plutôt les plus grosses particules, ce qui pourrait être lié à la probabilité de rencontre entre ces particules et le tentacule (Whitlatch, 1974 ; Taghon, 1982). D'autres espèces sélectionnent plutôt les petites particules, par exemple entre 13 et 62 μm pour le polychète *Hobsonia florida*, riches en matière organique (Taghon, 1982). Un effet de la forme a également été mis en évidence. Les particules rondes et lisses seraient moins évidentes à attraper que les particules dont la surface est plus complexe (Guieb *et al.*, 2004). Concernant *M. palmata*, la sélection par la taille à ce niveau n'a pas été mise en évidence. En effet, bien que seules les plus grosses particules restent dans la zone de prospection à la fin des incubations, avec une médiane de répartition des tailles de $32,4 \pm 2,5 \mu\text{m}$ dans l'expérimentation présentée dans le **chapitre III** et $22,6 \pm 17,1 \mu\text{m}$ dans le **chapitre IV**, lors de l'observation des enregistrements, les individus de *M. palmata* ont fréquemment prélevé avec leurs tentacules des fragments de *Z. noltei* de plusieurs millimètres de long. Il pourrait donc s'agir d'une sélection en fonction de la teneur en matière organique (e.g. Mahon & Dauer, 2005), mais aucun débris inorganique de la même taille que ces fragments de feuilles de *Z. noltei* n'était présent dans le sédiment pour confirmer ou infirmer cette hypothèse. En revanche, une sélection des particules a pu être observée au niveau du passage dans la bouche. En effet, une zone de dépôt des particules qui ont été prélevées et déplacées le long du tentacule mais qui sont de trop grosse taille pour la bouche a pu être observée (**Figure récapitulative 2**). Cette sélection serait essentiellement physiologique et due à la taille de l'organisme (Fenchel, 1975 ; Taghon, 1982 ; Hentschel, 1996). Pour éclaircir les interrogations restantes, il serait intéressant d'effectuer des expérimentations à partir de particules de différentes couleurs appartenant à des classes de tailles différentes, en proportions connues. En filmant les individus et à partir de l'analyse des images, il serait alors possible de calculer quelles tailles de particules sont préférentiellement sélectionnées par les tentacules, et lesquelles sont ingérées ou laissées de côté avant l'ingestion. Après un temps donné d'incubation, l'analyse d'image pourrait être complétée par la mesure de la proportion relative des particules de chaque classe de taille dans chacune des zones de bioturbation. A partir de billes de verre de tailles connues, Grémare (1988) a pu montrer que le polychète *Eupolymnia nebulosa* utilisait un grand nombre de particules supérieures à 2 mm pour fabriquer son tube, particules qui ne sont jamais ingérées par *E. nebulosa*.



Figure récapitulative 2 : Photographie montrant le dépôt de fragments de feuilles de *Zostera noltei* pris par les tentacules mais non sélectionnés au niveau du passage dans la bouche (entouré en rouge).

I.3. Son remaniement sédimentaire

Les expérimentations en aquariums plats (5 individus), même très fins, n'ont montré aucun échange particulière entre l'interface eau-sédiment et les couches plus profondes du sédiment. En effet, jamais un luminophore ajouté en surface n'a été retrouvé à la sortie du tube dans la colonne sédimentaire, même après 20 jours de suivi. A ces résultats s'ajoutent les observations des films de *M. palmata* (n=3 individus) placés dans des aquariums plats dans de la gélose, avec juste une fine couche de sédiment en surface pour que les organismes puissent se nourrir. En effet, ces enregistrements couplés aux suivis des luminophores en aquariums plats ont validé l'hypothèse de départ de cette thèse, selon laquelle la majorité des activités de *M. palmata* ont lieu à l'interface eau-sédiment ou dans le tube ($3 \pm 4\%$ du temps en conditions témoins), induisant un remaniement sédimentaire uniquement des premiers millimètres de l'interface eau-sédiment, sans échanges entre la surface et le sédiment plus profond. La quantification de son remaniement sédimentaire s'est donc faite selon des méthodes directes de mesures de surface et de volume remanié, sur l'ensemble des aquariums suivis, soit 14 dans l'expérimentation de référence (**partie I du chapitre III**), 9 pour la mesure des effets de la marée et de la photopériode, 15 pour les effets de la densité (**partie II du chapitre III**) et 35 pour les effets de l'enrichissement en matière organique. La surface de sédiment remaniée mesurée via des photographies a déjà était utilisée mais couplée avec l'utilisation de luminophores (De Nadaï-Monoury *et al.*, 2013). Dans leurs travaux, la surface remaniée est montée jusqu'à environ 600 cm², mais dans le cas d'un poisson mesurant en moyenne 10 cm, alors qu'au cours de nos différentes expérimentations, les individus isolés dans les aquariums de *M. palmata* ont remanié en moyenne $49,1 \pm 14,3$ cm² dans l'expérimentation de référence (**partie I du chapitre III**), $51,6 \pm 21,0$ cm² lors de l'expérimentation

avec des cycles de marées et de photopériode, $37,7 \pm 15,4 \text{ cm}^2$ pour les individus témoins lors de l'expérimentation sur les effets de la densité de population, et enfin $28,9 \pm 13,0 \text{ cm}^2$ lors de l'expérimentation avec ajout de matière organique. Un maximum de $112,6 \text{ cm}^2$ a été obtenu pour un individu lors de l'expérimentation sur les effets de la photopériode et des cycles de marée (résultats moyennés sur la **figure récapitulative 3**). Il est important de rappeler ici que ces surfaces de plusieurs dizaines de cm^2 sont uniquement induites par la prospection par les tentacules, bien qu'ils ne mesurent que quelques millimètres lorsqu'ils sont rétractés, le polychète étant complètement sédentaire. Une importante variabilité inter-individuelle a été observée comme l'indiquent les écart-types. Concernant les influences des différents facteurs testés, l'enrichissement en matière organique induit une limite de la surface prospectée, certainement car les organismes trouvent plus près de leur tube assez de composés organiques pour se nourrir. Au contraire, la surface est légèrement plus élevée dans le cas de la photopériode et des cycles de marée. Ceci pourrait être dû à la nécessité de prospecter le plus possible et donc plus loin lors des phases de marée haute étant donné que les organismes passent plusieurs heures sans pouvoir prospecter à marée basse.

I.4. Sa bioirrigation

Nos résultats ont montré que *M. palmata* est une espèce qui ne ventile. Ce résultat n'est pas surprenant si l'on compare son activité à celle d'espèces qui ventilent. En effet, le rôle premier de la ventilation est de faire entrer dans la structure (galerie ou terrier) de l'eau riche en oxygène qui permet de respirer. Les suspensivores créent également un courant d'eau dans leur terrier pour piéger les particules en suspension dont ils se nourrissent (Riisgard, 1991 ; Aller, 2001). *M. palmata* a ses branchies sorties près de 90% du temps en immersion constante, sauf lorsqu'il est caché dans son tube. *M. palmata* respire donc hors du tube. De plus, il ne s'agit pas d'un suspensivore. Il n'a donc pas besoin d'irriguer son tube ni pour se nourrir, ni pour respirer. Par ailleurs, son tube ne faisant que quelques millimètres de diamètre pour une dizaine de centimètres de long, et comme il est replié dans la colonne sédimentaire comme s'il était fermé, même une irrigation passive induite par les mouvements du corps ne peut être à l'origine de coefficients de bioirrigation élevés. Alors que 10 individus de *M. palmata* induisent un coefficient de bioirrigation de $0,0071 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, un individu de l'espèce *Arenicola marina* bioirrigue entre 1,7 et $2,2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ (Krüger, 1996). En plus de cette absence de bioirrigation, le tube dans lequel se trouve *M. palmata* est membraneux. Or, il a été montré que ce type de tube, fabriqué à partir de mucus et de particules agglomérées autour, était plus étanche que des parois ou des galeries de terriers. En effet, la couche de mucus limite le transfert de l'eau et des solutés d'un facteur 3 à 8 par rapport à du sédiment sans tube membraneux (Hannides *et al.*, 2005).

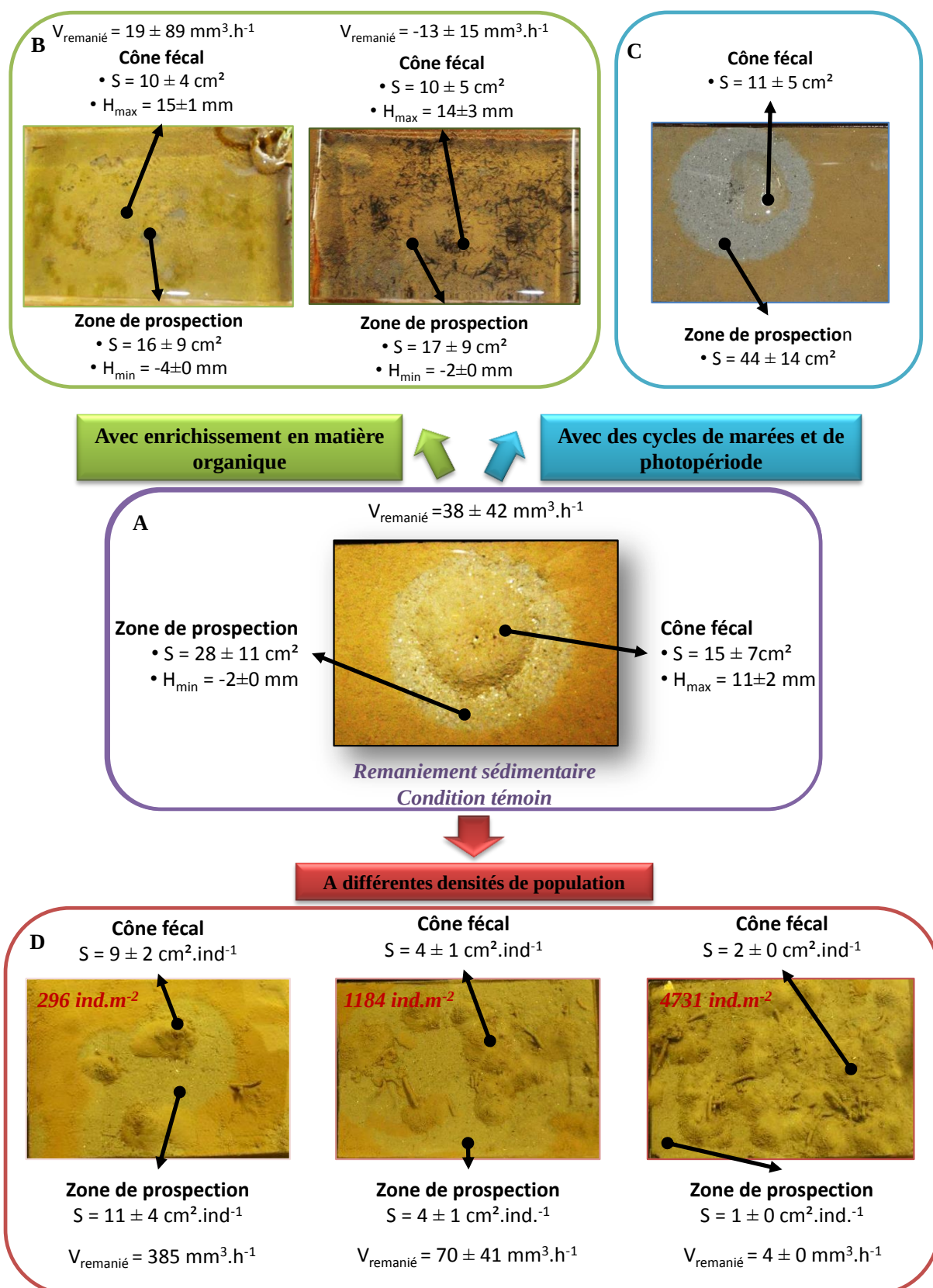


Figure récapitulative 3 : Remaniement sédimentaire de *Melinna palmata* (A) en condition témoin (1 individu par aquarium, obscurité, immersion) ; (B) après apports de *Tetraselmis* sp. d'une part et de *Zostera noltei* d'autre part ; (C) lorsque des cycles de marée et de photopériode ont été appliqués ; (D) pour trois densités de populations différentes : 296, 1184 et 4731 ind.m⁻². S : surface ; $V_{\text{remanié}}$: volume de sédiment remanié, H_{max} : hauteur maximale du cône fécal ; H_{min} : profondeur de la zone de prospection.

Il n'y a donc ni échange de particules, et des échanges restreints de solutés entre la surface et le sédiment plus profond, ce qui est habituellement observé chez la plupart des espèces bioturbatrices avec le coefficient de biodiffusion D_b et le coefficient de bioirrigation α (e.g. Mermillod-Blondin *et al.*, 2004). Et ce sont également ces échanges entre la surface et la profondeur qui permettent d'expliquer les modifications biogéochimiques induites par la bioturbation. Dans le cas de *M. palmata*, il semblerait au vu de nos résultats que la stratification verticale ne soit pas perturbée. Seuls les premiers millimètres oxiques sont remaniés, zone clé dans le fonctionnement des écosystèmes car lieu de la plus grande part de la minéralisation de la matière organique (Henrichs, 1992).

I.5. Proposition d'un nouveau groupe fonctionnel de bioturbation : les convoyeurs de surface

Les activités observées et le remaniement sédimentaire de surface mesuré de *M. palmata* ne correspondent à aucun des groupes fonctionnels de bioturbation déjà décrits (François *et al.* 1997 ; Gerino *et al.* 2003 ; Solan & Whigam 2005 ; Kristensen *et al.* 2012). En effet, il ne peut être classé dans le groupe des biodiffuseurs car *M. palmata* n'induit pas de déplacement aléatoire et diffusif des particules comme peuvent le faire certains bivalves (François *et al.*, 1999). Il ne peut non plus être classé dans le groupe des diffuseurs à galerie comme peuvent l'être d'autres polychètes errants comme par exemple *Marenzelleria viridis* (Quintana *et al.*, 2007). L'absence de transfert des particules entre les couches superficielles et les couches profondes du sédiment confirme qu'il ne s'agit pas non plus d'un convoyeur classique, vers le haut ou vers le bas comme peuvent l'être les polychètes *Arenicola marina* (Volkenborn *et al.*, 2007) ou *Cirriiforma grandis* (Schull & Yasuda, 2001). Enfin, il n'y a pas de construction et d'entretien de terrier comme pour les espèces appartenant au groupe des régénérateurs tels que le genre *Uca* (Gardner *et al.*, 1987).

L'étude de la bioturbation de *M. palmata* nous a donc conduit à proposer un nouveau groupe fonctionnel de remaniement sédimentaire, celui de convoyeur de surface. Ce groupe induit un transport non-local des particules d'une zone de la surface du sédiment (zone de prospection), vers une autre zone de la surface du sédiment (cône fécal), en passant par les tentacules buccaux puis le tube digestif de l'organisme.

Les organismes appartenant à ce groupe fonctionnel sont donc caractérisés par un remaniement sédimentaire limité aux premiers millimètres de l'interface eau-sédiment, malgré le fait qu'ils vivent dans un tube s'enfonçant sur une dizaine de centimètres dans la colonne sédimentaire. Ils puisent des particules sur la surface du sédiment et induisent un transport non-local orienté de ces particules sur une autre zone de la surface du sédiment. De plus, la présence d'un tube composé de mucus et de particules agglomérées couplé à la sédentarité des organismes empêche le déplacement des particules dans la colonne sédimentaire. Ils sont également caractérisés par une ventilation nulle. Il n'y a donc pas de transfert de matériel entre la surface et la profondeur du sédiment.

Les quatre expérimentations présentées dans cette thèse [(1) expérimentation de référence des effets de *M. palmata* sur les communautés bactériennes de l'interface eau-sédiment présentée dans la première partie du **chapitre III**; (2) la mesure de l'impact des cycles de marée et de photopériode sur l'activité de *M. palmata* ; (3) la mesure des effets des densités de population naturelles toujours sur l'activité de *M. palmata*, toutes deux présentées dans la seconde partie du **chapitre III** ; (4) la mesure de l'impact de l'enrichissement en matière organique sur l'activité de *M. palmata* et sur les communautés bactériennes de l'interface eau-sédiment présentée dans le **chapitre IV**] ont enrichi et expliquent les travaux effectués *in situ* dans l'herbier de Germanan au cours de la thèse de Guillaume Bernard (2013). Ce travail avait permis de caractériser *M. palmata* comme étant une espèce importante dans les processus de contrôle du remaniement sédimentaire, et notamment concernant l'absence d'une composante verticale du remaniement sédimentaire lorsque *M. palmata* était dominante. Nous savons maintenant que le remaniement sédimentaire de *M. palmata* ne s'effectue que selon une composante horizontale, au niveau de l'interface eau-sédiment uniquement.

La description de ce nouveau groupe fonctionnel de bioturbation permet d'apporter une approche innovante pour l'étude des effets de la bioturbation sur les communautés procaryotes par rapport aux travaux cités dans les **chapitres I (Tableau I.4)** et **III (Tableau III.4)**, ce qui rend l'approche de l'étude différente. En effet, c'était à notre connaissance la première étude expérimentale de comparaison des communautés de différentes zones de bioturbation provenant uniquement des premiers millimètres de la zone oxiqne du sédiment.

II. La macrofaune benthique influence la distribution des communautés bactériennes à l'interface eau-sédiment

II.1. À l'échelle centimétrique de l'individu, cas de *Melinna palmata*

Le polychète *M. palmata*, en raison de ses activités et de son remaniement sédimentaire décrit ci-dessus, apparaît comme étant le modèle biologique adéquat pour l'étude des effets directs de la bioturbation sur les communautés procaryotes de la zone oxiqne de l'interface eau-sédiment à l'échelle de l'individu. En effet, il permet de travailler uniquement sur l'interface eau-sédiment, ce qui (1) permet de mesurer l'impact direct de la bioturbation sans intermédiaires de modifications des conditions redox; (2) permet de simplifier la démarche expérimentale avec le prélèvement direct des sédiments et des communautés associées, sans destruction de l'unité expérimentale comme lorsque du sédiment plus profond doit être prélevé.

Trois communautés bactériennes distinctes ont été mises en évidence : une communauté associée à la zone non remaniée caractérisée par la présence de 274 ± 92 OTU dont $6 \pm 3\%$ étaient

spécifiques à cette zone pour une similarité de Bray-Curtis de $57 \pm 6\%$; une communauté constituée de 286 ± 68 OTU associée à la zone de prospection avec $8 \pm 6\%$ d'OTU spécifiques et une similarité de Bray-Curtis de $57 \pm 12\%$; et enfin une troisième communauté de 283 ± 92 OTU associée au cône fécal avec $6 \pm 1\%$ d'OTU spécifiques avec une similarité de Bray-Curtis de $59 \pm 10\%$. Il est important de rappeler ici que ces trois zones, supportant trois communautés différentes proviennent des deux premiers millimètres de la surface du sédiment. Or, la profondeur de pénétration moyenne de l'oxygène en condition témoin lors de ces expérimentations a été de 5 ± 2 mm dans la zone non remaniée, 4 ± 1 mm dans la zone de prospection et 6 ± 2 mm dans le cône fécal. Nous avons donc bien mis en évidence différentes communautés bactériennes au sein des communautés aérobies. À ces différences de communautés s'ajoutent des modifications de la diversité (basée sur l'indice de Simpson) plus élevée dans les zones bioturbées, et notamment dans la zone de prospection avec $5 \times 10^{-2} \pm 1 \times 10^{-2}$ par rapport à $7 \times 10^{-2} \pm 4 \times 10^{-2}$ dans la zone non bioturbée. La présence de communautés bactériennes distinctes et l'augmentation de la diversité ont été observées, par exemple le long des parois du terrier d'*Hediste diversicolor* (Pischedda *et al.*, 2011) ou encore des crustacés *Neotrypaea californiensis* et *Uca crenulata* (Bertics & Ziebis, 2009). Dans ces cas d'étude, ce sont les modifications des conditions géochimiques qui expliquent les résultats. Notamment, l'activité périodique d'irrigation de ces espèces fait que les parois des terriers ne sont ni constamment oxiques comme l'interface eau-sédiment, ni constamment anoxiques comme le sédiment environnant. Et ce sont ces oscillations redox qui permettent d'expliquer en grande partie les modifications de composition des communautés bactériennes. Ce sont donc essentiellement des effets indirects de la bioturbation, au travers des modifications des conditions redox (spatiales et temporelles) liées à l'enrichissement en matière organique, qui sont mis en évidence, ce qui n'est pas le cas dans notre étude de la surface oxique du sédiment. De plus, horizontalement, ces trois zones sont adjacentes sur une distance de quelques centimètres, contrairement aux études sur les parois de terriers où des patches de sédiment distants de plusieurs centimètres ont été prélevés.

En couplant ces résultats à ceux de l'expérimentation sur les effets de l'enrichissement en matière organique (**chapitre IV**) et à la description précise de l'activité et de la bioturbation du modèle, cela permet d'expliquer exactement les mécanismes et les déplacements des communautés bactériennes :

- (1) La communauté bactérienne de la zone non remaniée correspond à la communauté aérobie source, avec les bactéries associées aux particules du sédiment et aux particules fines qui sédimentent. En conditions témoins, 274 ± 92 OTU y ont été trouvées, dont $6 \pm 1\%$ étaient spécifiques. Après apport de *Tetraselmis* sp., un plus grand nombre d'OTU a été trouvé, 325, mais avec seulement 2% qui étaient spécifiques. Après apport de *Z. noltei*, 335 OTU ont été mises en évidence, toujours entre 200 et 1200 pb, avec 2% spécifiques à cette zone non remaniée (**Figure récapitulative 4**). Le plus grand nombre d'OTU en conditions

d'enrichissement couplé à un plus faible pourcentage d'OTU spécifiques peut s'expliquer par la présence d'OTU provenant des plastes des matières végétales ajoutées. En effet, les chloroplastes étant le fruit d'une endosymbiose procaryote, ils possèdent de l'ADN bactérien (Shah, 1983 ; Margulis, 1993). Il est donc possible de co-amplifier les deux ADN (Ghyselinck *et al.*, 2013). Ces particules et donc les bactéries associées sont prélevées via l'activité de prospection. Une partie de la communauté bactérienne est donc ôtée de l'interface eau-sédiment, laissant apparaître un sédiment dont les propriétés diffèrent, notamment en termes de teneur en composés organiques et de taille des particules, avec en moyenne pour les sédiments témoins une médiane de taille des particules de $13 \pm 2 \mu\text{m}$ dans la zone non remaniée pour $21 \pm 10 \mu\text{m}$ dans la zone de prospection, et avec une teneur en carbone organique particulaire de $31 \pm 5 \text{ mg.g}^{-1}\text{PS}$ dans la zone non remaniée et $25 \pm 7 \text{ mg.g}^{-1}\text{PS}$. A ces particules sont associées des communautés bactériennes différentes. Si l'on fait le bilan des deux expérimentations présentées dans les **chapitres III** et **IV**, 286 ± 68 OTU ont été mises en évidence dans la zone de prospection dont $8 \pm 6\%$ étaient spécifiques. Après apports quotidiens de *Tetraselmis* sp., 340 OTU ont été déterminées dont 4% étaient spécifiques. Enfin, après apport de *Z. noltei*, 335 OTU dont 3% spécifiques ont été mises en évidence (**Figure récapitulative 4**). Même si la profondeur de pénétration de l'oxygène indique que nous sommes toujours en présence de bactéries aérobies, d'un point de vue phylogénétique, nous sommes en présence de communautés différentes. Ceci s'explique par le fait que divers facteurs autres que les conditions redox (Edlund *et al.*, 2008) influencent la diversité des communautés bactériennes (et procaryotes plus généralement). Par exemple, Bissett *et al.* (2007) ont montré une modification des communautés bactériennes en fonction de la quantité de matière organique des sédiments. Or nous avons pu observer notamment dans le **chapitre III** des gradients de teneurs en matière organique entre les trois zones. Les influences des modifications de granulométrie et de matière organique pourraient se coupler aux déplacements directs induits par l'activité de *M. palmata*.

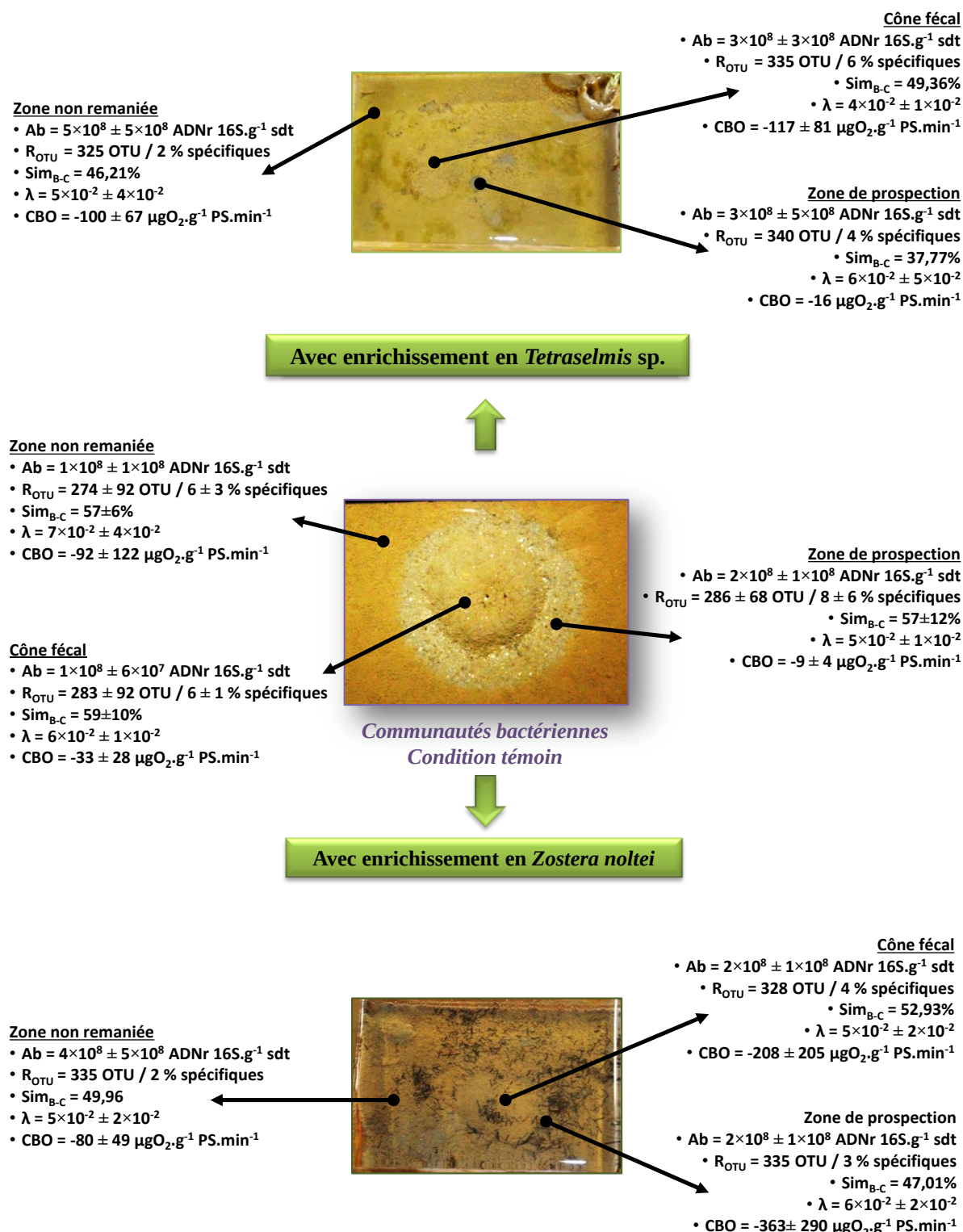


Figure récapitulative 4 : Récapitulatif des résultats de diversité bactérienne dans les trois zones de bioturbation de surface concernant la condition contrôle et les conditions d'enrichissement en matière *Tetraselmis* sp. et *Zostera noltei* ; Ab : abondance bactérienne ; R_{OTU} : richesse d'OTU (spécifique) ; Sim_{B-C} : Similarité de Bray-Curtis intra-zone ; λ : indice de Simpson ; CBO : consommation biologique d'oxygène.

- (2) Une fois prospectées, les bactéries sont ingérées et passent le long du tube digestif. Plusieurs voies de devenir des bactéries sont alors possibles : certaines bactéries sont partiellement ou totalement digérées (Dobbs & Guckert, 1988b ; Plante & Shriver, 1998). D'autres restent intactes (Plante, 2000) et d'autres peuvent trouver des conditions favorables à leur développement dans le tube digestif et donc se multiplier (Plante *et al.*, 1989). Pour les organismes entiers, tube digestif compris, 225 ± 148 OTU ont été mises en évidence (**Figure récapitulative 8**). Mais les mesures faites au temps final ne permettent pas de connaître les cinétiques et le devenir des bactéries ingérées par *M. palmata*. En comparaison, chez la coque, 284 OTU bactériennes ont été mises en évidence sur les organismes entiers, et chez la palourde, une moyenne de 53 ± 16 OTU par organe a été trouvée (Meisterhans, 2012).
- (3) Ensuite, le processus d'égestion est à l'origine du dépôt des particules à nouveau sur l'interface eau-sédiment, sur le cône fécal. Le passage dans le tube digestif peut expliquer que certaines bactéries ont disparu entre le sédiment prospecté et le sédiment du cône fécal, comme cité dans le paragraphe ci-dessus. En conditions témoins, un total de 274 ± 92 OTU dont $6 \pm 3\%$ spécifiques ont été observées. Après apport de *Tetraselmis* sp., 335 OTU dont 6% spécifiques ont été déterminées. Enfin, après apport de *Z. noltei*, 328 OTU dont 4% spécifiques ont été mises en évidence (**Figures récapitulative 4**). Des bactéries spécifiques à cette zone peuvent également être observées, qui peuvent provenir de la flore de l'organisme (Grossi *et al.*, 2006). Mais ce phénomène n'a pas été clairement observé dans notre étude, avec moins de 1% d'OTU communes entre les OTU des organismes et celles du cône fécal, et avec deux communautés significativement différentes. Il est alors probable que le passage au travers du tube digestif ait induit une sélection des bactéries (qui n'ont pas été digérées), conduisant à une modification de la composition par rapport au sédiment avant ingestion. Dans le cas du sédiment enrichi par apports de matière organique particulaire végétale, comme pour les autres zones de bioturbation, il y a également eu des apports d'OTU via les chloroplastes, ce qui peut encore expliquer la richesse d'OTU plus élevée par rapport à la condition témoin. En effet, les plastes étant issus de l'endosymbiose d'une cyanobactérie par un eucaryote primitif, des séquences d'ADN communes sont retrouvées (Gould *et al.*, 2008).

La zone de prospection est donc une zone constamment remaniée par *M. palmata*, jusqu'à 91% du temps ; elle peut donc s'apparenter à un milieu perturbé tel que décrit dans Grime (1973), c'est-à-dire que la prospection des particules et des bactéries associées pour se nourrir induit certainement une baisse de la biomasse bactérienne, permettant le développement de nouvelles communautés. Ce processus étant régulier dans le temps, cette diminution de la biomasse suivie d'une croissance de nouvelles communautés se répète dans le temps. À cette perturbation est associée une

richesse d'OTU plus importante (**Figure récapitulative 4**) et un indice de diversité de Simpson plus faible, signifiant une diversité plus importante par rapport à la zone ne subissant pas de perturbation (zone non remaniée). La bioturbation de *Melinna palmata* illustre donc l'hypothèse de la perturbation intermédiaire signifiant que " la diversité représente la balance entre le taux de croissance et la perturbation " (Hutson, 1979), comme cela a pu être décrit dans les écosystèmes terrestres au niveau de la végétation herbacée par Grime (1973), ou encore pour expliquer la diversité dans les forêts tropicales ou les récifs coralliens par Connell (1978). Widdicombe *et al.* (2000) ont comparé les effets de la bioturbation de quatre espèces bioturbatrices différentes sur la structure et la diversité de la faune associée pendant deux ans. Ils ont pu montrer que les deux dépositivores de sub-surface (*Nuculoma tenuis* et *Brissopsis lyrifera*) considérés comme générant une perturbation intermédiaire par rapport aux deux autres espèces, le bivalve *Abra alba* et le crustacé décapode *Calocaris macandreae*, engendrent une diversité α et une diversité β pour la faune associée plus élevées que pour les autres espèces bioturbatrices.

Dans un système non perturbé, à un état stationnaire, ici la zone non remaniée, nous sommes certainement en présence de bactéries à stratégie *K* (selon MacArthur & Wilson, 1967), c'est-à-dire en présence d'espèces à faible taux de croissance, mais qui présentent des aptitudes compétitives et qui ont la capacité d'exploiter des ressources variées grâce à leur plasticité métabolique, ou au contraire très particulières grâce à des activités cellulolytiques ou lignolytiques. Dans un système perturbé, ce sont au contraire des espèces opportunistes et à fort taux de croissance qui se développent, d'autant plus dans le cas de perturbations répétées, c'est-à-dire des espèces à stratégie *r* (selon MacArthur & Wilson, 1967). Dans le cas de la perturbation intermédiaire, la présence de communautés bactériennes à stratégie *r* avec des communautés à stratégie *K* induit une diversité plus élevée, permettant une minéralisation plus complète de l'ensemble de la matière organique.

Les mesures que nous avons effectuées sont comme une image instantanée du système, alors que ce système est continuellement perturbé par l'activité de *M. palmata*. Or, dans l'expérimentation présentée dans le **chapitre IV**, aucune différence n'a été mesurée entre 11 et 22 jours d'incubation (précédés de 10 jours d'équilibration du sédiment et de 10 jours d'acclimatation des individus), ce qui suggère qu'un état d'équilibre dynamique a été atteint, lié à l'expérimentation. En effet, ceci ne serait pas observé dans un milieu où l'hydrodynamisme est plus important. Pourtant, comme décrit dans la partie **I.2** du **chapitre I**, différentes communautés microbiennes se succèdent au cours de la dégradation des fragments végétaux, et notamment pour les phanérogames marines (Rice & Tenore, 1981 ; Pellikaan, 1984), de la décomposition des plus gros fragments de plusieurs centimètres, à la minéralisation du carbone dissous (eg. Fukami *et al.*, 1985 ; Biddanda & Pomeroy, 1988). Différentes raisons peuvent expliquer cette absence d'évolution temporelle des communautés bactériennes : (1) de nouveaux apports de matière ont été effectués chaque jour, il est donc probable que différentes successions bactériennes se superposaient, empêchant le suivi de l'évolution des communautés. Pour avoir la cinétique d'une succession, il aurait fallu ajouter une fois de la matière organique, puis en

prélever à différents temps, c'est-à-dire aux différents stades de sa décomposition. (2) Comme pour les patrons spatiaux de distribution entre les différentes zones de bioturbation, il est probable que la présence d'OTU provenant des plastas de la matière organique apportée ait atténué la variabilité temporelle des communautés bactériennes. (3) La fraction bactérienne des sédiments vaseux comme sableux est majoritairement constituée de bactéries inactives, en dormance ou encore constituée de nécromasse. Seulement 5% de la biomasse bactérienne est composée de bactéries vivantes et actives (Luna *et al.*, 2002). L'ADN des bactéries en dormance et des bactéries mortes pouvant être amplifié, il a pu s'ajouter à l'ADN des plastas et atténuer encore les différences de composition des communautés actives. D'autant plus que bien que le taux de croissance bactérien soit rapide, avec une production bactérienne de carbone de $301,4 \pm 87,7 \text{ ngC.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$, et avec un taux de renouvellement moyen des bactéries actives de $3,24 \text{ j}^{-1}$ (Luna *et al.*, 2002), le temps de renouvellement de la biomasse des bactéries en dormance ou de la nécromasse peut être plus élevé, jusqu'à plusieurs mois dans le cas de sédiment côtiers (Luna *et al.*, 2002). Cette valeur de renouvellement est variable en fonction du système dans lequel on se trouve. Par exemple, en milieu profond, dans des sédiments datés à plus 35 millions d'années au large de l'upwelling du Pérou, le temps de renouvellement des cellules végétatives a été déterminé entre $0,2 \times 10^3$ et $4,0 \times 10^3$ ans, et celui de la nécromasse entre $0,4 \times 10^5$ et $4,0 \times 10^5$ ans (Lomstein *et al.*, 2012). Ceci est à mettre en perspective des biais liés à la technique d'ARISA. Des fragments extraits (issus de l'ADN des plastas, de bactéries mortes ou partiellement digérées, ou encore de bactéries non actives) peuvent avoir plus ou moins d'affinité avec les amorces lors de la phase d'amplification, et leur proportion dans l'échantillon peut donc potentiellement être sur- ou sous-estimée (Acinas *et al.*, 2005).

Cette étude a donc permis d'approfondir les connaissances sur les effets de la bioturbation de la macrofaune sur le contrôle des communautés bactériennes grâce à un dispositif expérimental et à un modèle biologique original et innovant par rapport aux autres études de ce type (e.g. Bertics & Ziebis, 2009 ; Laverock *et al.*, 2010 ; Pischedda *et al.*, 2011) :

- (1) Étude focalisée sur les premiers millimètres de la zone oxiq du sédiment.
- (2) Suivi approfondi de l'activité et du remaniement sédimentaire du modèle biologique permettant de relier directement les modifications de composition des communautés aux activités de la macrofaune.

Dans le **chapitre IV**, ce lien entre les deux compartiments biologiques a été approfondi en ajoutant une troisième composante clé du fonctionnement des écosystèmes à l'interface eau-sédiment, la matière organique. Ceci s'est fait via des enrichissements en matière organique de deux natures : des cellules phytoplanctoniques d'une part et des fragments de feuilles de phanérogame d'autre part. L'activité de *M. palmata* n'a été que peu affectée par l'enrichissement, bien que cette partie nécessite d'être approfondie en terme de nombre d'individus suivis en raison de la forte variabilité inter-individuelle. Seule une tendance à un plus faible temps de prospection a été observée lorsque les

cellules phytoplanctoniques ont été apportées, c'est-à-dire dans le cas où de la matière organique facilement consommable (Brown, 1997) et de petite taille a été apportée. En revanche, l'apport de matière organique particulaire ainsi que la bioturbation ont influencé les propriétés physico-chimiques et les communautés bactériennes de l'interface eau-sédiment, bien que cela ait été moins marqué que lors de la première expérimentation. Plus d'OTU étaient communes entre les zones de bioturbation (**Figure récapitulative 4**). Étant donné que les organismes n'étaient à la base pas en conditions limitantes d'apports en matière organique, un apport journalier de particules organiques pas toutes ingérées et digérées a pu être à l'origine d'une couche de dépôt relativement homogène sur toutes les zones de l'interface eau-sédiment, encore plus marquée que dans la condition témoin avec l'apport de matière organique dû à l'eau courante. Cette couche a pu être prélevée et a pu atténuer les différences entre chaque zone. D'autant plus que des fragments d'ADN provenant des chloroplastes ajoutés ont pu être analysés dans les trois zones, participant à limiter les différences entre les zones, avec entre 98 et 100% d'OTU communes entre le sédiment des zones de bioturbation et les rations apportées, et ce même dans le sédiment témoin (**Tableau IV.2**). Le sédiment provenait du site de prélèvement, Germanan, où la vase nue juxtapose un herbier et où des macroalgues sont visibles sur l'interface eau-sédiment, où du microphytobenthos et des cellules sédimentées de phytoplancton sont certainement présentes. De l'ADN de plastides était donc potentiellement présent dans le sédiment témoin et a été analysé, de la même manière que lorsque de la matière végétale a été artificiellement apportée. Par ailleurs, aucun impact significatif n'a pu être détecté sur les abondances d'ADNr 16S bactérien avec l'abondance minimale dans la zone non remaniée témoin ($1 \times 10^8 \pm 1 \times 10^8$ ADNr 16S.g⁻¹) et maximale dans la zone non remaniée après apport de *Tetraselmis* sp. ($5 \times 10^8 \pm 5 \times 10^8$ ADNr 16S.g⁻¹), et sur la consommation biologique d'oxygène avec une consommation minimale de -9 ± 4 µgO₂.g⁻¹PS.min⁻¹ dans la zone de prospection de la condition témoin et une consommation maximale de $-362,7 \pm 290,5$ µgO₂.g⁻¹PS.min⁻¹ dans la zone de prospection après apport de *Tetraselmis* sp. (**Figures récapitulatives 4 et 5**). Soit il n'y a effectivement pas d'effet significatif, soit la couche de dépôt a atténué le signal. Dans le cas où il n'y aurait pas eu d'effet, cela peut s'expliquer par le faible

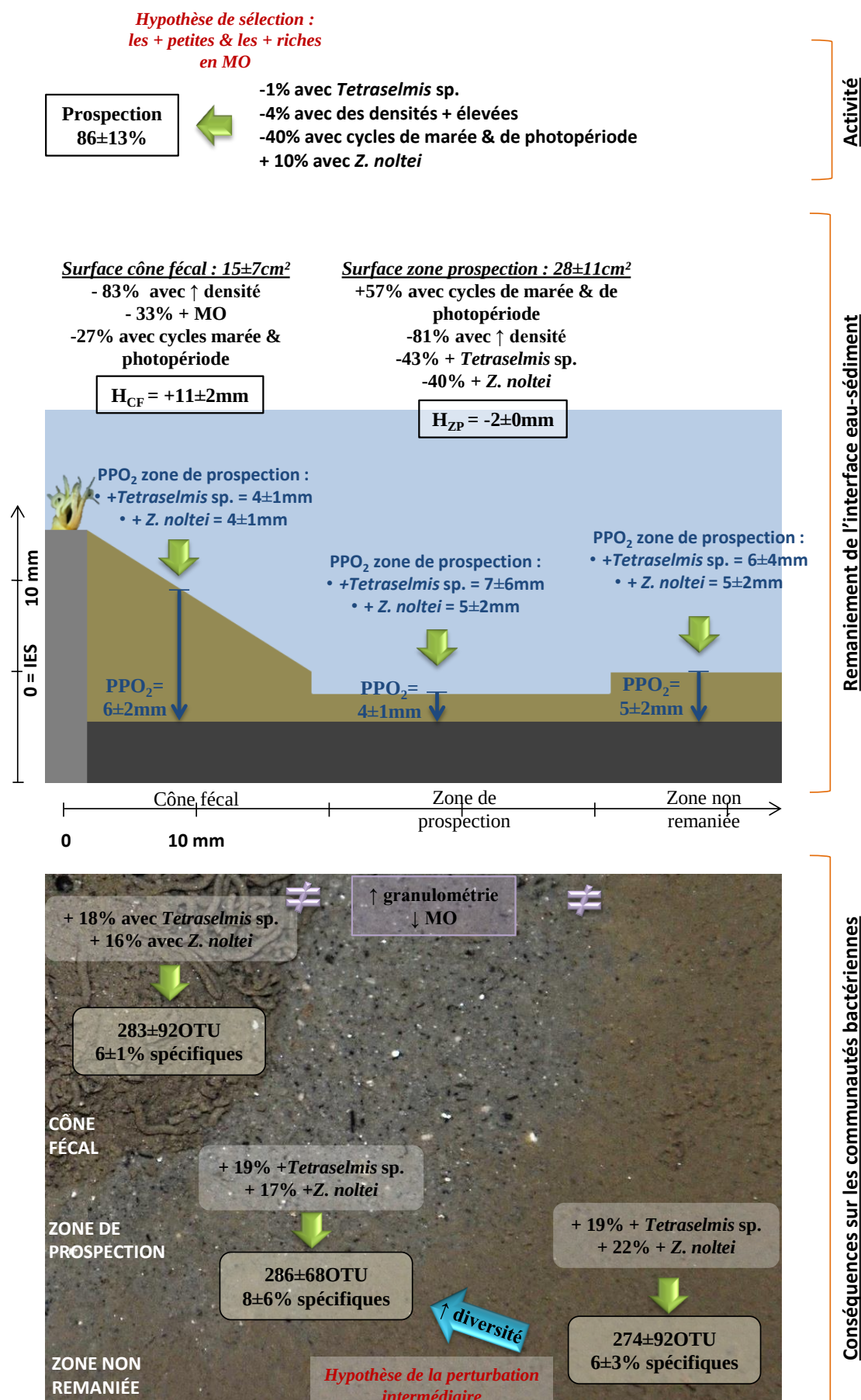


Figure récapitulative 5 : Schéma en vue latérale et photographie en vue de dessus de la zonation de l'interface eau-sédiment induite par *Melinna palmata* et des effets des différents facteurs testés sur sa bioturbation et les conséquences sur la diversité des communautés bactériennes.

enrichissement en terme de carbone qui a été noté, car d'une part le sédiment n'était pas limitant en carbone et azote organiques, et d'autre part, l'apport quotidien n'a finalement représenté en terme d'azote organique particulaire que $0,12 \text{ mg NOP.g}^{-1}\text{PS}$ de sédiment sur les 22 jours. En effet, dans la zone non remaniée témoin, $27,5 \pm 5,8 \text{ mgCOP.g}^{-1}\text{PS}$ et $3,1 \pm 0,6 \text{ mgNOP.g}^{-1}\text{PS}$ ont été dosés, pour $25,6 \pm 5,0 \text{ mgCOP.g}^{-1}\text{PS}$ et $3,2 \pm 1,1 \text{ mgNOP.g}^{-1}\text{PS}$ après apport de *Tetraselmis* sp. et pour $25,7 \pm 5,5 \text{ mgCOP.g}^{-1}\text{PS}$ et $3,1 \pm 0,6 \text{ mgNOP.g}^{-1}\text{PS}$ après apport de *Z. noltei*. Il apparaît donc logique que sans enrichissement notable en carbone, source d'énergie des bactéries, les abondances et la consommation d'oxygène n'aient pas été stimulées comme cela a pu être constaté lors de blooms phytoplanctoniques (e.g. Hoppe, 1981), ou lors des premiers stades de dégradation de phanérogames marines (Blum & Mills, 1991). Par ailleurs, les temps de génération bactériens peuvent varier selon les conditions par exemple de température (Price & Sower, 2004), mais sont en général de l'ordre de la journée avec par exemple un temps de doublement microbien (bactéries, microalgues et protozoaires) à l'interface eau-sédiment de 26 h dans la baie de Kahana à Hawaii (Karl & Novitsky, 1988), ou encore de 0,004 et $1,3 \text{ j}^{-1}$ pour les bactéries de sédiments côtiers et sablo-vaseux (Alongi, 1992). Dans notre étude, les mesures de consommation biologique d'oxygène n'ont pas été faites juste après les apports de matière organique mais entre 20 et plus de 24 h après le dernier ajout. Il est probable que cela explique que nous n'ayons pas observé d'augmentation de l'activité de consommation d'oxygène liée à l'enrichissement car un état stationnaire était déjà atteint. Des enrichissements du sédiment pendant les mesures de la consommation d'oxygène, suivis d'une analyse des abondances bactériennes de ce même sédiment, permettraient d'éclaircir cette hypothèse.

Une méthode plus précise pour caractériser l'activité et l'abondance procaryotes liées à la dégradation de la matière organique pourrait être le DNA-SIP (*Stable Isotope Probing*), qui permettrait d'obtenir la fraction d'ADN issue des procaryotes actifs dans la dégradation de la matière organique apportée (Radajewski *et al.*, 2003 - méthode décrite en perspective dans la conclusion du **chapitre IV**), et non plus l'ADN total avec des fragments pouvant être issus de procaryotes non actifs voire en cours de dégradation. À partir de cet ADN, il serait alors possible par ARISA et T-RFLP de caractériser la composition des communautés bactériennes et archéennes actives dans la dégradation du composé organique apporté, ainsi que leur abondance, toujours par qPCR. Mais aussi, l'application de techniques de métagénomique permettrait de caractériser avec une très haute résolution la diversité taxonomique et fonctionnelle de ces bactéries actives, ou encore des techniques de transcriptomique. L'ensemble des résultats expérimentaux sur *M. palmata* sont schématisés sur la **figure récapitulative 5** et expliqués sur la **figure récapitulative 6**.

II.2. À l'échelle kilométrique de la communauté

En voyant ce lien direct entre les deux compartiments biologiques à l'échelle de quelques centimètres, on peut se demander si, et comment, cette relation évolue à l'échelle de la communauté.

Par exemple on peut s'interroger sur les patrons spatiaux de distribution des deux compartiments. Évoluent-ils de manière similaire ou non au sein d'un écosystème ? En effet, les approches

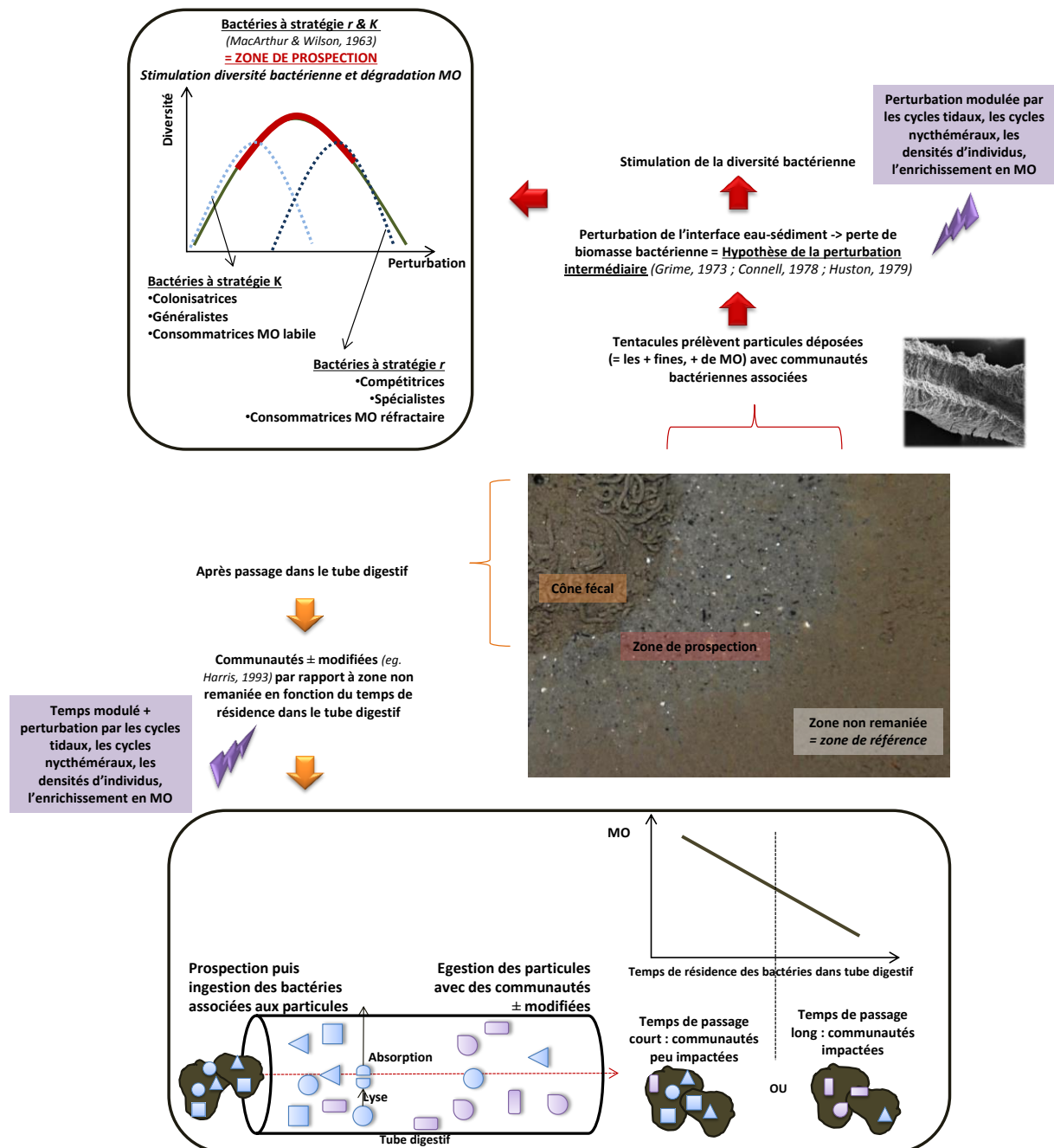


Figure récapitulative 6 : Schéma expliquant comment l'activité de *Melinna palmata* modifie les communautés bactériennes à l'interface eau-sédiment.

expérimentales permettent d'expliquer les mécanismes mais par définition ne prennent pas en compte l'ensemble des facteurs environnementaux influant ce mécanisme. En complément, les études *in situ* permettent de vérifier les résultats obtenus expérimentalement. Il est donc nécessaire de coupler les deux approches d'études pour avoir une vue d'ensemble, dans notre cas, du lien entre deux compartiments biologiques, tous deux fortement impliqués dans le fonctionnement des écosystèmes.

Des travaux ont montré comment la distribution des communautés de macrofaune était influencée par les teneurs en matière organique (Pearson & Rosenberg, 1978 ; Albertelli *et al.*, 1999), ou encore comment elle était corrélée à la taille des particules (Ellingsen, 2002 ; Dutertre *et al.*, 2012) dans le sédiment. En parallèle, ces mêmes corrélations ont été trouvées avec la distribution des communautés bactériennes (Dale, 1974 ; Polymenakou *et al.*, 2005 ; Jackson & Weeks, 2008). Nous avons pu, dans l'étude de la vasière Ouest-Gironde, montrer pour la première fois l'évolution simultanée des patrons de distribution des deux compartiments biologiques le long d'un même transect. Nous avons identifié des communautés de macrofaune et de bactéries significativement différentes entre les parties Nord-Est et Sud-Ouest de la vasière (cf. **Figures V.2 et V.5** et **Figure récapitulative 7**). Étant donné les impacts de la bioturbation et des comportements de nutrition sur la distribution des communautés décrites expérimentalement, la diversité fonctionnelle des espèces trouvées dans la vasière a été prise en compte en se basant sur la littérature. Ceci a permis de mettre en évidence une évolution de la diversité fonctionnelle du Nord-Est vers le Sud-Ouest de la vasière. Au Nord-Est un grand nombre d'organismes influencent les premiers centimètres de la colonne sédimentaire, des dépositores de surface ont été trouvés. À l'Ouest, bien que les bioturbateurs de surface soient encore bien représentés, des abondances plus élevées d'espèces induisant un remaniement plus profondément dans la colonne sédimentaire ont été trouvées : plus de carnivores en termes de nutrition et plus de convoyeurs en termes de bioturbation. Ces résultats sont en accord avec les suppositions de Jouanneau *et al.* (1989) qui ont observé de très nombreuses structures biogènes jusqu'à une vingtaine de centimètres au Sud-Ouest, et sur moins de 10 cm de profondeur au Nord-Est et qui émettaient donc l'hypothèse d'une bioturbation importante des sédiments de cette partie de la vasière Ouest-Gironde.

Des travaux d'écologie terrestre ont montré la sélection exercée par les plantes sur les communautés bactériennes du sol (e.g. Smalla *et al.*, 2001 ; Zak *et al.*, 2003). Donc la bioturbation, mais également les interactions entre espèces (cf. partie **III** de ce chapitre) suggèrent la possibilité qu'une partie de la variabilité des communautés procaryotes du sédiment soit influencée par la structure des communautés de la macrofaune. Cependant, cette relation entre les deux compartiments biologiques n'a malheureusement pas pu être confirmé statistiquement, même si 26 tests de corrélation sur 30 sont significatifs (test de Mantel corrigé selon Holm-Bonferroni). Il est cependant important de rappeler que les matrices de données n'étaient composées que de trois réplicats sur trois stations. Or un faible nombre d'observations diminue la probabilité d'observer des différences, et nous avons quand même pu obtenir 26 tests significatifs.

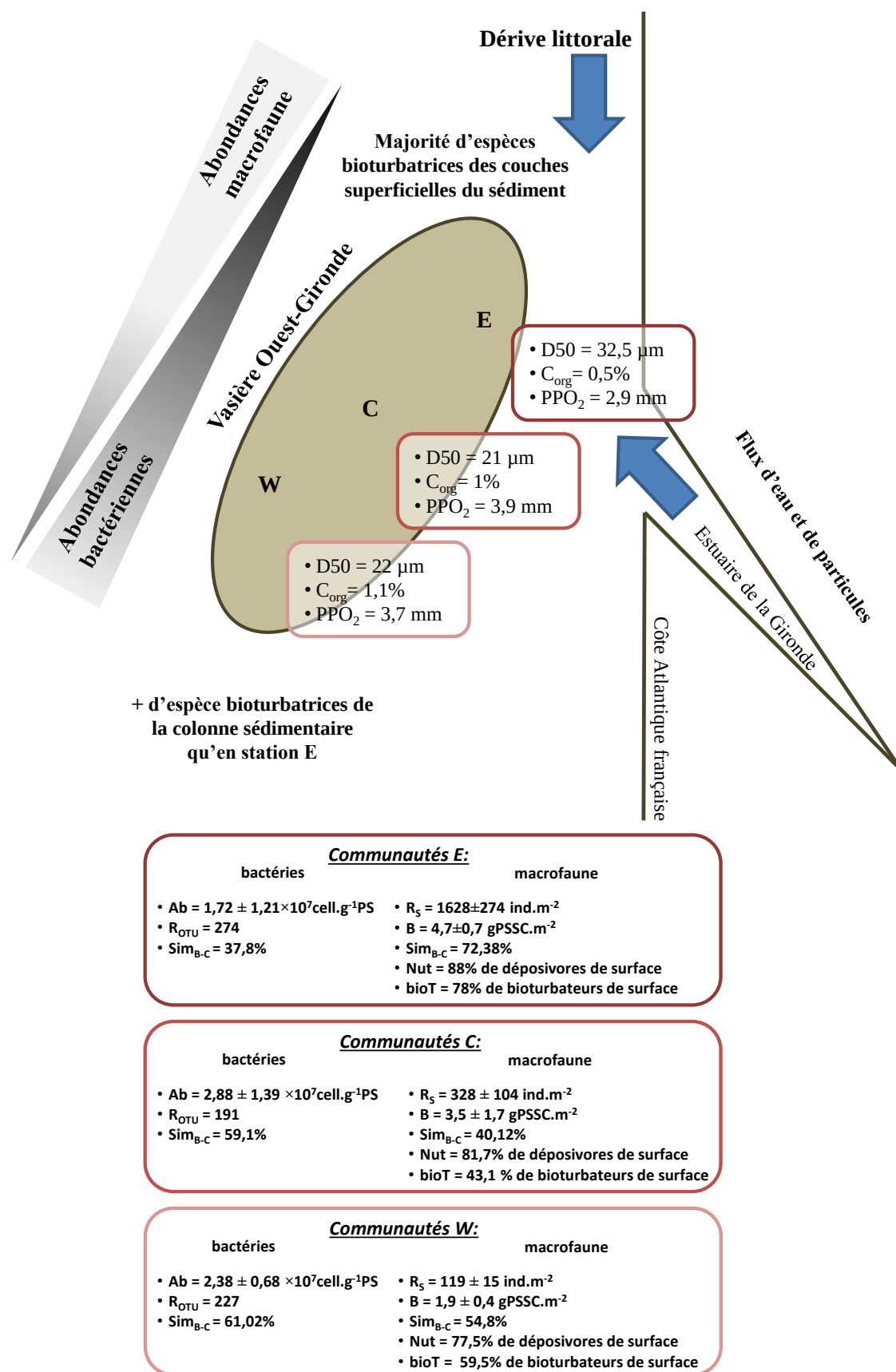


Figure récapitulative 7 : Schéma récapitulatif des différents résultats obtenus lors de la comparaison des patrons spatiaux de distribution de la macrofaune et des bactéries dans la vasière Ouest-Gironde. Ab : Abondances ; R_{OTU} : richesse d'OTU, Sim_{B-C} : similarité de Bray-Curtis ; R_s : Richesse spécifique ; B : biomasse ; Nut : nutrition ; bioT : bioturbation.

Cependant, cette tendance couplée aux travaux de contrôle des communautés bactériennes par la bioturbation, mais aussi couplée à des travaux d'écologie terrestre sur la sélection des communautés bactériennes du sol par les plantes, suggère que cette corrélation nécessite d'être approfondie pour être confirmée. Pour cela, il faudrait effectuer le même type de suivi dans plusieurs écosystèmes différents, en augmentant l'effort d'échantillonnage : nombre de stations et nombre de réplicats. Il serait également pertinent dans de futures études d'effectuer l'ensemble des analyses (bioturbation, propriétés physico-chimiques du sédiment, détermination de la macrofaune et des communautés procaryotes), à partir d'un seul et même prélèvement de sédiment, ce qui augmenterait le niveau de précision de ce lien. À cela pourraient s'ajouter des approches expérimentales d'assemblages d'espèces clés de ces écosystèmes appartenant aux différents groupes fonctionnels de bioturbation, afin de déterminer précisément l'importance des différents facteurs biotiques et abiotiques qui régissent cette relation, et si ces facteurs sont spécifiques à l'écosystème.

Nous avons commencé avec ce travail à faire ce couplage entre les deux types d'approche avec d'un côté une étude *in situ* sur le lien entre macrofaune et bactéries dans les premiers centimètres du sédiment qui a montré l'évolution des communautés le long d'un gradient de matière organique, mais aussi le long d'un gradient d'intensité de bioturbation en fonction de la profondeur mesuré par Jouanneau *et al.* (1989). Notamment, la station la plus à l'Est était caractérisée par de la bioturbation seulement dans les premiers centimètres et par la présence d'espèces majoritairement dépositivores de surface, dont le polychète *M. palmata* ($17,3 \pm 6,7$ ind.m⁻²). À l'inverse, la station la plus à l'Ouest était caractérisée par une bioturbation beaucoup plus profonde, jusqu'à 20 cm et aucun individu de *M. palmata* n'a été trouvé. D'un autre côté, nous avons pu expliquer expérimentalement les faibles intensités de bioturbation en profondeur dans le sédiment mesurées en présence de *M. palmata*, notamment lorsque les densités de populations sont importantes (**chapitre III**, Bernard *et al.*, 2014). Mais aussi, nous avons pu souligner l'impact jusqu'à présent ignoré de sa bioturbation sur les propriétés et les communautés bactériennes dans les premiers millimètres du sédiment.

III. Les communautés associées à *Melinna palmata* et à son tube

Nous nous sommes principalement intéressés dans cette thèse aux relations entre la macrofaune benthique et les bactéries de son environnement proche, comment la macrofaune pouvait influencer leur distribution. Mais les invertébrés marins sont eux-mêmes les hôtes d'une flore qui peut être diversifiée et abondante (Cavanaugh, 1994) qui peut être transmise via la reproduction ou par l'environnement et notamment via la nutrition (Dubilier *et al.*, 2008). Des exemples de symbioses entre invertébrés benthiques marins et microorganismes souvent étudiées sont les éponges (e.g. Taylor *et al.*, 2007 ; Webster & Blackall, 2009) ou encore les coraux (e.g. Knowlton & Rohwer, 2003 ; Reshef *et al.*, 2006 ; Lema *et al.*, 2012). Nous avons ici mis en évidence des communautés bactériennes propres à *M. palmata* (**Figure récapitulative 8**), différentes du sédiment environnant que

l'organisme ingère (résultats présentés dans les **chapitres III et IV**, sur 8 et 35 individus). Pourtant, les individus ont seulement été laissés à dépurifier et leur tube digestif n'a pas été disséqué. Il serait intéressant d'approfondir ces résultats d'une part en caractérisant les communautés procaryotes dans leur ensemble, mais aussi en déterminant les fonctions associées à ces procaryotes. Chez le corail, certaines bactéries symbiotiques ont une fonction de protection de l'hôte, soit indirectement en occupant les niches libres, limitant l'installation dans ces niches de bactéries pathogènes (Mouchka *et al.*, 2010), soit directement en sécrétant des antibiotiques (e.g. Castro *et al.*, 2002). Certaines peuvent aussi être qualifiées de probiotiques (Reshef *et al.*, 2006). Les bactéries résidant dans l'hémolymphe de l'huître *Crassostrea gigas* semblent limiter l'établissement de pathogènes (Defer *et al.*, 2013). On définit l'hôte plus tous les microorganismes qui lui sont associés d'holobionte, considéré comme étant la véritable unité évolutive (Margulis, 1993 ; Rohwer *et al.*, 2002), et on définit leur rôle bénéfique évitant l'installation de bactéries pathogènes de bouclier microbien.

Dans le cas de *M. palmata*, un intermédiaire entre l'organisme et son environnement a également attiré notre attention, il s'agit de son tube. En effet, il est à la fois constitué de mucus produit par l'organisme, et de particules de sédiment environnant. De plus, une fois l'organisme installé dans son tube, il semble qu'il ne le quitte plus (observations de plusieurs dizaines d'individus conservés une année en eau courante). À partir des mesures de bioturbation, nous avons pu conclure sur le fait que ce tube est comme une barrière au passage des particules et des solutés. La recherche de bactéries ayant une fonction de protection pour l'organisme serait donc intéressante, il pourrait lui aussi jouer un rôle de bouclier microbien. Ceci est appuyé par le fait que des communautés bactériennes associées au tube (275 ± 100 OTU) étaient significativement différentes des communautés bactériennes associées aux organismes (225 ± 148 OTU) et au sédiment environnant (cf. les richesses d'OTU des différentes zones de bioturbation regroupées sur les **figures récapitulative 4 et 8**). Matsui *et al.* (2004) ont pu constater avec l'analyse de tubes du polychète *Diopatra cuprea* que les communautés de bactéries sulfato-réductrices étaient dépendantes du type de sédiment dans lequel le polychète s'était développé (vaseux ou sableux). Mais à notre connaissance, aucune étude n'a cherché à caractériser les communautés procaryotes associées à ce type de structure en tant que bouclier microbien.

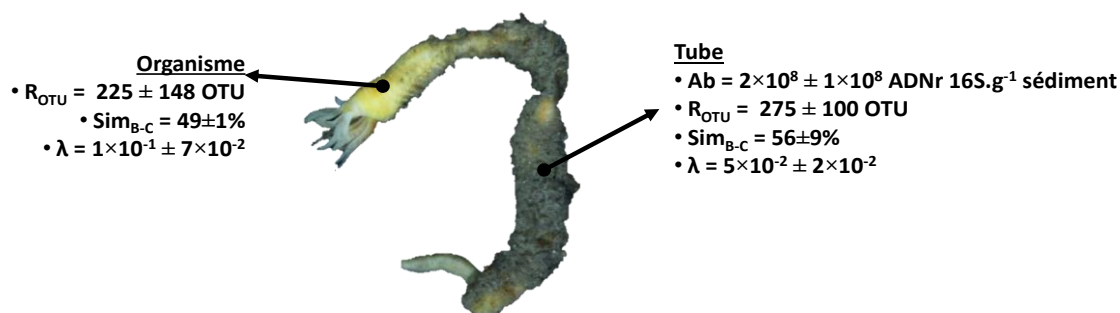


Figure récapitulative 8 : synthèse des résultats de diversité bactérienne obtenus sur les tubes et sur les organismes de *M. palmata* utilisés lors des expérimentations présentées dans les **chapitres III** et **IV**. Ab : abondance bactérienne ; R_{OTU} : richesse d'OTU (spécifique) ; Sim_{B-C} : Similarité de Bray-Curtis intra-zone ; λ : indice de Simpson

IV. Perspectives

Ce travail nous a permis d'explorer un nouveau modèle expérimental pour l'étude des effets de la bioturbation sur la diversité des communautés procaryotes. Les informations que nous avons acquises sur *M. palmata*, son comportement en aquarium, son impact sur la distribution spatiale des communautés bactériennes à l'interface eau-sédiment nous amènent à préciser nos hypothèses. En effet, la prospection de *M. palmata* modulée par les facteurs environnementaux (lumière, marée...), pourrait moduler la dégradation de la matière organique en contrôlant la structure des populations bactériennes et archéennes. En s'apparentant à une perturbation, cette activité de prospection peut selon la théorie de la perturbation intermédiaire contrôler la proportion de stratégies *r* (forte croissance, consommation opportuniste de monomères) et de stratégies *K* (croissance réduite, optimisation de l'utilisation de divers substrats avec la production d'exo-enzymes) (**Figure récapitulative 6**). Finalement, la perturbation induite par *M. palmata* impacterait la dégradation de la matière organique en jouant sur la diversité des substrats consommés, pris comme un trait fonctionnel de la communauté procaryote (*Community level metabolite profile*).

À court terme, la première perspective est de comprendre et résoudre les problèmes de détection des communautés archéennes dans le sédiment, afin de compléter ce travail. En effet, les communautés archéennes ont le même rôle clé de minéralisation de la matière organique que les bactéries, il serait donc pertinent de caractériser les effets de la bioturbation sur l'ensemble des communautés procaryotes (bactériennes et archéennes), et notamment dans le cadre de leur activité de minéralisation (Jarrell *et al.*, 2011 ; Lloyd *et al.*, 2013). Par ailleurs, il serait pertinent d'approfondir les informations obtenues concernant les communautés bactériennes en déterminant précisément les groupes bactériens retrouvés dans les différentes zones de bioturbation et quels sont leurs fonctions et leurs métabolismes. Les méthodes de métagénomique permettraient d'obtenir ce résultat avec une haute résolution, comme par exemple par pyroséquençage (Margulies *et al.*, 2005). Par ailleurs, la

transcriptomique serait également un moyen d'enrichir ce travail car en se basant sur l'étude des ARNm, elle permet de cibler les communautés procaryotes actives, mais aussi de cibler des fonctions ciblées particulières.

De plus, l'effet de *M. palmata* sur les communautés procaryotes pourrait être approfondi par la comparaison des communautés des différentes zones de bioturbation, des tubes et des individus par des prélèvements *in situ*, et les résultats pourraient être comparés entre populations provenant de sites différents : populations intertidales vs subtidales, ou encore soumises à de la matière organique en quantité et de qualité différentes.

À plus long terme, de nouvelles expérimentations pourraient être effectuées pour approfondir les résultats obtenus au cours de cette thèse sur le lien entre la macrofaune, sa bioturbation, et la diversité et l'activité procaryote : à l'échelle de l'individu et de la population, la notion d'holobionte et de bouclier microbien autour de *M. palmata* mais aussi autour de son tube pourraient être approfondies, en qualifiant les fonctions des bactéries et des archées associées à l'organisme et au tube. Notamment, vérifier la présence de procaryotes à caractère probiotique associés à *M. palmata*, et vérifier si les procaryotes associés aux tubes ne participeraient pas à la protection de l'organisme, notamment via la sécrétion d'antibiotiques.

La relation entre les procaryotes, la macrofaune et la dégradation de la matière organique pourrait être approfondi, là aussi en associant la notion de fonction des procaryotes présents par séquençage, mais aussi en quantifiant plus précisément la fraction de procaryotes actifs dans la dégradation de la matière organique. Une technique développée précédemment permettrait d'associer activité et fonction, la technique de DNA-SIP. Une composante temporelle pourrait également être ajoutée pour mettre en évidence les successions de communautés liées à la dégradation de la matière organique, mais aussi les évolutions des abondances et de l'activité. En effet, travailler à la surface du sédiment permet un prélèvement plus simplifié que lorsqu'il faut prélever dans un terrier en profondeur. De plus, la visualisation de l'activité de l'organisme permet de prélever du sédiment dont on connaît précisément les déplacements dans le temps.

À l'échelle des communautés, le lien entre les deux compartiments biologiques devrait être vérifié par rapport aux premiers résultats mis en évidence dans la vasière Ouest-gironde. Pour cela, ce type d'étude pourrait être fait dans plusieurs autres écosystèmes, de manière encore plus précise, en faisant les mesures des différents paramètres environnementaux (teneurs en matière organique, oxygène...) et biologiques (communautés procaryotes et macrofaune) à partir des mêmes carottes de prélèvement. Mais aussi en y ajoutant des mesures expérimentales avec les espèces les plus représentatives (abondance ou biomasse). Ceci permettrait d'avoir une meilleure résolution d'étude et une meilleure compréhension des facteurs régissant ces liens, mais aussi de faire le transfert de ces mesures vers des outils de modélisation.

Références bibliographiques

- Acinas, S.G., Sarma-Rupavtarm, R., Klepac-Ceraj, V. & Polz, M.F. (2005) PCR-induced sequence artifacts and bias: insights from comparison of two 16S rRNA clone libraries constructed from the same sample. *Appl. Environ. Microb.* 71(12): 8966-8969
- Albertelli, G., Covazzi-Harriague, A., Danovaro, R., Fabiano, M., Fraschetti, S., & Pusceddu, A. (1999) Differential responses of bacteria, meiofauna and macrofauna in a shelf area (Ligurian Sea, NW Mediterranean): role of food availability. *J. Sea. Res.* 42: 11-26
- Aller, J.Y. & Aller, R.C. (1986) Evidence for localized enhancement of biological activity associated with tube and burrow structures in deep-sea sediments at the HEBBLE site, western North Atlantic. *Deep Sea Res.* 33(6): 755-790
- Aller, J.Y., Aller, R.C., Kemp, P.F., Chistoserdov, A.Y., & Madrid, V.M. (2010) Fluidized muds: a novel setting for the generation of biosphere diversity through geologic time. *Geobiol.* 8: 169-178
- Aller, R.C. (1980) Quantifying solute distribution in the bioturbated zone of marine sediments by defining an average microenvironment. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 44:1955-1965
- Aller, R.C. (1982) The effects of macrobenthos on chemical properties of marine sediment and overlying water. In: McCall PL, Tevesz MJS (eds) *Animal-sediment relations*. Plenum Press, New York, NY, p 53-102
- Aller, R.C. (1988) Benthic fauna and biogeochemical processes in marine sediments: the role of burrow structures. In: Blackburn, T.H., Sorensen, J. (eds) *Nitrogen cycling in coastal marine environments*, Chichester, John Wiley & Sons, pp 301-338.
- Aller, R.C. (1994) Bioturbation and remineralization of sedimentary organic matter: effects of redox oscillation. *Chem. Geol.* 114: 331-345
- Aller, R.C. (2001) Transport and reactions in the bioirrigated zone. In: *The benthic boundary layer: transport processes and biogeochemistry* (Boudreau, B.PB & Jørgensen, B.B., eds.) pp269-301. Oxford University Press.
- Aller, R.C., & Yingst, J.Y. (1985) Effects of marine deposit-feeders *Heteromastus filiformis* (Polychaeta), *Macoma balthica* (Bivalvia) and *Tellina texana* (Bivalvia) on averaged sedimentary solute transport, reaction rates, and microbial distributions. *J. Mar. Res.* 43: 615-645
- Alongi, D.M. (1985) Microbes, meiofauna, and bacterial productivity on tubes constructed by the polychaete *Capitella capitata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 23: 207-208
- Alongi, D.M. (1992) Vertical profiles of bacterial abundance, productivity and growth rates in coastal sediments of the central Great Barrier Reef lagoon. *Mar. Biol.* 112: 657-663
- Alvárez Cobela, M. & Gallardo, T. (1986) Catálogo de las algas continentales españolas. IV. Chlorophyceae Wille in Warming 1884. Prasinophyceae T. Christensen ex Silva 1980. *Acta Bot. Malacitana* 11: 17-38
- Amalfitano, S., & Fazi, S. (2008) Recovery and quantification of bacterial cells associated with streambed sediments. *J. Microbiol. Methods* 75: 237-243
- Amann, R., Ludwig, W. & Schleifer, K.H. (1995) Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 59(1): 143-169
- Amend, A.S., Seifert, K.A. & Bruns, T.D. (2010) Quantifying microbial communities with 454 pyrosequencing: does read abundance count? *Mol. Ecol.* 19(24): 5555-5565.
- Andersen, M. & Kristensen, E. (2002) The importance of bacteria and microalgae in the diet of the deposit-feeding polychaete *Arenicola marina*. *Ophelia.* 56 (3): 179-196

- Andersen, P. & Sørensen, H. (1986) Population dynamics and trophic coupling in pelagic microorganisms in eutrophic coastal waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 33: 99-109
- Anderson, M.J. (2001) A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol.* 26: 32-46
- Anderson, M.J. (2006) Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions. *Biometrics* 62: 245-253
- Angel, M.V. (1993) Biodiversity of the pelagic ocean. *Conserv. Biol.* 7:760-772
- Archambault, P. & Bourget, E. (1996) Scales of coastal heterogeneity and benthic intertidal species richness, diversity and abundance. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 136: 111-121
- Arndt, S., Jørgensen, B.B., LaRowe, D.E., Middelburg, J.J., Pancost, R.D. & Regnier, P. (2013) Quantifying the degradation of organic matter in marine sediments: a review and synthesis. *Earth Sci. Rev.* 123: 53-86
- Auby, I. (1991) Contribution à l'étude des herbiers de *Zostera noltii* dans le bassin d'Arcachon: dynamique, production et dégradation, macrofaune associée. Thèse de doctorat, Université Bordeaux I. p. 234
- Austin, B. (1988) *Marine Microbiology*. Cambridge University Press. pp 222.
- B**achelet, G., de Montaudouin, X. & Dauvin, J.C. (1996) The quantitative distribution of subtidal macrozoobenthic assemblages in Arcachon bay in relation to environmental factors: a multivariate analysis. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 42: 371-391
- Banta, G. T., Holmer, M., Jensen, M. H., & Kristensen, E. (1999) Effects of two polychaete worms, *Nereis diversicolor* and *Arenicola marina*, on aerobic and anaerobic decomposition in a sandy marine sediment. *Aquat. Microb. Ecol.* 19(2), 189-204.
- Bauer, J.E. & Druffel, R.M. (1998) Ocean margins as a significant source of organic matter to the deep open ocean. *Nature*. 392: 482-485
- Belley, R., Archambault, P. Sundby, B., Gilbert, F. & Gagnon, J.M. (2010) Effects of hypoxia on benthic macrofauna and bioturbation in the estuary and gulf of St. Lawrence, Canada. *Cont. Shelf Res.* 30(12): 1302-1313
- Belon, P. (1555) *La nature et la diversité des poisons avec leurs pourtraicts, représentés au plus près du naturel*. Paris.
- Benlloch, S., Rodríguez-Valera, F. & Martínez-Murcia, A.J. (1995) Bacterial diversity in two coastal lagoons deduced from 16S rDNA PCR amplification and partial sequencing. *FEMS Microb. Ecol.* 18: 267-280
- Berg, G. & Smalla, K. (2009), Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microb. Ecol.* 68: 1-13
- Berg, P., Rysgaard, S., Funch, P. & Sejr, M.K. (2001) Effects of bioturbation on solutes and solids in marine sediments. *Aquat. Microb. Ecol.* 26:81-94
- Berkenbusch, K. & Rowden, A.A. (1999) Factors influencing sediment turnover by the burrowing ghost shrimp *Callinassa filholi* (Decapoda: Thalassinidea). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 238:283-292
- Bernard, G. (2013) Mesures expérimentales et modélisation du remaniement sédimentaire dans le bassin d'Arcachon. Thèse de doctorat, Université de Bordeaux
- Bernard, G., Delgard, M.L., Maire, O., Ciutat, A., Lecoart, P. Deflandre, B., Duchêne, J.C. & Grémare, A. (*In press*) A comparative study of sediment particles mixing in a *Zostera noltei* meadow and a bare sediment mudflat. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*

- Berner, R.A. (1971) Principles of chemical sedimentology. McGraw-Hill, New-York. 240p.
- Berner, R.A. (1980) Early diagenesis: a theoretical approach. Princeton University Press, New Jersey, 260p.
- Bertics, V.J., Sohm, J.A., Magnabosco, C., & Ziebis, W. (2012) Denitrification and nitrogen fixation dynamics in the area surrounding an individual ghost shrimp (*Neotrypaea californiensis*) burrow system. Appl. Environ. Microb. 78: 3864-3872
- Bertics, V.J., Sohm, J.A., Treude, T., Chow, C.E.T., Capone, D.G., Fuhrman, J.A., & Ziebis, W. (2010) Burrowing deeper into benthic nitrogen cycling: the impact of bioturbation on nitrogen fixation coupled to sulfate reduction. Mar. Ecol. Prog. Ser. 409: 1-15
- Bertics, V.J., & Ziebis, W. (2009) Biodiversity of benthic microbial communities in bioturbated coastal sediments is controlled by geochemical microniches. ISME J. 3: 1269-1285
- Bertics, V.J., & Ziebis, W. (2010) Bioturbation and the role of microniches for sulfate reduction in coastal marine sediments. Environ. Microbiol. 12(11): 3022-3034
- Bertrand, J.C., Bonin, P., Caumette, P., Gattuso, J.P., Grégori, G., Guyoneaud, R., Le Roux, X., Matheron, R. & Poly, F. (2011) Les cycles biogéochimiques. Dans: Ecologie microbienne, microbiologie des milieux naturels et anthropisés. Editions Presse universitaire de Pau. pp 1004
- Biddanda, B.A. & Pomeroy, L.R. (1988) Microbial aggregation and degradation of phytoplankton-derived detritus in seawater. I. Microbial succession. Mar. Ecol. Prog. Ser. 42: 79-88
- Biles, C.L., Paterson, D.M., Ford, R.B., Solan, M. & Raffaelli, D.G. (2002) Bioturbation, ecosystem functioning and community structure. Hydrol. Earth. Syst. Sci. 6(6): 999-1005
- Bird, F.L., Boon, P.I. & Nichols, P.D. (2000) Physicochemical and microbial properties of burrows of the deposit-feeding Thalassinidean ghost shrimp *Biffarius arenosus* (Decapoda: Callinassidae). Estuar. Coastal Shelf Sci. 51: 279-291
- Bissett, A., Burke, C., Cook, P.M.L. & Bowman, J.P. (2007) Bacterial community shifts in organically perturbed sediments. Environ. Microbiol. 9: 46-60
- Blair, N.E., Levin, L.A., De Master, D. & Plaia, G. (1996) The short term fate of fresh algal carbon in continental slope sediments. Limnol. Oceanogr. 41:1208–1219
- Blanchard, G.F., Sauriau, P.G., Cariou-Le Gall, V., Goulet, M.J. & Olivier, F. (1997) Kinetics of tidal resuspension of microbiota: testing the effects of sediment cohesiveness and bioturbation using flume experiments. Mar. Ecol. Prog. Ser. 151: 17-25
- Blanchet, H., de Montaudouin, X., Lucas, A. & Chardy, P. (2004). Heterogeneity of macrozoobenthic assemblages within a *Zostera noltii* seagrass bed: diversity, abundance, biomass and structuring factors. Estuar. Coast. Shelf Sci. 61: 111-123
- Blum, L.K. & Mills, A.L (1991) Microbial growth and activity during the initial stages of seagrass decomposition. Mar. Ecol. Prog. Ser. 70: 73-82
- Blum, L.K., Mills, A.L., Zieman, J.C. & Zieman, R.T. (1988) Abundance of bacteria and fungi in seagrass and mangrove detritus. Mar. Ecol. Prog. Ser. 42: 73-78
- Borja, A., Franco, J., & Pérez, V. (2000) A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. Mar. Pollut. Bull. 40: 1100-1114
- Boudreau, B.P. & Jørgensen, B.B. (2000) Chapter 9, Diagenesis in the benthic boundary layer. In: The benthic boundary layer: transport processes and biogeochemistry (Boudreau, B.P. & Jørgensen, B.B., eds.) pp211-244. Oxford University Press
- Bouillon S., Boschker H.T.S. (2006) Bacterial carbon sources in coastal sediments: a cross-system analysis based on stable isotope data of biomarkers. Biogeosciences 3:175-185

- Braeckman, U., Provoost, P., Gribsholt, B., Van Gansbeke, D., Middelburg, J.J., Soetaert, K., Vincx, M. & Vanaverbeke, J. (2010) Role of macrofauna functional traits and density in biogeochemical fluxes and bioturbation. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 399: 173-186
- Braeckman, U., Yazdani Foshtomi, M., Van Gansbeke, D., Meysman, F., Soetaert, K., Vincx, M. & Vanaverbeke, J. (2014). Variable importance of macrofaunal functional biodiversity for biogeochemical cycling in temperate coastal sediments. *Ecosystems* 17: 720-737
- Branch, G.M. & Pringle, A. (1987) The impact of the sand prawn *Callinassa kraussi* Stebbing on sediment turnover and on bacteria, meiofauna, and benthic microflora. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 107: 219-235
- Bray, J.R. & Curtis, J.T. (1957) An ordination of the upland forest communities of southern wisconsin. *Ecol. Monogr.* 27(4): 325-349
- Brenchley, G.A. (1982) Mechanisms of spatial competition in marine soft-bottom communities. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 60: 17-33
- Briffa, M., de la Haye, K. & Munday, P.L. (2012) High CO₂ and marine animal behaviour: potential mechanisms and ecological consequences. *Mar. Pollu. Bull.* 64: 1519-1528
- Brown, M.R. (1997) Nutritional value and use of Microalgae in aquaculture. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuicola.* 3 al 6 de Septiembre del 2002.
- Burdige, D.J. (1993) The biogeochemistry of manganese and iron reduction in marine sediments. *Earth-Sci. Rev.* 35: 249-284
- Burdige, D.J. (2007) Preservation of organic matter in marine sediments: controls, mechanisms, and an imbalance in sediment organic carbon budgets? *Chem. Rev.* 107: 467-485
- Bussmann, I. & Reichardt, W. (1991) Sulfate-reducing bacteria in temporarily oxic sediments with bivalves. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 78: 97-102
- C**abioc'h, J., Floch, J.-Y., Le Toquin, A., Boudouresque, C.-F., Meinesz, A. & Verlaque M. (2006) guide des algues des mers d'Europe, Manche, Atlantique, Méditerranée, Les guides du naturaliste, ed. Delachaux & Niestle, 272p
- Cacabelos, E., Moreira, J., Lourido, A. & Troncoso, J.S. (2011) Ecological features of Terebellida fauna (Annelida, Polychaeta) from Ensenada de San Simon (NW Spain). *Animal biodiversity and conservation* 34(1): 141-150
- Cadée, G.C. (1976) Sediment reworking by *Arenicola marina* on tidal flats in the Dutch Wadden Sea. *Neth J. Sea Res.* 10: 440-460
- Cadenasso, M.L., Pickett, S.T.A., Wheathers, K.C., Bell, S.S., Benning, T.L., Carreiro, M.M. & Dawson, T.E. (2003a) An interdisciplinary and synthetic approach to ecological boundaries. *Bioscience* 53 (8): 717-722
- Cadenasso, M.L., Pickett, S.T.A., Wheathers, K.C. & Jones, C.G. (2003b) A framework for a theory of ecological boundaries. *Bioscience* 53 (8): 750-758
- Caliman, A., Carneiro, L.S., Leal, J.J.F., Farjalla, V.F. Bozelli, R.L. & Esteves, F.A. (2012) Community biomass and bottom up multivariate nutrient complementarity mediate the effects of bioturbator diversity on pelagic production. *PLoS ONE* 7(9)
- Cammen, L.M. (1980) The significance of microbial carbon in the nutrition of the deposit feeding polychaete *Nereis succinea*. *Mar. Biol.* 61: 9-20

- Cammen, L. M. (1989) The relationship between ingestion rate of deposit feeders and sediment nutritional value. In *Ecology of marine deposit feeders* (pp. 201-222). Springer New York.
- Canfield, D.E. (1989) Sulfate reduction and oxic respiration in marine sediments: implications for organic carbon preservation in euxinic environments. *Deep Sea Res.* 36(1): 121-138
- Canfield, D.E. (1993) Organic matter oxidation in marine sediments. In: Wollast, R., *et al.* (Ed.), *Interactions of biogeochemical cycles*. Springer, pp. 333–363.
- Canuel, E.A. & Martens, C.S. (1996) Reactivity of recently deposited organic matter: degradation of lipid compounds near the sediment-water interface. *Geochim Cosmochim Acta*, 60(10): 1793-1806
- Cardinale, B.J., Gelmann, E.R. & Palmer, M.A. (2004) Net spinning caddisflies as stream ecosystem engineers: the influence of *Hydropsyche* on benthic substrate stability. *Funct. Ecol.* 18: 381-387
- Castaing, P., & Jouanneau, J.M. (1987) Les apports sédimentaires actuels d'origine continentale aux océans. *Bulletin de l'Institut de Géologie du Bassin d'Aquitaine* 41: 53-61
- Castro, D., Pujalte, M.J., Lopez-Cortes, L., Garay, E. & Borrego, J.J. (2002) *Vibrios* isolated from the cultured Manila clam (*Ruditapes philippinarum*): numerical taxonomy and antibacterial activities. *J. Appl. Microbiol.* 93:438-447
- Cavanaugh, C.M. (1994) Microbial symbiosis: patterns of diversity in the marine environment. *Am. Zool.* 34: 79-89
- Cebrián, J. (1999) Patterns in the fate of production in plant communities. *American Naturalist* 154:449-468
- Cebrián, J. & Duarte, C.M. (1998) Patterns in leaf herbivory on seagrasses. *Aquat. Bot.* 60: 67-82
- Chisti, Y. (2007) Biodiesel from microalgae. *Biotechnol. Adv.* 25: 294-306
- Christensen, B., Vedel, A. & Kristensen, E. (2000) Carbon and nitrogen fluxes in sediment inhabited by suspension-feeding (*Nereis diversicolor*) and non-suspension-feeding (*N. virens*) polychaetes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 192: 203-217
- Christensen, J.P., Devol, A.H. & Smethie, W.M. (1984) Biological enhancements of solute exchange between sediments and bottom water on the Washington continental-shelf. *Cont. Shelf Res.* 3: 9-23
- Cifuentes, A., Antón, J., Benlloch, S., Donnelly, A., Herbert, R.A. & Rodríguez-Valera, F. (2000) Prokaryotic diversity in *Zostera noltii*-colonized marine sediments. *Appl. Environm. Microb.* 66(4): 1715-1719
- Ciutat, A., Widdows, J. & Pope, N.D. (2007) Effect of *Cerastoderma edule* density on near-bed hydrodynamics and stability of cohesive muddy sediments. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 346: 114-126
- Clarke, K.R., & Warwick, R.M. (2001) *Change in marine communities: An approach to statistical analysis and interpretation*, 2nd edition, PRIMER-E, Plymouth
- Collins, R.E., Rocap, G. & Deming, J.W. (2010) Persistence of bacterial and archaeal communities in sea ice through an Arctic winter. *Environ. Microbiol.* 12:1828-1841
- Connell, J.H. (1978) Diversity in tropical rain forest and coral reefs. *Science*. 4355(199): 1302-1310
- Cuny, P., Mirailles, G., Cornet-Barthaux, V., Acquaviva, M., Stora, G., Grossi, V. & Gilbert, F. (2007) Influence of bioturbation by the polychaete *Nereis diversicolor* on the structure of bacterial communities in oil contaminated coastal sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 54: 452-459

- Dale, N.G. (1974) Bacteria in intertidal sediments: factors related to their distribution. *Limnol. Oceanogr.* 19(3): 509-518
- Danovaro, R., Della Croce, N. & Fabiano, M. (1998) Biochemical composition of particulate organic matter and bacterial dynamics at the sediment-water interface in a Mediterranean seagrass system. *Hydrobiologia* 363: 241-251
- Danovaro, R., Dell'Anno, A. & Fabiano, M. (2001a) Bioavailability of organic matter in the sediments of the Porcupine Abyssal Plain, northeastern Atlantic. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 220: 25-32
- Danovaro, R., Dell'Anno, A., Trucco, A., Serresi, M. & Vanucci, S. (2001b) Determination of virus abundance in marine sediments. *Appl. Environ. Microb.* 67:1384-1387
- Danovaro, R., Luna, G.M., Dell'Anno, A. & Pietrangeli, B. (2006) Comparison of two fingerprinting techniques, Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism and Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis, for determination of bacterial diversity in aquatic environments. *Appl. Environ. Microb.* 72: 5982-5989
- Darwin, C. (1881) The formation of vegetable mould through the action of worms with observation of their habits. John Murray
- Dauer, D.M. (1993). Biological criteria, environmental health and estuarine macrobenthic community structure. *Mar. Pollut. Bull.* 26: 249-257
- Dauvin, J.C., Dewarumez, J.M. & Gentil, F. (2003) An up to date list of polychaetous annelids from the English channel. *Cah. Biol. Mar.* 44: 67-95
- Dauvin, J.C., Ruellet, T., Thiebaut, E., Gentil, F., Desroy, N., Janson, A.L., Duhamel, S., Jourde, J. & Simon, S. (2007) The presence of *Melinna palmata* (Annelida: Polychaeta) and *Ensis directus* (Mollusca: Bivalvia) related to sedimentary changes in the bay of Seine (English Channel, France). *Cah. Biol. Mar.* 48: 391-401
- Dauwe, B., Herman, P.M.J. & Heip, C.H.R. (1998) Community structure and bioturbation potential of macrofauna at four North Sea stations with contrasting food supply. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 173: 67-83
- Davies, P., Morvan, C., Sire, O. & Baley, C. (2007) Structure and properties of fibers from sea-grass (*Zostera marina*). *J. Mater. Sci.* 42(13): 4850-4857
- Davison, C. (1891) On the amount of sand brought up by lobworms to the surface. *Geol. Mag.* 8: 489-493
- Dawes, C., Chan, M., Chinn, R., Koch, E.W., Lazar, A. & Tomasko, D. (1987) Proximate composition, photosynthetic and respiratory responses of the seagrass *Halophila engelmannii* from Florida. *Aquat. Bot.* 27: 195-201
- De Backer, A., Van coillie, F., Montserrat, F., Provoost, P., Van Colen, C., Vincx, M. & Degraer, Z. (2011) Bioturbation effects of *Corophium volutator*: Importance of density and behavioural activity. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 91: 306-313
- De Nadaï-Monoury, E., Lecerf, A., Canal, J., Buisson, L., Laffaille, P. & Gilbert, F. (2013) A cost-effective method to quantify biological surface sediment reworking. *Hydrobiologia*. 713: 115-125
- Defer, D., Desriac, F., Henry, J., Bourgougnon, N., Baudy-Floc'h, M., Brillet, B., Le Chevalier, P. & Fleury, Y. (2013) Antimicrobial peptides in oyster hemolymph : the bacterial connection. *Fish Shelfish Immun.* 34: 1439-1447
- Deflandre, B., & Duchêne, J.C. (2010) PRO2FLUX - A software program for profile quantification and diffusive O2 flux calculations. *Environ. Modell. Softw.* 25: 1059-1061
- Del Giorgio, P.A. & Duarte, C.M. (2002) Respiration in the open ocean. *Nature*. 420: 379-384

- Dilly, O. & Irmeler, U. (1998) Succession in the food web during the decomposition of leaf litter in a black alder (*Alnus glutinosa* (Gaertn.)L.) forest. *Plant Soil*. 218: 91-101
- Dilly, O. & Munch, J.C., (1996) Microbial biomass content, basal respiration and enzyme activities during the course of decomposition of leaf litter in a black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) forest. *Soil Biol. Biochem.* 28, 1073–1081.
- Dobbs, F.C. & Guckert, J.B. (1988a) *Callianassa trilobata* (Crustacea: Thalassinidea) influences abundance of meiofauna and biomass, composition, and physiologic state of microbial communities within its burrow. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 45: 69-79
- Dobbs, F.C. & Guckert, J.B. (1988b) Microbial food resources of the macrofaunal deposit feeder *Ptychodera bahamensis* (Hemichordata: Enteropneusta). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 45: 127-136
- Domozych, D.S., Cianca, M., Fangel, J.U., Mikkelsen, M.D., Ulvskov, P. & Willats, W.G.T. (2012) The cell walls of green algae: a journey through evolution and diversity. *Front. Plant Sci.* 3: 1-7
- Donohue, P.J.C., Calosi, P. Bates, A.H., Laverock, B., Rastrick, S., Mark, F.C., Strobel, A. & Widdicombe, S. (2012) Impact of exposure to elevated pCO₂ on the physiology and behavior of an important ecosystem engineer, the burrowing shrimp *Upogebia deltaura*. *Aquat. Biol.* 15: 73-86
- Dragoli, A. J. (1960). Biology of the Black Sea polychaete *Melinna palmata* Grube. *Nauch. Zap. odess, biol. Sta. Akad. Nauk UkrSSR* 2:43-48 [In Russ.]
- Duarte, C.M. (1990) Seagrass nutrient content. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 67: 201-207
- Duarte, C.M. (1992) Nutrient concentration of aquatic plants: patterns across species. *Limnol. Oceanogr.* 37(4): 882-889
- Duarte, C.M. & Chiscano, C.L. (1999) Seagrass biomass and production: a reassessment. *Aquat. Bot.* 65: 159-174
- Duarte, C.M., Middelburg, J.J. & Caraco, N. (2005) Major role of marine vegetation on the oceanic carbon cycle. *Biogeosciences*. 2: 1-8
- Dubilier, N., Bergin, C. & Lott, C. (2008) Symbiotic diversity in marine animals: The art of harnessing chemosynthesis. *Nat. Rev. Microbiol.* 6: 725-740
- Dubois, S. (2012) Composition et transfert trophique de la matière organique particulaire dans le bassin d'Arcachon. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux. 215p
- Dubois, S., Savoye, N., Grémare, A., Plus, M., Charlier, K., Beltoise, A. & Blanchet, H. (2012) Origin and composition of sediment organic matter in a coastal semi-enclosed ecosystem: an elemental and isotopic study at the ecosystem space scale. *J. Mar. Syst.* 94: 64-73
- Duchêne, J.C. (2012) Hydroid and serpulid recruitment patterns using a new laser microtopography technique. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 412: 27-36
- Duchêne, J.C. & Rosenberg, R. (2001) Marine benthic faunal activity patterns on a sediment surface assessed by video numerical tracking. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 223: 113-119
- Duhamel, S., & Jacquet, S. (2006) Flow cytometric analysis of bacteria- and virus-like particles in lake sediments. *J. Microbiol. Methods* 64: 316-332
- Duineveld, G.C.A., Lavaleye, M.S.S., Berghuis, E.M., de Wilde, P.A.W.J., Van Der Weele, J., Kok, A., Batten, S.D. & de Leeuw, J.W. (1997) Patterns of benthic fauna and benthic respiration on the celtic continental margin in relation to the distribution of phytodetritus. *Int. Revue Ges. Hydrobiol.* 82(3): 395-424

Duport, E., Stora, G., Tremblay, P. & Gilbert, F. (2006) Effects of population density on the sediment mixing induced by the gallery-diffusor *Hediste (Nereis) diversicolor* O.F. Müller, 1776. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 336: 33-41

Dutertre, M., Hamon, D., Chevalier, C. & Ehrold, A. (2012) The use of the relationships between environmental factors and benthic macrofaunal distribution in the establishment of a baseline for coastal management. ICES J. Mar. Sci. 70(2): 294-308

Eckman, J.E., Nowell, A.R.M. & Jumars, P.A. (1981) Sediment destabilization by animal tubes. J. Mar. Res. 39(2): 361-374

Edlund, A., Hardeman, F., Jansson, J.K. & Sjöling, S. (2008) Active bacterial community structure along a vertical redox gradient in Baltic Sea sediment. Environ. Microbiol. 10: 2054-2063

Ellingsen, K.E. (2002) Soft-sediment benthic biodiversity on the continental shelf in relation to environmental variability. Mar. Ecol. Prog. Ser. 232:15-27

Enriquez, S., Duarte C.M., & Sand-Jensen, K. (1993) Patterns in decomposition rates among photosynthetic organisms: the importance of detritus C:N:P content. Oecologia 94:457-471

Erdős, L., Zalatnai, M., Morschauser, T., Bátori, Z. & Körmöczi, L. (2011) On the terms related to spatial ecological gradients and boundaries. Acta Biol. Szegediensis 55(2): 279-287

Esperschütz, J., Zimmermann, C., Dümig, A., Welzl, G., Buegger, F., Elmer, M., Munch, J. C., & Schlöter, M. (2013) Dynamics of microbial communities during decomposition of litter from pioneering plants in initial soil ecosystems. Biogeosciences, 10, 5115–5124

Fanjul, E., Escapa, M., Montemayor, D., Addino, M., Alvarez, M.F., Grela, M.A. & Iribarne, O. (2014) Effect of crab bioturbation on organic matter processing in South West Atlantic intertidal sediments. J. Sea Res. *In press*.

Fauchald, K. & Jumars, P.A. (1979) The diet of worms: a study of polychaete feeding guilds. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 17: 193-284

Fauvel, P. (1927) Polychètes sédentaires, Faune de France, ed. Lechevalier, Paris, 494p

Feller, C., Brown, G.G., Blanchart, E., Deleporte, P. & Chernyanskii, S.S. (2003) Charles Darwin, earthworms and the natural sciences: various lessons from past to future. Agr. Ecosyst. Environ. 99: 29-49

Fenchel, T. (1969) The ecology of marine microbenthos IV. Structure and function of the benthic ecosystem, its chemical and physical factors and the microfauna communities with special reference to the ciliated protozoa. Ophelia. 6: 1-182

Fenchel, T. (1970) Studies on the decomposition of organic detritus derived from the turtle grass (*Thalassia testudinum*). Limnol. Oceanogr. 15: 14-20

Fenchel, T. (1975) Character displacement and coexistence in mud snails (Hydrobiidae). Oecologia. 20: 19-32

Fenchel, T., King, G.M. & Blackburn, T.H. (1998) Bacterial biogeochemistry: the ecophysiology of mineral cycling. Academic Press, London, 307p

Fernandes, S., Meysman, F.J.R. & Sobral, P. (2006) The influence of Cu contamination on *Nereis diversicolor* bioturbation. Mar. Chem. 102: 148-158

Ferry, J.G. & Lessner, D.J. (2008) Methanogenesis in marine sediments. Ann. NY. Acad. Sci. 1125: 147-157

- Field, C.B., Behrenfeld, M.J., Randerson, J.T. & Falkowski, P. (1998) Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science*. 281: 237-240
- Filgueira, R. & Castro, B.G. (2011) Study of the trophic web of Sans Simón Bay (Ría de Vigo) by using stable isotopes. *Cont. Shelf Res.* 31: 476-487
- Finke, N. & Jørgensen, B.B. (2008) Response of fermentation and sulfate-reduction to experimental temperature changes in temperate and Arctic marine sediments. *ISME J.* 2: 815-829
- Fisher, M.M. & Triplett, E.W. (1999) Automated approach for ribosomal intergenic spacer analysis of microbial diversity and its application to freshwater bacterial communities. *Appl. Environ. Microb.* 65: 4630-4636
- Fogel, G.B., Collins, C.R., Li, J. & Brunk, C.F. (1999) Prokaryotic genome size and SSU rDNA copy number, estimation of microbial relative abundance from a mixed population. *Microb. Ecol.* 38, 93-113
- Fontaine, S., Bardoux, G., Benest, D., Verdier, B., Mariotti, A. & Abbadie, L. (2004) Mechanisms of the priming effect in a Savannah soil amended with cellulose. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68: 125-131
- Fontaine, S., Mariotti, A. & Abbadie, L. (2003) The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biol. Biochem.* 35(6) 837-843
- Forney, L.J., Zhou, X. & Brown, C.J. (2004) Molecular microbial ecology: land of the one-eyed king. *Curr. Opin. Microbiol.* 7: 210-220
- Forster, S. & Graf, G. (1995) Impact of irrigation on oxygen flux into the sediment: intermittent pumping by *Callianassa subterranea* and "piston pumping" by *Lanice conchilega*. *Mar. Biol.* 123: 335-346
- Fowler, S.W. & Knauer, G.A. (1986) Role of large particles in the transport of elements and organic compounds through the oceanic water column. *Prog. Oceanog.* 16: 147-194
- Franco, M.A., Vanaverbeke, J., Oevelen, D.V., Soetaert, K., Costa, M.J., Vincx, M. & Moens, T. (2009) Respiration partitioning in contrasting subtidal sediments: seasonality and response to a spring phytoplankton deposition. *Mar. Ecol.* 31: 267-290
- François, F., Dalegre, K., Gilbert, F. & Stora, G. (1999) Variabilité spécifique à l'intérieur des groupes fonctionnels: étude du remaniement sédimentaire de deux bivalves Veneridae, *Ruditapes decussatus* et *Venerupis aurea*. *CR Acad Sci Ser III Sci Vie* 322:339-345
- François, F., Gerino, M., Stora, G., Durbec, J.P. & Poggiale, J.C. (2002) Functional approach to sediment reworking by gallery-forming macrobenthic organisms: modeling and application with the polychaete *Nereis diversicolor*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 229: 127-136
- François, F., Poggiale, J.C., Durbec, J.P. & Stora, G. (1997) A new approach for the modelling of sediment reworking induced by a macrobenthic community. *Acta Biotheor.* 45: 295-319
- Frisher, M.E., Nierzwicky-Bauer, S.A., Parsons, R.H., Vathanodorn, K. & Waitkus, K.R. (2000) Interactions between zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) and microbial communities. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57: 591-599
- Froelich, P.N., Klinkhammer, G.P., Bender, M.L., Luedtke, N.A., Heath, G.R., Cullen, D., Dauphin, P., Hammond, D., Hartman, B. & Maynard, V. (1979) Early oxydation of organic matter in pelagic sediments of the eastern equatorial Atlantic: suboxic diagenesis. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 43: 1075-1090
- Fuhrman, J.A., & Steele, J.A., (2008) Community structure of marine bacterioplankton: patterns, networks, and relationships to function. *Aquat. Microb. Ecol.* 53: 69-81
- Fukami, K., Simudu, U. & Taga, N. (1985) Microbial decomposition of phyto- and zooplankton in sea water. 2. Changes in the bacterial community. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 21: 1-5

- Furukawa, Y. (2005) Biogeochemical consequences of infaunal activities. In Interactions between macro-and microorganisms in marine sediment, Coastal and Estuarine Studies 60. American Geophysical Union, Washington DC. 390p
- Gadel, F., Jouanneau, J.M., Weber, O., Serve, L., & Comellas, L. (1997) Traceurs organiques dans les dépôts de la vasière Ouest-Gironde (Golfe de Gascogne). *Oceanol. Acta* 20: 687-695
- Gantner, S., Andersson, A.F., Alonso-Saez, L. & Bertilsson, S. (2011) Novel primers for 16S rRNA-based archaeal community analyses in environmental samples. *J. Microbiol. Meth.* 84: 12-18.
- Garcia, C. (2010) Approche fonctionnelle des communautés benthiques du bassin oriental de la manche et du Sud de la mer du Nord. Thèse de doctorat, université de Lille 1. 399p
- Gardner, L.R., Sharma, P. & Moore, W.S. (1987) A regeneration model for the effect of bioturbation by fiddler crabs on ^{210}Pb profiles in salt marsh sediments. *J. Environ. Radioact.* 5: 25–36
- Gattuso JP, Frankignoulle M. & Wollast R (1998) Carbon and carbonate metabolism in coastal aquatic ecosystems. *Annual Review of Ecological Systems*, 29:405–34
- Gerçe, B., Schwartz, T., Syltack, C. & Haussman, R. (2011) Differences between bacterial communities associated with the surface or tissue of Mediterranean Sponge species. *Microbial Ecol.* 61: 769-782
- Gerino, M., Stora, G., François-Carcaillet, F., Gilbert, F., Poggiale, J.C., Mermillod-Blondin, F., Desrosiers, G. and Vervier, P. (2003) Macro-invertebrate functional groups in freshwater and marine sediments: a common mechanistic classification. *Vie Milieu* 53: 221-231
- Ghyselinck, J., Pfeiffer, S., Heylen, K., Sessitsch, A. & De Vos, P. (2013) The effect of priming choice and short read sequences on the outcome of 16S rRNA gene based diversity studies. *PLoS ONE* 8(8): e71360
- Gibbs, P.E., Bryan, G.W. & Ryan, K.P. (1981) Copper accumulation by the polychaete *Melinna palmata*: an antipredation mechanism? *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* 61: 707-722
- Gilbert, F., Aller, R.C., & Hulth, S. (2003) The influence of macrofaunal burrow spacing and diffusive scaling on sedimentary nitrification and denitrification: An experimental simulation and model approach. *J. Mar. Res.* 61: 101-125
- Gilbert, F., Hulth, S., Grossi, V., Poggiale, J. C., Desrosiers, G., Rosenberg, R., Gérino, M., François-Carcaillet, F., Michaud, E. & Stora, G. (2007) Sediment reworking by marine benthic species from the Gullmar Fjord (Western Sweden): importance of faunal biovolume. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 348(1): 133-144
- Gilbertson, W.W., Solan, M. & Prosser, J.I. (2012) Differential effects of microorganism-invertebrate interactions on benthic nitrogen cycling. *FEMS Microbio. Ecol.* 82: 11-22
- Glass, B.P. (1969) Reworking of deep-sea sediments as indicated by the vertical dispersion of the Australasian and Ivory Coast microtektite horizons. *Earth Planet Sci. Lett.* 6:409–415
- Glémarec, M. (1969) Le plateau continental nord-Gascogne et la Grande Vasière. Etude bionomique. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.* 33: 301-310
- Glémarec, M. (1986) Ecological impact of an oil-spill: utilization of biological indicators. *Wat. Sci. Tech.* 18: 203-211
- Glud, R.N., Gundersen, J.K., Roy, H. & Jorgensen, B.B. (2003) Seasonal dynamics of benthic O₂ uptake in a semienclosed bay: Importance of diffusion and faunal activity. *Limnol. Oceanogr.* 48(3): 1265-1276

- Godbold, J.A. & Solan, M. (2013) Long-term effects of warming and ocean acidification are modified by seasonal variation in species responses and environmental conditions. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 368, 20130186
- Gomoiu, M.-T. (1982). On the populations of *Melinna palmata* Grube at the Romanian littoral of the Black Sea. *Cercefftri mar. (Inst. rom. Cercet~ri mar., Constanta)* 15: 115-131
- Goñi-Urriza, M., de Montaudouin, X., Guyoneaud, R., Bachelet, G. & de Wit, R. (1999) Effect of macrofaunal bioturbation on bacterial distribution in marine sandy sediments, with special reference to sulphur-oxidising bacteria. *J. Sea Res.* 41: 269-279
- Gontikaki, E., Thornton, B., Huvenne, V.A.I. & Witte, U. (2013) Negative priming effect on organic matter mineralisation in NE Atlantic slope sediments. *PLoS ONE* 8(6)
- Gould, S.B., Waller, R.F. & Mc Fadden, G.I. (2008) Plastid evolution. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 59: 491-517
- Graf, G. (1989) Benthic-pelagic coupling: a benthic view. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 330: 149-190
- Gray, J.S. (1997) Marine biodiversity: patterns, threats and conservation needs. *Biodivers. Conserv.* 6: 153-175
- Green, M.A., Aller, R.C., Cochran, J.K., Lee, C. & Aller, J.Y. (2002) Bioturbation in shelf/slope sediments off Cape Hatteras, North Carolina: the use of ²³⁴Th, chl-a, and Br- to evaluate rates of particle and solute transport. *Deep-Sea Res. II.* 49:4627–4644
- Greenwood, D.J. (1968) Measurment of microbial metabolism in soil, in: the ecology of soil bacteria (Gray, T.R.G. & Parkinson, D. eds.) University of Toronto press. p. 138-157
- Grehan, A.J. (1991) Demography and reproductive biology of *Melinna palmata* (Ampharetidae: Polychaeta) in inner Galway Bay on the west coast of Ireland. *Mar. Biol.* 109: 459-467
- Grémare, A. (1988) Feeding, Tube-building and particle-size selection in the terebellid *Eupolymnia nebulosa*. *Mar. Biol.* 97: 243-252
- Grémare, A., Amouroux, J.M. & Amouroux, J. (1989b) Modelling of consumption and assimilation in the deposit-feeding polychaete *Eupolymnia nebulosa*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 54: 239-248
- Grémare, A., Duchêne, J.C., Rosenberg, R., David, E. & Desmalades, M. (2004) Feeding behaviour and functional response of *Abra ovata* and *A. nitida* compared by image analysis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 267: 195-208
- Grémare A, Labruné, C., Vanden Berghe, E., Amouroux, J.M., Bachelet, G., Zettler, M.L., Vanaverbeke, J., Fleischer, D., Bigot, L., Maire, O., Deflandre, B., Craeymeersch, J., Degraer, S., Dounas, C., Duineveld, G., Heip, C., Herrmann, M., Hummel, H., Karakassis, I., Kedra, M., Kendall, M., Kingston, P., Laudien, J., Occhipinti-Ambrogi, A., Rachor, E., Sarda, R., Speybroeck, J., Van Hoey, G., Vincx, M., Whomersley, P., Willems, W., Wlodarska-Kowalczyk, M. & Zenetos, A. (2009) Comparison of the performances of two biotic indices based on the MacroBen database. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 382: 297-311
- Grémare, A., Marsh, A.G. & Tenore, K.R. (1989a) Secondary production and reproduction of *Capitella capitata* type I (Annelida: Polychaeta) during a population cycle. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 51: 99-105
- Grime, J.P. (1973) Competitive exclusion in Herbaceous vegetation. *Nature.* 242(5396): 344-347
- Grossi, V., Cuny, P., Caradec, S., Nerini, D., Pancost, R. & Gilbert, F. (2006) Impact of feeding by *Arenicola marina* (L.) and ageing faecal material on fatty acid distribution and bacterial community structure in marine sediments: an experimental approach. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 336(1): 54-64

- Grossman, S. & Reichardt, W. (1991) Impact of *Arenicola marina* on bacterial in intertidal sediments. Mar. Ecol. Prog. Ser. 77: 85-93
- Guieb, R.A., Jumars, P.A. & Self, R.F.L. (2004) Adhesive-based selection by a tentacle-feeding polychaete for particle size, shape and bacterial coating in silt and sand. J. Mar. Res. 62: 261-282
- Guillou, M. & Hilly, C. (1983) Dynamics and biological cycle of *Melinna palmata* (Ampharetidae) population during the recolonisation of a dredged area in the vicinity of the harbour of Brest (France). Mar. Biol. 73: 43-50
- Gulis, V. & Suberkropp, K. (2003) Leaf litter decomposition and microbial activity in nutrient-enriched and unaltered reaches of a headwater stream. Freshwater Biol. 48: 123-134
- Gutiérrez, J.L., Jones, C.G., Strayer, D.L. & Iribarne, O.O. (2003) Mollusks as ecosystem engineers: the role of shell production in aquatic habitats. Oikos. 101: 79-90
- H**annides, A.K., Dunn, S.M. & Aller, R.C. (2005) Diffusion of organic and inorganic solutes through macrofaunal mucus secretions and tube lining in marine sediments. J. Mar. Res. 63: 957-981
- Hansen, K., King, G.M. & Kristensen, E. (1996) Impact of the soft-shell clam *Mya arenaria* on sulfate reduction in an intertidal sediment. Aquat. Microb. Ecol. 10: 181-194
- Harris, J.M. (1993) The presence, nature, and role of gut microflora in aquatic invertebrates: a synthesis. Microb. Ecol. 25: 195-231
- Harrison, P.G. & Mann, K.H. (1975) Chemical changes during the seasonal cycle of growth and decay in eelgrass (*Zostera marina*) on the Atlantic coast of Canada. J. Fish. Res. Bd Can. 32: 615-621
- Hayward, P.J. & Ryland, J.S., 1990. The marine fauna of the British Isles and North-West Europe. Volume 1. Introduction and Protozoans to Arthropods. Oxford, UK, Oxford University Press, 627p.
- Hedges, J.I. & Keil, R.G. (1995) Sedimentary organic matter preservation; an assessment and speculative synthesis. Mar. Chem. 49: 81-115
- Hedges, J.I., Keil, R.G. & Benner, R. (1997) What happens to terrestrial organic matter in the ocean? Org. Geochem. 27(5/6) 195-212
- Henrichs, S.M. (1992) Early diagenesis of organic matter in marine sediments: progress and perplexity. Mar. Chem. 39: 119-149
- Hentschel, B.T. (1996) Ontogenic changes in particle size selection by deposit-feeding spionid polychaetes: the influence of palp size on particle contact. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 206: 1-24
- Hewson, I., & Fuhrman, J.A. (2006) Spatial and vertical biogeography of coral reef sediment bacterial and diazotroph communities. Mar. Ecol. Progr. Ser. 306: 79-86
- Hewson, I., Jacobson-Meyers, M.E., & Fuhrman, J.A. (2007) Diversity and biogeography of bacterial assemblages in surface sediments accross the San Pedro Basin, Southern California borderlands. Environ. Microbiol. 9: 923-933
- Hewson, I., Vargo, G.A., & Fuhrman, J.A. (2003) Bacterial diversity in shallow oligotrophic marine benthos and overlying waters: effects of virus infection, containment, and nutrient enrichment. Microb. Ecol. 46: 322-336
- Hilbig, B. (2005) *Melinnopsis angolensis* (Annelida: Polychaeta: Ampharetidae), a new species from the Angola Basin. Org. Divers. Evol. 5: 215-220

- Hill, T.C.J., Walsh, K.A., Harris, J.A. & Moffett, B.F. (2003) Using ecological diversity measures with bacterial communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* 43: 1-11
- Hily, C. (1984) Variabilité de la macrofaune benthique dans les milieux hypertrophiques de la Rade de Brest. Thèse de doctorat d'état, Université de Bretagne Occidentale, Brest. Vol.1 & 2
- Hines, M.E. & Buck, J.D. (1982) Distribution of methanogenic and sulfate-reducing bacteria in near-shore marine sediments. *Appl. Environ. Microb.* 43: 447-453
- Hollertz, K. & Duchêne, J.C. (2001) Burrowing behaviour and sediment reworking in the heart urchin *Brissopsis lyrifera* Forbes (Spatangoida). *Mar Biol* 139:951–957
- Holthe, T. (1986) Polychaeta Terebellomorpha. Marine invertebrates of scandinavia 7. Universitetsforlaget, Oslo. 194p
- Hoppe, H.G. (1981) Blue-green algae agglomeration in surface water: a microbiotope of high bacterial activity. *Kieler Meeresforsch. Sonderh.* 5: 291-303
- Hori, T., Norris, R.E. & Chihara, M. (1986) Studies on the ultrastructure and taxonomy of the genus *Tetraselmis* (Prasinophyceae)III. Subgenus *Parviselmis*. *Bot. Mag.*99: 123-135
- Horner-Devine, M.C., Silver, J.M., Leibold, M.A., Bohannon, B.J.M., Colwell, R.K., Fuhrman, J.A., Green, J.L., Kuske, C.R., Martiny, J.B.H., Muyzer, G., Ovreas, L., Reysenbach, A.L., & Smith, V.H. (2007) A comparison of taxon co-occurrence patterns for macro- and microorganisms. *Ecology* 88: 1345-1353
- Hugenholtz, P. (2002) Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. *Genome Biol.* 3: Reviews 0003.
- Hugenholtz, P., Goebel, B.M. & Pace, N.R. (1998) Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *J. Microbiol.* 180(18): 4765-4774
- Hugenholtz, P. & Tyson, G.W. (2008) Microbiology: Metagenomics. *Nature* 455:481-483
- Hutson, M.A. (1979) A general hypothesis of species diversity. *Am. Nat.* 113: 81-101
- Hylleberg, J. (1975) Selective feeding by *Abarenicola pacifica* with notes on *Abarenicola vagabunda* and a concept of gardening in lugsworms. *Ophelia* 14: 113– 137
- Jackson, C.R. & Weeks, A.Q. (2008) Influence of particle size on bacterial community structure in aquatic sediments as revealed by 16SrRNA gene sequence analysis. *Appl. Environ. Microb.* 74(6): 5237-5240
- Jami, E., Shterzer, N. & Mizrahi, I. (2014) Evaluation of Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis for Bacterial Fingerprinting of Rumen Microbiome Compared to Pyrosequencing Technology *Pathogens* 3: 109-120
- Jarrell, K.F., Walters, A.D., Bochiwal, C., Borgia, J.M., Dickinson, T. & Chong, J.P.J. (2011) Major players on the microbial stage: why archaea are important. *Microbiology* 157: 919-936
- Jones, C.G., Lawton, J.H. and Shachak, M. (1994) Organisms as ecosystem engineers. *Oikos*. 69: 373-386
- Jones, S.E. & Jago, C.F. (1993) *In situ* assessment of modification of sediment properties by burrowing invertebrates. *Mar. Biol.* 115: 133-142
- Jørgensen, B.B. (1982) Mineralization of organic matter in the sea-bed-the role of sulfate reduction. *Nature* 296: 643-645
- Jouanneau, J.M., Weber, O., Latouche, C., Vernet, J.P., & Dominik, J. (1989) Erosion, non-deposition and sedimentary processes through a sedimentological and radioisotopic study of surficial deposits from the "Ouest-Gironde vasière" (Bay of Biscay). *Cont. Shelf Res.* 9: 325-342

- Jumars, P.A. (1993) Gourmands of mud: diet selection in marine deposit feeders. In: Hughes RN (ed) Diet selection: an interdisciplinary approach to foraging behaviour. Blackwell scientific publications, Oxford, pp 124–156
- Jumars, P.A., Self, R.F.L. & Nowell, A.R.M. (1982) Mechanics of particle selection by tentaculate deposit-feeders. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 64: 47-70
- Jumars, P.A. & Wheatcroft, R.A. (1989) Responses of benthos to changing food quality and quantity, with a focus on deposit feeding and bioturbation. Life Sci. Res. Pap. 44: 235-253
- Kark, S., Allnutt, T.F., Levin, N., Manne, L.L. & Williams, P.H. (2007) The role of the transitional areas avian biodiversity centres. Global. Ecol. Biogeogr. 16: 187-196
- Karlson, K. (2007) Diurnal bioturbating activities of *Monoporeia affinis*: effects on benthic oxygen and nutrient fluxes. Mar. Ecol. Prog. Ser. 331: 195-205.
- Kemp, P.F. (1987) Potential impact on bacteria of grazing by a macrofaunal deposit-feeder, and the fate of bacterial production. Mar. Ecol. Prog. Ser. 36: 151-161
- Khailov, K.M. & Burlakova, Z.P. (1969) Release of dissolved organic production to inshore communities. Limnol. Oceanogr. 14: 521-527
- Kihlsinger, R.L. & Woodin S.A. (2000) Food patches and a surface deposit feeding spionid polychaete. Mar Ecol. Prog. Ser. 201:233–239
- Kinoshita, K., Wada, M., Kogure, K. & Furota, T. (2003) Microbial activity and accumulation of organic matter in the burrow of the mud shrimp, *Upogebia major* (Crustacea: Thalassinidea). Mar. Biol. 153:277-283
- Kitting, C.L., Fry, B. & Morgan, M.D. (1984) Detection of inconspicuous epiphytic algae supporting food webs in seagrass meadows. Oecologia 62: 145-149
- Klappenbach, J.A., Dunbar, J.M. & Schmidt, T.M. (2000) rRNA operon copy number reflects ecological strategies of bacteria. Appl. Environ. Microb. 66(4): 1328-1333
- Knowlton, N. & Rohwer, F. (2003) Multispecies microbial mutualisms on coral reefs: the host as a habitat. Am. Nat. 162 (4): 51-62
- Kristensen, E. (2001) Impact of polychaetes (*Nereis* and *Arenicola*) on sediment biogeochemistry in coastal areas: past, present and future developments. Abstr. Papa. Am. Chem. S. 221: U538
- Kristensen, E., Ahmed, S.I. & Devol, A.H. (1995) Aerobic and anaerobic decomposition of organic matter in marine sediment: which is fastest. Limnol. Oceanogr. 40: 1430-1437
- Kristensen, E. & Holmer, M., (2001). Decomposition of plant materials in marine sediment exposed to different electron acceptors (O₂, NO₃²⁻, and SO₄²⁻), with emphasis on substrate origin, degradation kinetics, and the role of bioturbation. Geochim. Cosmochim. Acta. 65, 419–433
- Kristensen, E. & Kostka, J.E. (2005) Macrofaunal burrows and irrigation in marine sediment: microbiological and biogeochemical interactions. In Interactions between macro- and microorganisms in marine sediments, Kristensen, E., Haese, R.R., and Kostka, J.E. (eds), Coastal and Estuarine Studies 60. American Geophysical Union, Washington DC. pp. 125-157
- Kristensen, E., Penha-Lopes, G., Delefosse, M., Valdemarsen, T., Quintana, C.O. & Banta G.T. (2012) What is bioturbation? The need for a precise definition for fauna in aquatic sciences. Mar. Ecol. Prog. Ser. 446: 285-302

- Kröncke, I., Vanreusel, A., Vincx, M., Wollenburg, J., Mackensen, A., Liebezeit, G., & Behrends, B. (2000) Different benthic size-compartments and their relationship to sediment chemistry in the deep Eurasian Arctic Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 199: 31-41
- Krüger, F. (1996) Messungen der Pumptätigkeit von *Arenicola marina* L. im Watt. *Helgoländer wiss. Meeresunters* 11: 70-90
- La Rivière, M. (2013) Les communautés bactériennes d'un holobionte méditerranéen, la gorgone rouge *Paramuricea clavata* : diversité, stabilité et spécificité. Thèse de doctorat. Université Aix-Marseille
- Last, K.S., Bailhache, T., Kramer, C., Kyriacou, C.P., Rosato, E. & Olive, P.J.W. (2009) Tidal, daily, and lunar-day activity cycles in the marine Polychaete *Nereis virens*. *Chronobiol. Int.* 26:167–183
- Laverock, B., Kitidis, V., Tait, K., Gilbert, J.A., Osborn, A.M. & Widdicombe, S. (2013) Bioturbation determines the response of benthic ammonia-oxidizing microorganisms to ocean acidification. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 368: 20120441
- Laverock, B., Smith, C.J., Tait, K., Osborn, A.M., Widdicombe, S., & Gilbert, J.A. (2010) Bioturbating shrimp alter the structure and diversity of bacterial communities in coastal marine sediments. *ISME J.* 4: 1531-1544
- Laverock, B., Tait, K., Gilbert, J.A., Osborn, A.M. & Widdicombe, S. (2014) Impacts of bioturbation on temporal variation in bacterial and archaeal nitrogen-cycling gene abundance in coastal sediments. *Environ. Microb. Rep.* 6(1): 113-121
- Le Loc'h, F., Hily, C., & Grall, J. (2008) Benthic community and food web structure on the continental shelf of the Bay of Biscay (North Eastern Atlantic) revealed by stable isotopes analysis. *J. Mar. Syst.* 72: 17-34
- Lebaron, P., Servais, P., Baudoux, A.C., Bourrain, M., Courties, C., & Parthuisot, N. (2002) Variations of bacterial-specific activity with cell size and nucleic acid content assessed by flow cytometry. *Aquat. Microb. Ecol.* 28: 131-140
- Lebreton, B., Richard P., Galois R., Radenac G., Pfléger C., Guillou G., Mornet F. & Blanchard G.F. (2011) Trophic importance of diatoms in an intertidal *Zostera noltii* seagrass bed: Evidence from stable isotope and fatty acid analyses. *Estuar. Coastal Shelf Sci.* 92:140-153
- Lee, C. & Wakeham, S.G. (1988) Organic matter in seawater. In: *Chemical Oceanography*, vol. 9 (Ed.) J.P. Riley. Pp. 1-51. Academic Press
- Lema, K.A., Willis, B.L. & Bourne, D.G. (2012) Corals form characteristic associations with symbiotic nitrogen-fixing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 78(9): 3136-3144
- Lemarchand, K., Parthuisot, N., Catala, P. & Lebaron, P. (2001) Comparative assessment of epifluorescence microscopy, flow cytometry and solid-phase cytometry used in the enumeration of specific bacteria in water. *Aquat. Microb. Ecol.* 25: 301-309
- Lesueur, P., Tastet, J.P., & Weber, O. (2002) Origin and morphosedimentary evolution of fine-grained modern continental shelf deposits: the Gironde mud fields (Bay of Biscay, France). *Sedimentology* 49: 1299-1320
- Lesueur, P., Weber, O., Marambat, L., Tastet, J.P., Jouanneau J.M., & Turon, J.L. (1989) Datation d'une vasière de plate-forme atlantique au débouché d'un estuaire: la vasière à l'Ouest de la Gironde (France) est d'âge historique (VI^e siècle à nos jours). *C.R. Acad Sci. Paris II* 308: 935-940
- Lincoln, R., Boxshall, G. & Clark, P. (1998) A dictionary of ecology, evolution and systematics. Cambridge university press (Ed.). p361

- Lindqvist, S., Gilbert, F., Eriksson, S.P. & Hulth, S. (2013) Activities by *Hediste diversicolor* under different light regimes: experimental quantification of particle reworking using time-resolved imaging. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 448: 240-249
- Little, C. & Nix, W. (1976) The burrowing and floating behaviour of the gastropod *Hydrobia ulvae* *Estuar. Coast. Mar. Sci.* 4: 537-544
- Llobet-Brossa, E., Rossello-Mora, R. & Amann, R. (1998) Microbial community composition of Wadden sea sediments as revealed by fluorescent in situ hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 2691-2696
- Lloyd, K.G., Schreiber, L., Petersen, D.G., Kjeldsen, K.U., Lever, M.A., Steen, A.D., Stepanauskas, R., Richter, M., Kleindienst, S., Lenk, S., Schramm, A. & Jørgensen, B.B. (2013) Predominant archaea in marine sediments degrade detrital proteins. *Nature* 496: 215-218
- Lohrer, A.M., Trush, S.F., Hunt, L., Hancock, N. & Lundquist, C. (2005) Rapid reworking of subtidal sediments by burrowing spatangoid urchins. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 321: 155-169
- Lomstein, B.A., Langerhuus, A.T., D'Hondt, S., Jørgensen, B.B. & Spivack, A.J. (2012) Endospore abundance, microbial growth and necromass turnover in deep sub-seafloor sediment. *Nature*. 484: 101-104
- Longère, P., & Dorel, D. (1970) Etude des sédiments meubles de la vasière de la Gironde et des régions avoisinantes. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.* 34: 233-256
- López, G.R. & Levinton, J.S., 1987. Ecology of deposit-feeding animals in marine sediments. *Q. Rev. Biol.* 62: 235-260
- Lopez-Gutierrez J.C., Henry S., Hallet S., Martin-Laurent F., Catroux G. & Philippot L. (2004) Quantification of a novel group of nitrate-reducing bacteria in the environment by real-time PCR. *J. Microbiol. Meth.* 57: 399-407.
- Lucas, F.S., Bertru, G. & Hölfe, M.G. (2003) Characterization of free-living bacteria in sediments colonized by *Hediste diversicolor*. *Aquat. Microb. Ecol.* 32: 165-174
- Luedke, N. & Bender, M. (1979) Radio tracer studies of metal behavior at the sediment-water interface of Narragansett bay. *Estuar. Coast. Mar. Res.* 9:643-651
- Luna, G.M., Manini, E. & Danovaro, R. (2002) Large fraction of dead and inactive bacteria in coastal marine sediments: comparison of protocols for determination and ecological significance. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(7): 3509-3513
- Luna, G.M., Stumm, K., Pusceddu, A. & Danovaro, R. (2009) Archaeal diversity in deep-sea sediments estimated by means of different terminalrestriction fragment length polymorphisms (TRFLP) protocols. *Curr. Microbiol.* 59:356-361
- Lyautey, E., Teissier, S., Charcosset, J.Y., Rols, J.L. & Garabétian, F. (2003) Bacterial diversity of epilithic biofilm assemblages of an anthropised river section, assessed by DGGE analysis of a 16S rDNA fragment. *Aquat. Microbiol. Ecol.* 33: 217-224

MacArthur, R. & Wilson, E.O. (1967) The theory of Island biogeography, Princeton University press.

- Magurran, A.E. (2004) Measuring biological diversity. Blackwell publishing, Carleton. 256p.
- Mahaut, M.L. & Graf, G. (1987) A luminophore tracer technique for bioturbation studies. *Oceanol. Acta* 10:323-328
- Mahon, H.K. & Dauer, D.M. (2005) Organic coatings and ontogenetic particle selection in *Streblospio benedictii* Webster (Spionidae: Polychaeta). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 323: 84-923
-

- Maire, O., Duchêne, J.C., Amouroux, J.M. & Grémare, A. (2007a) Activity patterns in the terebellid polychaete *Eupolymnia nebulosa* assessed using a new image analysis system. *Mar. Biol.* 151: 737-749
- Maire, O., Duchêne, J.C., Bigot, L. & Grémare, A. (2007b) Linking feeding activity and sediment reworking in the deposit-feeding bivalve *Abra ovata* with image analysis, laser telemetry and luminophore tracers. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 351: 139-150
- Maire O., Duchêne J.C., Rosenberg R., Braga de Mendonça J. Jr. & Grémare A., (2006) Effects of food availability on sediment reworking in *Abra ovata* and *Abra nitida*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 319:135–153
- Maire, O., Lecroart, P., Meysman, F., Rosenberg, R., Duchene, J.C. & Gremare, A. (2008) Quantification of sediment reworking rates in bioturbation research: a review. *Aquat. Biol.* 2: 219-238
- Maniatis, T., Fritsch, E.F. & Sambrook, J. (1982) *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. p46
- Margulies, E.H., Vinson, J.P., Miller, W., Jaffe, D.B., Lindblad-Toh, K., Chang, J.L., Green, E.D., Lander, E.S., Mullikin, J.C., *et al.* (2005). An initial strategy for the systematic identification of functional elements in the human genome by low-redundancy comparative sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102: 4795-4800
- Margulis, L. 1993. *Symbiosis in cell evolution* (2 ed.). W. H. Freeman & Co., New York.
- Marinelli, R.L., Lovell, C.R., Wakeham, S.G., Ringelberg, D.B., & White, D.C. (2002) Experimental investigation of the control of bacterial community composition in macrofaunal burrows. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 235: 1-13
- Martin, J.H., Kanuer, G.A., Karl, D.M. & Broenkow, W.W. (1987) VERTEX: Carbon cycling in the northeast pacific. *Deep Sea Res.* 34: 267-285
- Martin, W.R. & Banta, G.T. (1992) The measurements of sediment irrigation rates: a comparison of the Br- tracer and ²²²Rn/²²⁶Ra disequilibrium techniques. *J. Mar. Res.* 50: 125-154
- Massé, C. (2010) Comparaison de l'activité de bioirrigation de la faune benthique entre les zones d'herbiers et les zones de sédiments nus dans le bassin d'Arcachon. Mémoire de Master II. pp25
- Mat, A.M., Massabuau, J.C., Ciret, P. & Tran, D. (2012) Evidence for a plastic dual circadian rhythm in the oyster *Crassostrea gigas*. *Chronobiol. Int.* 29(7): 857-867
- Mateo, M.A., Cebrián J., Dunton K. & Mutchler T. (2006) Carbon flux in seagrass ecosystems. In: Larkum AWD, Oth RJ, Duarte CM (Eds.) *Seagrasses: biology, ecology and conservation*. Springer, Dordrecht, 159-192
- Mateo, M.A. & Romero, J. (1996) Evaluating seagrass leaf litter decomposition: an experimental comparison between litter-bag and oxygen uptake methods. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 202: 97-106
- Mathieson, A.C. & Hehre, E.J. (1986) A synopsis of New Hampshire seaweeds. *Rhodora* 88(853): 1-139
- Matias, M.G., Coleman, R.A., Hochuli, D.F. & Underwood, A.J. (2013) Macrofaunal responses to edges are independent of habitat heterogeneity in experimental landscapes. *PLoS ONE* 8(4)
- Matsui, G.Y., Ringelberg, D.B. & Lovell, C.R. (2004) Sulfate-reducing bacteria in tubes constructed by the marine infaunal polychaete *Diopatra cuprea*. *Appl. Environ. Microb.* 70(12): 7053-7065

- Mayer, L.M. (1989) The Nature and Determination of Non-Living Sedimentary Organic Matter as a Food Source for Deposit Feeders. Ecology of Marine Deposit Feeders. G. Lopez, G. Taghon & J. Levinton, Springer New York. 31: 98-113.
- Mayer, L.M., Jumars, P.A., Taghon, G.L., Macko, S.A. & Trumbore, S. (1993) Low-density particles as potential nitrogenous foods for benthos. J. Mar. Res. 51:373-389
- Mayr, E. (1963) Animal species and evolution. Cambridge, MA: Harvard University Press
- McCordle, B.H., & Anderson, M.J. (2001) Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. Ecology 82(1): 290-297
- Meile, C. & Van Cappellen, P. (2003) Global estimates of enhanced solute transport in marine sediments. Limnol. Oceanogr. 48: 777-786
- Meisterhans, G. (2012) Dynamique de la structure génétique des communautés procaryotes en zone benthique côtière : caractérisation de la microflore des sédiments et des bivalves fouisseurs par empreintes moléculaires. Thèse de doctorat, University of Bordeaux I
- Mermillod-Blondin, F., François-Carcaillet, F. & Rosenberg, R. (2005) Biodiversity of benthic invertebrates and organic matter processing in shallow marine sediments: an experimental study. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 315: 187-209
- Mermillod-Blondin, F. & Rosenberg, R. (2006) Ecosystem engineering: the impact of bioturbation on biogeochemical processes in marine and freshwater benthic habitats. Aquat. Sci. 68: 434-442
- Mermillod-Blondin, F., Rosenberg, R., François-Carcaillet, F., Norling, K. & Mauclaire, L. (2004) Influence of bioturbation by three benthic infaunal species on microbial communities and biogeochemical processes in marine sediment. Aquat. Microb. Ecol. 36: 271-284
- Meysman, F.J.R., Boudreau, B.P. & Middelburg, J.J. (2003) Relations between local, nonlocal, discrete and continuous models of bioturbation. J. Mar. Res. 61: 391-410
- Meysman, F.J.R., Galaktionov, O.S., Cook, P.L.M., Janssen, F., Huettel, M. & Middelburg, J.J. (2007) Quantifying biologically and physically induced flow and tracer dynamics in permeable sediments. Biogeosciences 4: 627-646
- Meysman, F.J.R., Middelburg, J.J. & Heip, C.H.R. (2006) Bioturbation: a fresh look at Darwin's last idea. Trends Ecol. Evol. 21(12): 688-695
- Michaud, E., Desrosiers, G., Aller, R.C., Mermillod-Blondin, F., Sundby, B. & Stora, G. (2009) Spatial interactions in the *Macoma balthica* community control biogeochemical fluxes at the sediment-water interface and microbial abundances. J. Mar. Res. 67: 43-70
- Michaud, E., Desrosiers, G., Mermillod-Blondin, F., Sundby, B. & Stora, G., (2006) The functional group approach to bioturbation II: the effects of *Macoma balthica* community on fluxes of nutrients and dissolved organic carbon across the sediment-water interface. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 337: 178-189
- Middelburg, J.J. & Levin, L.A. (2009) Coastal hypoxia and sediment biogeochemistry. Biogeosciences 6: 1273-1293
- Middelburg, J.J., Vlug, T. & Van der Nat, F. (1993) Organic matter mineralization in marine systems, Global Planet. Change 8: 47-58
- Miron, G., Desrosiers, G., Retière, C. & Lambert, R. (1991) Dispersion and prospecting behaviour of the polychaete *Nereis virens* (Sars) as a function of density. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 145: 65-77
- Montaini, E., Chini Zittelli, G., Tredici, M.R., Molina Grima, E., Fernández Sevilla, J.M. & Sánchez Pérez, J.A. (1995) Long-term preservation of *Tetraselmis suecica* influence of storage on viability and fatty acid profile. Aquaculture 134: 81-90

- Mostajir, B., Amblard, C., Buffan-Dubau, E., de Wit, R., Lensi, R. & Sime-Ngando, T (2011) Les réseaux trophiques microbiens des milieux aquatiques et terrestres. Dans: Ecologie microbienne, microbiologie des milieux naturels et anthropisés. Editions Presse universitaire de Pau. p 1004
- Mouchka, M.E., Hewson, I. & Harvell, C.D. (2010) Coral-associated bacterial assemblages : current knowledge and the potential for climate-driven impacts. *Integr. Comp. Biol.* 50(4): 662-674
- Muller-Karger, F.E., Varel, R., Thunell, R., Luerssen R., Hu, C. & Walsh, J.J. (2005) The importance of continental margins in the global carbon cycle. *Geophys. Res. Lett.* 32: 1-4
- Murray, F., Widdicombe, S., McNeill, C.L. & Solan, M. (2013) Consequences of a simulated rapid ocean acidification event for benthic ecosystem processes and functions. *Mar. Pollut. Bull.* 73: 435-442
- N**a, T., Gribsholt, B., Galaktionov, O.S., Lee, T. & Meysman, F.J.R. (2008) Influence of advective bio-irrigation on carbon and nitrogen cycling in sandy sediments. *J. Mar. Res.* 66: 691-722
- Naylor, E. (2010) Chronobiology of marine organisms. Cambridge University Press. pp242
- Nealson, K.H. & Myers, C.R. (1992) Microbial reduction of manganese and iron: new approaches to carbon cycling. *Appl. Environm. Microb.* 58(2): 439-443
- Nemergut, D.R., Schmidt, S.K., Fukami, T., O'Neill, S.P., Bilinski, T.M., Stanish, L.F., Knelman, J.E., Darcy, J.L., Lynch, R.C., Wickey, P., & Ferrenberg, S. (2013) Patterns and processes of microbial community assembly. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 77: 342-356
- Neveux, J., & Lantoiné, F. (1993) Spectrofluorometric assay of chlorophylls and phaeopigments using the least squares approximation technique. *Deep Sea Res. I* 40: 1747-1765
- Newell, R.C. (1965) The role of detritus in the nutrition of two marine deposit feeders, the prosobranch *Hydrobia ulvae* and the bivalve *Macoma balthica*. *Proc. Zool. Soc. London* 144: 25-45
- Newell, S.Y. (1981) Fungi and bacteria in and on leaves of eelgrass (*Zostera marina*) from Cheapeake Bay. *Appl. Environm. Microb.* 41: 1219-1224
- Nogaro, G., Charles, F., Braga de Mendoça, J., Mermillod-Blondin, F., Stora, G. & François-Carcaillet, F. (2008) Food supply impacts sediment reworking by *Nereis diversicolor*. *Hydrobiologia* 598: 403-408
- Norling, K., Rosenberg, R., Hulth, S., Grémare, A. & Bonsdorff, E. (2007) Importance of functional biodiversity and species specific traits of benthic fauna for ecosystem functions in marine sediment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 332: 11-23
- Normand, P., Ponsonnet, C., Nesme, X., Neyra, M., & Simonet, P. (1996) ITS analysis of prokaryotes. In *Molecular Microbial Ecology Manual*. Section 3.4.5, pp1-12. Edited by Akkermans, A.D.L., van Elsas, J.D., and De Bruijn, F.J. Dordrecht: Kluwer.
- Nübel, U., Garcia-Pichel, F., Kuhl, M., & Muyzer, G. (1999) Quantifying microbial diversity: Morphotypes, 16S rRNA genes, and carotenoids of oxygenic phototrophs in microbial mats. *Appl. Environ. Microb.* 65: 422-430
- Nugteren Van, P., Herman P.M.J., Moodley L., Middelburg J.J., Vos M. & Heip C.H.R. (2009a) Spatial distribution of detrital resources determines the outcome of competition between bacteria and a facultative detritivorous worm. *Limnology and Oceanography*, 54, 1413–1419.

Nugteren, Van, P., Moodley, L. Brummer, G.J., Heip, C.H.R., Herman, P.M.J. & Middelburg, J.J. (2009b) Seafloor ecosystem functioning: the importance of organic matter priming. *Mar. Biol.* 156:2277-2287

Nunan, N., Daniell, T.J., Signh, B.K., Papert, A., McNicol, J. & Prosser, J.I. (2005) Links between plant and rhizoplane bacterial communities in Grassland soils, characterized using molecular techniques. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(11): 6784-6792

Odum, E.P. (1953) *Fundamentals of ecology*. W.B. Saunders company, Philadelphia

Olafsson, E. (2003) Do macrofauna structure meiofauna assemblages in marine soft-bottoms? A review of experimental studies. *Vie Milieu* 53(4): 249-265

Olafsson, E., Moore, C.G. & Bett, B.J. (1990) The impact of *Melinna palmata* Grube, a tube-building polychaete, on meiofaunal community structure in a soft-bottom subtidal habitat. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 31: 883-893

Orvain, F. & Sauriau, P.G. (2002) Environmental and behavioural factors affecting activity in the intertidal gastropod *Hydrobia ulvae*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 272: 191-216

Orvain, F., Sauriau, P.G., Sygut, A., Joassard, L. & Le Hir, P., (2004) Interacting effects of *Hydrobia ulvae* bioturbation and microphytobenthos on the erodability of mudflat sediment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 278, 205–223.

Osborne, C.A., Rees, G.N., Bernstein, Y., & Janssen, P.H. (2006) New threshold and confidence estimates for terminal restriction length polymorphism analysis of complex bacterial communities. *Appl. Environ. Microb.* 72(2): 1270-1278

Ouellette, D., Desrosiers, G., Gagne, J.P., Gilbert, F., Poggiale, J.C., Blier, P.U. & Stora, G. (2004) Effects of temperature on in vitro sediment reworking processes by a gallery biodiffusor, the polychaete *Neanthes virens*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 266: 185-193

Oyenekan, J.A. (1988) Population dynamics and secondary production in *Melinna palmata* (Polychaeta: Ampharetidae). *Mar. Biol.* 98: 247-251

Pace, N.R. (1997) A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science.* 276: 734-740

Papageorgiou, N., Moreno, M., Marin, V., Baiardo, S., Arvanitidis, C., Fabiano, M., & Eleftheriou, A. (2007) Interrelationships of bacteria, meiofauna and macrofauna in a Mediterranean sedimentary beach (Maremma Park, NW Italy). *Helgol. Mar. Res.* 61: 31-42

Papaspyrou, S., Gregersen, T., Cox, R.P., Thessalou-Legaki, M. & Kristensen, E. (2005) Sediment properties and bacterial community in burrows of the ghost shrimp *Pestarella tyrrhena* (Decapoda: Thalassinidea). *Aquat. Microb. Ecol.* 38: 181-190

Papaspyrou, S., Gregersen, T., Kristensen, E., Christensen, B. & Cox, R.P. (2006) Microbial reaction rates and bacterial communities in sediment surrounding burrows of two nereidid polychaetes (*Nereis diversicolor* and *N. virens*). *Mar. Biol.* 148: 541-550

Parra M., Castaing, P., Jouanneau, J.M., Grousset, F., & Latouche, C. (1999) Nd-Sr isotopic composition of present-day sediments from the Gironde Estuary, its draining basins and the West Gironde mud patch (SW France). *Cont. Shelf Res.* 19: 135-150

Pearson, T.H., & Rosenberg, R. (1978) Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 16: 229-311

Peduzzi, P. & Herndl, G.J. (1991) Decomposition and significance of seagrass leaf litter (*Cymodocea nodosa*) for the microbial food web in coastal waters (Gulf of Trieste, Northern Adriatic Sea). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 71: 163-174

- Pelegri, J.L., Aristegui, J., González-Dávila, M., Hernández-Guerra, Hernández-León, S., Marrero-Díaz, A., Montero, M.F., Sangrà, P & Santana-Casiano, M. (2005) Coupling between the open ocean and the coastal upwelling region off northwest Africa: water recirculation and offshore pumping of organic matter. *J. Mar. syst.* 54: 3-37
- Pelegri, S.P. & Blackburn, T.H. (1995) Effects of *Tubifex tubifex* (Oligochaeta: Tubificidae) on N-mineralization in freshwater sediments, measured with ¹⁵N isotopes. *Aquat. Microb. Ecol.* 9: 289-294
- Pellikaan, G.C. (1984) Laboratory experiments on eelgrass (*Zostera marina* L.) decomposition. *J. Sea Res.* 18: 360-383
- Penniford, M. & Davis, J. (2001) Macrofauna and nutrient cycling in the Swan River Estuary, Western Australia: experimental results. *Hydrol. Process.* 15: 2537-2553
- Pischedda, L., Militon, C., Gilbert, F. & Cuny, P. (2011) Characterization of specificity of bacterial community structure within the burrow environment of the marine polychaete *Hediste (Nereis) diversicolor*. *Res. Microbiol.* 162: 1033-1042
- Pischedda, L., Poggiale, J.C., Cuny, P. & Gilbert, F. (2008) Imaging oxygen distribution in marine sediments. The importance of bioturbation and sediment heterogeneity. *Acta Biotheor.* 56: 123-135
- Plante, C.J. (2000) Role of bacterial exopolymeric capsules in protection from deposit-feeder digestion. *Aquat. Microb. Ecol.* 21: 211-219
- Plante, C.J., Jumars, P.A. & Baross, J.A. (1989) Rapid bacterial growth in the hindgut of a marine deposit feeder. *Microb. Ecol.* 18: 44-29
- Plante, C. J. & Mayer, L. M. (1994) Distribution and efficiency of bacteriolysis in the gut of *Arenicola marina* and three additional deposit feeders. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 109: 183–194.
- Plante, C.J. & Shriver, A.G. (1998) Patterns of differential digestion of bacteria in deposit feeders: a test of resource partitioning. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 163: 253-258
- Polymenakou, P.N., Bertilsson, S., Tselepidis, A., & Stephanou, E.G. (2005) Links between geographic location, environmental factors, and microbial community composition in sediments of the eastern Mediterranean Sea. *Microb. Ecol.* 49: 367-378
- Ponis, E., Parisi, G. & Robert, R. (2002) Valeur alimentaire de *Tetraselmis striata* et *T. chui* pour les larves de *Crassostrea gigas*. *Haliotis* 31: 57-62
- Price, P.B. & Sowers, (2004) Temperature dependence of metabolic rates for microbial growth, maintenance, and survival. *PNAS* 101(13): 4631-4636
- Queirós, A.M., Birchenough, S.N.R., Bremner, J., Godbold, J.A., Parker, R.E., Romero-Ramirez, A., Reiss, H., Solan, M., Somerfield, P.J., Van Colen, C., Van Hoey, G. & Widdicombe, S. (2013). A bioturbation classification of European marine infaunal invertebrates. *Ecol. Evol.* 3: 3958-3985
- Quintana, C.O., Tang, M. & Kristensen, E. (2007) Simultaneous study of particle reworking, irrigation transport and reaction rates in sediment bioturbated by the polychaetes *Heteromastus* and *Marenzelleria*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 352: 392–406
- Rabouille, C., Mackenzie, F.T. & May Ver, L. (2001) Influence of the human perturbation on carbon, nitrogen, and oxygen biogeochemical cycles in the global coastal ocean. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 65(21): 3615-3641
- Radajewski, S., McDonald, I.R. & Murrell, C. (2003) Stable-isotope probing of nucleic acids: a window to the function of uncultured microorganisms. *Curr. Opin. Biotech.* 14: 296-302

- Ramade, F. (2002) Dictionnaire encyclopédique de l'Ecologie et des Sciences de l'environnement. Paris, Dunod, pp1075.
- Ramette, A. (2009) Quantitative community fingerprinting methods for estimating the abundance of operational taxonomic units in natural microbial communities. *Appl. Environ. Microb.* 75: 2495-2505
- Ranjard, L., Poly, F., Combrisson, J., Richaume, A., Goubiere, F. Thioulouse, J., & Nazaret, S. (2000) Heterogeneous cell density and genetic structure of bacterial pools associated with various soil microenvironments as determined by enumeration and DNA fingerprinting approach (RISA). *Microb. Ecol.* 39: 263-272
- Redfield, A.C., Ketchum, B.H. & Richard, F.A. (1963) The influence of organisms on the decomposition of seawater. In: M.N. Hill (Ed.) *The sea*. Wiley-Interscience, New-York, pp26-77
- Reichardt, W. (1988) Impact of bioturbation by *Arenicola marina* on microbiological parameters in intertidal sediments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 44: 149-158
- Reichardt, W. (1989) Microbiological aspects of bioturbation. *Sci. Mar.* 53: 301-306
- Reichardt, W., Piker, L., Von Juterzenka, K., Heise, S., Grossman, S. & Bussman, I. (1991) Burrowing macrozoobenthos as major determinant of bacteria in sediments. *Kieler Meeresforsch.* 8: 86-91
- Relexans, J.C., Lin, R.G., Castel, J., Etcheber, H., & Laborde, P. (1992) Response of biota to sedimentary organic matter quality of the West Gironde mud patch, Bay of Biscay (France). *Oceanol. Acta.* 15: 639-649
- Reshef, L., Koren, O., Loya, Y., Zilber-Rosenberg, I. & Rosenberg E (2006) The coral probiotic hypothesis. *Environ. Microbiol.* 8:2068-2073
- Revsbech, N.P. (1989) An oxygen microsensor with a guard cathode. *Limnol. Oceanogr.* 34(2): 474-478
- Reysenbach, A.L., Giver, L.J., Wickman, G.S. & Pace, N.R. (1992) Differential amplification of rRNA genes by polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microb.* 58: 3417-3418
- Rhoads, D.C. (1963) Rates of sediment reworking by *Yoldia limatula* in Buzzards Bay, Massachusetts, and Long Island Sound. *J. Sediment Petrol.* 33:723-727
- Rhoads, D.C. (1967) Biogenic reworking of intertidal and subtidal sediments in Barnstable Harbor and Buzzards Bay, Massachusetts. *J. Geol.* 75:461-476
- Rhoads, D.C. (1974) Organism-sediment relations on the muddy sea floor. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 12: 263-300
- Rhoads, D.C. & Boyer, L.F. (1982) The effects of marine benthos on physical properties of sediments: a successional perspective. In: McCall, P.L., Tevesz, M.J.S. (ed.), *Animal-sediment relations*. Plenum, Press, New-York, 3-343
- Rhoads, D.C., & Germano, J.D. (1986) Interpreting long-term changes in benthic community structure: a new protocol. *Hydrobiologia* 142: 291-308
- Rhoads, D.C. & Young, K.Y. (1970) The influence of deposit-feeding organisms on sediment stability and community trophic structure. *J. Mar. Res.* 28(2): 150-178
- Rice, D.L. & Tenore, K.R. (1981) Dynamics of carbon and nitrogen during the decomposition of detritus derived from estuarine macrophytes. *Estuar. Coast. Mar. Sci.* 13: 681-690
- Richter, R. (1952) Fluidal texture in sediment-Gesteinen und über Sedifluktion überhaupt. *Notizbl Hess Landesamtes Bodenforsh Wiesb.* 6: 67-81
- Riisgård, H.U. (1991) Suspension feeding in the Polychaete *Nereis diversicolor*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 70: 29-37
-

- Riisgård, H.U. & Larsen, P.S. (2005) Water pumping and analysis of flow in burrowing zoobenthos: an overview. *Aquat. Ecol.* 39: 237-258
- Risser, P.G. (1995) The status of the science examining ecotones. *Bioscience* 45: 318-325
- Robbins, J.A., McCall, O.L., Fisher, J.B. & Krezoski, J.R. (1979) Effect of deposit feeders on migration of Cs-137 in lake sediments. *Earth Planet. Sci. Lett.* 42, 277-287
- Robert, R., Parisi, G., Pastorelli, R., Poli, B.M. & Tredici, M. (2002) The food quality of *Tetraselmis suecica* slurry for *Crassostrea gigas* spat. *Haliotis* 31: 53-56
- Rohwer, F., Seguritan, V., Azam, F. & Knowlton, N. (2002) Diversity and distribution of coral-associated bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 243: 1-10
- Romankevich, E.A. (1984) *Geochemistry of organic matter in the ocean*. Springer-Verlag, New-York, 334p
- Rosselló-Mora, R. & Amann, R. (2001) The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiol. Rev.* 25: 39-67
- Rouse, G. & Pleijel, F. (2001) *Polychaetes*. Oxford University Press, Oxford. 354p
- Rowden, A.A., Jago, C.F. & Jones, S.E. (1998) Influence of benthic macrofauna on the geotechnical and geophysical properties of surficial sediment, North Sea. *Cont. Shelf Res.* 18: 1347–1363
- Ruess, L. & Ferris, H. (2004) Decomposition pathways and successional changes. *Nematol. Progr. Persp.* 2: 547-556
- Ruttenberg, B.I. & Granek, E.F. (2011) Bridging the marine-terrestrial disconnect to improve marine coastal zone science and management. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 434: 203-212
- Sandnes, J., Forbes, T., Hansen, R., Sandnes, B. & Rygg, B. (2000) Bioturbation and irrigation in natural sediments, described by animal-community parameters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 197:169–179
- Sanger, F., Nicklen, S. & Chase, A.R. (1977) DNA sequencing with chain terminating inhibitors. *Proc. Nat. Acc. Sci. USA.* 74: 5463-5468.
- Schäfer, W. (1952) Biogene Sedimentation im Gefolge von Bioturbation. *Senckenbergiana* 33: 1-12
- Schauer, M., Massana, R., & Pedrós-Alió, C. (2000) Spatial differences in bacterioplankton composition along the Catalan coast (NW Mediterranean) assessed by molecular fingerprinting. *FEMS Microb. Ecol.* 33: 51-59
- Schrader, C., Schielke, A., Ellebroek, L. & Johne, R. (2012) PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. *J. Appl. Microb.* 113: 1014-1026
- Self, R.F.L. & Jumars, P.A. (1978) New resources axes for deposit feeders ? *J. Mar. Res.* 36: 627-641
- Semprucci, F., Boi, P., Manti, A., Covazzi Harriague, A., Rocchi, M., Colantoni, P., Papa, S., Balsamo, M. (2010) Benthic communities along a littoral of the Central Adriatic Sea (Italy). *Helgol. Mar. Res.* 64:101-115
- Shah, V.C. (1983) Evolution of chloroplast genome. *Proc. Indian. Natu. Sci. Acad.* 49(6): 636-646.
- Shannon, C.E. (1948) A mathematical theory of communication. *The bell system technical journal* 27: 379-423
- Shapleigh, J. P. (2006) The denitrifying prokaryotes. In: *The prokaryotes*. Springer New York. pp 769-792
- Shull, D.H. & Yasuda, M. (2001) Size-selective downward particle transport by cirratulid polychaetes. *J. Mar. Res.* 59: 453–473

- Siebert, T. & Branch, G.M. (2006) Ecosystem engineers: interactions between eelgrass *Zostera capensis* and the sandprawn *Callinassa kraussi* and their indirect effects on the mudprawn *Upogebia africana*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 338: 253-270
- Simpson, E.H. (1949) Measurement of diversity. Nature 163: 688
- Sinsabaugh, R. L., & Linkins, A.E. (1990) Enzymatic and chemical analysis of particulate organic matter from a boreal river. Freshwater Biol. 23:301–309.
- Smalla, K., Wieland, G., Buchner, A., Zock, A., Parzy, J., Kaiser, S., Roskot, N., Heuer, H. & Berg, G. (2001) Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. Appl. Environ. Microbiol. 67(10): 4742-4751
- Smith, C.J. & Osborn, M. (2009) Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. FEMS Microbiol. Ecol. 67: 6-20
- Smith, J.N., Boudreau, B.P. & Noshkin, V. (1986) Plutonium and 210Pb distributions in Northeast Atlantic sediments subsurface anomalies caused by non-local mixing. Earth Planet Sci. Lett. 28(1): 15-28
- Smith, S.V. & Hollibaugh, J.T. (1993) Coastal metabolism and the oceanic matter carbon balance. Rev. Geophys. 31(1): 75-89
- Snelgrove, P.V.R., Austen, M.C., Boucher, G., Heip, C., Hutchings, P.A., King, G.M., Koike, I., Lamshead, P.J.D. & Smith, C.R. (2000) Linking biodiversity above and below the marine sediment-water interface. Bioscience 50(12): 1076-1088
- Solan, M. & Wigham, B.D. (2005) Biogenic particle reworking and bacterial-invertebrate interactions in marine sediments. In Interactions between macro-and microorganisms in marine sediment, Kristensen, E., Haese, R.R., and Kostka, J.E. (eds), Coastal and Estuarine Studies 60. American Geophysical Union, Washington DC. pp. 105-124
- Solan, M., Wigham, B.D., Hudson, I.R. Kennedy, R., Coulon, C.H., Norling, K. Nilsson, H.C. & Rosenberg, R. (2004) *In situ* quantification of bioturbation using time-lapse fluorescent sediment profile imaging (f-SPI), luminophore tracers and model simulation. Mar. Ecol. Prog. Ser. 271: 1-12
- Soltwedel, T., Lansard, B., Gilbert, F., Hasemann, C., Bell, E., Sablotny, B., Eagle, M., Kershaw, P. & Rabouille, C. (2008) An “integrated sediment disturber” (ISD) to study the impact of repeated physical perturbations on sediment geochemistry and the small benthic biota. Limnol. Oceanogr. Methods 6: 307-318
- Stackebrandt, E. & Goebel, B.M. (1994) Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. Int. J. Syst. Bacteriol. 44: 846-849
- Stead, R.A. & Thompson, R.J. (2006) The influence of an intermittent food supply on the feeding behaviour of *Yoldia hyperborea* (Bivalvia: Nuculanidae). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 332: 37-48
- Steward, C.C., Nold, S.C., Ringelberg, D.B., White, D.C. & Lovell, C.R. (1996) Microbial biomass and community structures in the burrows of bromophenol producing and non-producing marine worms and surrounding sediments. Mar. Ecol. Prog. Ser. 133: 149-165
- Stief, P., Altmann, D., de Beer, D., Bieg, R., & Kureck, A. (2004) Microbial activities in the burrow environment of the potamal mayfly *Ephoron virgo*. Freshwater Biol. 49: 1152-1163
- Sun, M., Aller, R.C. & Lee, C. (1991) Early diagenesis of chlorophyll-*a* in Long Island Sound sediments: a measure of carbon flux and particle reworking. J. Mar. Res. 49:379–401

Svensson, J., & Leonardson, L. (1996) Effects of bioturbation by tube-dwelling chironomid larvae on oxygen uptake and denitrification in eutrophic lake sediments. *Freshwater Biol.* 35: 289-300

Taghon, G.L. (1982) Optimal foraging by deposit-feeding invertebrates: roles of particle size and organic coating. *Oecologia* 52: 295-304

Taghon, G.L., Self, R.F.L. & Jumars, P.A. (1978) Predicting particle selection by deposit feeders: a model and its implications. *Limnol. Oceanogr.* 23(4): 752-759

Taylor, M.W., Radax, R., Steger, D. & Wagner, M. (2007) Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential. *Microbiol. Mol. Biol. R.* 71:295-347.

Teal, L.R., Bulling, M.T., Parker, E.R. & Solan, M. (2008). Global patterns of bioturbation intensity and mixed depth of marine soft sediments. *Aquat. Biol.* 2: 207-218

Tenore, K.R. & Chesney, E.J. (1985) The interaction rate of food supply and population density upon the biogeoenergetics of the opportunistic polychaete *Capitella capitata* (type I). *Limnol. Oceanogr.* 30: 1188-1195

Tenore, K.R. & Hanson, R.B. (1980) Availability of different detritus with aging to a polychaete macroconsumer, *Capitella capitata*. *Estuar. Coast. Mar. Sci.* 12: 39-47

Tenore, K.R. & Rice, D.L. (1980) Availability of detritus of different types and ages to a polychaete macroconsumer, *Capitella capitata*. *Limnol. Oceanogr.* 25: 553-558.

Thauer, R.K., Jungermann, K. & Decker, K. (1977) Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 41: 100-180

Thronsdon, J. (1996) The planktonic marine flagellates. In: Identifying marine phytoplankton. (Tomas, C.R. Eds), pp. 591-730. San Diego: Academic press

Torres, P.A., Abril, A.B. & Bucher, E.H. (2005) Microbial succession in litter decomposition in the semi-arid Chaco woodland. *Soil Biol. Biochem.* 37: 49-54

Toulmond, A. & Dejours, P. (1994) Energetics of the ventilatory piston pump of the lugworm a deposit-feeding polychaete living in a burrow. *Biol. Bull.* 186:213-220

Tromp, T.K., Van Cappellen, P. & Key, R.M. (1995) A global model for the early diagenesis of organic carbon and organic phosphorus in marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* 59(7) 1259-1284

Tso, S.F. & Taghon, G.L. (1997) Enumeration of protozoa and bacteria in muddy sediments. *Microb. Ecol.* 33: 144-148

Valdemarsen, T., Wendelboe, K., Egelund, J.T., Kristensen, E. & Flindt, M.R. (2011) Exclusion of seagrass by benthic invertebrates; burial of eelgrass seeds and seedlings by the lugworm (*Arenicola marina*). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 410: 45–52

Van Colen, C., Rossi, F., Montserrat, F., Andersson, M.G.I., Gribsholt, B., Herman, P.M.J. Degraer, S., Vincx, M. Ysebaert, T. & Middelburg, J.J. (2012) Organism sediment interactions govern post-hypoxia recovery of ecosystem functioning. *PLoS ONE* 7(11)

Venturini, N., Pires-Vanin, A.M.S., Salhi, M., Bessonart, M. & Muniz, P. (2011) Polychaete response to fresh food supply at organically enriched coastal sites: repercussion on bioturbation potential and trophic structure. *J. Mar. Syst.* 88: 526-541

Volkenborn, N., Hedtkamp, S.I.C., van Beusekom, J.E.E. & Reise, K. (2007) Effects of bioturbation and bioirrigation by lugworms (*Arenicola marina*) on physical and chemical sediment

- properties and implications for intertidal habitat succession. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 74: 331-343
- Volkenborn, N. & Reise, K. (2006) Lugworm exclusion experiment: responses by deposit feeding worms to biogenic habitat transformations. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 330: 169-179
- Wakeham, S.G. & Lee, C. (1993) Production, transport, and alteration of particulate organic matter in the marine water column. In: *Organic Geochemistry* (ed. M. Engel & S. Macko), Plenum press, pp145-169
- Wakeham, S.G. Lee, C., Hedges, J.I., Hernes, P.J. & Peterson, M.L. (1997) Molecular indicators of diagenetic status in marine organic matter. *Geochim. Cosmochim. Acta* 61(24): 5363-5369
- Warwick, R.M., Gee, J.M., Berge, J.A. & Ambrose, W.J. (1986) Effects of the feeding activity of the polychaete *Streblosoma bairdi* (Malmgren) on meiofaunal abundance and community structure. *Sarsia* 71(1): 11-16
- Weber, O., Jouanneau, J.M., Ruch, P., & Mirmand, M. (1991) Grain-size relationship between suspended matter originating in the Gironde estuary and shelf mud-patch deposits. *Mar. Geol.* 96: 159-165
- Webster, N.S. & Blackall, L.L. (2009) What do we really know about sponge-microbial symbioses ? *ISME J.* 3:1-3
- Weiss, M.S., Abele, U., Weckesser, J., Welte, W. & Schulz, G.E. (1991) Molecular architecture and electrostatic properties of a bacterial porin. *Science* 254: 1627-1630
- Wheatcroft, R.A. (1991) Conservative tracer study of horizontal sediment mixing rates in a bathyal basin, California borderland. *J. Mar. Res.* 49:565-588
- Wheatcroft, R.A., Jumars, P.A., Smith, C.R. & Nowell, A.R.M. (1990) A mechanistic view of the particulate biodiffusion coefficient: step lengths, rest periods and transport directions. *J. Mar. Res.* 48:177-207
- Wheatcroft, R.A., Olmez, I. & Pink, F.X. (1994) Particle bioturbation in Massachusetts Bay: preliminary results using a new deliberate tracer technique. *J. Mar. Res.* 52:1129-1150
- Whitlatch, R.B. (1974) Food-resource partitioning in the deposit feeding polychaete *Pectinaria gouldii*. *Biol. Bull.* 147: 227-235
- Whitlatch, R.B. (1981) Animal-sediment relationship in intertidal marine benthic habitats: some determinants of deposit-feeding species diversity. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 53: 31-45
- Whitman, W.B., Coleman, D.C. & wiebe, W.J. (1998) Prokaryotes: the unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95: 6578-6583
- Whittaker, R.H. (1972) Evolution and measurment of species diversity. *Taxon.* 21(2/3): 213-251
- Widdicombe, S., Austen, M.C., Kendall, M.A., Warwick, R.M. & Jones, M.B. (2000) Bioturbation as a mechanism for setting and maintaining levels of diversity in subtidal macrobenthic communities. *Hydrobiologia* 440: 369-377
- Wilde, S.B. & Plante, C.J. (2002) Spatial heterogeneity of bacterial assemblages in marine sediments: the influence of deposit feeding by *Balaglonossus aurantiacus*. *Estuar. Coast Shelf Sci.* 55: 97-107
- Wilson, I.G. (1997) Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. *Appl. Environ. Microb.* 63, 3741-3751
- Woese, C.R. (1987) Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 51(2): 221-271

Wollast, R. (1998) Evaluation and comparison of the global carbon cycle in the coastal zone and in the open ocean. In: Brink, K.H., Robinson, A.R. (Eds.), *The Sea*, Vol. 10. John Wiley & Sons, New-York, pp. 213-252

Zaabi, S. & Alfi, A. (2006) Significations écologiques de la variabilité des polychètes dans le golfe de Tunis. *Bull. Inst. Natu. Scien. Tech. Mer de Salammbô*. 33: 29-36

Zak, D. R., Holmes, W. E., White, D. C., Peacock, A. D., & Tilman, D. (2003). Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: are there any links? *Ecology* 84:2042–2050.

Zhadan, A.E. & Tzetlin, A.B. (2002) Comparative morphology of the feeding apparatus in the Terebellida (Annelida: Polychaeta). *Cah. Biol. Mar.* 43: 149-164

Zhou, S., Bruns, M.A., & Tiedje, J.M. (1996) DNA recovery from soils of diverse composition. *Appl. Environ. Microb.* 62: 316-322

Zinger, L., Amaral-Zettler, L.A., Fuhrman, J.A., Horner-Devine, M.C., Huse, S.M., Welch, D.B.M., Martiny, J.B.H., Sogin, M., Boetius, A., & Ramette, A. (2011) Global patterns of bacterial beta-diversity in seafloor and seawater ecosystems. *PLoS ONE* 6(9): e24570

Zúñiga, D., Alonso-Pérez, F., Castro, C.G., Arbones, B. & Figueiras, F.G. (2011) Seasonal contribution of living phytoplankton carbon to vertical fluxes in a coastal upwelling system (Ría de Vigo, NW Spain). *Cont. Shelf Res.* 31: 414-424.

Résumé

Le lien entre la macrofaune et les communautés bactériennes benthiques a été déterminé selon deux approches : (1) une approche expérimentale à l'échelle de l'individu ciblée sur les effets de l'activité et de la bioturbation du polychète dépositivore de surface *Melinna palmata* sur la distribution des communautés bactériennes des premiers millimètres de l'interface eau-sédiment ; (2) une approche *in situ* à l'échelle de la communauté de mise en corrélation des patrons spatiaux de distribution des communautés de macrofaune et de bactéries.

Melinna palmata appartient à un nouveau groupe fonctionnel de bioturbation décrit pour la première fois, convoyeur de surface. L'utilisation de ce nouveau modèle biologique a permis de mettre en évidence que les activités de prospection et d'égestions modifient significativement la distribution des communautés bactériennes de la couche oxisque de l'interface eau-sédiment. Ce lien est à la fois influencé par l'apport de matière organique de différentes qualités, et impacte la consommation et la minéralisation de cette matière organique.

Le lien entre les patrons spatiaux de distribution des communautés de macrofaune et de bactéries a été étudié *in situ*, dans la vasière Ouest-Gironde. Les deux compartiments ont évolué le long d'un gradient avéré de teneur en matière organique et de taille des particules dans cette vasière. La corrélation des matrices biologiques n'a cependant pas été statistiquement significative et nécessite d'être approfondi.

Mots clés : interface eau-sédiment, activité, bioturbation, composition des communautés bactériennes

Abstract

The link between benthic macrofauna and bacterial communities was assessed with two different approaches: (1) an experimental approach at the individual scale, focused on the effects of behaviour and bioturbation of the deposit feeder polychaete *Melinna palmata* on the bacterial community distribution on the very sediment-water interface; (2) an *in situ* approach at the scale of the community, focused on the correlation between spatial distribution patterns of the two biological compartments.

Melinna palmata belongs to a new functional group of bioturbation described for the first time: surface conveyor. Its use allowed determining that prospection and egestion induced a significant change of bacterial communities on the sediment-water interface. This link was influenced by organic matter enrichment while influencing its fate.

In a second part, the link between spatial distribution patterns of the communities was assessed *in situ* in the West-Gironde mud patch. Both macrofauna and bacteria changed along a gradient of organic matter quantity and quality and of particles size described in this system. However, the correlation between matrices was not statistically significant and needs to be more developed.

Key words: sediment-water interface, behaviour, bioturbation, bacterial community composition