



HAL
open science

Influence de l'herbier de *Zostera noltei* sur la méiofaune benthique et la géochimie de sédiments intertidaux du Bassin d'Arcachon

Florian Cesbron

► **To cite this version:**

Florian Cesbron. Influence de l'herbier de *Zostera noltei* sur la méiofaune benthique et la géochimie de sédiments intertidaux du Bassin d'Arcachon. Sciences de la Terre. Université d'Angers, 2015. Français. NNT : 2015ANGE0052 . tel-02140413

HAL Id: tel-02140413

<https://theses.hal.science/tel-02140413>

Submitted on 27 May 2019

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 de Doctorat

Florian CESBRON

*Mémoire présenté en vue de l'obtention du
grade de Docteur de l'Université d'Angers
sous le label de L'Université Nantes Angers Le Mans*

École doctorale : VENAM

Discipline : Terre solide : géodynamique des enveloppes supérieures, paléobiosphère
Spécialité : Sciences de la Terre et de l'atmosphère
Unité de recherche : UMR CNRS 6112 LPG-BIAF

Soutenue le 13 Mars 2015
Thèse N° : 1422

Influence de l'herbier de *Zostera noltei* sur la méiofaune benthique et la géochimie de sédiments intertidaux du Bassin d'Arcachon

JURY

Rapporteurs :	Christine DUPUY , Professeur, Université de La Rochelle Lionel DENIS , Professeur, Université de Lille 1
Examineurs :	Antoine GREMARE , Professeur, Université de Bordeaux Gwenaël ABRIL , Directeur de Recherche, Université de Bordeaux Frans JORISSEN , Professeur, Université d'Angers
Directeur de Thèse :	Emmanuelle GESLIN , Maître de conférences, HDR, Université d'Angers
Co-directeur de Thèse :	Edouard METZGER , Maître de conférences, Université d'Angers Didier JEZEQUEL , Maître de conférences, Université Paris-Diderot – Paris 7

Remerciements

Ce manuscrit marque la fin d'une aventure. Une aventure de trois ans remplie d'apprentissages, de discussions, de stress, de doutes, de soirées pour décompresser, de joies, de rires... et surtout de belles rencontres.

Je tiens en premier lieu à remercier Emmanuelle, Edouard et Didier, mes directeurs de thèse, pour leur soutien et leurs conseils avisés qui m'ont permis d'arriver ici aujourd'hui. Merci tout particulier à toi Edouard, pour ton très fort investissement, tes nombreux conseils et ton humour toujours là pour me faire sourire.

Un grand merci également à Bruno, tu m'as fait découvrir tant de choses au travers des missions, des manip', de tes discussions, le tout accompagné de nombreux fous rires... j'ai appris beaucoup à tes côtés. Merci et à très vite pour de nouvelles missions ☺ !

Merci à toutes les personnes rencontrées lors de mes nombreuses missions sur le Bassin d'Arcachon, sur l'Etang de Berre ou à bord du Côtes de la Manche, j'ai appris beaucoup de choses à vos côtés et me suis vraiment bien amusé : Marie-Lise Delgard (Merci pour tout, j'ai beaucoup apprécié travailler à tes côtés, bon courage pour la suite et à très vite pour des projets de recherche communs !), Olivier Maire, Sabine Schmidt, Antoine Grémare (merci également d'avoir accepté d'être membre de mon jury), Guillaume Bernard, Marion Richard, Eric Viollier, Alicia Ramiro-Ramirez, Stéphane Bujan, Hervé Derrienic, Oriane Jolly, Céline Charbonnier, Sylvain Rigaud et Olivier Radakovitch (à très vite sur Marseille pour cette nouvelle aventure !).

Un merci à Pierre Anschutz pour ses conseils et ses discussions intéressantes.

Je voudrais également remercier les membres de mon jury pour avoir accepté de juger ce travail ainsi que les membres de mon comité de suivi de thèse, Jean-Marie Garnier et Gabriel Billon, pour leurs conseils et suggestions tout au long de cette thèse.

Je tiens à remercier l'ensemble des personnes qui ont permis que cette thèse voie le jour par leur aide technique, un coup de pouce non négligeable : Karim, Emmanuel, Ludovic, les Sophie S et Q, Eric, Liliane Jean-Soro, Marc de Rafélis, Florent Goussard et Miguel Garcia -Sanzet.

Un grand merci également à Frans (pour avoir accepté d'être membre de mon jury et pour ses conseils et commentaires), Hélène, Ralf, Erica, Christine, Meryem, Fabrice (quel sens de l'humour !), Grégoire, Magali, Thierry, Luzia, Sophie V. Et un merci plus spécifique à Aurélia pour tes nombreux conseils, tes marques d'encouragement et surtout ta bonne humeur quotidienne et ton exaltation pour les gels 2D, bientôt on fera du manganèse en 2D et on prendra un verre pour fêter ça évidemment !!! Ainsi qu'à Pia, je t'ai bien taquiné mais je te rassure ce n'était qu'une marque d'affection, bon courage pour ta longue carrière, tu auras le droit à un verre aussi !

Comment ne pas remercier également mes cobureaux ou compagnons d'aventure, j'ai vraiment passé de très bons moments avec vous. Vous avez toujours été là, vous êtes géniaux, ne changez pas trop... enfin quand même un peu car tout le monde a des défauts. Un immense merci à Clémence, miss Clemclem tu es géniale, un brin de folie, un brin de caractère, des gènes de viking, des origines normandes non refoulées, une chevelure de boucle d'or et hop ça fait une sœur de thèse, une grande amie, un témoin fantastique. Reste comme tu es : géniale ! Un grand merci également à Dewi, que de supers moments passés ensemble, tu es sans conteste un super compagnon d'aventure, toujours à l'écoute et prêt à aider. Impatient de pouvoir se faire ce week-end de folie ! Merci également à Pauline et Aurore pour vos conseils, votre folie et votre enthousiasme pour danser la mazurka. Merci à Aubin, Jassin, Julie, Jennifer, Laurie, Briz, Matthieu, Lara, vous êtes de supers cobureaux, de supers compagnons d'aventure, de bons amis, que de belles rencontres !

Un remerciement tout particulier à ma famille, ma belle-famille et aux amis (Vincent, Judith, Claire, Romain,...), vous avez su être présents, vous m'avez soutenu, entouré. Vous êtes formidables, merci pour tout !

Enfin, mes plus profonds remerciements reviennent à toi Marie, qui occupe mon cœur, qui a su me soutenir, me comprendre, m'encourager. Merci pour tout ce que tu fais et pour tout le bonheur que tu m'apportes.

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE.....	13
1. CONTEXTE GENERAL	14
2. IMPORTANCE DES HERBIERS DE PHANEROGAMES MARINES	14
2.1. Généralités.....	14
2.2. Les herbiers : des « ingénieurs de l'écosystème ».....	16
2.3. Les processus biogéochimiques benthiques dans les environnements colonisés par les herbiers.....	16
2.4. Déclin des herbiers de phanérogames marines.....	22
3. LE BASSIN D'ARCACHON ET SES HERBIERS DE PHANEROGAMES MARINES	22
3.1. Présentation générale du Bassin d'Arcachon	22
3.2. Répartition des herbiers de phanérogames marines dans le Bassin d'Arcachon.....	24
3.3. Influence de l'herbier de <i>Z. noltei</i> sur les processus diagénétiques du Bassin d'Arcachon	24
3.4. Déclin des herbiers de phanérogames marines dans le Bassin d'Arcachon	25
3.5. Le projet IZOFLUX et mes objectifs de thèse	27
4. QUE SONT LES FORAMINIFERES BENTHIQUES ?.....	27
4.1. Généralités sur les foraminifères benthiques.....	27
4.2. Ecologie et métabolisme des foraminifères benthiques.....	28
4.3. Application des foraminifères benthiques	30
4.4. Les foraminifères benthiques du Bassin d'Arcachon	31
5. LES DEFIS TECHNOLOGIQUES EN BIOGEOCHIMIE ET EN ECOLOGIE BENTHIQUE	31
5.1. Méthodologies pour l'étude des biocénoses de foraminifères benthiques	31

5.2. Méthodologies pour l'étude de la biogéochimie benthique.....	32
6. OBJECTIFS ET STRATEGIE DE L'ETUDE.....	36
CHAPITRE 1.....	39
Ecologie des foraminifères benthiques et leur contribution à la reminéralisation aérobie dans la vasière intertidale à herbier de <i>Zostera noltei</i> du Bassin d'Arcachon	40
RESUME.....	40
Ecology of benthic foraminifera and their contribution to aerobic remineralization in intertidal mudflats covered by <i>Zostera noltei</i> meadows (Arcachon Bay)	41
ABSTRACT	41
1. INTRODUCTION.....	42
2. MATERIALS AND METHODS	44
2.1. Study area	44
2.2. Sampling.....	46
2.3. Sample processing	46
3. RESULTS.....	49
3.1. Biogeochemical descriptors of sediments	49
3.2. Foraminiferal results.....	50
4. DISCUSSION	55
4.1. Foraminiferal assemblages in vegetated and bare sediments	55
4.2. Foraminiferal contribution to DOU in sediment from the Arcachon bay.....	58
CONCLUSION	60
Acknowledgements	60
CHAPITRE 2.....	61
Rôle des chloroplastes séquestrés chez <i>Haynesina germanica</i> : implication sur l'écologie de cette espèce	62

1. INTRODUCTION.....	62
2. MATERIEL ET METHODES	65
2.1. Site de prélèvement	65
2.2. Isolation et identification des individus vivants	65
2.3. Détermination du biovolume des <i>H. germanica</i>	65
2.4. Mesure des taux de respiration à l'obscurité	66
2.5. Taux de photosynthèse net à la lumière.....	68
2.6. Fixation des <i>H. germanica</i> pour observation au Microscope Electronique à Transmission	68
3. RESULTATS	69
3.1. Observation des chloroplastes séquestrés.....	69
3.2. Métabolisme d' <i>H. germanica</i> à l'obscurité et à la lumière	70
4. DISCUSSION	75
4.1. La kleptoplastidie chez <i>H. germanica</i> du Bassin d'Arcachon.....	75
4.2. Avantage adaptatif et rôle écologique de la kleptoplastidie pour les <i>H. germanica</i> du Bassin d'Arcachon	78
CONCLUSION	84
CHAPITRE 3	87
Imagerie simultanée et en 2D du fer dissous et du phosphore réactif dans les eaux interstitielles des sédiments par thin-film et méthode hyperspectrale.....	88
RESUME.....	88
Simultaneous 2D imaging of dissolved iron and reactive phosphorus in sediment pore-waters by thin- film and hyperspectral methods.....	89
ABSTRACT	89
1. INTRODUCTION.....	90

2.	EXPERIMENTAL SECTION.....	92
2.1.	2D Gel probes preparation, deployment.....	92
2.2.	2D Gel probes storage by freezing	93
2.3.	Reagent gel preparation and colorimetric reaction.....	93
2.4.	Iron (II) and DRP calibration method.....	94
2.5.	Hyperspectral image analyses	95
2.6.	Field application	96
3.	RESULTS AND DISCUSSION.....	97
3.1.	Optimal color development with DRP	97
3.2.	Kinetic studies of DRP and dissolved iron reactions	98
3.3.	Freezing effect on DRP and dissolved iron reactions.....	100
3.4.	Validation of the deconvolution protocol.....	100
3.5.	First application of the fast intimate unmixing method.....	101
3.6.	Simultaneous analysis in 2D of dissolved iron and DRP species and distribution of sulfide in porewaters of vegetated sediment.	102
	CHAPITRE 4	107
	Découplage du comportement du fer et du phosphore dans le contexte d'un herbier intertidal : nouvelles visions par imagerie en 2 dimensions	108
	RESUME.....	108
	Decoupling of iron and phosphorous behaviors in an intertidal seagrass setting: new insights from two dimensional imagery	109
	ABSTRACT	109
1.	INTRODUCTION.....	110
2.	MATERIALS AND METHODS	111
2.1.	Study area.....	111

2.2.	2D Gel probes.....	112
2.3.	Data processing	113
3.	RESULTS.....	113
4.	DISCUSSION	119
4.1.	Impact of seagrass on benthic dissolved iron and reactive phosphorus biogeochemistry	119
4.2.	Effect of downscaling on profiles and fluxes	120
4.3.	Decoupled iron and phosphorous remobilization.....	124
5.	CONCLUSION	136
CHAPITRE 5		139
Développements méthodologiques pour l'étude de la biogéochimie et l'écologie benthique : bilan des défis technologiques initiés au cours de cette thèse		
		140
1.	INTRODUCTION.....	140
2.	IMAGERIE PAR SPECTROPHOTOMETRIE COUPLEE A LA TECHNIQUE DE GEL DET	141
2.1.	Protocole pour l'analyse du nitrate et du nitrite	142
2.2.	Protocole pour l'analyse de l'ammonium.....	143
2.3.	Protocole pour la préparation de la gamme, le déploiement et le traitement des gels nitrate/nitrite et ammonium	143
2.4.	Résultats préliminaires et discussion.....	145
2.5.	Conclusions et perspectives.....	147
3.	ANALYSE EN 2D DE LA PHASE SOLIDE PAR MICROFLUORESCENCE X	148
3.1.	La « mâchoire » : échantillonneur continu et en 2 dimensions simultané du dissous et du particulaire.....	148
3.2.	Principe de la microfluorescence X.....	149

3.3.	Etude d'un bloc de sédiment du Bassin d'Arcachon (juillet 2013) par microfluorescence X	149
3.4.	Conclusions et perspectives.....	156
4.	ANALYSE DE LA DISTRIBUTION DES FORAMINIFERES BENTHIQUES.....	157
4.1.	Analyse par microtomographie axiale à rayons X.....	157
4.2.	Principe de la microtomographie axiale à rayons X (source MNHN-CNRS).....	157
4.3.	Analyse préliminaire par microtomographie axiale à rayons X d'un bloc de sédiment enrésiné du Bassin d'Arcachon	159
4.4.	Analyse par découpe de la tranche de sédiment en cubes de 1cm ³	162
5.	CONCLUSION	164
	SYNTHESE GENERALE ET PERSPECTIVES.....	167
1.	LES RESULTATS MAJEURS REpondant A NOS OBJECTIFS DE TRAVAIL DE RECHERCHE	168
2.	LES APPORTS DE CE TRAVAIL DE RECHERCHE A LA PROBLEMATIQUE IZOFLUX	177
3.	LES FORAMINIFERES EN MILIEU LAGUNAIRE INTERTIDAL : DE BONS BIO-INDICATEURS DE L'ACTUEL ET DU PASSE ?	178
4.	LES PERSPECTIVES DE CE TRAVAIL DE RECHERCHE.....	179
4.1.	Modélisation en 2D du recyclage des éléments majeurs	179
4.2.	Un protocole expérimental idéal pour l'étude de la méiofaune benthique et de ses microenvironnements biogéochimiques	179
4.3.	De nouvelles approches pour l'étude des foraminifères benthiques dans leur écosystème : de l'écologie à l'étude des fonctions biologiques et aux métabolismes des foraminifères	183
	BIBLIOGRAPHIE	1877
	ANNEXES	221

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

1. CONTEXTE GENERAL

Les zones côtières constituent l'interface entre l'océan et les continents et couvrent 7 % de la surface de l'océan global (Wollast, 1991). Les écosystèmes côtiers présentent un large éventail d'habitats tels que les vasières, les marais salés, les mangroves, les récifs coralliens, les plages sableuses dunaires ou les herbiers marins (Barbier *et al.* 2011). Du fait de leur localisation privilégiée, ils reçoivent de la matière organique et des nutriments d'origine continentale et échangent de grandes quantités de matière et d'énergie avec l'océan (Borges, 2005). Ils constituent ainsi des lieux de forte productivité, participant entre 14 et 30 % à la production primaire océanique totale (Mantoura *et al.* 1991 ; Pernetta et Milliman, 1995) et à 90 % de la minéralisation sédimentaire (Wollast, 1998). Les zones côtières sont ainsi un lieu privilégié où les activités biologiques et géochimiques sont intenses, comptant parmi les lieux les plus importants de la biosphère. Les écosystèmes des zones côtières constituent donc une formidable richesse à la fois en termes de ressources naturelles et de potentiel économique. Les écosystèmes côtiers ont ainsi abrité des activités humaines (pêcheries, centres portuaires, tourisme, industrie, production d'énergie) depuis la préhistoire avec une nette accélération au cours des 150 à 300 dernières années. A ce jour, plus de 60 % de la population mondiale vit dans la grande zone côtière, soit 3,8 milliards de personnes qui résident à moins de 150 km du rivage d'après l'UICN (Union internationale pour la conservation de la nature) et l'INSEE (INSEE 2009). Cette utilisation des zones côtières les fragilise et les modifie progressivement : entre 50 et 67 % des marais salés, 35 % des mangroves, 30 % des récifs coralliens et entre 29 et 65 % des herbiers marins sont dégradés voire détruits (Lotze *et al.*, 2006 ; Barbier *et al.* 2011).

2. IMPORTANCE DES HERBIERS DE PHANEROGAMES MARINES

2.1. Généralités

Les herbiers marins appartiennent au groupe des phanérogames marines et constituent ainsi les seules plantes à fleurs adaptées à la vie marine en condition d'immersion permanente. Environ 60 espèces réparties en trois familles principales (*Zosteraceae*, *Cymodoceaceae* et *Posidoniaceae*) ont été répertoriées dans les herbiers marins (Den Hartog and Kuo 2006; Orth *et al.* 2006). Présentes dans la majorité des zones littorales du monde, excepté les régions polaires (Figure 1), les phanérogames marines se développent à l'interface entre la colonne d'eau et le substrat sédimentaire aussi bien en domaine subtidal qu'intertidal. Le Bassin d'Arcachon est par exemple colonisé par l'herbier à *Zostera marina* en zone subtidale et l'herbier à *Zostera noltei* en zone intertidale. L'herbier du Bassin

d'Arcachon est notamment considéré comme le plus grand herbier à *Zostera noltei* d'Europe (Auby and Labourg, 1996). Les phanérogame marines se distinguent des autres végétaux marins (*e.g.* algues) par leur système racinaire bien développé. Ces plantes possèdent deux parties distinctes : une partie souterraine (rhizomes et racines) et une partie épigée composée par les feuilles et formant un plant puis, à une plus grande échelle, une canopée (Figure 2).

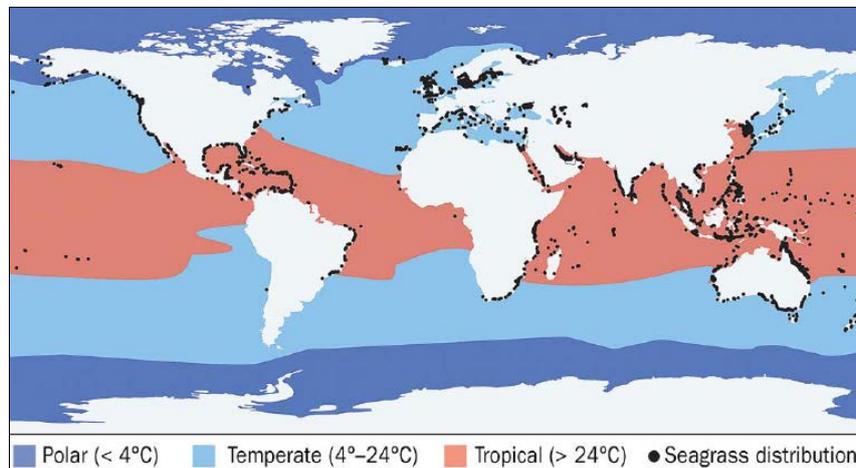


Figure 1 : Distribution mondiale des phanérogame marines en fonction des grandes régions climatiques (d'après Green et Short, 2003 ; Orth *et al.* 2006).

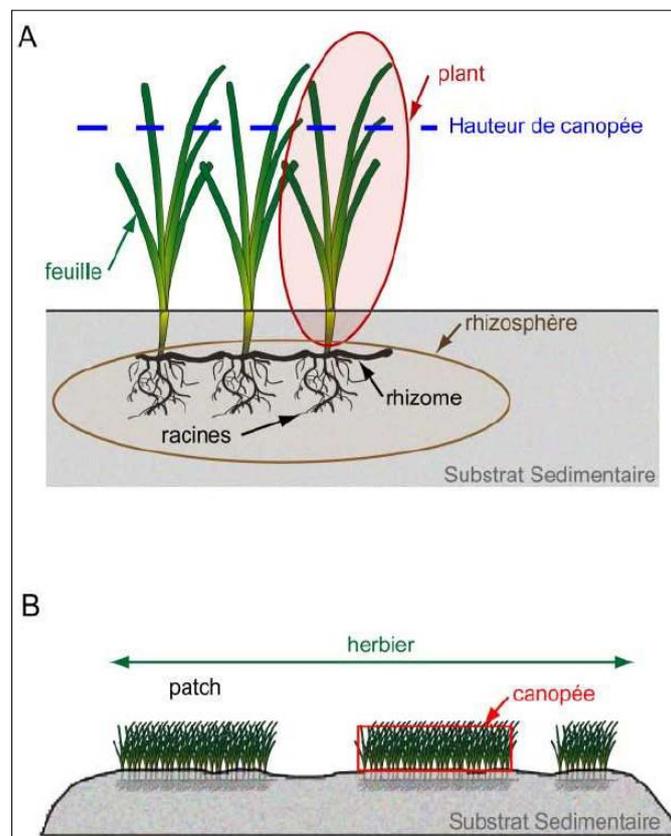


Figure 2 : Nomenclature couramment utilisée pour décrire les parties de la plante (A) et les attributs des herbiers que forment les phanérogame marines (B) (Ganthy, 2011).

2.2. Les herbiers : des « ingénieurs de l'écosystème »

Les herbiers sont capables de modifier leurs environnements physiques, biogéochimiques et biologiques, ce qui leur confère le rôle d'« ingénieurs de l'écosystème » (Wright et Jones, 2006). De par leur dense réseau racinaire et le développement d'une canopée complexe au-dessus du sédiment (Figure 2), les herbiers affectent l'hydrodynamisme local créant ainsi des environnements de faible énergie où le dépôt de sédiments fins est favorisé (Gacia *et al.* 2003 ; Hendriks *et al.* 2010) et la remise en suspension est réduite (Gacia et Duarte, 2001 ; Widdows *et al.* 2008 ; Ganthly *et al.* 2013). Les herbiers forment des habitats complexes riches en nourriture grâce à un important dépôt de particules en surface, à la production d'exsudats racinaires et à la dégradation des racines dans les sédiments. Ils fournissent un abri contre les prédateurs dans et au-dessus du sédiment à une faune endogée¹ et épigée² abondante et diverse (Reise, 2002 ; Bouma *et al.* 2009). L'abondance, la biomasse et la richesse spécifique de la faune benthique sont alors augmentées dans les milieux à herbiers (Boström et Bonsdorff 1997b ; Fredriksen *et al.* 2010). Cette forte densité peut être notamment observée dans la macrofaune (Orth, 1992 ; Blanchet *et al.* 2004 ; Fredriksen *et al.* 2010 ; Do *et al.* 2011) et dans la méiofaune comme chez les foraminifères benthiques par exemple. Ces organismes présents en grande quantité dans les sédiments montrent de plus fortes densité et diversité dans les zones à herbiers (Steineck et Bergstein, 1979 ; Blanc-Vernet, 1984 ; Martin et Wright, 1988 ; Fujita et Hallock 1999 ; Ribes *et al.* 2000 ; Duchemin *et al.* 2005). Ces zones à herbiers servent également de nurserie et de nourricerie pour de nombreuses espèces souvent exploitées (Heck *et al.* 2003). Les feuilles des phanérogames marines sont également un lieu privilégié pour les espèces épiphytes (Harlin, 1980).

Les herbiers sont également considérés comme des écosystèmes hautement productifs en raison de la grande quantité de carbone organique produit par les phanérogames (McRoy and McMillan 1977 ; Duarte and Chiscano 1999). Des estimations suggèrent que les herbiers assurent jusqu'à 12 % de la production primaire nette des zones côtières (Duarte and Chiscano 1999) et 10 % de l'enfouissement de carbone organique séquestré par an dans les océans (Duarte *et al.* 2005).

2.3. Les processus biogéochimiques benthiques dans les environnements colonisés par les herbiers

2.3.1. Généralités sur la diagenèse précoce en milieu côtier

Dans les zones côtières, la matière organique et les nutriments provenant des continents et de la production primaire subissent des transformations biogéochimiques en interaction avec les forçages physiques (remise en suspension des sédiments par les marées, courants de surface ou les tempêtes) et biologiques (activité de la faune benthique, des macrophytes et du microphytobenthos) (Kristensen,

¹ Faune qui se trouve à l'intérieur du sédiment

² Faune qui, à l'inverse, se trouve à la surface du sédiment

2000 ; Burdige, 2011). Les transformations que subissent les sédiments lors des premières étapes d'enfouissement correspondent à la diagenèse précoce (Berner, 1980). La diagenèse précoce regroupe des réactions chimiques (*e.g.* oxydo-réduction, complexation, adsorption, précipitation), des processus physiques (*e.g.* diffusion, advection, mélange) et des processus biologiques (*e.g.* minéralisation microbienne, respiration de la méiofaune et macrofaune benthique). Trois types de réactions biogéochimiques sont observés lors de la diagenèse précoce comprenant des phases particulières des sédiments et des phases dissoutes :

(i) Les réactions d'oxydoréduction primaires qui correspondent aux réactions de la minéralisation de la matière organique. Ces réactions se traduisent par la dégradation bactérienne de la matière organique utilisant les différents agents oxydants contenus dans le sédiment ou dans les eaux interstitielles. La matière organique est le donneur d'électron (réducteur) et une série de composés joue le rôle d'accepteur d'électrons principaux (oxydants) selon un ordre correspondant à leur production décroissante en énergie libre : O_2 , NO_3^- , oxy-hydroxydes de Mn (principalement MnO_2), oxy-hydroxydes de fer (principalement $Fe(OH)_3$), SO_4^{2-} (Froelich *et al.* 1979 ; Canfield, 1993) (Figure 3A). Une fois les oxydants minéraux épuisés, la matière organique réagit sur elle-même par une réaction de dismutation, une partie jouant le rôle de réducteur et une autre d'oxydant.

(ii) Les réactions d'oxydoréduction secondaires regroupent l'ensemble des réactions pouvant se produire en présence des différents produits des réactions d'oxydoréduction primaires (Figure 3B).

(iii) Les réactions de précipitation (non rédox). Les réactions d'oxydoréduction primaires ou secondaires favorisent la précipitation d'espèces minérales carbonatées (*e.g.* $CaCO_3$, $MnCO_3$, $FeCO_3$) ou sulfurées (*e.g.* FeS ou FeS_2) dans les sédiments par l'augmentation des concentrations en espèces dissoutes formées (*e.g.* HCO_3^- , Fe^{2+} , $H_2S...$). Ces réactions entraînent l'accumulation de ces espèces minérales dans la phase solide et la consommation d'espèces dissoutes (Ca^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , ou H_2S) dans les eaux interstitielles (Figure 3B).

Des réactions d'adsorption/désorption ont également lieu dans les sédiments. C'est le cas notamment pour les orthophosphates qui s'adsorbent sur les oxydes de fer en sub-surface et qui sont libérés sous forme dissoute lors de la réduction des oxydes de fer plus en profondeur dans le sédiment (Jensen *et al.* 1995 ; Anschutz *et al.* 1998, 2007 ; Cha *et al.* 2005). L'ensemble des processus de surface (adsorption/désorption ou dissolution/précipitation) est fortement contrôlé par le pH entraînant alors diverses rétroactions dans le milieu (*e.g.* acidification du milieu lors de la respiration aérobie permettant la désorption de métaux et de sels nutritifs).

La matière organique est donc le carburant principal des processus réactifs mis en jeu durant la diagenèse précoce. La consommation séquentielle des oxydants pour sa minéralisation ou par les différents réducteurs libérés dans le milieu entraîne une répartition verticale des réactions d'oxydoréduction primaires et secondaires. Ces réactions se hiérarchisent selon la profondeur en fonction de leur production en énergie libre et du potentiel d'oxydoréduction (Schulz, 2006 ; Figure

4). La présence ou absence d'oxygène et de sulfures dissous dans les sédiments permet d'établir trois zones qui s'organisent verticalement dans les sédiments :

- (i) Une zone **oxique** superficielle où l'oxygène dissous est présent ;
- (ii) Une zone **suboxique** en-dessous où l'oxygène et les sulfures ne sont pas détectables ;
- (iii) Une zone **anoxique** située plus en profondeur où les sulfures sont présents.

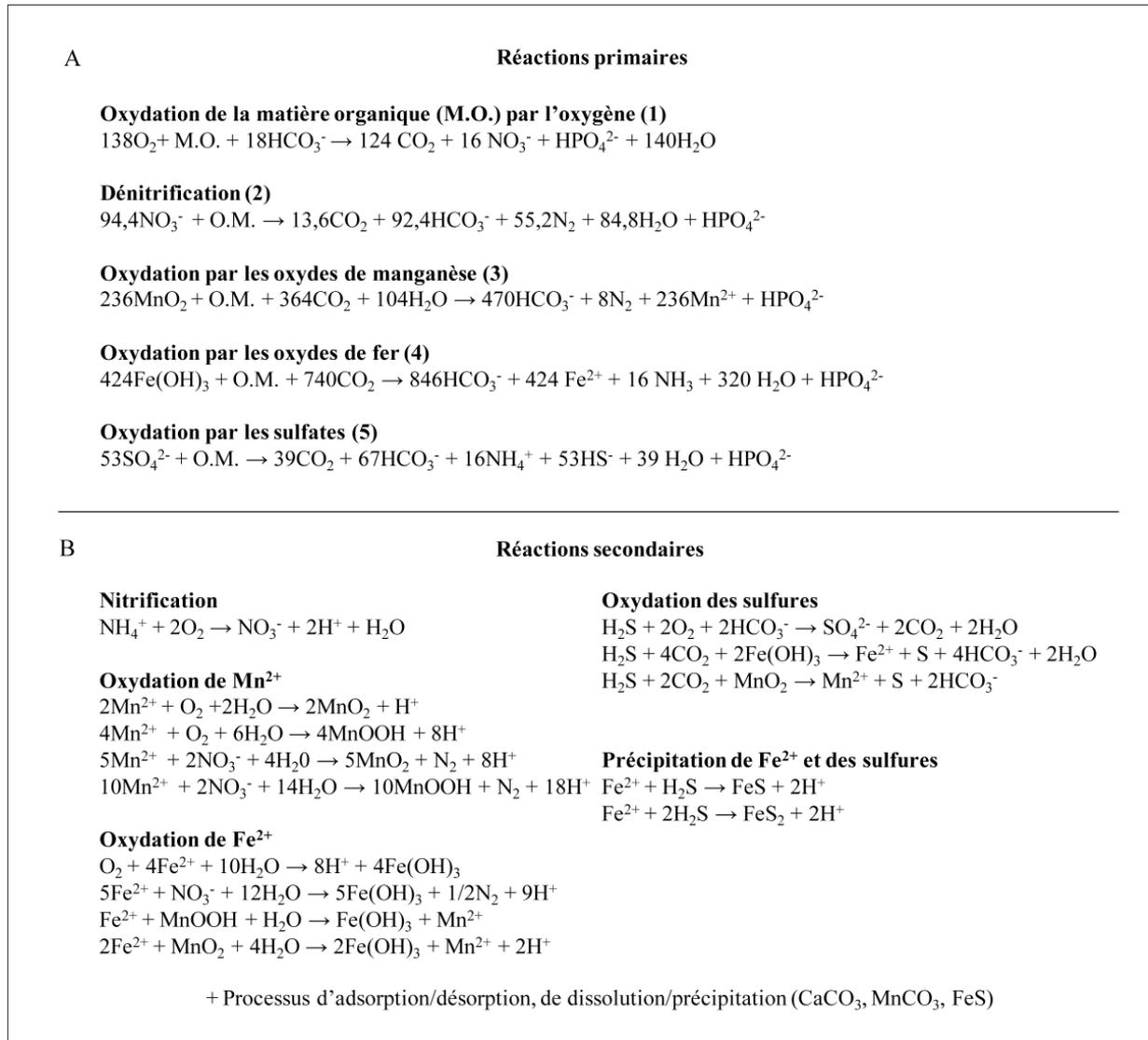


Figure 3 : (A) Réactions d'oxydations primaires de la matière organique C₁₀₆/H₂₆₃/O₁₁₀/N₁₆/P (Redfield, 1963) établies selon Froelich *et al.* (1979) dans les sédiments marins. (B) Exemples de réactions secondaires de réoxydation des espèces réduites produites lors de la dégradation de la matière organique (Van Cappellen and Wang, 1996 ; Hyacinthe *et al.* 2001 ; Deborde, 2007).

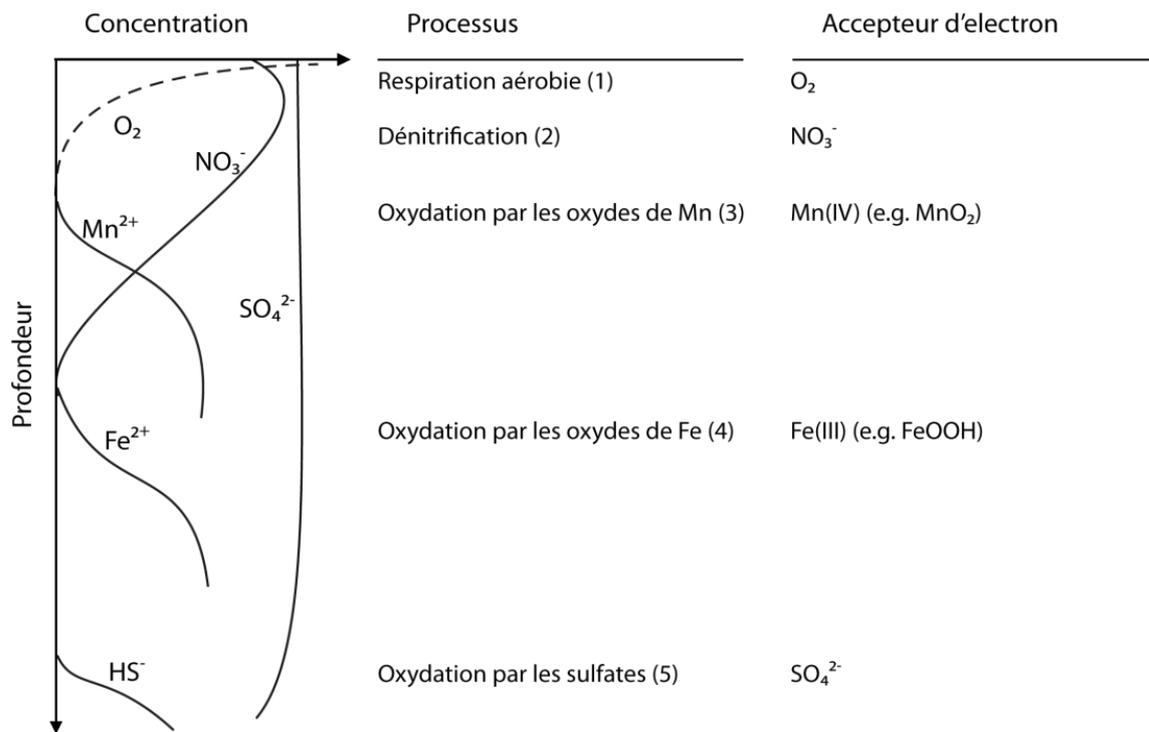


Figure 4 : Profils diagénétiques théoriques résultant des différents processus de dégradation de la matière organique et de différents accepteurs d'électrons; la numérotation correspond aux réactions présentées dans la figure 3 (Burdige, 1993).

Dans les environnements côtiers, la séquence diagénétique s'étend généralement sur les premiers centimètres de sédiment avec une pénétration de l'oxygène de quelques millimètres de profondeur (Glud, 2008). La zonation verticale des profils diagénétiques est dépendante des apports et de la réactivité de la matière organique, du taux d'enfouissement, des populations bactériennes, de la disponibilité des oxydants et de l'activité de la faune (macro- et méiofaune) et de la flore benthiques. Les sédiments côtiers constituent en réalité une mosaïque de microenvironnements où se conjuguent différentes conditions d'oxydoréduction et différentes populations bactériennes (Boudreau and Jorgensen, 2001).

2.3.2. Cas particulier des environnements colonisés par les herbiers

La présence de l'herbier dans les environnements côtiers agit fortement sur la dynamique des nutriments, de l'oxygène et de la matière organique, aussi bien dans les sédiments que dans la colonne d'eau (Marbà *et al.* 2006 ; Figure 5).

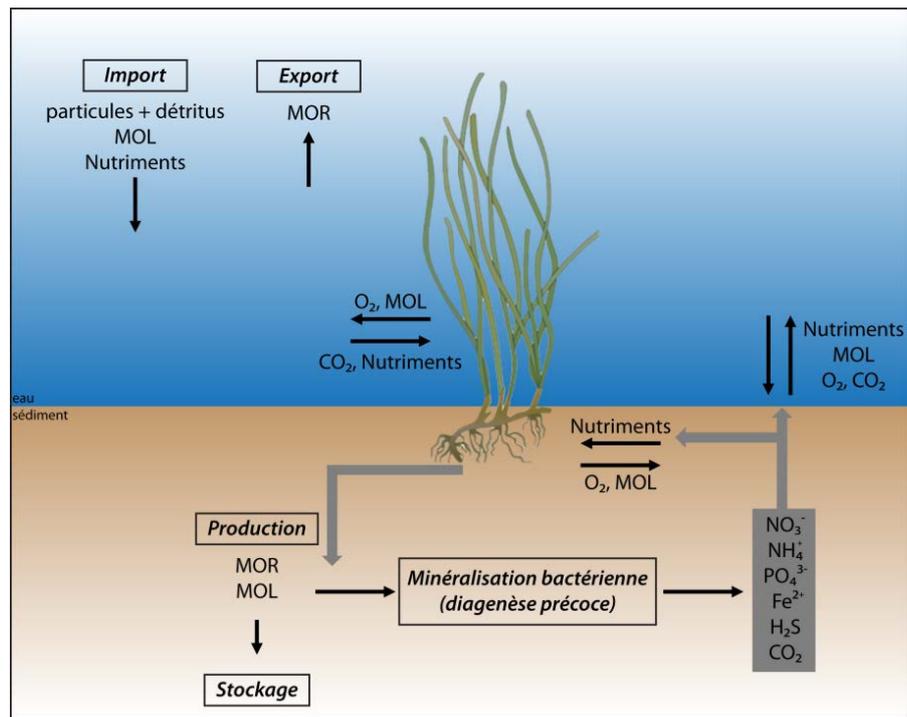


Figure 5 : Modèle conceptuel des interactions herbier-colonne d'eau et herbier-sédiment (modifiée d'après Marbà *et al.* 2006 et Delgard, 2013). MOL : matière organique labile ; MOR : matière organique réfractaire.

L'herbier, comme toutes les plantes, ont en effet besoin d'une grande quantité de nutriments pour se développer et croître. Il les absorbe dans la colonne d'eau et dans les sédiments respectivement par les feuilles et par les racines (Terrados and Williams, 1997 ; Touchette and Burkholder 2000 ; Nielsen *et al.* 2006 ; Alexandre *et al.* 2011). Le dioxyde de carbone, le nitrate NO_3^- (ou sa forme réduite l'ammonium NH_4^+) et le phosphate sont les trois principaux nutriments nécessaires à son développement (Duarte, 1990 ; Romero *et al.* 2006) :

(i) Au cours de la photosynthèse, les herbiers sont capables d'utiliser le bicarbonate (HCO_3^-) qui est la forme la plus abondante de carbone inorganique dans l'eau de mer (Madsen and Sand-Jensen 1991 ; Beer and Rehnberg, 1997 ; Invers *et al.* 2001). Cependant les herbiers utilisent également le CO_2 qui est plus facilement transportable par voie passive dans les cellules de la plante (Björk *et al.* 1997 ; Invers *et al.* 1999).

(ii) L'ammonium est la source principale d'azote des herbiers (Lee *et al.* 2007). Le nitrate, de part son assimilation plus énergétiquement coûteuse, est moins utilisé par les herbiers (Lara *et al.* 1987 ; Turpin, 1991 ; Lee and Dunton, 1999). En raison de la faible quantité d'ammonium et de nitrate dans les milieux, ces nutriments sont souvent considérés comme limitant pour la croissance de l'herbier (Duarte, 1990 ; Romero *et al.* 2006).

(iii) Les phosphates (PO_4^{3-}) est un des nutriments essentiels pour la croissance des herbiers (Lee *et al.* 2007). Comme pour l'ammonium, il se trouve en faible quantité dans le milieu et devient facilement limitant pour les herbiers (Duarte, 1990 ; Romero *et al.* 2006).

D'autres éléments essentiels comme le K, S, Ca, et Mg, considérés comme macro-nutriments en écologie terrestre et en agriculture, sont nécessaires à la croissance des plantes mais sont encore peu étudiés dans les environnements marins du fait de leur caractère non limitant (Romero *et al.* 2006). Considérés comme des micro-nutriments, les métaux tels que le Fe, le Mn, le Mo et le Cu sont aussi essentiels bien que de très faibles concentrations de ces éléments soient trouvés dans les herbiers (Llagostera *et al.* 2011 ; Malea and Kevrekidis, 2013 ; Malea *et al.* 2013 ; Franco *et al.* 2013). Enfin, la silice a été considérée depuis peu comme un nutriment essentiel contribuant à renforcer les plantes et à améliorer leur résistance à différents stress mécaniques comme les tempêtes et l'action des marées (Epstein, 2009 ; Schoelynck *et al.* 2010 ; Cooke and Leishman, 2011).

Outre ces éléments essentiels pour la croissance de l'herbier, sa présence agit directement sur la dynamique de l'oxygène. A l'image des plantes terrestres, l'herbier a une activité de respiration et de photosynthèse. Lors de la photosynthèse, l'oxygène produit par les feuilles de l'herbier est alors diffusé aussi bien dans la colonne d'eau que dans les sédiments via des pertes d'oxygène au niveau des racines (Borum *et al.* 2006). Cet oxygène est transporté sous forme gazeuse via des tissus lacunaires au niveau des racines localisées en milieu anoxique (Penhale and Wetzel, 1983 ; Roberts *et al.* 1984 ; Greve *et al.* 2003). Des pertes radiales d'oxygène sont parfois mesurées depuis les jeunes racines vers le sédiment témoignant d'un excès d'oxygène transporté face à la demande respiratoire des racines (Pedersen *et al.* 1998 ; Connell *et al.* 1999 ; Jensen *et al.* 2005 ; Frederiksen and Glud, 2006 ; Delgard, 2013). Il se crée alors des micro-niches oxygénées autour de l'apex de la racine modifiant localement les conditions d'oxydoréduction et affectant la dynamique du fer, du soufre et de l'azote dans le sédiment (Isaksen and Finster, 1996 ; Jonkers *et al.* 2000 ; Welsh, 2000 ; Hebert and Morse, 2003 ; Sundby *et al.* 2003). Ces micro-niches oxygénées peuvent alors produire des microenvironnements favorables pour les faunes benthiques et bactériennes (Jensen *et al.* 2007).

La présence de l'herbier agit également sur la matière organique par le piégeage de seston³ par les feuilles (Ward *et al.* 1984 ; Wilkie *et al.* 2012) et par la décomposition de phytosynthétats exsudés par les racines ou les tissus sénescents de la plante (Moriarty *et al.* 1985 ; Kaldy *et al.* 2006). L'activité bactérienne va ainsi être stimulée par la matière organique (Hansen *et al.* 2000 ; Holmer *et al.* 2001), le recyclage des nutriments sera alors accéléré. A l'inverse, les racines et les rhizomes des herbiers se décomposent lentement ce qui peut conduire à une forte accumulation de matière organique et de nutriments dans le sédiment. Nielsen *et al.* (2004) ont montré qu'il restait environ 50 % des détritiques de racine 2 ans après la mort de la plante.

³ Ensemble des particules organiques ou inorganiques, minérales, vivantes ou inertes, en suspension dans l'eau et dénuées de mobilité propre.

2.4. Déclin des herbiers de phanérogames marines

L'accroissement important des activités anthropiques dans les zones côtières affecte négativement le développement des herbiers de phanérogames marines (Waycott *et al.* 2009). A l'échelle du globe, 29 % de la surface d'herbiers de phanérogames ont disparu depuis 1879 (Waycott *et al.* 2009). Selon les écosystèmes étudiés, les causes sont souvent multiples et varient d'une zone à l'autre (Orth *et al.* 2006). En zones tempérées, le réchauffement climatique combiné à l'eutrophisation, c'est-à-dire à l'apport excessif de nutriments dans le milieu entraînant le développement de micro et macro algues réduit ainsi la pénétration de la lumière et inhibe la croissance de l'herbier (Figure 6). Les maladies, l'herbivorie ou même l'introduction d'espèces affectant les phanérogames par altération mécanique ont également été identifiées comme des causes du déclin des herbiers dans les régions tempérées (Orth *et al.* 2006).

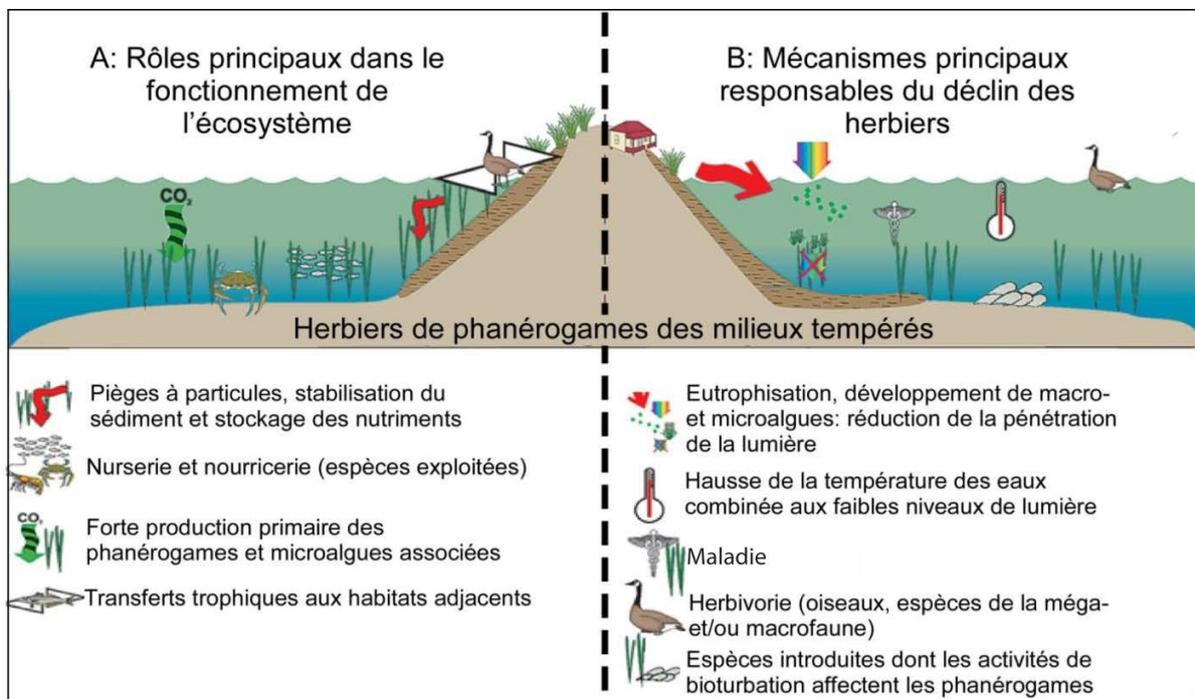


Figure 6 : Représentation schématique des rôles principaux joués par les herbiers de phanérogames marins dans le fonctionnement des écosystèmes côtiers tempérés (A), et des mécanismes majeurs responsables du déclin de ces mêmes herbiers (B) (modifiée d'après Orth *et al.* 2006 et Bernard, 2013).

3. LE BASSIN D'ARCACHON ET SES HERBIERS DE PHANEROGAMES MARINES

3.1. Présentation générale du Bassin d'Arcachon

Le Bassin d'Arcachon est une lagune mésotidale semi-fermée, de 174 km² située sur la façade atlantique des côtes françaises (Figure 7). L'amplitude de la marée de type semi-diurne est comprise entre 0,8 et 4,6 m. Cette lagune est connectée à l'Océan Atlantique par un système de passes de 2 à 3

km de large et de 12 km de long puis qui s'étendent dans la lagune par un réseau de chenaux. Un tiers de la superficie du Bassin d'Arcachon est occupé par des chenaux sableux de profondeur maximale de 20 m et prolongé par un réseau de chenaux secondaires moins profonds. Des platiers intertidaux composent le reste du Bassin, soit une superficie de 110 km². Ces platiers sont constitués de sédiments sableux fins recouverts vers l'aval par une couche de sédiments silto-vaseux. La majorité de la surface intertidale est peuplée par des herbiers à *Zostera noltei* (70 km²). Outre les phénomènes de marée qui assurent des échanges importants avec les eaux marines, le Bassin est également alimenté par des apports d'eau douce (provenant pour 73% de la Leyre ; Plus *et al.* 2010 et Canton, 2010). L'influence des eaux marines et continentales stratifie les eaux du Bassin en trois masses d'eau : les eaux externes, moyennes et internes (Bouchet *et al.* 1968).

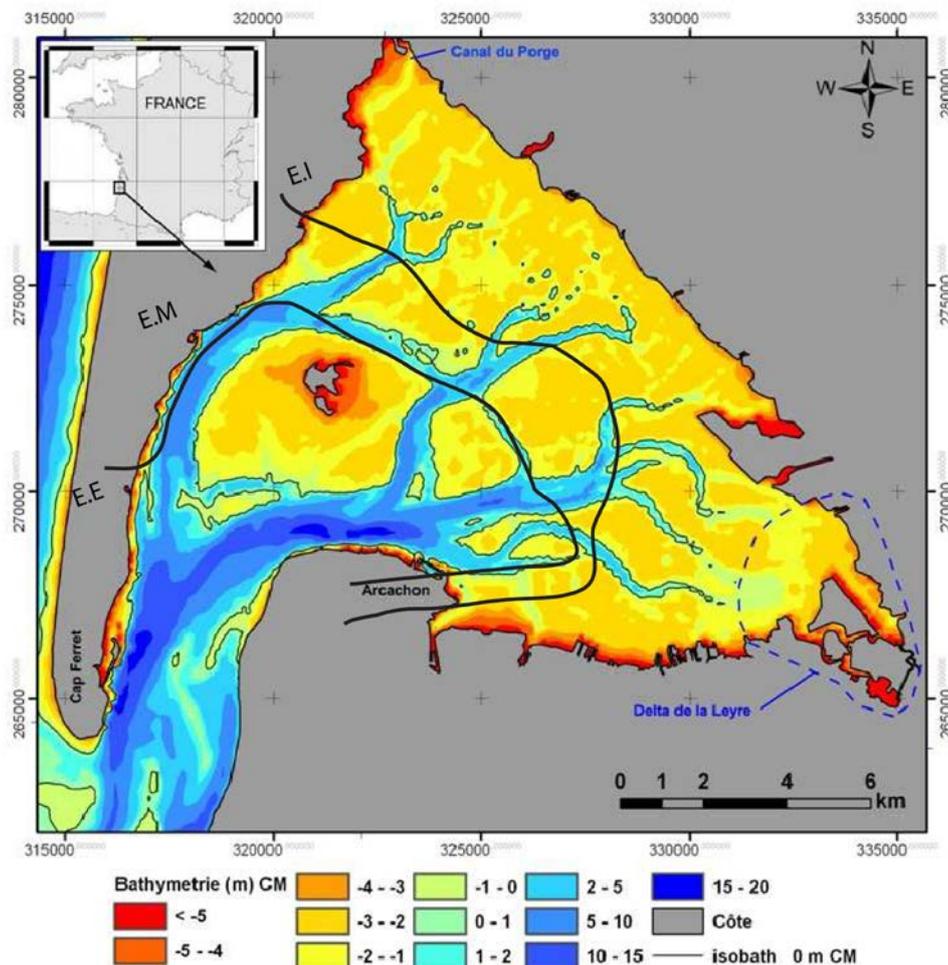


Figure 7 : Situation générale du Bassin d'Arcachon (Ganthy, 2011) et répartition des masses d'eau à pleine mer : E.E eaux externes (température 9,5–21°C ; salinité 34-35) ; E.M. eaux moyennes (température 6–22°C, salinité 27-33) et E.I. eaux internes (température 1–25°C, salinité 22-32). Régime annuel de température et de salinité de ces trois masses d'eau (modifiée d'après Bouchet *et al.* 1968 ; Plus *et al.* 2010 ; Delgard, 2013).

3.2. Répartition des herbiers de phanérogames marines dans le Bassin d’Arcachon

Zostera noltei et *Zostera marina* sont les deux espèces de phanérogames qui colonisent le Bassin d’Arcachon. *Zostera marina* est présente quasi exclusivement dans les chenaux c'est-à-dire dans le domaine subtidal soit sur 4 km² en 2008 alors que *Zostera noltei* couvre une surface de 46 km² (Auby *et al.* 2011a). L’herbier à *Zostera noltei* du Bassin d’Arcachon est considéré comme le plus grand herbier à *Zostera noltei* d’Europe (Auby and Labourg, 1996). Cette phanérogame marine se présente sous la forme de minces rhizomes rampants (de 0,5 à 2 mm de large) portant des faisceaux de 2 à 5 feuilles rubanées étroites (environ 2 mm de large et 10 à 30 cm de longueur) (Bernard, 2007).

Au cours des saisons, des variations de biomasses et de couvertures foliaires sont observées (Auby, 1991). La biomasse racinaire augmente de janvier à mars puis diminue d’août à décembre tandis que la biomasse foliaire croît de février à juin puis diminue de novembre à février (Auby and Labourg, 1996). La végétation est toutefois présente toute l’année mais aucune partie de l’appareil végétatif ne persiste une année entière (Bernard, 2007). La croissance apicale des rhizomes assure ainsi le maintien de l’herbier d’une année à l’autre dès lors que la température de l’eau dépasse 8-9°C. Début juin, lorsque la température de l’eau atteint 18°C, une production de tige fleurie est également observée (Ganthy, 2011).

3.3. Influence de l’herbier de *Z. noltei* sur les processus diagénétiques du Bassin d’Arcachon

Dans le Bassin d’Arcachon de nombreuses études ont mis en évidence le rôle majeur de l’herbier de *Zostera noltei* sur la biogéochimie benthique et notamment au travers des recherches menées dans les projets européens CLEAN (Coastal Lagoon Eutrophication and Anaerobic Processes, 1996) et ROBUST (the ROle of BUffering capacities in STabilising coastal lagoon ecosystems, 1996-1999). La production nette de cet herbier a été estimée à 36 000 t.an⁻¹ (en poids sec) (Auby and Labourg, 1996), correspondant à 720 t.an⁻¹ d’azote soit l’équivalent des apports directs d’azote inorganique dissous (essentiellement sous forme de nitrate) par le bassin versant (de l’ordre de 800 t.an⁻¹ en 2007 et 2008, Canton, 2009). En lien avec le cycle de croissance de ces phanérogames (Auby and Labourg, 1996), des mesures de flux de CO₂ par mesure de covariance des turbulences aux interfaces atmosphère-eau et atmosphère-sédiment ont montré que l’herbier à *Zostera noltei* domine la production nette de l’écosystème du Bassin d’Arcachon en été et à l’automne ((Polsenaere *et al.* 2012). Une activité photosynthétique de l’herbier plus intense à marée basse qu’à marée haute a également été montrée par ces mesures. Dans les travaux de Delgard (2013) et pour la première fois dans cet herbier, un pompage du carbone inorganique dissous et de silice dissoute a été mesuré dans les sédiments colonisé par *Zostera noltei*. La présence de cet herbier induit une zonation verticale marquée des profils de NH₄⁺,

de ΣCO_2 , de DIP (*i.e.* phosphore inorganique dissous) en lien directement avec les zones de production et de pompage de nutriments nécessaires pour le développement et la croissance de l'herbier. En 2008, Deborde et ses collaborateurs (2008) ont mis en évidence une dynamique du phosphore dissous en lien avec la dynamique saisonnière de l'herbier et le cycle du fer. Lors de la phase de croissance, le système racines-rhizomes forme une zone riche en oxydes de fer très probablement via des apports en oxygène par les racines déjà évoqués par Jonkers *et al.* (2000) et vérifiés par Delgard (2013). Les oxydes de fer adsorbent alors le phosphore dissous dans la rhizosphère constituant ainsi une réserve disponible pour l'herbier lors de la réduction de ces oxydes. A l'inverse, lors de la phase de dégénérescence de l'herbier et notamment du rhizome, la demande en phosphore dissous par l'herbier diminue et la réduction des oxydes de fer est stimulée par les apports importants en matière organique. L'herbier agit donc comme une source de phosphore dissous pour la colonne d'eau.

3.4. Déclin des herbiers de phanérogames marines dans le Bassin d'Arcachon

Les herbiers de *Zostera noltei* et *Zostera marina* semblent occuper le Bassin d'Arcachon depuis de nombreuses années (Auby *et al.* 2011a). Dès le début du XVIIIe siècle en effet, Masse (1708) signala la présence d'herbages abondants sur des vases limoneuses. Cependant une forte régression est observée sur les herbiers du Bassin d'Arcachon : entre 1989 et 2005, la superficie des herbiers à *Z. noltei* a diminué de 11 % (de 6845,8 ha en 1989 à 6092,0 ha en 2005 ; Plus *et al.* 2010 ; Auby *et al.* 2011a ; Figure 8).

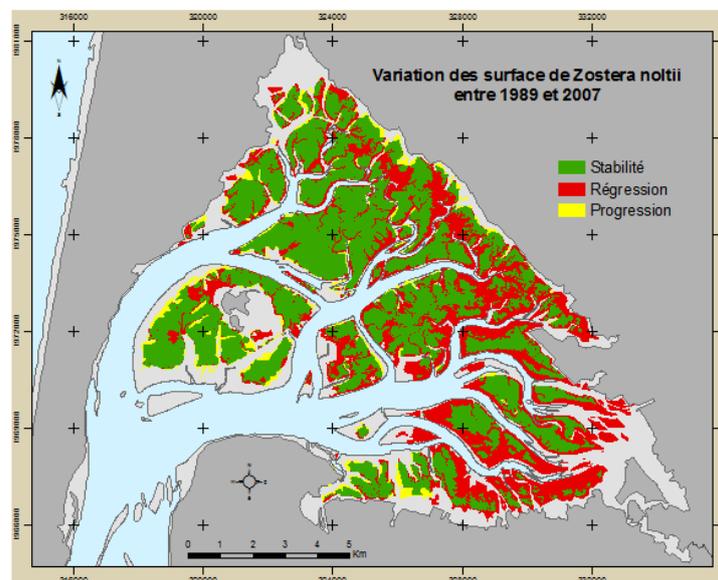


Figure 8 : Variation de l'extension des herbiers à *Zostera noltei* entre 1989 et 2007 (Plus *et al.* 2010 ; Auby *et al.* 2011a).

La régression a ensuite fortement accéléré pour atteindre en 2007 une perte de surface de 33 % par rapport à la situation de 1989 (Plus *et al.* 2010). Entre ces deux années (2005-2007), une progression

de 141,3 % des surfaces à faible recouvrement (< 25 %) associée à une diminution des surfaces présentant des couvertures foliaires moyennes et fortes respectivement de 18,0 % et 53,5 % ont été observées par Plus *et al.* (2010) et Auby *et al.* (2011a) (Figure 9 et tableau 1). Les fortes températures estivales de l'air et de l'eau mesurées entre 2003 et 2006 pourraient être la cause de ce fort déclin d'après les récents travaux de l'Ifremer (Auby *et al.* 2011a).

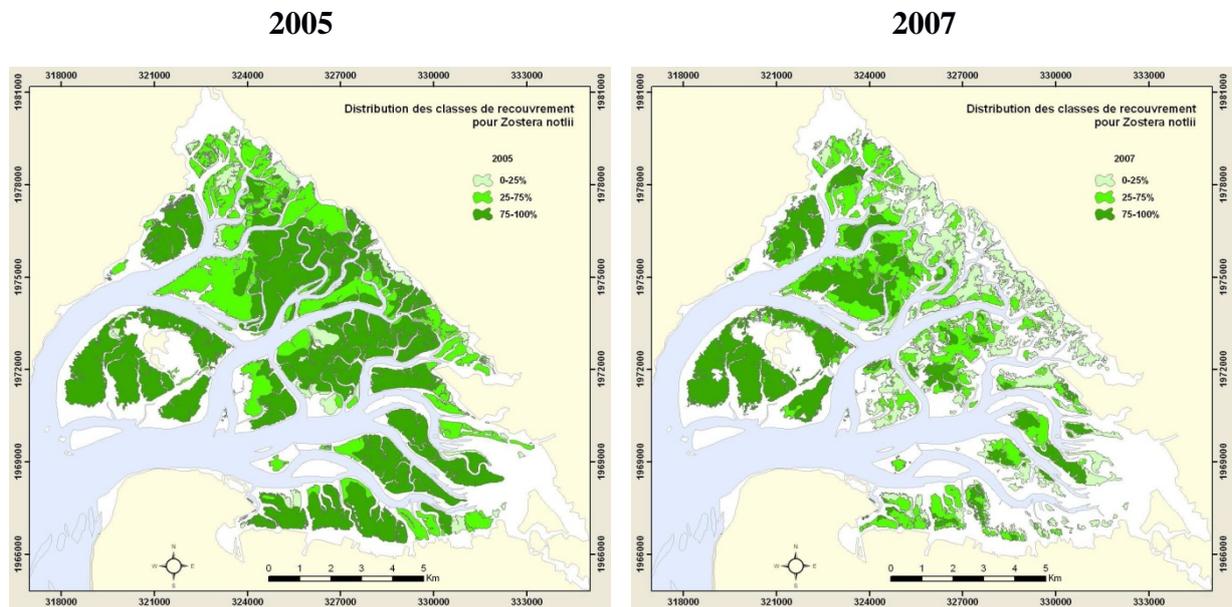


Figure 9 : Surface colonisée par l'herbier à *Zostera noltei* en 2005 et 2007 avec les différentes classes de recouvrement décrit dans le tableau 1 (Plus *et al.* 2010 ; Auby *et al.* 2011a).

Tableau 1 : Classification des recouvrements de *Zostera noltei* (Plus *et al.* 2010 ; Auby *et al.* 2011a)

Classes de recouvrement	< 25%	25 à 75%	> 75%
Signification	Herbiers discontinus et très souvent hétérogènes avec des taches disséminées ou des pieds dispersés en faible densité	Herbiers discontinus, présentant une alternance de taches recouvertes et de zones de substrat nu	Herbiers continus et homogènes présentant une forte couverture foliaire
Paysages			
Quadrats (30 x 30 cm)			

3.5. Le projet IZOFLUX et mes objectifs de thèse

Le projet IZOFLUX (Etude intégrée de l'Impact des herbiers de Zostères sur les processus et FLUX benthiques en milieu côtier ; ANR-10-BLAN-0612 ; 2011-2014) a pour objectif principal de caractériser les relations entre flux et processus benthiques dans les sédiments colonisés par les herbiers de *Zostera noltei* dans le Bassin d'Arcachon en regard des connaissances et des techniques les plus avancées dans le domaine de recherche sur les cycles des éléments biogènes, sur la microbiologie en lien avec ces cycles, et sur l'hydrodynamique sédimentaire. Mon doctorat s'insère dans ce projet. L'objectif de ces 3 années de recherche doctorale est d'étudier les microenvironnements créés dans les sédiments par les herbiers afin de comprendre le rôle et l'importance de l'herbier sur la dynamique biogéochimique et la faune des sédiments. En outre, cette étude s'intéresse aux environnements colonisés par *Zostera noltei* afin d'étudier si la présence de l'herbier peut induire la création de microenvironnements favorables pour les foraminifères benthiques, des organismes bio-indicateurs jouant un rôle assez peu connus, mais certain, dans les cycles géochimiques.

4. QUE SONT LES FORAMINIFERES BENTHIQUES ?

4.1. Généralités sur les foraminifères benthiques

Les foraminifères sont des organismes unicellulaires eucaryotes (protistes) mesurant entre 30 μm et 1 mm et dont la cellule est entourée par une coquille, le test. Ce test, de nature variable, forme une ou plusieurs chambres ou loges interconnectées qui renferment une cellule unique. Le test est synthétisé par le cytoplasme et peut être soit organique (sous-ordre des Allogromida), agglutiné lorsqu'il est formé de grains prélevés dans le sédiment, carbonaté lorsqu'il est formé à partir de calcite et siliceux pour quelques espèces (Figure 10).

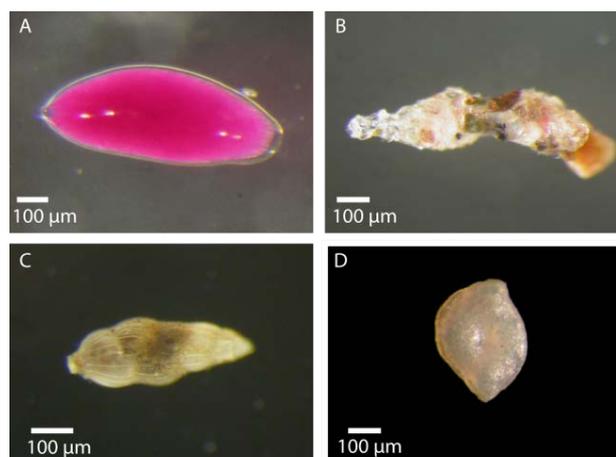


Figure 10 : Tests de foraminifères : organique (A, *Allogromid* sp., cytoplasme coloré au Rose Bengale ; LPG-BIAF, C. Caille), agglutiné (B, *Reophax scorpiurus* ; LPG-BIAF, C. Caille), carbonaté (C, *Uvigerina peregrina* ; LPG-BIAF, C. Caille) et siliceux (D ; *Rzehakina lata* ; Setoyama *et al.* 2011).

Les foraminifères sont dits benthiques lorsqu'ils vivent sur et/ou dans le sédiment des fonds marins, à la différence des foraminifères planctoniques qui vivent dans la colonne d'eau. Les foraminifères peuvent produire des extensions cytoplasmiques : les pseudopodes, leur permettant de se déplacer, se nourrir, se protéger, de respirer et de se reproduire (Goldstein, 1999). Ces pseudopodes s'étendent sur 1 cm de long par l'ouverture ou les ouvertures du test (Murray, 2002). Les foraminifères benthiques sont des organismes principalement organo-hétérotrophes, c'est-à-dire qu'ils ont besoin d'apports énergétiques organiques pour leur métabolisme. Ils utilisent ainsi la matière organique qu'ils consomment comme source de carbone. Plusieurs modes de nutrition existent, certaines espèces sont herbivores, détritivores (se nourrissant de débris déposés dans le sédiment), suspensivores (consommant les particules en suspension dans l'eau) ou encore carnivores (Dupuy *et al.* 2010) ou bactériophages (se nourrissant des bactéries présentes dans le sédiment) (Debenay *et al.* 1996). Certaines espèces vivent en symbiose avec des végétaux ou des bactéries (Hallock, 1999 ; Bernhard and Bowser 1999 ; Bernhard, 2003). La reproduction des foraminifères peut être alternativement sexuée (gamogonie) et asexuée (schizogonie) (Murray 2006). Ce mode de reproduction leur confère une diversité morphologique. Ainsi la taille du proloculus (loge initiale) varie en fonction du mode de reproduction : le mode sexué se fait par fusion de deux gamètes haploïdes et produit des individus diploïdes qui forment un proloculus de petite taille (individus microsphériques) ; le mode asexué qui est légal pour l'individu parent, consiste en l'héritage du noyau et d'une partie du cytoplasme parental et présente un proloculus de grande taille (individus mégasphériques). Les loges suivantes sont construites successivement. Une nouvelle loge est construite en moyenne en 24 h au cours des stades de croissances pour une durée de vie totale pouvant aller jusqu'à plusieurs mois (Debenay *et al.* 1996).

4.2. Ecologie et métabolisme des foraminifères benthiques

Les foraminifères benthiques sont abondants et ubiquistes, vivant dans tous les types d'environnements marins et transitionnels (Murray 2006). Plusieurs facteurs influencent la distribution des espèces de foraminifères benthiques à petite comme à grande échelle. En milieu côtier, la salinité, la température, la nature du sédiment, la couverture végétale, la pénétration de la lumière et la disponibilité en nutriments et en accepteurs d'électrons sont des paramètres qui contrôlent fortement la distribution des différentes espèces (Debenay *et al.* 2000 ; Murray, 2006). Les foraminifères benthiques ne vivent cependant pas exclusivement à l'interface eau-sédiment, ils peuvent être retrouvés vivant (colorés au Rose Bengale) en profondeur jusqu'à 16 cm dans les sédiments marins (Bouchet *et al.* 2009). La distribution des foraminifères benthiques et les microhabitats associés ont été observés dans de nombreux environnements marins ouverts mais restent à ce jour encore difficilement distinguables dans les milieux côtiers (Buzas *et al.* 1993). En milieu marin ouvert profond, les études de la distribution verticale des foraminifères benthiques dans la colonne sédimentaire ont montré l'existence d'une succession d'espèces suggérant la colonisation de microhabitats spécifiques (Corliss 1985 ; Jorissen, 1999). Certaines espèces vivent donc à la surface du sédiment, ce sont les formes

épipéliques, et d'autres vivent dans le sédiment, elles sont endopéliques. Trois microhabitats endopéliques peuvent être identifiés : superficiel, intermédiaire et profond en fonction de la profondeur de vie des espèces (Figure 11). Cependant le microhabitat n'est pas statique et les espèces peuvent vivre à différentes profondeurs en fonction des conditions d'oxygénation et de flux organique (Jorissen, 1999). Verticalement ce sont en effet les apports en matière organique (quantité et qualité) et l'oxygène qui jouent un rôle prépondérant sur la répartition des foraminifères benthiques (Figure 11). La zonation verticale de certains éléments de la séquence diagénétique (*i.e.* les nitrates ou les sulfures ; Figure 11) ainsi que la compétition inter- et intra-spécifique semblent également régir cette distribution des faunes de foraminifères benthiques au sein de la colonne sédimentaire dans les milieux marins ouverts.

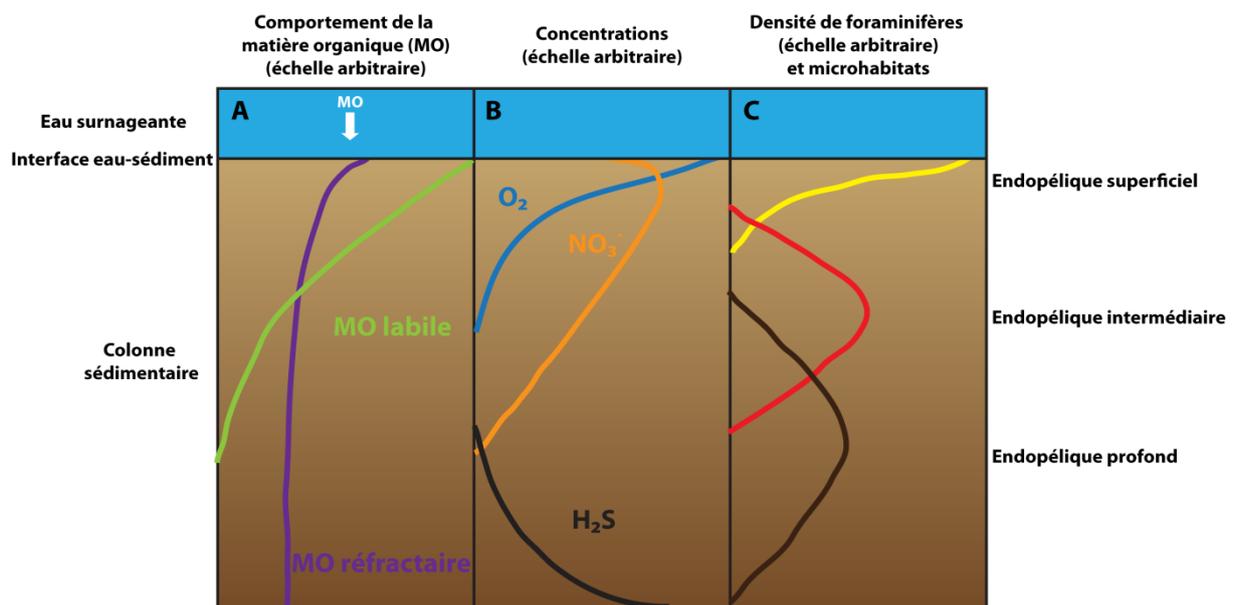


Figure 11 : (A) Comportement de la matière organique (MO), (B) de la concentration en oxygène, nitrate et sulfures et (C) de la densité de foraminifères benthiques associée aux différents microhabitats endopéliques en fonction de la profondeur dans la colonne sédimentaire (échelle arbitraire dépendant de la quantité de matière organique) (modifiée d'après Langlet, 2014).

Lorsque l'oxygène est absent, certains foraminifères peuvent être encore présents. A partir de 2006, Risgaard-Petersen et ses collaborateurs ont démontré que certaines espèces (par exemple, *Globobulimina pseudopinescens*, *N. cf. stella*, *Stainforthia sp.*) sont capables de stocker de grandes quantités de nitrate et de les respirer lorsque l'oxygène n'est plus disponible (Risgaard-Petersen *et al.* 2006 ; Høglund *et al.* 2008 ; Pina-Ochoa *et al.* 2010a, 2010b ; Koho *et al.* 2011 ; Bernhard *et al.* 2012). Ces études ont ainsi permis de mieux appréhender l'importance des foraminifères dans les cycles biogéochimiques. La vision traditionnelle du cycle biogéochimique de l'azote en milieu marin a alors été remise en question : la dénitrification n'est pas exclusivement réalisée par les bactéries, les foraminifères peuvent contribuer entre 8 et 80 % de l'activité de dénitrification benthique selon les environnements (Pina-Ochoa *et al.* 2010a). La dénitrification comme le stockage de nitrate intracellulaire n'est pas une capacité que l'on retrouve chez toutes les espèces de foraminifères

capables de vivre dans des environnements dépourvus d'oxygène. Pour expliquer la survie de ces espèces non dénitrifiantes en milieu suboxique et/ou anoxique, plusieurs hypothèses ont été examinées. La présence de bactéries méthanogènes et réductrices de sulfates endo- et ecto-biontes chez de nombreuses espèces de foraminifères benthiques pourrait faciliter la vie en anoxie (Bernhard and Reimers 1991 ; Bernhard and Alve 1996 ; Bernhard *et al.* 2000). Les bactéries symbiotiques pourraient alors permettre de détoxifier les eaux porales en oxydant les sulfures (Bernhard and Gupta 1999). Grzymiski *et al.* (2002) proposent une hypothèse basée sur la présence des chloroplastes séquestrés chez *Nonionella stella*. Les chloroplastes serviraient à l'assimilation de l'enzyme nitrate réductase permettant ainsi une utilisation d'azote inorganique par l'hôte. Bernhard and Bowser (2008) remarquent également une agrégation de réticulum endoplasmique et de peroxyosomes dans des individus présents dans des environnements appauvris en oxygène et riches en matière organique. Les foraminifères pourraient utiliser des dérivés de l'oxygène (*e.g.* H₂O₂) qui seraient oxydés à l'aide des peroxyosomes pour générer de l'oxygène utilisable par les mitochondries. Plus récemment Nomaki *et al.* (2014) ont mis en avant la capacité que possède *Ammonia tepida* à faire de la dénitrification grâce à une symbiose bactérienne. A ce jour, les connaissances sur les mécanismes permettant aux foraminifères benthiques de survivre en anoxie restent parcellaires et ne permettent pas de montrer la probable diversité de métabolismes anaérobies chez les foraminifères. Mais ce champ d'investigation encore nouveau est fondamental pour la compréhension des enregistrements fossiles et pour le bon usage des foraminifères en bio-indication.

4.3. Application des foraminifères benthiques

En raison de leur cycle de vie réduit allant de 1 à 3 mois (voire 1 an maximum ; Murray, 1991), de leur forte densité et diversité dans les sédiments et de leur demande écologique caractéristique à chaque espèce (voir partie suivante), les foraminifères benthiques sont considérés comme de bons bio-indicateurs de leur environnement. Les foraminifères benthiques sont utilisés dans cinq grandes catégories d'étude (Murray, 2006) : 1) dans les études stratigraphiques et biostratigraphiques comme principal microfossile des conditions marines ; 2) pour l'interprétation des environnements passés tels que les marais, les lagons salés dans les enregistrements géologiques (*i.e.* les études paléo-écologiques) ; 3) dans l'interprétation de processus de l'environnement comme la paléoproduktivité, la diminution d'oxygène, les changements de stratification de la colonne d'eau. (*i.e.* les études paléo-océanographiques) ; 4) comme marqueurs de changements environnementaux naturels (*e.g.* niveau marin, climat) et 5) pour l'enregistrement des changements induits par les activités humaines. Néanmoins, leur utilisation peut s'avérer complexe dans les milieux côtiers en raison de la bioturbation importante et des problèmes de préservation des tests.

4.4. Les foraminifères benthiques du Bassin d’Arcachon

Au cours de sa thèse de doctorat, Le Campion (1966) a effectué un recensement des espèces de foraminifères benthiques présentes dans le Bassin d’Arcachon. Les foraminifères vivants (coloré au Rose Bengale) et morts du premier centimètre du sédiment sont identifiés et comptés, donnant l’unique aperçu des assemblages du Bassin d’Arcachon. Les assemblages retrouvés dans le Bassin d’Arcachon se composent principalement d’*Ammonia tepida*, d’*Elphidium excavatum*, d’*Haynesina germanica*, d’*Ammoscalaria pseudospiralis*, de *Reophax findens*, d’*Eggerella scabra* et de *Miliammina fusca* en quantité variable selon les zones observées. Dans ses travaux, Le Campion, (1966) s’intéresse notamment aux environnements colonisés par l’herbier à *Zostera noltei*. Il y découvre alors des densités de foraminifères plus importantes que dans les sédiments sans végétation ainsi que des espèces inféodées à l’herbier comme *Eggerella scabra*.

5. LES DEFIS TECHNOLOGIQUES EN BIOGEOCHIMIE ET EN ECOLOGIE BENTHIQUE

5.1. Méthodologies pour l’étude des biocénoses de foraminifères benthiques

L’étude de la distribution verticale des foraminifères benthiques vivants est réalisée traditionnellement par un prélèvement de carottes de sédiment à l’aide d’un tube en PVC (Arnold 1974). En milieu côtier, ce prélèvement est effectué manuellement lorsque la station est intertidale et est réalisé au moyen d’un carottier en milieu subtidal (Murray, 2006). La carotte de sédiment est ensuite découpée en tranches de différentes épaisseurs. Ce pas d’échantillonnage varie en fonction de la nature du sédiment, plus il sera compact et pauvre en végétation et bioturbation, plus il sera simple de le découper finement. Alve et Murray (2001a) et Pappaspyrou *et al.* (2013) proposent des études sur les microhabitats à la résolution de 2,5 et 2 mm respectivement. Néanmoins, des intervalles de 5 mm à 1 cm constituent la norme (*e.g.*; 5 mm : Ernst *et al.* 2005 ; Pucci *et al.* 2009 ; Langlet *et al.* 2013, 2014a). Une fois la carotte découpée, les sédiments sont ensuite traités avec un marqueur de vitalité. Le Rose Bengale est le colorant le plus régulièrement utilisé pour distinguer les individus vivants des individus morts (Scott *et al.* 2001 ; Murray 2006). Le Rose Bengale s’adsorbe aux protéines et colore ainsi en rose le cytoplasme des organismes présentant des protéines dans la cellule (Walton, 1952). Néanmoins cette méthode peut s’avérer peu discriminante en raison de la lenteur de la dégradation des protéines après la mort des individus notamment sous conditions anoxiques (Bernhard, 2000). Pourtant le Rose Bengale est largement utilisé dans les études écologiques car il a l’avantage d’être peu coûteux et simple d’utilisation. Pour des études précises sur les biocénoses de foraminifères, une méthode plus récente utilisant un marqueur fluorescent (le Cell TrackerTMGreen (CTG)) permet d’étudier la vitalité des organismes (Bernhard and Bowser, 1996). Le CTG est un marqueur qui ne fluoresce qu’après

modification de la molécule originale par fixation d'un aldéhyde (*e.g.* formaldéhyde). Cette modification se fait grâce à l'action des enzymes contenues dans la cellule vivante du foraminifère. Ces enzymes sont fragiles et fonctionnelles uniquement dans une cellule vivante. Etant fluorescent, l'observation des individus vivants ne peut être faite qu'à l'aide d'une loupe à épifluorescence. Cette méthodologie s'avère donc plus coûteuse que la précédente mais semble néanmoins avantageuse pour des études dans des milieux hypoxiques à anoxiques (Pucci *et al.* 2009 ; Langlet *et al.* 2013, 2014a) où la dégradation de la cellule après la mort de l'individu est longue. Elle paraît absolument nécessaire dans les milieux très dynamiques soumis aux cycles tidaux et nyctéméraux comme c'est le cas dans cette étude.

5.2. Méthodologies pour l'étude de la biogéochimie benthique

En biogéochimie benthique, différentes techniques d'échantillonnage sont utilisées afin d'étudier les processus diagénétiques des premiers centimètres du sédiment. Ces techniques intègrent des échelles spatiales et temporelles différentes selon la technique utilisée, qu'elle soit réalisée directement sur le terrain (*in situ*) ou en laboratoire après prélèvement (*ex situ*) (Tableau 2). Les premiers centimètres du sédiment concentrent en effet les réactions les plus intenses de la diagenèse précoce où la faune et la flore benthiques vivent et interagissent avec le sédiment modifiant ses propriétés physico-chimiques. Dans les environnements côtiers, ces processus s'établissent notamment sur des échelles spatiales allant de quelques μm à plusieurs cm (*e.g.* bioturbation), et sur des échelles temporelles allant de quelques secondes à plusieurs heures (*e.g.* phénomènes de crue, variations tidales).

Au cours des 30 dernières années, de nombreuses avancées dans la recherche en biogéochimie benthique marine ont été réalisées. Ces recherches ont bénéficié de développements technologiques importants (Viollier *et al.* 2003). Jusqu'aux années 1970, la majorité des mesures chimiques était réalisée *ex situ* (à bord des bateaux ou en laboratoire), utilisant majoritairement les prélèvements de carottes (Figure 12A) suivies d'une phase de séparation des eaux interstitielles de la phase particulaire par centrifugation ou pressage des sédiments (Schulz, 2006). Le souhait de mesurer les propriétés du sédiment en conditions naturelles est très vite apparu. La mesure *in situ* permet ainsi de réduire les modifications que peut subir le sédiment entre son prélèvement et son analyse. L'utilisation de dialyseurs de type peeper a dès 1976 a permis de réaliser des prélèvements d'eau interstitielle *in situ* (Hesslein, 1976). Il s'agit de supports en plastiques composés de compartiments dans lesquels sont placés de l'eau désoxygénée. Une fois en place, les espèces chimiques dissoutes du milieu diffusent dans le peeper sous l'effet de leur gradient de concentration jusqu'à atteindre un équilibre entre le milieu ambiant et le dialyseur. Les prélèvements réalisés par les peepers permettent ainsi de quantifier à une échelle centimétrique notamment des gaz dissous (*e.g.* O_2 , ΣCO_2), des éléments traces (Davison *et al.* 2000) ou des nutriments (*e.g.* NO_3^- , PO_4^{3-}) et des métaux (*e.g.* Fe^{2+} , Mn^{2+}) selon la méthode

analytique choisie. Néanmoins cette méthodologie présente l'inconvénient d'une préparation longue et d'un temps d'équilibration important.

Tableau 2 : Comparaison de techniques d'échantillonnage en biogéochimie benthique selon l'échelle spatiale et l'échelle temporelle étudiées, et selon les conditions de mesure (*in* ou *ex situ*).

Echelle verticale	Représentativité temporelle	<i>In / ex situ</i>
Centimétrique à millimétrique	-	-
Carottage (Figure 12A): - Centrifugation (Schulz 2006) - Pressage (Schulz 2006)	« Ponctuelle »	<i>Ex situ</i> <i>Ex situ</i>
Peepers (Hesslein 1976)	Jours	<i>In situ</i>
Millimétrique à sub-millimétrique	-	-
Microélectrodes (Revsbech <i>et al.</i> 1980 ; Figure 12B)	Minutes	<i>In et ex situ</i>
DET (Davison <i>et al.</i> 1991a) ; Figure 12D), DGT (Davison and Zhang 1994) ; Figure 12E), DGT 2D (Davison <i>et al.</i> 1997), DET 2D (Shuttleworth <i>et al.</i> 1999) : Figure 12F)	Heures - jour	<i>In et ex situ</i>
Optodes planaires (Klimant <i>et al.</i> 1995; Klimant and Wolfbeis 1995) (Figure 12H)	Secondes	<i>In situ</i>

La compréhension de la biogéochimie sédimentaire et des flux a par ailleurs été révolutionnée par l'utilisation de chambres benthiques pour la réalisation d'incubations (Smith and Teal, 1973 ; Figure 12G) et de profileurs à microélectrodes *in situ* (Reimers, 1987 ; Figure 12B). Les incubations *in situ* par chambres benthiques ont permis de quantifier les flux existants à l'interface eau-sédiment tandis que les profileurs *in situ* à microélectrodes ont servi à déterminer la concentration d'espèces chimiques des eaux porales à une échelle submillimétrique. Jusque dans les années 1980, l'existence d'une couche oxique dans le sédiment côtier relevait de la simple hypothèse. Aujourd'hui la résolution de quelques micromètres permet même la quantification de flux diffusifs benthiques en milieux eutrophes, dans lesquels l'oxygène disparaît très rapidement (Glud 2008).

Des avancées importantes ont également été réalisées par l'introduction dans les sédiments d'optodes planaires (Klimant *et al.* 1995; Klimant and Wolfbeis 1995 ; Figure 12H). Cette méthodologie a ainsi permis de quantifier en 2 dimensions (2D) la distribution de l'oxygène dissous, du pH et de pCO₂ (Glud *et al.* 1996, 2001 ; Wenzhöfer and Glud 2004 ; Zhu *et al.* 2005, 2006b, 2006a ; Schröder *et al.* 2006 ; Zhu and Aller, 2012). En parallèle, deux méthodes basées sur l'utilisation d'hydrogels ont été

développées afin d'évaluer les concentrations des métaux et des métaux traces dans les sédiments : les « diffusional equilibration in thin-films » (DET) et les « diffusional gradients in thin-films » (DGT) (Figure 12D, Figure 12E). Ces deux méthodes se basent sur l'utilisation d'un gel hydraté d'épaisseur inférieure à 1 mm et sur le principe de diffusion des espèces chimiques dissoutes entre l'eau interstitielle et le gel.



Figure 12 : (A) Carottes de sédiment prélevé à l'Etang de Berre (GIS, S. Rigaud), (B) Microélectrode à oxygène (EPOC, B. Deflandre), (C) Peepers (EPOC, B. Deflandre) ; (D) DET 1D (bioecologie-overblog.com), (E) DGT 1D (mn.uio.no), (F) DET 2D (Jézéquel *et al.* 2007), (G) Cloches benthiques (EPOC, B. Deflandre), (H) Optode planaire à oxygène avec son schéma explicatif (HGF MPG Group for Deep-Sea Ecology and Technology, J. Fischer).

Le DET se compose d'une couche d'hydrogel séparée du milieu extérieur par une fine membrane poreuse (seuil de coupure 0,45 ou 0,2 μm en général) ne laissant diffuser que les espèces chimiques de petites tailles, et par ailleurs maintenant en place et protégeant le gel de la contamination par les particules. Tout comme la technique des peepers, le DET est basé sur le principe d'équilibre des concentrations des espèces chimiques entre le gel et l'eau interstitielle. L'utilisation d'un hydrogel à la place de l'eau des loges des peepers permet une miniaturisation du dispositif, ce qui présente le double avantage d'améliorer la résolution spatiale (millimétrique pour le DET, centimétrique pour le peeper) et de diminuer considérablement le temps d'équilibration (quelques heures contre quelques jours à semaines pour le peeper). Les DET ont été utilisés pour la première fois par (Davison *et al.* 1991a) pour la mesure du fer dissous en 1D. Par la suite cette technique de DET 1D a été appliquée pour les analyses de nombreuses espèces chimiques telles que Mn^{2+} (Davison *et al.* 1994), NO_3^- , SO_4^{2-} (Krom

et al. 1994), NH_4^+ , alcalinité, ΣCO_2 Ca, Cl, Br (Mortimer *et al.* 1998), Mg, K (Zhang *et al.* 1999), Cd, Cr, Cu, Pb, Zn (Yu *et al.* 2000), U, Re, Mo (Morford *et al.* 2003). Cependant en raison du faible volume d'échantillon recueilli et de la dilution souvent nécessaire pour appliquer une méthode d'analyse, la limite de détection de cette technique peut s'avérer être une limitation pour la mesure de certaines espèces chimiques. En comparaison, la technique DGT, développée par Davison et Zhang (1994), repose sur le contrôle du flux de diffusion des composés dissous de la solution extérieure vers une couche fixatrice dans laquelle les composés se concentrent permettant d'atteindre des niveaux de détection compatibles avec le dosage des éléments traces dans l'environnement. Cette technique sépare les espèces chimiques cinétiquement : les solutés diffusent librement au travers du gel (*i.e.* la couche de diffusion) et sont ensuite immobilisés par une phase fixatrice (*i.e.* couche d'accumulation) placée à l'arrière du gel qui préconcentre alors certaines espèces dissoutes selon la phase utilisée (*e.g.* résine échangeuse d'ions Chelex® Bio Rad pour les métaux de transition principalement divalents ; ferrihydrite pour le phosphate ; AgI pour les sulfures ; résine échangeuse de cations (AG50W-X8, Bio Rad) ou échangeuse d'anions (AG 1-X8, Bio Rad) pour la mesure respectivement du Cs, Sr, nitrate et ammoniacque en eau douce ; résine sélective (AMP) pour la mesure du Cs dans l'eau de mer ; TiO_2 pour les oxoanions (PO_4 , As,...) ; voir revue dans Davison *et al.* 2000). La résine Chelex par exemple, constitue un puits sélectif pour les métaux de transition qui ont une grande affinité pour les groupes fixateurs $-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COO}^-)_2$. Pendant le déploiement dans une solution ou un sédiment, il se crée un gradient de concentration entre la couche de résine et le milieu extérieur qui va induire une diffusion des métaux traces à travers la membrane et la couche de gel diffusif et induire leur accumulation dans la résine au cours du temps. Le déploiement est alors effectué pendant un temps précis afin de calculer la concentration exacte de l'espèce chimique (C_{DGT}) par application de la loi de diffusion de Fick au travers du gel dont l'épaisseur est connue. Le calcul de la concentration nécessite d'être à l'état stationnaire pendant le déploiement. Cette condition est remplie en milieu ouvert et stable (*e.g.* colonne d'eau) dans lequel la concentration ne varie pas car le milieu au contact avec le DGT est continuellement renouvelé ce qui n'est pas le cas dans les sédiments. Ainsi dans les sédiments, la masse de métal accumulée dans la résine d'un DGT déployé dans un sédiment est fonction de deux processus : 1) la création d'un gradient de concentration au sein des eaux interstitielles et la mise en place d'un flux diffusif entre la zone appauvrie en métal au contact du DGT et les zones adjacentes, et 2) le déséquilibre entre la phase solide et l'eau interstitielle qui peut être compensé par une désorption s'il existe un réservoir labile du métal ciblé sur la phase solide. Le flux de métal imposé par le DGT intègre ces deux informations et seuls des modèles numériques de transport-réaction des métaux dans le DGT et les sédiments permettent de déconvoluer chacun des processus (diffusion *versus* désorption ; *e.g.* DIFS, Harper *et al.* 2000 ; Sochaczewski *et al.* 2007 ; Ciffroy *et al.* 2011).

A partir de 1997, Davison et ses collaborateurs ont adapté les DGT pour une approche en 2D permettant d'étudier les distributions hétérogènes des métaux traces dans les sédiments. Cette approche bidimensionnelle a ensuite été développée pour les DET par Shuttleworth *et al.* (1999). Puis

plus récemment, les DET ont été combinés aux méthodes colorimétriques afin d'analyser très rapidement et en 2D le fer dissous puis les phosphates et l'alcalinité (Jézéquel *et al.* 2007 ; Robertson *et al.* 2008 ; Pagès *et al.* 2011, 2012 ; Bennett *et al.* 2015). Cette approche peu coûteuse permet d'obtenir une image à haute résolution et en 2D de la distribution d'espèces chimiques. Au cours de ce doctorat, un développement méthodologique pour l'analyse simultanée et en 2D du fer dissous et du phosphate a été réalisé et est présenté dans le **chapitre 3** de ce manuscrit (Cesbron *et al.* 2014). Dans le **chapitre 5** est également présentée l'analyse préliminaire de l'ammonium, du nitrite et du nitrate en 2D.

6. OBJECTIFS ET STRATEGIE DE L'ETUDE

La présence d'un herbier induit de nombreuses modifications physiques, biogéochimiques et biologiques favorisant son développement, ce qui leur confère le rôle d'« ingénieurs de l'écosystème » (Wright and Jones, 2006). Les herbiers sont considérés comme un composant essentiel des environnements côtiers lagunaires qu'ils colonisent (Larkum *et al.* 2006) mais sont pourtant en régression sur l'ensemble du monde (Orth *et al.* 2006 ; Waycott *et al.* 2009). Afin de mieux comprendre le rôle et l'importance des herbiers sur la dynamique biogéochimique et sur la faune des sédiments et notamment pour l'herbier de *Zostera noltei* des sédiments intertidaux du Bassin d'Arcachon, le projet IZOFLUX a été mis en place entre 2011 et 2014, réunissant de nombreux acteurs scientifiques (*i.e.* biogéochimistes, benthologues, microbiologistes, sédimentologues, modélisateurs). Dans les sédiments, de nombreuses études ont mis en avant la capacité qu'avait les herbiers à relarguer de l'oxygène et à fournir de la matière organique par les exsudats racinaires et par la dégradation des rhizomes. De tels relarguages peuvent alors permettre la création de microenvironnements géochimiques et de microniches pouvant être favorables au développement d'organismes benthiques. Cette thèse a pour objectifs :

- 1) De décrire à l'échelle submillimétrique les microenvironnements géochimiques générés par la présence d'herbiers et leur impact sur la spéciation, la mobilité et le recyclage benthique d'éléments tels que le fer, le phosphore, l'azote et le soufre.
- 2) De mieux comprendre les interactions qui peuvent exister entre le fonctionnement des herbiers et l'écologie des foraminifères benthiques à différentes échelles (décimétrique à submillimétrique), un groupe d'organismes dont l'influence sur les cycles biogéochimique en milieu marin est trop souvent négligée.

Pour cela une première approche consiste à étudier l'écologie des foraminifères benthiques à l'échelle de la station et à résolution centimétrique afin d'actualiser les connaissances au même niveau que la littérature récente. Une seconde approche réside dans le développement de techniques d'analyse à l'échelle des individus (*i.e.* micrométrique) permettant d'étudier leur métabolisme et les microenvironnements géochimiques dans lesquelles ils semblent mieux adaptés au regard de certaines

fonctions métaboliques spécifiques. Un des objectifs de cette étude est l'élaboration d'une technique permettant d'étudier simultanément et à l'échelle du réseau racinaire, la distribution des foraminifères et la biogéochimie des sédiments afin d'observer en parallèle la répartition des espèces chimiques majeures pour la distribution des foraminifères benthiques et la croissance de l'herbier (*i.e.* O₂, NO₃⁻, H₂S pour les foraminifères et NO₃⁻, PO₄³⁻, NH₄⁺ pour l'herbier), les structures biologiques et/ou sédimentaires et l'habitat des foraminifères benthiques.

La première partie de cette thèse (**Chapitre 1**) porte tout d'abord sur l'étude de l'écologie des foraminifères benthiques dans les sédiments à herbiers de *Zostera noltei* du Bassin d'Arcachon à l'échelle de la station d'échantillonnage. Cette étude a pour objectif d'étudier conjointement 1) l'influence de l'herbier sur la distribution verticale des foraminifères benthiques et 2) la contribution des foraminifères à la minéralisation aérobie de la matière organique dans ces sédiments à herbiers. Les différentes études réalisées sur le Bassin d'Arcachon et notamment sur le site intertidal de Germanan au sein des projets ANR IZOFLUX et BIOMIN ont permis de confronter les données des foraminifères benthiques et des données géochimiques (*i.e.* O₂, pH) et de la matière organique (*i.e.* TOC, pigments). Ce chapitre fait l'objet d'un article soumis au numéro spécial du congrès ISOBAY dans la revue *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.

Dans un second temps, le **chapitre 2**, présente l'étude des fonctions biologiques de la cellule d'une espèce de foraminifères intertidaux. L'objectif de cette étude est d'établir la mixotrophie⁴ chez *Haynesina germanica* et les conséquences écologiques d'une telle stratégie dans un milieu à herbier.

L'ensemble des travaux menés dans ces deux chapitres traite des foraminifères benthiques, de leur écologie et leur réactivité dans les sédiments du Bassin d'Arcachon face à la quantité et qualité de la matière organique, à la présence d'oxygène et à la lumière à l'échelle de la station d'étude. Cependant, afin de comprendre la réponse de ces espèces à l'échelle du réseau racinaire et de comprendre la chimie des microhabitats et les processus qui les contrôlent, les **chapitres 3 et 4** traitent de la distribution en 2D d'espèces chimiques dissoutes majeures pour l'herbier et représentatives de la diagenèse précoce des sédiments (*i.e.* phosphates, Fe²⁺, H₂S) à l'échelle du réseau racinaire.

Le **chapitre 3** expose une méthode de quantification du fer dissous et du phosphate en deux dimensions utilisant un gel de polyacrylamide dans l'objectif de mesurer simultanément ces deux espèces chimiques dans les sédiments. Pour se faire, cette méthode intègre l'utilisation d'une caméra hyperspectrale afin de déconvoluer les signaux de chacune des espèces chimiques et de quantifier à haute résolution chacune d'elles à partir d'un seul gel de polyacrylamide. Sur cette même sonde, une donnée qualitative de H₂S est également fournie par l'utilisation d'un DGT. Ce travail est publié dans *Environmental Science and Technology*.

⁴ La mixotrophie est la capacité à utiliser plusieurs sources de carbone par autotrophie et hétérotrophie

Cette nouvelle méthodologie a été déployée sur le Bassin d'Arcachon dans le but d'étudier à haute résolution 1) l'influence de l'herbier à *Zostera noltei* sur la distribution simultanée du fer dissous, des phosphates et des sulfures et 2) les processus existants entre la distribution de ces trois espèces chimiques. Ce chapitre (**chapitre 4**) est mis en page pour une publication future.

Afin de répondre à notre objectif méthodologique principal pour l'étude simultanée de la géochimie et de la méiofaune à l'échelle du réseau racinaire, différentes techniques appliquées ou développées dans le cadre de cette thèse ou de la thèse d'Aubin Thibault sont présentées dans le **chapitre 5** permettant 1) d'approfondir l'étude des espèces chimiques influentes pour les sédiments à herbiers et pour les foraminifères (*e.g.* NO_3^-) et 2) de faire le lien entre l'étude écologique et la biogéochimie benthique. Dans un premier temps un développement méthodologique permettant d'étudier en 2D les espèces azotées principales (NO_3^- , NO_2^- et NH_4^+) sera présenté. L'étude de ces espèces chimiques s'avère primordiale d'une part en raison de l'utilisation de NO_3^- et de NH_4^+ pour la croissance de l'herbier mais également pour le métabolisme de certains foraminifères benthiques qui ont la capacité de dénitrifier afin de survivre en conditions anoxiques (Risgaard-Petersen *et al.* 2006; Høglund *et al.* 2008; Pina-Ochoa *et al.* 2010; Bernhard *et al.* 2012 et Nomaki *et al.* 2014). Par la suite nous présentons différentes approches à haute résolution et en 2D et 3D pour l'étude de la distribution des espèces chimiques de la phase solide et de la faune benthique en lien direct avec son environnement. Une première étude géochimique expose tout d'abord les résultats préliminaires de l'analyse par microfluorescence X de la phase solide des sédiments prélevés en vis-à-vis de la phase dissoute issue des gels DET 2D. Cette étude de la phase solide est complémentaire à l'étude de la phase dissoute car elle s'intéresse aux éléments chimiques pouvant être les oxydants de la matière organique lors de la diagenèse précoce (*i.e.* oxydes de fer, oxydes de manganèse) et permet de détecter directement la présence de racine ou de terriers. Une seconde étude développe l'analyse de la distribution des foraminifères benthiques dans leur milieu. Un bloc de sédiment enrésiné est analysé par tomographie axiale à rayons X. Enfin dans le but de s'intéresser conjointement à la distribution de la phase dissoute et des foraminifères benthiques, une dernière étude présente une méthode de sous-échantillonnage en cubes de 1 cm^3 de la plaque de sédiment en vis-à-vis du gel DET 2D.

Ce manuscrit de thèse se termine par une conclusion générale présentant une synthèse des résultats ainsi que les perspectives que ce travail de recherche ouvre pour la meilleure compréhension de l'écologie et de la biogéochimie benthique en milieu intertidal.

CHAPITRE 1

Ecologie des foraminifères benthiques et leur contribution à la reminéralisation aérobie dans la vasière intertidale à herbier de *Zostera noltei* du Bassin d'Arcachon

-

Ecology of benthic foraminifera and their contribution to aerobic remineralization in intertidal mudflats covered by *Zostera noltei* meadows (Arcachon Bay)

Ecologie des foraminifères benthiques et leur contribution à la reminéralisation aérobie dans la vasière intertidale à herbier de *Zostera noltei* du Bassin d'Arcachon

RESUME

La présente étude examine l'influence des systèmes racinaires des herbiers sur la méiofaune benthique à tests (*i.e.* les foraminifères). En février et juillet 2011, des carottes de sédiments ont été prélevées à marée basse sur deux sites du Bassin d'Arcachon, un premier site colonisé par l'herbier de *Zostera noltei* et un second site sans végétation. Nous avons utilisé un marqueur fluorescent hautement discriminatoire, le CellTracker™ Green afin de reconnaître les foraminifères vivants et de décrire la densité et la diversité de ces organismes. Nous avons observé trois espèces dominantes de foraminifères: *Ammonia tepida*, *Haynesina germanica* et *Eggerella scabra*. Les deux espèces calcaires, *A. tepida* et *H. germanica*, ont été préférentiellement trouvées dans le premier demi-centimètre de sédiment. Dans la littérature, ces espèces sont observées plus en profondeur dans les sédiments probablement en raison de faux positifs obtenus par la technique du rose Bengale. Dans les sédiments végétalisés, ces espèces vivent dans des microhabitats plus profonds. Ces deux espèces ont également montré 1) des densités plus élevées sur le site avec *Z. noltei*, 2) une densité plus élevée en février lorsque les conditions étaient optimales en raison d'une efflorescence de microphytobenthos, 3) une dissolution forte des coquilles calcaires en juillet, résultant probablement d'un faible pH. L'espèce agglutinée *E. scabra* était présente jusqu'à 7 cm de profondeur. *E. scabra* a montré des densités élevées dans la partie anoxique des sédiments à la fois sur le site végétalisé et nu, avec une densité sensiblement plus élevée en été sur le site de sédiments nus. Sa présence en profondeur peut être liée à ses exigences trophiques, cette espèce serait moins dépendante d'une matière organique labile en comparaison d'*A. tepida* et *H. germanica*. Pour cette étude, la contribution des foraminifères à la reminéralisation aérobie du carbone peut représenter jusqu'à 7% du flux diffusif d'oxygène, soit cinq fois plus que la contribution maximale enregistrée dans les environnements marins ouverts (300 m de profondeur) dans le Golfe de Gascogne.

Mots clés : Foraminifères benthiques vivants, *Zostera noltei*, microhabitat, biogéochimie, reminéralisation du carbone

Ecology of benthic foraminifera and their contribution to aerobic remineralization in intertidal mudflats covered by *Zostera noltei* meadows (Arcachon Bay)

Ce chapitre fait l'objet d'une publication : Cesbron F., Metzger E., Launeau P., Deflandre B., Delgard M.L., Thibault de Chanvalon A., Geslin E., Anschutz P., Jézéquel D. (2014) Simultaneous 2D imaging of dissolved iron and reactive phosphorus in sediment porewaters by thin-film and hyperspectral methods. *Environmental Science and Technology*, 48, 2816-2826.

ABSTRACT

The present study investigates the influence of seagrass root systems on benthic hard-shelled meiofauna (foraminifera). In February and July 2011, sediment cores were collected at low tide at two sites in Arcachon lagoon, a vegetated site with *Zostera noltei* and a second site with bare sediments. We used the highly discriminative CellTracker™ Green fluorogenic probe technique to recognize living foraminifera and to describe foraminiferal density and diversity. Three dominant species of foraminifera were observed: *Ammonia tepida*, *Haynesina germanica* and *Eggerella scabra*. The two calcareous species, *A. tepida* and *H. germanica*, were preferentially found in the first half to one centimeter of the sediment. In the literature, these species were observed at deeper sediment layer probably due to false positives with the Rose Bengal staining. These species lived also in slightly deeper microhabitats at the vegetated sites. These two species also showed 1) higher densities at the site with *Z. noltei*, 2) a higher density in February when conditions were supposed optimal due to a microphytobenthos bloom, 3) dissolved calcitic shells in July, probably resulting from a lower pH. The agglutinated species *E. scabra* was present down to 7 cm depth. *E. scabra* showed high densities in the anoxic part of the sediment at both the vegetated and bare site, with a substantially higher density in summer at the site with bare sediments. Its presence at depth may be related to its trophic requirements, probably making this species less dependent on labile organic matter than *A. tepida* and *H. germanica*. On this studied intertidal mudflat, the foraminiferal contribution to aerobic carbon remineralization can account for up to 7 % of the diffusive oxygen uptake, almost five times more than the maximum contribution recorded in the open marine environments (300 m depth) in the Bay of Biscay.

Keywords: Living benthic foraminifera, *Zostera noltei*, microhabitat, biogeochemistry, carbon remineralization

1. INTRODUCTION

Seagrasses are marine flowering plants that occur in the littoral zone of tropical and temperate seas. They are among the most productive ecosystems worldwide (Duarte and Cebrian, 1996; Duarte and Chiscano, 1999; Hemminga and Duarte, 2000). Seagrasses are known as “ecosystem engineers”, which (1) enhance biodiversity (Boström and Bonsdorff 1997a), (2) provide oxygenated habitats and food for both epi- and infauna species (Bouma *et al.* 2009; Reise, 2002), and (3) reduce current velocity, thereby enhancing the entrapment of suspended sediment and organic matter (Fonseca and Fisher 1986; Gantry *et al.* 2013). Seagrasses host rich and diverse animal communities, play essential key role in shallow marine areas by sustaining high biodiversity and by providing shelter to micro- and macrofaunal communities (Larkum *et al.* 1989, 2006). In temperate zones, seagrass beds show considerable seasonal variability in biomass and surface area (Duarte 1989; Hillman *et al.* 1989; Vermaat and Verhagen 1996). These changes have been correlated with seasonal changes in insolation and/or water temperature. In well-established seagrass meadows, vegetative shoot densities, above-ground and below-ground biomass show a seasonal cycle with minima in winter and maxima in summer (Vermaat and Verhagen, 1996; Auby and Labourg, 1996). These seasonal variability leads to changing photosynthetic capacities (Alcoverro *et al.* 1998; Plus *et al.* 2003), nutrient contents in seagrass tissues (Duarte, 1990; Vermaat and Verhagen, 1996; Plus *et al.* 2001; Papadimitriou *et al.* 2006) and carbon stocks (Vermaat and Verhagen, 1996; Alcoverro *et al.* 2001). Seagrass meadows play also a major role in the biogeochemistry of vegetated sediments (Plus *et al.* 2001; Ouisse *et al.* 2010) and especially in the nitrogen and phosphorus recycling within the sediment (Asmus *et al.* 2000; Welsh, 2000; Deborde *et al.* 2008; Delgard *et al.* 2013, submitted b).

Benthic foraminifera are unicellular meiofaunal organisms. They are abundant in intertidal environments inhabited by seagrass (Ribes *et al.* 2000). Nevertheless, compared to other biota (*e.g.* algae, mollusks, fishes), the ecology of this group is poorly known. Benthic foraminifera live mainly at the sediment surface but several earlier studies claimed that they are also able to live deep in the sediment (Buzas, 1965; Boltovskoy, 1966; Matera and Lee, 1972). Previous studies dealing with foraminifera in shallow water environments have shown that presumably living foraminifera (stained with Rose Bengal) are found deep in the sediment but without a clear vertical species succession (Matera and Lee, 1972; Duchemin *et al.* 2005; Berkeley *et al.* 2008). Conversely, in many deep-sea marine environments a clear vertical succession of foraminiferal taxa has been described, leading to the differentiation of various microhabitats (Corliss, 1985; Jorissen, 2003). A “microhabitat” is a microenvironment characterized by a combination of physical and chemical characteristics and biological interactions that make a particular microhabitat attractive to a given taxon and/or uninhabitable for others (Jorissen, 1999). Deep-sea species termed “shallow infaunal” live in the upper millimeters or centimeters of the sediment whereas “intermediate” and “deep infaunal” species show density maxima deeper in the sediment.

Oxygen concentration and food availability are the main factors determining the vertical distribution of benthic foraminifera in the sediment (Gooday, 1986; Corliss and Emerson, 1990; Linke and Lutze, 1993; Jorissen *et al.* 1995; Gross, 2000). In addition, in open marine environments, the infaunal species succession often shows a clear relation with sediment geochemistry (Altenbach 1988; Rathburn and Corliss 1994; Jorissen *et al.* 1998; Fontanier *et al.* 2005; Koho *et al.* 2008). For instance, it has been demonstrated that some foraminiferal taxa are linked to the presence of nitrate (Jorissen *et al.* 1995, 1998; Schönfeld, 1997; Fontanier *et al.* 2005; Koho *et al.* 2008; Mojtahid *et al.* 2010) and some of these taxa are able to use this electron acceptor for denitrification (Risgaard-Petersen *et al.* 2006; Høgslund *et al.* 2008; Pina-Ochoa *et al.* 2010a; Koho *et al.* 2011; Bernhard *et al.* 2012).

In shallow environments colonized by seagrasses, the leaves serve as substrates for the attachment of epiphytic biota, among which numerous species of foraminifera. Several studies have focused on epiphytic foraminifera (Brönnimann, 1949; Schmidt, 1953; Lee *et al.* 1966; Matera and Lee 1972; Blanc-Vernet, 1984; Martin, 1986; Vénec-Peyré and Le Calvez, 1988; Röttger and Krüger, 1990; Langer, 1993; Ribes *et al.* 2000; Semeniuk, 2000; Richardson, 2006; Michael *et al.* 2008; Nesti *et al.* 2009; Debenay and Payri, 2010; Mateu-Vicens *et al.* 2010). However, only a few studies have examined the vertical distribution in the sediment of living non-attached foraminifera in the areas colonized by seagrasses (Hayward, 1979; Steineck and Bergstein, 1979; Duchemin *et al.* 2005). These studies suggest that the foraminiferal standing stocks tend to be higher in vegetated areas (covered by macroalgae) than in areas without vegetation. To our knowledge, only Le Campion (1970) has studied non attached foraminifera in mudflats covered with *Zostera noltei* meadows. His study suggests that *Eggerella scabra* is typical from sediment with *Z. noltei*. Furthermore, Le Campion (1970) showed that in Arcachon lagoon, living foraminiferal density increased in more fine-grained sediment, while dead foraminifera are rare there, because many tests are destroyed in the reduced conditions within the sediment. In the present study, foraminifera were analyzed in the first centimeters of the sediment at two contrasting sites in Arcachon Bay, France, (with and without *Zostera noltei*) in February and in July 2011. Intertidal environments colonized by seagrass meadows are subject to large temporal fluctuations of ecological characteristics over the year, as seagrass growth and root development are both seasonal (Auby and Labourg, 1996). These seasonal cycles create a high degree of temporal and spatial heterogeneity in the physico-chemical (*e.g.* oxygen, pH, nutrient and organic matter concentrations) and biological variables (*e.g.* algal cover, bacterial abundance, predation pressure) (Larkum *et al.* 2006), which may influence the abundance and species composition of the benthic foraminiferal assemblage. Some studies in intertidal areas have actually tried to relate important sediment variables, such as sediment organic matter quantity and quality (labile *versus* refractory), bottom water and sediment oxygen concentration and porewater nutrient concentrations with changes of the foraminiferal assemblage (Debenay *et al.* 2006; Bouchet *et al.* 2007; Papaspyrou *et al.* 2013). Generally, these studies show that the benthic foraminiferal assemblages are very sensitive to the availability of reactive organic matter and oxygen with the various species showing different

responses. As far as we know, the temporal and spatial variations of benthic foraminiferal assemblages, associated with environmental variables, have never been described for mudflats covered by seagrass meadows. However, it can be expected that the introduction of oxygen and organic compounds into the sediment by seagrass roots affects the benthic foraminiferal faunas. In fact, oxic microenvironments could be created in the rhizosphere, which could be hospitable to foraminifera.

It is important to note that the traditional methods used to recognize living foraminifera (Rose Bengal staining), which are adequate in oxic deep sea environments, are probably not suitable for coastal areas with muddy sediments, where only the topmost millimeters of the sediment are oxygenated, and where there is a rapid succession of redox fronts. In fact, Rose Bengal staining is not a selective method, since dead foraminiferal proteins may stain for weeks or months after their death (Bernhard 1988; Corliss and Emerson 1990). This is particularly the case in anoxic sediments, where protoplasm decay may be very slow. This can become critical if the population dynamics is intense. Consequently, the CellTracker™ Green (CTG) labeling method (Bernhard *et al.* 2006a) seems far more accurate to analyze living foraminiferal assemblages in coastal environments (Pucci *et al.* 2009; Langlet *et al.* 2013, 2014b).

The foraminiferal assemblages in Arcachon Bay were first studied by Le Campion (1970) more than forty years ago. In order to better understand the relationship between foraminiferal assemblages and seagrass dynamics, we decided to return to Arcachon Bay and to collect samples in highly vegetated and bare sediments of an intertidal mudflat during seasonally contrasted periods (February and July 2011). In order to characterize possible microhabitats and to explain population dynamics, geochemical parameters of the sediment such as total organic carbon (TOC), pigments, oxygen concentration and pH were investigated. Finally, aerobic respiration rates of different foraminiferal species found in our *in situ* study were measured and compared to the total diffusive oxygen uptake to evaluate the contribution of foraminifera to the carbon cycling on this intertidal mudflat.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Study area

Arcachon Bay is a triangular-shaped coastal lagoon of 174 km² situated on the south-western coast of France (Figure 1). The bay is connected with the Atlantic Ocean, and it is strongly affected by semi-diurnal tidal fluctuations. The surface water temperature varies annually between 1 and 25°C. Salinity ranges between 22 and 32, due to seasonally varying fresh water input from rivers and precipitation. Riverine freshwater input is mostly supplied by the Leyre (73%) and Porge (24%) rivers (Plus *et al.* 2010). A system of tidal channels is responsible for water circulation within the lagoon: these channels extend from the “passes”, two narrow entrances of the lagoon, until the little so-called “esteys” in the upper ranges of the lagoon. The surface of the lagoon is constituted for about one third, by these

channels whereas intertidal areas cover the remaining two thirds. A large part of these tidal flats is covered by *Zostera* meadows, 46 km² by *Zostera noltei* and 4 km² by *Zostera marina* (Auby and Labourg, 1996).

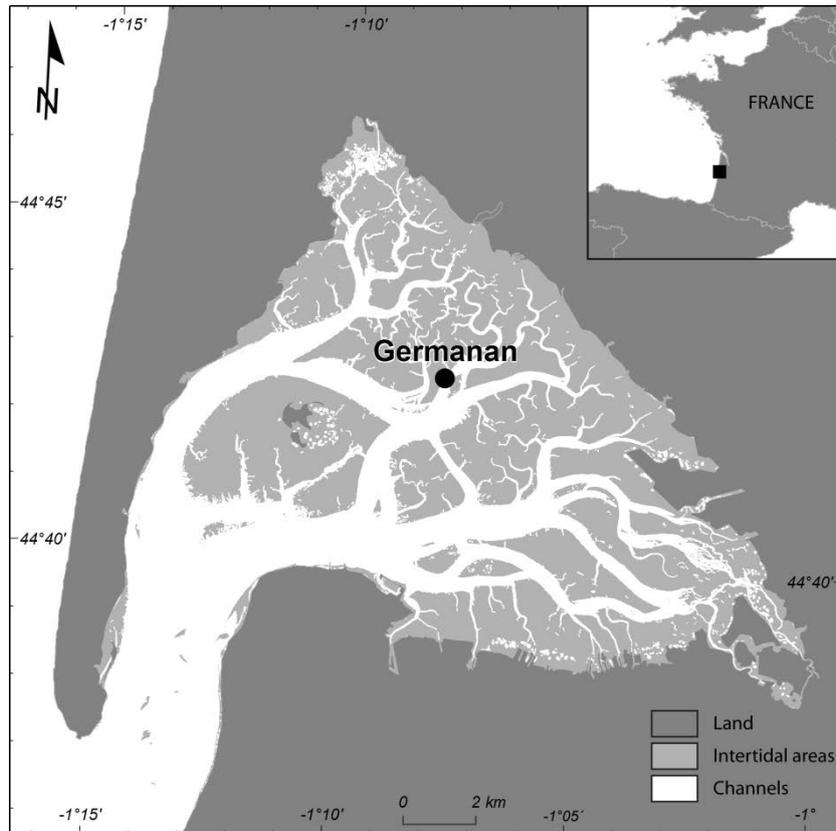


Figure 1: Map of the Arcachon Bay (France) showing the study site location.

This study was conducted on an intertidal flat located in the central part of the lagoon: Germanan (N 44°42'55. W 1° 1°07'50.1"), which is amply colonized by a *Zostera noltei* stand (Figure 1). While shoot density shows little variation according to seasons (12600 ± 2600 versus 12500 ± 2200 shoots/m² in February and July 2011, respectively), the above-ground biomass varies seasonally, increasing from 9.8 gDry Weight m⁻² (± 1.9) in February to 40.3 gDW m⁻² (± 4.9) in July (Delgard *et al.* submitted b). Conversely, below-ground biomass (including living and dead roots) showed a maximum in February (when roots are larger) with 95.7 gDW m⁻² (± 18.9), compared to 47.6 gDW m⁻² (± 8.0) in July 2011, when young rhizomes spread in the sediment. In these sediments, oxygen penetration depth showed a maximum in February 2011 with 3.3 ± 0.3 mm and 2.6 ± 0.2 mm respectively in vegetated and bare sediments compared to 2.1 ± 0.1 mm and 1.8 ± 0.2 mm in July 2011 (Delgard *et al.* submitted a). Maximum of diffusional oxygen uptake (DOU) is reached in July with 20.0 ± 1.7 mmolO₂ m⁻² d⁻¹ in vegetated sediments whereas in bare sediments 13.4 ± 3.6 mmolO₂ m⁻² d⁻¹ is measured and 8.9 ± 4.3 mmolO₂ m⁻² d⁻¹ and 14.0 ± 1.2 mmolO₂ m⁻² d⁻¹ are quantified in July 2011 respectively in bare and vegetated sediments (Delgard *et al.* submitted a).

2.2. Sampling

Two sets of three replicate cores were sampled for benthic foraminiferal and porewater chemistry analysis, during two contrasted seasons (February and July 2011) at two different sites of Germanan tidal flat: one with seagrass (station Z) and one without seagrass (station N). At each sampling period, six 8-cm-inner-diameter cores were collected manually at low tide using *Plexiglass* tubes. It is important to note that even at the site without visible seagrass, a relict root system existed within the sediment until around 5 cm depth. In view of the absence of seagrass, this root system was dead (Vermaat and Verhagen, 1996). The distance between replicate cores was about 1 meter, in order to avoid disturbance of adjacent cores during sampling.

2.3. Sample processing

2.3.1. Benthic foraminiferal analysis

In the laboratory, sediment samples for benthic foraminifera were sliced into 0.5 cm intervals until 2 cm depth and into 1 cm intervals until 7 cm depth. A method based on enzymatic reactions was used to distinguish living foraminifera (Bernhard *et al.* 2006b; Pucci *et al.* 2009; Langlet *et al.* 2013, 2014b). One milligram of CellTracker™ Green (CTG 5 CMFDA: 5-chloromethylfluorescein diacetate; Molecular Probes, Invitrogen Detection Technologies) was dissolved in one milliliter of dimethylsulfoxide (DMSO). Samples were incubated for 12 hours at *in situ* temperature without light in a solution of seawater, with a CTG final concentration of $1\mu\text{mol L}^{-1}$, as described by Bernhard *et al.* (2006). During this time, CTG passes through the cellular membrane of living organisms, and reaches the cytoplasm where hydrolysis with nonspecific esterases creates fluorogenic elements. After the death of the cell, esterases are decomposed in a few hours to some days at maximum, depending on environmental conditions (Bernhard *et al.* 2006a), making the CTG method highly accurate to discriminate between living and dead organisms. After incubation, the samples were fixed in 10% formalin buffered with borax (3.8%) and stored at room temperature.

To remove soft-bodied organisms (nematodes, copepods and annelids) which hamper the foraminiferal identification (fluorescence of living soft-meiofauna is bright and by consequence limits the observation of the less vivid hard-shelled foraminiferal fluorescence), a density separation was carried out using Ludox. Ludox HS 40 has a density of 1.3g cm^{-3} at 25°C and a pH of 9.8 and is routinely used to concentrate meiofauna in sediment samples (McIntyre and Warwick, 1984). A density centrifugation allows separating heavy particules (including hard-shelled foraminifera) from light particules (including soft-bodied organisms). For this protocol, at first, samples were rinsed with tap water on a $63\mu\text{m}$ screen to eliminate most of the formalin and colloids, and to prevent gelling of the Ludox. Next, two spoons of kaolin were added, to delimit the supernatant and the deposit, and the tubes were filled with Ludox and distilled water, to obtain the density wanted (Burgess, 2001;

McIntyre and Warwick, 1984). The samples were centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. At the end, two density layers were recognizable: the supernatant diluted Ludox with the soft-bodied organisms, and the sediment containing foraminifera. Both were sieved over a 63 µm mesh to remove the kaolin and the Ludox, and stored in formalin at room temperature, until further analysis.

The sample containing hard-shelled foraminifera was sieved over 315, 150, 125 and 63 µm mesh screens, and counts were performed in the >150 µm fraction using an epifluorescence stereomicroscope (Olympus SZX12 with a fluorescent light source Olympus URFL-T). Samples were excited at a wavelength of 492 nm, and emission took place at 517 nm. Only specimens showing a clear fluorescence were picked, the sediment was not spitted, and gromiids and single-chambered soft-shelled foraminifera were not picked. In cases of doubt concerning the presence of a living cell in the test, foraminifera were crushed with a needle, to check if the fluorescence was not due to bacteria, diatoms or nematodes that could live within the foraminiferal test, or be attached to the outside wall. Foraminiferal densities are expressed per 50 cm² (for total densities) and per 50 cm³ volume (for layers of different thickness).

2.3.2. Oxygen respiration rates of foraminifera

Foraminiferal oxygen (O₂) respiration rates were measured as described in Høglund *et al.* (2008), Pina-Ochoa *et al.* (2010a) and Geslin *et al.* (2011). Measurements were carried out in glass micro-tubes constructed from Pasteur pipette tips (inner diameter approximately 0.9 mm). These micro-tubes were fixed in a small vial, filled with artificial seawater with a salinity of 35. The vial was placed in an aquarium with water kept at *in situ* temperature (respectively 7°C and 23°C for winter and summer conditions). Living foraminiferal specimens of *Ammonia tepida*, *Haynesina germanica* and *Eggerella scabra* were placed separately (2 to 4 specimens), with a brush, in the glass micro-tube from which air bubbles were carefully removed. Microelectrodes were placed at roughly 200 µm from the foraminifera and micro-profiles of O₂ were measured with a Clark type microsensor (Revsbech, 1989) with a 50 µm tip mounted on a motorized micromanipulator. The O₂ flux (J) was measured using the first law of Fick:

$$J = -D \frac{dC}{dx}$$

where D is the free diffusion coefficient for O₂ at the experimental temperature and salinity (Ramsing and Gundersen 1994) and dC/dx the O₂ concentration gradient. The O₂ concentration gradient was determined from the O₂ profiles. Next, the oxygen respiration rate was calculated as the product of the O₂ flux and the surface area of the micro-tube. This rate was divided by the number of foraminifera in the micro-tube to obtain the respiration rate per individual. For each species, the foraminiferal cell volume was estimated by using the best resembling geometric shape (Table 3). We then estimated the cytoplasmic volume as described in Hannah *et al.* (1994) and Geslin *et al.* (2011) by assuming that the

internal test volume corresponds to 75% of the total foraminiferal test volume and that the internal test volume of the shell is entirely filled with cytoplasm. For each condition (July or February), fresh living individuals were used for respiration experiments. In order to evaluate the total respiration rate of the foraminiferal fauna, individual respiration rate was multiplied by the number of foraminifera inhabiting the oxic top layer of the sediment in each core (0 - 0.5 cm). Thereafter, to measure the total contribution of all foraminiferal species to benthic respiration, we calculated the ratio between the total foraminiferal respiration rate and the total diffusive O₂ uptake in sediments (DOU) coming from Delgard *et al.* (submitted a) and measured during the same sampling period and in the same area.

2.3.3. *Ex situ measurements of pH in sediments*

Sediment cores were brought in a temperature-controlled room at *in situ* temperature and gently immersed in water from the sampling station. Depth profiles of pH were measured with a 500 µm glass tip sensor (PH500, Unisense) and a calomel reference electrode (Radiometer) connected to a multimeter (Unisense). Microelectrodes were calibrated according to the protocol SOP6 (Dickson and Goyet, 1996) with two pH standards in a seawater matrix (TRIS and AMP) at the appropriated salinity. Only the vegetated site was profiled in February. As no pH profile was available in July, we used pH profiles measured at the end of May at the same site.

2.3.4. *Organic descriptors analysis*

All organic descriptors were analyzed in triplicate on sediment cores collected at the end of May, 2011. Sediment samples were sliced into 0.5 cm layers until 1 cm depth, 1 cm layers until 5 cm depth and 2 cm layers until 17 cm depth. Total carbon (TC) and nitrogen (TN) contents in the sediment were measured in freeze-dried material by combustion using an automatic *Thermo Finnigan EA 1112 Series Flash* Elemental analyzer. Total organic carbon (TOC) content was similarly measured on freeze-dried material after removal of carbonates with 2M HCl from 50 mg of powdered sample (Etcheber *et al.* 1999). The reproducibility of these measurements was better than 5%. For pigments (chlorophyll-*a* (Chl-*a*) and phaeophytin-*a* (Phaeo-*a*)), sediment subsamples (between 0.2 and 0.5 g) were extracted overnight at 5°C with 90% acetone (final concentration taking into account sediment water content). Sediment samples were sliced into 0.5 cm layers until 1 cm depth, 1 cm layers until 3 cm depth and 2 cm layers until 15 cm depth. Fluorescence measurements were then performed using a Perkin Elmer® LS55 fluorescence spectrometer (according to Neveux and Lantoiné 1993). [Chl-*a*/(Chl-*a* + Phaeo-*a*)] ratios (expressed in %) were computed as a qualitative descriptor of the freshness of sedimentary phytopigment material (Pastor *et al.* 2011).

3. RESULTS

3.1. Biogeochemical descriptors of sediments

Vertical distribution of total organic carbon measured in May-June 2011 is shown in Figure 2. At the sediment-water interface (SWI), about 2.1 % TOC was found in the bare sediments of station N compared to 0.8 % in vegetated sediments of station Z. Both profiles show similar trends with lower values in the two first centimeters followed by a sharp shift to higher values, around 2.5% for bare sediment (3-6 cm) and around 1.5% for vegetated sediment (3-12 cm). Still deeper down, a slight increase was observed for both cores. Figure 2 also shows the depth profile of the [Chl-*a*/(Chl-*a* + phaeo-*a*)] ratio. The pigments ratio shows a sharp decrease in the first 6 to 8 cm followed by steady values below. The gradient was somewhat sharper in vegetated cores than in unvegetated ones. The standard deviation was higher in the vegetated cores, suggesting a greater lateral heterogeneity.

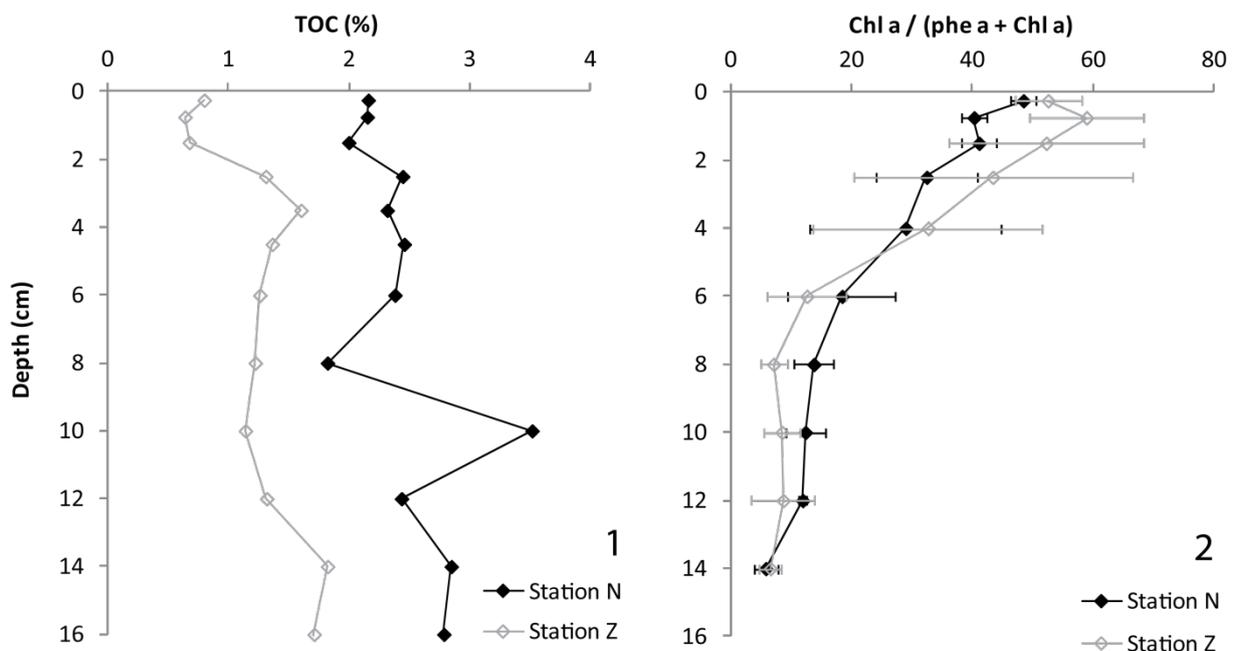


Figure 2 (1). Total organic carbon (TOC) in bare (Station N) and vegetated (Station Z) sediments in end-May 2011. **(2)** Pigments ratio based on the average of 3 sediment cores (\pm SD).

Figure 3 shows vertical profiles of pH measured in February and end-May 2011. The pH systematically showed a rapid decrease below the SWI reaching a minimum that changed in position and intensity between stations and periods of sampling. Below this minimum, the pH increased again until it reached a constant value at depth in the sediment. In February at station Z, a minimum of 7.0 was found at 0.75 cm depth. At the end of May, the pH profile was somewhat erratic, with a first decrease of about 7.0 at 0.5 cm depth, and values of 6.5 to 6.8 being observed from 2.5 to 5.5 cm

depth. At station N, pH was lower than 7.0 between 0.5 and 3.5 cm depth, reaching a minimum of 6.2 at about 2 cm depth.

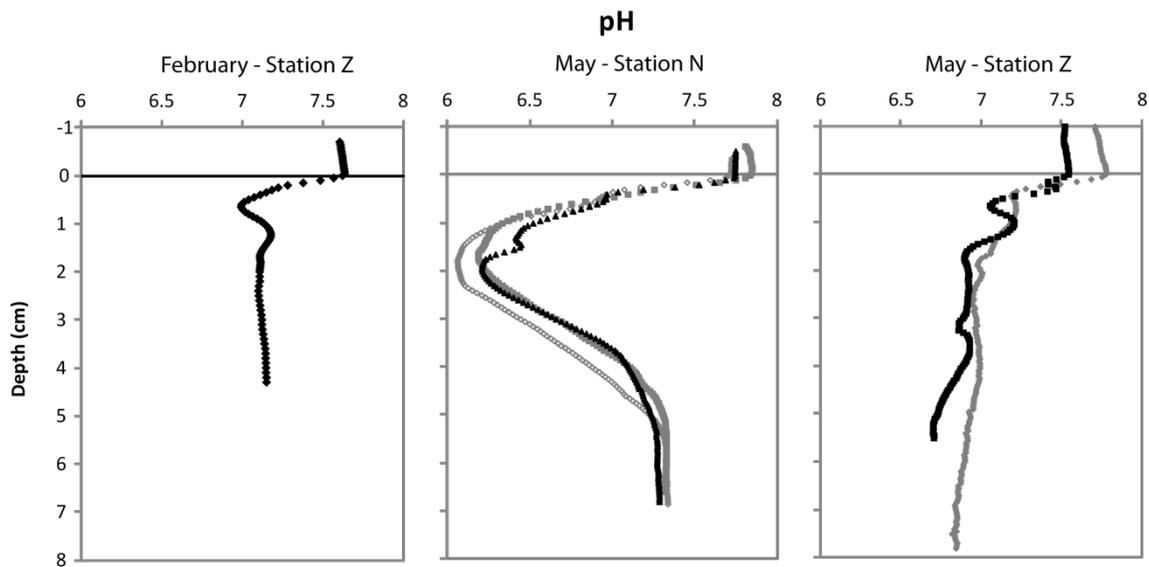


Figure 3: Vertical distributions of pH measured in February and May 2011 in bare (Station N) and vegetated (Station Z) sediments. The different colors correspond to replicates.

3.2. Foraminiferal results

3.2.1. Foraminiferal density and composition

When considering all 12 studied cores, the standing stocks of living foraminifera (*i.e.* positively labeled with CTG) (size > 150 μm) in the upper 7 cm of the sediment, varied from ~575 to ~4350 individuals/50 cm^2 (Table 1). Figure 4 shows the standing stocks of living foraminifera in the top 7 cm of the cores for the different sites and sampling periods. The living benthic foraminiferal faunas of all sampled cores were very strongly dominated by only 3 species: *Ammonia tepida* and *Haynesina germanica*, which have a calcitic test, and the agglutinated species *Eggerella scabra*. In most of the cores taken in February, *Ammonia tepida* was the dominant species (71% to 96%, except in core 1 where it accounted only for 37%; Appendix A). In July, *E. scabra* was clearly dominant at station N (78 to 91%) whereas *A. tepida* and *E. scabra* were both dominant at station Z (Figure 4). Four other species (*Elphidium excavatum*, *Quinqueloculina seminula*, *Miliammina fusca*, *Trochammina sp.*) were observed, but their percentages never exceeded 5% of the total fauna.

Table 1: A - Density of foraminifera (> 150 µm) in each core (0- 7 cm depth) in unvegetated (Station N) and vegetated sediments (Station Z) in February and July 2011, all differences of living foraminifera density in the first 7 cm depth are significant (Kruskall-Wallis analysis); B- Density of living foraminifera in the first 0.5 cm depth. Each density is formulated in individuals/ 50 cm².

A		Density in 0 - 7 cm (individuals/ 50 cm ²)			
		Station N		Station Z	
		Total alive	Alive without shell	Total alive	Alive without shell
February	Core 1	574	0	1896	3
	Core 2	1696	0	4358	0
	Core 3	1531	0	3130	0
	Average (n=3)	1267	0	3128	1
	Standard deviation	606	0	1231	2
July	Core1	1742	1742	1556	1556
	Core 2	3511	3493	787	787
	Core 3	2452	2419	1572	1572
	Average (n=3)	2568	2551	1305	1305
	Standard deviation	890	883	449	449

B		Density in 0-0.5 cm (individuals/ 50 cm ²)	
		Station N	Station Z
February	Core 1	287	1813
	Core 2	1427	2074
	Core 3	1462	2851
	Average (n=3)	1059	2246
	Standard deviation	669	540
July	Core1	300	656
	Core 2	746	179
	Core 3	201	733
	Average (n=3)	416	523
	Standard deviation	290	300

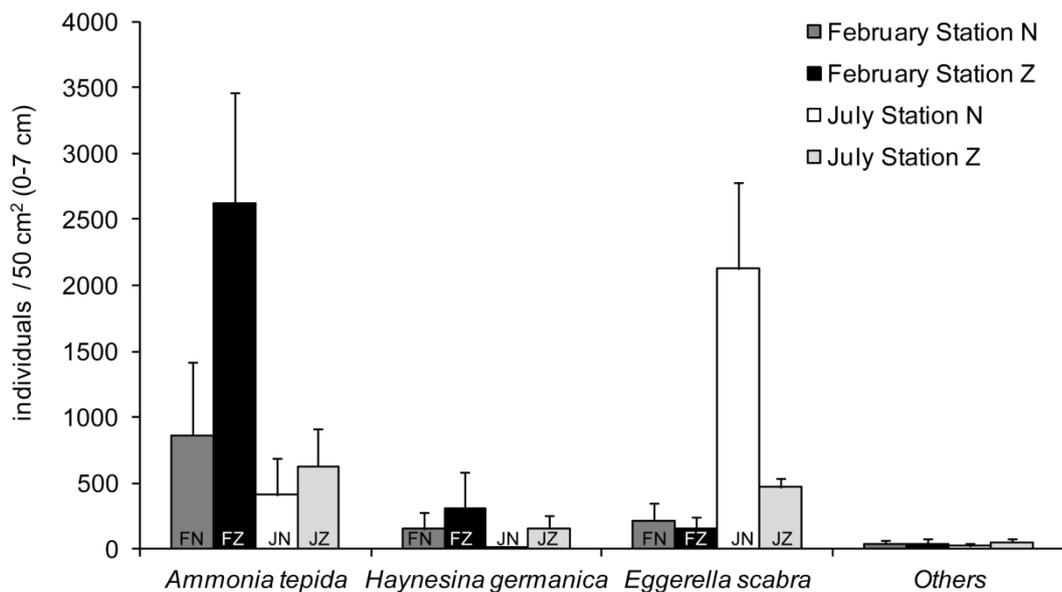


Figure 4: Density of foraminifera in the 7 cm depth for each species in bare (Station N) and vegetated sediments (Station Z) in February and July 2011. Each density is formulated in individuals/ 50 cm².

3.2.2. Foraminiferal microhabitats

Densities of the three main species in the successive depth intervals (standardized for a 50 cm³ volume) are shown in figures 5, 6 and 7. In both sampling periods, *A. tepida* specimens were mainly living in the superficial sediment layer (Figure 5). Maximal densities were observed in February, especially at the site with *Zostera noltei* (station Z). Highly different standing stocks of *A. tepida* were observed in the superficial levels of the replicated cores (e.g. February station N, 0-0.5 cm level: 380, 2290, 2325 individuals per 50 cm³ in the 3 replicate cores). Conversely, the densities of the 3 replicated cores were much more similar deeper in the sediment, leading to much smaller standard deviation. Important differences between standing stocks of replicate cores were also observed for the 0.5-1 cm level in February at station Z (10, 3640 and 165 individuals per 50 cm³, respectively).

Haynesina germanica showed a density maximum in the 0-0.5 cm level of all six cores taken in February with large differences in standing stocks between replicate cores (Figure 6). Only in July, *H. germanica* showed a subsurface density maximum, in all three cores collected at the vegetated site (station Z), in the 0.5-1 cm layer. If we compare the cores of the seagrass station (Z) and the unvegetated station (N), an important difference in vertical distribution can be observed. Whereas *H. germanica* was limited to the upper 0.5 cm at the unvegetated station N, at station Z, *H. germanica* (and also *A. tepida*) were present in fair amounts in the 0.5-1 cm level, at both sampling seasons (Figures 5 and 6).

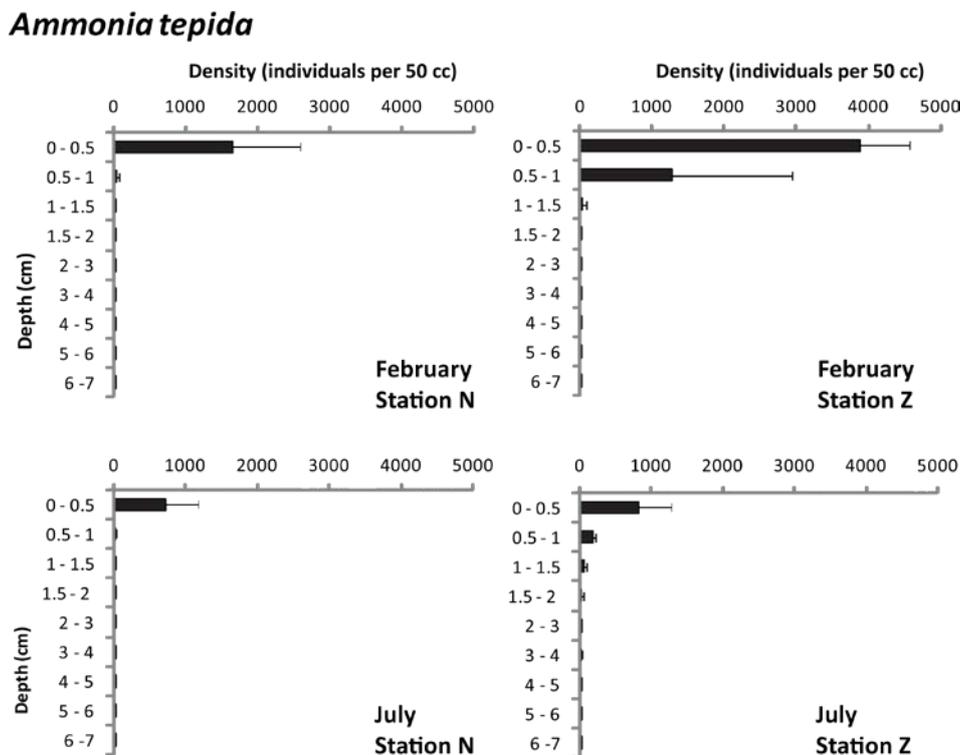


Figure 5: Densities of *Ammonia tepida* for 50 cm³ sampled in February and July 2011 in bare (Station N) and vegetated sediment (Station Z).

Haynesina germanica

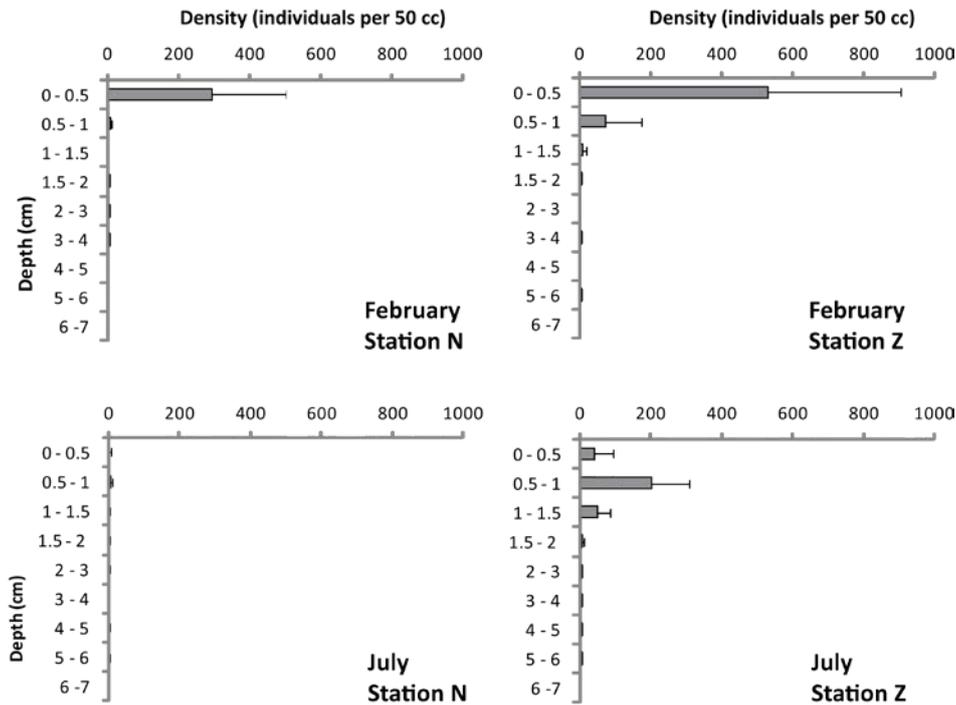


Figure 6: Densities of *Haynesina germanica* for 50 cm³ sampled in February and July 2011 in bare (Station N) and vegetated sediment (Station Z).

Eggerella scabra

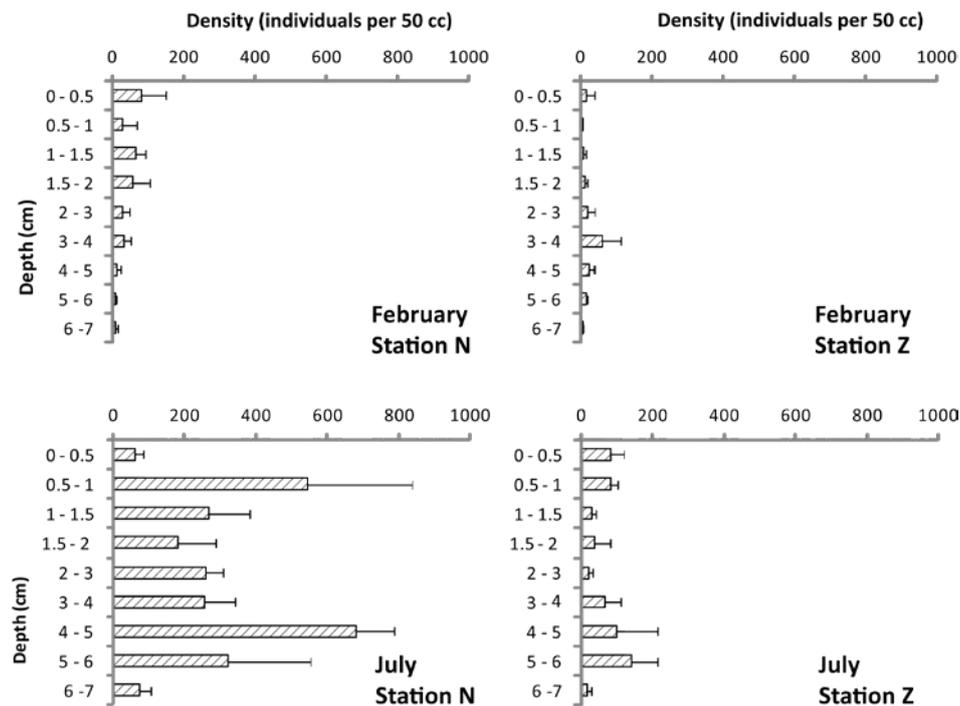


Figure 7: Densities of *Eggerella scabra* for 50 cm³ sampled in February and July 2011 in bare (Station N) and vegetated sediment (Station Z).

Eggerella scabra did never show a maximum density at the sediment surface (Figure 7). It was found down to 7 cm, without a clear trend. In February only minor differences in density were observed between the cores of the seagrass station (station Z) and the unvegetated station (station N). In July,

however, a very prominent density maximum was observed at the unvegetated station, down to 7 cm depth.

3.2.3. Dissolution of calcitic tests

In February, a part of specimens with partly decalcified were observed in samples (Table 1; Figure 8). Conversely, in the samples collected in July, almost all tests were completely decalcified.

3.2.4. Foraminiferal O_2 respiration rates and contribution to DOU

Table 3 shows respiration rates of the three main species: *A. tepida*, *H. germanica* and *E. scabra* as well as their biovolume estimations. At low temperature (as in February), the values of O_2 respiration rates for the 3 species varied between 152 ± 82 pmol O_2 ind⁻¹ d⁻¹ for the smaller species *H. germanica* ($4.4 \cdot 10^6$ μm^3) and 670 ± 353 pmol O_2 ind⁻¹ d⁻¹ for the much larger species *E. scabra* ($1.5 \cdot 10^7$ μm^3 ; Table 2). At 23°C (as in July), the respiration rates varied between 1440 ± 106 pmol O_2 ind⁻¹ d⁻¹ and 1730 ± 14 pmol O_2 ind⁻¹ d⁻¹ for *H. germanica* and *A. tepida*, respectively. The values recorded at 23°C were two to five times higher than those recorded at 7°C.

Table 2: Respiration rates of three main species studied with data of the number of individuals in sediment for each measurement and estimated biovolume.

Species	Shell shape	N° of individuals	Biovolume (μm^3)		Replicates	oxygen respiration rate (pmol ind ⁻¹ d ⁻¹)	
			Mean	SD		Mean	SD
February (7°C)							
<i>Ammonia tepida</i>	Half sphere	4	1.4×10^7	1.3×10^6	3	618	431
<i>Haynesina germanica</i>	Half sphere	4	4.4×10^6	1.2×10^6	3	152	82
<i>Eggerella scabra</i>	Conical	3-4	1.5×10^7	9.8×10^6	3	670	353
July (23°C)							
<i>Ammonia tepida</i>	Half sphere	2	8.8×10^6	1.2×10^6	1	1730	14
<i>Haynesina germanica</i>	Half sphere	3	1.3×10^7	3.7×10^6	1	1440	106

The respiration rates estimated for the total foraminiferal assemblages at each sampling time and each station as well as the relative foraminiferal contribution to DOU are shown in Table 3. In February, respiration rates were maximal at station Z for the *A. tepida* population (0.59 mmol O_2 m⁻² d⁻¹). The maximal relative contribution of the foraminiferal fauna to DOU was estimated in the core (Station Z – core 3) collected at the vegetated site in February (7%). This contribution is mainly due to the respiration of the *A. tepida* population (6.7%). In July, foraminiferal respiration rates were higher in bare sediments for *A. tepida* (0.46 mmol O_2 m⁻² d⁻¹), and the total foraminiferal contribution to DOU was 3.5%. Because of the much lower O_2 respiration rates for *H. germanica* and the low densities of *E. scabra* in the oxic zone, their contributions to DOU were rather limited (Table 3).

4. DISCUSSION

4.1. Foraminiferal assemblages in vegetated and bare sediments

On the intertidal mudflats of Arcachon Bay, widely colonized by *Zostera noltei*, living foraminiferal faunas show three major species: *A. tepida*, *H. germanica* and *E. scabra*. These species were earlier observed by Le Campion (1966, 1970) who carried out the first foraminiferal study in Arcachon Bay. *Ammonia tepida*, *H. germanica* and *E. scabra* are dominant species in temperate European intertidal mudflat areas (Alve and Murray, 1994, 2001b; Debenay *et al.* 2006; Morvan *et al.* 2006). *Ammonia tepida* and *H. germanica* are known as the most euryhaline among the hyaline taxa and are often found in areas with high organic carbon content and low O₂ concentration (Moodley and Hess 1992; Murray and Alve 1999). Le Campion (1970) and Redois and Debenay (1996), described *E. scabra* as associated with seagrasses in temperate environments. In our study, densities of *A. tepida* and *H. germanica* were somewhat higher in vegetated sediments (Figure 4), suggesting that these species are favored by the presence of *Zostera noltei*. Also Le Campion (1970) found higher densities of stained foraminifera (using Rose Bengal) in the surface sediment of vegetated sediments than in bare sediments. This is in agreement with other observations showing that meiofauna and macrofauna are more abundant in sediments colonized by plants (*e.g.* for meiofauna: Steineck and Bergstein, 1979; Blanc-Vernet, 1984; Martin and Wright, 1988; Fujita and Hallock, 1999; Ribes *et al.* 2000; Duchemin *et al.* 2005 and for macrofauna: Orth, 1992; Blanchet *et al.* 2004; Fredriksen *et al.* 2010; Do *et al.* 2011).

Figures 5, 6 and 7 reveal some differences in vertical distribution in the sediment between the three dominant species. *Eggerella scabra* inhabited niches at least until 7 cm depth, mostly in anoxic sediment (Delgard *et al.* submitted a). A strong density maximum was observed in July at station N. The same vertical succession was observed for *E. scabra* in all vegetated and bare sediment cores, suggesting that a putative O₂ introduction into the sediment by the *Zostera* roots does not affect the vertical distribution of this species. In fact, *E. scabra* has earlier been considered as tolerant to anoxia (Ernst *et al.* 2002; Diz and Francés, 2008; Langlet *et al.* 2013). We may wonder what metabolic strategy allows *E. scabra* to live in anoxic environments? Langlet (unpublished data) has recently shown that *E. scabra* contained non-negligible amounts of intracellular nitrates (between 37 and 119 pmol of nitrate in 3 individuals from the northwest coast of the Adriatic Sea). However, all denitrification rate measurements gave negative results (2 measurements based on 14 individuals from the Adriatic Sea). To our knowledge, no bacterial symbiosis has been observed in this species and no other metabolic pathways have been demonstrated or suggested, which could explain the ability of *E. scabra* to live without oxygen. Nevertheless, *E. scabra* has been often reported as living throughout the first 5 cm of the sediment column without a clear depth preference (Barmawidjaja *et al.* 1992; Jorissen *et al.* 1992; Ernst *et al.* 2002; Duijnsteet *et al.* 2003; Langlet *et al.* 2014b). It has also been

shown that *E. scabra* has a great ability to colonize sediments enriched in organic carbon, especially sediments with low-quality organic matter (Ernst *et al.* 2002; Diz and Francés 2008; Duchemin *et al.* 2008; Goineau *et al.* 2011). In the present study, the labile fraction of organic matter, as described by the Chl *a*/(Chl *a* + Pheo *a*) ratio (Sun *et al.* 1993; Grémare *et al.* 1997; Woulds and Cowie 2009), shows a clear decrease with depth. At 4 to 6 cm depth, where *E. scabra* was still abundant, this ratio was substantially lower than in the surface layer (Fig. 2). Conversely, a maximum TOC content was found on bare sediment, with more or less constant values in the top 6 cm (Figure 2). Summarizing, our results clearly show that *E. scabra* inhabits mainly at depth in the sediment, where O₂ is absent and where organic matter is rich, but less labile than at the sediment surface.

In February, both *A. tepida* and *H. germanica* lived in shallow infaunal microhabitats mainly in the topmost sediment layer. Previous studies describing their vertical distribution reported similar results for *A. tepida* (Debenay *et al.* 1998; Bouchet *et al.* 2009) and *H. germanica* (Murray and Alve, 2000; Alve and Murray, 2001b; Bouchet *et al.* 2009; Papaspyrou *et al.* 2013). For instance, in the intertidal zone of the Hamble Estuary (England), Rose Bengal stained specimens of these two species were mostly found in the topmost 0.25 cm sediment (Alve and Murray, 2001b). It appears with our data that both species prefer oxic niches with abundant labile food as already described for *A. tepida* by Papaspyrou *et al.* (2013).

However, *A. tepida* and *H. germanica* are not totally restricted to the sediment surface. Relatively low densities of these species were observed in the 0.5-1 and 1-1.5 cm layers, especially in cores collected in vegetated sediments, although there were large differences between replicate cores, suggesting important spatial patchiness (Figures 5 and 6). Theoretically these higher densities within the sediment may be related to 1) the higher O₂ penetration depth (Delgard *et al.* submitted a) and O₂ leakage from seagrass roots observed in vegetated sediments (Pedersen *et al.* 1998; Holmer *et al.* 2002; Jensen *et al.* 2005; Frederiksen and Glud, 2006) , and 2) labile organic matter exudates from the root system (Moriarty *et al.* 1985; Kaldy *et al.* 2006). However, no release of O₂ or labile organic matter from the root system have been shown for the *Zostera noltei* rhizome, neither in the literature nor in our study to labile organic matter (Figure 2).

We think that the large differences between replicate cores are rather a sampling bias due to the fact that in the very soupy sediments, it is extremely difficult to sample with a millimetric precision. Alternatively, it can also be imagined that there are spatial differences in oxygen penetration, on a millimetric scale, which could explain that the width of the sediment layer inhabited by these two species varies by some millimeters between the replicate cores.

Interestingly, the present study clearly shows that the calcareous species *A. tepida* and *H. germanica* mainly live in the topmost layer of bare sediments (Figures 5 and 6). However, in earlier studies, these two calcareous species have often been described well below the first centimeter (Goldstein and Harben, 1993; Goldstein *et al.* 1995; Saffert and Thomas, 1998; Tobin *et al.* 2005). The occurrence of

these species deeper in the sediment has been explained as a consequence of sediment reworking, which would transport living specimens to deeper, anoxic sediment layers where they could eventually survive (Moodley *et al.* 1998; Saffert and Thomas, 1998; Berkeley *et al.* 2007; Geslin *et al.* 2014; Nardelli *et al.* 2014). Conversely, Bernhard (1988) and Corliss and Emerson (1990) suggested that stained specimens may be dead since foraminifera may stain with rose Bengal for weeks or months after their death. The fact that in our study (which uses a much more critical life assay method, Bernhard *et al.* 2006a), *A. tepida* and *H. germanica* are largely limited to the surface layer, strongly suggests that the Rose Bengal stained individuals observed in many earlier studies were false positives, leading to a substantial overestimation of the vertical extension of *A. tepida* and *H. germanica* in intertidal sediments.

The densities of *A. tepida* and *H. germanica* in the topmost sediment level were systematically higher in February (Figures 4, 5 and 6) than in July. This could be related to the occurrence of microphytobenthos blooms observed in February as suggested by Delgard (pers. comm.), that formed a visible brown microfilm in different areas at the surface sediment. We hypothesize that the microphytobenthos represents a labile food source for the benthic foraminifera, which is responsible for the high standing stocks of *Ammonia tepida*. Furthermore, the patchy distribution of the microphytobenthos could also explain the very large differences in standing stocks between the surface levels of the replicate cores (*e.g.* February station, 0-0.5 cm level: 378, 2292, 2326 individuals per 50 cm³ in the 3 replicate cores).

In July, the living calcareous assemblages were almost exclusively (99 to 100%) made up of completely decalcified specimens (Table 1), showing only the organic lining (Figure 8-2). In February, a small number of tests were partially decalcified (Figure 8-1).

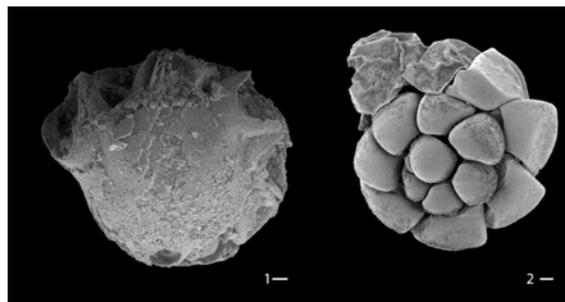


Figure 8: Scanning Electronic Microscope pictures of *Ammonia tepida*. **1:** ventral side of *Ammonia tepida* with a partially decalcified test in February (scale bar = 20 µm); **2:** dorsal side of *Ammonia tepida* with a totally decalcified test from sample collected in July. Organic lining protecting the cell is observed (scale bar = 10 µm).

Buzas-Stephens and Buzas (2005) have observed living specimens (Rose Bengal staining and ethanol storage) of intertidal calcareous foraminifera with clear signs of test dissolution. Le Campion (1966) has already reported such observations in Arcachon Bay. Dissolution of the test due to a low pH was also observed in laboratory experiments with *A. beccarii* (Le Cadre *et al.* 2003). These authors have showed that specimens maintained at a pH of 7.0 had their tests entirely dissolved after 7 days, when

only the cytoplasm covered with the organic lining was still visible. We made exactly the same observation for our specimens sampled in July, at both sites (Figure 8). Depth profiles of pH showed a strong decrease in pH immediately below the interface at the end of May (reaching 6.2 and 6.7 in bare and vegetated sediments, respectively; Figure 3) whereas the minimum pH was 7.0 in February. In July, the presence of relic root system in the bare sediments could be a possible cause of the more important decrease in pH in the sediment due to important remineralization, which appears to lead to a more intense dissolution of foraminiferal tests. In fact, Le Cadre *et al.* (2003) have shown that after 40 days in low pH solution (*i.e.* 7.0), specimens did not show any sign of pseudopod activity, and were probably dead. In July 2011, the fairly high densities of *H. germanica* at the vegetated station Z contrast with the very low densities observed on bare sediments (Figure 6). We hypothesize that in July, when conditions may have been less favorable due to the low pH, *Zostera noltei* may have provided a shelter for *H. germanica*, at the sediment surface, and especially within the sediment, where a density maximum was observed in the 0.5-1 cm layer. Plants with active leaves tend to increase pH in sediments by photosynthetic activity (Semesi *et al.* 2009). Our observations suggest that *Zostera noltei* meadows seem to maintain pH values around 7 whereas the pH decreases until 6.2 in bare sediments. Furthermore, *Zostera noltei* meadows could also make the environment more favorable by concentrating labile organic matter in the superficial sediment (Figure 2) and eventually, by exuding organic matter in deeper sediment layers near the seagrass root-web (Kaldy *et al.* 2006).

Finally, although microfossils from intertidal area are potentially excellent palaeoenvironmental proxies for the reconstruction of Holocene sea-levels (Scott *et al.* 2001), high organic matter mineralization and dissolution effects as observed in the present study suggest that palaeoenvironmental reconstructions may be problematic for Arcachon Bay, and similar lagoons.

4.2. Foraminiferal contribution to DOU in sediment from the Arcachon bay

Few data about the contribution of benthic foraminifera to aerobic carbon remineralization exist (Geslin *et al.* 2011; Nomaki *et al.* 2007). Using the approach proposed by Geslin *et al.* (2011), it appeared that in February 2011, when they were abundant in vegetated sediment, benthic foraminifera contributed for up to 7 % of DOU (Table 3). In July 2011, the foraminiferal contribution to DOU was 3.5 % in station N, and 2.2 % in station Z. These contributions in February and July 2011 are mainly explained by the high densities of *A. tepida*. It is difficult to appreciate the reliability of these estimates because the foraminiferal respiration rates are measured in experimental conditions with a substantial delay (a few days to 1-2 weeks) between sampling and analysis. However, if we compare the present study to the compilation of studied open marine sites proposed by Geslin *et al.* (2011), our values are almost five times higher than the maximum published value, which was obtained for a 300 m deep station in Whittard canyon (North Atlantic).

Table 3: Estimation of the foraminiferal contribution to benthic oxic respiration in the studied areas. DOU: diffusive oxygen uptake.

Species	Station	DOU from Delgard <i>et al.</i> (submitted) (mmolO ₂ m ⁻² d ⁻¹)		Total number of foraminifera in the oxic zone (ind 50cm ⁻²)	Respiration rates by foraminiferal population (mmolO ₂ m ⁻² d ⁻¹)		Foraminiferal population contribution to DOU (%)
		Mean	SD		Mean	SD	
February							
<i>Ammonia tepida</i>	Station N - Core 1			189	0.05		0.3
	Station N - Core 2	14	1.2	1146	0.28		2.0
	Station N - Core 3			1163	0.29		2.0
	Station Z - Core 1			1808	0.44	1.72×10 ⁻⁴	5.0
	Station Z - Core 2	8.9	4.3	1612	0.40		4.5
	Station Z - Core 3			2410	0.59		6.7
<i>Haynesina germanica</i>	Station N - Core 1			4	0		0
	Station N - Core 2	14	1.2	205	0.01		0.1
	Station N - Core 3			235	0.06		0.4
	Station Z - Core 1			3	0	3.28×10 ⁻⁵	0
	Station Z - Core 2	8.9	4.3	425	0.03		0.3
	Station Z - Core 3			366	0.02		0.2
<i>Eggerella scabra</i>	Station N - Core 1			88	0.02		0.2
	Station N - Core 2	14	1.2	10	0		0
	Station N - Core 3			26	0.01		0
	Station Z - Core 1			0	0	1.40×10 ⁻⁴	0
	Station Z - Core 2	8.9	4.3	7	0		0
	Station Z - Core 3			26	0.01		0.1
July							
<i>Ammonia tepida</i>	Station N - Core 1			246	0.17		1.3
	Station N - Core 2	13.4	3.6	674	0.46		3.5
	Station N - Core 3			175	0.12		0.9
	Station Z - Core 1			550	0.38	5.44×10 ⁻⁶	1.9
	Station Z - Core 2	20	1.7	107	0.07		0.4
	Station Z - Core 3			596	0.41		2.0
<i>Haynesina germanica</i>	Station N - Core 1			0	0		0
	Station N - Core 2	13.4	3.6	1	0		0
	Station N - Core 3			4	0		0
	Station Z - Core 1			11	0.01	4.20×10 ⁻⁵	0
	Station Z - Core 2	20	1.7	0	0		0
	Station Z - Core 3			56	0.03		0.2

It is difficult to estimate this contribution in intertidal systems because of the scarceness of datasets containing both geochemical and foraminiferal data. In Geslin *et al.* (2011), two stations from intertidal areas were investigated: Aiguillon Bay (France) and Yeu island (France). Although DOU was not estimated for these areas, it appears that foraminiferal respiration rates and biovolumes are higher in intertidal areas than in the deep sea. Generally, the contribution of meiofauna to total sediment respiration is considered small in coastal sediments: in estuaries for example, meiofaunal respiration accounted for less than a few percent whereas bacterial respiration was dominant and the macrofaunal contribution varied between 10 and 30% (Herman *et al.* 1999). However, the present study suggests that foraminifera may be very active in intertidal mudflats, likely contributing much more than was previously thought. Foraminifera exhibit a wide range of trophic behavior: herbivory, dissolved organic matter uptake, carnivory, bacterivory, suspension feeding and most commonly, deposit feeding (Lipps, 1983; Pascal *et al.* 2008; Dupuy *et al.* 2010). They have numerous mostly non-

selective predators: gastropods, scaphopods, nematodes, holothurians, echinoids, prawns, fish and still unknown others (see Murray, 2006). Unfortunately, their interactions with other components of the benthic food-web are poorly known, especially in intertidal areas. The present work suggests that it is urgent to study these topics in more detail.

CONCLUSION

Three dominant species of benthic living foraminifera were observed in February and July 2011 in the Arcachon Bay (Germanan area): *Ammonia tepida*, *Haynesina germanica* (two calcareous species) and *Eggerella scabra* (agglutinated species). We observed three different distribution patterns in the intertidal mudflat. *E. scabra* inhabits the sediment down to 7 cm depth and appears to be less dependent on labile organic matter. Conversely, both *A. tepida* and *H. germanica* were found in shallow infaunal microhabitats in the topmost sediment layer in February, and appear to prefer oxygenated niches with abundant labile food. However, in July 2011, *Zostera noltei* seems to create microenvironments with a slightly higher pH, allowing *H. germanica* to survive a period with adverse conditions in slightly deeper sediment layers. In fact, living calcareous species observed in July were completely decalcified showing only the organic lining, testifying of a low pH. The presence of decaying seagrasses, especially on the bare sediments may be a possible cause of the important decrease of pH in the sediment.

Finally, our results indicate that the foraminiferal contribution to aerobic carbon remineralization attains 7% of DOU in intertidal sediments with *Zostera noltei* in Arcachon Bay. This is almost five times more than the maximum recorded in deeper stations in the Bay of Biscay (Geslin *et al.* 2011). It appears that *Zostera noltei* meadows favor the foraminiferal communities (source of organic matter and shelter) and that foraminifera are important actors in these environments, making it necessary to further investigate their role in the food web.

Acknowledgements

This study was supported by the French national program ANR-10-BLAN IZOFLUX and by the COTE Cluster of Excellence (ANR-10-LABEX-45). It was also supported by the University of Bordeaux (BQR), the Region Aquitaine (OSQUAR), Europe (FEDER OSQUAR) and the Project BIOMIN funded by the INSU programs LEFE-CYBER and EC2CO-PNEC. The authors would like to thank the Marine Station of Arcachon for logistical assistance and the friendly welcome. The authors are grateful to the SCIAM (Service Commun d'Imagerie et d'Analyses Microscopique) of Angers University for the Scanning Electronic Microscopic facilities and to Vincent Hanquiez from UMR 5805 EPOC laboratory for making available the map of Arcachon Bay. The authors greatly appreciated the technical assistance of Sabrina Bichon and Yoann Viala during field campaigns and laboratory work (EPOC).

CHAPITRE 2

Rôle des chloroplasts sequesters chez *Haynesina germanica* :
implication sur l'écologie de cette espèce

Rôle des chloroplastes séquestrés chez *Haynesina germanica* : implication sur l'écologie de cette espèce

Chapitre en collaboration avec Charlotte Le Kieffre (EPFL - Lausanne), Maria Pia Nardelli (LPG-BIAF Univ. Angers), Dewi Langlet (LPG-BIAF Univ. Angers) et Guillaume Mabilieu (SCIAM – Univ. Angers)

1. INTRODUCTION

Au cours du chapitre précédent traitant de l'écologie des foraminifères benthiques de sédiment colonisés par des herbiers à *Zostera noltei* du Bassin d'Arcachon, nous nous sommes intéressés à la distribution des foraminifères benthiques, des organismes présents en grand nombre dans les sédiments marins et dont leur métabolisme et leur rôle dans les cycles géochimiques restent encore peu connus à ce jour. Trois espèces dominantes ont été recensées en février et juillet 2011. Parmi elles, deux espèces calcaires (*Ammonia tepida* et *Haynesina germanica*) retrouvées majoritairement dans le premier demi centimètre de sédiment et une espèce agglutinée (*Eggerella scabra*) vivant sur l'ensemble de la colonne sédimentaire (*i.e.* 0-7 cm). Néanmoins une différence de distribution verticale a été observée entre *A. tepida* et *H. germanica*. *Haynesina germanica* semble être plus affectée par les faibles pH observés en juillet conduisant à une absence des *H. germanica* dans les sédiments nus. En revanche la présence plus en profondeur de cette espèce dans les carottes avec *Zostera noltei* ont été argumentées par l'effet bénéfique de l'herbier (*i.e.* augmentation du pH et exsudat de matière organique). Cependant cette distribution peut certainement être influencée 1) par des facteurs abiotiques et notamment leur hétérogénéité dans la colonne sédimentaire (Cf. **chapitre 4**) et 2) par des fonctions biologiques propres à l'espèce.

Pour tenter de répondre à ces interrogations, deux stratégies scientifiques ont été mises en place au cours de ce travail de thèse :

- 1) La caractérisation géochimique à microéchelle du microhabitat des foraminifères afin de détecter des relations entre espèces et niches géochimiques (**Chapitres 3 et 4**);
- 2) L'étude de fonctions biologiques de la cellule permettant de comprendre certaines interactions entre l'individu et l'environnement.

Dans ce cadre, nous nous proposons d'étudier dans ce chapitre un processus métabolique pouvant apporter des éléments nouveaux permettant d'expliquer la réponse écologique de l'espèce *H. germanica* aux conditions environnementales particulières d'une vasière intertidale soumise à la

dynamique de colonisation et d'activité de *Zostera noltei*. Cette espèce de foraminifère présente en effet des organites particuliers dans sa cellule. Elle est capable de séquestrer des chloroplastes⁵ fonctionnels (Lopez, 1979). Ce phénomène, nommé kleptoplastidie est un phénomène « symbiotique » où les plastides, tels que les chloroplastes sont séquestrés par un organisme hôte. Cette kleptoplastidie a été observée chez 8 genres de foraminifères autres que *Haynesina* : *Bulimina*, *Elphidium*, *Nonion*, *Nonionella*, *Nonionellina*, *Reophax*, *Stainforthia* (Lopez 1979 ; Knight and Mantoura 1985 ; Lee *et al.* 1988 ; Cedhagen 1991 ; Bernhard and Bowser 1999 ; Grzymiski *et al.* 2002 ; Goldstein *et al.* 2004 ; Pillet *et al.* 2011). L'organisme possédant initialement les chloroplastes est ingéré et partiellement digéré, laissant les plastides intacts. Ceux-ci gardent temporairement une photosynthèse fonctionnelle, pouvant ainsi être utilisés par le prédateur. Pillet et ses collaborateurs (2011) ont montré que les chloroplastes retrouvés dans la cellule des *H. germanica* proviennent exclusivement de diatomées mais sans sélection quant à l'espèce ingérée. Austin et ses collaborateurs (2005) ont émis l'hypothèse que l'acquisition de ces chloroplastes est réalisée par les structures en forme de dents placées au niveau de l'ouverture du foraminifère (Austin *et al.* 2005 ; Figure 1).

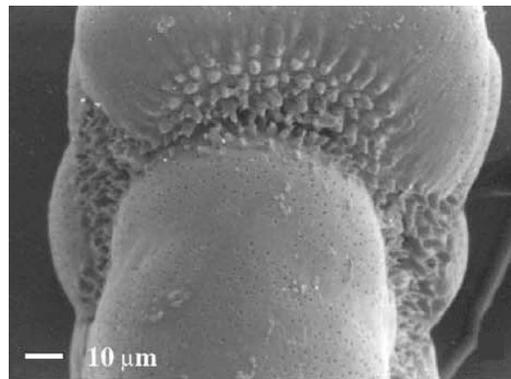


Figure 1 : Vue de l'ouverture d'une *Haynesina germanica* photographiée par microscope électronique à balayage (d'après Austin *et al.* 2005).

Ces structures seraient ainsi impliquées dans le désassemblage des frustules de diatomées afin d'isoler les chloroplastes (Banner and Culver, 1978 ; Alexander and Banner, 1984 ; Lee and Anderson, 1991 ; Lee, 1993 ; Bernhard and Bowser, 1999 ; Pillet *et al.* 2011). Des études ont tenté de caractériser ces chloroplastes par des observations au microscope électronique à transmission (MET) d'*H. germanica* (Lopez 1979 ; Lee *et al.* 1988 ; Cedhagen 1991 ; Lee and Anderson 1991 ; Bernhard and Bowser 1999 ; Goldstein *et al.* 2004). Cependant seul Lopez (1979) a démontré (et quantifié) par une méthode d'incubation de ¹⁴C en laboratoire (mesurant un flux de H¹⁴CO₃⁻), l'activité photosynthétique des chloroplastes séquestrés par les *H. germanica* ($5,1 \times 10^{-4}$ mgC.mg poids sec⁻¹.h⁻¹). Pillet *et al.* (2011) suggèrent que les gènes de diatomées pourraient être transférés au noyau des foraminifères rendant ainsi possible le fonctionnement du chloroplaste par l'hôte. Lopez (1979) montre ainsi que *H. germanica* (nommée *Nonion germanicum*) a une activité photosynthétique proportionnelle au contenu

⁵ Organites cellulaires présents dans le cytoplasme des eucaryotes photosynthétiques (plantes, algues) contenant la chlorophylle

en chloroplastes et en chlorophylle. Cette activité photosynthétique augmente linéairement jusqu'à 10 kilolux (soit environ $190 \mu\text{mol.photon}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). *Haynesina germanica* serait ainsi capable de synthétiser de la matière organique par photosynthèse.

Dans la littérature, le phénomène de kleptoplastidie a été décrit pour la première fois sur un mollusque de l'ordre des sacoglosses (Kawaguti and Yamasu 1965 ; Jesus *et al.* 2010 ; Figure 2). La présence de chloroplastes chez les mollusques sacoglosses permet à ces organismes de survivre pendant plusieurs mois en l'absence de nourriture (Trench, 1975 ; Mujer *et al.* 1996 ; Rumpho *et al.* 2000).

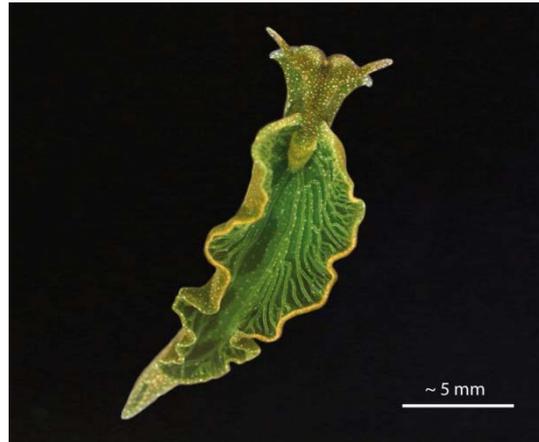


Figure 2 : *Elysia chlorotica*, mollusque sacoglosse kleptoplaste (Rumpho *et al.* 2000).

Bien que marginale, la kleptoplastidie a également été observée sur des dinoflagellés hétérotrophes (Lewitus *et al.* 1999 ; Stoecker, 1999 ; Eriksen *et al.* 2002 ; Takishita *et al.* 2002) et des ciliés (Dolan, 1992). Afin d'étudier plus en détail l'avantage adaptatif de la kleptoplastidie et le rôle écologique chez *H. germanica*, nous proposons donc :

1) de vérifier que les spécimens d' *H. germanica* du Bassin d'Arcachon contiennent des chloroplastes dans leur cytoplasme comme cela a été observé en coupe cytologique dans la littérature sur des *H. germanica* provenant de sédiments de Limfjorden, au Danemark (Lopez 1979) ou d'une vasière au sud de l'île de Sapelo, Géorgie (USA ; Goldstein *et al.* 2004). Pour atteindre cet objectif, des coupes cytologiques sont observées au microscope électronique à transmission (MET) afin de déterminer la présence ou non de chloroplastes intacts et, le cas échéant de quantifier leur densité à l'échelle de l'individu ;

2) d'étudier l'activité des chloroplastes par la quantification directe et à l'échelle de l'individu des taux de respiration de l'oxygène en absence et en présence de lumière grâce à une technique à haute résolution relativement facile à mettre en œuvre ;

3) De réexaminer les hypothèses formulées dans le chapitre précédent concernant l'écologie de *H. germanica* à la lumière de la démonstration de l'effectivité de la kleptoplastidie chez cette espèce du Bassin d'Arcachon. En particulier, nous examinerons la relation possible entre la dynamique des

nutriments imposée par le cycle de vie de *Z. noltei* et l'évolution saisonnière de la distribution verticale de *H. germanica*.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Site de prélèvement

L'échantillonnage de sédiment de surface a été effectué en juin 2014 à la Hume (sud du Bassin d'Arcachon) dans des sédiments non colonisés par l'herbier de *Z. noltei*. Cet échantillonnage a été choisi en raison des trop faibles densités d'*H. germanica* observées sur Germanan (site à herbier faisant l'objet d'études intenses dans le cadre du programme IZOFLUX) à la même période. Un prélèvement de sédiment de surface a été réalisé à la cuillère et stocké dans des pots en plastique avec de l'eau de mer du site maintenue à saturation en oxygène, à l'obscurité et à la température *in situ*. Les mesures des taux de respiration et de photosynthèse d'*H. germanica* ont été réalisées sur des individus vivants au laboratoire du LPG-BIAF à Angers 4 jours après le prélèvement.

2.2. Isolation et identification des individus vivants

L'expérimentation nécessite de prélever des individus vivants et actifs afin de mesurer leur activité de production/ consommation d'oxygène. Il est donc nécessaire de tester leur vitalité. Pour cela, le sédiment est tout d'abord tamisé à 150 µm avec de l'eau de mer (à température et salinité proches des conditions *in situ*). Le refus de tamis est ensuite observé sous loupe binoculaire. Les *H. germanica* présentant un cytoplasme coloré et/ou un kyste autour du test sont isolés du sédiment et placés dans une boîte de pétri contenant un sédiment fin (<38µm). Un individu est considéré vivant et actif si une trace de déplacement est observée sur ce sédiment après quelques heures. L'ensemble des individus utilisés dans cette étude, soit 18 individus répartis en 3 expériences, a été isolé 1 jour précédant l'expérience 1 et 3 et 3 jours précédant l'expérience 2.

2.3. Détermination du biovolume des *H. germanica*

Avant chaque expérience, le biovolume de chaque individu est déterminé à partir de la mesure du diamètre maximum et minimum (Figure 3 et Equation 1). La mesure se fait avec une loupe binoculaire (Leica MZ 12 5) équipée d'un oculaire gradué :

$$\text{Volume de la coquille} = \frac{1}{2} \times \frac{4}{3} \times \pi \times \left(\frac{D_{max} + D_{min}}{4} \right)^3 \quad (\text{Equation 1})$$

Le biovolume est ensuite considéré comme étant 75 % du volume de la coquille (Hannah *et al.* 1994).

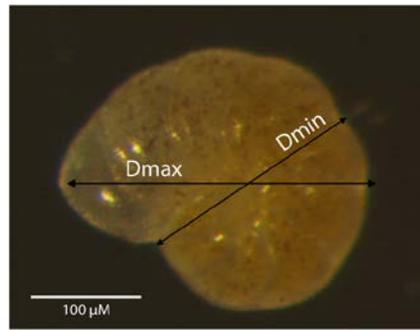


Figure 3 : Diamètres mesurés pour évaluer la taille d'*Haynesina germanica*.

2.4. Mesure des taux de respiration à l'obscurité

Le second objectif de cette étude est de développer une méthodologie simple et très précise pour étudier la consommation et/ou production d'oxygène des foraminifères. Selon le protocole établi par Høgslund *et al.* (2008), les individus, préalablement mesurés (voir section 2.3.), sont placés dans une chambre de mesure en verre cylindrique d'1 mm de diamètre et d'environ 1 cm de hauteur. Cette chambre de mesure est située à l'intérieur d'une cuve de spectrophotométrie carrée d'1 cm de côté contenant de l'eau de mer artificielle à salinité 33. L'ensemble est ensuite placé dans un aquarium thermostaté à 13°C (Figure 4).

Les mesures d'oxygène dissous sont réalisées au moyen d'une électrode à oxygène de type Clark (Revsbech *et al.* 1980a) de pointe de 50 µm de diamètre (Unisense, Danemark). La calibration des électrodes est réalisée en deux points : le zéro oxygène avec une solution d'ascorbate de sodium à 0.1 M à pH basique puis dans la solution d'eau de mer artificielle saturée en oxygène par bullage d'air et maintenue à la température des expériences. Cette électrode est ensuite placée dans la chambre de mesure à environ 200 micromètres des foraminifères. Cette opération n'est possible que par un contrôle de la position de l'électrode réalisé par deux loupes binoculaires placées horizontalement et perpendiculairement l'une de l'autre (Figure 3). Pour faciliter la manipulation, un micromanipulateur motorisé MM-33 est utilisé (Unisense, Danemark). La mesure d'oxygène est ensuite réalisée tous les 50 µm en s'éloignant progressivement des individus placés au fond de la chambre de mesure. Trois minutes environ sont ainsi nécessaires pour réaliser un profil. Plusieurs dizaines de profils sont réalisés pour chaque expérience grâce à un système automatisé (Unisense, Danemark).

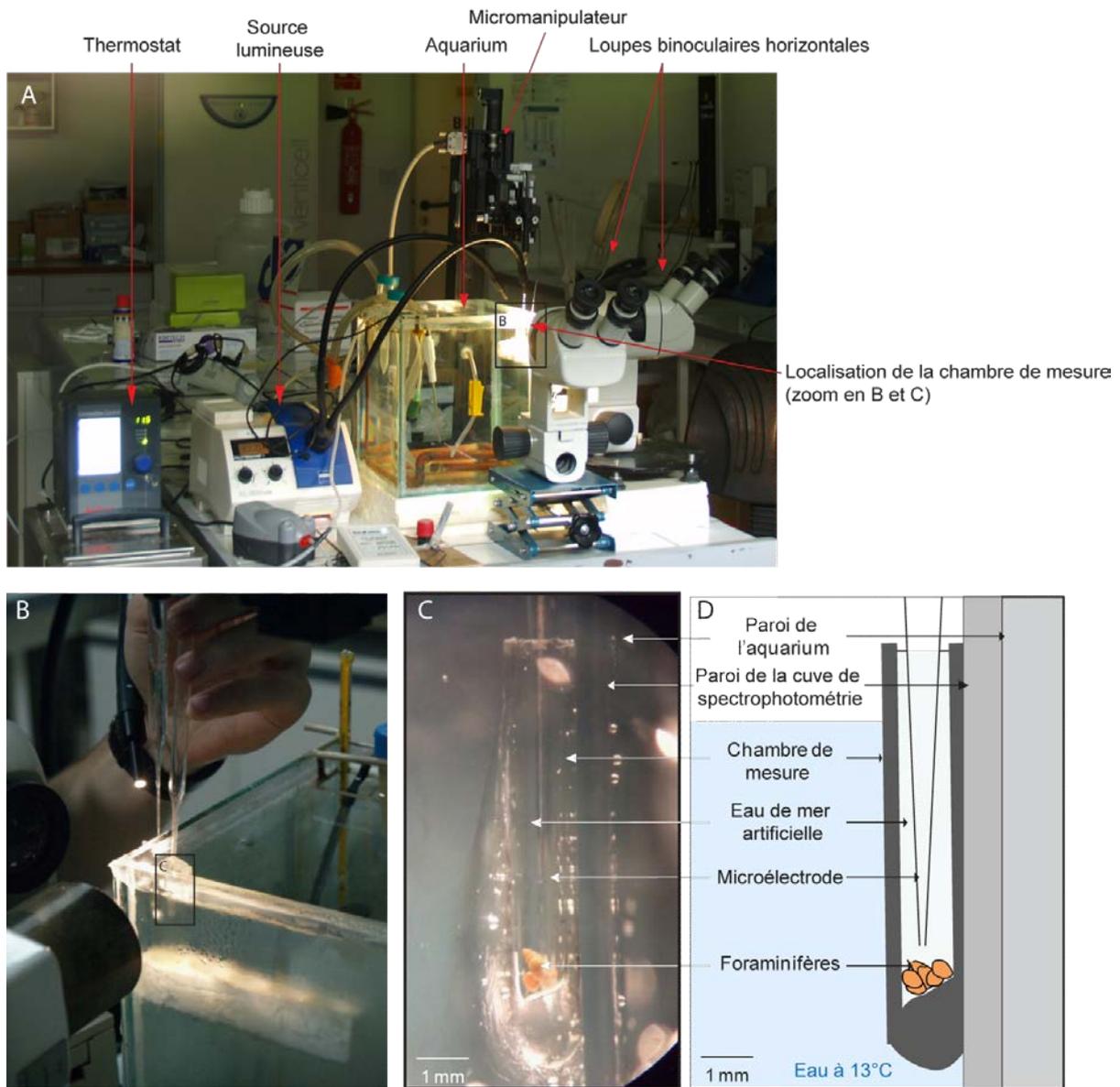


Figure 4 : Photographie du montage expérimental pour la réalisation des flux d'oxygène (A) et zooms successifs sur la chambre de mesure (B) puis (C). Représentation schématique de la chambre de mesure en présence d'une microélectrode à oxygène et de foraminifères (D) (modifiée d'après L. Charrieau). La microélectrode est placée dans sa position de début de mesure de profils.

Ces mesures permettent ainsi de déterminer le gradient d'oxygène (dO_2/dz en pmol.cm^{-4}) induit par l'activité des foraminifères (Equation 2). A partir de ce gradient, le flux d'oxygène (J en $\text{pmol.cm}^{-1}.\text{s}^{-1}$) est calculable en fonction du coefficient de diffusion moléculaire de l'oxygène (D_0 en $\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$) et du gradient de concentration d'après la première loi de Fick :

$$J = -D_0 \times \frac{dO_2}{dz} \quad (\text{Equation 2})$$

A l'obscurité, le taux de consommation d'oxygène (*i.e.* respiration) des *H. germanica* est estimé en multipliant le flux d'oxygène mesuré par la section de la chambre de mesure et en rapportant au nombre d'individus présents dans cette même chambre (R en $\text{pmol.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$; Equation 3) :

$$R = \frac{J \times S \times 3600 \times 24}{N} \quad (\text{Equation 3})$$

Les taux de saturation en oxygène à proximité des individus ont également été calculés à partir de la solubilité de l'oxygène en fonction de la température et de la salinité (Aminot and Kérouel 2004). Dans ce dispositif expérimental, la chambre de mesure reste ouverte et en contact avec l'air. La concentration dans la chambre sera donc le résultat entre les échanges avec l'atmosphère qui renouvellent l'oxygène par diffusion et la consommation d'oxygène par les organismes contenus dans la chambre.

2.5. Taux de photosynthèse net à la lumière

Le taux de production d'O₂ est déduit à partir de la différence des flux d'oxygène entre les conditions d'obscurité et d'éclaircissement. L'éclaircissement se fait avec une source de lumière froide (Zeiss, KL 1500 LCD) dont l'intensité moyenne est de 300 μmol.photon⁻¹.m².s⁻¹ (contr ol e par un quantum mètre Li-Cor 250) placée à environ 2 cm de la chambre de mesure et s epar e des individus par le volume d'eau de la chambre et l'épaisseur de la chambre de mesure. Cette valeur d'intensité lumineuse est du même ordre de grandeur que celles mesurées ou utilisées par Plus *et al.* (2001) et Delgard (2013) sur le Bassin d'Arcachon respectivement dans l'étude des facteurs influençant la production primaire de l'herbier de *Zostera noltei* et l'étude de la dynamique de l'oxygène dans la rhizosphère de ce même herbier. La mise en place des foraminifères au sein de la chambre de mesure puis l'installation de l'électrode dans la chambre se déroulent toujours à la lumière. Afin d'étudier l'influence de la lumière sur l'espèce *H. germanica*, des cycles nuit-jour ont été r ealis es. Chaque cycle débute à l'obscurité.

2.6. Fixation des *H. germanica* pour observation au Microscope Electronique à Transmission

A la fin de chaque expérience de mesure des flux d'O₂, les individus vivants ont suivi un traitement en plusieurs étapes (fixation, d ecalcalcification, enrésinement, coupes fines) afin d'obtenir des coupes fines de cellule permettant d'observer les organites au MET. Les différentes étapes sont décrites ci-dessous.

Les individus ont été fix es d'après la méthode décrite par Stouff (1998). Une première phase de fixation dure 12h à température ambiante suivi d'un stockage à 4 C. Le réactif est une solution de glutaraldéhyde 4% dilu e dans un tampon cacodylate (0.2M) additionn e de sucrose (0.4M) et de NaCl (0,1M) afin de maintenir une osmolarité correcte (1400 mOsm). Le pH de la solution a été ajust e à 7,4. Le glutaraldéhyde permet de fixer et donc de conserver les différentes ultrastructures de la cellule. Cette substance effectue un pontage covalent entre les molécules protéiques voisines. La d ecalcalcification de la coquille a été réalisée sur une durée de 48h dans une solution d'EDTA (0,1 M) dilu e dans du tampon de cacodylate 0,1 M. Les individus ont ensuite été rinc es dans un tampon cacodylate (0,1 M) et NaCl (0,4 M) puis post-fix e dans de l'osmium 0,1M pendant 1h afin d'apporter

du contraste aux doubles couches lipidiques et aux protéines. Un nouveau rinçage dans de l'eau désionisée est réalisé. Puis la cellule est déshydratée dans une série de bains d'éthanol, ensuite elle est pré-incluse 1h dans un mélange éthanol 100° et de résine (LR white) et enfin pendant 1 nuit dans de la résine LR white. Une dernière inclusion a lieu pendant 2 à 3h dans un nouveau bain de résine (LR white) avec ajout d'un bouchon de paraffine liquide afin de permettre la polymérisation de la résine LR white en présence d'oxygène. La polymérisation a été réalisée à l'étuve à 60°C pendant 1 nuit. Des coupes semi-fines (500 µm) sont premièrement réalisées pour permettre d'observer l'individu dans sa totalité. Puis des sections ultrafines de la cellule enrésinée ont été réalisées à l'aide d'un ultramicrotome (Reichert ultracut S) et d'un couteau diamant (RMC diamond knife). Ces coupes ultrafines de 70nm d'épaisseur ont été déposées sur des grilles de cuivre 200mesh avec un film carbone. Les coupes sont déposées face contre une goutte d'acétate d'uranyle 2% dilué dans de l'eau distillée pendant 10 minutes à l'obscurité, puis rincées avec de l'eau distillée et séchées au moins une nuit avant observation au MET. L'acétate d'uranyle interagit avec les lipides et les protéines de l'échantillon pour augmenter le contraste. Le protocole de fixation et les coupes ont été réalisés pour des raisons pratiques à l'Electron Microscopy Facility de l'Université de Lausanne (UNIL) par Charlotte Le Kieffre (doctorante EPFL, Lausanne, dirigée par A. Meibom, co-encadrée par E. Geslin). Les observations MET (JEOL JEM 1400) ont été effectuées au Service Commun d'Imagerie et d'Analyses Microscopiques de l'Université d'Angers avec la collaboration de Guillaume Mabilieu (IR du SCIAM). Deux individus d'*H. germanica* ont été observés mais en raison de la qualité médiocre de la fixation des cellules d'un des individus, seuls les clichés réalisés sur l'un des individus sont présentés dans cette étude.

3. RESULTATS

3.1. Observation des chloroplastes séquestrés

L'observation au MET d'un spécimen d'*H. germanica* permet de distinguer l'aspect granulaire de son cytoplasme (Figure 5A) contenant entre autres des lipides (L, Figure 5B-D), des corps résiduels⁶ (CR, Figure 5C) ainsi que de nombreux chloroplastes (notés C en figure 5B-D). Les chloroplastes sont présents en nombre important dans cette cellule : environ 80000 chloroplastes par mm² (extrapolation à partir de la Figure 5B). Pour la suite de la description, nous utiliserons la nomenclature utilisée par Lopez (1979). Les chloroplastes, entourés par une membrane (Figure 5D, M) se composent d'une partie centrale finement granuleuse, le pyrénioïde⁷ (Figure 5D, P), entourée par une épaisse région contenant les lamelles de thylakoïdes⁸ (Figure 5D, T), dans lesquelles la chlorophylle est concentrée.

⁶ Organite cellulaire présents dans les cellules animales. Ils ont pour fonction d'effectuer la digestion intracellulaire.

⁷ Corps protéique souvent associé aux plastes des cellules végétales. Le pyrénioïde concentre les enzymes responsables de la photosynthèse (notamment la RUBISCO).

⁸ Ou membrane de thylakoïde, dans un chloroplaste, est un sac membraneux aplati contenant la chlorophylle. Les thylakoïdes des chloroplastes forment fréquemment des piles de disques appelés grana (ou granum au singulier).

Les thylakoïdes présents dans les *H. germanica* sont nombreux et laissent parfois apparaître le stroma⁹ (Figure 5D, S).

L'ensemble des chloroplastes observés apparaît intact, c'est-à-dire que leurs membranes ainsi que les structures internes (thylakoïdes, pyrénoloïdes ...) sont facilement distinguables.

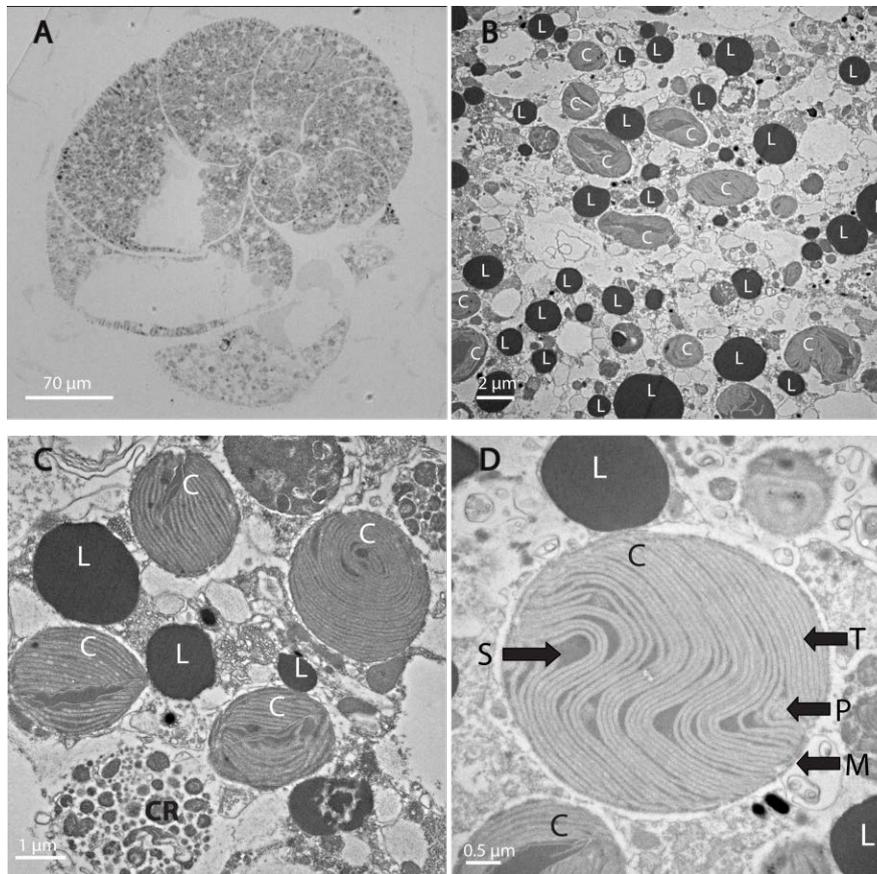


Figure 5 : Coupe semi-fine d'*Haynesina germanica* photographiée au microscope optique(A). (B) à (D) photographies prises au MET avec un zoom sur la cinquième loge, (C) zoom sur la loge antépénultième (C : chloroplaste ; L : lipide ; CR : corps résiduel ; S : stroma ; T : thylakoïde ; P : pyrénoloïde ; M : membrane).

3.2. Métabolisme d'*H. germanica* à l'obscurité et à la lumière

La figure 6 présente des exemples de profils d'oxygène dissous en fonction de la distance aux foraminifères dans la chambre de mesure. La figure 6A présente une série de profils pour une expérience réalisés sur 6 individus placés à l'obscurité. L'ensemble de ces profils représente environ 40 minutes d'expérience. Les concentrations d'oxygène sont systématiquement plus importantes lorsque l'on s'éloigne du foraminifère montrant un flux d'oxygène vers les foraminifères. Ce gradient est entretenu par la consommation des organismes présents au fond de la chambre et semble peu varier au cours du temps malgré la diminution de la concentration en oxygène de la chambre. En effet, le

⁹ Zone remplie de liquide et optiquement vide d'un chloroplaste à l'extérieur des membranes thylakoïdes où les réactions indépendantes de la lumière se produisent.

gradient est en moyenne de $370 \pm 19,6 \text{ nmol.cm}^{-4}$ et la diminution de l'oxygénation dans la chambre est de l'ordre de 20% en 40 min.

La figure 6B montre des exemples de profils obtenus lorsque les mêmes individus de la figure 6A sont exposés à une lumière d'intensité de $300 \mu\text{mol.photon}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. On observe une diminution du gradient chimique au cours du temps jusqu'à son inversion, ce qui indique une source en oxygène depuis les organismes étudiés. Le gradient est linéaire uniquement à proximité des individus (entre 200 et 500 μm sur le profil), et seule cette portion est utilisée pour calculer les flux d'oxygène et le taux de consommation/production par individu.

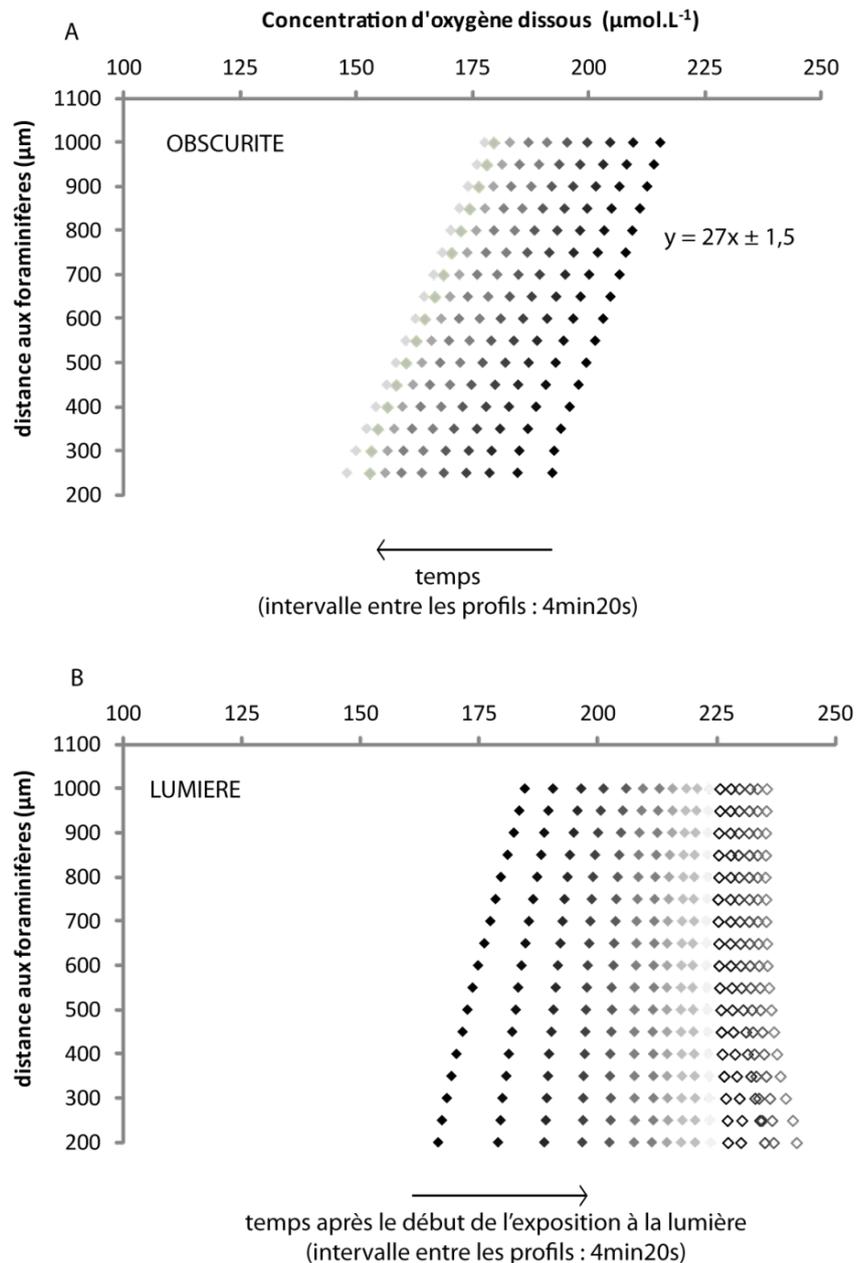


Figure 6 : Exemple d'une succession de profils d'oxygène mesurés pour l'expérience 3 d'*Haynesina germanica* (n= 6 individus) dans l'obscurité (A) et avec lumière (B).

3 expériences ont été réalisées suivant le même protocole et ne différant que par les spécimens étudiés et donc le biovolume moyen des organismes testés (Tableau 1). La moyenne des biovolumes pour l'expérience 1 est de $4,2 \pm 0,8 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ contre $5,9 \pm 4,1 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ et $5,4 \pm 1,5 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ respectivement pour les expériences 2 et 3. Une fois les individus placés dans la cellule de mesure, l'obscurité est faite et les analyses débutent.

Tableau 1 : Biovolume de l'ensemble des individus analysés lors de cette expérience.

Biovolume ($10^6 \mu\text{m}^3$)	individu 1	individu 2	individu 3	individu 4	individu 5	individu 6	Moyenne
Expérience 1	3,2	5,4	3,6	4,9	4,1	4,0	$4,2 \pm 0,8$
Expérience 2	5,0	2,8	4,7	13,5	2,1	7,1	$5,9 \pm 4,1$
Expérience 3	4,0	4,2	4,2	5,8	7,1	7,3	$5,4 \pm 1,5$

La figure 7 représente l'évolution au cours du temps de ce taux ainsi que le pourcentage de saturation en oxygène à proximité des organismes testés pour ces 3 expériences. On peut observer systématiquement en début d'expérimentation (passage à l'obscurité), une phase d'augmentation des taux de consommation d'oxygène dissous avant stabilisation. Le passage à un éclairage d'environ $300 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ entraîne une rapide diminution du taux de consommation de l'oxygène (*i.e.* le gradient chimique diminue de façon drastique) pour se stabiliser ensuite. La remise à l'obscurité entraînera à nouveau une augmentation du taux de consommation de l'oxygène. On peut noter lors des expériences 2 et 3 que les conditions d'éclairage pouvaient entraîner une inversion des gradients et donc un taux de consommation d'oxygène négatif (pendant 24 minutes lors de l'expérience 2 avec un pic de $199 \text{ pmol.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$ et de manière plus ponctuelle lors de la deuxième et troisième phase d'éclairage). La saturation en oxygène autour des foraminifères étudiés diminue systématiquement à l'obscurité pour réaugmenter à la lumière. Les taux de consommation moyens lors de chaque phase obscure et éclairée sont compilés dans le tableau 2. Pour chaque expérience, la première phase d'obscurité présente des taux de consommation assez variables (662 ± 12 , 792 ± 9 et $1082 \pm 59 \text{ pmolO}_2.\text{ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$ respectivement pour les expériences 1, 2 et 3). Le passage à la lumière entraîne une re-saturation de la chambre en oxygène et les taux de consommation moyens diminuent à 109 ± 15 , 89 ± 172 et $294 \pm 36 \text{ pmolO}_2.\text{ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$ respectivement. Le retour à l'obscurité entraîne une augmentation du taux de consommation d'oxygène qui ne retrouve jamais sa valeur initiale. L'expérience 3 a duré plus de 10 heures permettant de réaliser 3 cycles d'éclairage d'une durée moyenne de 4h. On observe que les taux moyens de consommation de l'oxygène sont assez bruités avec des valeurs moyennes variables à l'obscurité ($1082 (\pm 59)$, $575 (\pm 41)$ puis $766 (\pm 118) \text{ pmol.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$; calculés respectivement sur 33, 29 et 28 profils; Figure 7). Ces valeurs moyennes à l'obscurité sont relativement proches de celles mesurées à la lumière et sont de plus en plus faibles ($294 (\pm 36)$, $160 (\pm 62)$ puis $146 (\pm 109) \text{ pmol.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$; calculés respectivement sur 36, 28 et 16 profils ; Figure 7). Néanmoins seules les deux premières séries de mesure avec lumière sont significativement différentes (Mann-Whitney, $p < 0.0001$).

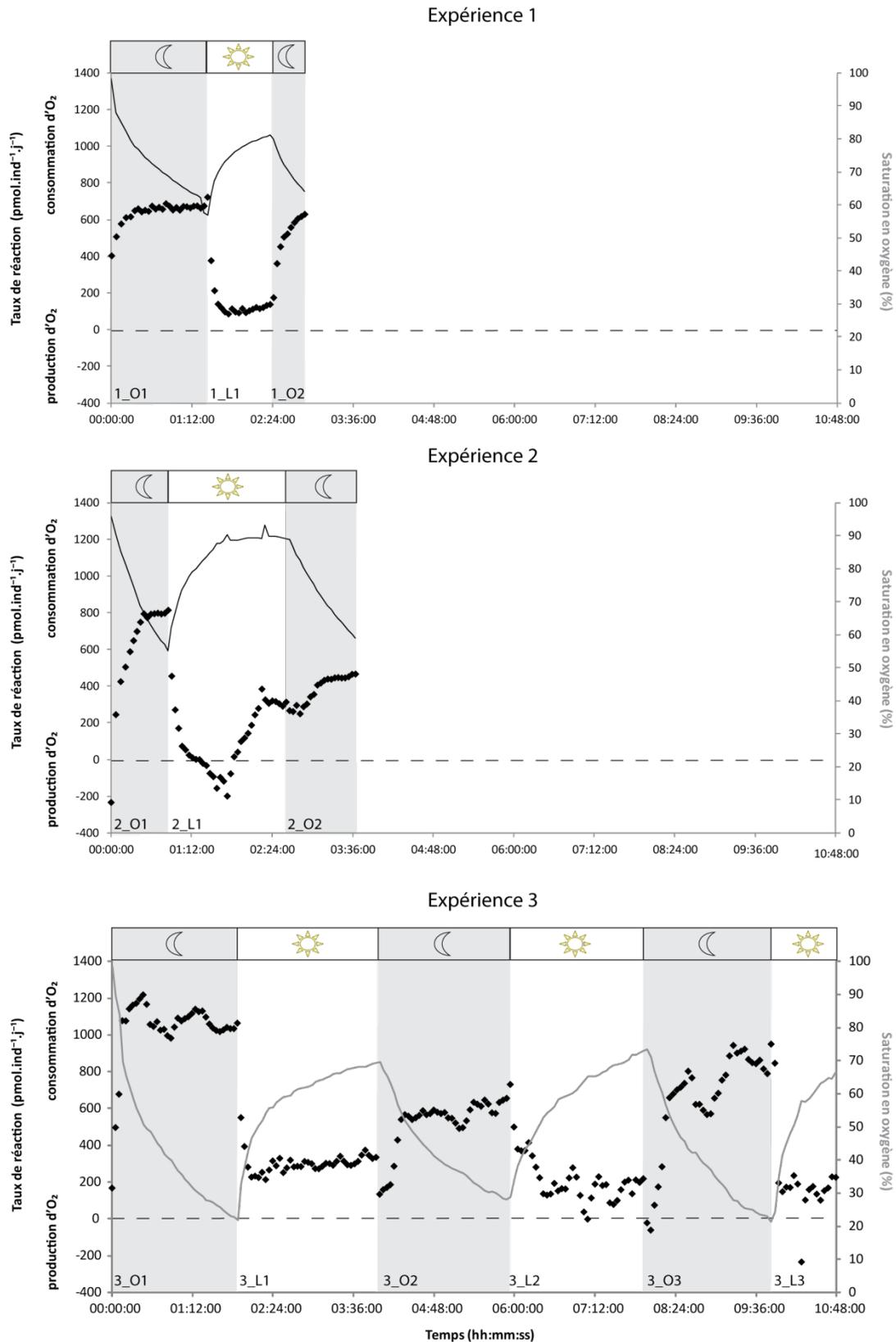


Figure 7 : Taux d'oxygène (en noir) et pourcentage de saturation (en gris) en fonction du temps dans l'obscurité et avec lumière pour les expériences menées avec *H. germanica* (n= 6 individus). La ligne discontinue indique le zéro des taux de respiration.

Tableau 2 : Taux de photosynthèse net d'oxygène mesuré à partir des taux de consommation et de production d'oxygène moyennés (A) et des valeurs maximales (B).

A- Expérience	Nombre d'invidus par chambre	Taux de consommation moyen (condition d'obscurité)			Taux de production + consommation moyen (condition lumineuse)			Taux de photosynthèse net = taux de consommation - (taux de production + consommation)		
		pmol.ind ⁻¹ .j ⁻¹	Ecart type	Nombre de profils	pmol.ind ⁻¹ .j ⁻¹	Ecart type	Nombre de profils	pmol.ind ⁻¹ .j ⁻¹	Ecart type	Ecart type relatif (ETR)
1_O1/1_L1	6	662	12	21	109	15	15	553	27	0,16
1_O2	6	500	141	10	-	-	-	-	-	-
2_O1/2_L1	6	792	9	7	89	172	29	702	180	1,94
2_O2	6	380	78	21	-	-	-	-	-	-
3_O1/3_L1	6	1082	59	33	294	36	36	788	96	0,18
3_O2/3_L2	6	575	41	29	160	62	28	415	103	0,46
3_O3/3_L3	6	766	118	27	146	109	16	621	227	0,90
B- Expérience	Nombre d'invidus par chambre	Taux de consommation moyen (condition d'obscurité)			Taux de production + consommation maximum (condition lumineuse)			Taux de photosynthèse net = taux de consommation - (taux de production + consommation)		
		pmol.ind ⁻¹ .j ⁻¹	Ecart type	Nombre de profils	pmol.ind ⁻¹ .j ⁻¹	Ecart type	Nombre de profils	pmol.ind ⁻¹ .j ⁻¹	Ecart type	Ecart type relatif (ETR)
2_O1/2_L1	6	792	9	7	-199	-	1	991	9	0,01
3_O2/3_L2	6	575	41	29	-2	-	1	576	41	0,07
3_O3/3_L3	6	766	118	27	-234	-	1	1000	118	0,15

4. DISCUSSION

4.1. La kleptoplastidie chez *H. germanica* du Bassin d'Arcachon

4.1.1. Arguments cytologiques

Selon la littérature, *Haynesina* est l'un des huit genres de foraminifères capables de séquestrer des chloroplastes dans leur cytoplasme (Lopez, 1979 ; Knight and Mantour, 1985 ; Goldstein *et al.* 2004 ; Pillet *et al.* 2011). Les observations au MET de coupes cytologiques d'un spécimen du Bassin d'Arcachon confirment la présence de chloroplastes intacts. La figure 5A d'un spécimen de *H. germanica* permet de distinguer l'aspect granulaire du cytoplasme des foraminifères. Comme décrit dans Goldstein *et al.* (2004), ces granules correspondent aux divers organites cytoplasmiques. Parmi ces organites observables dans *H. germanica*, à l'image des cellules végétales, des chloroplastes sont présents en nombre important dans le cytoplasme (Figure 4B-D). La quantité de chloroplastes dénombrée sur les images de MET permet d'estimer à environ 20000 chloroplastes pour un plan de la cellule entière (diamètre de 300 μm). Si on rapporte grossièrement la surface de la cellule à une sphère correspondant à la taille moyenne d'un foraminifère, cela représente environ 100000 chloroplastes par cellule. En comparaison, un dinoflagellé contient entre 1 et 2 chloroplastes (Siano *et al.* 2010) et selon l'espèce de diatomée, entre 1 et 10 chloroplastes sont observés (Round *et al.* 1990).

Le bon état de conservation des structures internes des chloroplastes permet d'avancer que les chloroplastes ne sont pas digérés et possiblement fonctionnels (Goldstein *et al.* 2004).

4.1.2. Quantification métabolique

Afin d'étudier précisément l'activité photosynthétique des *H. germanica* prélevées dans le Bassin d'Arcachon et en raison de la faiblesse des échanges d'oxygène pour des organismes dont le biovolume est de l'ordre de quelques nanolitres, il s'est avéré nécessaire de mettre en œuvre une méthodologie adaptée. La méthode proposée par Høglund *et al.* (2008) et systématisée par Geslin *et al.* (2011) permet de quantifier des variations de flux de l'ordre de quelques centièmes de picomoles d'oxygène par individu et par jour. La sensibilité de la technique peut être multipliée en introduisant plusieurs individus dans la chambre de mesure (6 individus pour cette étude). La compacité du montage et sa simplicité permettent aussi une exposition facile à des sources de lumière, des intensités différentes ainsi qu'à des variations de température relativement rapides et des observations directes aisées. Ceci nous a permis d'étudier pour la première fois la dynamique de la consommation et de la production d'oxygène par les foraminifères kleptoplastes en fonction de la luminosité. Une simple source de lumière froide Zeiss, KL 1500 LCD et un quantum mètre Li-Cor 250 ont été ajoutés à cette méthodologie afin de réaliser les cycles nuit/jour sans complexifier le montage. Cependant l'intensité lumineuse décrite dans ce chapitre n'intègre pas l'épaisseur d'eau et les modifications du trajet optique

apportées par la chambre de mesure. Cela rend difficile la quantification et la caractérisation de la lumière (spectre) qui éclaire effectivement les individus testés. Cependant, le caractère reproductible du montage est assuré.

A l'obscurité, l'oxygène présent dans la chambre de mesure diminue progressivement malgré les échanges avec l'atmosphère (Figures 5 et 6). Cette tendance témoigne de la consommation d'oxygène par les *H. germanica* par leur métabolisme aérobie. A titre de comparaison, les taux de respiration (*i.e.* consommation) et les biovolumes mesurés pour les *H. germanica* dans les travaux de Geslin *et al.* (2011) sont inférieurs à ceux obtenus dans notre étude (d'après Geslin *et al.* 2011 : $411 \pm 77 \text{ pmol.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour des biovolumes de $2,6 \pm 0,57 \times 10^6 \mu\text{m}^3$; notre étude : $662 \pm 12 \text{ pmol.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour des biovolumes de $4,2 \pm 0,8 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ pour l'expérience 1 ; $791 \pm 9 \text{ pmol.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour des biovolumes de $5,9 \pm 4,1 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ pour l'expérience 2; $1081 \pm 59 \text{ pmol.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$, $574 \pm 41 \text{ pmol.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$ et $766 \pm 118 \text{ pmol.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour des biovolumes de $5,4 \pm 1,5 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ pour les cycles successifs de l'expérience 3). La normalisation des taux de consommation moyens mesurés à l'obscurité entre nos expériences et celles conduites par Geslin *et al.* (2011) avec le biovolume moyen des individus testés montre que les résultats sont comparables.

Les 3 expériences réalisées avec des spécimens prélevés dans le Bassin d'Arcachon ont montré une diminution systématique de la consommation d'oxygène à la lumière par rapport à l'obscurité. Ces résultats montrent que *H. germanica* est donc capable de photosynthèse. Ces résultats suggèrent que les chloroplastes mis en évidence par l'observation des coupes cytologiques réalisées au MET sont actifs malgré la digestion du corps parent (*i.e.* diatomée). De plus, le taux de photosynthèse est du même ordre de grandeur que le taux de respiration (Tableau 2). En effet, la comparaison des taux de réaction entre obscurité et lumière indiquent que les individus étudiés peuvent produire 72 et 88% de ce qu'ils consomment d'oxygène respectivement pour l'expérience 3_L3 et l'expérience 2 et jusqu'à 131 % lorsque l'on considère la valeur minimale de taux de réaction atteinte lors de l'expérience 3_L3 (*i.e.* $-234 \text{ pmol.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$; Tableau 2). Ainsi l'association entre les chloroplastes et l'espèce *H. germanica* peut être considérée comme une « symbiose de chloroplaste » telle que définie par Hinde and Smith (1974) lorsque l'organisme retient sans endommager les chloroplastes de sa proie et qu'une photosynthèse peut être observée après leur retrait de l'organisme autotrophe. Le terme symbiose bien qu'étant utilisé en premier lieu dans la littérature pour définir une association bénéfique de deux organismes, est reconnu également lorsqu'au moins un des individus acquiert une nouvelle propriété métabolique (Douglas, 1994 ; Rumpho *et al.* 2000). Ce terme est notamment utilisé dans de nombreuses publications décrivant la capacité photosynthétique des mollusques sacoglosses (Douglas, 1994 ; Rumpho *et al.* 2000 ; Jesus *et al.* 2010).

Seul Lopez (1979) a mesuré l'activité photosynthétique des chloroplastes séquestrés par les *H. germanica* jusqu'à cette étude. Lopez a calculé le taux de bicarbonate consommé grâce au flux de ^{14}C incorporé par un pool de 20 individus. En 1998, Rink et ses collaborateurs ont été les premiers à

quantifier l'activité photosynthétique à partir de la mesure d'O₂ chez les foraminifères. Il s'agissait d'un foraminifère planctonique disposant de symbiotes, *Orbulina universa* (dont la taille est comprise entre 290 et 550µm). Un seul individu avait alors été placé sur un filet de nylon dans une chambre d'incubation en Plexiglass de 10mL contenant de l'eau de mer filtrée et équipée d'une électrode de type Clark qui mesurait en continu et de manière statique les variations de concentration en oxygène dissous. (Köhler-Rink et Köhl 2000, 2001) ont réalisé les mêmes expériences en s'intéressant cette fois à des foraminifères benthiques macroscopiques ayant des symbiotes algaires dont le diamètre dépassait plusieurs millimètres (*Marginopora vertebralis*, *Amphistegina lobifera* et *Amphisorus hemprichii*). L'individu était alors déposé au fond d'une chambre de mesure en Plexiglass avec un flux d'eau continu. Une variation de cycle jour-nuit était alors effectuée par une fibre optique à intensité lumineuse variable. Ensuite, Köhler-Rink et Köhl (2005) ont répété leurs expériences en ajoutant à leur dispositif des capteurs de CO₂, de Ca²⁺ et de pH. Les résultats de Rink *et al.* (1998) sur des organismes planctoniques de taille comparable à ceux de notre étude (*i.e.* entre 290 et 550 µm), montrent des taux de photosynthèse nets de l'ordre de 5 nmol.ind⁻¹.h⁻¹, cela équivaut à plus de 100 fois le taux maximal mesuré au cours de nos expériences. Cette différence pourrait s'expliquer par une densité plus grande de chloroplastes chez *Orbulina Universa* mais les données de la figure 5B suggèrent une densité de chloroplastes par cellule d'*Haynesina germanica* de l'ordre de 100000 par cellule valeur bien supérieure aux densités de dinoflagellés mesurées dans les cellules de *Orbulina universa*. En effet, la quantité de symbiotes de ce foraminifère planctonique était de 130 à 3300 pour des foraminifères de taille moyenne et pourrait atteindre 23000 pour des foraminifères adultes de grande taille d'après une estimation de Spero et Parker (1985), chacun possédant entre 1 et 2 chloroplastes (Siano *et al.* 2010) soit un maximum de 46000 chloroplastes chez *O. universa*. Les différences observées pourraient être alors la conséquence d'une activité limitée des chloroplastes une fois privés de leur organisme d'origine contrairement aux symbiotes d'*Orbulina*. De plus les conditions de stockage des individus pourraient influencer la préservation de l'activité des chloroplastes. Selon Lopez (1979), les chloroplastes peuvent être retrouvés intacts jusqu'à plusieurs mois dans le cytoplasme d'*Elphidium williamsoni* et de *Nonion germanicum* avec toutefois une dégradation des chloroplastes importantes lors d'une conservation à la lumière. On peut également se demander s'il est préférable de préserver les foraminifères dans leur sédiment d'origine ou dans une matrice artificielle. De plus, au cours de notre étude, les taux de consommation d'oxygène ne reviennent pas aux valeurs initiales mesurées lors des conditions initiales d'obscurité (Figure 7). A première vue cela pourrait indiquer un effet d'épuisement au cours de l'expérience mais il apparaît assez difficile de corréliser la variation des taux de consommation avec le temps d'expérience dans nos données (Figure 7). Les facteurs de cette variabilité doivent donc être mieux précisés par des expériences plus longues et plus nombreuses. Il apparaît aussi nécessaire de quantifier l'activité potentielle des chloroplastes portés par *Haynesina* à l'aide de techniques fluorimétriques comme le fluorimètre PAM (pulse amplitude modulation fluorometry ; Jesus *et al.* 2005) qui permet de

déterminer l'efficacité photosynthétique de l'organisme. Cette mesure d'activité devrait être réalisée sur des temps différents variant de quelques jours après le prélèvement à quelques semaines afin de s'intéresser à la dynamique de l'activité des chloroplastes au cours du temps.

L'absence de relation entre taux de photosynthèse et taux de respiration en fonction du temps (entre l'échantillonnage et le début de l'expérience ou à partir du début de l'expérience) ou du nombre de cycles jours/nuits pourraient provenir du nombre de chloroplastes contenus dans les *H. germanica* comme l'a suggéré Lopez (1979). D'après son étude la capacité photosynthétique des *Nonion germanicum* (i.e. *H. germanica*) est proportionnelle au contenu en chlorophylle ainsi qu'au nombre de chloroplastes. Néanmoins nous ne pouvons quantifier ces chloroplastes au sein des *H. germanica* de nos expériences en raison de la faible quantité d'images MET que nous possédons. Il est donc nécessaire pour de telles expériences de quantifier les chloroplastes pour les individus mesurés voire d'évaluer la concentration de chlorophylle comme Lopez (1979) et Knight et Mantoura (1985) l'ont précédemment réalisé afin d'estimer la relation existante entre le nombre de chloroplastes et l'activité photosynthétique propre à chaque individu. Il est important également de s'intéresser à la distribution des diatomées présentes dans l'environnement afin d'étudier les relations existantes entre la dynamique des espèces de diatomées et la quantité de chloroplastes actifs dans les foraminifères benthiques.

4.2. Avantage adaptatif et rôle écologique de la kleptoplastidie pour les *H. germanica* du Bassin d'Arcachon

4.2.1. Mixotrophie : quels avantages adaptatifs ?

Lors de notre étude sur la distribution des foraminifères réalisée sur le Bassin d'Arcachon, nous avons mis en évidence une distribution des *H. germanica* préférentiellement à la surface des sédiments en février 2011 (voir **chapitre 1**). Les *H. germanica* se nourrissent entre autres de diatomées (Austin *et al.* 2005) et sont capables d'utiliser les chloroplastes de leurs proies à des fins métaboliques (Lopez, 1979). En présence de lumière, les *H. germanica* sont capables de produire de l'oxygène y compris lorsqu'il est déjà présent dans le milieu (Figure 7). D'après les données de Fenchel et Straarup (1971), MacIntyre *et al.* (1996) et Paterson *et al.* (1998) montrant que la lumière peut pénétrer jusqu'à 2 mm dans le sédiment, les *H. germanica* pourraient donc faire de la photosynthèse dans cette tranche de sédiment. Dans les sédiments du Bassin d'Arcachon, la pénétration en oxygène à la station Germanan est de $2,6 \pm 0,2$ mm dans les sédiments nus (Delgard *et al.* submitted a). Cependant dans les environnements intertidaux, Rybarczyk *et al.* (1996) ont par exemple montré que des épisodes d'anoxie pouvaient être localisés dans les zones où l'eau persiste à marée basse : soit dans les flaques d'eau peu profondes soit dans les sédiments à film d'eau superficiel entraînant des mortalités importantes des peuplements benthiques. Néanmoins *H. germanica* étant en capacité de produire de l'oxygène en présence de lumière, pourrait donc survivre à des conditions anoxiques lorsque les

conditions de lumière sont suffisantes à condition que les foraminifères aient stocké suffisamment de chloroplastes et que la persistance de l'activité de ces derniers soit suffisante. Cela suppose aussi assez de diatomées ou autres représentants du microphytobenthos précédant l'épisode d'hypoxie ou d'anoxie. Toutefois afin de réaliser la photosynthèse, la présence d'eau, de lumière et de sels nutritifs est nécessaire. Dans les premiers centimètres des sédiments du Bassin d'Arcachon, les sels nutritifs tels que les phosphates, l'ammonium, la silice sont présents mais très rapidement consommés comme le présentent les données de carottes de sédiments de Delgard *et al.* (2013) en fonction de la densité de l'herbier de *Zostera noltei*. Ainsi dans notre milieu d'étude, la dynamique des zostères contrôle le temps de résidence des sels nutritifs (HPO_3^- , NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+) dans les eaux interstitielles de la zone où s'étend le réseau racinaire. Un développement méthodologique permettant d'étudier la distribution à haute résolution et en 2D de ces sels nutritifs et des processus diagénétiques contrôlant leur distribution à microéchelle permettrait sans doute d'améliorer notre compréhension sur les relations entre dynamique des herbiers, microenvironnements géochimiques, microhabitats et entre microhabitats benthiques et fonctions métaboliques des faunes associées (**Chapitres 3 à 5**).

En présence de lumière, les *H. germanica* sont capables de produire de l'oxygène et probablement de la matière organique à l'image des mollusques sacoglosses (Rumpho *et al.* 2000) ou des foraminifères avec algues symbiotiques (Erez 1983 ; Jorgensen *et al.* 1985 ; Hemleben *et al.* 1989 ; Lea *et al.* 1995 ; Rink *et al.* 1998 ; Köhler-Rink et Kühl 2000, 2001, 2005). En effet l'activité photosynthétique résultante de la présence de chloroplastes intracellulaires pour les premiers ou d'algues symbiotiques pour les seconds permet un apport de matière organique direct pour l'organisme hôte à partir de sources inorganiques. En effet d'après l'équation simplifiée de la photosynthèse, le CO_2 et l'eau en présence de lumière forme une molécule d'oxygène et un glucide. Ce glucide peut alors être utilisé par l'organisme pour son métabolisme et permet par exemple aux mollusques sacoglosses de survivre pendant plusieurs mois en l'absence de nourriture organique dans leur milieu de vie (Trench 1975 ; Mujer *et al.* 1996 ; Rumpho *et al.* 2000). Dans notre étude, nous pouvons ainsi estimer la quantité de glucose produite lors de la photosynthèse et la comparer à la biomasse d'un foraminifère et à ses besoins lors de la respiration. L'estimation est ainsi réalisée à partir de l'équation simplifiée de la photosynthèse où 6 moles d' O_2 seraient produites pour une mole de glucose. D'après les travaux de thèse d'Altenbach (1985), le foraminifère benthique *Elphidium excavatum* dont la morphologie est proche d'*H. germanica*, a une biomasse de $1,26 \pm 0,35 \mu\text{gC}$ (Tableau 4). De plus en utilisant les valeurs moyennes des taux de respiration et de photosynthèse ainsi que les valeurs minimales et maximales observées dans cette étude, il est possible de déterminer la consommation et la production de glucose journalière soit respectivement $1,3 \pm 0,32 \times 10^{-4} \mu\text{molglucose consommée. ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$ par la respiration et $1,0 \pm 0,24 \times 10^{-4} \mu\text{molglucose produite. ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$ par la photosynthèse. Avec toutes les précautions à prendre de telles estimations, nous pouvons déduire qu'il faudrait en moyenne 136 jours pour qu'un individu consomme autant de glucose que sa biomasse totale lors de la respiration et 171 jours pour la produire par photosynthèse.

Tableau 4 : Biomasse d'*Elphidium excavatum* exprimée en $\mu\text{gC/ individu}$ et en $\mu\text{molglucose/ individu}$ et comparaison des concentrations en glucose (exprimées en $\mu\text{molglucose/ individu}$) consommées et produits respectivement lors de la respiration et de la photosynthèse des *H. germanica*.

Biomasse moyenne d'après Altenbach (1985)		
$\mu\text{gC/ individu}$	$\mu\text{molglucose (C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6\text{)/ individu}$	
$1,26 \pm 0,35$	$0,018 \pm 0,005$	
Respiration		biomasse / consommation journalière
$\mu\text{molglucose consommée.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$		
moyenne	$1,3 \times 10^{-4} \pm 3,2 \times 10^{-5}$	136
minimum	$9,6 \times 10^{-5}$	183
maximum	$1,8 \times 10^{-4}$	97
Photosynthèse		biomasse / consommation journalière
$\mu\text{molglucose produite.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$		
moyenne	$1,0 \times 10^{-4} \pm 2,4 \times 10^{-5}$	171
minimum	$6,9 \times 10^{-5}$	253
maximum	$1,7 \times 10^{-4}$	105

Une telle estimation est comparable aux besoins énergétiques d'un homme en fin de thèse d'une masse de 60 kg et de 1,70 m qui nécessiterait 150 jours environ pour renouveler sa masse totale (James *et al.* 1990). *Haynesina germanica* aurait ainsi la possibilité de combiner un régime trophique hétérotrophe et autotrophe pouvant être qualifié de mixotrophe comme le sont certains protistes planctoniques (Stoecker 1998 ; Jones 2000). Dans la littérature, la mixotrophie est réalisée de différentes manières, par exemple chez les protistes planctoniques certains sont majoritairement hétérotrophes et n'utilisent l'autotrophie que lorsque la quantité de proies est insuffisante (voir revue dans Stoecker, 1998 ; Jones, 2000 ; Stickney *et al.* 2000). D'autres parmi ces protistes planctoniques sont principalement autotrophes et réalisent l'hétérotrophie soit lorsque la lumière ou les nutriments sont limitant soit lorsque l'organisme requiert d'une substance extérieure nécessaire à sa croissance ou à son fonctionnement cellulaire (*e.g.* phospholipides pour *Uroglena americana* ; voir revue dans Stoecker 1998 ; Jones 2000 ; Stickney *et al.* 2000). Chez les mollusques sacoglosses, certains pratiquent l'hétérotrophie afin d'acquérir assez d'énergie pour séquestrer des chloroplastes puis ensuite réaliser l'autotrophie dont les produits subviendront aux besoins en carbone de l'organisme pendant plusieurs mois (voir revue dans Rumpho *et al.* 2000). A ce jour, aucune information ne laisse présager du régime trophique privilégié par *H. germanica*. Cette espèce pourrait réaliser principalement une hétérotrophie et ne faire de la photosynthèse que lors de conditions environnementales non favorables,

par exemple pour survivre lorsque la matière organique labile vient à manquer où qu'une compétition importante pour cette matière organique labile existe avec d'autres organismes hétérotrophes (*e.g.* *A. tepida*, une espèce de foraminifère plus dense présente sur le Bassin d'Arcachon ; **Chapitre 1**). *Haynesina germanica* pourrait également alterner entre les deux métabolismes selon par exemple le jour et la nuit, ou pourrait privilégier l'autotrophie et ne pratiquer l'hétérotrophie qu'en cas de nécessité. Cette dernière hypothèse serait par exemple applicable lors de condition de surface problématique comme de faibles valeurs de pH, contraignant les *H. germanica* à se réfugier en profondeur dans les sédiments où les conditions peuvent être meilleures (*e.g.* présence des racines d'un herbier). Afin d'évaluer l'importance de l'autotrophie pour *H. germanica*, la durée d'activité des chloroplastes en symbiose et l'évaluation de l'activité selon différentes conditions de lumière, de nutriments ou de nourriture sont cruciales.

4.2.2. Les *H. germanica* prélevées dans le Bassin d'Arcachon : productrices d'oxygène pour le milieu ?

Afin d'estimer la production d'oxygène pouvant être réalisée par les *H. germanica* des sédiments du Bassin d'Arcachon, des taux de photosynthèse nets obtenus dans ces expériences (Tableau 2) ont été calculés et standardisés pour 100 individus (Tableau 3). Ce nombre de foraminifères correspond à une estimation des densités moyennes observées à la surface des carottes de 8 cm de diamètre durant notre étude de distribution des foraminifères benthiques du Bassin d'Arcachon en février et juillet 2011 (Cesbron *et al.* submitted). Dans nos expériences, les taux de photosynthèse net varient entre 0,0007 et 0,0017 mmol.m⁻².h⁻¹. Comparé aux données de Delgard *et al.* (soumis a) sur la production totale d'oxygène des carottes prélevées dans des vases nues de Germanan en juillet 2011, l'ensemble des *H. germanica* contribueraient à hauteur de 0,09% à 0,21%. Cette faible valeur pourrait s'expliquer notamment par la faible densité d'*H. germanica*. En revanche dans un sédiment à herbier, même pour une plus forte densité de foraminifères benthiques, la contribution des *H. germanica* devrait être plus réduite en raison de l'important pompage de sels nutritifs par l'herbier actif. Une telle étude pourrait cependant être réalisée dans des milieux sans herbiers où *H. germanica* présente de forte densité comme dans la Baie de Bourgneuf où environ 2500 individus.50cm⁻³ peuvent être dénombrés contre moins de 500 pour notre site d'étude (Morvan *et al.* 2006).

Bien que la contribution des foraminifères à la minéralisation aérobie soit relativement importante (Cesbron *et al.* submitted), sa contribution à la production d'O₂ ne l'est pas. Ainsi la faculté de produire de l'oxygène chez les foraminifères jouerait peu sur les processus de réoxydation des espèces réduites dans le sédiment mais aurait probablement un rôle important pour la survie des foraminifères, à l'échelle des individus, dans des milieux où ces espèces réduites prévalent (*i.e.* hypoxie/anoxie).

Tableau 3 : Taux de photosynthèse net moyennés (A) et des valeurs maximales (B) puis standardisés pour une carotte de sédiment de 8 cm de diamètre pour 100 individus d'*Haynesina germanica* localisé à la surface du sédiment (0-0,5 cm) et contribution à la production d'oxygène comparé au « gross production rates » (GPP) estimé par Delgard *et al.* (soumis a).

A-Expérience	Taux de photosynthèse net = taux de consommation - (taux de production + consommation)		Nombre d'individu	Taux de photosynthèse net standardisé		GPP Juillet 2011 Vase nue	Contribution (Lumière)
	pmol.ind ⁻¹ .j ⁻¹	Ecart type		mmol.m ⁻² .h ⁻¹	mmol.m ⁻² .h ⁻¹		
1_O1/1_L1	553	27		0,0009		0,11	
1_O2	-	-		-		-	
2_O1/2_L1	702	180		0,0012		0,15	
2_O2	-	-	100	-	0,8	-	
3_O1/3_L1	788	96		0,0013		0,16	
3_O2/3_L2	415	103		0,0007		0,09	
3_O3/3_L3	621	227		0,0010		0,13	

B-Expérience	Taux de photosynthèse net = taux de consommation - (taux de production + consommation)		Nombre d'individu	Taux de photosynthèse net standardisé		GPP Juillet 2011 Vase nue	Contribution (Lumière)
	pmol.ind ⁻¹ .j ⁻¹	Ecart type		mmol.m ⁻² .h ⁻¹	mmol.m ⁻² .h ⁻¹		
2_O1/2_L1	991	9		0,0016		0,21	
3_O2/3_L2	576	41	100	0,0010	0,8	0,12	
3_O3/3_L3	1000	118		0,0017		0,21	

4.2.3. Rôle des fonctions biologiques dans la distribution verticale des *H. germanica* du Bassin d'Arcachon

Lors du précédent chapitre, la distribution d'*H. germanica* est légèrement différente entre les deux saisons d'échantillonnage. En février, les *H. germanica* sont principalement localisées dans le premier

niveau sous l'interface eau-sédiment entre 0 et 0,5 cm de profondeur et ce aussi bien dans les sédiments nus et végétalisés. La présence d'un bloom de microphytobenthos durant cette période permettait entre autre d'expliquer la forte densité de foraminifères en surface. En revanche, en juillet, les *H. germanica* sont présentes uniquement dans les sédiments végétalisés, présentant un maximum de densité au niveau 0,5-1 cm. Les conditions de pH mesurées en juillet nous ont conduit à conclure que cette espèce est sensible aux conditions du milieu et que l'herbier jouerait le rôle d'abri augmentant localement le pH par son activité de photosynthèse et fournirait de la matière organique par les exsudats racinaires. Les nouvelles expérimentations présentées dans ce chapitre nous permettent d'avancer de nouvelles hypothèses quant à ces différences de distribution (Figure 7). En effet la capacité à réaliser la photosynthèse par cette espèce lui permet d'être autotrophe lorsque la lumière est présente. En février les *H. germanica* sont retrouvées en surface quelque soit la couverture végétale. En hiver, la densité de feuilles de zostères est à son minimum (Auby and Labourg, 1996 ; Delgard, 2013). La pénétration de la lumière se fait donc sans difficulté jusqu'à environ 2mm dans les sédiments (Fenchel and Straarup 1971 ; MacIntyre *et al.* 1996 ; Paterson *et al.* 1998). De plus les nutriments étant absorbés aussi bien par les racines dans le sédiment que par les feuilles dans la colonne d'eau (Terrados et Williams, 1997 ; Touchette et Burkholder, 2000 ; Nielsen *et al.* 2006 ; Alexandre *et al.* 2011), le pompage des nutriments est alors réduit lorsque l'herbier est peu développé en hiver (*i.e.* plus forte concentration de la silice et du phosphore dans les sédiments peu ou non végétalisés observée par Delgard *et al.* 2013). Cette pénétration de la lumière couplée à l'augmentation du temps de résidence des nutriments dans le milieu interstitiel en hiver et à la présence de microphytobenthos favoriserait la présence des *H. germanica* en surface du sédiment dans le but de stocker des chloroplastes à l'intérieur de leur cytoplasme et de pouvoir faire de l'autotrophie. En revanche la densité importante de l'herbier en juillet peut limiter la pénétration de la lumière rendant plus difficile la photosynthèse. De plus, les conditions géochimiques observées en juillet ne favorisent pas le développement des individus à tests calcaires dans les sédiments nus où des valeurs faibles de pH ont été mesurées (6,2 ; voir **chapitre 1**). La présence et la distribution particulière des *H. germanica* dans les sédiments colonisés par l'herbier (0,5 - 1cm) pourraient être les résultats d'un changement de métabolisme. En effet l'herbier et son système racinaire semblent servir de refuge pour *H. germanica*. Plus en profondeur les *H. germanica* opéreraient alors pour l'hétérotrophie : la matière organique et l'oxygène provenant des racines permettraient la création de microhabitats favorables à leur développement par respiration.

L'ensemble de cette étude nous permet ainsi d'avancer un scénario afin d'expliquer la différence qui semble exister dans la dynamique saisonnière d'*H. germanica* et *A. tepida*. En présence de lumière et de sels nutritifs c'est-à-dire dans les sédiments non ou faiblement végétalisés de février par exemple, *H. germanica* pourrait avoir un régime couplant autotrophie et hétérotrophie, profitant des blooms de microphytobenthos pour isoler les chloroplastes dans son cytoplasme afin d'être autotrophe. En revanche lorsque l'herbier est bien développé (*i.e.* juillet), la lumière ne pénètre que très faiblement à

la surface des sédiments et les sels nutritifs sont consommés pour la croissance de l'herbier, ne favorisant alors pas l'autotrophie des *H. germanica*. Cette espèce se différencierait ainsi des *Ammonia tepida* (autre espèce calcaire dominante dans l'étude faite sur le Bassin d'Arcachon) présentes principalement dans le niveau 0-0,5 cm où l'oxygène et la matière organique plus labile sont présents (Cesbron *et al.*, soumis). *Ammonia tepida*, pour qui la kleptoplastidie n'a jusqu'alors jamais été observée, réaliserait ainsi exclusivement de l'hétérotrophie et aurait un fort besoin en matière organique labile étant donné sa forte densité.

Les conclusions de cette étude sont donc à considérer avec intérêt dans les environnements côtiers intertidaux où les *H. germanica* sont retrouvées en surface et où la lumière peut être présente (Castignetti 1996 ; Murray and Alve 2000 ; Alve and Murray 2001a ; Langezaal *et al.* 2003 ; Bouchet *et al.* 2009 ; Papaspyrou *et al.* 2013). Pour les études futures, il sera essentiel de prendre en compte cette mixotrophie des *H. germanica* ainsi que de la disponibilité des sels nutritifs afin de comprendre la distribution verticale et spatiale de ce foraminifère benthique dans son environnement et notamment ses interactions avec les autres espèces présentes comme dans les sédiments de la Baie de Bourgneuf où les *H. germanica* sont parfois nettement majoritaires sur *A. tepida*.

CONCLUSION

Cette étude conduite sur le Bassin d'Arcachon, avait pour objectif l'étude de l'autotrophie chez *H. germanica* permettant de mieux préciser certaines interactions entre l'individu et son environnement qui, ici, connaît une dynamique très importante vis-à-vis de l'oxygène et des sels nutritifs. Dans un premier temps, nous avons pu vérifier la présence en quantité importante de chloroplastes bien préservés dans le cytoplasme des *H. germanica* du Bassin d'Arcachon. L'utilisation d'une méthodologie précise et adaptée à l'étude de la consommation et de la production d'O₂ a révélé que les chloroplastes ingérés par les *H. germanica* sont fonctionnels : une activité photosynthétique non négligeable a été observée en conditions de lumière sous environ 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{photon}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Cette observation induit par conséquent une complexification du rôle des foraminifères benthiques dans la boucle du carbone, passant d'individus exclusivement consommateurs d'oxygène et minéralisateurs de carbone à des individus producteurs-consommateurs de carbone organique. Les individus mesurés ont présenté une production d'O₂ comprise entre 72 et 131% de la consommation d'oxygène évaluée à l'obscurité. Des différences entre les expériences ont laissé supposer un effet de quantité et/ ou de qualité des chloroplastes. L'ensemble de ces observations a également permis d'étudier plus en détail l'avantage adaptatif de la kleptoplastidie et le rôle écologique que cela engendrerait pour l'espèce *H. germanica*. Différentes hypothèses ont ainsi été émises :

- L'autotrophie semble être possible chez *H. germanica*, ce qui permettrait la production de matière organique.

- Cela permettrait un apport de O₂ pour la cellule en présence de lumière et permettrait la survie des *H. germanica* lors d'épisodes d'anoxie ;
- Cette production de O₂ serait assez peu significative comparée à la production végétale mais pourrait permettre la réoxygénation d'un microenvironnement autour des *Haynesina*.
- *Haynesina germanica* aurait ainsi la possibilité de combiner un régime trophique autotrophe et hétérotrophe. Lorsque l'herbier est inactif, les sels nutritifs sont présents en plus grande quantité dans le milieu et la matière organique est moins importante. La présence de bloom de microphytobenthos permettrait à *H. germanica* d'isoler des chloroplastes au sein de son cytoplasme afin de réaliser de l'autotrophie par exemple lorsque la compétition pour de la matière organique labile avec *A. tepida* serait importante ou que cette matière organique viendrait à manquer. A l'inverse, lorsque les zostères sont actives, un pompage important des sels nutritifs pour leur métabolisme est réalisé et de la matière organique par exsudat racinaire est présente, favorisant alors l'hétérotrophie des *H. germanica* en profondeur s'isolant alors de conditions de surface moins favorables.

A l'issue de cette étude, différentes améliorations et perspectives d'étude sont envisageables. Dans un premier temps il est nécessaire de dénombrer plus précisément les chloroplastes isolés au sein des *H. germanica*. Il semble également primordial d'évaluer la durée d'activité des chloroplastes dès lors qu'ils sont ingérés par *H. germanica*. Pour cela il serait nécessaire d'effectuer des mesures à des temps variables à l'aide par exemple d'un fluorimètre PAM afin de tester la qualité du photosystème II qui permet de déterminer l'efficacité photosynthétique de l'organisme. L'évaluation de l'activité des chloroplastes selon différentes conditions de lumière, de nutriments ou de nourriture devraient être combinées systématiquement aux mesures des taux de production/consommation d'oxygène. La réalisation de mesures identiques à l'aide d'une source de lumière dont le spectre de longueurs d'onde et l'intensité seraient variables et connus avec précision est cruciale. De plus une expérimentation mettant en jeu différents niveaux de stress (anoxie de départ), de luminosité (avec meilleur contrôle de la luminosité à proximité des individus) mais une similarité de durée de traitement permettrait d'étudier la réponse de ces individus à des variations environnementales réalistes en milieu transitionnel comme les lagunes et, a fortiori, les lagunes intertidales.

De manière générale, il semble nécessaire pour les prochains travaux de coupler les études d'écologie de communautés benthiques aux études métaboliques d'une population et à la géochimie afin de comprendre au mieux les comportements des populations benthiques, leurs interactions dans les communautés et dans l'écosystème et leurs impacts dans le cycle du carbone. Par exemple, lors d'un bloom de diatomées, étudier la réponse relative de deux espèces de foraminifères possédant des capacités métaboliques différentes comme *A. tepida* et *H. germanica* permettrait de mieux comprendre l'intérêt de la kleptoplastidie dans un contexte de compétition entre 2 espèces majeures d'un écosystème. Une étude à plus haute résolution et en 2D des foraminifères benthiques et des niches géochimiques permettrait d'étudier ces interactions existantes entre les organismes, leurs besoins

métaboliques et leur habitat et notamment dans les sédiments à herbiers où des microenvironnements pourraient exister modifiant ainsi latéralement et verticalement l'écologie des faunes et la géochimie du sédiment.

CHAPITRE 3

Imagerie simultanée et en 2D du fer dissous et du phosphore réactif
dans les eaux interstitielles des sédiments par DET et méthode
hyperspectrale

-

Simultaneous 2D imaging of dissolved iron and reactive phosphorus
in sediment pore-waters by thin-film and hyperspectral methods

Imagerie simultanée et en 2D du fer dissous et du phosphore réactif dans les eaux interstitielles des sédiments par thin-film et méthode hyperspectrale

RESUME

Cette étude présente une nouvelle approche combinant les « diffusive equilibrium in thin-film » (DET) et les méthodes de spectrophotométrie afin de déterminer les variabilités spatiales du fer dissous et du phosphore dissous réactif (DRP) par l'utilisation d'un gel échantillon unique. Son originalité est (1) de retarder jusqu'à trois mois la réaction colorimétrique du DET par congélation et (2) de mesurer en simultanée le fer dissous et le DRP par imagerie hyperspectrale à une résolution submillimétrique. Après quelques minutes à température ambiante, le gel décongelé est placé en sandwich entre deux gels réactifs, fournissant une coloration magenta et bleu respectivement pour le fer et le phosphate. L'étude de la distribution spatiale de ces colorations est obtenue à l'aide d'une caméra hyperspectrale. Une analyse des spectres de réflectance permet de déconvoluer chacune des colorations par la méthode « unmixing » appliquée sur les logarithmes de la réflectance, fournissant ainsi une quantification valable du fer et du DRP. Cette méthode a été appliquée dans le Bassin d'Arcachon (France) sur un sédiment vaseux colonisé par un herbier (*Zostera noltei*). Le gel 2D échantillon a mis en évidence des microstructures dans la distribution spatiale du fer dissous et du phosphore, ce qui peut-être associé à la présence de terriers de la faune benthique et aux réseaux racinaires de l'herbier.

Mots-clés : DET 2D, imagerie hyperspectrale, fer, phosphate réactif, sulfure, Bassin d'Arcachon.

Simultaneous 2D imaging of dissolved iron and reactive phosphorus in sediment pore-waters by thin-film and hyperspectral methods

Ce chapitre fait l'objet d'une publication : Cesbron F., Metzger E., Launeau P., Deflandre B., Delgard M.L., Thibault de Chanvalon A., Geslin E., Anschutz P., Jézéquel D. (2014) Simultaneous 2D imaging of dissolved iron and reactive phosphorus in sediment porewaters by thin-film and hyperspectral methods. *Environmental Science and Technology*, 48, 2816-2826.

ABSTRACT

This study presents a new approach combining Diffusive Equilibrium in Thin-film (DET) and spectrophotometric methods to determine the spatial variability of dissolved iron and dissolved reactive phosphorous (DRP) with a single gel probe. Its originality is (1) to postpone up to three months the colorimetric reaction of DET by freezing and (2) to measure simultaneously dissolved iron and DRP by hyperspectral imaging at a submillimeter resolution. After few minutes at room temperature, the thawed gel is sandwiched between two mono-specific reagent DET gels, leading to magenta and blue coloration for iron and phosphate respectively. Spatial distribution of resulting colors is obtained using a hyperspectral camera. Reflectance spectra analysis enables deconvolution of specific colorations by the unmixing method applied to the logarithmic reflectance, leading to an accurate quantification of iron and DRP. This method was applied in the Arcachon lagoon (France) on muddy sediments colonized by eelgrass (*Zostera noltei*) meadows. The 2D gel probes highlighted microstructures in the spatial distribution of dissolved iron and phosphorous, which are most likely associated to the occurrence of benthic fauna burrows and seagrass roots.

Keywords: 2D DET; hyperspectral imaging; iron; reactive phosphate; sulfide; Arcachon lagoon.

1. INTRODUCTION

During the last 30 years, numerous advances in oceanographic research have been tightly linked to technological developments (Viollier *et al.* 2003). Sediment porewaters can now be analyzed *in situ* at a sub-millimeter scale with devices such as microelectrodes and optodes, or analyzed in laboratory after *in situ* fractionation of chemical species by gel probes (Buffle and Horvai, 2000). Microelectrode technology has allowed to evidence microenvironments in marine sediments (Delgard *et al.* 2012; Revsbech *et al.* 1980a, 1980b) while planar optodes have enabled to access 2D distributions of chemical species (*i.e.* O₂, CO₂) or pH in marine sediments (Glud *et al.* 1996; Hulth *et al.* 2002; Zhu *et al.* 2006a), revealing vertical and horizontal heterogeneity due to sedimentation and biological activity (*e.g.* burrows, root web, microniches; Widerlund and Davison 2007). Developments in gel-based techniques such as Diffusive Equilibrium in Thin-film (DET) and Diffusive Gradients in Thin-film (DGT) also have allowed *in situ* studies of porewaters with increased spatial resolution and better detection limits. The DGT method is basically used to detect remobilization fluxes of chemical species (from solid phase to porewaters) in sedimentary microenvironments using a binding agent (Zhang *et al.* 1995), whereas the DET probe is a passive device used to determine actual solute concentrations in sediment porewaters (*e.g.* Mn and Fe (Davison and Zhang, 1994), NO₃⁻ and SO₄²⁻ (Krom *et al.* 1994), alkalinity (Metzger *et al.* 2013)). The DET technique consists in sampling chemical species from natural waters, based on equilibrium between a sampling medium (*i.e.* agarose or polyacrylamide hydrogels) and the natural water (Davison *et al.* 1991b). Concentration equilibrium is reached by molecular diffusion through a porous inert membrane that holds and protects the gel layer. The combination of DET and DGT probes was used in recent studies to describe 2D distributions of several redox species (Jézéquel *et al.* 2007; Motelica-Heino *et al.* 2003; Pagès *et al.* 2012; Shuttleworth *et al.* 1999; Teasdale *et al.* 1999).

An inexpensive and accurate method to obtain 2D distribution of pore water solutes concentrations consists in combining DET gel, colorimetry, and densitometry analysis (Jézéquel *et al.* 2007; Robertson *et al.* 2008). Such a method was recently successfully achieved for dissolved iron and phosphate in marine sediments (Jézéquel *et al.* 2009; Pagès *et al.* 2011; Robertson *et al.* 2008). These techniques are based on the reaction between a hydrogel probe deployed within the sediment and a reagent hydrogel previously equilibrated with a colorimetric reagent (*e.g.* ferrozine method for Fe(II) or molybdenum-blue method for phosphates; Murphy and Riley 1962). After deployment, the reagent hydrogel is laid onto the hydrogel probe and the color change appears while diffusion allows the colorimetric reaction. Coloration can be quantified by densitometry software treatment after scanning (*e.g.* ScionCorp in Teasdale *et al.* (1999) or ImageJ in Jézéquel *et al.* (2007)). The scanned image is decomposed into primary color (red, green and blue (RGB)) intensities, each being converted in a gray-scale image (CID or computer-imaging densitometry method; Teasdale *et al.* 1999).

Nevertheless, since the chemical behavior of P is linked to Fe diagenesis, these techniques do not allow to investigate simultaneously phosphorous and dissolved iron. In fact, Fe(III) compounds are subject to reductive dissolution, and thus redox conditions play an important role in P release and bioavailability (Davison, 1993). The adsorption of phosphate by Fe-oxides and oxyhydroxides or the formation of a ferric-phosphate phase (*e.g.* FePO₄) has been extensively studied in soils and aquatic systems (Buffle *et al.* 1989; Mortimer, 1941). Therefore, the simultaneous measurement of dissolved iron and phosphorous is essential in order to avoid crosschecking difficulties of data obtained from distinct devices or different sampling times, especially at high resolution where spatial heterogeneity is very high. This was achieved for 1D analyses from both DET and DGT devices (Ding *et al.* 2013; Xu *et al.* 2012, 2013). But until now, simultaneous colorimetric determination of different solutes for 2D studies required the superposition of different layers of hydrogel probes, which were then analyzed separately. This implies a lot of delicate handling, a potential mismatch between the different gel layers, and a damage and contamination risk for such fragile materials (Pagès *et al.* 2011).

This study investigates the possibility of simultaneous colorimetric determination of dissolved iron and phosphorous on a single hydrogel probe. Densitometry analysis used in previous studies (Jézéquel *et al.* 2007; Pagès *et al.* 2011; Teasdale *et al.* 1999) cannot ensure a proper deconvolution of the iron and phosphate signals since only 3 large spectra color channels are measured (RGB). The development of spectroscopic imaging, called hyperspectral imaging, in remote sensing sciences (Goetz *et al.* 1985), has improved the capability to perform the deconvolution of chemical signals in picture elements or pixels. It is used in several fields such as agriculture, geography, geology, remote sensing, environment, astronomy (Chabrilat *et al.* 2002; Combe *et al.* 2008; Goetz *et al.* 1985). In hyperspectral analyses, a pixel is seen as a simple mixture of spectrally homogenous sub-pixels, or as an intimate mixture formed by the superposition of spectrally homogenous layers. A simple mixture is a linear combination of sub-pixel reflectance spectra proportional to their relative surface area. An intimate mixture can be seen as the product of all reflectance spectra layers, which is also the linear combination of the logarithm of their reflectance spectra as defined in the modified Gaussian model (MGM) method (Sunshine *et al.* 1990).

We propose an accurate method to determine simultaneously the 2D distributions of dissolved iron and phosphorous at a submillimeter level (with 60 µm each pixel for imaging acquisition and few hundred micrometers including relaxation effects during processing) and high spectral resolution (4.5 nm) in marine sediments for an unlimited number of plates. This method was applied in a mudflat colonized by eelgrass meadows of a coastal lagoon in order to document lateral variability of diagenetic processes at a submillimeter scale.

2. EXPERIMENTAL SECTION

2.1. 2D Gel probes preparation, deployment

The preparation of polyacrylamide hydrogels for DET and colorimetric determination of dissolved iron concentrations was carried out as described in Jézéquel *et al.* (Jézéquel *et al.* 2007). Briefly, a poly(methyl methacrylate) plate (250 mm high, 150 mm wide and 2 mm thick; Figure 1-A-a), is covered in its central depression by a polyvinyl chloride (PVC) adhesive white film (brand: Leroy Merlin® 5 m long roll and 5 cm wide) (Figure 1-A-b) which is used to obtain a qualitative sulfide distribution as described by Jézéquel *et al.* (Jézéquel *et al.* 2007). A 0.92 mm thick polyacrylamide thin-film (after expansion in Milli-Q® water) is prepared and set up over the PVC surface (Figure 1-A-c). The hydrogel is then covered with a PVDF porous (0.2 μm) membrane (Figure 1-A-d), which is affixed with the PVC tape. The probe is rinsed and stored in deionized water (Millipore Milli-Q® system) until use.

In order to avoid oxidation of iron(II) to iron(III) and subsequent precipitation of rust during probe deployment within the sediment, the probes are deoxygenated through nitrogen bubbling in deionized water (Millipore Milli-Q® system) over night before deployment. Two thirds of the length of the probes are inserted into the sediment, which are left at least 5 hours for equilibration (based on iron and phosphate equilibration coefficients at 20°C, as indicated in Pagès *et al.* 2011, 2012).

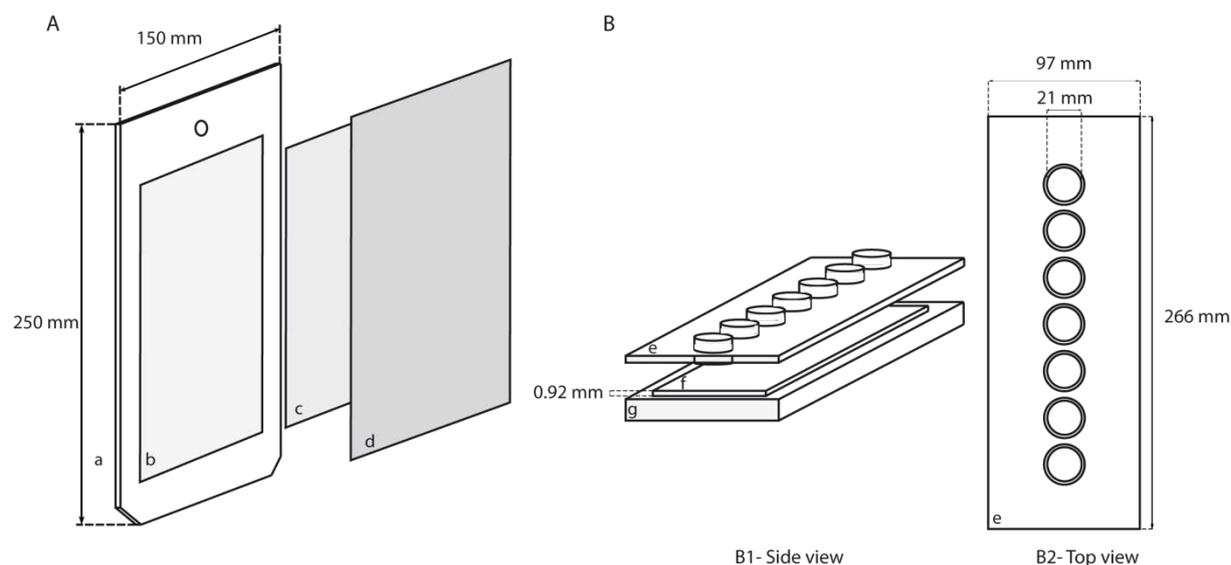


Figure 1: Schematic representation of the combined DET-DGT probe (A) and calibration structure (B1, the side view and B2, the top view). The letters correspond to the following layers: a, Plexiglas plate 2 mm thick with a central depression (dim. $w \times h \times d = 97 \times 180 \times 1$ mm); the bottom of the plate is truncated and beveled for an easier deployment into the sediment. b, PVC sulfur (H₂S) sensitive film (0.2 mm thick); c, polyacrylamide hydrogel layer for dissolved iron and soluble reactive phosphate (DRP) determination (0.92 mm thick); b) and c) both have the size to fit the central depression; d, 0.2 μm PVDF protective porous membrane (110 \times 200 \times 0.15 mm), affixed to the Plexiglas plate with tape on the borders (not shown); e, Plexiglas plate with seven calibration wells

and their caps (not shown); f, polyacrylamide hydrogel layer for calibration (0.92 mm thick); g, Plexiglas plate for hydrogel support. Plexiglas plates are tighten up together with 8 small clamps (not shown).

2.2. 2D Gel probes storage by freezing

Directly after retrieval, probes were briefly wiped with absorbing paper and covered with a plastic coated aluminum plate (gel side). Then, the covered probes were placed in a vacuum Ziploc[®] and stored in an icebox within dry ice pellets. The aluminum plate ensured flatness of gels and guaranteed a uniform temperature distribution over its whole surface. The Ziploc vacuum bag ensured tightness of both probe and plate, and minimized oxygen contamination. After this field treatment, probes are stored at -18°C in a freezer until colorimetric treatment. Storage in a freezer induces a very slow diffusion allowing long term storage (*i.e.* diffusion coefficients are 3 orders of magnitude slower at such temperature than at *in situ* temperature; Livingston *et al.* 2002). Freezing was successfully achieved before by Xu *et al.* (2012) for 1D DET probes which gel samples were about 20x1.2 mm. The difficulty here was to keep the integrity of the 180x97 mm gel until 2D imaging.

2.3. Reagent gel preparation and colorimetric reaction

The reagent gel is a 0.46 mm thick polyacrylamide hydrogel, which corresponds in size to the probe gel plus a safety margin of about 1 cm ensuring its perfect coverage. The reagent gel for dissolved iron determination was equilibrated during 1 hour with a Ferrozine solution (12.2 mmol L⁻¹; C₂₀H₁₃N₄NaO₆S₂ Aldrich) and an ascorbic acid solution (170 mmol L⁻¹; Sigma). The dissolved reactive phosphorus (DRP) reagent gel was equilibrated during 1 hour with a solution containing sulfuric acid (0.558 mol L⁻¹; Merck 96%), potassium antimony (III) tartrate hydrate (0.4 mmol L⁻¹; K(SbO)C₄H₄O₆·0.5H₂O Aldrich ≥ 99%), ammonium molybdate tetrahydrate (18.5 mmol L⁻¹; NaMoO₄·2H₂O Prolabo) and ascorbic acid (30 mmol L⁻¹; Sigma). Our [H⁺]/[MoO₄²⁻] ratio is estimated at around 60. Because of oxidation of ascorbic acid, the reagent is only stable for a few hours and needs to be prepared for each gel treatment.

Once reagent gels were ready (*i.e.* equilibrated), the probe hydrogel was thawed (~10 min.) and was laid onto the iron reagent hydrogel. The phosphorous reagent hydrogel was then laid onto the probe hydrogel, which was then sandwiched by both reagent gels. All hydrogel transfers were realized with a clean moistened PVDF porous membrane in order to avoid gel damage during handling. A transparent film (cellulose acetate sheet type) was placed on the top of this 3 gel layers in order to handle the complete device and to limit evaporation from hydrogels during image scanning. The image scanning was delayed by 20 min to let the colorimetric reactions occur.

The flat combination of gel probe + reactive gels + transparent film was scanned by a common commercial flatbed scanner (Canon Canoscan LiDE 600F) for preliminary kinetics studies and by a

hyperspectral camera (HySpex VNIR 1600) for quantitative simultaneous analyses. Hyperspectral image treatment was performed by ENVI[®] software (Environment for Visualizing Image, RSI©).

From scanned images, intensity of colored zones of the 2D probe and PVC film was processed by ImageJ 1.31 software (Rasband 2003). Images were decomposed into primary colors RGB intensities, each being converted to a gray-scale image. Semi-quantitative sulfide data obtained with a DGT device were determined by intensity of brown zones of the PVC film and processed by ImageJ 1.31 software (Rasband 2003) from scanned images (CID). Only the blue contribution was used for the sulfide analysis because it leads to a more sensitive response of the sulfide distribution.

2.4. Iron (II) and DRP calibration method

The quantification of magenta and blue gel colorations, as dissolved iron and DRP concentrations in gel probes respectively, requires a calibration obtained for both standards and reagents in the same thickness as gels used for the *in situ* probe (0.92 mm thickness for the gel). Six standard solutions of dissolved iron were prepared from Mohr's salt ($\text{H}_4\text{NO}_8\text{S}_2\text{Fe}, 12\text{H}_2\text{O}$, Prolabo Normapur, 5 mmol L⁻¹ solution) and ascorbic acid (3%) by dilution with deionized water (Millipore Milli-Q[®] system). The iron (II) concentration ranged from about 10 μmol L⁻¹ to 200 μmol L⁻¹, plus one blank (Milli-Q water). Six DRP standards were prepared from K₂HPO₄ (Prolabo, 96%) and deionized water (Millipore Milli-Q[®] system). The DRP concentration ranged from about 5 μmol L⁻¹ to 30 μmol L⁻¹, plus one blank (Milli-Q water). The calibration range chosen for the present study is based on studies realized at the same location and comparable season using more conventional sampling techniques such as core slicing and centrifugation (Delgard 2013).

In order to ensure similar conditions of measurements with *in situ* gel probes sampled on the field, "standard gels" prepared for the calibration were equilibrated with standard solutions in a special device: the gel was placed onto a Plexiglas[®] plate and covered by a second Plexiglas[®] plate with 7 circular wells (2.1 cm i.d.) drilled into it. Each well is equipped with a cylindrical tube representing a 5 mL vial when put onto the gel (the base of each cylinder overhangs slightly from the Plexiglas plate in order to be pressed onto the gel). The Plexiglas[®] plates were tightened together with 8 small clamps, ensuring sufficient pressure on the gel to avoid leakage of the standard solutions (Figure 1-B of Supporting Information, S1). Standard solutions (3.5 mL, enough to limit dilution by the gel water and neglect it) were poured into the wells and equilibrated during 1 hour. After equilibration with standard solutions, the calibration gel was processed like the *in situ* gel probe: both standard gels (iron and phosphorous gels) were placed onto the iron reagent hydrogel and covered by the phosphorous reagent hydrogel and the membrane. Therefore, the exact pile of layers for standard and sample colorimetric reactions and imaging acquisition was realized.

2.5. Hyperspectral image analyses

2.5.1. Data acquisition

The HySpex VNIR 1600 camera has 160 channels, covering the spectral range 400 nm to 900 nm, with a spectral resolution of 4.5 nm and a sampling interval of 3.7 nm allowing the analysis of a continuing spectrum. In comparison, standard RGB images have only 3 large channels with a spectral resolution close to 100 nm. The acquisition time was 8 minutes. Reflectance was determined first by measuring the ratio between light reflected from a calibrated white reference panel (Spectralon®) and light reflected by the 2D gel probe. The reflectance was practically given by dividing each pixel of the image by the mean intensity of *Spectralon*® (~99% reflectance in the 400-900 nm range). The reflectance spectrum therefore varied between 0 and 1. For digitization purpose of the 2D probe hyperspectral images, the flat assembly gel probe + reactive complex + transparent film was laid down on a *Spectralon*® plate and then scanned in front of the camera and a controlled halogen light source. The camera was set up in the laboratory to scan samples with square pixels providing a spatial resolution of about 60×60 µm per pixel.

2.5.2. Fast intimate unmixing of iron and DRP coloration over one background

Treatments were performed with ENVI® software. Each pixel of the image is an intimate mixture of the dissolved iron and DRP colorations within a transparent gel lying on an opaque background. The spectral background corresponded to the *Spectralon*® plate + 2D gel probe. The spectral high iron concentration end member (*i.e.* the most extreme spectra in image) was determined at 212 µmol L⁻¹ and spectral high DRP concentration was determined at 30 µmol L⁻¹ from spectra obtained with a standard hydrogel probe (Figure 2-A). By sampling the background (free of coloration) and both the highest concentrations of iron and DRP colorations in three regions of interest (ROI) of the image, we obtain three mean spectra. However, both coloration spectra remain mixed with the background spectrum. We found that the true end member of each coloration can be simply obtained by dividing its mean spectrum by the background spectrum of the experiment without using complex radiative transfer calculations. Thus, any concentration can be set as a simple linear combination of the logarithm of the three end member spectra, which are iron coloration, DRP coloration and background (Figure 2-B). The standard unmixing function of ENVI®, which corresponds to a deconvolution method, can therefore be used to quickly calculate the exact amount of iron and DRP colorations.

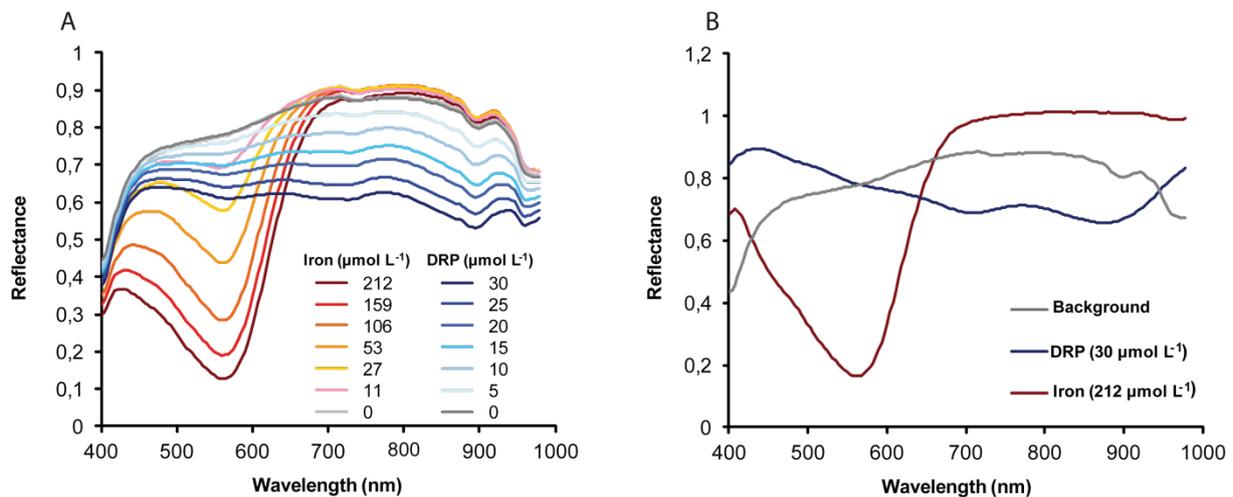


Figure 2: (A) Dissolved iron and DRP standards reflectance in the visible-infrared domain acquired by hyperspectral imaging; (B) Three end member spectra, which are background end members and DRP coloration and iron coloration log end members.

The minimum amount of the intimate unimixing is 1 for a background without any coloration and the maximum amount rises up to 2 or 3 when 1 or 2 colorations are respectively found in the same pixel. This particular range of values between 1 and 3 is due to the intimate mixture of the two transparent (colored gel) and one opaque (background) end members. Any unmixing forcing to 1 would give false results.

The root mean square (RMS) error is used in hyperspectral imaging to compare the unmixing results of end members between simulated and real data (Gong and Zhang, 1999). Also in this study, the RMS image by itself is useful to estimate the quality of coloration quantification. Any discrepancy to 1 of the background amount can be also used to detect a potential error due to any change of the reference background, which could conduct to bad estimations of the colorations. Since many conditions of the experiment may change from one date to another (lighting, length between 2D gel probe and camera...), it is also recommended to prepare a set of intermediate concentrations to verify the linearity of the concentration determination for each period of measurement.

2.6. Field application

This method was applied in a mudflat colonized by eelgrass meadows of a coastal lagoon: Arcachon bay.

Arcachon Basin is a mesotidal lagoon of 174 km² located on the SW French Atlantic coast (44°40'N, 1°10'W). The lagoon opens to the Atlantic Ocean by a channel (2-3 km wide and about 12 km long) that allows important seawater exchange. In the inner lagoon (156 km²), tidal channels (41 km²) penetrate the large intertidal areas (115 km²). The tide is semi-diurnal and the tidal amplitude varies between 1.1 m and 4.9 m (Gassiat 1989). The surface water temperature and salinity fluctuate annually

between 1 and 25°C, and between 22 and 32 psu, respectively. The lagoon receives freshwater input mainly from the Eastern part, by the Leyre river (Plus *et al.* 2010).

The Arcachon Basin is the largest area in Europe covered by *Zostera noltei* seagrass meadows (Auby *et al.*, 2011b). *Zostera noltei* (eelgrass) beds occupy the major part of the intertidal zone, while *Zostera marina* covers subtidal areas (Auby and Labourg, 1996; Blanchet *et al.* 2004). However, comparison of maps obtained in 1989 and in 2007 showed that the surface area of these meadows has decreased by 33%, from 68.5 km² to 45.7 km² (Plus *et al.* 2010).

In order to document lateral variability of diagenetic processes at a submillimeter scale, our probes presented in this publication were deployed into the sediment the 4th of June 2012 at low tide in an eelgrass meadow at high tide. Probes were left at least 5 hours for equilibration (based on iron and phosphate equilibration coefficient at 20°C) and were retrieved by scuba divers. After the field retrieval treatment, probes were stored at -18°C in a freezer until colorimetric treatment, 3 days later.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Optimal color development with DRP

The coloration with the reactive hydrogel for DRP is based on the molybdate-ascorbic acid method (Murphy and Riley, 1962) for spectrophotometric determination of orthophosphate (DRP). The reagent consists of an acidified solution of molybdate, containing ascorbic acid and antimony. Mixing of the reagent with phosphate develops a classical phosphomolybdenum blue coloration, but this method presents a high sensitivity to the reagents proportion. In fact, blue staining can occur even without phosphate (false positive), depending on the respective proportions of molybdate, antimony salt, sulfuric acid and ascorbic acid. During the equilibrium step between the gel probe and reactive gels, coupling of diffusion and kinetic processes can influence the ongoing reaction and lead to false positives or no coloration.

We showed that an excess of ascorbic acid and molybdate or a default of sulfuric acid led to false positives in blanks which intensity could exceed saturated coloration. Indeed the importance of the $[H^+]/[MoO_4^{2-}]$ ratio has been well established previously (*e.g.* Drummond and Maher, 1995). The false positives correspond to the reduction of molybdate that can occur in absence of phosphate (Drummond and Maher, 1995; Jones and Spencer, 1963; Woods and Mellon, 1941). Conversely, when sulfuric acid was excessively concentrated, molybdenum blue formation was inhibited. In these tests, monomolybdate and heptamolybdate were compared. Only the monomolybdate was not colored without DRP and colored with DRP.

A last point to be noted is the nature of the (antimonyl)phosphomolybdenum blue compound. Even if the basic structure of molybdenum blues in general has been accepted for a long time as a Keggin

structure (a polyoxometalate corresponding to the raw formula $\text{XM}_{12}\text{O}_{40}^{n-}$ with $\text{M} = \text{Mo}$ or W , $\text{X} = \text{P(V)}$, As(V) , Si(IV) , B(III) ...), larger aggregates such as the « big wheel » $[\text{Mo}_{154}\text{O}_{462}\text{H}_{14}(\text{H}_2\text{O})_{70}]$ or even larger ones have been proposed (Müller and Serain, 2000). The real structure of some polyoxomolybdates was considered as a mystery until recently (Liu, 2002). We observed in this study that, contrary to the case of ferrozine-iron coloration, the blue coloration of the gel does not present subsequent lateral diffusion after color development. Details are preserved, corresponding to a very low diffusion coefficient compound compatible with the formation of large aggregates.

3.2. Kinetic studies of DRP and dissolved iron reactions

In order to determine optimal staining time starting after contact between standard hydrogel and reactive hydrogel, which is a compromise between the completeness of color development and diffusional relaxation (Robertson *et al.* 2008), we performed RGB (300 dpi) scans of hydrogels every 3 minutes up to 21 minutes for iron and 45 minutes for DRP at room temperature. Intensity of colored zones of the hydrogels was treated by ImageJ 1.31 software (Rasband, 2003) for the scanned images. Only the green contribution (absorbed by magenta) was used for the iron analysis because it leads to a more sensitive and linear response *versus* iron concentration (Jézéquel *et al.* 2007). In the same way, the red contribution (absorbed by blue and green) was specifically used for DRP analysis (Figure 3). A profile across one of the magenta colored circles corresponding to an iron concentration of $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figure 3-A and Figure 3-B) showed that the coloration appeared almost instantaneously when the iron gel standard touched the reactive hydrogel. The magenta complex is soluble and the evolution of coloration can be used to trace diffusion of iron during experimental time. No significant changes were observed between 6 and 21 min even along the borders of the circles indicating no major lateral diffusion during the experiment. Diffusion outside the circles must have occurred during the equilibration time with standard solutions since the gel below the wells is not isolated from the gel between wells. These results suggest that millimetric structures can be sufficiently well described (*e.g.* with several pixels). For a DRP concentration of $25 \mu\text{mol L}^{-1}$, the intensity of blue coloration appeared gradually during experimental time as predicted by the theory (Figure 3-D). The blue coloration increased regularly in the first 20 min, and then reached a pseudo plateau (Figure 3-E). While color intensity increased with time, inflection points around the standard well did not shift laterally (data not shown). It suggests that lateral diffusion of the phosphomolybdenum blue complex was negligible during the experiment, indicating that DRP distribution can be preserved during the analytical process. According to this experiment, optimal staining time under laboratory conditions is ~20 minutes (Figure 3-E). In addition, results from iron and phosphorous suggest that coloration observed outside each well is due to lateral diffusion before colorimetric reaction, probably during equilibration time between gel and standard solutions (when the well is filled with standard solution).

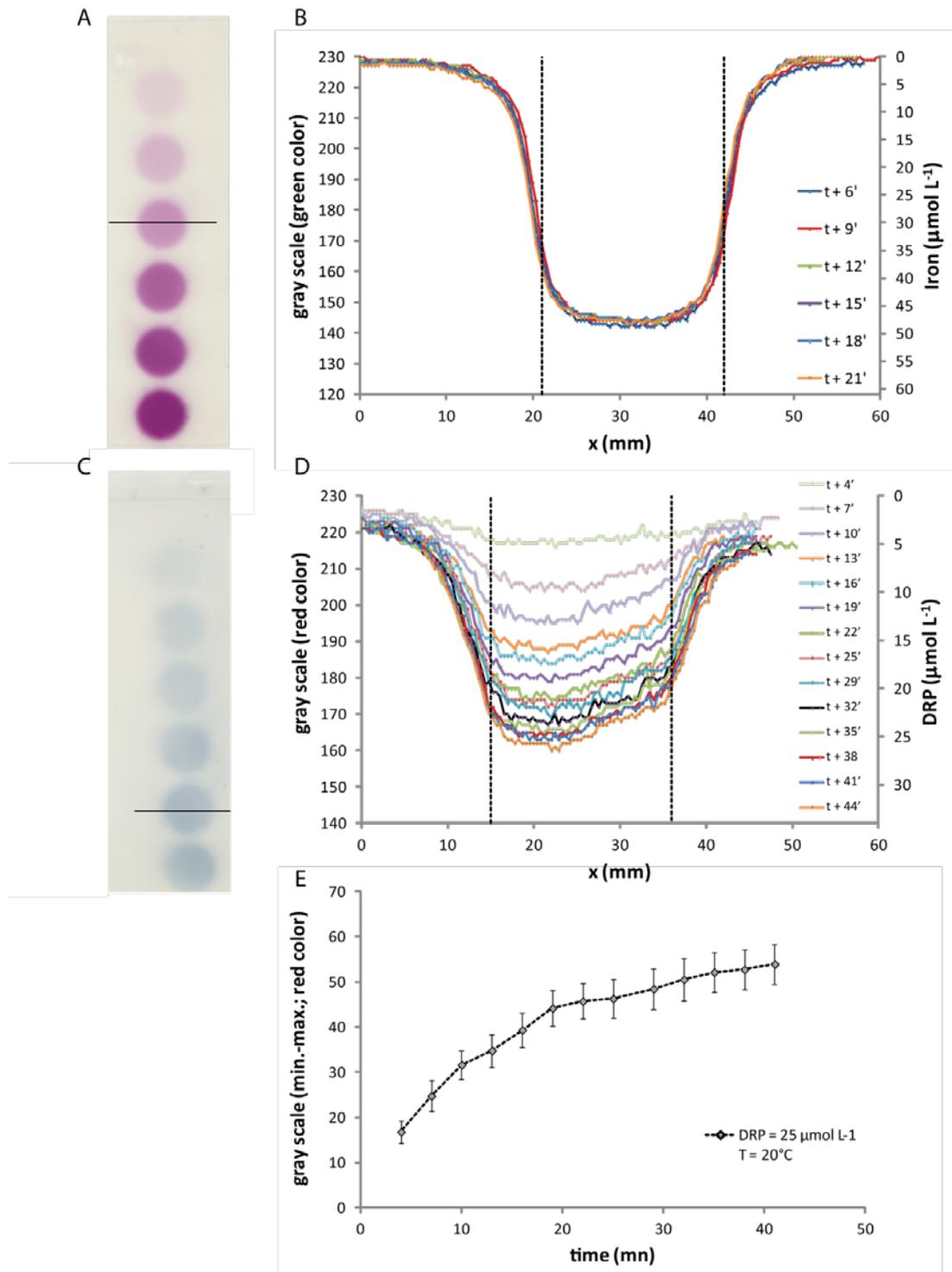


Figure 3: Kinetic study: (A and C), calibration images [(Dissolved iron(A): between 0 and 200 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ (0, 11, 27, 53, 106, 159 and 212 $\mu\text{mol L}^{-1}$); DRP (C): between 0 and 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$)]. The black line corresponds to the profile presented in parts B and D, respectively. (B) Iron concentration profiles (50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) with time, based on grayscale conversion with green color channel filter. (D) DRP concentration profiles (30 $\mu\text{mol L}^{-1}$) with time, based on grayscale conversion with red color channel filter. Dashed lines represent the diameter of calibration structure. (E) Stabilization time of DRP determination: mean curve of DRP concentration included in dashed line data; error bars represent standard deviation of the mean ($n = 49$).

3.3. Freezing effect on DRP and dissolved iron reactions

In order to check the effect of freezing on the coloration, we performed an experiment with two iron calibration probes: the first one was treated by the staining gel directly after equilibration time, the second one was stored at -60°C for 84 minutes (*i.e.* covered with dry ice pellets). These two calibrations probes were laid onto the same support and covered by the same reagent gel to limit operational biases. After 20 minutes of coloration reaction probes were scanned with a commercial scanner.

The frozen gel was measured before and after storage and showed a reduction of its width and length about 3 and 1.4% respectively. However, the shape of the wells filled with the standard solutions showed similar results. The unfrozen average diameter (measured between inflexion points of the profile along a cross section of the calibration gel) was about 22.62 ± 0.30 mm while the frozen average diameter was about 21.43 ± 0.76 mm. The wells diameter is of 21 mm. These results suggest that freezing limits relaxation of the structures. Freezing storage seems to have little effect on the intensity of coloration as well since both standard curves are well correlated and the slope close to 1 (about 0.93; $r^2 = 0.98$). The frozen gel shows slight differences probably due to slower coloration kinetics. This protocol represents a real advantage upon previous methods, which requires instantaneous treatment in the field to avoid the loss of information by lateral diffusion of solutes within the gel after retrieval (Harper *et al.* 1997; Jézéquel *et al.* 2007). Consequently, it also allows the multiplication of probe deployments and their subsequent treatment back in the laboratory. To date the freezing protocol allowed delaying the coloration step up to three months.

3.4. Validation of the deconvolution protocol

Monoelemental standard curves ranging between 0 and $212 \mu\text{mol L}^{-1}$ for iron and 0 and $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ for DRP were used to build an image library. Maxima were used as reference end members for the unmixing deconvolution procedure. Figure 4 shows the modeled curves of the standard calibration gel images built from the end members. Outcomes are well replicated by the model, *i.e.* $R^2 = 0.9952$ for iron and $R^2 = 0.9977$ for DRP. Moreover, the RMS error calculated between linear spectral unmixing results and standards represented by standard deviation in Figure 4 attests of the consistency of results. Detection limits are about $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ for dissolved iron and $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ for DRP. The same procedure was applied to combined solutions of iron and DRP in order to validate the deconvolution for more complex cases. Calibration gels were made with a constant concentration of one of the chemicals (53.0 and $20.2 \mu\text{mol L}^{-1}$ for iron and DRP respectively) while the other chemical followed the previous progression. Modeled concentrations obtained from the mixed solutions were about 52.2 ± 3.8 and $18.85 \pm 2.3 \mu\text{mol L}^{-1}$ for iron and DRP respectively indicating exactitude about 5%. The relative important standard deviation for DRP is caused by a single point that gave a modeled concentration of about $14 \mu\text{mol L}^{-1}$.

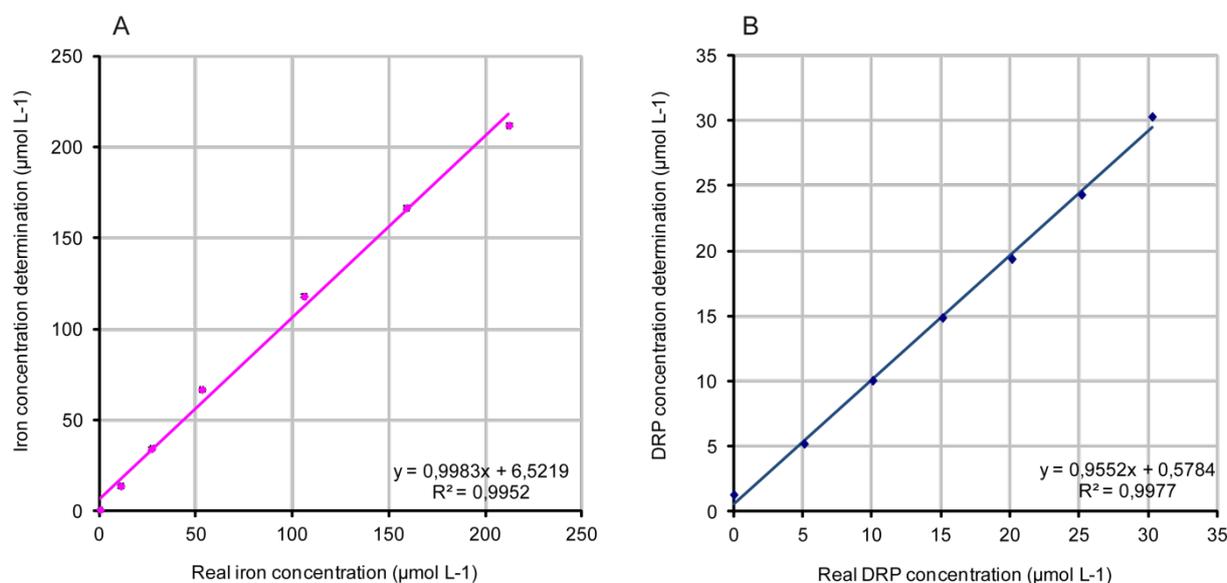


Figure 4: (A) Iron concentration determination *versus* real iron standards and (B) DRP concentration determination *versus* real DRP standards. Standard deviation corresponds to the RMSE.

3.5. First application of the fast intimate unmixing method

Figure 5 shows results from a field application in the Arcachon lagoon during the growth period (June 2012) of an eelgrass meadow. Images were acquired on a thawed sample gel by hyperspectral imaging 20 minutes after contact with reagent gels. The brown coloration corresponds to the presence of free sulfide in sediment porewaters (Figure 5-A; Jézéquel *et al.* 2007). The intensity of magenta and blue coloration corresponds to dissolved iron and DRP content in the porewaters respectively (Figure 5-B). Figure 5-C represents in a false color composite image of background-blue, DRP-red and iron-green the amount of each end members calculated by the unmixing method. In this example, the iron coloration spreads out near the sediment-water interface, whereas the DRP coloration is localized in two spots. The RMS (Figure 5-D) is always below 0.02, except for damaged parts of the gel (see left lower corner). A cross-section realized at 4 mm depth (Figure 5-E) displays a stable background at ~100% with less than 5% false coloration detection. High iron and DRP abundance end members (~20%) can be observed along the 64 mm and the 96 mm cross-sections without altering the ~100% background. They all demonstrate again a satisfactory accuracy of the method.

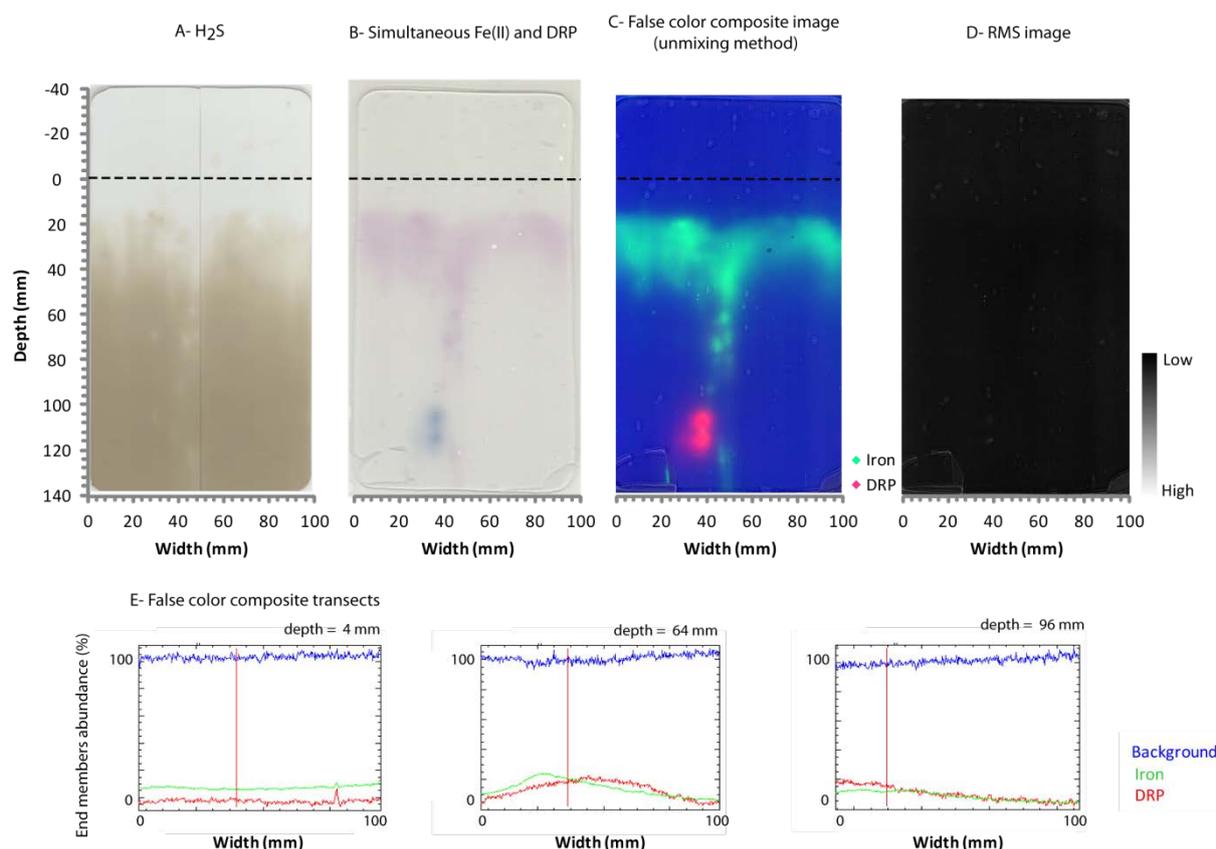


Figure 5: Example of sulfide, iron and DRP distribution in porewater of sediment in a *Zostera noltei* seagrass meadow from the Arcachon lagoon (June, 2012). (A) A visible image of DGT; brown color corresponds to sulfide. Dashed lines represent the sediment-water interface. (B) A visible image of DET probe with iron (red-purple color) and DRP (blue color). (C) False color composite image of DET probe (part B) based on unmixing method. The blue channel corresponds to background and hydrogel, the red channel corresponds to DRP distribution, and the green channel contains the iron distribution. So, DRP on background appears magenta [mixture of blue (background) and red (DRP)] and iron appears cyan [mixture of blue (background) and green (iron)]. (D) Root-mean-square image showing low values in the area of interest. (E) Three transects in the color composite image of the 2D probe as defined in part 4C.

3.6. Simultaneous analysis in 2D of dissolved iron and DRP species and distribution of sulfide in porewaters of vegetated sediment.

The picture obtained after the unmixing treatment (Figure-C) was standardized according to the standard curves showed in Figure -B. Semi-quantitative sulfide concentrations are obtained from the picture shown in Figure 5-A. Dissolved iron distribution in the sediment shows an iron-rich layer from 12 to 16 mm below the sediment-water interface down to 56 mm depth and a 18 mm narrow channel going down to 140 mm depth. The brown coloration indicating the production of sulfide appears nearly at the same depth as iron but increases to reach its maximum downwards. The dissolved iron enriched structure shows a weaker brown coloration indicating a lower sulfide concentration within this vertical channel down to the deepest part of the image. DRP appears only in two circular patches along the well between 100 and 120 mm depth.

In order to describe the interactions of studied species, we realized three vertical profiles across the images at different positions (Figure 6A-C) and three cross-sections at different depths (Figure 6D-F). Vertical profiles show that down to 10 mm depth (Figure 6A-C) dissolved iron, DRP and sulfide were below or close to the detection limit. It suggests that within the first centimeter of the sediment, benthic mineralization involves other oxidants than Fe(III) or sulfate, likely oxygen, nitrate and manganese oxides. These oxidizing compounds represent a redox barrier for Fe(II) and sulfide that may diffuse from the anoxic part of the sediment. Dissolved iron concentrations increase sharply below the oxic layer, up to $80 \mu\text{mol L}^{-1}$ at about 40 mm depth, and then decrease again. The appearance of sulfide is observed above the depth where iron begins to decrease. Such an overlap indicates that iron sulfide formation is not instantaneous, suggesting a relative stability of dissolved intermediate phases (Luther III *et al.* 2003). Profile A shows steeper gradients than profiles B and C (Figure 6). Profile B shows that at a millimeter scale, anticorrelation between iron and sulfide occurs between 50 and 80 mm depth. While second order iron peaks are visible in profile C, no correlated sulfide minima are observed. The brown coloration of the PVC tape in its lower part is rather constant suggesting a saturated signal for sulfides. A peak of phosphate occurs at the bottom of the profiles. Its intensity is underestimated when the profile cuts the structure on its border. DRP seems not to be correlated to iron emphasizing that at high spatial resolution, the coupling of phosphorous and iron cycles in microniches is not obvious. As mentioned above, the sulfide signal is saturated at such a depth, precluding the observation of any correlation with DRP. Cross sections presented in figures 6-D to F confirm the millimetric structure of porewaters in this system. At 40 mm depth (Figure 6-D), dissolved iron shows several peaks accompanied by decreasing sulfide content. This highly variable environment corresponds to the presence of a *Zostera* root web and can be interpreted as the consequence of local and variable oxygenation of the sediment by the root system, which could be considered as a detoxification strategy against hydrogen sulfide (Delgard *et al.* 2012; Frederiksen and Glud, 2006).

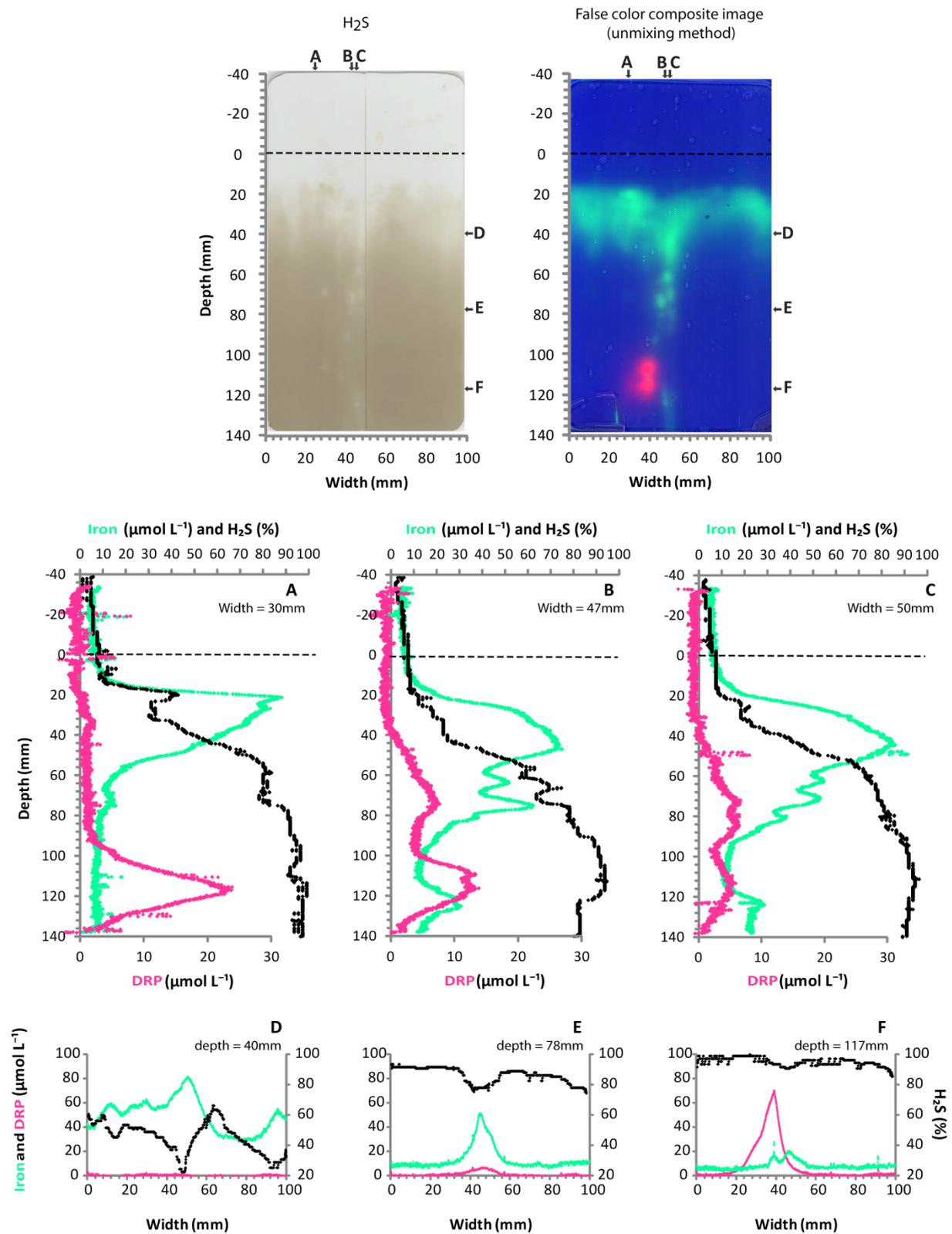


Figure 6: Three profiles (A– C) and three transects (E– G) in the color composite image of the 2D probe as defined in Figure for dissolved iron and DRP distribution: the magenta coloration corresponds to DRP concentration and cyan coloration corresponds to iron concentration lying on the background. Black lines correspond to the sulfide distribution in percentage based on intensity of PVC film colored zones (blue contribution). Dashed line represents the sediment–water interface.

Deeper profiles (Figures 6-E and F) confirm the iron and sulfide interactions and seem to show that DRP is also linked to iron along the vertical well. The co-distribution of dissolved iron and DRP (Figure 6E) can be explained by particulate iron(III) reduction. Iron(III) particles sequester phosphate from solution by adsorption (Anschutz *et al.* 1998, 2007; Jensen *et al.* 1995). Secondary reactions that change the chemical speciation of iron affect the distribution of phosphorus (Anschutz *et al.* 1998, 2007), then the adsorbed phosphate is released into porewaters (Deborde *et al.* 2008; Delgard *et al.* 2012, 2013). DRP could as well to be exudated by seagrass along root axes and at root apice as it was evidenced by Santner *et al.* (2012). However the major DRP spots observed at the lower part of the imaged sediment seems not to be linked to iron recycling and could be due to faunal excretion or decay of a dead organism. Therefore, the 2D images obtained with our methodological approach do not only show the high resolution distribution of one given species, but also the high resolution decoupling or co-distribution between dissolved iron and DRP.

The 2D probe gives information with submillimeter spatial resolution that could be compared with microelectrode data (*e.g.* voltammetric electrodes; Brendel and Luther 1995; Delgard *et al.* 2012; Luther III *et al.* 2008). Figures 6 A-C show vertical profiles that could be an analog of microelectrodes profiles, except that with the gel technique, hundreds of continuous profiles can be generated since 5 million data points are obtained from a single image for each analyzed compound. This method allows to map simultaneously dissolved iron and phosphate distribution at a submillimeter level (with 60 μm each pixel for imaging acquisition and few hundred micrometers including relaxation effects during processing) and high spectral resolution (4.5 nm) which may be appropriate to study reactive and diffusional processes in organic rich bioturbated sediments (Glud *et al.* 1999; Stockdale *et al.* 2009; Wenzhöfer and Glud, 2004). The processing of a large number of probes is possible since the laboratory treatment can be postponed thanks to the freezing step. Combination of hyperspectral analysis and colorimetric techniques applied to gel probes opens a wide range of new technical developments leading to the simultaneous analysis of other compounds such as ammonium, alkalinity or nitrite since the chemical conditions for the colorimetric reactions of these parameters are compatible (*e.g.*, pH, redox conditions).

Acknowledgements

This study was supported by ANR IZOFLUX. The authors thank Stéphane Bujan, Pascal Lebleu (EPOC, University of Bordeaux) and Martin Plus (IFREMER) who gave their time and provided boat assistance during the field experiments. The authors also would thank the Station marine of Arcachon for logistical and technical support and the friendly welcome. The HySpex camera was provided by the CPER. We also thank the three anonymous reviewers for their constructive comments.

CHAPITRE 4

Découplage du comportement du fer et du phosphore dans le contexte
d'un herbier intertidal : nouvelles visions par imagerie en 2
dimensions

-

Decoupling of iron and phosphorus behaviours in an intertidal
seagrass setting: new insights from two dimensional imagery

Découplage du comportement du fer et du phosphore dans le contexte d'un herbier intertidal : nouvelles visions par imagerie en 2 dimensions

RESUME

L'étude présente les résultats obtenus à l'aide d'un gel unique DET qui combine des méthodes spectrophotométriques et l'imagerie hyperspectrale afin de déterminer la variabilité spatiale en fer dissous et en phosphore réactif dissous (DRP). Cette méthode a été utilisée sur les sédiments vaseux colonisés par l'herbier de *Zostera noltei* du bassin d'Arcachon dans le but de caractériser l'effet de ces macrophytes sur la répartition des espèces chimiques des eaux interstitielles. Pendant la saison estivale, quatre sondes de gel ont été déployées selon différentes densités de feuilles. Dans les sédiments végétalisés, la couche de remobilisation de fer est plus mince et moins profonde que dans les sédiments nus. Plus en profondeur de ce niveau, une structure verticale correspondant à une baisse en sulfure est observée. Ces résultats suggèrent que le recyclage du fer et la réduction de sulfate est plus intense dans les zones végétalisées. Dans ces zones, l'absorption du DRP par l'herbier contrôle la distribution en DRP, une distribution exclusivement observée par spots. Cette distribution observée par notre technique 2D permet de distinguer deux sources de DRP : une source provenant de la réduction du fer (III) et une source issue de la réduction de sulfate par les processus de reminéralisation de la matière organique. Les rapports Fe: P provenant de la distribution 2D permettent de discriminer les zones où les sources de phosphore étaient exclusivement organique et les zones résultant de la désorption d'oxydes de fer. L'analyse des gradients benthiques suggèrent de très faibles flux à l'échelle du millimètre et une possible surestimation par la méthode d'échantillonnage classique (5 mm de résolution). Par conséquent, un réexamen de la dynamique saisonnière et spatiale du fer et du phosphore utilisant des techniques de haute résolution est nécessaire. Enfin, pour mieux comprendre l'incidence relative des divers micro-environnements observés dans les processus de recyclage, il est important d'adapter une modélisation en 2D.

Mots-clés : gel DET, 2 dimensions, fer dissous, phosphore réactif dissous, sulfure, herbiers de *Zostera noltei*, flux benthique, recyclage benthique

Decoupling of iron and phosphorous behaviors in an intertidal seagrass setting: new insights from two dimensional imagery

Ce chapitre fait l'objet d'une publication en préparation pour soumission dont les auteurs sont Cesbron F., Metzger E., Anschutez P., Launeau P., Thibault de Chanvalon A., Mouret A., Deflandre B., Delgard ML, Geslin E. et Jézéquel D.

ABSTRACT

The study presents results obtained by a single gel probe to determine the spatial variability of both dissolved iron and dissolved reactive phosphorus (DRP) which combines diffusive equilibrium in thin-film (DET), spectrophotometric methods and hyperspectral imaging. This method was conducted on muddy sediments colonized by *Zostera noltei* meadows located in Arcachon Bay in France to characterize the effect of these macrophytes on porewater chemical species distributions. During the summer season, four gel probes were deployed according to different leaf densities. In vegetated sediments, the iron remobilization layer is thinner and shallower than in bare sediment. The bottom of this layer shows vertical extension downward corresponding to sulfide depleted structures. These results suggest that iron recycling and sulfate reduction is more intense in vegetated areas. DRP depended on seagrass uptake and was only concentrated as spots. This DRP distribution observed by our 2D technique allows distinguishing iron (III) particles reduction and sulfate reduction sources as organic matter remineralization processes releasing phosphorus. Fe: P ratios derived from 2D distribution allowed to discriminate zones where phosphorus sources were solely organic and zones where desorption from iron oxides contributed as well. The analysis of benthic gradients suggests very low benthic fluxes at millimeter scale and possible overestimation at a classical resolution sampling (5 mm resolution). Therefore, a reexamination of the seasonal and spatial dynamics of iron and phosphorus recycling using high resolution techniques is necessary. Finally, in order to better understand the relative impact of the diverse microenvironments observed in recycling processes, adapted 2 dimensional modeling tools are required.

Keywords: DET probes, 2 dimensions, dissolved iron, dissolved reactive phosphorus, sulfide, *Zostera noltei* meadows, benthic fluxes, benthic recycling.

1. INTRODUCTION

Phosphorus (P) is a nutrient that most often limits the biological productivity in aquatic ecosystems (Correll 1999). Phosphorus exists in many different forms in sediment, four general forms can be distinguished: (1) dissolved reactive phosphorus (DRP) which is available for plants and three forms not available: (2) organic phosphorus, (3) adsorbed phosphorus and (4) primary mineral phosphorus. To be available for plants, microbial mineralization converts organic phosphorus to orthophosphates; reductive dissolution of iron oxides releases adsorbed phosphorous into pore waters and, in a lesser extent, weathering of primary minerals act as an additional source. In seagrass environments, phosphorus constitutes a major metabolic and structural component of eelgrasses (Duarte, 1990; Walker *et al.* 2004; Larkum *et al.* 2006). Eelgrasses are able to take nutrients in both sediment porewaters and water column (Pedersen and Borum, 1992; Hemminga *et al.* 1994; Nielsen *et al.* 2006; Deborde *et al.* 2008; Delgard *et al.* 2013), which can be assimilated through both above- and below-ground plant tissues (Terrados and Williams 1997; Touchette and Burkholder 2001; Nielsen *et al.* 2006; Alexandre *et al.* 2011). It is assumed that root uptake of phosphorous dominates over leaf uptake in environments where nutrients are higher in porewaters than in water column (McRoy *et al.* 1972; Hemminga 1998; Holmer *et al.* 2006). Furthermore eelgrasses export also high amounts of photosynthetats (*i.e.* high amounts of organic carbon) into the sediments through their root-rhizome system that fuel bacterial benthic mineralization (Kaldy *et al.* 2006; Papadimitriou *et al.* 2006) and enhance inorganic nutrient release in sediment porewater (Opsahl and Benner, 1993; Holmer and Olsen, 2002). But when sediments are enriched with organic matter, this may stimulate bacterial metabolisms and in particular sulfate reduction, which can be the dominant carbon-oxidation pathway in coastal marine sediments (Canfield, 1993). In these anoxic conditions, seagrasses have developed aerenchymae¹⁰ that facilitates the efficient transport of oxygen to below-ground tissues (Penhale and Wetzel 1983; Roberts *et al.* 1984; Greve *et al.* 2003). The oxygen diffuses from leaves towards the rhizome and roots. Part of this oxygen is transferred from roots into sediments creating a narrow oxic sphere around the root apex (Pedersen *et al.* 1998; Connell *et al.* 1999; Jensen *et al.* 2005; Frederiksen and Glud 2006) that influences diagenetic processes by reoxydation of reduced compounds, such as ammonium, dissolved metals and sulfides (Isaksen and Finster, 1996; Hemminga, 1998; Jensen *et al.* 2005). This reoxidation induces especially the formation of a Fe(III)-rich sediment layer close to roots (Hebert and Morse 2003; Sundby *et al.* 2003; Deborde *et al.* 2008; Delgard *et al.* 2013) which allows adsorption of phosphorous (Jensen *et al.* 1995; Anschutz *et al.* 1998, 2007). Moreover, iron oxides and dissolved iron can react with free sulfides and precipitate as FeS and FeS₂ via a series of reactions resulting in removal of free sulfides from porewater (Azzoni *et al.* 2001; Hebert and Morse 2003) and release of Fe(III)-associated phosphorus (Krom and Berner, 1980; Jensen *et al.* 1995; Anschutz *et al.* 1998, 2007). Therefore dissolved reactive phosphorus (DRP) is often coupled with sulfide and iron

¹⁰ Space or air channels in the leaves, stems and roots of some plants, which allow exchange of gases between the shoot end the root.

cycling. In Arcachon Bay, a seasonal variation of phosphorus and dissolved iron, following the growth and decay of *Zostera noltei* biomass was observed by Deborde *et al.*(2008) and Delgard (2013). As described by Deborde *et al.* (2008), DRP uptake by sediment was determined in vegetated sediments due to the formation of an Fe(III)-rich zone between 0- 4 cm depth that occurred during the growth period and acted as a trap for dissolved phosphorus. At the periphery of the rhizosphere, reducing conditions increase during the growth period, probably due to organic matter releases via roots, leading to reductive dissolution of Fe(III) (and production of Fe(II)) and release of bound phosphorus to the pore water. Consequently, P becomes more available for assimilation by the eelgrass roots. Moreover, Deborde *et al.* (2008) observed that Fe(II) is re-oxidized to solid Fe(III) forms depleted in P into the root zone or re-precipitated below as sulfide forms.

In microenvironments created by bioturbation or seagrass root webs, iron can be mobilized or trapped in sediment and may impact P behavior. In our study, we focus in detail on relationship between iron and phosphorus. In order to investigate links between DRP and iron or sulfide cycling in high reactive sediments, the classical core sampling technique with slicing was already used (*e.g.* Deborde *et al.* 2008 ; Delgard *et al.* 2013). But to highlight some interactions in high reactive and heterogeneous environments such as seagrasses or bioturbated sediments, and to map dissolved iron and DRP distributions around the structures, a 2D or better 3D approach is required. Such a 2D study was already conducted by Pagès *et al.* (2011), where Fe and DIP concentration mapping were obtained separately from two different devices. However the simultaneous determination of dissolved iron and phosphorus at exactly the same place (*i.e.* from the same sample) is essential in order to avoid cross-checking difficulties of data obtained from distinct devices, especially at high resolution (sub-millimeter), in environments where spatial heterogeneity is very high. For this reason, we used a single gel probe to determine the spatial variability of both dissolved iron and DRP which combines diffusive equilibrium in thin-film (DET), spectrophotometric methods and hyperspectral imaging (Cesbron *et al.* 2014). Sulfide distribution was also described from the same probe to constrain our biogeochemical data and to explore DRP formation processes associated with iron and sulfur dynamics. In the present study, we describe the variations of dissolved iron and DRP distribution in sediments of a tidal mudflat in a temperate bay. This study was conducted during a summer period in a *Zostera noltei* meadow. Areas with different leave and root densities were sampled in order to investigate the influence of eelgrass on iron and phosphorous remobilization during a period of high meadow development using a new 2D approach.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Study area

This study was conducted in an intertidal mudflat located in the middle of Arcachon Bay in France (Germanan station: 44°42'55.1"N 1°07'50.1"W) which is widely colonized by a heterogeneous *Zostera*

nottei bed. Samplers were deployed into the sediment on June 4th, 2012. Additional details on sampling method and site locations are given in Cesbron *et al.* (submitted).

2.2. 2D Gel probes

Preparation of polyacrylamide hydrogels for DET, colorimetric determination of dissolved iron and reactive phosphorus concentrations and hyperspectral image analyses were carried out as described in Cesbron *et al.* (2014). Briefly, a poly(methyl methacrylate) plate (250 mm high, 150 mm wide and 2 mm thick), was covered in its central depression by a white polyvinyl chloride (PVC) adhesive film (brand: Leroy Merlin[®] 5 m long roll and 5 cm wide) which was used to obtain a semi-quantitative sulfide distribution. A 0.92 mm thick polyacrylamide thin-film (after expansion in Milli-Q[®] water) was prepared and set up over the PVC surface. The hydrogel was then covered with a PVDF porous (0.2 μm pore size; Durapore[®]) membrane, which was affixed to the support with PVC tape. The probe was rinsed and stored in deionized water (Millipore Milli-Q[®] system) until use. The probes were deoxygenated by nitrogen bubbling over night before deployment. To conduct this study we deployed four probes into the sediment on June 4th, 2012, at low tide in mudflat sediments. In order to constrain the spatial heterogeneity linked to leaf density in this colonized sediment, we deployed one 2D probe in bare sediment (labeled N), one in medium leaf cover sediment (labeled Zi) and two others in dense leaf cover sediment (labeled Z1 and Z2). Two thirds of the length of the probes was inserted into the sediment, which were left 5 hours for equilibration until retrieval by scuba divers at high tide. Directly after retrieval, probes were briefly wiped with absorbing paper and a plastic coated aluminum plate was put onto them (gel side). Then, the covered probes were placed in a vacuum Ziploc[®], put in an icebox and covered with dry ice pellets. After this field treatment, probes were stored at -18°C in a freezer until colorimetric treatment, which occurred between 2 and 4 days later (Cesbron *et al.* 2014).

Two different reagents gels were used (0.46 mm thick polyacrylamide hydrogels) to develop the colorimetric reactions. The reagent gel for dissolved iron determination was equilibrated during 1 hour with a solution of Ferrozine (12.2 mmol L⁻¹; C₂₀H₁₃N₄NaO₆S₂ Sigma Aldrich) and ascorbic acid (170 mmol L⁻¹; Sigma Aldrich). The ascorbic acid allows reducing Fe³⁺ in Fe²⁺ contained in gel probe and then avoids underestimation of Fe²⁺ concentration in case of iron oxidation by air contact. As DET technique concerns only dissolved pool, and considering the very weak solubility of Fe³⁺ at circum neutral pH, we will notice “Fe²⁺” to indicate product of reaction with Ferrozine and ascorbic acid shown in this study. The dissolved reactive phosphorus (DRP) reagent gel was equilibrated during 1 hour with a solution containing sulfuric acid (0.558 mol L⁻¹; Merck 96%), potassium antimony (III) tartrate hydrate (0.4 mmol L⁻¹; K(SbO)C₄H₄O₆·0.5H₂O Aldrich \geq 99%), ammonium molybdate tetrahydrate (18.5 mmol L⁻¹; NaMoO₄·2H₂O Prolabo) and ascorbic acid (30 mmol L⁻¹; Sigma). Once reagent gels were ready (*i.e.* equilibrated), the probe hydrogel was thawed (~10 min.) and laid onto the iron reagent hydrogel. The phosphorous reagent hydrogel was then laid onto the probe hydrogel, which was then sandwiched by both reagent gels. A transparent film (cellulose acetate sheet type) was

then placed on top of the “sandwich” in order to handle the complete device and to limit evaporation from hydrogels during image scanning. The image scanning was delayed by 20 min to let the colorimetric reaction to occur (Cesbron *et al.* 2014). The flat combination of gel probe + reactive gels + transparent film was scanned by a hyperspectral camera (HySpex VNIR 1600) for quantitative simultaneous analyses and PVC film was scanned separately by a common commercial flatbed scanner (Canon Canoscan LiDE 600F).

2.3. Data processing

Hyperspectral image treatment was performed by ENVI[®] software (Environment for Visualizing Image, RSI©). Each pixel of the image is an intimate mixture of the dissolved iron and DRP colorations within a transparent gel lying on an opaque background. Any concentration can be sets as a simple linear combination of the logarithm of the three end member spectra, which are iron coloration, DRP coloration and background. Semi-quantitative sulfide data obtained with PVC device were determined by intensity of brown zones of the PVC film and processed by ImageJ 1.31 software (Rasband, 2003) from scanned images (CID). Only the blue contribution was used for the sulfide analysis because it leads to a more sensitive response of brown intensity variations. See (Cesbron *et al.* 2014; **chapitre 3**) for more details.

3. RESULTS

Dissolved iron, phosphorus and sulfide distributions from probes collected during the eelgrass growth period in a mudflat with three different leaf density coverages are presented in Figures 1 to 4. Panel A shows real coloration of the PVC probe; brown zones correspond to H₂S rich zones. Panel B shows the blue color contribution analysis of the PVC coloration from panel A. Panel C shows real coloration of the gel “sandwich” after colorimetric reaction (blue for DRP and magenta for Fe²⁺). Panels D and E show Fe²⁺ and DRP distribution obtained from the unmixing treatment of colored gel shown panel C. In bare sediment (labeled N, Figure 1), sulfide (H₂S) is detectable from 12 mm below the sediment-water interface (SWI). Its concentration increases with depth. Lateral variability seems higher between 12 and 32 mm depth than below. Within this layer, sulfide appears vertically structured in four different zones. Below 32 mm depth, lateral heterogeneity is weak except along the right side of the probe which is sulfide depleted. Few darker spots can be seen at 44 mm depth – 60 mm width, 100 mm depth – 84 mm width (Figure 1A and 1B). According to pictures 1C and 1D, dissolved iron shows an enriched layer between 6- 10 mm to 48 mm below SWI, with strong lateral variability. Within this layer, iron depleted zones seem to correspond to sulfide enriched ones.

Bare sediment (N)

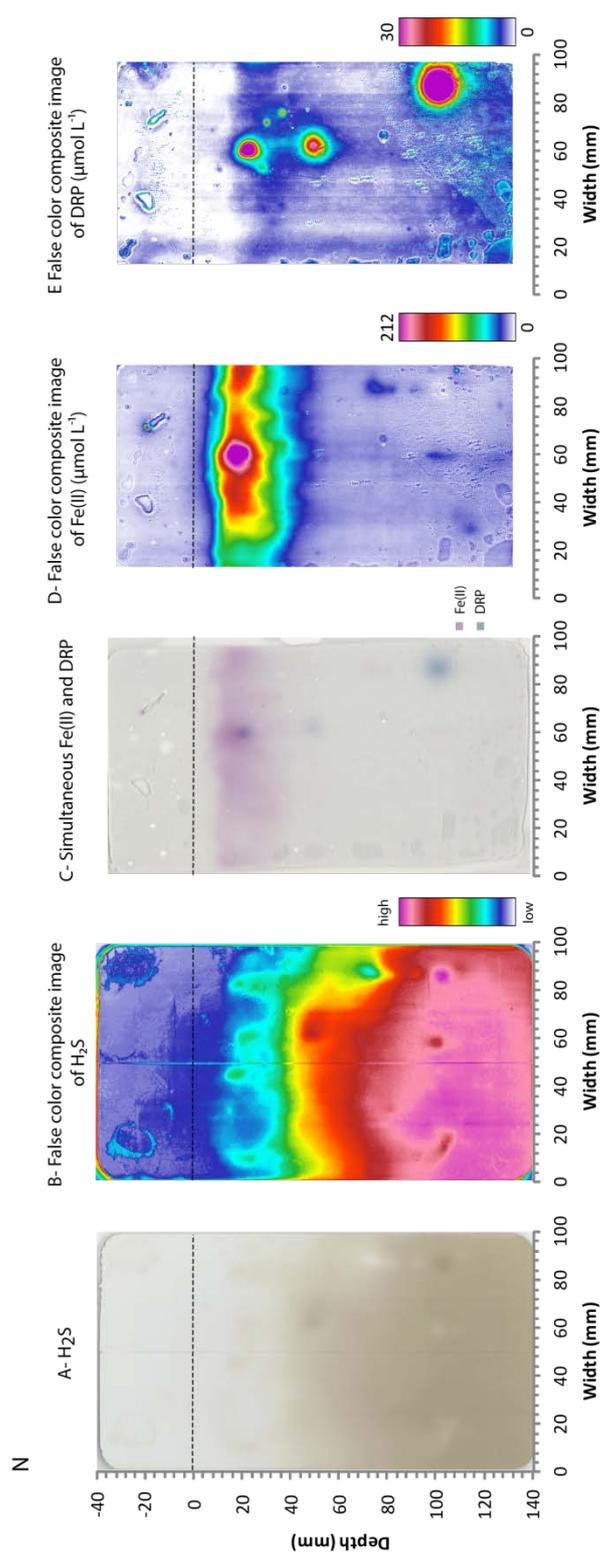


Figure 1: Sulfide, dissolved iron and DRP (Dissolved Reactive Phosphorus) distribution in porewaters in bare sediments (N). Dashed lines represent the sediment-water interface (SWI). (A) A visible image of the PVC film; the brown color corresponds to adsorbed sulfide. (B) A visible image of DET probe with dissolved iron (red-purple color) and DRP (blue color). (D) False color composite image of DET probe (part B) for dissolved iron, ranged between 0 and 212 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (E) False color composite image of DET probe (part B) for DRP, ranged between 0 and 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Edges of images (D) and (E) are reduced to avoid edge disturbance.

The highest dissolved iron concentration (about $200 \mu\text{mol L}^{-1}$) appears in 3 circular patches located around 16 mm depth and 60 mm width. DRP is mainly visible in circular patches (Figures 1C and 1E). The first patch appears in the iron-rich layer near the iron patch. The two other DRP spots appear deeper, at the same position of dark sulfide zones.

In medium leaf covered sediment (labeled Zi, Figure 2), sulfide is detected from 20 mm depth (Figure 2A and B) and its concentration increases downwards. Lateral distribution shows oscillations of the appearance depth of sulfide with two maximal shifts located at 40 and 90 mm width. A dissolved iron layer is observed between 8- 16 mm to 30 mm below SWI, with important lateral variability (Figures 2C and 2D). Maximum iron concentration is about $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, far less than in bare sediment. Downward extensions of the iron enriched zone can be observed and correspond to sulfide depleted zones. DRP is detected only at the deepest part of the image and its concentration remains close to the detection limit of $2.3 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figure 2C and 2E).

In the first hydrogel and PVC film sampled in dense leaf covered sediment (labeled Z1, Figure 3), the PVC film seems darker than before (*i.e.* N and Zi gel probes) and sulfide is detected 12 mm below SWI (Figure 3A and B). Lateral distribution shows depleted downward extensions corresponding to dissolved iron enriched structures (Figures 3C and 3D). Sulfide signal seems to reach saturation below 80 mm except on depleted vertical structures. The vertical extension of the iron enriched layer is narrower than for less vegetated sediments (between 12 and 32 mm). However, lateral variability is higher below the maximum layer than previously described in cases N and Zi. Maximum concentration reaches *ca.* $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ just above the depth where sulfide starts to be detected. Only one significant DRP spot (8 mm diameter) appears on the Figure 3E at 32 mm depth and 68 mm width. The second image of dense leaf cover sediments (labeled Z2, Figure 4) was already described in Cesbron *et al.* (2014). Briefly, the sulfide and iron interplay shows the same feature as before with a main vertical structure around 50 mm width. However, this picture differs from the first replicate regarding DRP distribution. Here DRP is detected along the vertical structure from 50 mm depth and shows at the bottom of the structure a wide spot reaching concentrations close to the upper detection limit.

Moderately vegetated sediment (Zi)

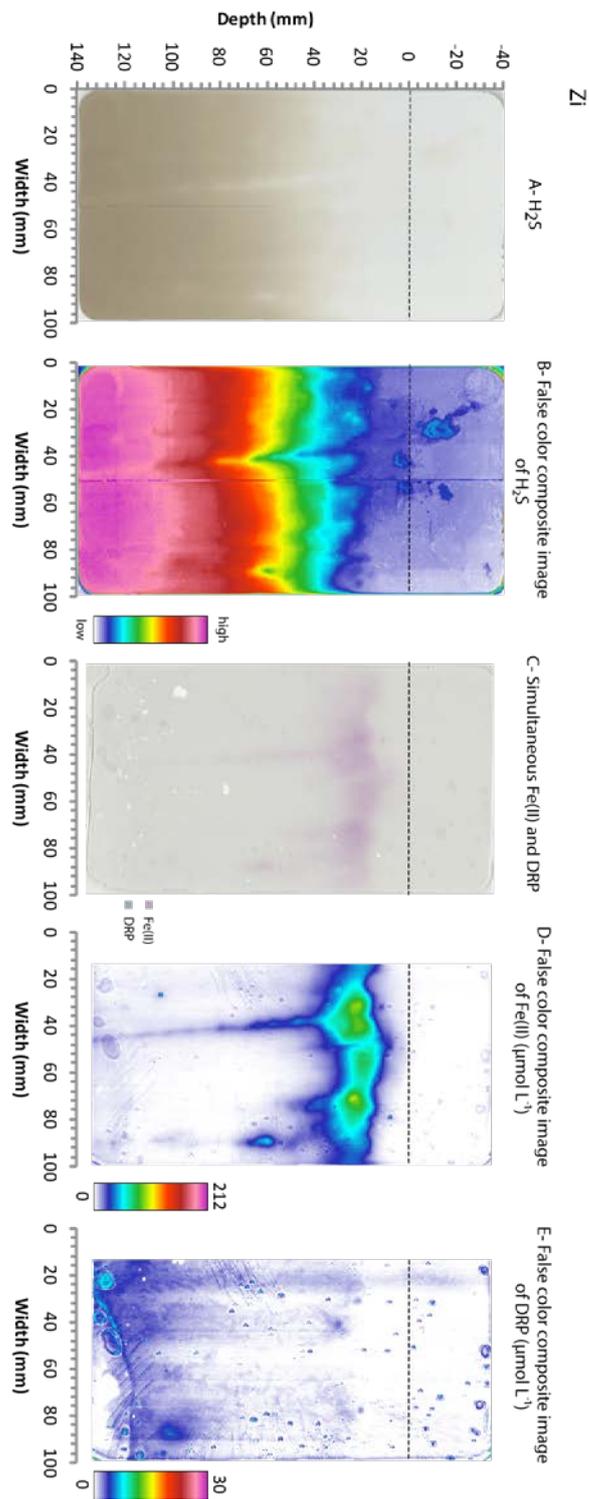


Figure 2: Sulfide, dissolved iron and DRP distribution in porewaters of sediment moderately colonized by *Zostera noltei* (Zi).

Densely vegetated sediment (Z1)

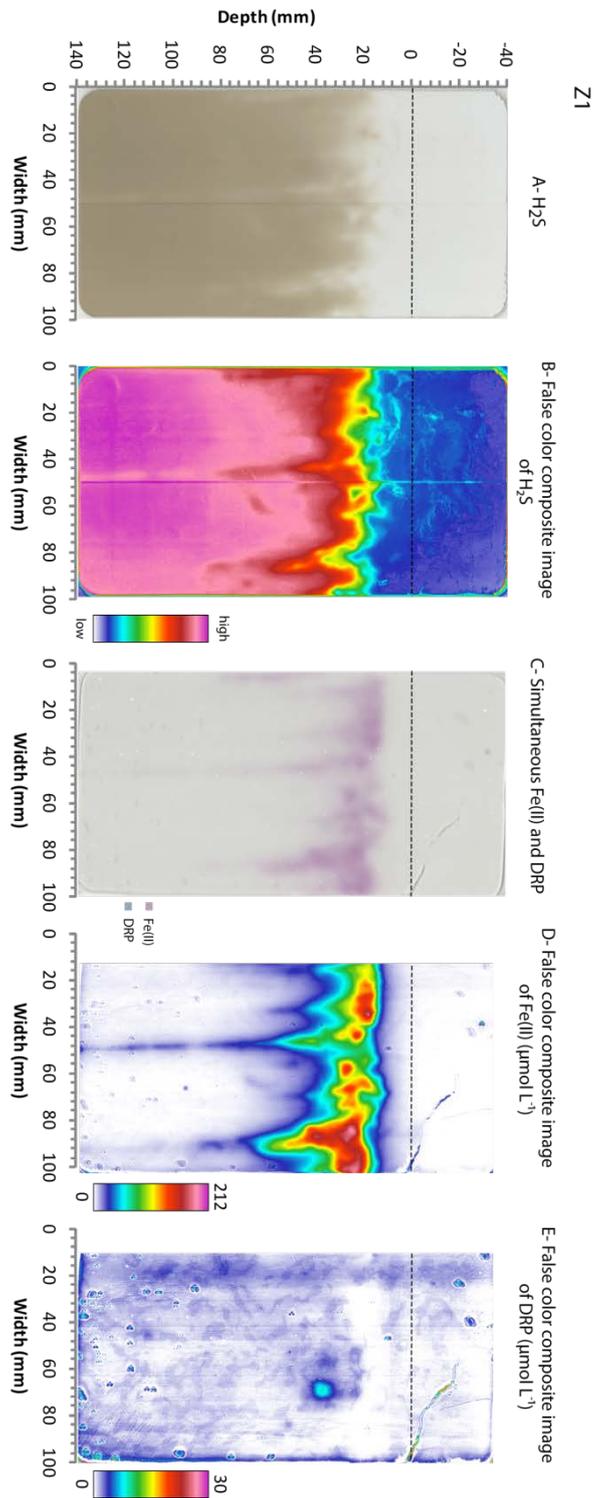


Figure 3: Sulfide, dissolved iron and DRP distribution in porewaters of sediment in dense *Zostera noltei* seagrass meadow (Z1).

Densely vegetated sediment (Z2)

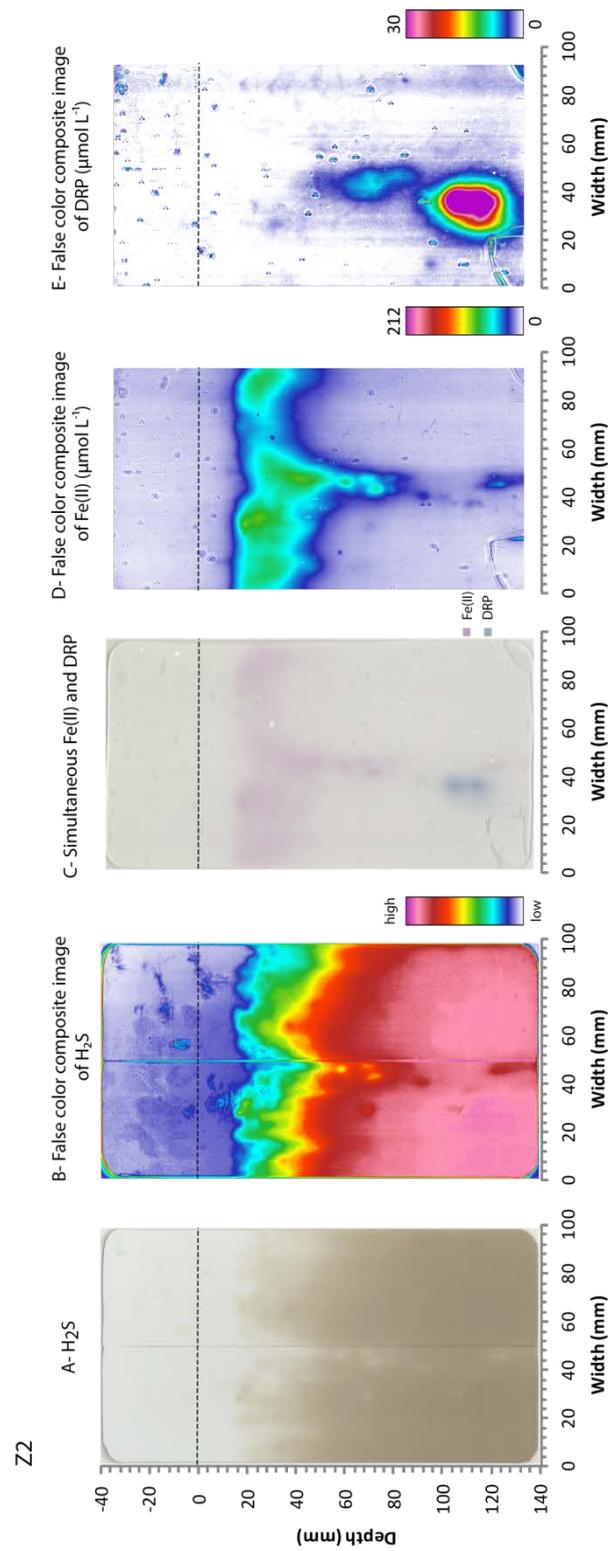


Figure 4: Sulfide, dissolved iron and DRP distribution in porewaters of sediment in dense *Zostera noltei* seagrass meadow (Z2).

4. DISCUSSION

4.1. Impact of seagrass on benthic dissolved iron and reactive phosphorus biogeochemistry

The presence of seagrass affected at first glance the benthic biogeochemistry of dissolved iron, phosphorus and sulfide (Figures 1- 4): 1) with a thinner dissolved iron layer: iron release occurs deeper in vegetated sediments while its uptake occurs shallower inducing the slimming of the iron rich layer, 2) with almost no DRP detected in the whole probe (until 14 cm depth), 3) with a shallower apparition of sulfide and steeper gradients and 4) with an increasingly lateral heterogeneity allowing iron to be seen very deep in anoxic layer of sediment, in zones where hydrogen sulfide is lightly detected. Occurrence of highly concentrated patches of iron and phosphorus seems to be randomly distributed.

Seagrasses are known to stimulate organic matter mineralization by exudation of photosynthetats (Kaldy *et al.* 2006; Papadimitriou *et al.* 2006) and by sediment deposition (Wilkie *et al.* 2012; Ganthly *et al.* 2013). Dissolved organic carbon pools in pore water increase with increasing plant density (Smith *et al.* 1988), which enhances bacterial activity. This high organic carbon in pore water seagrasses environments and the presence of oxidants such as oxygen, nitrate and manganese oxides in sediment lead to observe oxidized compounds in deeper zone, preventing dissolved iron diffusion toward the SWI. This process could explain the compaction of the diagenetical redox series observed in vegetated sediments (Figures 1- 4). Below the rhizosphere, dissolved iron is exposed to a reduced environments enriched with free sulfide and probably precipitates as FeS_x . Thus in vegetated sediments, root-webs are observable by the combination of dissolved iron structures and structure with low sulfide concentrations (Figures 2- 4).

Furthermore, exudation of organic matter and oxygen release from root systems have been studied for various seagrass species, such as *Zostera marina* (Jensen *et al.* 2005; Frederiksen and Glud, 2006) or *Cymodocea rotundata* (Pedersen *et al.* 1998) and for the halophyte *Spartina anglica* (Holmer *et al.* 2002). In *Zostera noltei*, it has not yet been observed directly but results obtained by Deborde *et al.* (2008) and Delgard *et al.* (2013) suggest that oxygen loss led to modify redox conditions at the root vicinity. Oxygen excess diffuses into the rhizosphere and then into the interstitial water, where it reacts with reduced sediment components (Sundby *et al.* 2003). Oxygen diffusion induces the formation of an important reactive oxide iron-rich layer in the sediment adjacent to the root zone. In addition, these iron hydroxides and oxyhydroxides have a strong adsorption capacity for phosphorus (Lijklema, 1980; Anschutz *et al.* 1998; Cha *et al.* 2005). Iron oxides precipitated in the root zone thus constitute a huge trap of DRP and a potential reservoir of P available for eelgrass growth (Zimmerman *et al.* 1987; Lee and Dunton, 1997). In vegetated sediments, absence of important phosphorus concentration except as very local patches (Figure 2- 4) suggests that root system uses phosphorus for

its growth. Thus phosphorus recycling from early diagenesis is not an important process or most of recycled phosphorus is directly used for seagrass growth decreasing drastically its residence time in pore water. In Deborde *et al.* (2008) and Delgard (2013), very low concentrations of DRP measured in vegetated sediments compared to unvegetated sediments in root zone were already observed, hypothesizing that a strong influence of seagrass could be detected.

4.2. Effect of downscaling on profiles and fluxes

Figures 5 and 6 show how downscaling the spatial resolution may affect 2D images of dissolved iron and phosphorous respectively. From left to right (upper panel, 5A to 6D), the reader can see the original resolution of $60 \times 60 \mu\text{m}$ pixel, average concentrations within $1 \times 1 \text{ mm}$ squares and $5 \times 5 \text{ mm}$ squares, then, average concentrations of the total width of the gel corresponding to a diameter of a interface core (*i.e.* 10 cm) and a vertical length corresponding to the slices obtained in a parallel study (*i.e.* 5 mm slices in the first 2 cm; 1 cm up to 10 cm depth; 2 cm below; (Delgard, 2013)). Modification of resolution was realized by ENVI[®] software with the “resize option” by pixel aggregate for $1 \times 1 \text{ mm}$ squares and $5 \times 5 \text{ mm}$ squares resolutions respectively and with the “region of interest” tool for core resolution. This last treatment allows us to obtain mean and standard deviation data. Lower panels show for each chemical species an example of vertical profile obtained with the corresponding resolution at the same lateral position (Figures 5A' to 6D'). Images are extracted from a DET probe deployed in unvegetated sediment (Figure 1D and E). Visually, for dissolved iron (Figure 5), there is no noticeable difference between $60 \mu\text{m}$ and 1 mm resolution. Profiles show maxima within the range of uncertainty (262.3 and $261.8 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively). The difference is more striking when upscaling: at $5 \times 5 \text{ mm}$ resolution, maximum is about $240 \mu\text{mol L}^{-1}$ and at a “core slicing” resolution it reaches about $134 \mu\text{mol L}^{-1}$. Chemical gradients at SWI are as well affected showing the steepest gradient at a resolution of $5 \times 5 \text{ mm}$ and no real correlation between slope and resolution. Obviously, the less steep gradient is obtained averaging the entire width of the gel. DRP distribution (Figure 6) shows the same features. However, because of the patchy distribution of DRP, the core slicing average barely shows the remobilization zones and drastically under-evaluates located peak maxima. One can note that the presence of a double peak near SWI generate on the core slicing resolution a dissymmetry of the remobilization zone.

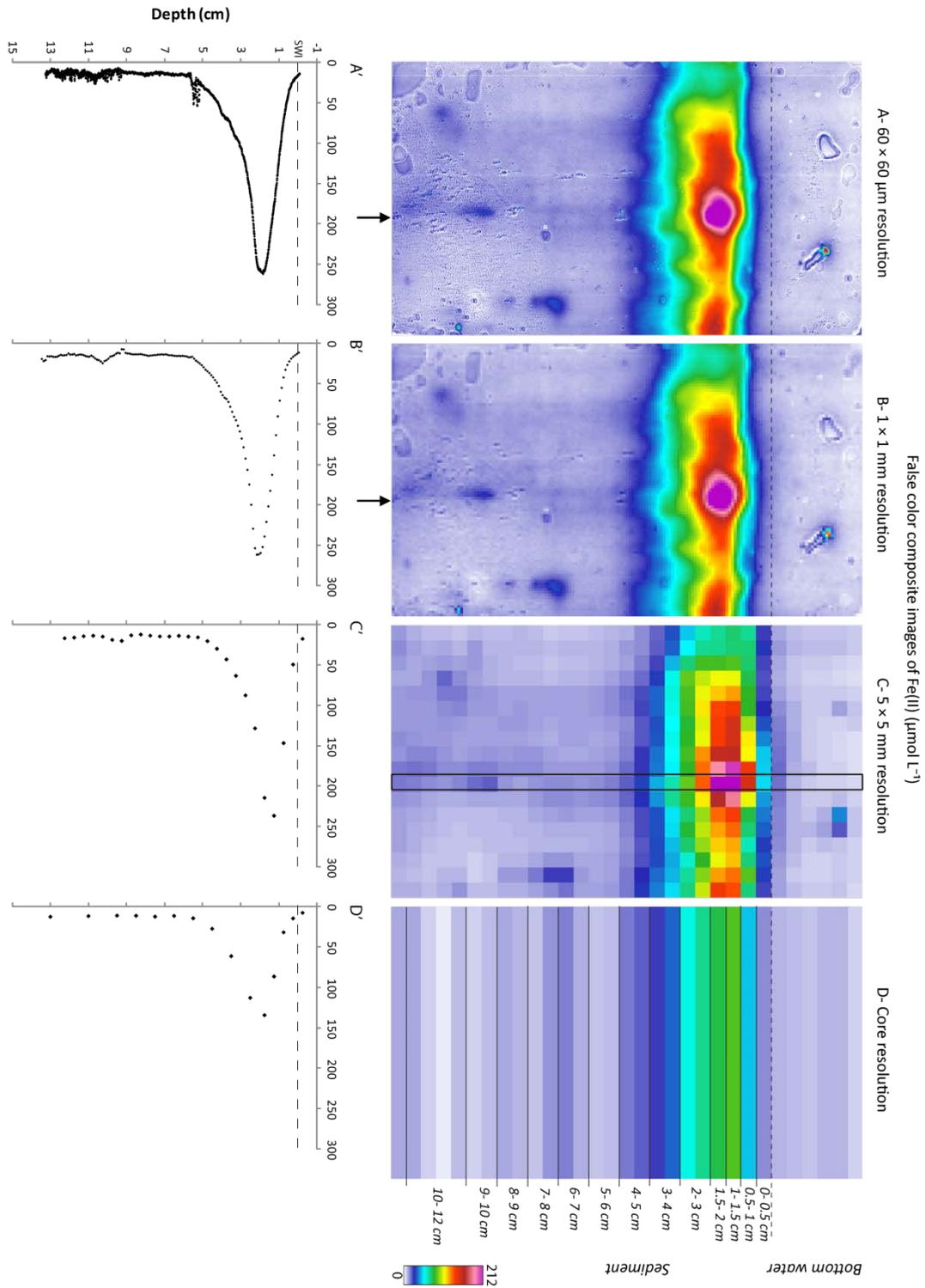


Figure 5: Dissolved iron distribution in porewaters of sediment in unvegetated sediments (N) with four different resolutions: 60×60 µm (A), 1×1 mm (B), 5×5 mm (C) and core-slicing resolution mimic (0.5 cm intervals down to 2 cm, 1 cm intervals from 2 to 10 cm depth, 2 cm intervals down to back; D). (A-D) False color composite images of DET probe for dissolved iron, ranged between 0 and 212 µmol L⁻¹ and profiles (A'-D') are shown. Dashed lines represent the sediment-water interface (SWI). Arrows and rectangle correspond to exact location of profiles A'-D'.

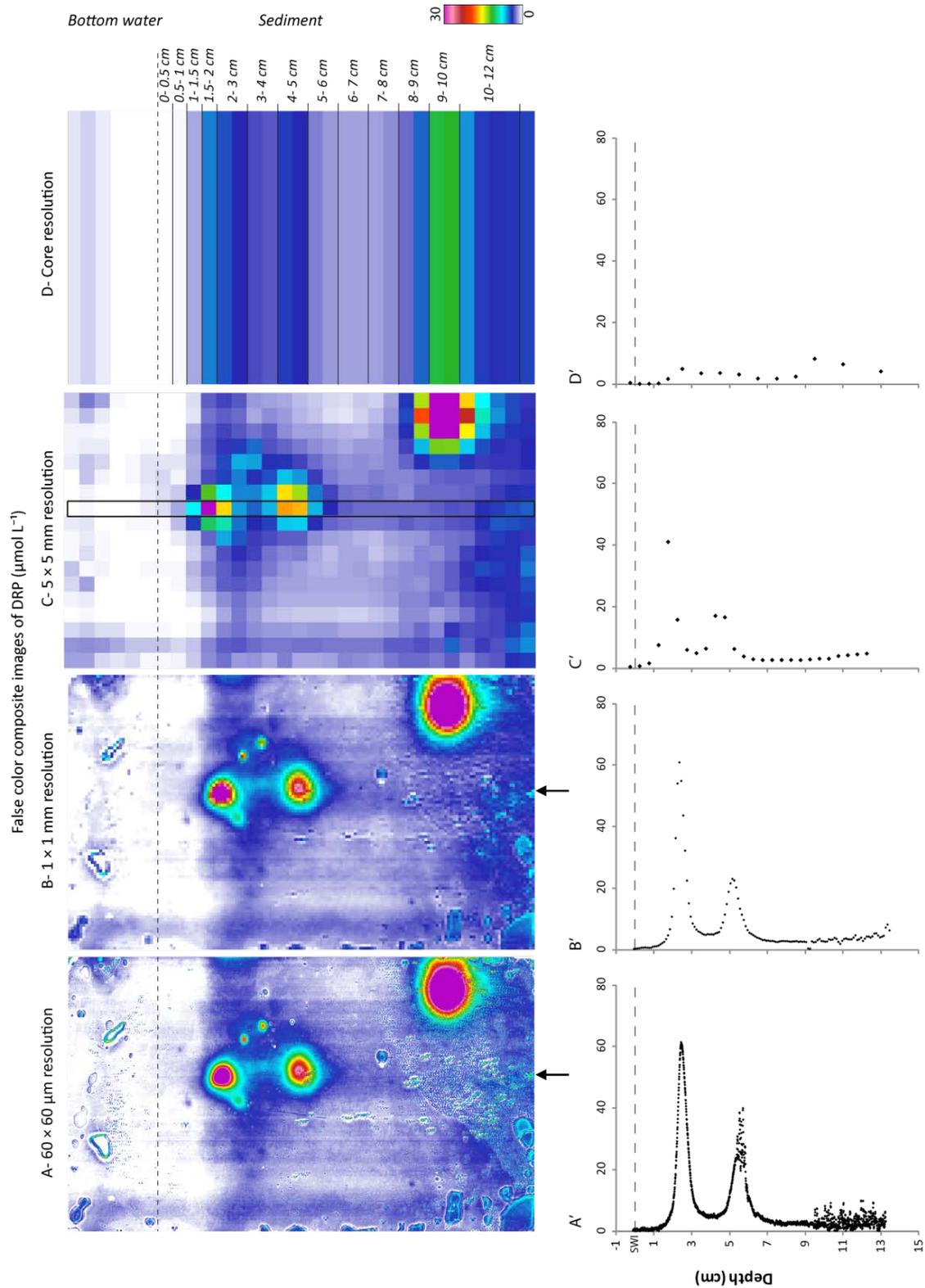


Figure 6: DRP distribution in porewaters of sediment in unvegetated sediments (N) with four different resolutions: $60 \times 60 \mu\text{m}$ (A), $1 \times 1 \text{ mm}$ (B), $5 \times 5 \text{ mm}$ (C) and core-slicing resolution mimic (0.5 cm intervals down to 2 cm, 1 cm intervals from 2 to 10 cm depth, 2 cm intervals down to back; D). (A-D) False color composite images of DET probe for DRP, ranged between 0 and $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ and profiles (A'-D') are shown. Dashed lines represent the sediment-water interface (SWI). Arrows and rectangle correspond to exact location of profiles A'-D'.

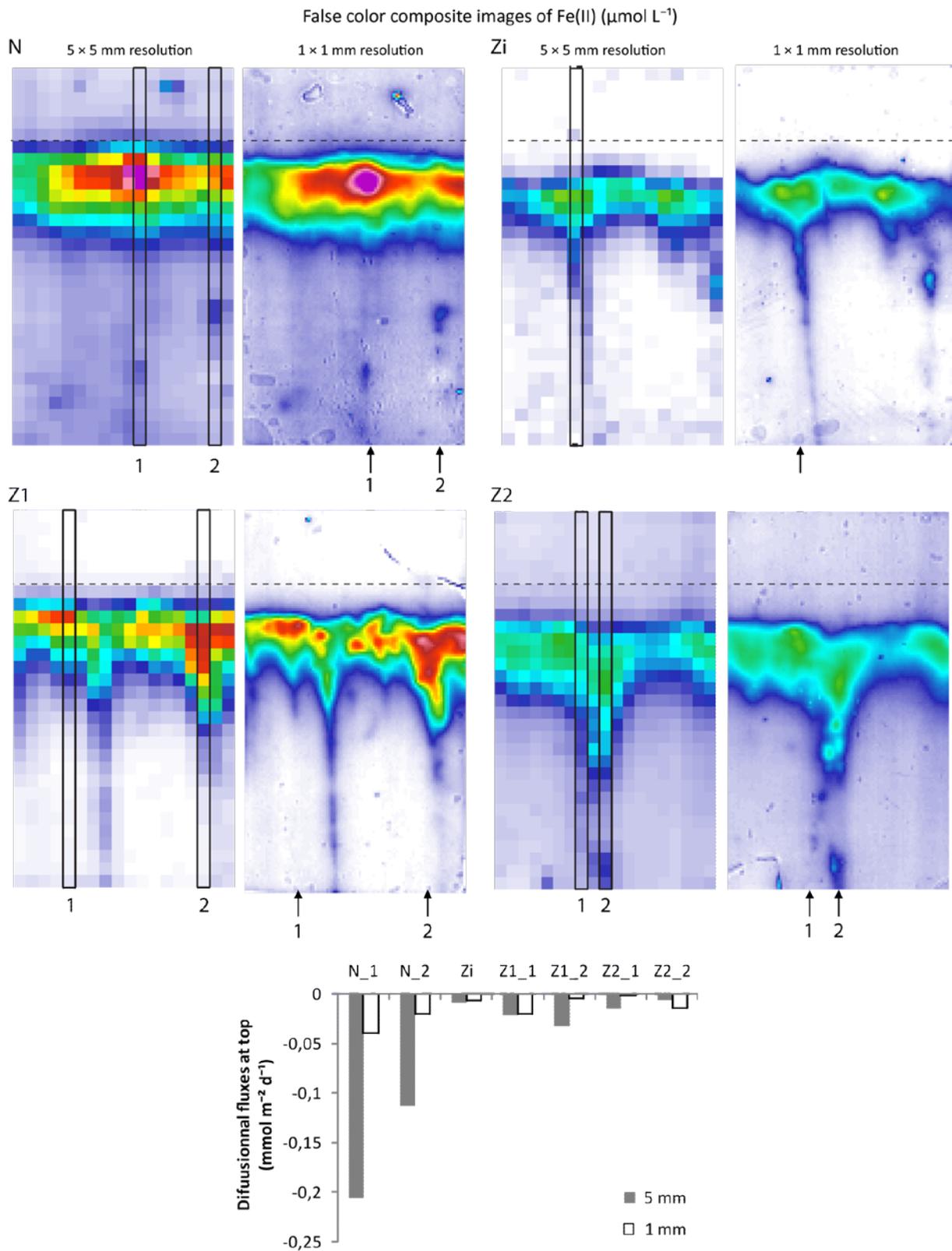


Figure 7: Dissolved iron diffusive fluxes across the sediment-water interface calculated from porewater concentrations of different resolution: 5x5 mm squares and 1x1 mm squares in sediment from the unvegetated part of the tidal mudflat (N), in a sediment moderately colonized by *Zostera noltei* (Zi) and from two sediments highly colonized by *Zostera noltei* (Z1 and Z2). Arrows and rectangle correspond to exact location of profiles A'-D'.

To investigate how resolution affects diffusive fluxes calculations, we applied to the iron profiles described above the numerical transport/reaction model developed by Berg *et al.* (1998) to calculate the depth-integrated production or consumption rates of sediment of each probe. Positive fluxes are directed towards sediment. The molecular diffusion coefficient in sediment (D_s) was assumed to be equal to $D_s = \frac{D_0}{(1+3(1-\phi))}$ (Rasmussen and Jørgensen 1992) where ϕ is the sediment porosity and D_0 is the molecular diffusion coefficient in water at 25°C. Because of the very low DRP concentrations we did not modeled DRP diffusive fluxes. Figure 7 shows iron diffusive fluxes with 2 different resolutions: 5×5 mm and 1×1 mm when dissolved iron concentrations are important. Diffusive fluxes reach their maxima in unvegetated sediment for all resolutions (Figure 7). Interestingly, the highest benthic diffusive flux is obtained from the 5×5 mm resolution (-0.21 and -0.11 mmol m⁻² d⁻¹ respectively for N_1 and N_2). Diffusive fluxes are in accordance with the steepest gradient observed at a resolution of 5×5 mm. This important benthic gradient is a consequence of the decrease of vertical resolution and shows how an inappropriate sampling generates a wrong interpretation of benthic processes. Overestimation can reach 5 times the diffusive flux using the appropriate resolution (profile N-1, Figure 7). The difference is due to the fact that the remobilization zone of iron is not located near the sediment water interface but below the oxic zone (1.8 and 3.3 mm in bare and vegetated sediment respectively; Delgard *et al.*, submitted a). These complex results suggest that a 1D model is not sufficient to precisely calculate benthic fluxes from 2D images and therefore to evaluate the representativeness of such calculations at different spatial scales.

4.3. Decoupled iron and phosphorous remobilization

Whether it is in vegetated or bare sediments, phosphorus remobilization occurs by very dense spots (Figures 1 and 4). These reactive hotspots are located either in iron-rich zones (*e.g.* in unvegetated sediments; Figure 1) or deeper in the sediment, in the sulfide rich zone (Figure 1 and 4). Figure 8 shows DRP concentrations *versus* dissolved iron for the entire probes N (bare sediment) and Z2 (densely vegetated sediment). It represents about 5 million points for each probe. The color scale represents the density of pixels for given concentrations. Probes N and Z2 are highlighted because of the occurrence of DRP remobilization hotspots.

For the probe inserted in bare sediment (N), iron and phosphorus seem to evolve generally independently. However it can be noticed that a non negligible amount of points evolve together following an approximate slope of 0.8. It corresponds to the shallower spot of DRP occurring in the iron rich layer. At a first glance, we could interpret it as the remobilization of adsorbed phosphorus while iron is dissolved. This hypothesis will be examined closely thereafter. Each vertical shape represents a different spot of phosphorus release disconnected from iron cycling. In vegetated sediment, three clear trends are visible: one for DRP concentrations rise, another one for dissolved iron concentration showing that DRP is mostly not related to iron cycling and a third where we can

observe that a certain amount of pixels draw a trend with the approximate slope of 0.1 corresponding to the main vertical structure affecting sulfide, iron and phosphorus behavior.

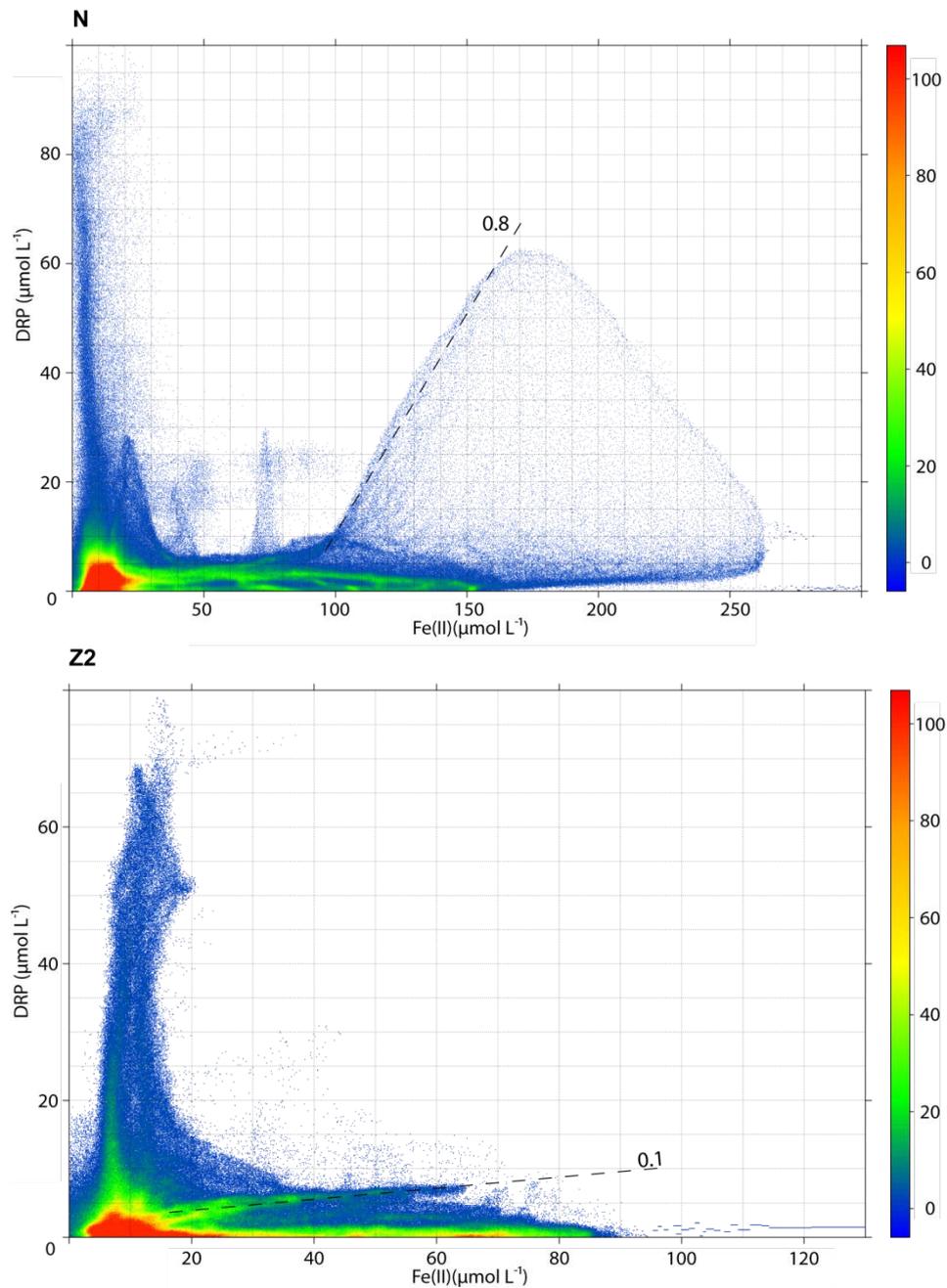


Figure 8: plot of dissolved iron (Fe(II)) versus reactive phosphorus (DRP) for the unvegetated sediments (N) and the vegetated sediments (Z2). Color range corresponds to density of pixels of 2D probe with Fe(II) and DRP value.

In order to go further, we divided our images to investigate the dissolved iron and DRP interactions in spot areas and to understand their possible decoupling (Figure 9). Three spots were defined from the unvegetated sediment image (N_1 – N_3) and two from the high vegetated sediment one (Z2-1 and Z2-2). Data enclosed in these areas were again plotted as DRP *versus* Fe graphics. The software ENVI® allows to select smaller areas from the image and to plot the data from enclosed pixels in

order to highlight zones in the sediment (*i.e.* from the image) where a correlation between iron and phosphorus could be found.

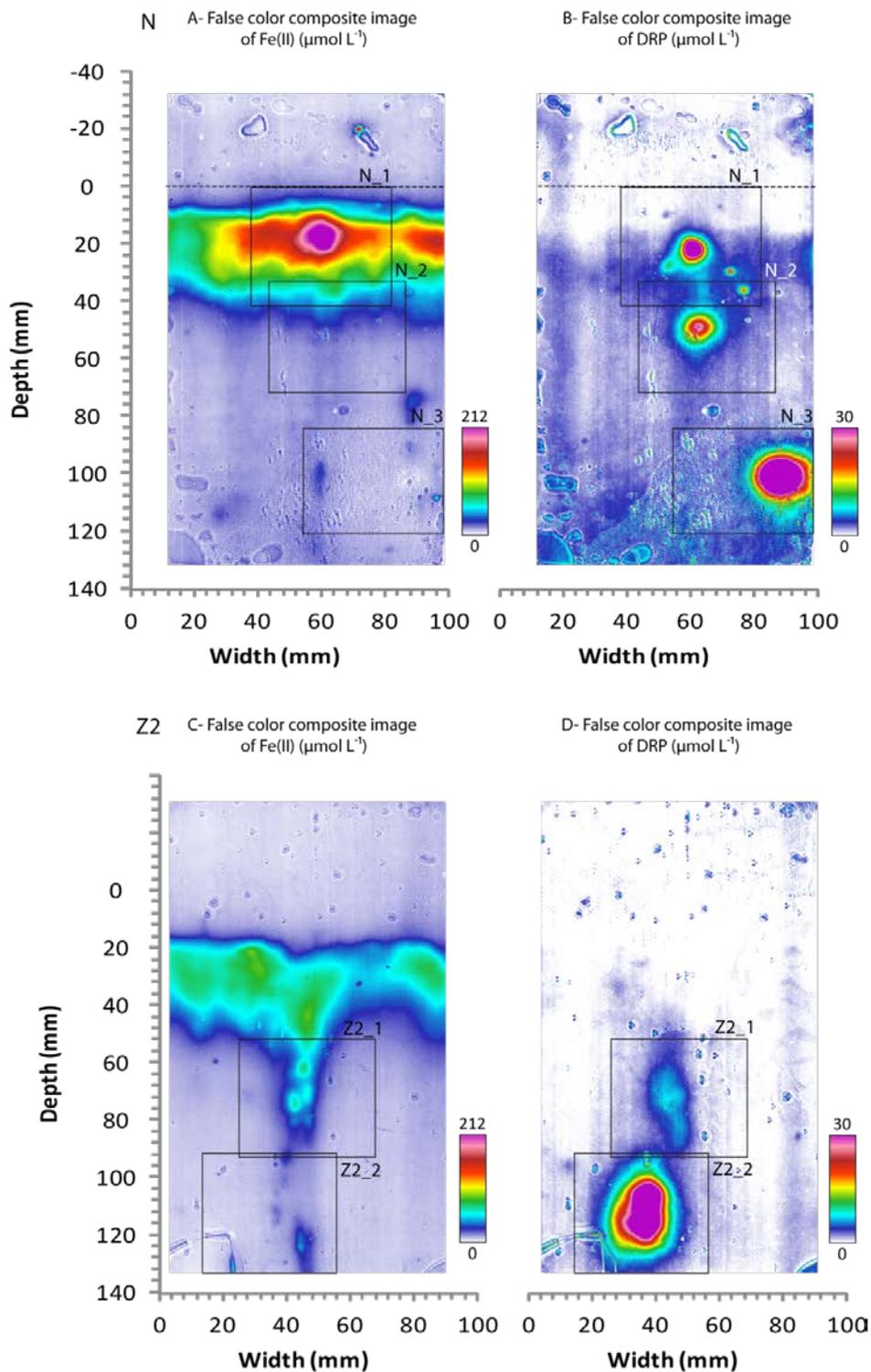


Figure 9: Dissolved iron and DRP distribution in porewaters of sediment in (N) unvegetated sediments and (Z2) dense *Zostera noltei* seagrass meadow. (A and C) False color composite image of DET probe for dissolved iron, ranged between 0 and 212 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (B and D) False color composite image of DET probe for DRP, ranged between 0 and 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Black frames correspond to the area studied to their high DRP concentrations.

Figure 10 shows the plot obtained from the shallower hotspot visible in the image obtained in the unvegetated sediment (N_1). From this spot, four different zones were distinguished: (1) when DRP and dissolved iron increase together with a slope of about 0.5; (2) only dissolved iron increases and DRP is quite stable between 0 and 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$; (3) DRP and dissolved iron show intermediate values between the two identified main slopes; (4) two small spots (about 3 mm in diameter) characterized by a rise of DRP and no variation of dissolved iron.

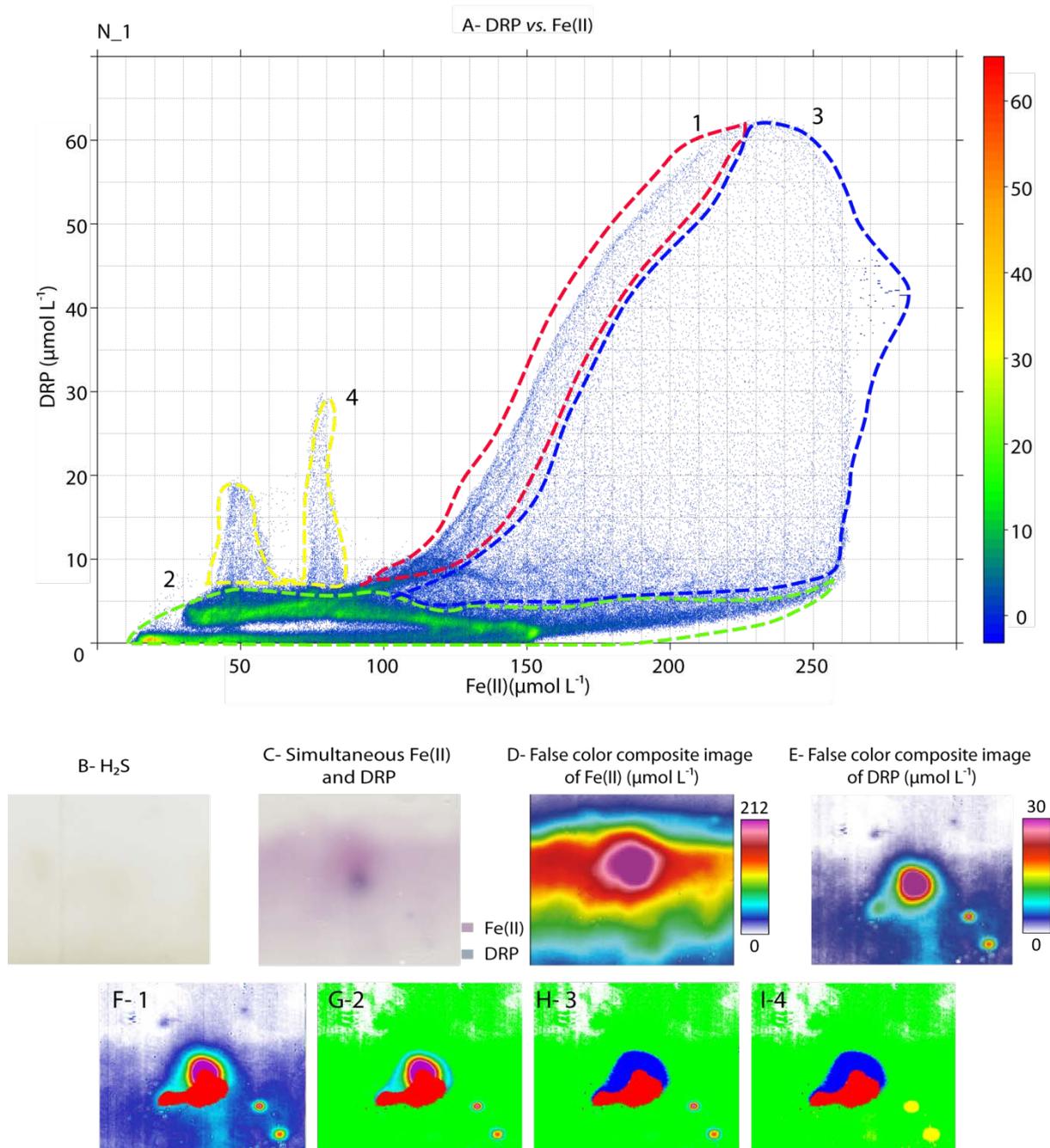


Figure 10: Reactive hotspot showing a release of iron and phosphorus to the dissolved phase for the first spot in unvegetated sediment (N_1). (A) DRP versus Fe(II); (B) visible image of DGT; (C) gel after colorimetric reaction; (D) false color composite image of Fe(II); (E) false color composite image of DRP; (F to I) selected zones after the DRP versus Fe(II) plot.

To better examine the relationship between dissolved iron and phosphorous, two profiles obtained from vertical and horizontal axes were performed across the main structure (Figure 11). Figure 11A shows two parts of images to observe simultaneously Fe(II) and DRP. The horizontal profile shows the correspondence of position of iron and phosphorus maxima while sulfide seems to evolve independently. The vertical profile shows a quite more complex interplay where iron maximum is above phosphorus peak which corresponds in position to a maximum of sulfide. This DRP spot from unvegetated sediments located in the iron-rich zone (Figures 10 and 11) shows an iron oxide influence with sulfide control. Indeed dissolved iron and DRP come from reductive iron oxide dissolution. As explained before, organic matter mineralization induces reduction of the iron oxides, which may release high loads of dissolved iron and adsorbed DRP. However the analysis of the 2D distribution (Figure 11) seems to show two different trends: dissolved iron can be trapped by sulfide deeper in the sediment whereas DRP can spread into depth. At the top, dissolved iron can be oxidized by oxygen, nitrate and manganese oxides (Van Cappellen and Wang, 1996) and DRP can be adsorbed by iron oxyhydroxides. DRP and sulfide vertical profiles seem to indicate that DRP is associated with sulfide in link to decomposition of organic matter (Figure 11C). Sulfate reduction enhances phosphorus release from sediments by enhancing decomposition of organic matter in sediments due to faunal excretion or decay of a dead organism, thus releasing phosphorus bound in organic matter (Caraco *et al.* 1993). Furthermore, sulfide and dissolved iron profiles (Figure 11C) could illustrate reoxidation of sulfide by iron oxides as described for example (Dos Santos Afonso and Stumm, 1992). Sulfide and iron oxides could react together to release dissolved iron according to equation 1.



Below the dissolved iron zone appear two other DRP spots (Figures 12 and 13, labeled N_2 and N_3 in Figure 9). At first when dissolved iron and DRP are plotted, the spot of unvegetated sediment, located at the bottom of the iron-rich layer (N_2), shows three different trends: 1) a DRP increase with a dissolved iron concentration ranging between 20 and 38 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Figure 12F), 2) a dissolved iron concentrations rise with a constant DRP concentrations around 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Figure 12G) and 3) both low DRP and dissolved iron concentrations (Figure 12H). Thus dissolved iron decreases gradually with sulfide rising while the DRP spot seems associated to sulfide enrichment (Figure 12B). Phosphorus bound in organic matter can be released by enhancing decomposition of organic matter in sediments due to faunal excretion or decay of a dead organism (Caraco *et al.* 1993). Finally, the same trend is observed at the bottom of the image (N_3) where high DRP concentrations correspond to another sulfide hotspot and to very low values of dissolved iron concentration (Figure 13).

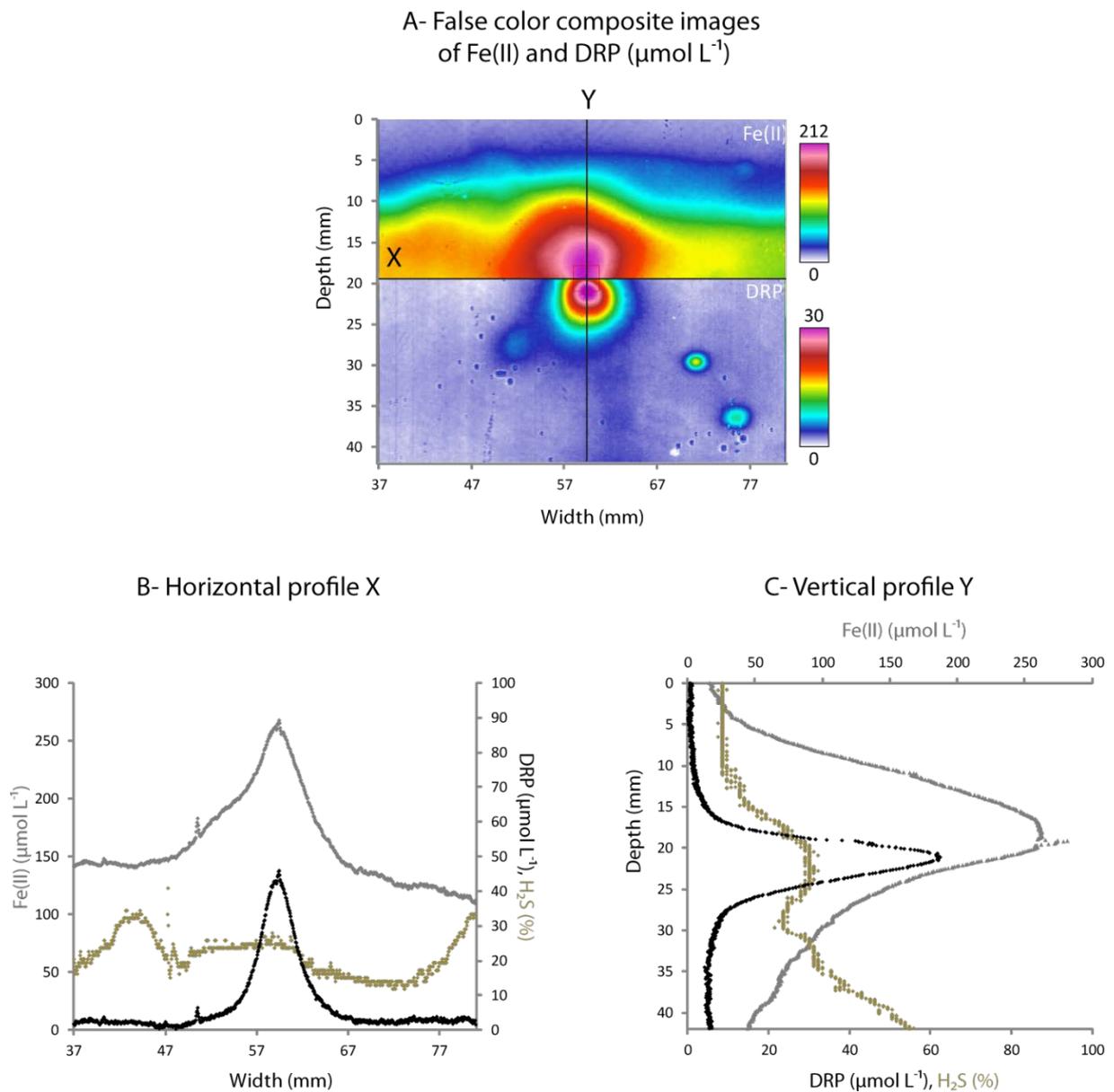


Figure 11: (A) False color composite image of DET probe for dissolved iron, ranged between 0 and $212 \mu\text{mol L}^{-1}$ (top part of the image) and for DRP, ranged between 0 and $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ (bottom of the image) of sediment in unvegetated sediments with (X) horizontal profile and (Y) vertical profile for dissolved iron, DRP and H_2S distribution. (B) Horizontal profile and (C) vertical profile, the grey coloration corresponds to dissolved iron concentration and the black coloration corresponds to DRP concentration lying on the background. Brown lines correspond to the sulfide distribution in percentage based on the intensity of PVC film colored zones (blue contribution).

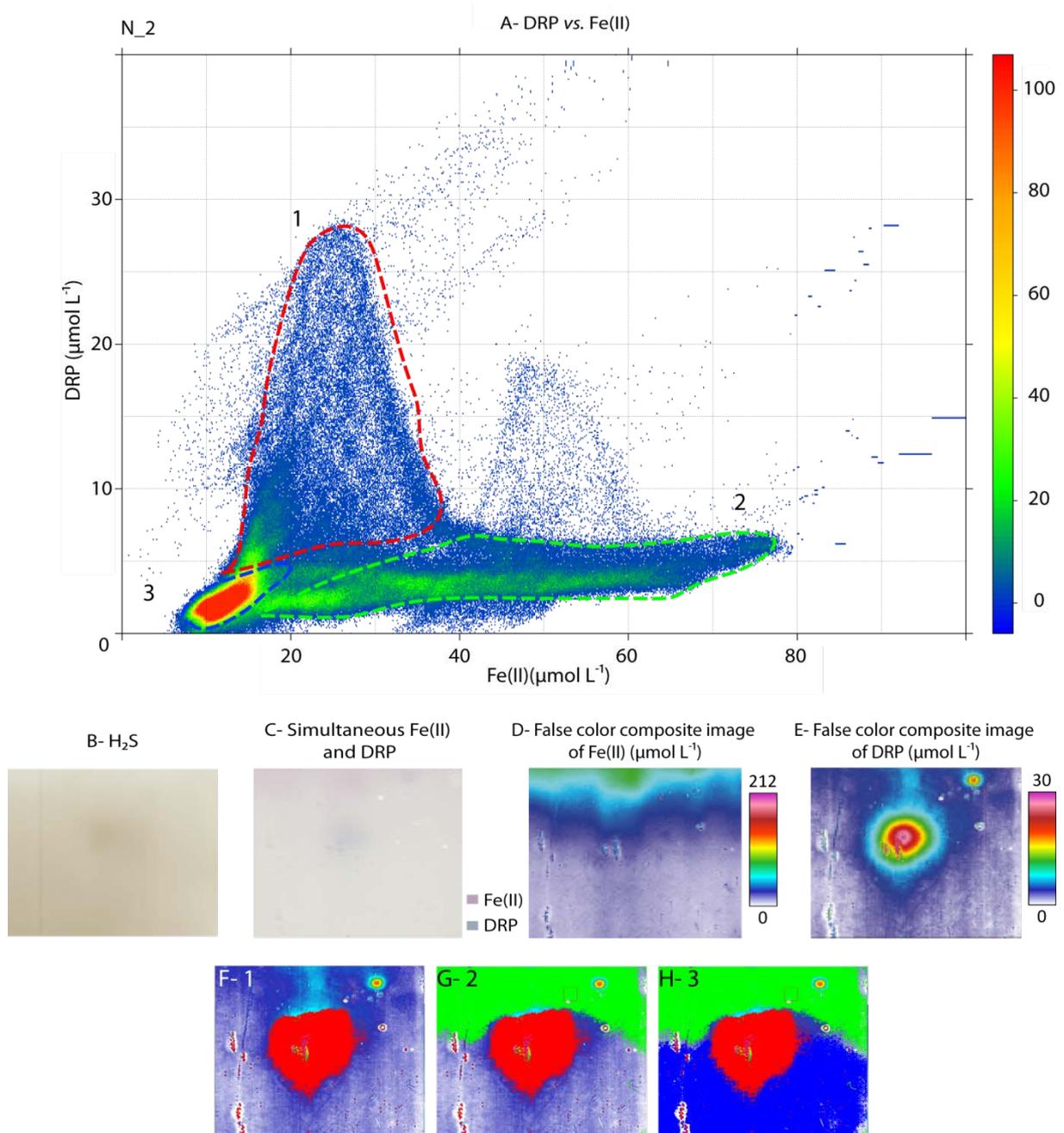


Figure 12: Reactive hotspot showing a release of iron and phosphorus to the dissolved phase for the second spot in unvegetated sediment (N₂). (A) DRP versus Fe(II); (B) visible image of DGT; (C) gel after colorimetric reaction; (D) false color composite image of Fe(II); (E) false color composite image of DRP; (F to H) selected zones after the DRP versus Fe(II) plot.

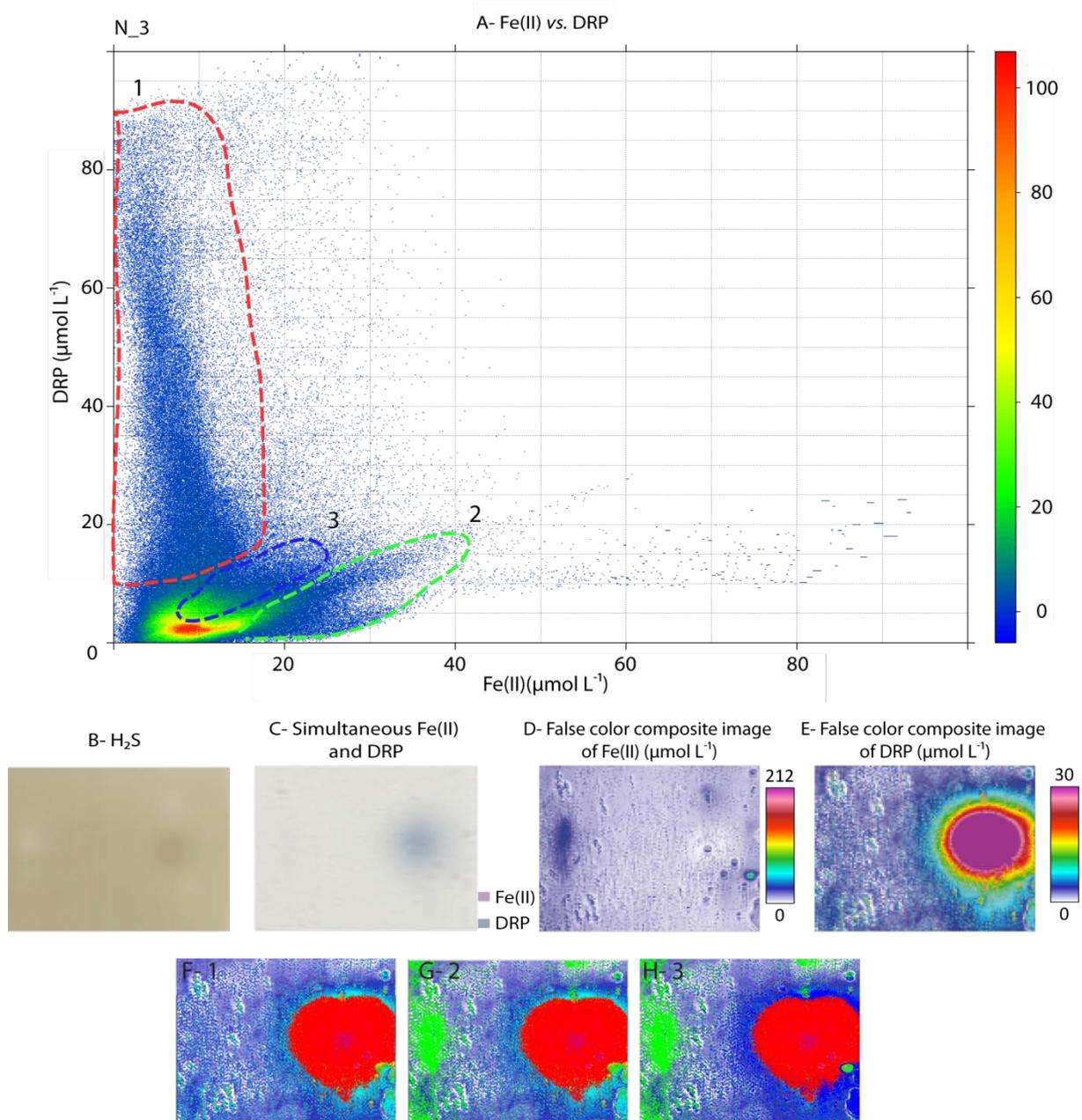


Figure 13: Reactive hotspot showing a release of iron and phosphorus to the dissolved phase for the third spot in unvegetated sediment (N_2). (A) DRP *versus* Fe(II); (B) visible image of DGT; (C) gel after colorimetric reaction; (D) false color composite image of Fe(II); (E) false color composite image of DRP; (F to H) selected zones after the DRP *versus* Fe(II) plot.

In high vegetated sediments, no DRP spots are observed within the iron-rich layer (Figure 9). However, DRP enriched spots can be observed within vertical structures enriched with iron. The first spot (labeled Z2_1 in Figure 9) shows three main trends when DRP concentrations *versus* dissolved iron is shown (Figure 14). In figure 14A, number 1, DRP and dissolved iron concentrations increase together with a 4.5 Fe/P ratio. To describe the interplay between iron, phosphorus and sulfur within the vertical structure (red area in Figure 14F), two vertical and two horizontal profiles were drawn (Figure 15). DRP and dissolved iron distributions appear quite similar. Unlike to spots observed within

bare sediments (Figure 11), here sulfide shows an opposite trend to DRP and dissolved iron that evolve together (Figure 15).

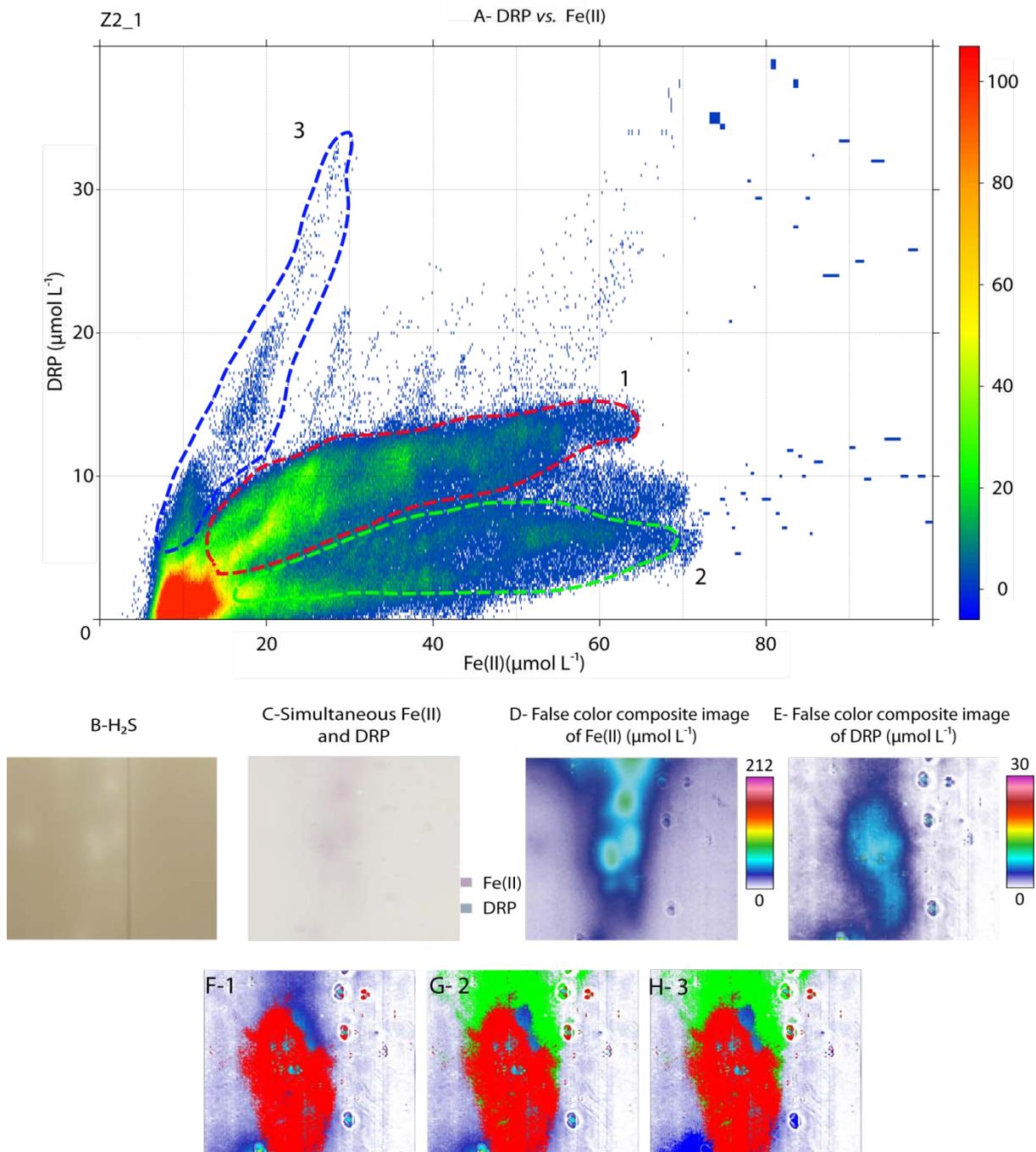


Figure 14: Reactive hotspot showing a release of iron and phosphorus to the dissolved phase for the first spot in dense *Zostera noltei* seagrass meadow (Z2_1). Upper panel: DRP versus Fe(II); Lower panel: (A) visible image of DGT; (B) gel after colorimetric reaction; (C) false color composite image of Fe(II); (D) false color composite image of DRP; (E to G) selected zones after the DRP versus Fe(II) plot.

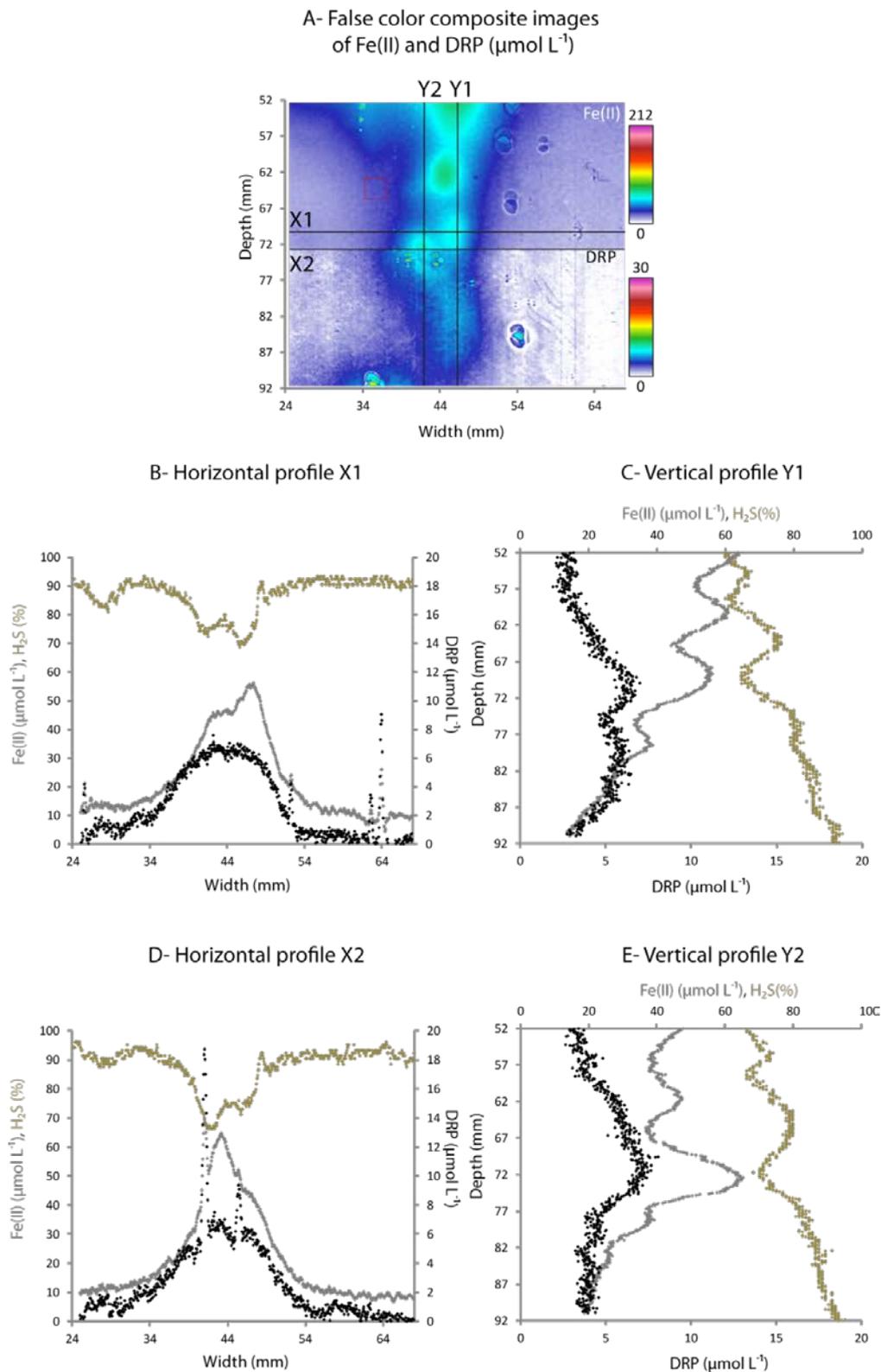
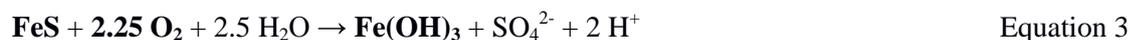
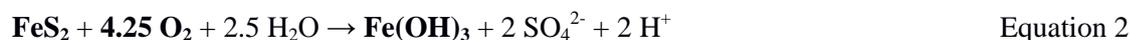


Figure 15: (A) False color composite image of DET probe for dissolved iron, ranged between 0 and $212 \mu\text{mol L}^{-1}$ (top part of the image) and for DRP, ranged between 0 and $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ (bottom of the image) of sediment in the first spot in dense *Zostera noltei* seagrass meadow (Z2_1) with (X1 and X2) horizontal profiles and (Y1 and Y2) vertical profiles for dissolved iron, DRP and H_2S distribution. (B to D) horizontal and vertical profiles where the grey coloration corresponds to dissolved iron concentration and the black coloration corresponds to DRP concentration lying on the background. Brown lines correspond to the sulfide distribution in percentage based on the intensity of PVC film colored zones (blue contribution).

This structure may be the consequence of local and variable oxygenation of the sediment by the root system, which could be considered as a detoxification strategy against hydrogen sulfide (Frederiksen and Glud, 2006; Delgard *et al.* 2012; Brodersen *et al.* 2015). While the root was active and oxygen penetrated within the deepest part of sediment, FeS_x from the surrounding anoxic environment could be oxidized generating a local enrichment of Fe(OH)_3 following the equation 2 and 3:



The source of reduced iron and sulfur that generates iron sulfide minerals is mainly the anaerobic mineralization of organic matter. A byproduct of this mineralization being DRP, the anoxic sediment releases phosphorous that can diffuse towards the root and a part of this can be trapped in the iron oxides resulting to an enrichment of phosphorous. Once the oxygen transport stopped, dissolved sulfide released by still ongoing sulfate reduction could reduce this iron oxides generating a release of simultaneous Fe^{2+} (Equation 1) and adsorbed phosphorus (Jensen *et al.* 1995; Anschutz *et al.* 1998, 2007). Moreover, this structure generates a release of iron and phosphorus following a rough ratio about 4.5 while the release of phosphorus in the bare sediment located within the enriched dissolved iron layer (figure 10A) generated a Fe:P ratio of about 1.9. Such difference seems to confirm a single source of P for the inactive root (*i.e.* phosphorus desorption associated to iron oxide reduction) while in the bare sediment there was a double source of phosphorus (iron oxides and organic matter).

As an extension of the dissolved iron structure, two DRP enriched zones were distinguished at the deepest part of vegetated sediment (Figures 16A): the first corresponds to the bottom of the iron enriched vertical structure and the second is located just below and do not correspond to an enrichment of iron. Figure 17 shows two perpendicular profiles of dissolved iron, phosphorus and sulfide made through this DRP hotspot. This DRP hotspot seems associated with sulfide as already described in unvegetated sediment. Despite the lack of a sulfide peak (the PVC tape being probably saturated), phosphorus here seems to be organic and its release caused by sulfate reduction (Caraco *et al.* 1993).

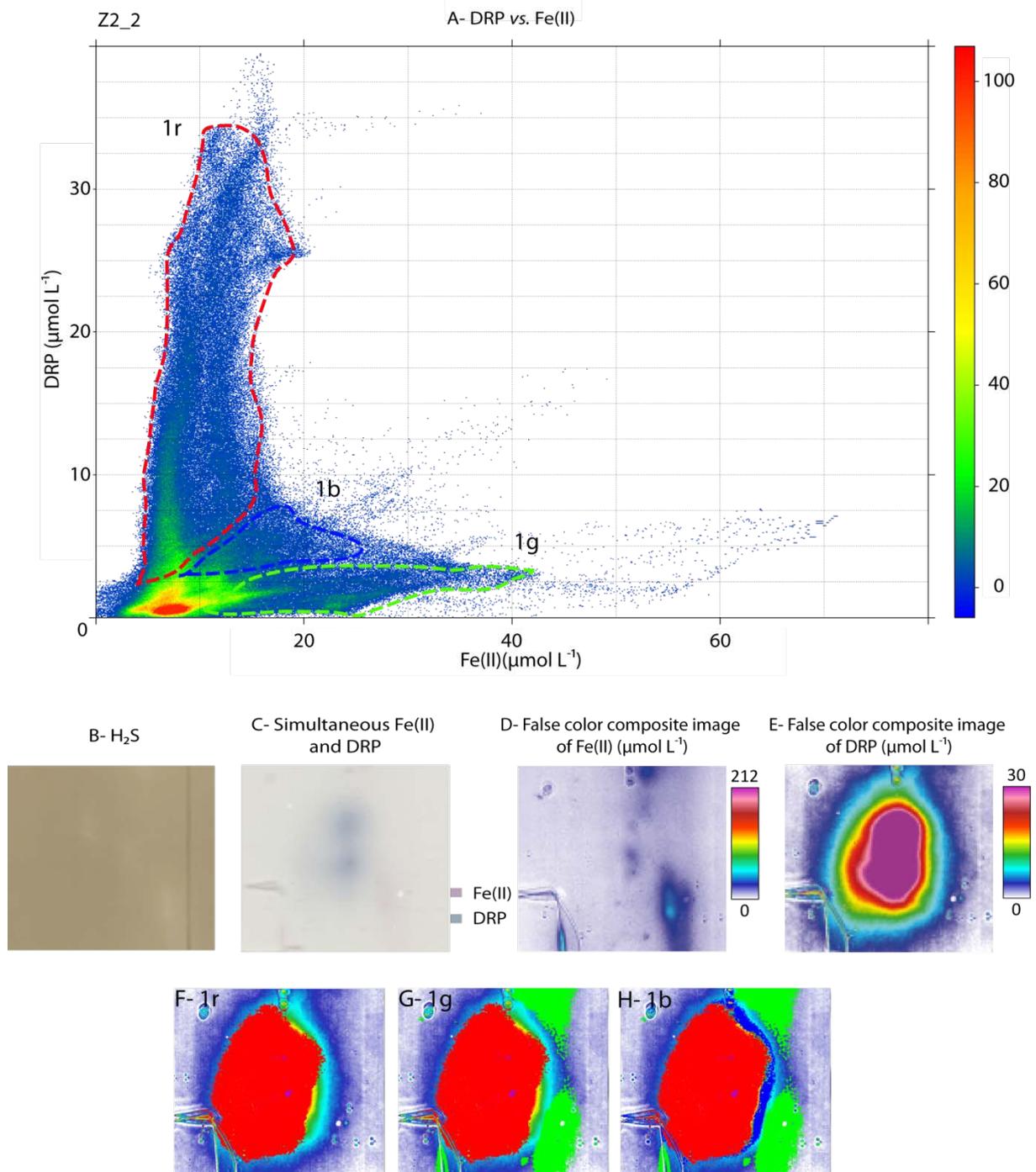


Figure 16: Reactive hotspot showing a release of iron and phosphorus to the dissolved phase for the second spot in dense *Zostera noltei* seagrass meadow (Z2_2). (A) DRP versus Fe(II); (B) visible image of DGT ; (B) gel after colorimetric reaction; (D) false color composite image of Fe(II); (E) false color composite image of DRP; (F to H) selected zones after the DRP versus Fe(II) plot.

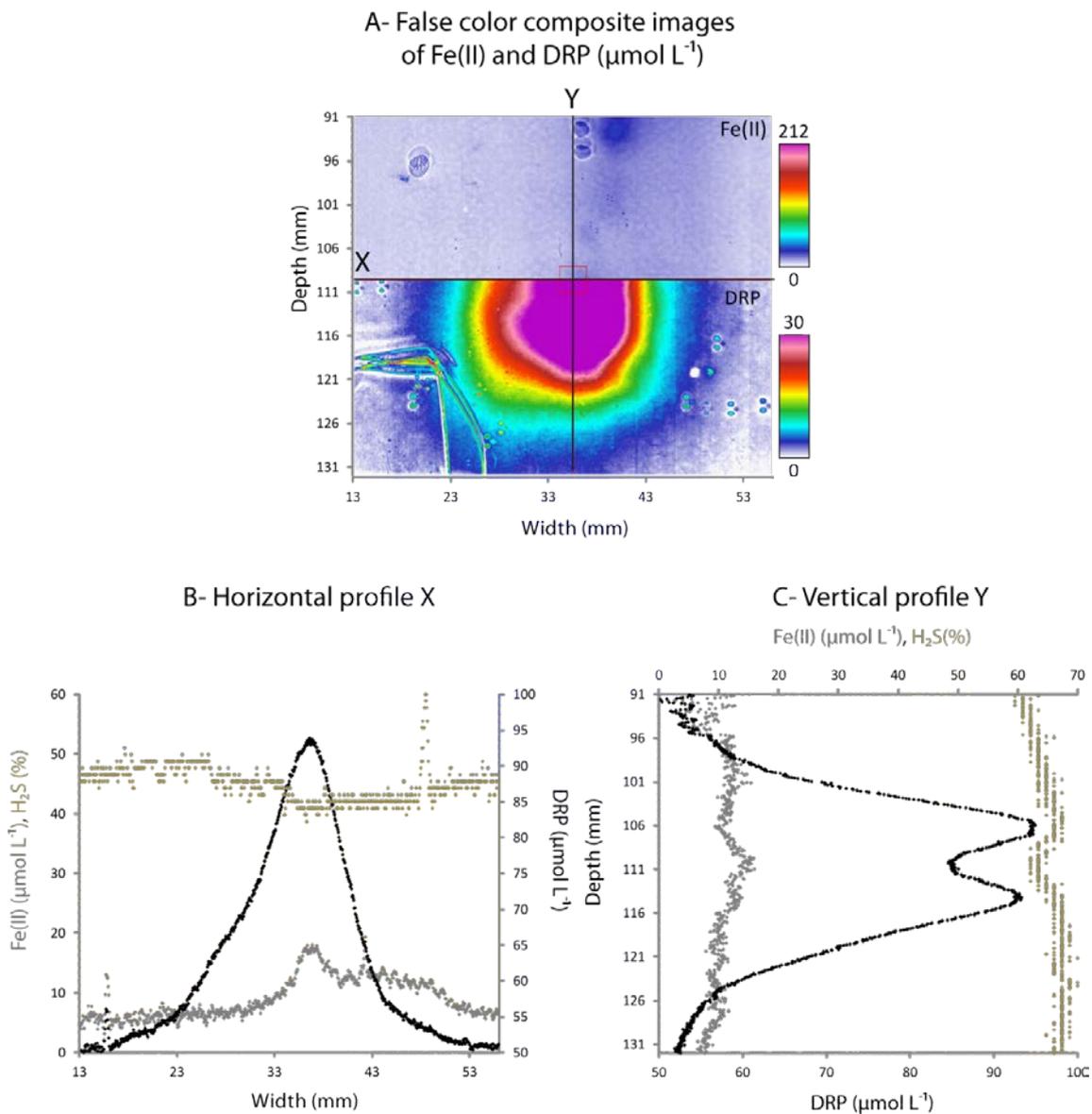


Figure 17: False color composite image of DET probe for dissolved iron, ranged between 0 and 212 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (top part of the image) and for DRP, ranged between 0 and 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (bottom of the image) of sediment in the second spot in dense *Zostera noltei* seagrass meadow (Z2_2) with (X) horizontal profile and (Y) vertical profile for dissolved iron, DRP and H₂S distribution. (B) Horizontal profile and (C) vertical profile, the grey coloration corresponds to dissolved iron concentration and the black coloration corresponds to DRP concentration lying on the background. Brown lines correspond to the sulfide distribution in percentage based on the intensity of PVC film colored zones (blue contribution).

5. CONCLUSION

Different root densities were studied in Arcachon Bay to investigate the influence of eelgrass on iron and phosphorous remobilization during a period of high meadow development. The 2D probes allow to distinguish four major differences between vegetated and bare sediments (Figure 18). In the case of vegetated sediment: 1) iron release occurs deeper while its reprecipitation as iron sulfides occurs shallower inducing the slimming of the dissolved iron rich layer, 2) almost no DRP is detected in the whole probe (until 14 cm depth), 3) sulfide rise is shallower and its gradients is steeper and 4) lateral

heterogeneity is more important allowing iron to be seen very deep in the anoxic sediment generating sulfide depleted zones. In any case, phosphorus remobilization occurs mostly by very dense but scattered spots. These reactive hotspots are located either in iron-rich zones or in the deepest part of the sediment dominated by sulfate reduction. High resolution analysis from each hotspot revealed that DRP seems controlled 1) by iron (III) particles reduction and 2) mainly by sulfate reduction (Figure 18). In bare sediments, the hotspot within iron-rich zone, Fe: P ratio indicates a double source of phosphorus: iron oxyhydroxydes and organic matter (OM) (Figure 18). In the deepest part of these sediments, DRP results only from sulfate reduction probably due to decay of a dead organism or fecal pellet (Figure 18). In vegetated sediments, the same sulfate reduction source is observed in the deepest part of sediments (Figure 18). In vertical dissolved iron structure, DRP is desorbed from iron oxides. Finally in these sediments, in consequence of phosphorus recycling through *Zostera noltei* rhizosphere, DRP does not appear in the iron-rich layer (Figure 18).

Furthermore the patchy distribution of DRP and the high lateral heterogeneity of iron gradients close to the SWI weaken 1D modeling approaches to evaluate DRP fluxes. 2D models will be required to examine representativeness of benthic fluxes derived from such probes. Moreover, a millimetric resolution of dissolved iron distribution seems to be important to reevaluate representativeness of benthic fluxes derived from data obtained with traditional sampling. It is also necessary to investigate the particulate phase to identify the biogenic structures generating hotspots and to better understand interactions between dissolved phases and organic and inorganic particulate phases.

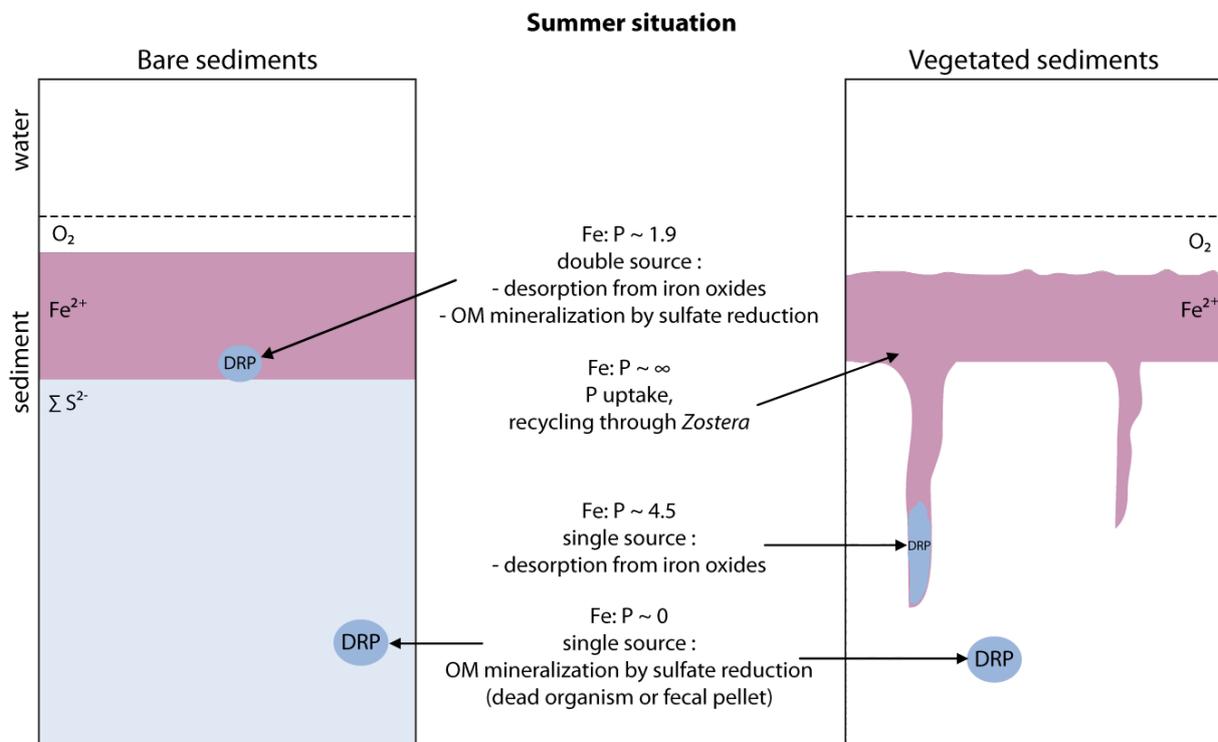


Figure 18: Schematic dissolved iron and DRP distributions in porewaters in bare and vegetated sediments and main conclusions. OM corresponds to organic matter.

Acknowledgements

This study was supported by ANR IZOFLUX. The authors thank Stéphane Bujan, Pascal Lebleu (EPOC, University of Bordeaux) and Martin Plus (IFREMER) who gave their time and provided boat assistance during the field experiments. The authors also would thank the Station marine of Arcachon for logistical and technical support and the friendly welcome. The HySpex camera was provided by the CPER.

CHAPITRE 5

Développements méthodologiques pour l'étude de la biogéochimie et l'écologie benthique : bilan des défis technologiques initiés au cours de cette thèse

Développements méthodologiques pour l'étude de la biogéochimie et l'écologie benthique : bilan des défis technologiques initiés au cours de cette thèse

1. INTRODUCTION

De part la présence du système racinaire de l'herbier dans les sédiments, des pertes radiales d'oxygène sont parfois observées depuis les jeunes racines vers le sédiment témoignant d'un excès d'oxygène transporté par rapport à la demande respiratoire des racines (Pedersen *et al.* 1998 ; Connell *et al.* 1999 ; Jensen *et al.* 2005 ; Frederiksen and Glud 2006). Il peut alors se créer des micro-niches oxygénées autour de l'apex de la racine modifiant localement les conditions d'oxydoréduction et affectant la dynamique du fer, du soufre et indirectement du phosphate (comme nous avons pu le montrer dans les chapitres 3 et 4) et de l'azote dans le sédiment (Isaksen and Finster, 1996 ; Jonkers *et al.* 2000 ; Welsh, 2000 ; Hebert and Morse, 2003 ; Sundby *et al.* 2003 ; Cesbron *et al.* 2014). De plus, la présence de l'herbier agit également sur la matière organique par le piégeage de seston par les feuilles (Ward *et al.* 1984 ; Wilkie *et al.* 2012) et par la décomposition de phytosynthétats exsudés par les racines ou les tissus sénescents de la plante (Moriarty *et al.* 1985 ; Kaldy *et al.* 2006). Cette matière organique va ainsi favoriser la création de microenvironnements préférentiels pour la faune benthique. La compréhension de ces microenvironnements autour des racines des herbiers de *Zostera noltei* est l'objectif principal de cette thèse. Afin d'étudier la distribution de la méiofaune en lien avec son environnement, différentes méthodologies ont été mises en œuvre favorisant les approches à hautes résolutions et en 2D. Les méthodologies décrites dans ce chapitre présentent en grande partie des résultats préliminaires dont le développement doit encore être approfondi.

S'intéressant aux herbiers ainsi qu'aux faunes de foraminifères benthiques, il s'est avéré primordial d'approfondir nos connaissances de l'environnement par l'étude des espèces dissoutes azotées. En effet, d'une part les herbiers utilisent les nutriments du milieu pour leur croissance (Duarte 1990 ; Romero *et al.* 2006) que ce soit le phosphate comme nous l'avons présenté dans les chapitres 3 et 4 mais également l'ammonium et les nitrates. De plus des études récentes ont mis en avant la capacité à dénitrifier que possédaient certaines espèces de foraminifères benthique (Risgaard-Petersen *et al.* 2006 ; Høglund *et al.* 2008 ; Pina-Ochoa *et al.* 2010a ; Bernhard *et al.* 2012 ; Nomaki *et al.* 2014). Pour étudier ces espèces azotées nous avons déclinée le couplage gel/colorimétrie afin d'étudier la distribution en 2D de nitrite (NO_2^-), de nitrate (NO_3^-) et d'ammonium (NH_4^+). Cependant la littérature portant sur le Bassin d'Arcachon a montré une très faible quantité de nitrates détectables dans les sédiments à l'aide des techniques traditionnelles de découpe de carotte, en raison de leur confinement dans les 5 premiers mm sous l'interface eau-sédiment (Delgard *et al.* submitted b). Pour cette raison l'étude des phosphates et du fer dissous avait été privilégiée au début de cette thèse. Dans un deuxième

temps, pour mieux comprendre ces environnements et notamment la distribution des espèces chimiques dissoutes, une caractérisation de la phase solide du sédiment a été réalisée. L'étude de la phase solide des sédiments est complémentaire à l'étude de la phase dissoute car elle est constituée en partie de composés pouvant être les oxydants de la matière organique lors de la diagenèse précoce (*i.e.* oxydes de fer, oxydes de manganèse). De plus, une analyse de la phase solide du sédiment permet d'étudier l'influence de la bioturbation (herbiers, macrofaune) sur la phase dissoute. Pour cela nous avons prélevé le sédiment en vis-à-vis du gel 2D, sous forme d'une tranche de 2 cm d'épaisseur et de dimensions (12×18 cm) un peu supérieures à celles du gel. A partir de cette tranche de sédiment, nous avons réalisé une analyse de la phase solide par microfluorescence X afin de quantifier différents éléments chimiques en 2D (Al, As, Br, Ca, Fe, K, Mn, P, Pb, Rb, S, Si, Sr, Ti, V, Zn, Zr).

Dans un troisième temps et afin d'analyser en 2D ou 3D les zones à fortes densités de foraminifères benthiques et les structures biologiques et sédimentaires pour l'observation d'une possible distribution préférentielle des foraminifères au niveau de ces structures, deux techniques ont été mises en place. Tout d'abord, une technique d'imagerie haute résolution en 3D utilisant la microtomographie axiale à rayons X a été examinée à partir d'un bloc de sédiment enrésiné afin d'observer les distributions des foraminifères benthiques sans dénaturer le sédiment. Enfin, un sous-échantillonnage de portions de 1cm³ de la tranche de sédiment en vis-à-vis du gel 2D a été réalisé en collaboration avec Aubin Thibault de Chanvalon dans le cadre de ses travaux de thèse. Cette dernière méthode présente l'avantage d'étudier conjointement et en 2D la phase dissoute et les foraminifères benthiques.

2. IMAGERIE PAR SPECTROPHOTOMETRIE COUPLEE A LA TECHNIQUE DE GEL DET

L'étude de la distribution en 2D de composés dissous des eaux porales par la méthode de gels DET couplée à une analyse densitométrique a été proposée il y a quelques années par plusieurs auteurs (Jézéquel *et al.* 2007 ; Robertson *et al.* 2008). Cette méthode est basée sur la réaction entre un gel dit « échantillon » déployé dans les sédiments et un gel réactif équilibré préalablement avec un réactif colorimétrique tel que de la Ferrozine pour l'analyse du fer dissous, ou un réactif à base molybdate pour les orthophosphates. Une fois le contact entre les deux gels effectué, la réaction a lieu par diffusion et une coloration apparaît lorsque l'espèce chimique est présente sur le gel échantillon. A ce jour cette méthodologie a été utilisée pour les analyses du fer dissous et des phosphates (Jézéquel *et al.* 2007 ; Robertson *et al.* 2008 ; Pagès *et al.* 2011, 2012 ; Cesbron *et al.* 2014 ; Thibault de Chanvalon *et al.* in prep.) ainsi que pour l'alcalinité (Bennett *et al.* 2015). Cependant aucune étude à haute résolution et en 2D n'a jusqu'alors été effectuée sur les espèces azotées (NO₃⁻, NO₂⁻ et NH₄⁺). Pourtant comprendre la dynamique des espèces azotées s'avère fondamentale et notamment 1) dans l'étude de la dynamique des herbiers qui utilisent ces nutriments pour leur croissance (Duarte, 1990 ; Romero *et al.* 2006) et 2) dans l'étude des microhabitats de foraminifères benthiques dont la capacité à dénitrifier

que possèdent certaines espèces et qui a été récemment démontrée par Risgaard-Petersen *et al.* 2006, Høgslund *et al.* 2008, Pina-Ochoa *et al.* 2010a, Bernhard *et al.* 2012 et Nomaki *et al.* 2014. Cependant vouloir transposer aux gels DET 2D les méthodes d'analyses des espèces azotées existantes pour des échantillons en solution (*e.g.* eaux porales obtenues pas centrifugation) peut s'avérer complexe. En effet, dans la littérature par exemple la détermination colorimétrique de l'espèce nitrate passe par une phase de réduction en nitrite sur colonne de grains de cadmium car les réactifs colorimétriques sont sensibles à l'espèce nitrite (Wood *et al.* 1967). L'utilisation d'un réactif sous forme solide compliquerait fortement la préparation du gel réactif et la technique de diffusion initiale. Dans ce cas particulier, la diffusion aurait lieu du nitrate vers le gel réactif contenant le solide « immobile ». Nous avons ainsi testé une méthodologie nouvellement publiée par García-Robledo *et al.* (2014) et Schnetger et Lehnert (2014) utilisant un réactif contenant une solution de chlorure de vanadium. En ce qui concerne l'ammonium, une contrainte existe quant à la composition des gels de polyacrylamide. En effet, une amine rentre dans la combinaison de l'acrylamide ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$). Par conséquent afin d'éviter des « faux positifs » sur notre gel, il est nécessaire d'utiliser un gel d'une autre composition tel qu'un gel d'agarose.

2.1. Protocole pour l'analyse du nitrate et du nitrite

Classiquement l'analyse colorimétrique du nitrate et du nitrite procède en deux étapes : dans un premier temps seul le nitrite est dosé, puis la somme nitrite + nitrate après réduction de ce dernier (*e.g.* en injection à flux continu par les méthodes de Wood *et al.* (1967) et Anderson (1979) ou en microcolorimétrie à flux segmenté tels que l'Axflow Quattro). La concentration de nitrate est obtenue par différence. Les premiers essais sur gels en 2D, dont une partie est présentée dans ce chapitre, ont abouti à des résultats préliminaires satisfaisants. Une publication sur la méthodologie couplant DET et imagerie simultanée de nitrite et nitrate est en cours de préparation.

Le principe de l'analyse du nitrite consiste à faire réagir ce dernier en milieu acide avec de la sulfanilamide (R1). Il se forme alors un sel de diazonium (cation formé de deux atomes d'azotes en position terminale d'une molécule). Ce sel réagit alors avec une solution de N-1-naphthylethylenediamine dihydrochlorure (R2) pour donner une coloration rose. Selon l'intensité du rose, il est possible de déterminer la concentration de l'échantillon en nitrite (Grasshoff *et al.* 1983).

Le nitrate est réduit par une adjonction de chlorure de vanadium dans le mélange réactif (García-Robledo *et al.* 2014 ; Schnetger et Lehnert, 2014). La cinétique de la réaction est très lente comparativement aux chimies habituelles (environ 10-12h) mais peut être accélérée en augmentant la température (45-80°C). L'avantage de l'utilisation du chlorure de vanadium (VCl_3) comme réducteur à la place du cadmium réside dans le fait que seuls des réactifs en solution sont utilisés, ce qui permet une possible transposition aux techniques sur gel. Son principal inconvénient reste la cinétique de la réaction, qui est très lente à température ambiante. Comme dit précédemment, la réduction est

réalisée plus rapidement à des températures plus élevées, mais pour les gels cela peut induire un problème de relaxation des gradients chimiques par diffusion et de dessiccation du gel.

2.2. Protocole pour l'analyse de l'ammonium

Le protocole d'analyse de l'ammonium est basé sur le kit Merck (référence : 1.14752.0001). Les indications sur les concentrations de chaque réactif ont été trouvées conjointement dans la fiche de données de sécurité du kit et dans les publications suivantes : Fawcett and Scott (1960), Emmet (1968), Patton et Crouch (1977). Le premier réactif utilisé est la soude permettant l'augmentation du pH jusqu'à 13 afin de transformer les ions NH_4^+ en NH_3 . Par la suite, l'ajout d'hypochlorite (NaOCl) permet de former après réaction avec l'ammoniaque de la monochloramine (NH_2Cl). Cette dernière réagit avec un phénol (ici du thymol dissous dans du méthanol) pour former un complexe bleuté. L'ajout de nitroprussiate de sodium permet de catalyser la réaction entre NH_2Cl et le thymol. La couleur jaune du nitroprussiate de sodium en milieu alcalin associé aux autres réactifs donne une couleur finale verte.

2.3. Protocole pour la préparation de la gamme, le déploiement et le traitement des gels nitrate/nitrite et ammonium

Le protocole de préparation des gels 2D et de montage des gels réactifs et des gel gammes est identique à celui présenté dans la publication Cesbron *et al.* (2014) (*i.e.* **Chapitre 3**). Pour le nitrite et le nitrate, des gels mixtes polyacrylamide/bisacrylamide ont été utilisés tandis que des gels d'agarose ont dû être utilisés pour l'analyse de l'ammonium. Bien que l'acrylamide soit un composé toxique à l'état de monomère, son utilisation est privilégiée en raison de sa robustesse et sa flexibilité (les gels d'agarose sont extrêmement cassants donc peu favorables à la fabrication de sondes de la taille visée dans cette étude). Les gammes nitrite et nitrite + nitrate comprennent 6 points s'étendant de 1,25 à 40 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ (Figure 1). La gamme ammonium s'étend de 15,6 à 500 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ avec également 6 points réalisés (Figure 1). Le gel d'agarose étant plus cassant que le gel polyacrylamide, des bandes de gels ont été créées pour la gamme ammonium afin de ne pas fracturer le gel lors de l'équilibrage de la gamme dans le système à puits qui nécessite une pression de chaque côté du gel (voir **Chapitre 3**, figure 1). Un gel réactif composé a été utilisé pour l'analyse du nitrite puis un second gel pour le nitrate/nitrite contenant le chlorure de vanadium (voir la préparation en annexe 3). Le gel nitrite est apposé dans un premier temps sur le gel échantillon. Après diffusion du gel nitrite, le gel réactif nitrite + nitrate est placée de l'autre côté du gel échantillon. La révélation de la coloration spécifique pour l'ammonium se fait en deux étapes : un premier gel réactif contient la soude et l'hypochlorite de sodium, un second gel contient le thymol et le catalyseur (voir la préparation en annexe 3). Deux étapes sont nécessaires en raison de la stabilité du réactif en solution

(inférieure à 5 minutes). Les gels réactifs peuvent être apposés de chaque côté du gel échantillon ce qui permet d'augmenter le temps de stabilisation.

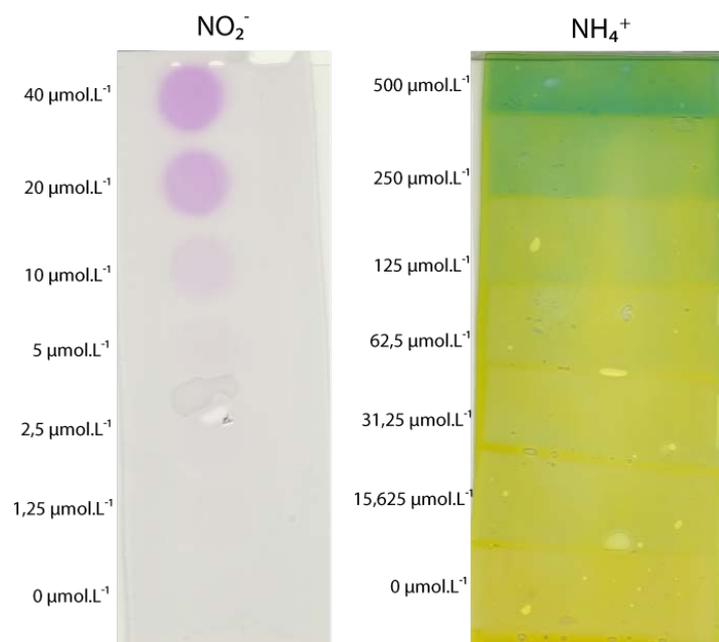


Figure 1 : Gammes d'étalonnage de nitrite (à gauche) et d'ammonium (à droite)

Afin de tester nos développements méthodologiques de manière réaliste, nous avons prélevé du sédiment de la vasière de l'estuaire de la Loire à Paimboeuf fin mai 2014 à marée basse. Une glacière de sédiment a été remplie après tamisage à 1 mm afin de s'affranchir de la macrofaune et des particules grossières et de l'eau du site a aussi été prélevée. Le sédiment a été homogénéisé et de l'eau du site a été additionnée pour créer une interface eau sédiment. L'eau surnageante a été aérée par bullage afin de maintenir un gradient d'oxygène dans le sédiment superficiel, permettant d'obtenir un gradient d'oxydoréduction et par conséquent une variation de la spéciation de l'azote en fonction du potentiel redox du sédiment. Le temps d'équilibration du sédiment a été de 12 jours avant le déploiement des sondes. La veille de l'insertion des gels, un trou a été généré à l'aide d'un falcon de 50mL dans un coin de la glacière afin de simuler une bioturbation pour modifier en ce point les profils redox et ainsi générer de l'hétérogénéité latérale. Cette zone sera qualifiée par la suite de zone perturbée. Les gels « sondes » ont été déployés pendant 5 h dans le mésocosme puis analysés par colorimétrie.

Les résultats préliminaires présentés dans la suite du document sont issus d'un traitement d'image réalisé à l'aide du logiciel ImageJ. L'image provenant du scanner est tout d'abord décomposée en 3 images issues des trois composantes dans le système RGB : le rouge (R), le vert (G) et le bleu (B). Pour chaque réaction colorimétrique, on cherchera la composante la plus sensible pour réaliser la standardisation. Par exemple, si la couleur mesurée est le rouge, la composante la plus sensible sera la verte (couleur complémentaire). Donc pour le nitrite (rose), la composante verte sera étudiée et pour l'ammonium (vert), ce sera la composante rouge. On peut noter ici la pauvreté spectrale du système

RGB (voir le **chapitre 3**) pour l'utilisation du spectre complet de réflectance. En raison de la qualité variable des résultats obtenus lors de cette première expérience, seul un gel NH_4^+ dans la zone non perturbée et un gel $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ dans la zone perturbée ont été traités. La gamme de NO_2^- a permis de calculer des valeurs de concentrations pour le gel 2D NO_2^- , (Figure 2). Les valeurs de la gamme de NH_4^+ ont également permis d'aboutir à des valeurs de concentration pour le gel 2D NH_4^+ (Figure 3). Cependant aucune gamme NO_3^- n'a pu être effectuée lors de cette expérimentation, les données $\text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$ seront donc présentées en unité arbitraire. De plus l'image de NO_3^- ayant été exposée à l'air pendant qu'il chauffait afin d'accélérer la réaction, la coloration rose peut être liée à l'évaporation de l'eau du gel entraînant une concentration du complexe rose. Cette image est donc illustrative.

2.4. Résultats préliminaires et discussion

Les images obtenues dans la figure 2 présentent une zone enrichie en NO_2^- et NO_3^- à la surface du sédiment et dans la colonne d'eau (Figure 2). Une diminution de la concentration de NO_2^- et de NO_3^- avec la profondeur est observée sur les images comme sur les profils de la figure 2. Cette diminution du NO_3^- en profondeur résulte de son rôle d'accepteur d'électron lors de la dégradation de la matière organique qui intervient une fois l'oxygène entièrement consommé (Froelich *et al.* 1979). Le nitrite est un composé instable et intermédiaire, qui est rapidement intégré dans des réactions biochimiques ; ceci explique sa plus faible concentration par rapport au nitrate. Les fortes concentrations de NO_2^- et NO_3^- dans l'eau surnageante pourraient être le résultat d'un relargage d'ammonium pendant l'équilibration du mésocosme avec réoxydation en nitrite et nitrate rendu possible par la présence d'oxydants métalliques sous forme particulaire et d'oxygène entretenue par bullage d'air. La présence en nitrite et nitrate peut être accentuée par le fait que le sédiment avait été stocké à l'obscurité ne permettant pas une activité des organismes autotrophes et ainsi une consommation des sels nutritifs. Les images et les profils $\text{NO}_2^-_2$, $\text{NO}_3^-_2$ et $\text{NO}_3^-_3$ de la figure 2 permettent d'observer la zone perturbée. La création d'une perturbation dans le sédiment a permis de transporter de l'eau surnageante enrichie en NO_2^- et NO_3^- plus en profondeur.

La figure 3 présente à l'inverse des concentrations en NH_4^+ maximales en profondeur. Deux types de réactions existent permettant l'augmentation des concentrations en ammonium dans les sédiments. D'une part l'ammonium peut être libéré lors de l'ammonification lorsque les NO_3^- sont utilisés comme oxydant de la matière organique. D'autre part l'ammonium est le produit des réactions de respiration anaérobie. Ainsi de fortes concentrations de NH_4^+ apparaissent en profondeur lorsque par exemple les sulfates, qui sont les principaux oxydants de la matière organique après l' O_2 , sont utilisés comme accepteur d'électron (Froelich *et al.* 1979).

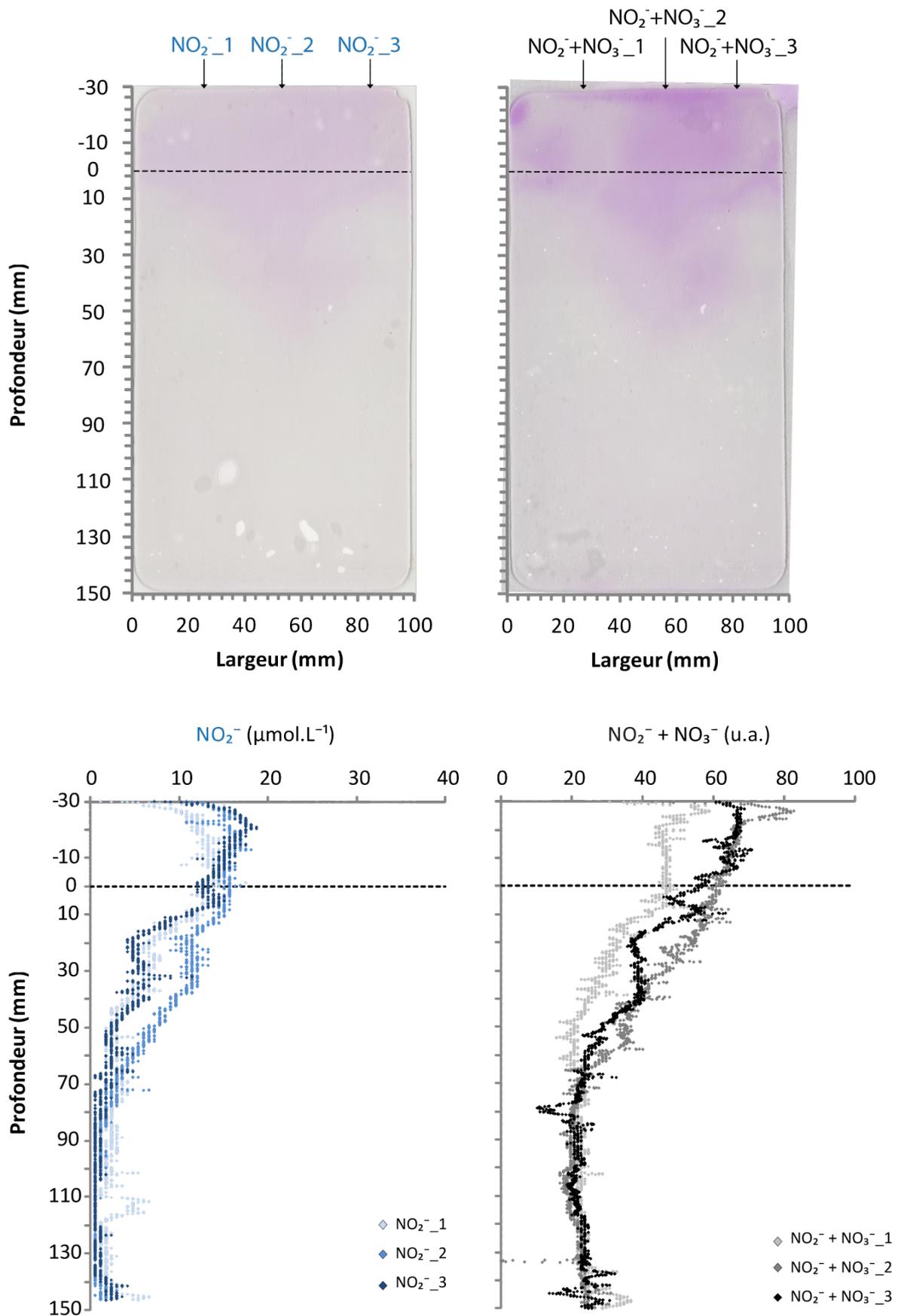


Figure 2 : Distribution 2D de nitrite et de nitrite+nitrate et ses profils associés indiqué par les flèches ($\text{NO}_2^-_1$, $\text{NO}_2^-_2$, $\text{NO}_2^-_3$ et $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-_1$, $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-_2$, $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-_3$). La zone perturbée correspond respectivement aux profils $\text{NO}_2^-_2$ et $\text{NO}_3^-_2$, $\text{NO}_3^-_3$. La ligne en pointillé représente l'interface eau-sédiment.

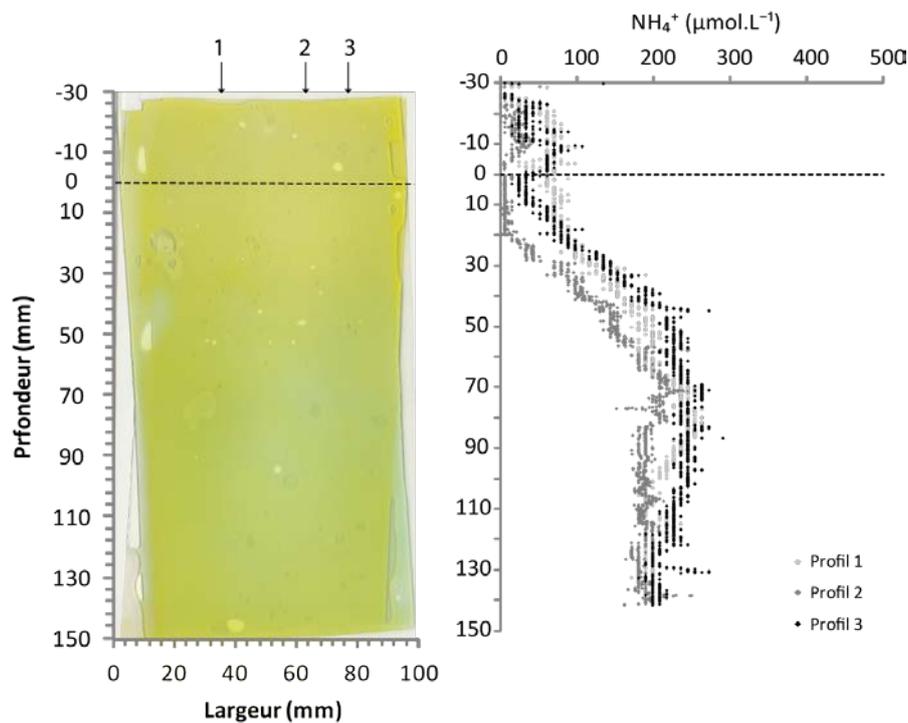


Figure 3 : Distribution 2D de l'ammonium et ses profils associés.

2.5. Conclusions et perspectives

Les résultats préliminaires de cette nouvelle méthodologie permettent d'analyser en simultanée et en 2D la distribution du nitrite et de nitrite + nitrate dans les eaux porales des sédiments. L'analyse de l'ammonium fournit une information complémentaire dans l'étude des espèces azotées ce qui s'avère être déterminant dans la compréhension des cycles géochimiques. La production et consommation de ces espèces azotées s'établissent à toutes les échelles du profil rédox (*e.g.* consommation NH_4^+ en tant que nutriments par les organismes autotrophes, consommation de NO_3^- comme oxydant de la matière organique, réactions entre NO_2^- et NH_4^+ lors de l'anammox) et interagissent très fortement avec la faune et la flore. Dans notre étude par exemple, l'herbier de *Zostera noltei* a un fort besoin en nitrate et ammonium pour sa croissance. Cependant la littérature montre que les nitrates ne sont pas détectables dans les sédiments du Bassin d'Arcachon car ils sont confinés dans les 5 premiers mm sous l'interface eau-sédiment (Delgard *et al.* submitted b). Des informations sur la distribution en 2D des nitrates dans les sédiments s'avèrent primordiales pour détecter de possibles spots de nitrates et nitrites dans les sédiments mais également pour la compréhension des microhabitats des organismes tels que les foraminifères, dont la capacité à dénitrifier que possèdent certaines espèces a récemment été décrites.

Afin de parfaire cette méthodologie, un essai très récent sur une gamme étalon de nitrate a été réalisé, couplant le nitrite, le nitrate/nitrite et la caméra hyperspectrale, ceci a permis de quantifier le rendement de la réduction de nitrate en nitrite par le chlorure de vanadium en fonction du temps : un rendement de l'ordre de 50% est atteint en 15 minutes sous les projecteurs du système d'éclairage de

la caméra hyperspectrale (E. Metzger, com. pers.). Une révélation de gel terrain doit également être exécutée afin de valider l'application de cette technique en milieu sédimentaire.

3. ANALYSE EN 2D DE LA PHASE SOLIDE PAR MICROFLUORESCENCE X

Les interactions entre phase dissoute, phase particulaire et microhabitats benthiques, l'influence des processus sédimentaires et de la bioturbation sur ces interactions rendent nécessaire la description à la même échelle spatiale et au même endroit les eaux interstitielles et la colonne sédimentaire. L'analyse du dissous en 2 dimensions et à l'échelle submillimétrique est possible grâce aux gels DET/DGT. Il faut donc combiner à cette approche, l'échantillonnage simultané et l'analyse à haute résolution, de la tranche de sédiment en vis-à-vis du gel. 2D.

3.1. La « mâchoire » : échantillonneur continu et en 2 dimensions simultané du dissous et du particulaire

Ce dispositif, imaginé et fabriqué par Didier Jézéquel, consiste en 2 pièces qui s'emboîtent pour former un carottier plat de 19×14 cm (les mandibules de la « mâchoire »). La première pièce consiste en un support de gel 2D sur lequel nous montons deux rails en PVC. La deuxième pièce est une sorte de tiroir ouvert en inox qui s'emboîte sur les rails de la première formant un parallépipède dans lequel se trouve une sonde DET et une tranche de sédiment de 2 cm d'épaisseur. L'échantillonnage se fait en deux étapes : la première consiste à déployer le gel DET équipé de rails dans le sédiment (Figure 4A). Après équilibration du gel DET, la deuxième partie de la mâchoire est insérée dans le sédiment le long des rails ou guides du support du gel. Le tout est alors prélevé du sédiment et une fois à quai, les rails du support de gel sont dévissés et le sédiment peut être séparé du gel (Figure 4B) et les deux échantillons du dissous et du particulaire sont ensuite traités séparément.



Figure 4 : système de prélèvement pour la tranche de sédiment en vis-à-vis du gel 2D (cliché Edouard Metzger) ; (A) gel 2D lors d'un déploiement sur la vasière de la Loire avec ses rails blancs permettant d'insérer le préleveur de sédiment visible en B ; (B) tranche de sédiment avec son système de prélèvement (cliché Edouard Metzger).

Le sédiment est ici congelé par carboglace et analysé par microfluorescence X à l'IFSTTAR de Nantes (travail en collaboration avec Liliane Jean-Soro).

3.2. Principe de la microfluorescence X

La fluorescence X est une technique non-destructive d'analyse utilisée pour identifier les éléments présents dans des échantillons solides, liquides ou en poudre et en déterminer les concentrations. Le spectromètre XRF mesure les longueurs d'onde individuelles des composants dans l'émission fluorescente produite par l'échantillon lorsqu'il est irradié par des rayons X. Par cette technique nous avons évalué en 2D la présence des éléments chimiques suivants : Al, As, Br, Ca, Fe, K, Mn, P, Pb, Rb, S, Si, Sr, Ti, V, Zn, Zr à l'aide d'un Bruker M4 TORNADO équipé d'un tube à rayon X Rh à 50 kV et 300 μ A disponible à l'IFSTTAR de Nantes. Les mesures obtenues à l'issue de cette analyse sont semi-quantitatives, correspondant à des variations relatives de chaque espèce chimique.

3.3. Etude d'un bloc de sédiment du Bassin d'Arcachon (juillet 2013) par microfluorescence X

3.3.1. Site d'étude

Le sédiment a été prélevé en juillet 2013 sur la partie fortement végétalisée de Germanan, station de référence localisée au centre du Bassin d'Arcachon (Figure 1, **chapitre 1**). Le gel 2D a été déployé pendant 14 h environ avant de réaliser le prélèvement du sédiment en vis-à-vis. Une fois sorti du

sédiment puis redimensionné, l'ensemble tranche de sédiment + gel 2D a été congelé dans de la carboglace puis transporté à l'IFSTTAR de Nantes. L'analyse a été effectuée sous vide et à température ambiante sur le bloc congelé. Il est ainsi important de noter que l'on observe un passage en phase liquide au centre des images ce qui atténue le signal en cette zone. De plus, les images en lumière naturelle présentées dans les figures 5 à 7 ont été réalisées à la fin de l'analyse par microfluorescence X et laissent apparaître des marques de dessiccation qui ont empêché une analyse plus détaillée du sédiment.

3.3.2. Résultats préliminaires et discussion

L'analyse par microfluorescence X du sédiment a été réalisée en trois étapes : une grande image du sédiment à la résolution de 500 μm n'incluant pas l'interface (Figure 5) ; une image de la surface à la résolution de 200 μm (Figure 6) et une image ciblant une structure à plus haute résolution (25 μm ; Figure 7).

Au centre des images de la figure 5 une zone de givre est observée, venant perturber les images des éléments chimiques par une zone sombre au centre. Néanmoins, la figure 5 permet de distinguer des structures verticales importantes se réduisant progressivement avec la profondeur. Le prélèvement de sédiment permet de montrer dans un premier temps qu'aucun entraînement de feuilles en profondeur n'est visible lors du déploiement des gels 2D. En revanche des structures peuvent apparaître à l'œil nu et ne correspondant donc pas à un entraînement de feuilles ou des racines depuis la surface, sont observables sur les analyses de l'Al, du Ca, du Fe, du K, du S, du Si, du Ti et du V (Figures 5 à 7). Ces structures peuvent correspondre à un système racinaire en place ou à une activité de bioturbation non affleurante. Des structures liées à la macrofaune sont également visibles à l'œil nu et notamment la présence d'un mollusque bivalve observable principalement en haut à droite de l'image après analyse. Un transect réalisé sur l'image de la figure 7 permet d'étudier le comportement de chacun des éléments précédents et notamment la réponse du Fe, du Ca et du S (Figure 8). Différentes réponses quant à la présence d'une bioturbation sont observables selon les espèces chimiques. Le transect du Ca présente deux augmentations successives respectivement à 1,4 et 1,6 cm du début du transect. À l'inverse une diminution du Fe et du S sont visibles à environ 1,5 cm du début du transect. La présence d'une structure en profondeur, qu'elle soit issue d'une bioturbation animale ou d'une racine, entraîne une réoxydation et une remobilisation des phases solides de Fe ainsi que du S comme le décrivent par exemple Hebert et Morse (2003), Sundby *et al.* (2003), Deborde *et al.* (2008) et Delgard *et al.* (2013). L'oxydation a lieu au centre de la structure. Les oxydes de fer sont alors réduits en Fe(II) lorsque l'oxygène est consommé. Afin d'étudier cet enrichissement en fer dissous autour des racines dans la phase dissoute, la figure 9 présente un gel DET 2D déployé en mai 2011 à Germanan (Bassin d'Arcachon) pour l'analyse du fer dissous. L'objectif initial était de comparer le dissous et le particulaire sur des échantillons prélevés simultanément mais le gel correspondant a été mal conservé et donc perdu. Cependant la structure analysée sur le DET est très semblable à la structure décrite en

négalif sur le solide servant ainsi d'analogie dissous. Une image de la distribution de H_2S a également été obtenue lors de ce déploiement, donc correspondant exactement à la distribution des sulfures en face du sédiment analysé. La réalisation d'un profil horizontal, recoupant une structure racinaire ou une bioturbation animale, permet d'étudier la distribution du fer dissous et de H_2S . H_2S présente un minimum au centre de la structure à 24 mm du début du transect tandis que le $Fe(II)$ possède deux zones à fortes concentrations correspondant aux bords de la structure. Au centre de cette structure, la concentration en $Fe(II)$ diminue atteignant un minimum local à 24 mm du début du profil horizontal. Ce profil est typique de séquence diagénétique dans la phase dissoute : les produits de la diagenèse précoce comme le $Fe(II)$ et les H_2S se forment autour de la structure en profondeur, le $Fe(II)$ est ensuite très rapidement piégé par les sulfures à mesure que l'on s'éloigne du centre de la structure et que le H_2S est présent (Azzoni *et al.* 2001 ; Hebert et Morse 2003). Cette distribution avec un déficit en H_2S dans la structure peut être observée également sur les figures 5 à 7 où une image de H_2S est représentée.

L'augmentation en Ca sur les bords de la structure de bioturbation pourrait être associée soit 1) à une précipitation de carbonate de calcium en raison d'une augmentation du pH aux abords de la structure ou 2) à la présence plus en profondeur de coquilles calcaires telles que celles de certains foraminifères benthiques. Ainsi selon la nature de la structure observée, la présence de coquilles calcaires pourraient provenir 1) d'un entraînement des coquilles par l'action d'un organisme bioturbateur ou 2) de microhabitat privilégié pour les organismes avec coquille calcaire par les microniches oxygènes avoisinantes les racines des herbiers.

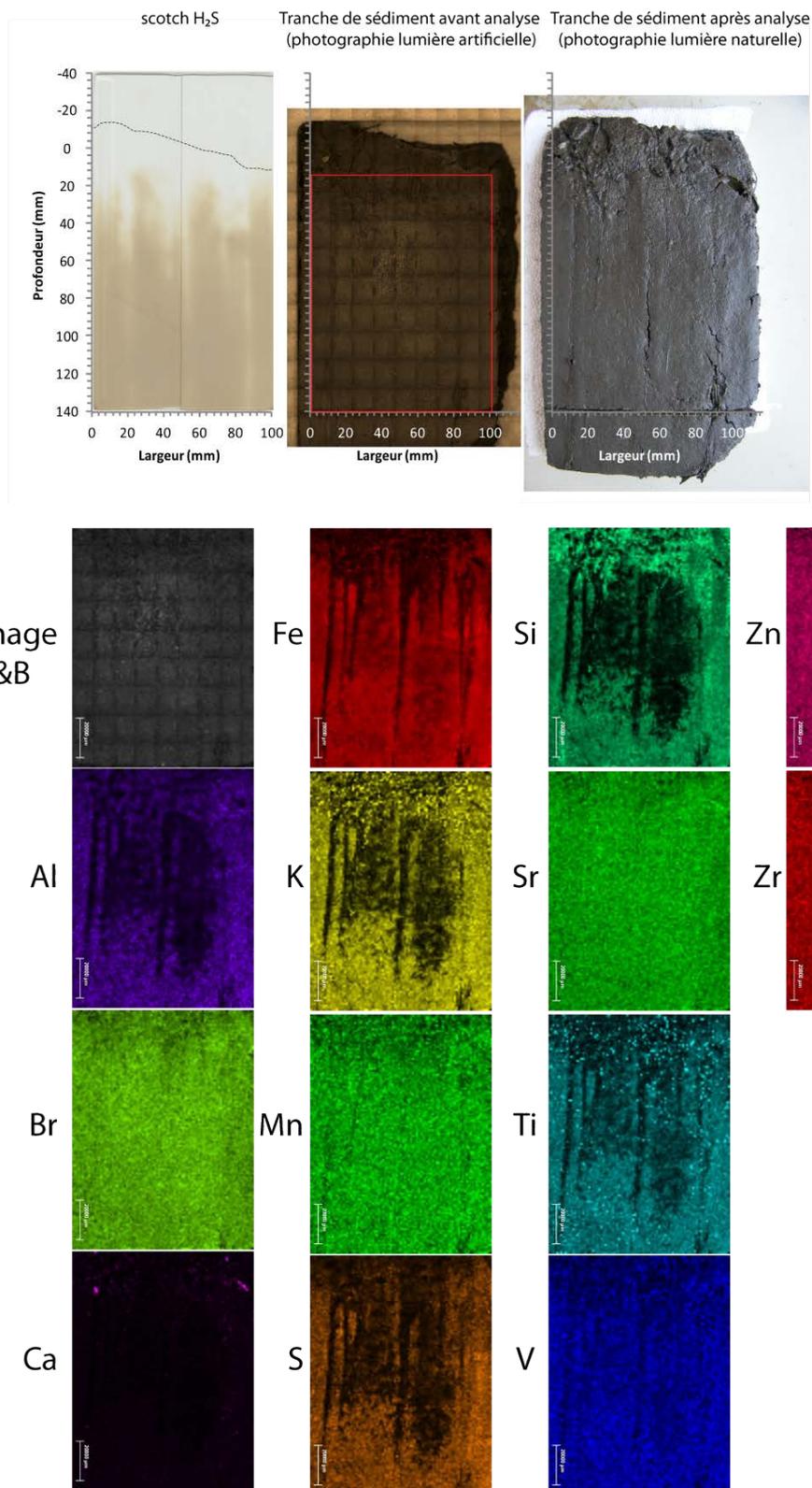


Figure 5 : Distribution 2D de H_2S , photographies et traitement pour la zone encadrée en rouge par microfluorescence X de la tranche de sédiment prélevée dans l’herbier de *Zostera noltei* du Bassin d’Arcachon pour différentes espèces chimiques. Le quadrillage observé sur la photographie en lumière artificielle et sur l’image noir et blanc (N&B) correspond à une sous-division artificielle réalisée par la microfluorescence X. Pour échelle de quantité : plus la coloration est marquée, plus la quantité de l’élément chimique est importante.

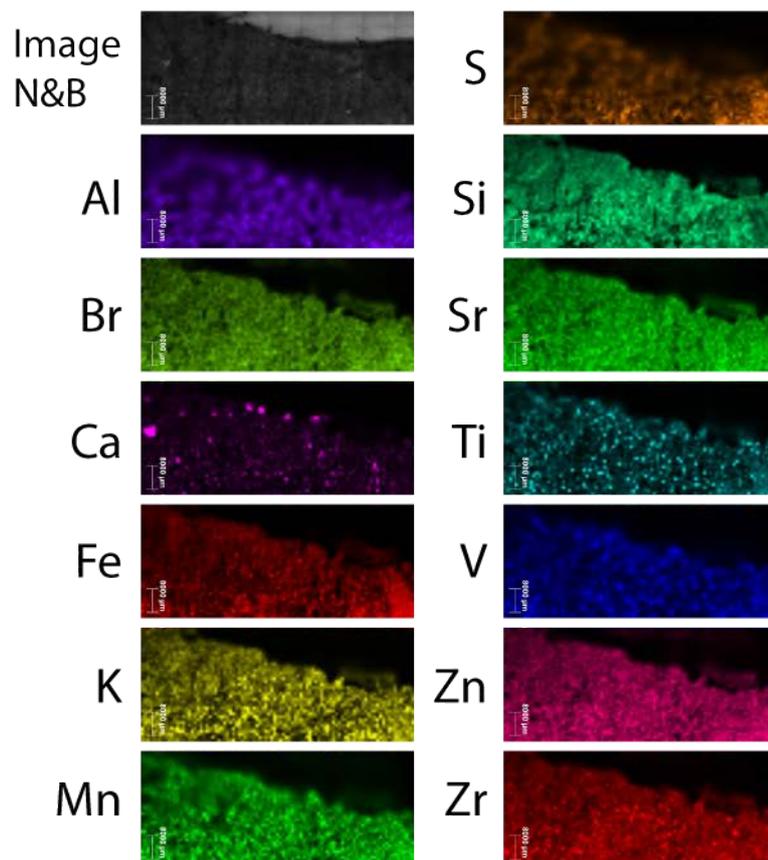
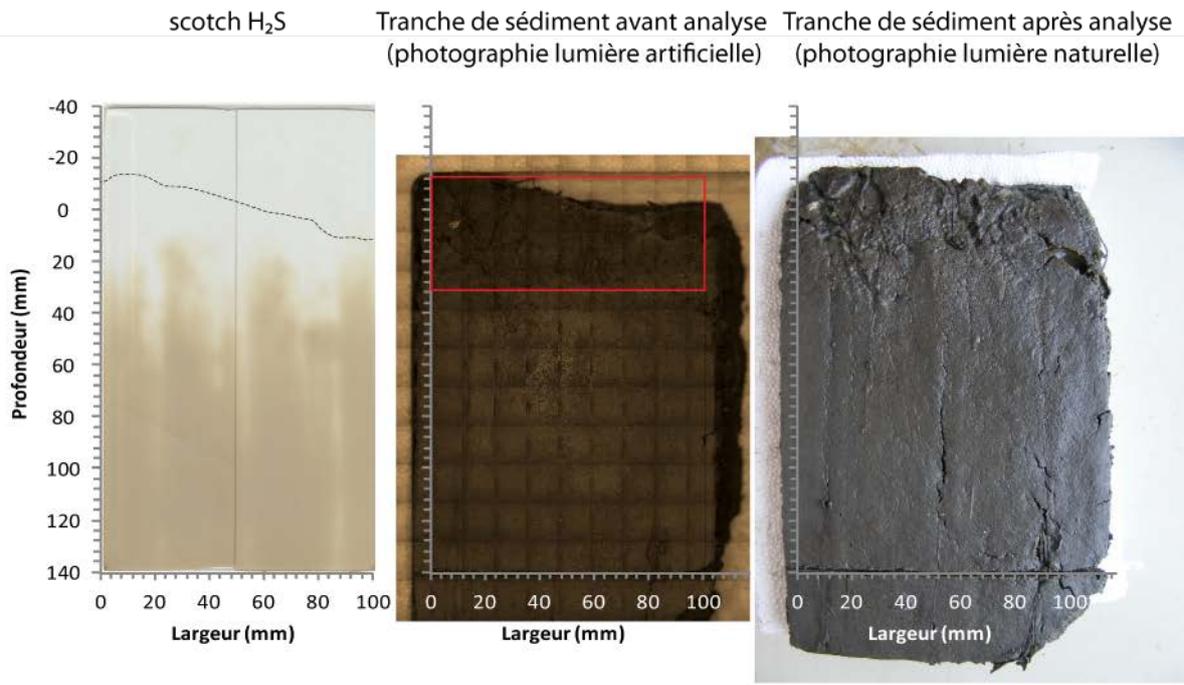


Figure 6 : Distribution 2D de H₂S, photographies et traitement pour la zone encadrée en rouge par microfluorescence X de la tranche de sédiment prélevée dans l'herbier de *Zostera noltei* du Bassin d'Arcachon pour différentes espèces chimiques. Le quadrillage observé sur la photographie en lumière artificielle et sur l'image noir et blanc (N&B) correspond à une sous-division artificielle réalisée par la microfluorescence X. Pour échelle de quantité : plus la coloration est marquée, plus la quantité de l'élément chimique est importante.

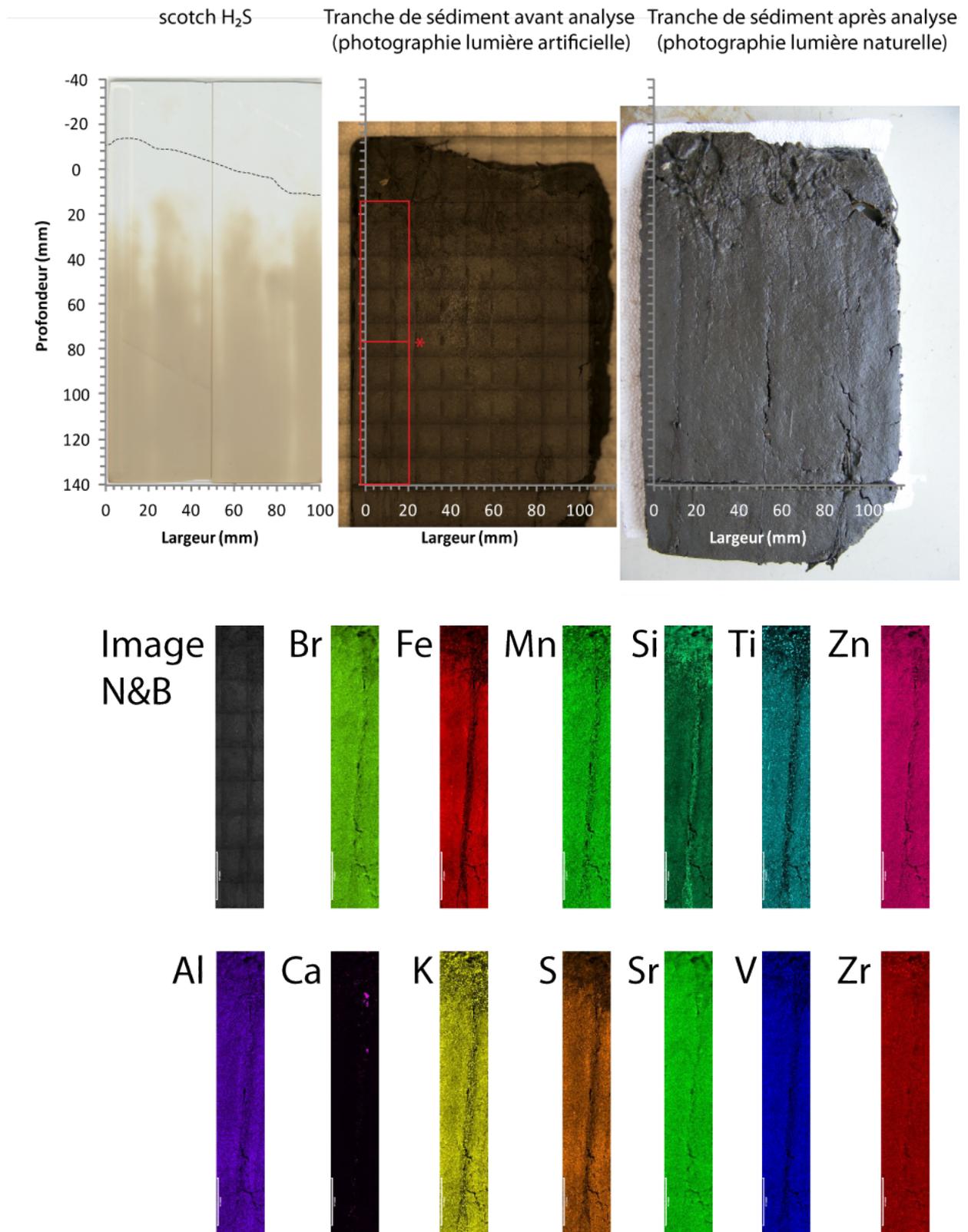


Figure 7 : Distribution 2D de H₂S, photographies et traitement pour la zone encadrée en rouge par microfluorescence X de la tranche de sédiment prélevée dans l’herbier de *Zostera noltei* du Bassin d’Arcachon pour différentes espèces chimiques. * correspond au tracé du profil horizontal pour la figure suivante. Le quadrillage observé sur la photographie en lumière artificielle et sur l’image noir et blanc (N&B) correspond à une sous-division artificielle réalisée par la microfluorescence X. Pour échelle de quantité : plus la coloration est marquée, plus la quantité de l’élément chimique est importante.

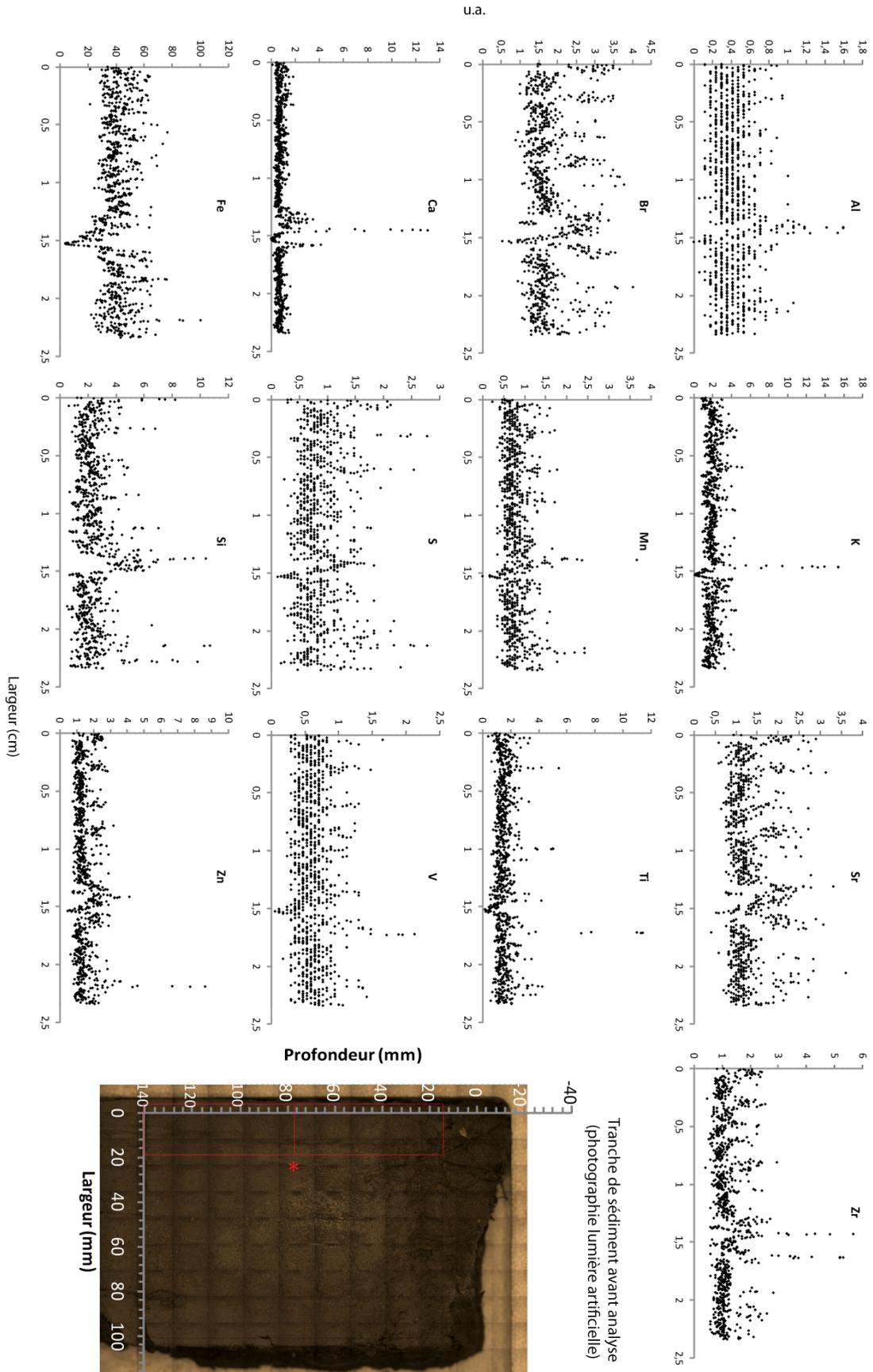


Figure 8 : Transects des espèces chimiques suivantes : Al, As, Br, Ca, Fe, K, Mn, P, Pb, Rb, S, Si, Sr, Ti, V, Zn, Zr. Le tracé du transect est représenté sur l'image de la tranche de sédiment ainsi que sur la figure précédente par un astérisque.

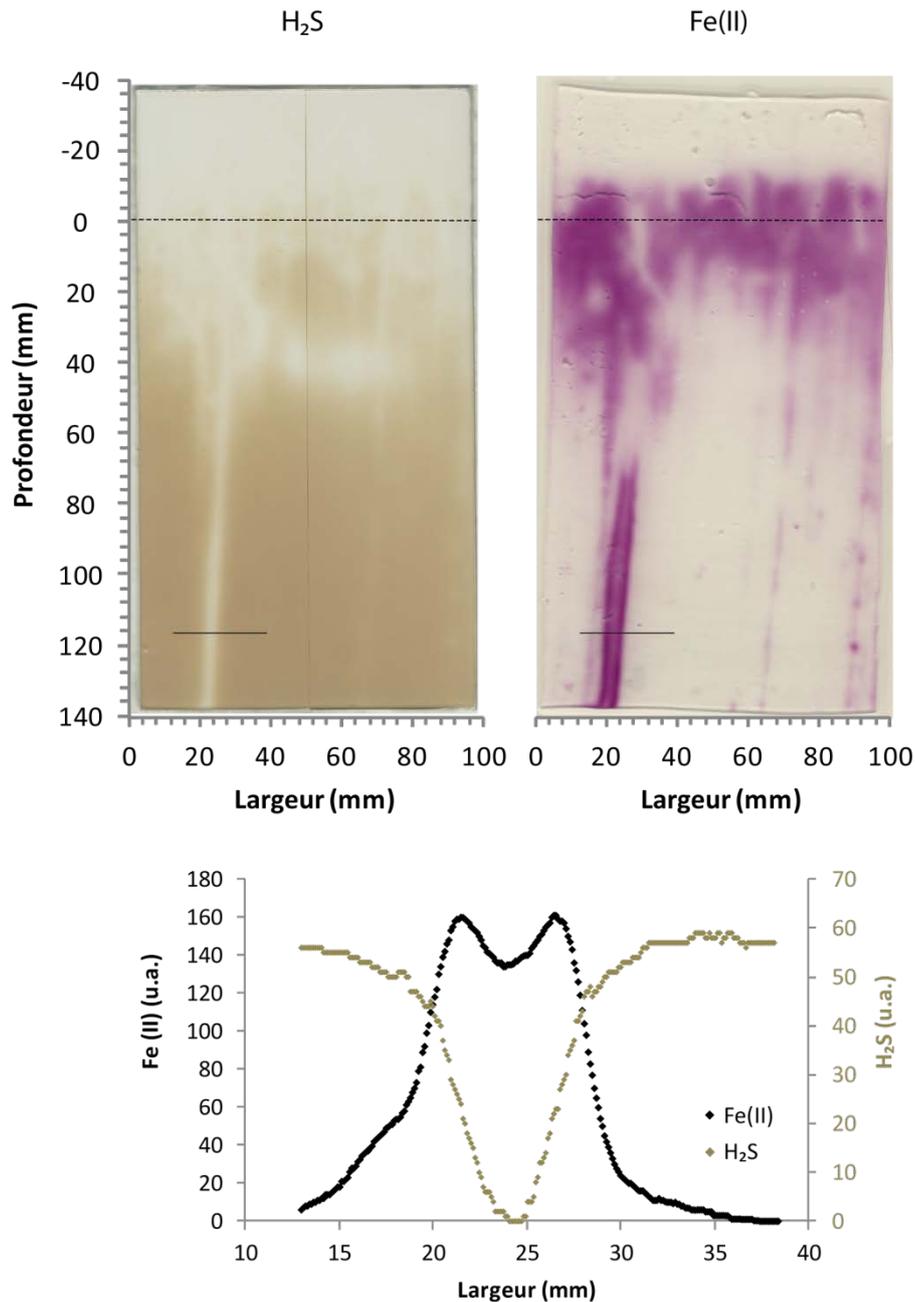


Figure 9 : Distribution 2D et profil horizontal du H₂S et du Fe(II) des eaux porales de sédiment colonisé par l'herbier de *Zostera noltei* du Bassin d'Arcachon prélevé en mai 2011. Le trait plein horizontal représente le profil réalisé pour le graphique du dessous ; le trait en pointillé correspond à l'interface eau-sédiment.

3.4. Conclusions et perspectives

L'étude de la phase solide par microfluorescence X apporte des données complémentaires à notre précédente approche sur la phase dissoute. Par cette analyse rapide nous avons mis en avant une remobilisation du Fe et du S à l'image des résultats obtenus dans la phase dissoute. Une étude plus approfondie avec l'IFSTTAR serait nécessaire pour discuter de la réponse des autres éléments

chimiques et notamment pour comprendre la réponse de l'Al habituellement considéré comme stable ou du Sr et du Mn. L'analyse d'un bloc de sédiment enrésiné permettrait également de pallier au problème d'évaporation du bloc de sédiment congelé et ainsi de réaliser une analyse plus longue et plus approfondie. De plus, ces données n'ont pu être présentées conjointement aux données de la phase dissoute en raison d'un problème de congélation des gels DET 2D prélevées lors de la même mission. Il serait donc important d'effectuer une nouvelle mission d'échantillonnage afin d'étudier en simultanée la phase solide et la phase dissoute.

La distribution particulière du Ca permettrait notamment d'observer la répartition d'organismes à coquille calcaire. Une analyse plus spécifique du sédiment à meilleure résolution permettrait d'identifier les éléments constituant ces zones enrichies en Ca.

4. ANALYSE DE LA DISTRIBUTION DES FORAMINIFERES BENTHIQUES

Afin d'étudier la relation entre la distribution des foraminifères benthiques et la géochimie des compartiments solide et dissous, deux développements analytiques ont été réalisés. Dans un premier temps une analyse par microtomographie axiale à rayons X d'un bloc de sédiment enrésiné a été effectuée en collaboration avec le Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris (MNHN) et Florent Goussard. Dans un second temps, une nouvelle méthode d'échantillonnage consistant en un sous-échantillonnage en cubes de 1cm³ de côté de la tranche de sédiment prélevée en vis-à-vis de gel 2D a été mise en place au laboratoire.

4.1. Analyse par microtomographie axiale à rayons X

Nous avons entrepris des travaux préliminaires pour l'étude à haute résolution et en 3D de la distribution des foraminifères benthiques dans la colonne sédimentaire à l'aide de la microtomographie axiale à rayon X (ou CT-Scan en anglais : Computerized Tomography Scanning). Ce travail a été fait au MNHN de Paris en collaboration avec Florent Goussard à l'aide du CT-Scan (modèle : v|tome|x L240-180). Cette technique avait déjà été présentée lors des travaux de thèse de Vincent Bouchet mais ne permettait que l'étude comparative des structures biologiques observées par CT-Scan et la distribution des faunes de foraminifères quantifiée par découpe de carotte classique (0,5 cm jusqu'à 1 cm, 1 cm jusqu'à 5 cm, 2,5 cm jusqu'à 10 cm puis 5 cm jusqu'à 30 cm; Bouchet *et al.* 2009). Dans notre étude l'objectif était d'analyser en 3D et sans dénaturer le sédiment, les zones à fortes densités de foraminifères benthiques et les structures biologiques et sédimentaires afin d'observer une possible distribution préférentielle des foraminifères au niveau de ces structures pour une résolution d'environ 10 µm.

4.2. Principe de la microtomographie axiale à rayons X (source

MNHN-CNRS)

La microtomographie axiale à rayons X permet la numérisation 3D d'objets d'étude (Figure 10). L'intérêt principal de cet équipement est de visualiser à haute résolution l'ensemble des structures des échantillons sans destruction de l'objet d'étude. La tomographie axiale assistée par ordinateur est une méthode d'imagerie qui consiste à reconstruire en 3D un objet à partir d'un balayage par des rayons X. Cette technique repose sur les propriétés d'absorption des rayons X par les matériaux, différentes suivant leur nature : les matériaux très denses absorbent les rayons X en grande quantité tandis que les matériaux moins denses (*e.g.* l'eau) n'en retiennent qu'une infime partie. L'échantillon est positionné sur un plateau rotatif, au centre d'une chaîne instrumentale fixe composée d'un côté d'une source de rayons X et de l'autre d'un détecteur à très haute résolution. C'est la rotation de l'objet par rapport à ce dispositif qui permet d'obtenir un ensemble de clichés, ou projections radiographiques, sur 360°. A partir de ce volume radiographique définissant l'ensemble de l'objet numérisé, des coupes bidimensionnelles sont recalculées dans toutes les directions, permettant l'accès aux structures internes. Enfin le traitement informatique de ces coupes virtuelles avec des logiciels spécialisés permet de reconstituer l'objet en trois dimensions.



Figure 10 : (A) Vue externe de l'équipement et mise en situation de l'opérateur ; (B) vue interne de l'équipement et mise en situation d'un échantillon (source MNHN-CNRS).

4.3. Analyse préliminaire par microtomographie axiale à rayons X d'un bloc de sédiment enrésiné du Bassin d'Arcachon

4.3.1. Site d'étude et technique d'enrésinement

Le sédiment a été prélevé sur le site Germanan au centre du Bassin d'Arcachon lors de la thèse de (Delgard 2013). Notre analyse est réalisée exclusivement sur le sédiment de surface (*i.e.* 0-0,5 cm). Ce sédiment a été enrésiné au laboratoire EPOC suivant différentes étapes de déshydratation par échange eau-acétone puis par imprégnation sous vide contrôlé avant découpe et polissage. Seul le bloc de la surface du sédiment a été utilisé pour cette étude soit un bloc de dimensions 9,5 × 9,2 × 2,2 cm (L×l×e).

4.3.2. Résultats préliminaires et discussion

Le bloc de sédiment enrésiné a été transmis à Florent Goussard du Muséum de Paris (MNHN-CNRS) afin de réaliser une première série d'image à la résolution d'un voxel¹¹ = 35,2 μm. Une banque d'image 2D est acquise à l'aide de cette technique et permet 1) d'obtenir des images en 2D du sédiment à différentes profondeurs et 2) de reconstruire une image 3D compilant les images 2D. Dans cette étude préliminaire, seules des images en 2D prises à différentes profondeurs à partir d'une coupe longitudinale du bloc de la figure 11 sont présentées.

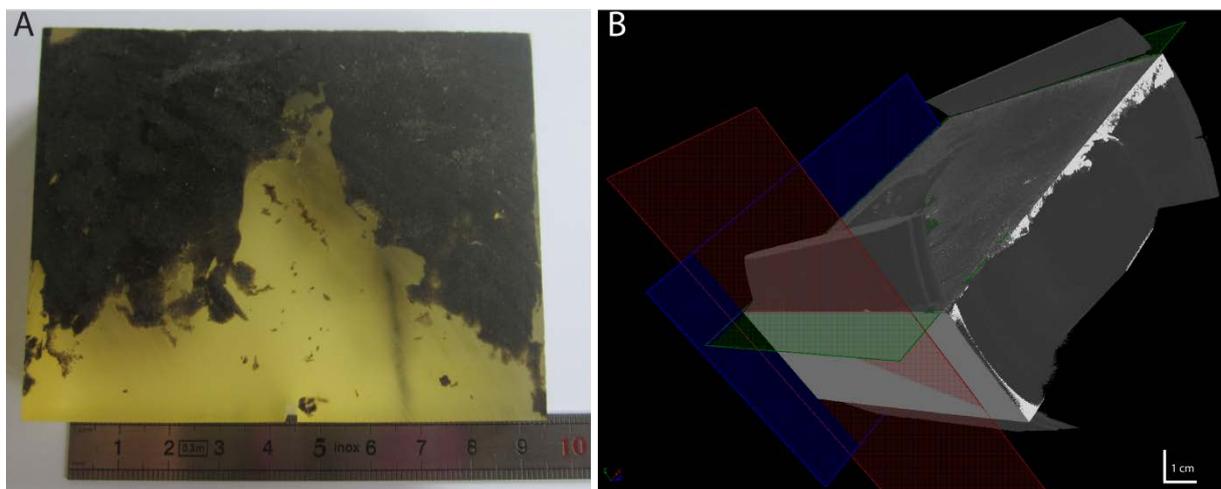


Figure 11 : (A) bloc enrésiné en vue dorsale avant analyse; (B) schéma du bloc enrésiné réalisé par un logiciel de traitement des images de microtomographie axiale à rayons X. Les zones blanches sur le bloc correspondent à au sédiment en profondeur. Les images des figures suivantes ont été réalisées selon l'axe horizontal vert.

A l'aide de cette technique, de petites structures sédimentaires en arc de cercle pouvant correspondre à des traces d'organismes ainsi que des éléments aux densités différentes comme l'élément blanc au centre de l'image pouvant correspondre à un test de foraminifère benthique, peuvent être observées

¹¹ Un voxel correspond à un pixel en volume soit un cube de dimensions x, y, z.

(Figure 12). La résolution de ces images permet difficilement d'identifier les petits objets avec certitude.

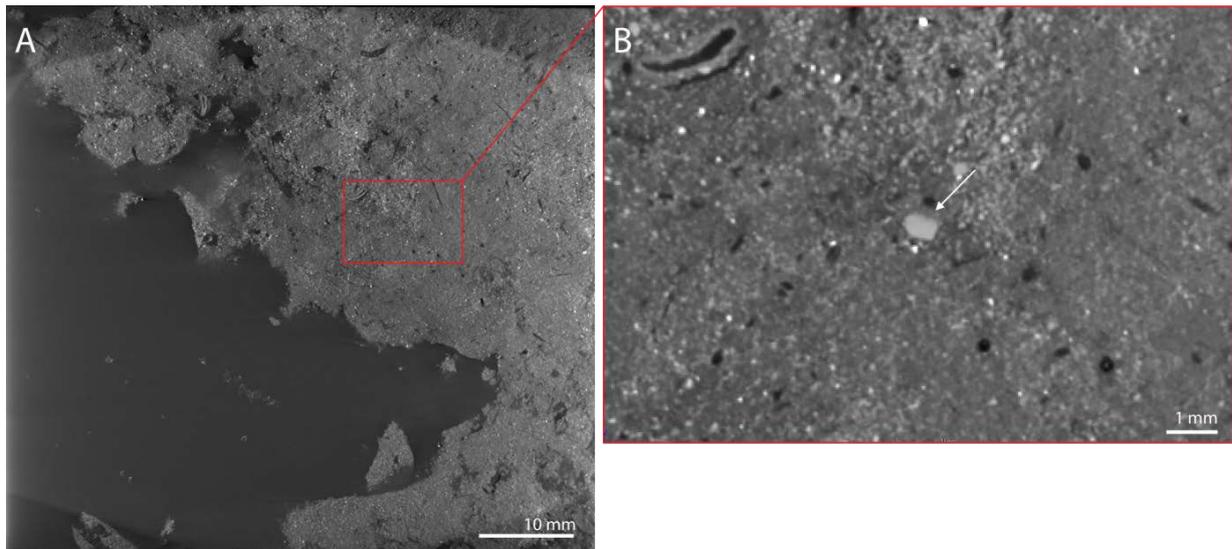


Figure 12 : (A) image complète du bloc de sédiment enrésiné à une centaine de micromètres de la surface du bloc enrésiné ; (B) agrandissement de l'image en (A) avec vision au centre d'un élément dense au bout de la flèche blanche (e.g. test de foraminifère).

Afin d'améliorer la résolution des images et de réduire à environ 10 μm de côté le voxel, il a été nécessaire de redimensionner le bloc enrésiné. Avec l'aide de Marc de Rafélis (UPMC – UMR Biominéralisation et sédimentation), le bloc a été divisé en deux et réduit (bloc n°1 : 4,7 \times 4,5 \times 0,6 cm ; bloc n°2 : 4,8 \times 4,7 \times 0,6 cm) puis poli à l'aide de papier pour polissage Buehler P1200 puis sur une tranche de verre en présence de poussière de diamant.

Les nouvelles images réalisées au CT-Scan du Muséum de Paris et issues du redimensionnement du bloc ont été prises sur toute la largeur du bloc n°2 à différentes profondeurs dans le bloc (voir pour schématisation l'axe vert de la figure 11 correspondant au bloc non redimensionné). Ces images permettent ainsi de distinguer les foraminifères benthiques à tests calcaires et des foraminifères agglutinés respectivement en blanc et en noir (Figure 13). Le détail des loges est également visible chez les foraminifères agglutinés, permettant d'avancer qu'il s'agit d'*Eggerella scabra*. En revanche la détermination des foraminifères benthiques à test calcaire n'est pas réalisable avec une telle résolution, de nouvelles découpes du bloc enrésiné auraient été nécessaires.

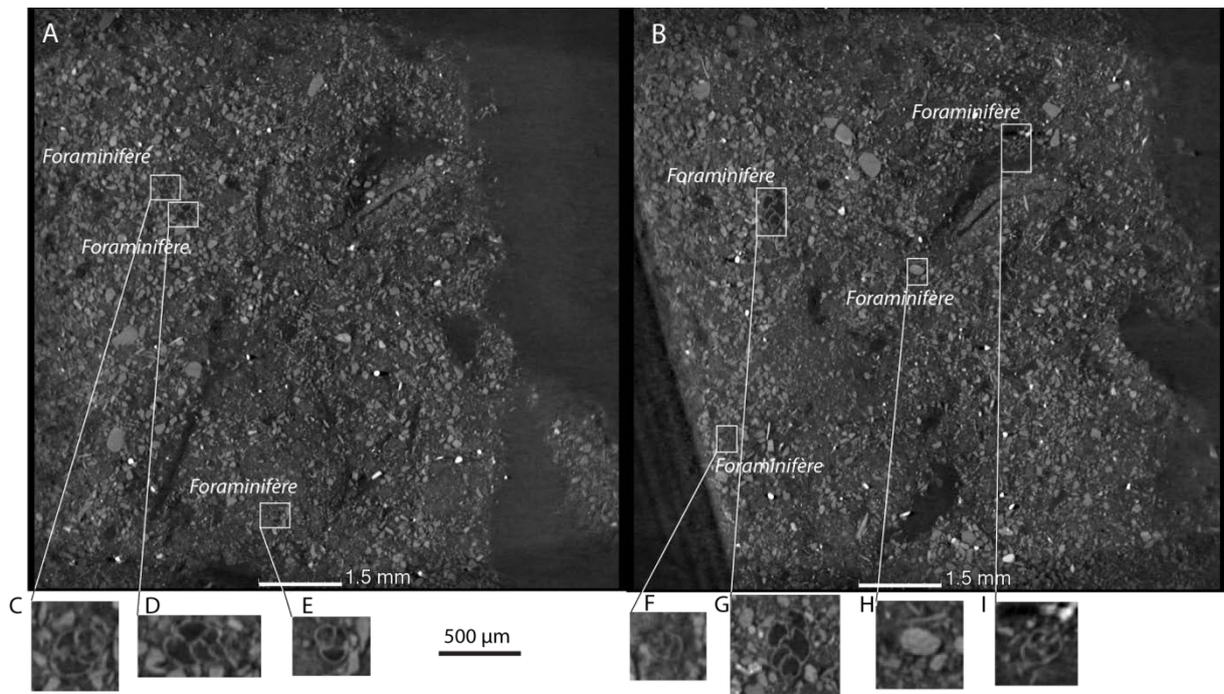


Figure 13 : Images du sédiment enrésiné prises à deux profondeurs différentes dans le bloc enrésiné n°2 et zooms sur des éléments semblables aux foraminifères : *Eggerella scabra* en C, D, E, F, G et I et une espèce calcaire en H.

4.3.3. Conclusions et perspectives

L'utilisation de la microtomographie axiale à rayons X permet l'observation des foraminifères benthiques dans leur milieu. L'utilisation couplée d'un enrésinement et d'une analyse d'image à haute résolution permet d'identifier certains individus. Cependant en raison de la résolution actuellement utilisée, il nous est difficile d'identifier l'ensemble des foraminifères observés, il serait nécessaire de redimensionner à nouveau le bloc enrésiné et de réaliser une image 3D. A l'inverse un enrésinement de cette taille ne permet pas non plus d'identifier des macrostructures comme des racines ou des terriers. De plus, notre étude ne permet pas de discriminer les individus vivants des individus morts, ce qui est primordial dans l'étude des microhabitats afin de justifier d'un habitat préférentiel pour la vie des organismes. Cette technique ne semble pas être adaptée pour l'étude des microhabitats benthiques de foraminifère autour de structures biologiques ou sédimentaires de taille importante.

Une méthode récente nommée FLEC-TEM (Fluorescently Labelled Embedded Core coupled with Transmission Electron Microscopy) a été développée par Bernhard et Richardson (2014) d'après la méthode originelle de Bernhard et Bowser (1996). Cette méthode permet d'observer la position des individus vivants dans le sédiment et même d'étudier l'ultrastructure cellulaire des foraminifères (ou autres organismes de la méiofaune). Une carotte de sédiment d'environ 1,5 cm de diamètre est prélevée dans un premier temps puis incubée à l'aide d'un traceur de vitalité (*e.g.* CellTrackerTMGreen CMFDA) avant d'être enrésinée. Grâce à ce marqueur fluorescent, les foraminifères vivants sont différenciés des foraminifères morts. Après la polymérisation de la résine époxy, la carotte est

découpée par microtome pour être ensuite observée par microscope à épifluorescence puis microscope confocal. Une nouvelle découpe du bloc est réalisée sur les zones d'intérêt principal afin de réaliser des images au microscope électronique à transmission pour l'étude des structures internes des spécimens. Cette méthodologie présente ainsi l'avantage d'analyser progressivement les individus vivants dans leur milieu de vie et de cibler les ultrastructures de ces mêmes spécimens. Cependant à ce jour, cette technique n'a été réalisée que pour l'étude d'environnements de taille réduite (*i.e.* 1,5 cm de diamètre). Il serait intéressant de réaliser cette même étude pour un sédiment de taille plus importante afin d'identifier des macrostructures comme des racines ou des terriers en comparaison de la distribution des faunes de foraminifères benthiques.

4.4. Analyse par découpe de la tranche de sédiment en cubes de 1cm³

A défaut d'avoir accès à la technologie développée, nous avons établi une approche intermédiaire qui permettait néanmoins d'analyser la distribution des foraminifères couplée à la distribution des figures sédimentaires et à la distribution d'espèces dissoutes. La tranche de sédiment échantillonnée avec la mâchoire à été sous-échantillonnée tous les 1cm³. Bien que la résolution ne soit pas micrométrique, elle permet de documenter l'hétérogénéité latérale de la densité des foraminifères.

Cette technique complémentaire à la découpe traditionnelle de carotte de sédiment a été programmée dans mon projet de thèse. N'ayant pas eu le temps de développer ce volet de mon travail, le développement technique a été réalisée lors des travaux de thèse d'Aubin Thibault de Chanvalon dont une publication, comme co-auteur, est en cours de préparation. Cette étude a été réalisée sur la vasière des Brillantes dans l'estuaire de la Loire. Dans le cas présenté, nous avons analysé le fer dissous, le phosphate et les sulfures à l'aide du gel DET 2D.

Les cubes de sédiment (1cm³) ont été traités pour l'analyse des foraminifères benthiques vivants, c'est-à-dire incubés avec du Cell Tracker Green, puis traités en laboratoire (lavage sur tamis de 150 µm) pour une détermination des individus vivants sous loupe à épifluorescence (*cf.* détail de la méthode **chapitre 1**).

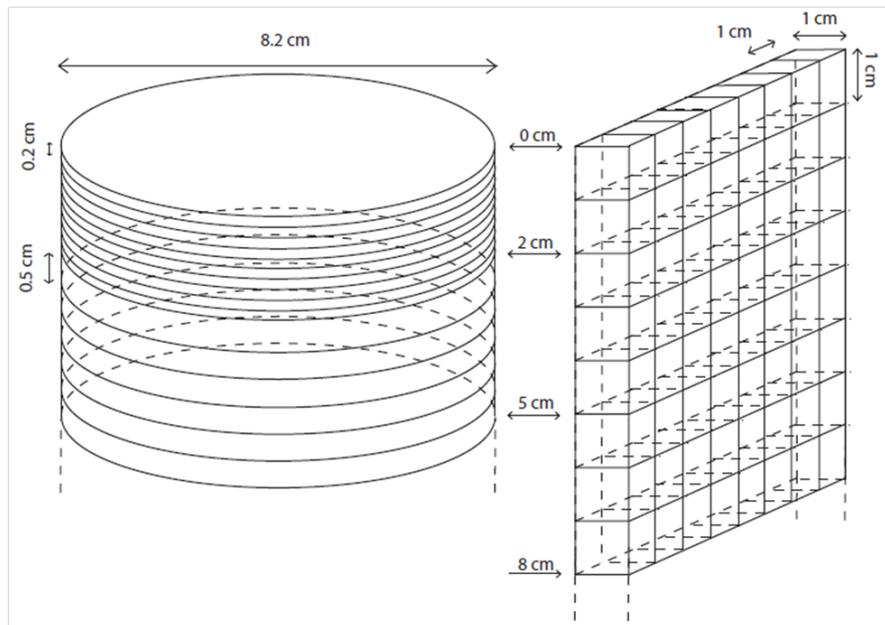


Figure 14 : Schéma des techniques d'échantillonnage de sédiment. A gauche : méthode classique par découpe de tranche cylindrique d'une carotte sédimentaire, à droite : méthode de prélèvement d'une tranche de sédiment prélevé en vis-à-vis du gel 2D et découpé en cube de 1cm^3 (modifiée d'après Thibault de Chanvalon *et al.* in prep.).

Dans cette étude, nous avons pu comparer les variations de densité des foraminifères entre une découpe de carotte classique et une tranche de sédiment (Figure 15). Les densités de foraminifères sont tout à fait comparables entre la carotte et la tranche de sédiment malgré la forte hétérogénéité latérale.

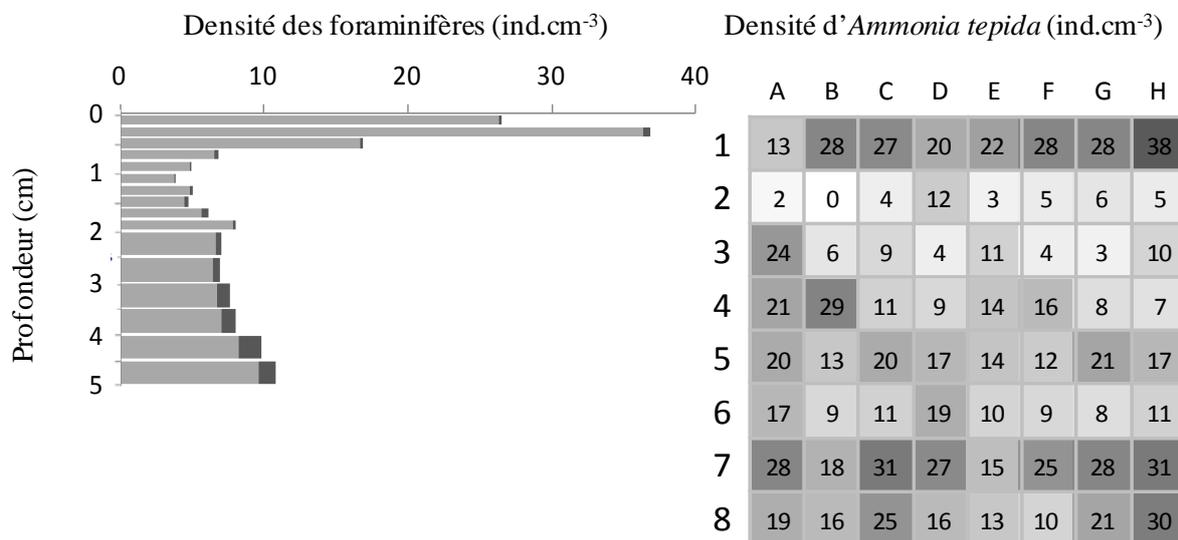


Figure 15 : Densité de foraminifères pour 1cm^3 échantillonné selon : (à gauche) la méthode classique par découpe de tranche cylindrique d'une carotte de sédiment et (à droite) la méthode de prélèvement d'une tranche de sédiment prélevé en vis-à-vis du gel 2D et découpé en cube de 1cm^3 (modifiée d'après Thibault de Chanvalon *et al.* in prep.)

Cependant l'utilisation de la tranche de sédiment, de part le faible volume de sédiment analysé pour chaque cube, présente le net avantage, par rapport à la technique classique de découpe de carotte, de diminuer considérablement le temps d'analyse des échantillons sous loupe à épifluorescence.

Cette nouvelle technique a permis d'observer l'hétérogénéité centimétrique horizontale et verticale présente dans ce milieu. L'analyse de la phase dissoute par gels 2D a montré qu'il n'existait pas de corrélation entre la distribution des foraminifères benthiques et celle du fer dissous.

Dans un futur très proche, nous pourrions également combiner la distribution de la méiofaune à la distribution d'espèces azotés de la phase dissoute (nitrate, nitrite, ammonium). Le prélèvement de sédiment par cette technique de découpe permet également l'analyse 2D du carbone organique total et de la phase solide du sédiment avec la possibilité de réaliser des attaques à l'ascorbate pour la mesure du Fe et du P associés aux oxydes de fer (données non présentées réalisées dans le cadre de la thèse d'Aubin Thibault de Chanvalon).

5. CONCLUSION

L'ensemble des développements méthodologiques réalisés au cours de cette thèse ont permis de mettre en avant des résultats préliminaires innovants quant à l'étude des foraminifères benthiques et du milieu dans lequel ils vivent. Dans un premier temps les premiers essais pour l'étude de la distribution en 2D des nitrates/nitrites et ammonium dans les sédiments ont permis d'obtenir des résultats prometteurs quant à l'étude des espèces azotées en 2D. L'utilisation de cette méthodologie dans les sédiments du Bassin d'Arcachon permettrait de vérifier à petite échelle spatiale l'absence supposée de nitrates dans les sédiments et, dans le cas contraire, d'étudier leur interaction avec l'herbier et les faunes de foraminifères benthiques. L'étude de la phase solide du sédiment a permis d'observer des structures biologiques et de les analyser par microfluorescence X. Cette approche s'avère donc complémentaire à notre précédente approche sur la phase dissoute mais nécessite encore une phase d'optimisation. Par cette analyse rapide nous avons, cependant, mis en évidence une remobilisation du Fe et du S à l'image des résultats obtenus dans la phase dissoute. A ce jour, il est important de réaliser ce prélèvement conjoint de sédiment et des eaux porales par DET 2D sur le Bassin d'Arcachon pour permettre de mieux comprendre les enrichissements en fer dissous observés en profondeur et la présence des spots de phosphate et de ses différentes sources (voir chapitre 4). L'utilisation couplée d'un enrésinement et de la microtomographie axiale à rayons X a permis d'identifier certains foraminifères benthiques dans leur environnement. Néanmoins avec cette méthodologie, il s'est avéré complexe d'identifier conjointement 1) l'ensemble des foraminifères observés et 2) les macrostructures telles que les racines ou les terriers. De plus, cette méthodologie ne permet pas de discriminer les individus vivants des individus morts, ce qui est primordial dans l'étude des microhabitats afin de justifier d'un habitat préférentiel pour la vie des organismes. Actuellement cette technique ne semble donc pas adaptée à l'étude des microhabitats benthiques de foraminifères autour

de structures biologiques ou sédimentaires de taille importante. En parallèle, une découpe de la tranche de sédiment en un sous-échantillonnage de 1 cm^3 a permis d'observer l'hétérogénéité centimétrique horizontale et verticale présente dans ce milieu en vis-à-vis des gels DET 2D. Une distribution particulière de l'espèce *Ammonia tepida* en lien avec les structures biogènes et non avec le fer dissous a été observée. Le déploiement de cette méthodologie sur le Bassin d'Arcachon serait une première approche intéressante afin d'observer la distribution des foraminifères en parallèle des microenvironnements liés à la présence des racines (*i.e.* enrichissements en fer dissous, spot de phosphate). Si la densité de l'herbier le permettait nous pourrions même diminuer la taille des échantillons pour augmenter la résolution spatiale.

En vue des développements réalisés et malgré les difficultés rencontrées, il est possible d'envisager dans un futur très proche l'analyse à haute résolution la distribution 2D des nitrates/ nitrites dans des environnements où des foraminifères benthiques ont présenté une capacité à dénitrifier. Un prélèvement de sédiment en vis-à-vis d'un gel 2D nitrate serait donc réalisable afin d'étudier la distribution des foraminifères benthiques après découpe de cube de 1 cm^3 . A ce jour les développements récents (Bernhard et Richardson, 2014) et nos travaux préliminaires permettent d'envisager le couplage de l'analyse non destructive de la chimie du solide avec la distribution des foraminifères vivants autour des macro et microstructures des sédiments.

En perspectives le montage idéal pour cette étude serait un couplage de nos gels DET 2D (Fe, DRP, $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$, NH_4^+) à une optode planaire à O_2 et à pH. La connaissance de la distribution de l'oxygène dans notre environnement s'avère primordiale étant donné son rôle majeur pour les organismes hétérotrophes et pour la dégradation de la matière organique. De plus au vu des observations faites sur la dissolution des foraminifères benthiques du Bassin d'Arcachon (chapitre 1), la connaissance de la distribution du pH semble être nécessaire. Afin d'étudier la distribution de la phase solide et des foraminifères benthiques en vis-à-vis des gels DET 2D et de l'optode planaire, une incubation *in situ* à l'aide d'un traceur de vitalité (*e.g.* CellTrackerTMGreen CMFDA) devrait être réalisée avant le prélèvement de la tranche de sédiment. Une fois prélevée, cette tranche devrait idéalement être enrésinée afin 1) de s'affranchir des perturbations liées à la décongélation et 2) de la manipuler facilement et sans contraintes de temps. Cette tranche pourrait ainsi être scannée en microfluorescence X puis découpée progressivement afin d'identifier dans un premier temps les macrostructures, puis les foraminifères benthiques associés à l'image de la méthode utilisée par Bernhard and Richardson (2014).

SYNTHESE GENERALE ET PERSPECTIVES

Synthèse générale et perspectives

1. LES RESULTATS MAJEURS REpondant A NOS OBJECTIFS DE TRAVAIL DE RECHERCHE

La dynamique de colonisation des herbiers de zostères influence la géochimie du sédiment par l'apport de matière organique et d'oxygène dans un milieu anoxique. Cela influence fortement la géochimie du sédiment au voisinage des racines. L'hypothèse sur laquelle repose la problématique de cette thèse est que ces racines créent des microenvironnements enrichis en oxygène, voire en nitrate (par réoxydation de l'ammonium présent dans le sédiment anoxique) et que ces microenvironnements constituent des milieux propices au développement de microhabitats localisés où les foraminifères benthiques vont prospérer puisque leur métabolisme peut être basé sur l'utilisation de l'oxygène comme accepteur d'électrons et, pour certains l'utilisation du nitrate. Ainsi, au cours de cette thèse de doctorat, notre travail a eu pour ambition de répondre principalement aux objectifs suivants :

- 1) La description des microenvironnements géochimiques générés par la présence de racines. Cet objectif requérant le développement de techniques d'imagerie chimique en 2 dimensions et à l'échelle submillimétrique
- 2) Préciser l'influence de ces microenvironnements dans le recyclage benthique (remobilisation dans l'eau interstitielle et, le cas échéant, vers la colonne d'eau), d'éléments majeurs tels que l'azote, le phosphore, le fer et le soufre.
- 3) Enfin, à partir du fait que les processus métaboliques chez les foraminifères semblent très variés et relativement peu connus, quelles pouvaient être les interactions entre le fonctionnement des herbiers et l'écologie des foraminifères, qui sont un groupe d'organismes dont l'influence sur les cycles biogéochimiques en milieu marin est trop souvent négligée ?

Pour répondre à ces objectifs, des analyses multidisciplinaires à différentes échelles ont été mises en place :

- 1- Une étude de l'écologie des foraminifères benthiques à échelle centimétrique afin d'actualiser les connaissances au niveau de la littérature récente ;
- 2- Un développement de techniques d'analyse à l'échelle des individus (*i.e.* micrométrique) permettant d'étudier leur métabolisme, de décrire les microenvironnements géochimiques dans lesquelles ils semblent mieux adaptés au regard de certaines fonctions métaboliques spécifiques donc de décrire aussi leur microdistribution autour des racines.

La première partie de ce travail a permis d'étudier la distribution des trois espèces majeures de foraminifères benthiques présentes dans les sédiments colonisés ou non par l'herbier à *Zostera noltei* à

l'échelle de la station d'étude (**Chapitre 1**). Dans cette étude, les sédiments qualifiés comme « non colonisés » ou « nus » serait en réalité analogues à un site en régression. Par conséquence, la partie foliaire de l'herbier ne se développe plus, mais les systèmes racinaires des herbiers précédemment en place sont présents, en cours de dégradation. Chacune des 3 espèces de foraminifères observées répond différemment aux caractéristiques géochimiques de l'environnement. Les figures 1 et 2 résument les distributions et les hypothèses de fonctions biologiques énoncées au cours de cette thèse et permettent d'expliquer synthétiquement l'écologie des espèces de foraminifères benthiques.

Ammonia tepida et *Haynesina germanica* vivent principalement en surface (de 0 à 0,5 cm de profondeur) dans la zone sédimentaire la plus riche en matière organique labile et en oxygène. En présence de l'herbier, les populations d'*A. tepida* et *H. germanica* sont aussi présentes en profondeur (jusqu'à 1,5 cm). Cette distribution endopélique des espèces calcaires dans les sédiments colonisés par les herbiers peut s'expliquer par la capacité des herbiers à exsuder de la matière organique et de l'oxygène aux niveaux des racines. La présence de l'herbier favoriserait donc l'installation des espèces de surface plus en profondeur. De plus en février, les densités de ces deux espèces apparaissent maximales probablement en lien avec un bloom de microphytobenthos à l'inverse de juillet où les densités sont faibles et où des pH inférieurs à 7 sont observés sur une importante profondeur de sédiment. Lors de ces conditions de pH acide, ces deux espèces de surface, composées d'un test calcaire, apparaissent sévèrement décalcifiées mais toujours vivantes. La distribution d'*H. germanica* semble être plus impactée par les faibles valeurs de pH. Elle est alors très peu présente dans les sédiments non végétalisés et elle est localisée principalement entre 0,5 et 1 cm de profondeur lorsque l'herbier est présent. La présence de l'herbier semble créer un microenvironnement favorable à la survie de l'espèce *H. germanica*. Ces deux espèces réagissent donc fortement aux variations environnementales que ce soit en augmentant leur densité (et donc en se reproduisant) lors d'un bloom phytoplanctonique ou en étant moins abondantes lors de condition acides. Cette étude de la distribution verticale des foraminifères benthiques vivants a permis également de mettre en avant un microhabitat profond occupée par l'espèce *E. scabra*, bien différencié des microhabitats des deux espèces calcaires. En effet *E. scabra* est présente jusqu'à 7 cm de profondeur apparaissant ainsi moins dépendante de la matière organique très fraîche mais répondant aussi à la dynamique des herbiers puisque leur densité était maximale en été et en vase non végétalisée, analogue à un site en régression.

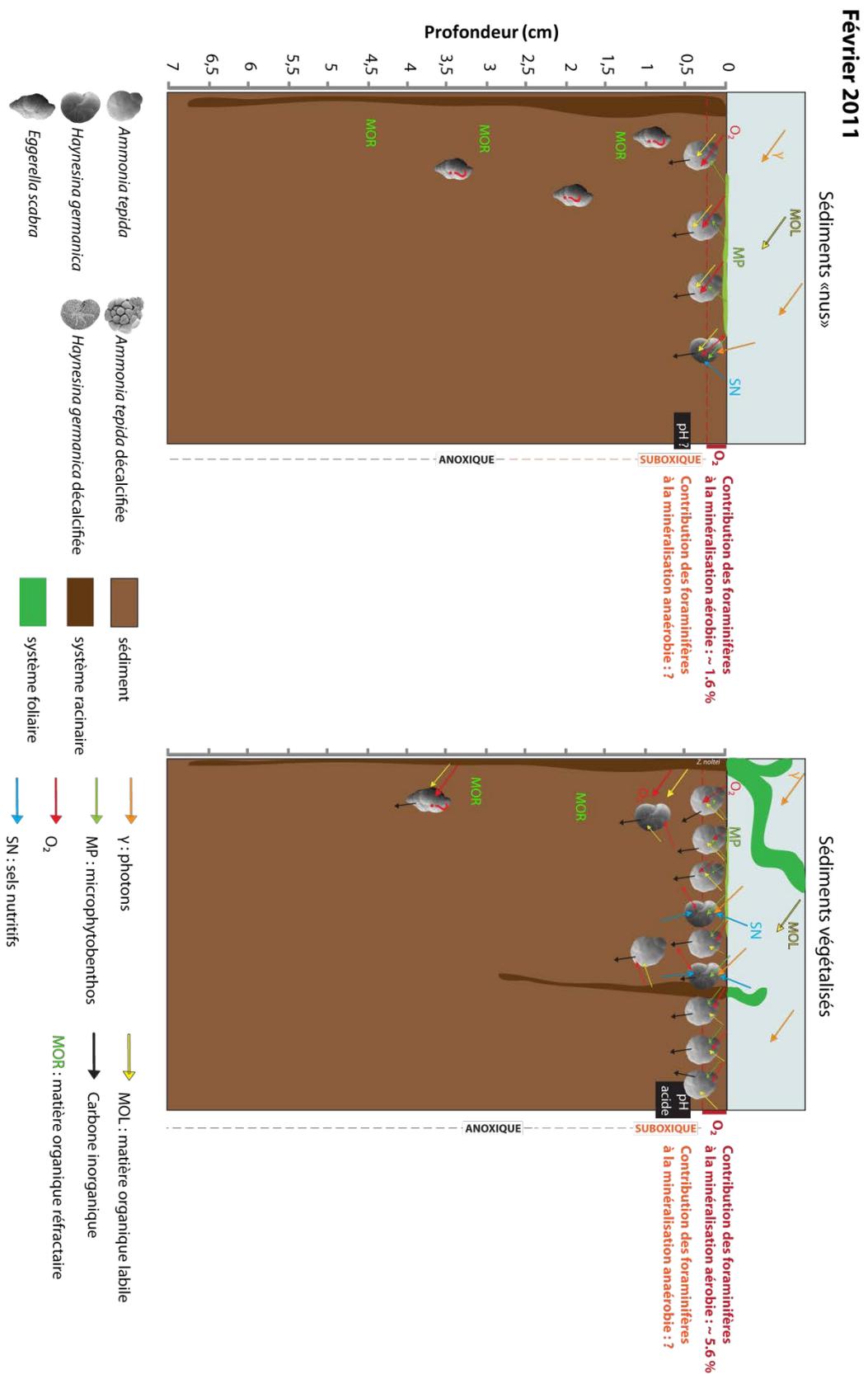


Figure 1 : Schéma conceptuel de la distribution d'*Ammonia tepida*, *Haynesina germanica* et *Eggerella scabra* en Février 2011 dans les sédiments « nus » et végétalisés du Bassin d’Arcachon. Aucune donnée de pH n’était disponible pour les sédiments « nus » de février 2011.

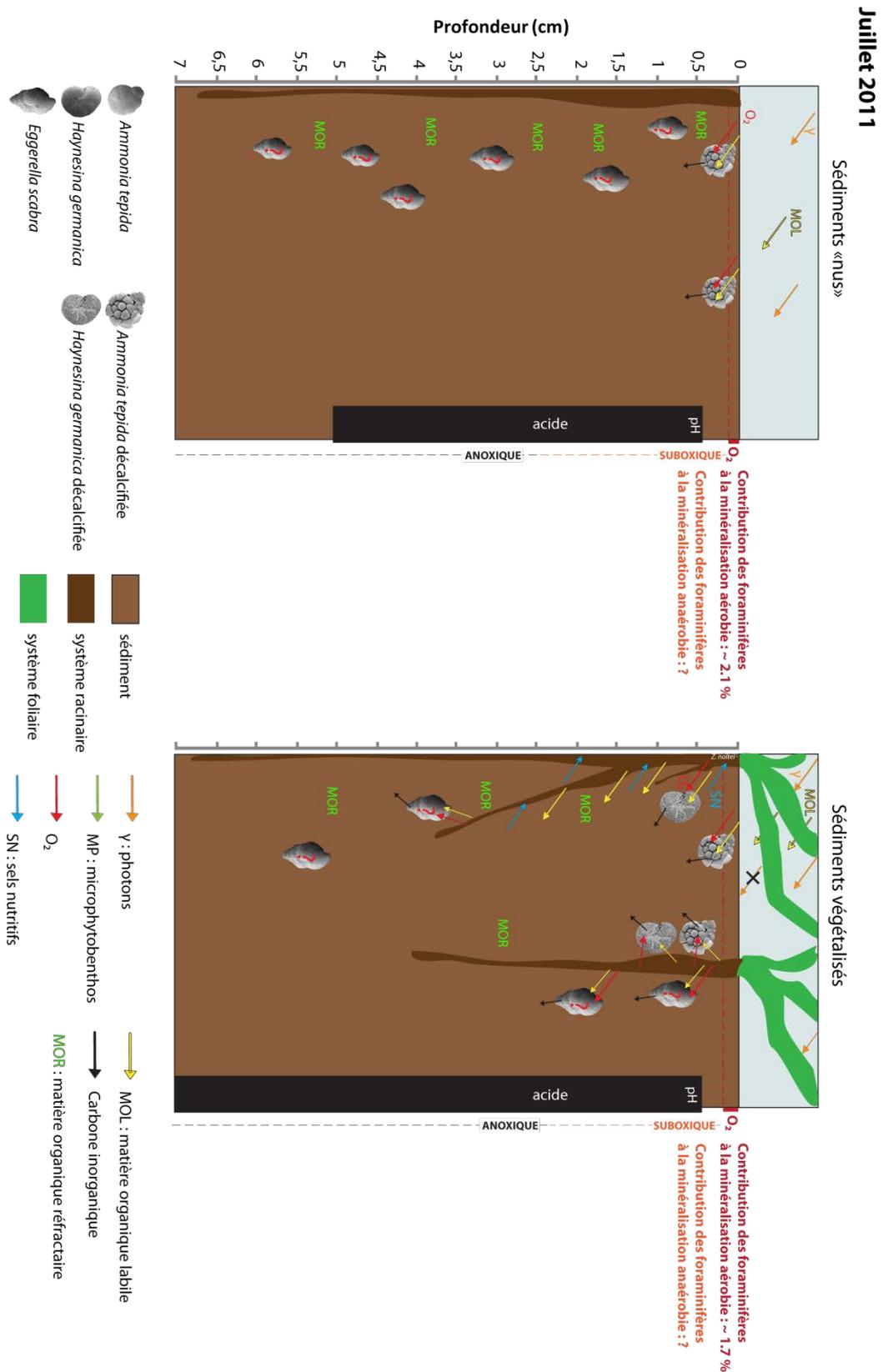


Figure 2 : Schéma conceptuel de la distribution d'*Ammonia tepida*, *Haynesina germanica* et *Eggerella scabra* en Juillet 2011 dans les sédiments « nus » et végétalisés du Bassin d'Arcachon. Aucune donnée de pH n'était disponible pour les sédiments « nus » de février 2011.

Pour comprendre l'écologie de ces espèces, il est primordial de s'intéresser à leur métabolisme et à la géochimie qui peut contrôler le positionnement de leur microhabitat dans la colonne sédimentaire. D'un point de vue métabolique, *A. tepida* semble être une espèce hétérotrophe réalisant principalement la respiration aérobie utilisant la matière organique labile et l'oxygène pour vivre préférentiellement à la surface des sédiments. Sa présence en profondeur (*i.e.* dans la zone suboxique) pourrait s'expliquer par la mise en place d'un métabolisme alternatif utilisant l'endosymbiose microbienne pour réaliser de la dénitrification comme décrit par Nomaki *et al.* (2014) pour des *A. beccarii* provenant d'une vase intertidale japonaise. *H. germanica* a la particularité de posséder des chloroplastes séquestrés dans sa cellule. Nous avons montré dans ce travail de thèse que ces chloroplastes conféraient aux *H. germanica* du Bassin d'Arcachon la capacité de réaliser la photosynthèse. Ainsi au cours du **chapitre 2**, nous avons mis en évidence la mixotrophie chez *H. germanica* du Bassin d'Arcachon et montré qu'en présence de lumière, la production d'oxygène pouvait parfois dépasser sa consommation. En intégrant cette information aux données d'écologie du **chapitre 1**, nous avons suggéré que :

- En février (conditions hivernales de densité minimale en herbiers), la présence d'un bloom de microphytobenthos permettrait aux *H. germanica* de consommer des diatomées au cours d'une phase d'hétérotrophie en consommant l'oxygène du milieu. Ce régime hétérotrophe permet à cette espèce de séquestrer, au sein de sa cellule, des chloroplastes provenant des proies ingérées. Au cours des périodes d'autotrophie, les sels nutritifs présents en quantité non limitante dans les eaux interstitielles de surface et la pénétration maximale de lumière dans les sédiments de surface leur permettrait de produire de la biomasse. A ce jour notre étude ne permet pas de connaître le mode trophique privilégié par *H. germanica*. Cette espèce pourrait, une fois les chloroplastes séquestrés, réaliser une mixotrophie à dominante hétérotrophe, utilisant l'autotrophie en cas de nécessité (*e.g.* forte compétition, manque de matière organique labile dans le milieu, hypoxie) ou de réaliser une mixotrophie alternant l'hétérotrophie et l'autotrophie selon les conditions de lumière voire de favoriser l'autotrophie une fois les chloroplastes séquestrés et de ne pratiquer l'hétérotrophie qu'en cas de nécessité (*e.g.* disponibilité en nutriments ou conditions de surface non favorables).
- En juillet, les conditions de pH observées dans les sédiments nus ne favorisent pas le développement des espèces calcaires comme *H. germanica*. Les quelques individus présents de cette espèce peuvent néanmoins réaliser de l'autotrophie en raison de la présence de lumière et de sels nutritifs non utilisés par l'herbier. A l'inverse dans les sédiments végétalisés, cette autotrophie semble plus difficile à réaliser en raison de la forte densité foliaire qui réduit la luminosité à la surface des sédiments et en raison du système racinaire bien développé qui consomme une importante quantité des sels nutritifs disponibles comme nous avons pu l'étudier dans le **chapitre 4**. En revanche, les exsudats de matière organique et le relargage d'oxygène réalisés par les racines couplés à une possible réaugmentation du pH dans un environnement où le métabolisme bactérien anaérobie rend le milieu plus basique,

permet un développement des *H. germanica* qui ont alors la possibilité d'être hétérotrophe dans les niveaux inférieurs du sédiment.

Grâce aux données des taux de respiration de foraminifères présents dans la zone oxiqne acquises au cours d'expérience en laboratoire, nous avons pu évaluer le rôle de ces foraminifères benthiques dans le fonctionnement de la vasière, proposant aussi une approche originale et innovante à l'étude des vasières intertidales. En effet, les foraminifères, quoiqu'abondants sont la plupart du temps négligés dans les études écologiques ou biogéochimiques. Pourtant, nous avons pu montrer que leur contribution à la reminéralisation aérobie de la matière organique n'est pas négligeable atteignant jusqu'à 7% de la reminéralisation totale. La contribution des foraminifères benthiques au recyclage du carbone est donc ici 5 fois plus importante que ce qui a été enregistrées dans d'autres environnements côtiers des façades Atlantique et Méditerranéenne ou en milieu marin ouvert dans l'Atlantique Nord (Geslin *et al.* 2011). A cette minéralisation, l'espèce *Ammonia tepida* joue un rôle prépondérant.

Dans les sédiments de surface et jusqu'aux sédiments suboxiques à anoxiques du Bassin d'Arcachon (*i.e.* suboxique : où l'oxygène et les sulfures ne sont pas détectables ; anoxiques : où les sulfures sont détectables, voir **chapitre 3 et 4**), *Eggerella scabra* est présente. En présence d'oxygène, cette espèce est capable de réaliser de la respiration aérobie. Néanmoins, en raison de sa faible densité dans les sédiments oxiques, la contribution de cette espèce à la reminéralisation aérobie de la matière organique reste faible. En profondeur, lorsque l'oxygène est absent, le métabolisme permettant à *E. scabra* de vivre dans ces sédiments reste inconnu. Dans les sédiments à herbiers, cette espèce pourrait être localisée à proximité des racines et utiliser pour son métabolisme les relargages d'oxygène et de matière organique labile ou la matière organique plus réfractaire présente dans les sédiments. Néanmoins, la similarité de la distribution de cette espèce dans les sédiments non végétalisés (réseau racinaire inactif) invalide cette hypothèse. Il semblerait donc qu'un autre métabolisme permette aux *Eggerella scabra* de vivre sur l'ensemble de la colonne sédimentaire. Une étude récente a montré qu'*Eggerella scabra* possédait des nitrates intracellulaires dans sa cellule (Langlet, données non publiées ; Langlet 2014). Néanmoins dans cette même étude et dans nos mesures sur des individus du Bassin d'Arcachon, les taux de dénitrification ont donné des résultats non détectables. Une approche indirecte permettant de mieux décrire le milieu de vie de ces organismes permettrait d'émettre des hypothèses nouvelles sur les processus métaboliques permettant à *Eggerella scabra*, notamment, de vivre dans un habitat endopélique relativement profond et, a priori, défavorable.

Ainsi afin de mieux décrire le milieu de vie de ces organismes et l'influence du réseau racinaire sur leur distribution par rapport aux microenvironnements générés par le fonctionnement des racines, il fallait travailler à l'échelle submillimétrique à la fois pour décrire les structures biologiques et/ou sédimentaires, la chimie de la phase particulaire et surtout de la phase dissoute ainsi que la distribution de la méiofaune. Nous avons entrepris le développement de techniques d'analyse de la distribution en 2D d'espèces chimiques de la phase dissoute telles que Fe^{2+} , HPO_4^{3-} , NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ , H_2S . Certaines

de ces espèces chimiques sont par exemple utilisées par les foraminifères pour la dénitrification (*i.e.* nitrates) mais également par l'herbier pour sa croissance (*i.e.* phosphates, nitrates, ammonium) et toutes permettent de tracer des processus de décomposition de la matière organique. D'autres espèces chimiques (*i.e.* fer dissous, sulfures) témoignent aussi du fonctionnement biogéochimique des racines qui par le relargage de dioxygène, favorisent, par exemple la réoxydation d'espèces réduites telles que H_2S et Fe^{2+} . Nous avons ainsi publié une méthode permettant de réaliser simultanément des images de la distribution du fer dissous, du phosphore réactif dissous et du dihydrogène sulfuré à l'échelle submillimétrique sur une surface de $18 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$ par l'utilisation couplée d'un gel DET 2D et de la caméra hyperspectrale (**Chapitre 3**). Une comparaison de la distribution du Fe^{2+} , du DRP et du H_2S dans les sédiments à herbiers et les sédiments non végétalisés a permis de mettre en évidence des différences notables entre ces deux environnements. Dans les zones végétalisées, on constate (**Chapitre 4, figure 18**) :

- 1) une zone riche en Fe^{2+} moins épaisse et apparaissant plus éloignée de la surface du sédiment ;
- 2) une plus forte hétérogénéité latérale du Fe^{2+} avec des prolongements vers la profondeur de la zone de remobilisation de Fe^{2+} ;
- 3) une apparition de H_2S moins en profondeur et présentant une hétérogénéité latérale en opposition à la distribution du Fe^{2+} ;
- et 4) la détection de DRP sur la quasi-totalité du sédiment et une plus faible occurrence de spots de DRP sur l'ensemble des zones décrites.

De manière plus détaillée, il semble que dans ces sédiments végétalisés, les phosphates présents et associés aux oxydes de fer semblent être utilisés par la plante pour son métabolisme une fois désorbés. Un rapport Fe : P de 4,5 est alors observé. De plus dans ces sédiments, les principaux spots de DRP observables en profondeur sont associés à la réduction du sulfate, témoignant de la dégradation très localisées de fortes quantités de matière organique. Ce même processus est également observés dans les sédiments non végétalisés et se différencie des spots de DRP observables dans la partie basse de la zone riche en fer dissous. Ces derniers semblent résulter de la combinaison de la désorption des oxydes de fer et de la matière organique qui est oxydée par sulfatoréduction où un rapport Fe : P de 1,9 est observé.

Les différentes observations faites sur la distribution en spots du DRP appellent à une réévaluation de l'interprétation des profils obtenus par des techniques classiques (peepers et carottes) pour la modélisation de la réactivité du phosphore et des flux benthiques qui en découlent. Une approche 2D permettrait d'intégrer au mieux cette distribution particulière du phosphore dans les sédiments et notamment de prendre en compte l'adsorption importante réalisée par la couche riche en fer. De plus, une résolution au moins millimétrique permettrait l'évaluation de flux diffusifs réalistes pour le fer dissous prenant ainsi en compte les variabilités millimétriques de distribution du fer observées dans les

sédiments. De plus, la résolution typique de découpe de carottes surestime ces flux car le gradient à l'interface est augmenté par la perte de résolution verticale et demande un réexamen. Le développement du 2D permet d'atteindre une représentativité à l'échelle de la station que les techniques de microélectrodes ou de gel 1D ne permettent pas. Ce développement 2D permet alors de concilier les prérequis de taille représentative d'échantillon et de résolution spatiale.

De plus, les particularités mises en évidence par ces espèces chimiques (*i.e.* enrichissement en Fe^{2+} , spots de DRP) nous amènent à penser qu'une distribution particulière des foraminifères benthiques est possible dans les sédiments à herbiers de *Zostera noltei* en lien avec la dynamique de l'oxygène et de la matière organique dans ces milieux. Il semblerait logique que les foraminifères puissent être observées en plus forte densité à proximité des structures riches en fer dissous indicateur d'un relargage d'oxygène en profondeur voire de spots de matière organique.

Dans le **chapitre 5**, une méthodologie nous permettant d'étudier l'hétérogénéité spatiale en 2D des espèces azotées $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ et NH_4^+ a été développée. Des gels DET 2D en polyacrylamide sont utilisés pour $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ (*i.e.* identiques aux gels Fe^{2+} et DRP) tandis que des gels en agarose doivent être préparés pour l'étude de NH_4^+ en raison de la composition du polyacrylamide qui contient du NH_4^+ . Les résultats préliminaires de cette étude sont encourageants mais nécessitent d'être confirmés, et un déploiement sur le Bassin d'Arcachon reste à faire de manière à démontrer l'utilité de cette technique sur ces paramètres. En effet, un intérêt tout particulier est porté pour l'étude de ces espèces chimiques sur le Bassin d'Arcachon car à ce jour de très faibles concentrations en nitrates dans les sédiments ont été mesurées par l'approche classique de découpe de carotte de sédiment suivie d'une centrifugation. Ces données 1D ne permettent pas d'étudier précisément la dynamique de ces espèces azotées dans le compartiment sédimentaire des herbiers de *Zostera noltei* du Bassin d'Arcachon (Deborde *et al.* 2008; Delgard *et al.* submitted b). Nous avons formulé l'hypothèse que la grande quantité d'ammonium produite lors de la diagenèse dans le Bassin peut générer des nitrates/ nitrites lorsque l'ammonium diffuse près des environnements réoxygénés par les racines de zostères. Cette hypothèse reste donc à être validée.

Dans le but de comprendre la distribution des foraminifères à l'échelle des individus (*i.e.* micrométrique) et les facteurs pouvant influencer cette distribution, nous avons utilisées, dans le **chapitre 5**, une technique d'échantillonnage permettant d'analyser le sédiment en 2 dimensions. Pour cela un prélèvement d'une tranche de sédiment en vis-à-vis de gels 2D a été effectuée. A partir de cette tranche de sédiment, nous avons analysé la distribution en 2D des espèces chimiques de la phase solide par microfluorescence X. Cette étude est complémentaire à l'étude de la phase dissoute en raison des nombreux processus de dissolution/précipitation induits par le fonctionnement biogéochimique de la colonne sédimentaire. En effet, la phase solide est constituée en partie de composés pouvant être les oxydants de la matière organique lors de la diagenèse précoce (*i.e.* oxydes de fer, oxydes de manganèse) et qui vont subir une dissolution réductrice. De plus, une analyse de la

phase solide du sédiment permet de mettre en avant les structures biologiques dont les racines et les terriers. Cette méthode non destructive d'analyse est utilisée pour identifier les éléments chimiques présents dans des échantillons solides, liquides ou en poudre et d'en déterminer les concentrations. Cette méthode s'intègre parfaitement à notre étude où nous privilégions les techniques non destructives afin de mesurer simultanément la chimie élémentaire, les foraminifères benthiques et le carbone organique. Encore au stade préliminaire, l'analyse de cette tranche de sédiment par microfluorescence X s'est avérée néanmoins prometteuse pour étudier la distribution spatiale de la phase solide. Une contrainte liée à la décongélation et au dessèchement sous vide de la tranche de sédiment a limité la précision et la durée des analyses à micro-échelle. Cette nouvelle méthodologie a cependant permis de mettre en avant une remobilisation du Fe et du S à l'image des résultats obtenus dans la phase dissoute, où l'on observe des structures verticales riches en Fe^{2+} et appauvries en H_2S pouvant résulter d'une activité biologique (racine ou bioturbation).

Dans cette même partie (**chapitre 5**), nous avons initié des travaux permettant de nous focaliser sur l'étude de la distribution des foraminifères benthiques à l'échelle de l'individu. Pour cela nous avons mis en place une étude préliminaire afin d'observer la distribution en 3D des foraminifères benthiques présents au niveau des structures biogènes dans une colonne sédimentaire grâce à l'utilisation de la microtomographie axiale à rayons X. Cette technique de numérisation en 3D d'objets d'étude permet de visualiser à haute résolution l'ensemble des structures des échantillons sans destruction de cet objet. Les premières tentatives d'observation ont montré des résultats encourageants mais néanmoins non adaptés à nos objectifs. Les analyses préliminaires d'un bloc de sédiment de surface enrésiné nous ont permis d'observer et d'identifier certains spécimens de foraminifères dans le sédiment. Néanmoins, à ce niveau d'analyse, l'identification précise des espèces et la possibilité de discriminer les individus vivants des morts n'ont pu être réalisées. Dans le but d'atteindre le même objectif et pour n'étudier que les foraminifères vivants en vis-à-vis de gel DET 2D mais à une échelle centimétrique, la découpe d'une plaque de sédiment a été réalisée tous les centimètres afin de coupler les processus diagénétiques à la distribution des foraminifères benthiques. Cette étude réalisée sur une vasière de l'estuaire de la Loire a montré des variations de la distribution latérale des faunes. Une densité importante d'*A. tepida* en surface a été observée, à l'image de la distribution observée dans notre étude (**chapitre 1**). En profondeur, la distribution des faunes semble être agencée par patches. Cette organisation spatiale est rapprochée de celle des patches de carbone organique labile et non à la distribution du fer dissous. A ce jour et en raison de la simplicité de la méthode et de son utilisation, il serait intéressant de déployer cette méthodologie sur le Bassin d'Arcachon afin d'observer la distribution des foraminifères en parallèle des microenvironnements liés à la présence des racines (*i.e.* enrichissements en fer dissous, spots de phosphate).

2. LES APPORTS DE CE TRAVAIL DE RECHERCHE A LA PROBLEMATIQUE IZOFLUX

Ce travail de recherche s'insère dans le cadre du projet ANR-IZOFLUX qui avait pour objectif principal de caractériser les relations entre flux biogéochimiques et processus benthiques dans les sédiments colonisés par les herbiers de *Zostera noltei*. Les herbiers de zostères, comme la plupart des autres phanérogames, sont en régression (Orth *et al.* 2006). Cette régression s'avère être extrêmement dommageable pour la faune qu'elle abrite et pour l'action de régulation des processus d'eutrophisation effectuée par les herbiers. En effet ces herbiers jouent un rôle primordial dans le contrôle des concentrations de composés azotés et phosphorés et ainsi dans la régulation des processus d'eutrophisation (de Wit *et al.* 2001 ; Deborde *et al.* 2008 ; Delgard *et al.* submitted b). Les données obtenues au cours de ces 3 années de recherche permettent de préciser les conclusions de la littérature réalisées par méthode classique de découpe de carotte soit l'existence d'un pompage des phosphates par l'herbier nécessaire pour le métabolisme de l'herbier. Dans les sédiments du Bassin d'Arcachon, les phosphates sont présents exclusivement sous forme de spots (**Chapitre 4**) et sont associés à la reminéralisation des oxydes de fer dans la rhizosphère puis à la reminéralisation de la matière organique couplée à la sulfato-réduction plus en profondeur. A partir de nos observations, différentes hypothèses peuvent être avancées quant à l'action d'une régression des herbiers de *Zostera noltei* sur les sédiments du Bassin d'Arcachon. Une régression des herbiers entraînerait tout d'abord un stock important de matière organique et une remobilisation des oxydes de fer riches en phosphate. La dégradation de cette matière organique et la remobilisation des oxydes de fer favoriseraient alors la remobilisation du DRP dans les sédiments. L'absence de l'herbier pour utiliser ce DRP, conduirait alors à une augmentation importante de phosphates dans la colonne d'eau, s'additionnant aux autres sources de sels nutritifs comme les rivières, accentuant à plus long terme, l'effet d'eutrophisation sur le Bassin d'Arcachon. De plus, la disparition de l'herbier pourrait entraîner également une modification des conditions géochimiques par un apport important de matière organique réfractaire provenant de la dégradation de l'herbier. Cet apport pourrait conduire alors à une forte diminution du pH et à une forte dissolution des tests calcaires de certaines espèces de foraminifères. Ces espèces calcaires pourraient alors n'être présentes qu'en très faible quantité, à l'image des densités observées en juillet 2011 dans les sédiments non végétalisés où les anciennes racines de l'herbier sont en cours de dégradation (**Chapitre 1**). Cependant de telles conditions évolueront au cours du temps par exemple par l'action métabolique des bactéries anaérobies qui basifie le milieu, il serait donc intéressant d'étudier les variations du pH et des faunes dans ces sédiments.

3. LES FORAMINIFERES EN MILIEU LAGUNAIRE INTERTIDAL : DE BONS BIO-INDICATEURS DE L'ACTUEL ET DU PASSE ?

Depuis 1960 environ, les foraminifères benthiques sont utilisés pour décrire l'état des environnements marins (Schönfeld *et al.* 2012). Leur densité dans les sédiments marins, variant entre 100 et 10000 individus vivants.cm² (Murray, 2006), leur forte diversité et leur réponse spécifique ainsi que leur cycle de vie court permettent aux foraminifères benthiques de répondre rapidement aux changements environnementaux. Les foraminifères benthiques sont ainsi considérés comme de bons bio-indicateurs. Dans notre étude, les foraminifères benthiques à tests calcaires semblent être de bons indicateurs de milieu transitionnel. En effet, dans la littérature *A. tepida* et *H. germanica* sont retrouvées exclusivement dans des sédiments marins vaseux intertidaux (*e.g.* Alve et Murray 2001, 1994 ; Debenay *et al.* 2006 ; Morvan *et al.* 2006). La présence de l'espèce agglutinée, *Eggerella scabra*, semble pour sa part être indicatrice de sédiments riches en matière organique peu labile (Murray, 2006 ; Diz and Francés, 2008) et notamment de sédiments végétalisés comme l'ont déjà montré les travaux de Le Campion (1970) et Redois et Debenay (1996).

Les foraminifères benthiques à tests calcaires et certains à tests agglutinés ont la capacité de se fossiliser, et sont ainsi préservés dans les sédiments anciens. Il est alors possible à partir des assemblages de foraminifères benthiques de reconstituer les paléoenvironnements. Cependant les dissolutions importantes observées sur les individus vivants à tests calcaires dans le **chapitre 1** ne favorisent pas la conservation et ne traduisent donc pas seulement des variations de densité des populations mais aussi de la variabilité de la conservation. En revanche comme l'espèce *E. scabra* est indicatrice d'herbiers, l'étude de cette espèce dans des carottes sédimentaires permettrait, dans le Bassin d'Arcachon, d'apporter des informations sur les variations spatiales et temporelles de l'herbier à l'image de ce qu'ont fait par exemple Serandrei-Barbero *et al.* (2006) dans la lagune de Venise. Pour mener une telle étude sur la reconstitution de la présence ou non des herbiers dans le Bassin d'Arcachon au cours du temps, il serait néanmoins nécessaire au préalable d'étudier des sédiments actuels proches de l'herbier et sans présence de racine en cours de dégradation afin de confirmer l'absence d'*E. scabra* dans des sédiments strictement non végétalisés. Les évolutions spatiale et temporelle de l'herbier pourraient ainsi être obtenues.

4. LES PERSPECTIVES DE CE TRAVAIL DE RECHERCHE

4.1. Modélisation en 2D du recyclage des éléments majeurs

L'approche en 2D obtenue par les gels DET pour étudier la distribution de la géochimie nécessite également un traitement particulier de modélisation qui sera développé à la suite de cette étude. En effet afin de répondre à l'objectif initial d'IZOFLUX qui porte sur la quantification des flux benthiques, il est nécessaire de modéliser en 2D les résultats obtenus dans le **chapitre 4** (*i.e.* enrichissement en Fe^{2+} , spots de DRP lié à la sulfatoréduction ou aux oxydes de fer). Cette modélisation permettrait de prendre en compte les différents processus interagissant au sein des sédiments observés. Cette quantification pourrait être réalisée sur la base de la publication de Soetaert et Meysman (2012) et du package ReacTran. Ce package permettrait de modéliser en 1, 2 ou 3D des composés réactifs à la géométrie simple. Nous pourrions ainsi prendre en compte la présence des spots de DRP, les structures de Fe^{2+} et les réactions associées avec H_2S afin de quantifier plus précisément les flux de phosphate et d'observer le pompage existant par l'herbier et par conséquent de déduire l'impact de sa régression. Cette méthodologie pourrait être complétée par la mesure directe des flux par l'utilisation de chambres benthiques dont la représentativité semble plus importante à l'échelle métrique.

4.2. Un protocole expérimental idéal pour l'étude de la méiofaune benthique et de ses microenvironnements biogéochimiques

Afin de répondre à notre objectif d'étude sur les microenvironnements créés dans les sédiments par les herbiers et au vu des résultats de cette thèse de doctorat, nous sommes en mesure d'établir un protocole expérimental relativement complet pour une étude de la méiofaune benthique et de ses microenvironnements géochimiques qui comprendrait l'échantillonnage simultané de la phase solide et de la phase dissoute dans lesquelles seraient réalisées une série d'analyse citées ci-dessous et schématisée sur la figure 3:

1) Sur la phase solide:

- a. Analyse de la distribution des foraminifères benthiques vivants en 2 ou 3 D à l'échelle du système racinaire ;
- b. Description visuelle des structures biologiques et sédimentaires pouvant contrôler la distribution des foraminifères benthiques vivants et des espèces chimiques dissoutes ;
- c. Analyse des espèces chimiques de la phase solide comme le calcium afin de donner une information sur la distribution de coquilles calcaires ou sur la précipitation en CaCO_3 ou comme le fer et le soufre pour apporter des informations complémentaires à la distribution des espèces chimiques dissoutes ;
- d. Mesure du carbone organique, des pigments ;

- 2) Sur la phase dissoute du sédiment dans le but de quantifier les espèces chimiques clés pour le métabolisme des foraminifères benthiques et des herbiers soit :
- a. l'oxygène pour étudier la respiration aérobie des foraminifères benthiques de surface et pour observer les relarguages du système racinaire de l'herbier pouvant favoriser la création de microhabitat ;
 - b. le nitrate pour comprendre l'écologie des foraminifères benthiques, leur stratégie de survie face à l'absence d'oxygène, la disponibilité en nutriment pour réaliser de l'autotrophie et son utilisation par l'herbier pour sa croissance ;
 - c. l'ammonium pour étudier également sa distribution comme élément essentiel pour la croissance de l'herbier et sa disponibilité pour les individus autotrophes ainsi que pour mieux décrire les processus d'oxydoréduction autour de l'azote;
 - d. les phosphates également pour connaître le pompage existant par l'herbier et la disponibilité en nutriments pour l'autotrophie ;
 - e. le fer comme indicateur de l'activité des structures biogènes en termes de relarguage d'oxygène en milieu réducteur et comme contrôle de la mobilité des phosphates ;
 - f. les sulfures pour analyser un produit final de la dégradation de la matière organique interagissant fortement avec le fer et les phosphates et comme marqueur de toxicité pour les foraminifères ;
 - g. le pH et l'alcalinité afin d'étudier les phénomènes de dissolution observables chez les foraminifères benthiques et de juger de l'impact de la régression des herbiers sur les sédiments et la diagenèse précoce par l'acidification du milieu.

Pour cela différentes méthodologies pourraient être utilisées au vu des résultats obtenus au cours de cette thèse. Afin d'obtenir une complémentarité des analyses, un prélèvement de sédiment en vis-à-vis de la phase dissoute serait primordial et facilement réalisable.

D'après nos résultats, l'étude de la tranche de sédiment nécessiterait un enrésinement afin 1) de réduire très fortement les contraintes d'analyse de la phase solide (*i.e.* givre, temps d'analyse *versus* temps de décongélation/ évaporation) et 2) d'étudier la distribution des foraminifères benthiques vivants par ajout *in situ* d'un traceur de vitalité, le Cell TrackerTM Green, avant le retrait de la tranche de sédiment. A l'image des travaux de Bernhard et Richardson (2014), nous pourrions observer la tranche de sédiment enrésiné par microscope à épifluorescence pour l'étude des biocénoses de la méiofaune dans son milieu de vie. Puis pour différencier les espèces présentes dans le sédiment, cette tranche de sédiment enrésiné devrait être découpée pour une nouvelle observation par microscope à épifluorescence. L'utilisation de la microtomographie axiale à rayons X permettrait d'observer en 3D et aux différentes échelles, les interactions existantes entre la méiofaune et les structures présentes dans les sédiments enrésinés. Ce travail permettrait d'obtenir une image de la distribution des foraminifères et des structures biologiques et/ ou sédimentaires telles que représentées sur la figure 3A. De plus, l'étude de la distribution des espèces chimiques dans la phase solide pourrait être réalisée

par microfluorescence X à partir de la même tranche de sédiment enrésiné pour les foraminifères afin d'analyser en complémentarité, par exemple le Ca, le Fe et le S comme schématisés dans la figure 3B. Une analyse par imagerie hyperspectrale permettrait également d'étudier les spectres de la chlorophylle *a* et *c* comme décrits par exemple dans Méléder *et al.* (2003) à partir de la tranche de sédiment enrésiné sous réserve que la résine présente des spectres d'absorption bien différenciés des précédents. Cette étude présenterait la distribution verticale du microphytobenthos notamment, ce qui s'avère primordial pour la compréhension de l'écologie des faunes de foraminifères. La dynamique du microphytobenthos pourrait être mise en relation avec la dynamique des *Haynesina germanica* et des *Ammonia tepida* afin d'évaluer l'impact du microphytobenthos sur l'écologie de ces espèces.

Pour l'analyse de la phase dissoute, l'utilisation des gels DET 2D en vis-à-vis de la tranche de sédiment permettrait, à ce jour, d'étudier à l'aide d'un gel le Fe^{2+} et les PO_4^{3-} (ou DRP) en simultané et d'un second gel, pouvant être superposé au précédent, le NO_3^- et le NO_2^- . En complément de ces gels DET 2D superposés, H_2S peut être évalué par ajout d'un scotch réactif placé derrière les gels fonctionnant alors comme des DGT (voir son utilisation dans les **chapitres 3 et 4**). Il est alors envisageable de réaliser un montage combinant deux gels « terrain » afin d'effectuer des mesures simultanées de Fe^{2+} /DRP et $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ et de H_2S comme représentés en figure 3C. Actuellement l'analyse de NH_4^+ est en cours de développement et nécessiterait encore quelques améliorations. Afin de quantifier le NH_4^+ telle que présenté en figure 3D, un gel d'agarose pourrait être fait sur l'autre face du support à DET 2D. Par rapport à la liste de paramètres citée avant, seules les mesures d' O_2 et de pH n'ont pas été réalisées en 2D au cours de cette thèse de doctorat. Pour ces mesures, l'utilisation d'optode planaire est à privilégier. Une optode planaire permettrait une quantification de l' O_2 ou du pH en 2D et à haute résolution spatiale et temporelle comme schématisée en figure 3E (Glud *et al.* 1996 ; Jensen *et al.* 2005 ; Zhu *et al.* 2006b). Pour une étude sur la solubilité des tests des foraminifères benthiques à tests calcaires, une mesure d'alcalinité par gel DET 2D pourrait également être effectuée comme présentée par Bennett *et al.* (2015) ainsi qu'une mesure par optode à CO_2 (Zhu *et al.* 2006a).

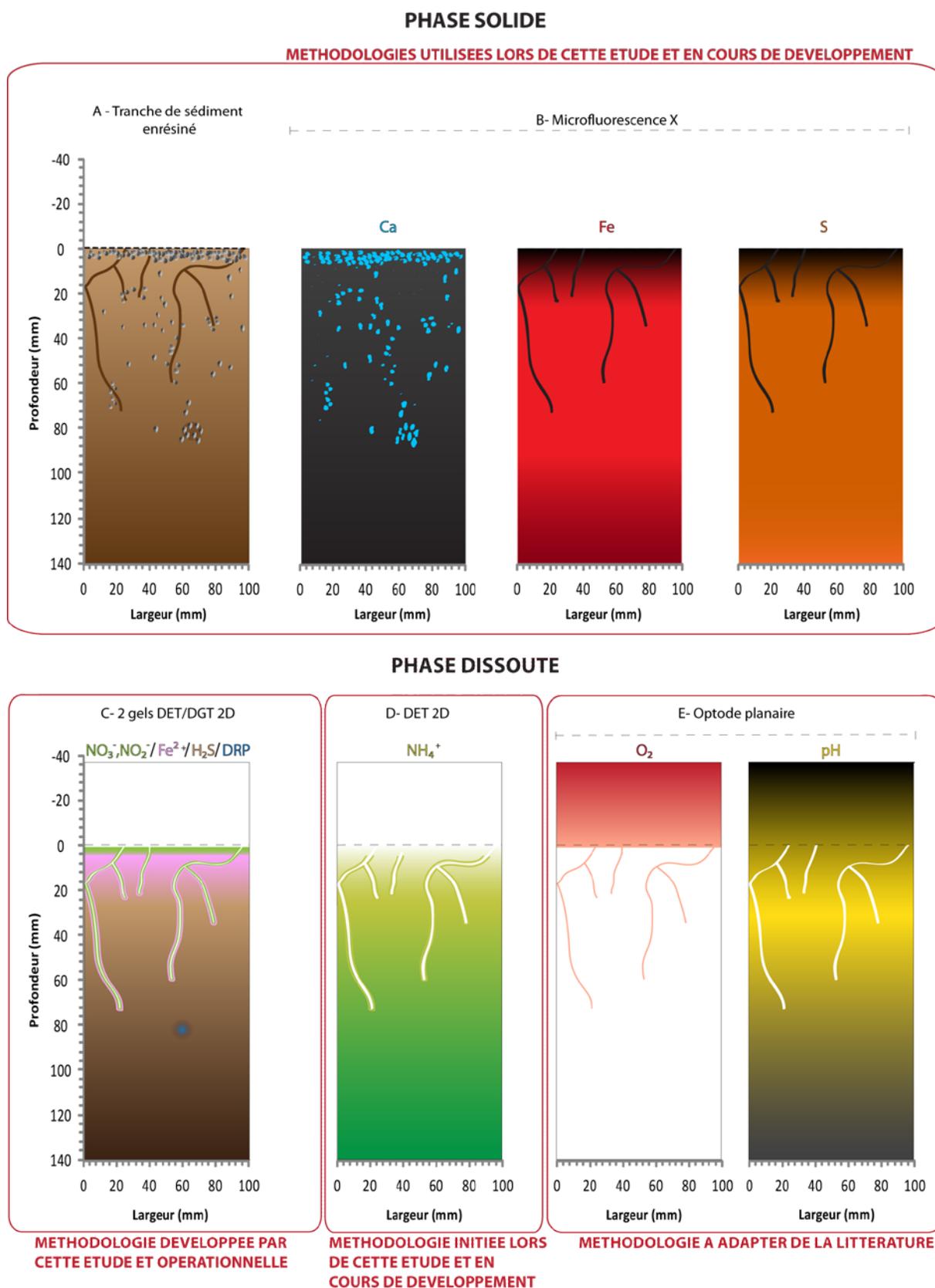


Figure 3 : Schéma synthétique présentant les études de la phase solide et de la phase dissoute dans des sédiments végétalisés précisant la méthodologie utilisée et son état d'avancement à la fin de cette thèse. (A) Tranche de sédiment enrésiné avec une distribution hypothétique des foraminifères benthiques et d'un système racinaire ; (B) résultats non exhaustifs des espèces chimiques de la phase solide après analyse par microfluorescence X avec comme exemple le Ca, le Fe et le S ; (C) résultats simultanés attendus pour un

montage avec 2 gels DET/DGT 2D ; (E) Résultats hypothétiques de l'O₂ et du pH par optode planaire. L'échelle des concentrations des espèces chimiques est basée sur l'intensification de la couleur lorsque la concentration atteint son maximum. Le pH est proche de 7 lorsque le jaune est le plus intense.

4.3. De nouvelles approches pour l'étude des foraminifères benthiques dans leur écosystème : de l'écologie à l'étude des fonctions biologiques et aux métabolismes des foraminifères

4.3.1. L'étude écologique des foraminifères du Bassin d'Arcachon

A ce jour deux missions d'échantillonnage ont été analysées pour l'étude des foraminifères benthiques à l'échelle de la station d'étude : février et juillet 2011. En complément de ces données présentées **chapitre 1**, des échantillons sont disponibles pour octobre 2011 et juillet 2013. Une estimation de 9 mois de travail supplémentaire a été évaluée pour le traitement de ces échantillons. L'analyse de ces échantillons permettrait 1) d'observer la distribution des individus vivants après l'épisode de dissolution important décrits dans le **chapitre 1** et notamment lors d'une phase de décroissance de l'herbier pour octobre 2011 et 2) d'étudier les variations de la distribution des foraminifères benthiques. De plus les échantillons prélevés en juillet 2013 pourraient donner une information quant à la dynamique interannuelle de la distribution des individus vivants, permettant d'étudier par exemple le phénomène de dissolution des espèces calcaires ou la mixotrophie des *H. germanica*, deux ans après les prélèvements de juillet 2011.

4.3.2. La kleptoplastidie

A l'image des perspectives énoncées dans le **chapitre 4**, il serait intéressant de continuer l'étude de la kleptoplastidie des *Haynesina germanica* afin notamment d'analyser l'efficacité de la photosynthèse et la durée d'activité des chloroplastes séquestrés. Cette approche pourrait également permettre d'évaluer le mode trophique dominant chez *H. germanica*. Pour cela des méthodes adaptées notamment à l'étude des diatomées pourraient être utilisées. L'utilisation d'un fluorimètre PAM (*i.e.* Pulse Amplitude Modulated) pourrait être facilement adaptée aux foraminifères (Jesus *et al.* 2005). Le principe repose sur la mesure de la fluorescence de la chlorophylle *a* du photosystème II qui permet de déterminer l'efficacité photosynthétique. Les premières tentatives réalisées par Thierry Jauffrais en collaboration avec MMS Nantes et Bruno Jesus montrent des résultats prometteurs.

4.3.3. Le métabolisme d'*Eggerella scabra*

L'étude écologique des foraminifères benthiques réalisée lors du **Chapitre 1** a permis de mettre en évidence un microhabitat endobionte pour l'espèce *E. scabra*. Ces zones du sédiment sont suboxiques à anoxiques et nous nous interrogeons donc sur les métabolismes anaérobies possibles chez *E. scabra* leur permettant de vivre dans ces zones (**Chapitre 1**). Des mesures de taux de dénitrification ont été

réalisées sur des *E. scabra* provenant du Bassin d’Arcachon, ne montrant pas d’activité de dénitrification. Les travaux de thèse de Dewi Langlet (2014) ont montré que les *E. scabra* (collectées en Mer Adriatique) étaient capables de stocker des nitrates intracellulaires sans toutefois réaliser de la dénitrification. Si la dénitrification n’est pas identifiée, des hypothèses alternatives de voies métaboliques anaérobies ou de symbiose avec des bactéries peuvent être avancées. Une symbiose bactérienne permettant la dénitrification est envisageable comme décrit par Nomaki *et al.* (2014). Le foraminifère pourrait réaliser la dénitrification uniquement en présence du symbionte. Cette étude basée sur un marquage isotopique au $\delta^{15}\text{N}$ et des incubations des foraminifères en condition oxic et anoxique pendant 30 et 60 jours, montre que les nitrates utilisés lors de la dénitrification ont la même composition isotopique que l’eau de mer. Le foraminifère pourrait ainsi réaliser la dénitrification à l’aide du nitrate léger ($^{14}\text{NO}_3^-$) présents dans l’eau et l’endosymbionte synthétiserait les acides aminés nécessaires au fonctionnement cellulaire à l’aide du nitrate lourd $^{15}\text{NO}_3^-$. Des études similaires pourraient être mises en place afin d’étudier ce processus métabolique chez les *E. scabra* du Bassin d’Arcachon. De plus à partir de cette étude, nous pouvons émettre deux hypothèses pour expliquer les taux de dénitrification nuls que nous avons mesurés. En effet, tout d’abord une absence de nitrate dans l’eau pourrait empêcher les foraminifères de réaliser de la dénitrification. Un ajout de nitrate permettrait de tester cette hypothèse facilement. Une seconde hypothèse serait basée sur la durée d’incubation des individus en anoxie avant la mise en place de la dénitrification. En effet, il semble nécessaire d’après les travaux Nomaki *et al.* (2014) que les foraminifères soient placés en anoxie pendant plusieurs jours avant la mesure de dénitrification, afin que leur métabolisme s’adapte à ces nouvelles conditions. Afin de tester cette dernière hypothèse, il serait nécessaire de placer les individus en anoxie pendant au moins 30 jours avant de réaliser des mesures de taux de dénitrification.

Une voie métabolique connue aujourd’hui exclusivement par les bactéries peut également être imaginée, l’ammonification. Cette voie métabolique également appelée DNRA (Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonium) réduit le nitrate en ammonium. La DNRA permet de transférer 8 électrons par mole de nitrate réduit contre seulement 5 lors de la dénitrification (Tiedje, 1988). Ce métabolisme serait notamment favorisé dans des milieux à fortes concentrations de carbone organique labile et faible présence de nitrate (Tiedje, 1988 ; Bonin, 1996 ; Nijburg *et al.* 1997). Néanmoins à ce jour, aucune mesure n’a été réalisée permettant d’étudier ce métabolisme chez les foraminifères benthiques. Une combinaison d’un blocage à l’acétylène et d’un marquage au ^{15}N suivi d’une incubation comme décrit par Bonin *et al.* (1998), permettrait d’identifier la voie métabolique utilisée par quantification de NH_4^+ . Il se pourrait également que les *E. scabra* utilisent les oxydes pouvant constituer leur test afin de vivre en anoxie. A ce jour il semble donc primordial d’étudier les métabolismes alternatifs et les symbioses bactériennes permettant aux foraminifères benthiques de vivre en absence d’oxygène.

Ces trois années de thèse ont ainsi apportées des éléments nouveaux pour comprendre l'écologie des foraminifères benthiques et les processus diagénétiques. De nouvelles voies de recherches sont ouvertes grâce à des développements technologiques et des approches innovantes combinant des études écologiques, physiologiques et géochimiques. A ce jour, il semble donc primordial de continuer de telles études dans les sédiments à herbiers et de réaliser de nouvelles missions d'échantillonnage pour suivre la dynamique de l'herbier et comprendre son rôle et son impact sur l'environnement.

BIBLIOGRAPHIE

- Alcoverro, T., Manzanera, M. and Romero, J.: Seasonal and age-dependent variability of *Posidonia oceanica* (L.) Delile photosynthetic parameters, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 230(1), 1–13, doi:10.1016/S0022-0981(98)00022-7, 1998.
- Alcoverro, T., Manzanera, M. and Romero, J.: Annual metabolic carbon balance of the seagrass *Posidonia oceanica*: the importance of carbohydrate reserves, *Marine Ecology Progress Series*, 211, 105–116, 2001.
- Alexander, S. P. and Banner, F. T.: The functional relationship between skeleton and cytoplasm in *Haynesina germanica* (Ehrenberg), *Journal of Foraminiferal Research*, 14(3), 159–170, doi:10.2113/gsjfr.14.3.159, 1984.
- Alexandre, A., Silva, J., Bouma, T. J. and Santos, R.: Inorganic nitrogen uptake kinetics and whole-plant nitrogen budget in the seagrass *Zostera noltii*, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 401(1–2), 7–12, doi:10.1016/j.jembe.2011.03.008, 2011.
- Altenbach, A.: Deep sea benthic foraminifera and flux rate of organic carbon, *Rev. Paléobiol*, 2, 719–720, 1988.
- Altenbach, A. V.: Die biomasse der benthischen foraminiferen: auswertungen von“ Meteor”-expeditionen im östlichen nordatlantik, Christian-Albrechts-Universität., 1985.
- Alve, E. and Murray, J. w: Ecology and taphonomy of benthic foraminifera in a temperate mesotidal inlet, *Journal of Foraminiferal Research*, 24(1), 18–27, doi:10.2113/gsjfr.24.1.18, 1994.
- Alve, E. and Murray, J. W.: Temporal variability in vertical distributions of live (stained) intertidal foraminifera, Southern England, *The Journal of Foraminiferal Research*, 31(1), 12–24, doi:10.2113/0310012, 2001a.
- Alve, E. and Murray, J. W.: Temporal variability in vertical distributions of live (stained) intertidal foraminifera, southern England, *Journal of Foraminiferal Research*, 31(1), 12–24, 2001b.
- Aminot, A. and Kérouel, R.: Hydrologie des systèmes marins. paramètres et analyses, IFREMER, 2004.
- Anderson, L.: Simultaneous spectrophotometric determination of nitrite and nitrate by flow injection analysis, *Analytica Chimica Acta*, 110, 123–128, 1979.
- Anschutz, P., Chaillou, G. and Lecroart, P.: Phosphorus diagenesis in sediment of the Thau Lagoon, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 72(3), 447–456, doi:10.1016/j.ecss.2006.11.012, 2007.
- Anschutz, P., Zhong, S., Sundby, B., Mucci, A. and Gobeil, C.: Burial Efficiency of Phosphorus and the Geochemistry of Iron in Continental Margin Sediments, *Limnology and Oceanography*, 43(1), 53–64, doi:10.2307/2838939, 1998.
- Arnold, Z.: Field and laboratory techniques for the study of living foraminifera, *Foraminifera*, 1, 153–206, 1974.

- Asmus, R. M., Sprung, M. and Asmus, H.: Nutrient fluxes in intertidal communities of a South European lagoon (Ria Formosa)–similarities and differences with a northern Wadden Sea bay (Sylt-Rømø Bay), *Hydrobiologia*, 436(1-3), 217–235, 2000.
- Auby, I.: Contribution à l'étude des herbiers de *Zostera noltii* du Bassin d'Arcachon : Dynamique, production et dégradation, macrofaune associée, Université Bordeaux 1, 1 January. [online] Available from: <http://archimer.ifremer.fr/doc/00044/15556/> (Accessed 21 November 2013), 1991.
- Auby, I., Bost, C.-A., Budzinski, H., Dalloyau, S., Desternes, A., Belles, A., Trut, G., Pere, C., Couzi, L. and Feigne, C.: Régression des herbiers de zostères dans le Bassin d'Arcachon: état des lieux et recherche des causes, [online] Available from: <http://archimer.ifremer.fr/doc/00054/16507/> (Accessed 22 April 2013a), 2011.
- Auby, I. and Labourg, P.-J.: Seasonal dynamics of *Zostera noltii* hornem. In the bay of arcachon (France), *Journal of Sea Research*, 35(4), 269–277, doi:10.1016/S1385-1101(96)90754-6, 1996.
- Auby, I., Trut, G., Barbier, C., Bujan, S. and Cordier, M.-A.: Suivi stationnel des herbiers de zostères (*Zostera noltii* et *Zostera marina*) de la Masse d'eau côtière FRFC06-Arcachon amont-District Hydrographique Adour-Garonne-2006-2007-2008-2009, , 40, 2011b.
- Austin, H. A., Austin, W. E. N. and Paterson, D. M.: Extracellular cracking and content removal of the benthic diatom *Pleurosigma angulatum* (Quekett) by the benthic foraminifera *Haynesina germanica* (Ehrenberg), *Marine Micropaleontology*, 57(3–4), 68–73, doi:10.1016/j.marmicro.2005.07.002, 2005.
- Azzoni, R., Giordani, G., Bartoli, M., Welsh, D. T. and Viaroli, P.: Iron, sulphur and phosphorus cycling in the rhizosphere sediments of a eutrophic *Ruppia cirrhosa* meadow (Valle Smarlacca, Italy), *Journal of Sea Research*, 45(1), 15–26, doi:10.1016/S1385-1101(00)00056-3, 2001.
- Banner, F. T. and Culver, S. J.: Quaternary *Haynesina* n. gen. and Paleogene *Protelphidium* Haynes; their morphology, affinities and distribution, *The Journal of Foraminiferal Research*, 8(3), 177–207, 1978.
- Barbier, E. B., Hacker, S. D., Kennedy, C., Koch, E. W., Stier, A. C. and Silliman, B. R.: The value of estuarine and coastal ecosystem services, *Ecological Monographs*, 81(2), 169–193, doi:10.1890/10-1510.1, 2011.
- Barmawidjaja, D. M., Jorissen, F. J., Puskaric, S. and Van der Zwaan, G. J.: Microhabitat selection by benthic foraminifera in the northern Adriatic Sea, *The Journal of Foraminiferal Research*, 22(4), 297–317, 1992.
- Beer, S. and Rehnberg, J.: The acquisition of inorganic carbon by the seagrass *Zostera marina*, *Aquatic Botany*, 56(3–4), 277–283, doi:10.1016/S0304-3770(96)01109-6, 1997.
- Bennett, W. W., Welsh, D. T., Serriere, A., Panther, J. G. and Teasdale, P. R.: A colorimetric DET technique for the high-resolution measurement of two-dimensional alkalinity distributions in sediment porewaters, *Chemosphere*, 119, 547–552, doi:10.1016/j.chemosphere.2014.07.042, 2015.

- Berg, P., Risgaard-Petersen, N. and Rysgaard, S.: Interpretation of measured concentration profiles in sediment pore water, *Limnology and Oceanography*, 43(7), 1500–1510, doi:10.4319/lo.1998.43.7.1500, 1998.
- Berkeley, A., Perry, C. T., Smithers, S. G. and Horton, B. P.: The spatial and vertical distribution of living (stained) benthic foraminifera from a tropical, intertidal environment, north Queensland, Australia, *Marine Micropaleontology*, 69(2), 240–261, doi:10.1016/j.marmicro.2008.08.002, 2008.
- Berkeley, A., Perry, C. T., Smithers, S. G., Horton, B. P. and Taylor, K. G.: A review of the ecological and taphonomic controls on foraminiferal assemblage development in intertidal environments, *Earth-Science Reviews*, 83(3), 205–230, 2007.
- Bernard, G.: Changements à long terme des peuplements de magnoliophytes d'un étang sous forte influence anthropique: l'étang de Berre (Méditerranée, France). Thèse de doctorat. 2007.
- Bernard, G.: Mesures expérimentales et modélisation du remaniement sédimentaire dans le bassin d'Arcachon, Université Sciences et Technologies - Bordeaux I, Thèse de doctorat. [online] Available from: <http://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00874553>, 2013.
- Berner, R. A.: *Early Diagenesis: A Theoretical Approach*, Princeton University Press., 1980.
- Bernhard, J. M.: Postmortem vital staining in benthic foraminifera; duration and importance in population and distributional studies, *The Journal of Foraminiferal Research*, 18(2), 143–146, 1988.
- Bernhard, J. M.: Distinguishing live from dead foraminifera: methods review and proper applications, *Micropaleontology*, 46, 38–46, 2000.
- Bernhard, J. M.: Potential symbionts in bathyal foraminifera, *Science*, 299(5608), 861, 2003.
- Bernhard, J. M. and Alve, E.: Survival, ATP pool, and ultrastructural characterization of benthic foraminifera from Drammensfjord (Norway): response to anoxia, *Marine Micropaleontology*, 28(1), 5–17, doi:10.1016/0377-8398(95)00036-4, 1996.
- Bernhard, J. M. and Bowser, S. S.: Novel epifluorescence microscopy method to determine life position of foraminifera in sediments, *Journal of Micropalaeontology*, 15(1), 68–68, 1996.
- Bernhard, J. M. and Bowser, S. S.: Benthic foraminifera of dysoxic sediments: chloroplast sequestration and functional morphology, *Earth-Science Reviews*, 46(1–4), 149–165, doi:10.1016/S0012-8252(99)00017-3, 1999.
- Bernhard, J. M. and Bowser, S. S.: Peroxisome proliferation in foraminifera inhabiting the chemocline: An adaptation to reactive oxygen species exposure?, *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 55(3), 135–144, doi:DOI 10.1111/j.1550-7408.2008.00318.x, 2008.
- Bernhard, J. M., Buck, K. R., Farmer, M. A. and Bowser, S. S.: The Santa Barbara Basin is a symbiosis oasis, *Nature*, 403(6765), 77–80, doi:10.1038/47476, 2000.
- Bernhard, J. M., Casciotti, K. L., McIlvin, M. R., Beaudoin, D. J., Visscher, P. T. and Edgcomb, V. P.: Potential importance of physiologically diverse benthic foraminifera in sedimentary nitrate storage and respiration, *Journal of Geophysical Research*, 117(G3), doi:10.1029/2012JG001949, 2012.

- Bernhard, J. M. and Gupta, B. K. S.: Foraminifera of oxygen-depleted environments, in Modern foraminifera, pp. 201–216, Springer. [online] Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/0-306-48104-9_12, 1999.
- Bernhard, J. M., Ostermann, D. R., Williams, D. S. and Blanks, J. K.: Comparison of two methods to identify live benthic foraminifera: A test between Rose Bengal and CellTracker Green with implications for stable isotope paleoreconstructions, *Paleoceanography*, 21(4), PA4210, doi:10.1029/2006PA001290, 2006a.
- Bernhard, J. M., Ostermann, D. R., Williams, D. S. and Blanks, J. K.: Comparison of two methods to identify live benthic foraminifera: A test between Rose Bengal and CellTracker Green with implications for stable isotope paleoreconstructions, *Paleoceanography*, 21(4), n/a–n/a, doi:10.1029/2006PA001290, 2006b.
- Bernhard, J. M. and Reimers, C. E.: Benthic foraminiferal population fluctuations related to anoxia: Santa Barbara Basin, *Biogeochemistry*, 15(2), 127–149, doi:10.1007/BF00003221, 1991.
- Bernhard, J. M. and Richardson, E. A.: FLEC-TEM: Using Microscopy to Correlate Ultrastructure with Life Position of Infaunal Foraminifera, in *Approaches to Study Living Foraminifera*, pp. 103–113, Springer., 2014.
- Björk, M., Weil, A., Semesi, S. and Beer, S.: Photosynthetic utilisation of inorganic carbon by seagrasses from Zanzibar, East Africa, *Marine Biology*, 129(2), 363–366, 1997.
- Blanchet, H., de Montaudouin, X., Lucas, A. and Chardy, P.: Heterogeneity of macrozoobenthic assemblages within a *Zostera noltii* seagrass bed: diversity, abundance, biomass and structuring factors, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 61(1), 111–123, doi:10.1016/j.ecss.2004.04.008, 2004.
- Blanc-Vernet, L.: Les Foraminifères de l’herbier à *Posidonia oceanica* en Méditerranée: analyse des assemblages, aspects régionaux, application aux microfaunes fossiles, in *International Workshop Posidonia oceanica Beds. GIS Posidonie, Marseille*, pp. 3–14., 1984.
- Boltovskoy, E.: Depth at which foraminifera can survive in sediments, *Contributions from the Cushman Foundation for Foraminiferal Research*, 17(2), 43–45, 1966.
- Bonin, P.: Anaerobic nitrate reduction to ammonium in two strains isolated from coastal marine sediment: A dissimilatory pathway, *FEMS Microbiology Ecology*, 19(1), 27–38, doi:10.1111/j.1574-6941.1996.tb00195.x, 1996.
- Bonin, P., Omnes, P. and Chalamet, A.: Simultaneous occurrence of denitrification and nitrate ammonification in sediments of the French Mediterranean Coast, *Hydrobiologia*, 389(1-3), 169–182, doi:10.1023/A:1003585115481, 1998.
- Borges, A. V.: Do we have enough pieces of the jigsaw to integrate CO₂ fluxes in the coastal ocean?, *Estuaries*, 28(1), 3–27, doi:10.1007/BF02732750, 2005.
- Borum, J., Sand-Jensen, K., Binzer, T., Pedersen, O. and Greve, T. M.: Oxygen movement in seagrasses, in *Seagrasses: biology, ecology and conservation*, pp. 255–270, Springer. [online] Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/1-4020-2983-7_10, 2006.

- Boström, C. and Bonsdorff, E.: Community structure and spatial variation of benthic invertebrates associated with *Zostera marina* (L.) beds in the northern Baltic Sea, *Journal of Sea Research*, 37(1), 153–166, 1997a.
- Boström, C. and Bonsdorff, E.: Community structure and spatial variation of benthic invertebrates associated with *Zostera marina* (L.) beds in the northern Baltic Sea, *Journal of Sea Research*, 37(1–2), 153–166, doi:10.1016/S1385-1101(96)00007-X, 1997b.
- Bouchet, J.-M., Université de Bordeaux I and Laboratoire d’océanographie biologique (Bordeaux), Eds.: *Etude océanographique des chenaux du Bassin d’Arcachon*, s.n.], S.I., 1968.
- Bouchet, V. M. P., Debenay, J.-P., Sauriau, P.-G., Radford-Knoery, J. and Soletchnik, P.: Effects of short-term environmental disturbances on living benthic foraminifera during the Pacific oyster summer mortality in the Marennes-Oléron Bay (France), *Marine Environmental Research*, 64(3), 358–383, doi:10.1016/j.marenvres.2007.02.007, 2007.
- Bouchet, V. M. P., Sauriau, P.-G., Debenay, J.-P., Mermillod-Blondin, F., Schmidt, S., Amiard, J.-C. and Dupas, B.: Influence of the mode of macrofauna-mediated bioturbation on the vertical distribution of living benthic foraminifera: First insight from axial tomodesitometry, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 371(1), 20–33, doi:10.1016/j.jembe.2008.12.012, 2009.
- Boudreau, B. P. and Jorgensen, B. B.: *The Benthic Boundary Layer : Transport Processes and Biogeochemistry: Transport Processes and Biogeochemistry*, Oxford University Press., 2001.
- Bouma, T. J., Olenin, S., Reise, K. and Ysebaert, T.: Ecosystem engineering and biodiversity in coastal sediments: posing hypotheses, *Helgol Mar Res*, 63(1), 95–106, doi:10.1007/s10152-009-0146-y, 2009.
- Brendel, P. J. and Luther, G. W. I.: Development of a gold amalgam voltammetric microelectrode for the determination of dissolved Fe, Mn, O₂, and S (-II) in porewaters of marine and freshwater sediments, *Environmental Science & Technology*, 29(3), 751–761, 1995.
- Brodersen, K. E., Nielsen, D. A., Ralph, P. J. and Kühl, M.: Oxidic microshield and local pH enhancement protects *Zostera muelleri* from sediment derived hydrogen sulphide, *New Phytol*, 205(3), 1264–1276, doi:10.1111/nph.13124, 2015.
- Brönnimann, P.: Pflanzenbewohnende tropische Foraminiferen nebst Beschreibung von *Cymbalopora tobagoensis*, *Verh. Naturforsch. Ges. Basel*, 60, 179–185, 1949.
- Buffle, J. and Horvai, G.: *In situ monitoring of aquatic systems*, Wiley. [online] Available from: <http://old.iupac.org/publications/books/author/buffle.html> (Accessed 13 June 2013), 2000.
- Buffle, J., De Vitre, R. R., Perret, D. and Leppard, G. G.: Physico-chemical characteristics of a colloidal iron phosphate species formed at the oxidic-anoxic interface of a eutrophic lake, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 53(2), 399–408, 1989.
- Burdige, D. J.: The biogeochemistry of manganese and iron reduction in marine sediments, *Earth-Science Reviews*, 35(3), 249–284, doi:10.1016/0012-8252(93)90040-E, 1993.

- Burdige, D. J.: Estuarine and coastal sediments—coupled biogeochemical cycling, *Treatise on Estuarine and Coastal Science*, 5, 279–316, 2011.
- Burgess, R.: An improved protocol for separating meiofauna from sediments using colloidal silica sols, *Mar Ecol Prog Ser*, 214, 161–165, doi:10.3354/meps214161, 2001.
- Buzas, M. A.: The distribution and abundance of Foraminifera in Long Island Sound, *Smithsonian Misc.Coll.*, 149, 1–89, 1965.
- Buzas, M. A., Culver, S. J. and Jorissen, F. J.: A statistical evaluation of the microhabitats of living (stained) infaunal benthic foraminifera, *Marine Micropaleontology*, 20(3–4), 311–320, doi:10.1016/0377-8398(93)90040-5, 1993.
- Buzas-Stephens, P. and Buzas, M. A.: Population Dynamics and Dissolution of Foraminifera in Nueces Bay, Texas, *Journal of Foraminiferal Research*, 35(3), 248–258, doi:10.2113/35.3.248, 2005.
- Le Cadre, V., Debenay, J.-P. and Lesourd, M.: Low pH effects on *Ammonia beccarii* test deformation: implications for using test deformations as a pollution indicator, *The Journal of Foraminiferal Research*, 33(1), 1–9, 2003.
- Le Campion, J.: Contribution à l'étude des foraminifères du Bassin d'Arcachon et du proche océan, Aix Marseille, Université Aix-Marseille., 1966.
- Le Campion, J.: Contribution à l'étude des foraminifères du Bassin d'Arcachon et du proche océan., 1970.
- Canfield, D. E.: Organic Matter Oxidation in Marine Sediments, in *Interactions of C, N, P and S Biogeochemical Cycles and Global Change*, edited by R. Wollast, F. T. Mackenzie, and L. Chou, pp. 333–363, Springer Berlin Heidelberg. [online] Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-76064-8_14, 1993.
- Canton, M.: Dynamique des éléments biogènes dans le continuum fluvio-estuarien de la zone hydrologique d'influence du Bassin d'Arcachon, Bordeaux 1. [online] Available from: <http://www.theses.fr/2009BOR13919>, 2009.
- Van Cappellen, P. and Wang, Y.: Cycling of iron and manganese in surface sediments; a general theory for the coupled transport and reaction of carbon, oxygen, nitrogen, sulfur, iron, and manganese, *Am J Sci*, 296(3), 197–243, doi:10.2475/ajs.296.3.197, 1996.
- Caraco, N. F., Cole, J. J. and Likens, G. E.: Sulfate control of phosphorus availability in lakes, *Hydrobiologia*, 253(1-3), 275–280, doi:10.1007/BF00050748, 1993.
- Castignetti, P.: A Time-Series Study of Foraminiferal Assemblages of the Plym Estuary, South-West England, *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 76(03), 569–578, doi:10.1017/S0025315400031283, 1996.
- Cedhagen, T.: Retention of chloroplasts and bathymetric distribution in the Sublittoral Foraminiferan *Nonionellina Labradorica*, *Ophelia*, 33(1), 17–30, doi:10.1080/00785326.1991.10429739, 1991.
- Cesbron, F., Geslin, E., Jorissen, F., Delgard, M.-L., Charrieau, L., Deflandre, B., Jézéquel, D., Anschutz, P. and Metzger, E.: Ecology of benthic foraminifera and their contribution to

aerobic remineralization in intertidal muddy sediments with *Zostera noltei* meadows (Arcachon Bay, France), ECSS, submitted.

Cesbron, F., Metzger, E., Launeau, P., Deflandre, B., Delgard, M.-L., Thibault de Chanvalon, A., Geslin, E., Anschutz, P. and Jézéquel, D.: Simultaneous 2D Imaging of Dissolved Iron and Reactive Phosphorus in Sediment Porewaters by Thin-Film and Hyperspectral Methods, *Environ. Sci. Technol.*, doi:10.1021/es404724r, 2014.

Chabrillat, S., Goetz, A. F., Krosley, L. and Olsen, H. W.: Use of hyperspectral images in the identification and mapping of expansive clay soils and the role of spatial resolution, *Remote Sensing of Environment*, 82(2), 431–445, 2002.

Cha, H. J., Lee, C. B., Kim, B. S., Choi, M. S. and Ruttenger, K. C.: Early diagenetic redistribution and burial of phosphorus in the sediments of the southwestern East Sea (Japan Sea), *Marine Geology*, 216(3), 127–143, doi:10.1016/j.margeo.2005.02.001, 2005.

Ciffroy, P., Nia, Y. and Garnier, J. M.: Probabilistic Multicompartmental Model for Interpreting DGT Kinetics in Sediments, *Environ. Sci. Technol.*, 45(22), 9558–9565, doi:10.1021/es104221b, 2011.

Combe, J.-P., Le Mouélic, S., Sotin, C., Gendrin, A., Mustard, J. F., Le Deit, L., Launeau, P., Bibring, J.-P., Gondet, B., Langevin, Y. and Pinet, P.: Analysis of OMEGA/Mars Express data hyperspectral data using a Multiple-Endmember Linear Spectral Unmixing Model (MELSUM): Methodology and first results, *Planetary and Space Science*, 56(7), 951–975, doi:10.1016/j.pss.2007.12.007, 2008.

Connell, E. L., Colmer, T. D. and Walker, D. I.: Radial oxygen loss from intact roots of *Halophila ovalis* as a function of distance behind the root tip and shoot illumination, *Aquatic Botany*, 63(3–4), 219–228, doi:10.1016/S0304-3770(98)00126-0, 1999.

Cooke, J. and Leishman, M. R.: Is plant ecology more siliceous than we realise?, *Trends in Plant Science*, 16(2), 61–68, doi:10.1016/j.tplants.2010.10.003, 2011.

Corliss, B. H.: Microhabitats of benthic foraminifera within deep-sea sediments, *Nature*, 314(6010), 435–438, doi:10.1038/314435a0, 1985.

Corliss, B. H. and Emerson, S.: Distribution of Rose Bengale stained deep-sea benthic foraminifera from the Nova Scotian continental margin and Gulf of Maine, *Deep-Sea Research*, 37(3), 381–400, 1990.

Correll, D. L.: Phosphorus: a rate limiting nutrient in surface waters, *Poultry Science*, 78(5), 674–682, 1999.

Davison, W.: Iron and manganese in lakes, *Earth-Science Reviews*, 34(2), 119–163, 1993.

Davison, W., Fones, G., Harper, M., Teasdale, P. and Zhang, H.: Dialysis, DET and DGT: in situ diffusional techniques for studying water, sediments and soils., In *in situ monitoring of aquatic systems: chemical analysis and speciation.*, 495–569, 2000.

Davison, W., Fones, G. R. and Grime, G. W.: Dissolved metals in surface sediment and a microbial mat at 100- μ m resolution, *Nature*, 387(6636), 885–888, 1997.

- Davison, W., Grime, G. W., Morgan, J. a. W. and Clarke, K.: Distribution of dissolved iron in sediment pore waters at submillimetre resolution, *Nature*, 352(6333), 323–325, doi:10.1038/352323a0, 1991a.
- Davison, W., Grime, G. W., Morgan, J. a. W. and Clarke, K.: Distribution of dissolved iron in sediment pore waters at submillimetre resolution, , Published online: 25 July 1991; | doi:10.1038/352323a0, 352(6333), 323–325, doi:10.1038/352323a0, 1991b.
- Davison, W. and Zhang, H.: In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels, *Nature*, 367(6463), 546–548, doi:10.1038/367546a0, 1994.
- Davison, W., Zhang, H. and Grime, G. W.: Performance Characteristics of Gel Probes Used For Measuring the Chemistry of Pore Waters, *Environ. Sci. Technol.*, 28(9), 1623–1632, doi:10.1021/es00058a015, 1994.
- Debenay, J.-P., Bénéteau, E., Zhang, J., Stouff, V., Geslin, E., Redois, F. and Fernandez-Gonzalez, M.: *Ammonia beccarii* and *Ammonia tepida* (Foraminifera): morphofunctional arguments for their distinction, *Marine Micropaleontology*, 34(3–4), 235–244, doi:10.1016/S0377-8398(98)00010-3, 1998.
- Debenay, J.-P., Bicchi, E., Goubert, E. and Armynot du Châtelet, E.: Spatio-temporal distribution of benthic foraminifera in relation to estuarine dynamics (Vie estuary, Vendée, W France), *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 67(1-2), 181–197, doi:10.1016/j.ecss.2005.11.014, 2006.
- Debenay, J.-P., Guillou, J.-J., Redois, F. and Geslin, E.: Distribution trends of foraminiferal assemblages in paralic environments, in *Environmental Micropaleontology*, pp. 39–67, Springer. [online] Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4615-4167-7_3, 2000.
- Debenay, J.-P., Pawlowski, J. and Decrouez, D.: *Les foraminifères actuels*, Masson, Paris., 1996.
- Debenay, J.-P. and Payri, C. E.: Epiphytic foraminiferal assemblages on macroalgae in reefal environments of New Caledonia, *The Journal of Foraminiferal Research*, 40(1), 36–60, 2010.
- Deborde, J.: *Processus biogéochimiques des zones intertidales des systèmes lagunaires: le Bassin d’Arcachon (SW, France)*, Université Sciences et Technologies-Bordeaux I. [online] Available from: <http://hal.archives-ouvertes.fr/tel-00625196/>, 2007.
- Deborde, J., Abril, G., Mouret, A., Jézéquel, D., Thouzeau, G., Clavier, J., Bachelet, G. and Anschutz, P.: Effects of seasonal dynamics in a *Zostera noltii* meadow on phosphorus and iron cycles in a tidal mudflat (Arcachon Bay, France), *Mar Ecol Prog Ser*, 355, 59–71, doi:10.3354/meps07254, 2008.
- Delgard, M. L.: *Étude des effets et du rôle des herbiers à *Zostera noltii* sur la biogéochimie des sédiments intertidaux*, Bordeaux I. [online] Available from: <http://www.theses.fr/2013BOR14780>, 2013.
- Delgard, M.-L., Deflandre, B., Bernard, G., Richard, M., Kochoni, E., Charbonnier, C., Cesbron, F., Metzger, E., Grémare, A. and Anschutz, P.: Benthic oxygen fluxes over a heterogeneous *Zostera noltei* meadow: variability linked to seasons and spatial pattern of seagrass and associated macrofauna, submitted a.

- Delgard, M.-L., Deflandre, B., Deborde, J., Richard, M., Charbonnier, C. and Anschutz, P.: Changes in Nutrient Biogeochemistry in Response to the Regression of *Zostera noltii* Meadows in the Arcachon Bay (France), *Aquatic Geochemistry*, 1–19, 2013.
- Delgard, M. L., Deflandre, B., Kochoni, E., Cesbron, F., Charbonnier, C. and Anschutz, P.: Impacts of *Zostera noltei* meadows on inorganic nutrient porewater profiles in a temperate intertidal mudflat (Arcachon Bay): study of biomass patterns during the growth period, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, submitted b.
- Delgard, M. L., Deflandre, B., Metzger, E., Nuzzio, D., Capo, S., Mouret, A. and Anschutz, P.: In situ study of short-term variations of redox species chemistry in intertidal permeable sediments of the Arcachon lagoon, *Hydrobiologia*, 699(1), 69–84, doi:10.1007/s10750-012-1154-5, 2012.
- Ding, S., Wang, Y., Xu, D., Zhu, C. and Zhang, C.: Gel-Based Coloration Technique for the Submillimeter-Scale Imaging of Labile Phosphorus in Sediments and Soils with Diffusive Gradients in Thin Films, *Environmental Science & Technology*, 47(14), 7821–7829, doi:10.1021/es400192j, 2013.
- Diz, P. and Francés, G.: Distribution of live benthic foraminifera in the Ría de Vigo (NW Spain), *Marine Micropaleontology*, 66(3–4), 165–191, doi:10.1016/j.marmicro.2007.09.001, 2008.
- Dolan, J.: Mixotrophy in ciliates: A review of *Chlorella* symbiosis and chloroplast retention., *Aquatic Microbial Ecology*, 6(2), 115–132, 1992.
- Douglas, A. E.: *Symbiotic interactions*, Oxford University Press Oxford., 1994.
- Do, V. T., de Montaudouin, X., Lavesque, N., Blanchet, H. and Guyard, H.: Seagrass colonization: Knock-on effects on zoobenthic community, populations and individual health, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 95(4), 458–469, doi:10.1016/j.ecss.2011.10.022, 2011.
- Drummond, L. and Maher, W.: Determination of phosphorus in aqueous solution via formation of the phosphoantimonymolybdenum blue complex. Re-examination of optimum conditions for the analysis of phosphate, *Analytica Chimica Acta*, 302(1), 69–74, doi:10.1016/0003-2670(94)00429-P, 1995.
- Duarte, C. M.: Temporal biomass variability and production/biomass relationships of seagrass communities., *Marine ecology progress series*. Oldendorf, 51(3), 269–276, 1989.
- Duarte, C. M.: Seagrass nutrient content., *Marine ecology progress series*. Oldendorf, 6(2), 201–207, 1990.
- Duarte, C. M. and Cebrian, J.: The fate of marine autotrophic production, *Limnology and Oceanography*, 41(8), 1758–1766, 1996.
- Duarte, C. M. and Chiscano, C. L.: Seagrass biomass and production: a reassessment, *Aquatic Botany*, 65(1–4), 159–174, doi:10.1016/S0304-3770(99)00038-8, 1999.
- Duarte, C. M., Middelburg, J. J. and Caraco, N.: Major role of marine vegetation on the oceanic carbon cycle, *Biogeosciences*, 2(1), 1–8, 2005.

- Duchemin, G., Jorissen, F. J., Le Loc'h, F., Andrieux-Loyer, F., Hily, C. and Thouzeau, G.: Seasonal variability of living benthic foraminifera from the outer continental shelf of the Bay of Biscay, *Journal of Sea Research*, 59(4), 297–319, doi:10.1016/j.seares.2008.03.006, 2008.
- Duchemin, G., Jorissen, F. J., Redois, F. and Debenay, J.-P.: Foraminiferal microhabitats in a high marsh: Consequences for reconstructing past sea levels, *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 226(1–2), 167–185, doi:10.1016/j.palaeo.2005.05.009, 2005.
- Duijnste, I. A. P., Ernst, S. R. and Zwaan, G. J. van der: Effect of anoxia on the vertical migration of benthic foraminifera, *Mar Ecol Prog Ser*, 246, 85–94, doi:10.3354/meps246085, 2003.
- Dupuy, C., Rossignol, L., Geslin, E. and Pascal, P.: *Ammonia tepida*: a hard-shelled foraminifera predator of mudflat meio-macrofaunal metazoan, *J Foraminiferal Res*, 40(4), 305–312, 2010.
- Emmet, R. T.: Direct spectrophotometric analysis of ammonia in natural waters by the phenol-hypochlorite reaction., DTIC Document., 1968.
- Epstein, E.: Silicon: its manifold roles in plants, *Annals of Applied Biology*, 155(2), 155–160, doi:10.1111/j.1744-7348.2009.00343.x, 2009.
- Erez, J.: Calcification rates, photosynthesis and light in planktonic foraminifera, in *Biom mineralization and biological metal accumulation*, pp. 307–312, Springer., 1983.
- Eriksen, N. T., Hayes, K. C. and Lewitus, A. J.: Growth responses of the mixotrophic dinoflagellates, *Cryptoperidiniopsis* sp. and *Pfiesteria piscicida*, to light under prey-saturated conditions, *Harmful Algae*, 1(2), 191–203, doi:10.1016/S1568-9883(02)00011-2, 2002.
- Ernst, S., Bours, R., Duijnste, I. and Zwaan, B. van der: Experimental Effects of an Organic Matter Pulse and Oxygen Depletion on a Benthic Foraminiferal Shelf Community, *Journal of Foraminiferal Research*, 35(3), 177–197, doi:10.2113/35.3.177, 2005.
- Ernst, S., Duijnste, I. and van der Zwaan, B.: The dynamics of the benthic foraminiferal microhabitat: recovery after experimental disturbance, *Marine Micropaleontology*, 46(3–4), 343–361, doi:10.1016/S0377-8398(02)00080-4, 2002.
- Etcheber, H., Relexans, J.-C., Beliard, M., Weber, O., Buscail, R. and Heussner, S.: Distribution and quality of sedimentary organic matter on the Aquitanian margin (Bay of Biscay), *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 46(10), 2249–2288, doi:10.1016/S0967-0645(99)00062-4, 1999.
- Fawcett, J. and Scott, Je.: A rapid and precise method for the determination of urea, *Journal of clinical pathology*, 13(2), 156–159, 1960.
- Fenchel, T. and Straarup, B. J.: Vertical distribution of photosynthetic pigments and the penetration of light in marine sediments, *Oikos*, 172–182, 1971.
- Fonseca, M. S. and Fisher, J. S.: A comparison of canopy friction and sediment movement between four species of seagrass with reference to their ecology and restoration, *Marine Ecology Progress Series*, 29, 15–22, 1986.

- Fontanier, C., Jorissen, F. J., Chaillou, G., Anschutz, P., Grémare, A. and Griveaud, C.: Live foraminiferal faunas from a 2800m deep lower canyon station from the Bay of Biscay: faunal response to focusing of refractory organic matter, *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 52(7), 1189–1227, 2005.
- Franco, A., Rufo, L., Rodríguez, N., Amils, R. and de la Fuente, V.: Iron absorption, localization, and biomineralization of *Cynodon dactylon*, a perennial grass from the Río Tinto basin (SW Iberian Peninsula), *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.*, 176(6), 836–842, doi:10.1002/jpln.201200640, 2013.
- Frederiksen, M. S. and Glud, R. N.: Oxygen dynamics in the rhizosphere of *Zostera marina*: A two-dimensional planar optode study, *Limnol. Oceanogr*, 51(2), 1072–1083, 2006.
- Fredriksen, S., De Backer, A., Boström, C. and Christie, H.: Infauna from *Zostera marina* L. meadows in Norway. Differences in vegetated and unvegetated areas, *Marine Biology Research*, 6(2), 189–200, doi:10.1080/17451000903042461, 2010.
- Froelich, P. N., Klinkhammer, G. P., Bender, M. L., Luedtke, N. A., Heath, G. R., Cullen, D., Dauphin, P., Hammond, D., Hartman, B. and Maynard, V.: Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of the eastern equatorial Atlantic: suboxic diagenesis, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 43(7), 1075–1090, doi:10.1016/0016-7037(79)90095-4, 1979.
- Fujita, K. and Hallock, P.: A comparison of phytal substrate preferences of *Archaias angulatus* and *Sorites orbiculus* in mixed macroalgal-seagrass beds in Florida Bay, *Journal of Foraminiferal Research*, 29, 143–151, 1999.
- Gacia, E. and Duarte, C. M.: Sediment Retention by a Mediterranean *Posidonia oceanica* Meadow: The Balance between Deposition and Resuspension, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 52(4), 505–514, doi:10.1006/ecss.2000.0753, 2001.
- Gacia, E., Duarte, C. M., Marbà, N., Terrados, J., Kennedy, H., Fortes, M. D. and Tri, N. H.: Sediment deposition and production in SE-Asia seagrass meadows, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 56(5–6), 909–919, doi:10.1016/S0272-7714(02)00286-X, 2003.
- Ganthy, F.: Rôle des herbiers de Zostères (*Zostera noltii*) sur la dynamique sédimentaire du Bassin d’Arcachon, Université de Bordeaux 1, 14 December. [online] Available from: <http://archimer.ifremer.fr/doc/00060/17170/>, 2011.
- Ganthy, F., Sottolichio, A. and Verney, R.: Seasonal modification of tidal flat sediment dynamics by seagrass meadows of *Zostera noltii* (Bassin d’Arcachon, France), *Journal of Marine Systems*, 109-110, S233–S240, doi:10.1016/j.jmarsys.2011.11.027, 2013.
- García-Robledo, E., Corzo, A. and Papaspyrou, S.: A fast and direct spectrophotometric method for the sequential determination of nitrate and nitrite at low concentrations in small volumes, *Marine Chemistry*, 162, 30–36, doi:10.1016/j.marchem.2014.03.002, 2014.
- Gassiat, L.: Hydrodynamique et évolution sédimentaire d’un système lagune-flèche littorale. Le Bassin d’Arcachon et la flèche du Cap Ferret, Ph.D. Dissertation, Université Bordeaux 1., 1989.
- Geslin, E., Barras, C., Langlet, D., Nardelli, M. P., Kim, J.-H., Bonnin, J., Metzger, E. and Jorissen, F. J.: Survival, Reproduction and Calcification of Three Benthic Foraminiferal Species in Response to Experimentally Induced Hypoxia, in *Approaches to Study Living*

- Foraminifera, edited by H. Kitazato and J. M. Bernhard, pp. 163–193, Springer Japan. [online] Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-4-431-54388-6_10, 2014.
- Geslin, E., Risgaard-Petersen, N., Lombard, F., Metzger, E., Langlet, D. and Jorissen, F.: Oxygen respiration rates of benthic foraminifera as measured with oxygen microsensors, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 396(2), 108–114, doi:10.1016/j.jembe.2010.10.011, 2011.
- Glud, R. N.: Oxygen dynamics of marine sediments, *Marine Biology Research*, 4(4), 243–289, doi:10.1080/17451000801888726, 2008.
- Glud, R. N., Kühl, M., Kohls, O. and Ramsing, N. B.: Heterogeneity of Oxygen Production and Consumption in a Photosynthetic Microbial Mat as Studied by Planar Optodes, *Journal of Phycology*, 35(2), 270–279, doi:10.1046/j.1529-8817.1999.3520270.x, 1999.
- Glud, R. N., Ramsing, N. B., Gundersen, J. K. and Klimant, I.: Planar optrodes: a new tool for fine scale measurements of two-dimensional O₂ distribution in benthic communities, *Marine Ecology-Progress Series*, 140, 217–226, 1996.
- Glud, R. N., Tengberg, A., Kühl, M., Hall, P. O. J., Klimant, I. and Hoist, G.: An in situ instrument for planar O₂ optode measurements at benthic interfaces, *Limnology and oceanography*, 46(8), 2073–2080, 2001.
- Goetz, A. F. H., Vane, G., Solomon, J. . and Rock, B. N.: Imaging spectrometry for earth remote sensing, *Science*, 228(4704), 1147–1153, 1985.
- Goineau, A., Fontanier, C., Jorissen, F. J., Lansard, B., Buscail, R., Mouret, A., Kerhervé, P., Zaragosi, S., Ernoult, E., Artéro, C., Anschutz, P., Metzger, E. and Rabouille, C.: Live (stained) benthic foraminifera from the Rhône prodelta (Gulf of Lion, NW Mediterranean): Environmental controls on a river-dominated shelf, *Journal of Sea Research*, 65(1), 58–75, doi:10.1016/j.seares.2010.07.007, 2011.
- Goldstein, S. T.: Foraminifera: A biological overview, in *Modern Foraminifera*, pp. 37–55, Springer Netherlands. [online] Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/0-306-48104-9_3, 1999.
- Goldstein, S. T., Bernhard, J. M. and Richardson, E. A.: Chloroplast Sequestration in the Foraminifer *Haynesina germanica*: Application of High Pressure Freezing and Freeze Substitution, *Microscopy and Microanalysis*, 10(Supplement S02), 1458–1459, doi:10.1017/S1431927604885891, 2004.
- Goldstein, S. T. and Harben, E. B.: Taphofacies Implications of Infaunal Foraminiferal Assemblages in a Georgia Salt Marsh, Sapelo Island, *Micropaleontology*, 39(1), 53, doi:10.2307/1485974, 1993.
- Goldstein, S. T., Watkins, G. T. and Kuhn, R. M.: Microhabitats of salt marsh foraminifera: St. Catherines Island, Georgia, USA, *Marine Micropaleontology*, 26(1–4), 17–29, doi:10.1016/0377-8398(95)00006-2, 1995.
- Gong, P. and Zhang, A.: Noise effect on linear spectral unmixing, *Geographic Information Sciences*, 5(1), 52–57, 1999.

Gooday, A. J.: Meiofaunal foraminiferans from the bathyal Porcupine Seabight (northeast Atlantic): size structure, standing stock, taxonomic composition, species diversity and vertical distribution in the sediment, *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 33(10), 1345–1373, doi:10.1016/0198-0149(86)90040-3, 1986.

Grasshoff, K., Kremling, K. and Ehrhardt, M.: *Methods of seawater analysis.*, Wiley- VC, 4(1), 9, 1983.

Green, E. P. and Short, F. T.: *World atlas of seagrasses*, Univ of California Press. [online] Available from: <http://books.google.fr/books?hl=fr&lr=&id=dHV0NA3m2AIC&oi=fnd&pg=PA1&dq=green+et+short+2003&ots=wxFLGVAEJP&sig=OknKwJnyySERc7fAU2idEhBjpkE>, 2003.

Grémare, A., Amoroux, J., Charles, F., Dinet, F., Riaux-Gobin, C., Baudart, J., Medernach, L., Bodiou, J., Vétion, G., Colomines, J. and others: Temporal changes in the biochemical composition and nutritional value of the particulate organic matter available to surface deposit-feeders: a two year study, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 150(1), 195–206, 1997.

Greve, T. M., Borum, J. and Pedersen, O.: Meristematic oxygen variability in eelgrass (*Zostera marina*), *Limnology and Oceanography*, 48(1; NUMB 1), 210–216, 2003.

Gross, O.: Influence of temperature, oxygen and food availability on the migrational activity of bathyal benthic foraminifera: evidence by microcosm experiments, in *Life at Interfaces and Under Extreme Conditions*, pp. 123–137, Springer. [online] Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-011-4148-2_12, 2000.

Grzymski, J., Schofield, O. M., Falkowski, P. G. and Bernhard, J. M.: The function of plastids in the deep-sea benthic foraminifer, *Nonionella stella*, *Limnology and oceanography*, 47(6), 1569–1580, 2002.

Hallock, P.: Symbiont-bearing Foraminifera, in *Modern Foraminifera*, pp. 123–139, Springer Netherlands. [online] Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/0-306-48104-9_8, 1999.

Hannah, F., Rogerson, R. and Laybourn-Parry, J.: Respiration rates and biovolumes of common benthic Foraminifera (Protozoa), *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 74(02), 301–312, doi:10.1017/S0025315400039345, 1994.

Hansen, J. W., Pedersen, A.-G. U., Berntsen, J., Rønbøg, I. S., Hansen, L. S. and Lomstein, B. A.: Photosynthesis, respiration, and nitrogen uptake by different compartments of a *Zostera marina* community, *Aquatic Botany*, 66(4), 281–295, doi:10.1016/S0304-3770(99)00078-9, 2000.

Harlin, M. M.: Seagrass epiphytes, In *Handbook of seagrass biology* (eds. R. Phillips and McRoy, Garland STPM Press, New York, 117–151, 1980.

Harper, M. P., Davison, W. and Tych, W.: Temporal, Spatial, and Resolution Constraints for in Situ Sampling Devices Using Diffusional Equilibration: Dialysis and DET, *Environ. Sci. Technol.*, 31(11), 3110–3119, doi:10.1021/es9700515, 1997.

Harper, M. P., Davison, W. and Tych, W.: DIFS—a modelling and simulation tool for DGT induced trace metal remobilisation in sediments and soils, *Environmental Modelling & Software*, 15(1), 55–66, doi:10.1016/S1364-8152(99)00027-4, 2000.

- Den Hartog, C. and Kuo, J.: Taxonomy and biogeography of seagrasses, in *Seagrasses: biology, ecology and conservation*, pp. 1–23, Springer. [online] Available from: http://link.springer.com/content/pdf/10.1007/1-4020-2983-7_1.pdf, 2006.
- Hayward, B. W.: An intertidal *Zostera* pool community at Kawerua, Northland and its foraminiferal microfauna, *Tane*, 25, 173–186, 1979.
- Hebert, A. B. and Morse, J. W.: Microscale effects of light on H₂S and Fe²⁺ in vegetated (*Zostera marina*) sediments, *Marine Chemistry*, 81(1–2), 1–9, doi:10.1016/S0304-4203(02)00134-2, 2003.
- Heck, K. L., Hays, G. and Orth, R. J.: Critical evaluation of the nursery role hypothesis for seagrass meadows, *Marine Ecology Progress Series*, 253, 123–136, 2003.
- Hemleben, C., Spindler, M. and Erson, O.: *Modern planktonic foraminifera*, Springer, Berlin, 1989.
- Hemminga, M. A.: The root/rhizome system of seagrasses: an asset and a burden, *Journal of Sea Research*, 39(3), 183–196, 1998.
- Hemminga, M. A. and Duarte, C. M.: *Seagrass ecology*, Cambridge University Press. [online] Available from: http://books.google.fr/books?hl=fr&lr=&id=uet0dSgzhrsC&oi=fnd&pg=PP1&dq=hemminga+et+duarte&ots=vDdbuSA5Lo&sig=mCzfl_png1I7cFxHWanv86wx6Ng, 2000.
- Hemminga, M. A., Koutstaal, B. P., Soelen, J. van and Merks, A. G. A.: The nitrogen supply to intertidal eelgrass (*Zostera marina*), *Marine Biology*, 118(2), 223–227, doi:10.1007/BF00349788, 1994.
- Hendriks, I. E., Bouma, T. J., Morris, E. P. and Duarte, C. M.: Effects of seagrasses and algae of the *Caulerpa* family on hydrodynamics and particle-trapping rates, *Mar Biol*, 157(3), 473–481, doi:10.1007/s00227-009-1333-8, 2010.
- Herman, P. M. J., Middelburg, J. J., van de Koppel, J. and Heip, C. H. R.: Ecology of Estuarine Macrobenthos, in *Advances in Ecological Research*, vol. Volume 29, edited by D.B. Nedwell and D.G. Raffaelli, pp. 195–240, Academic Press. [online] Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065250408601944>, 1999.
- Hesslein, R. H.: An in situ sampler for close interval pore water studies, *Limnol. Oceanogr*, 21(6), 912–914, 1976.
- Hillman, K., Walker, D. I., Larkum, A. W. D. and McComb, A. J.: Productivity and nutrient limitation, *Biology of seagrasses. A treatise on the biology of seagrasses with special reference to the Australian region*. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, 635–685, 1989.
- Hinde, R. and Smith, D. C.: “Chloroplast symbiosis” and the extent to which it occurs in *Sacoglossa* (Gastropoda: Mollusca), *Biological Journal of the Linnean Society*, 6(4), 349–356, doi:10.1111/j.1095-8312.1974.tb00729.x, 1974.
- Høgslund, S., Revsbech, N. P., Cedhagen, T., Nielsen, L. P. and Gallardo, V. A.: Denitrification, nitrate turnover, and aerobic respiration by benthic foraminiferans in the

oxygen minimum zone off Chile, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 359(2), 85–91, doi:10.1016/j.jembe.2008.02.015, 2008.

Holmer, M., Andersen, F. Ø., Nielsen, S. L. and Boschker, H. T. S.: The importance of mineralization based on sulfate reduction for nutrient regeneration in tropical seagrass sediments, *Aquatic Botany*, 71(1), 1–17, doi:10.1016/S0304-3770(01)00170-X, 2001.

Holmer, M., Carta, C. and Andersen, F.: Biogeochemical implications for phosphorus cycling in sandy and muddy rhizosphere sediments of *Zostera marina* meadows (Denmark), *Mar Ecol Prog Ser*, 320, 141–151, doi:10.3354/meps320141, 2006.

Holmer, M., Gribsholt, B. and Kristensen, E.: Effects of sea level rise on growth of *Spartina anglica* and oxygen dynamics in rhizosphere and salt marsh sediments, *Marine Ecology Progress Series*, 225, 197–204, 2002.

Holmer, M. and Olsen, A. B.: Role of decomposition of mangrove and seagrass detritus in sediment carbon and nitrogen cycling in a tropical mangrove forest, *Marine ecology. Progress series*, 230, 87–101, 2002.

Hulth, S., Aller, R. C., Engstrom, P. and Selander, E.: A pH plate fluorosensor (optode) for early diagenetic studies of marine sediments, *Limnology and Oceanography*, 47(1), 212–220, 2002.

Hyacinthe, C., Anschutz, P., Carbonel, P., Jouanneau, J.-M. and Jorissen, F. J.: Early diagenetic processes in the muddy sediments of the Bay of Biscay, *Marine Geology*, 177(1-2), 111–128, 2001.

INSEE: L'observatoire du littoral : démographie et économie du littoral., 2009.

Invers, O., Pérez, M. and Romero, J.: Bicarbonate utilization in seagrass photosynthesis: role of carbonic anhydrase in *Posidonia oceanica* (L.) Delile and *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 235(1), 125–133, doi:10.1016/S0022-0981(98)00172-5, 1999.

Invers, O., Zimmerman, R. C., Alberte, R. S., Pérez, M. and Romero, J.: Inorganic carbon sources for seagrass photosynthesis: an experimental evaluation of bicarbonate use in species inhabiting temperate waters, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 265(2), 203–217, doi:10.1016/S0022-0981(01)00332-X, 2001.

Isaksen, M. and Finster, K.: Sulphate reduction in the root zone of the seagrass *Zostera noltii* on the intertidal flats of a coastal lagoon (Arcachon, France), *Mar Ecol Prog Ser*, 137, 187–194, doi:10.3354/meps137187, 1996.

James, W. P. T., Schofield, E. C. and others: Human energy requirements. A manual for planners and nutritionists., Oxford University Press. [online] Available from: <http://www.cabdirect.org/abstracts/19901453357.html>, 1990.

Jensen, H. S., Mortensen, P. B., Andersen, F. O., Rasmussen, E. and Jensen, A.: Phosphorus Cycling in a Coastal Marine Sediment, Aarhus Bay, Denmark, *Limnology and Oceanography*, 40(5), 908–917, doi:10.2307/2838630, 1995.

- Jensen, S. I., Kühl, M., Glud, R. N., Jørgensen, L. B. and Priemé, A.: Oxic microzones and radial oxygen loss from roots of *Zostera marina*, Marine Ecology Progress Series, 293, 49–58, 2005.
- Jensen, S. I., Kühl, M. and Priemé, A.: Different bacterial communities associated with the roots and bulk sediment of the seagrass *Zostera marina*, FEMS Microbiology Ecology, 62(1), 108–117, doi:10.1111/j.1574-6941.2007.00373.x, 2007.
- Jesus, B., Brotas, V., Marani, M. and Paterson, D. M.: Spatial dynamics of microphytobenthos determined by PAM fluorescence, Estuarine, Coastal and Shelf Science, 65(1–2), 30–42, doi:10.1016/j.ecss.2005.05.005, 2005.
- Jesus, B., Ventura, P. and Calado, G.: Behaviour and a functional xanthophyll cycle enhance photo-regulation mechanisms in the solar-powered sea slug *Elysia timida* (Risso, 1818), Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 395(1–2), 98–105, doi:10.1016/j.jembe.2010.08.021, 2010.
- Jézéquel, D., Brayner, R., Metzger, E., Viollier, E., Prévot, F. and Fiévet, F.: Two-dimensional determination of dissolved iron and sulfur species in marine sediment porewaters by thin-film based imaging. Thau lagoon (France), Estuarine, Coastal and Shelf Science, 72(3), 420–431, doi:10.1016/j.ecss.2006.11.031, 2007.
- Jézéquel, D., Cochet, S., Bergé, A., Prévot, F., Viollier, E., Metzger, E., Deflandre, B., Brayner, R. and Fiévet, F.: DET/DGT gel probes for simulation Fe^{2+} , ΣPO_4 and S(-II) 2D distribution studies in interstitial sediment water, 2009.
- Jones, P. G. W. and Spencer, C. P.: Comparison of Several Methods of Determining Inorganic Phosphate in Sea Water, Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 43, 251–273, 1963.
- Jones, R. I.: Mixotrophy in planktonic protists: an overview, Freshwater Biology, 45(2), 219–226, 2000.
- Jonkers, H. M., van Bergeijk, S. A. and van Gemerden, H.: Microbial production and consumption of dimethyl sulfide (DMS) in a sea grass (*Zostera noltii*)-dominated marine intertidal sediment ecosystem (Bassin d'Arcachon, France), FEMS Microbiology Ecology, 31(2), 163–172, doi:10.1111/j.1574-6941.2000.tb00681.x, 2000.
- Jørgensen, B. B., Erez, J., Revsbech, N. P. and Cohen, Y.: Symbiotic photosynthesis in a planktonic foraminiferan, Globigerinoides sacculi (Brady), studied with microelectrodes, Limnol. Oceanogr, 30(6), 1253–1267, 1985.
- Jorissen, F. J.: Benthic foraminiferal microhabitats below the sediment-water interface, in Modern foraminifera, pp. 161–179, Springer. [online] Available from: http://link.springer.com/content/pdf/10.1007/0-306-48104-9_10.pdf, 1999.
- Jorissen, F. J.: Benthic foraminiferal microhabitats below the sediment-water interface, in Modern Foraminifera, pp. 161–179, Springer Netherlands. [online] Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/0-306-48104-9_10, 2003.
- Jorissen, F. J., Barmawidjaja, D. M., Puskaric, S. and van der Zwaan, G. J.: Vertical distribution of benthic foraminifera in the northern Adriatic Sea: The relation with the organic

- flux, *Marine Micropaleontology*, 19(1–2), 131–146, doi:10.1016/0377-8398(92)90025-F, 1992.
- Jorissen, F. J., de Stigter, H. C. and Widmark, J. G. V.: A conceptual model explaining benthic foraminiferal microhabitats, *Marine Micropaleontology*, 26(1–4), 3–15, doi:10.1016/0377-8398(95)00047-X, 1995.
- Jorissen, F. J., Wittling, I., Peypouquet, J. P., Rabouille, C. and Relexans, J. C.: Live benthic foraminiferal faunas off Cape Blanc, NW-Africa: Community structure and microhabitats, *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 45(12), 2157–2188, doi:10.1016/S0967-0637(98)00056-9, 1998.
- Kaldy, J. E., Eldridge, P. M., Cifuentes, L. A. and Jones, W. B.: Utilization of DOC from seagrass rhizomes by sediment bacteria: ¹³C-tracer experiments and modeling, *Mar Ecol Prog Ser*, 317, 41–55, doi:10.3354/meps317041, 2006.
- Kawaguti, S. and Yamasu, T.: Electron microscopy on the symbiosis between an elysiid gastropod and chloroplasts of a green alga, *Biol J Okayama Univ*, 11, 57–65, 1965.
- Klimant, I., Meyer, V. and Kühl, M.: Fiber-optic oxygen microsensors, a new tool in aquatic biology, *Limnology and oceanography*, 40(6), 1159–1165, 1995.
- Klimant, I. and Wolfbeis, O. S.: Oxygen-Sensitive Luminescent Materials Based on Silicone-Soluble Ruthenium Diimine Complexes, *Anal. Chem.*, 67(18), 3160–3166, doi:10.1021/ac00114a010, 1995.
- Knight, R. and Mantoura, R. F. C.: Chlorophyll and carotenoid pigments in Foraminifera and their symbiotic algae: analysis by high performance liquid chromatography, *Marine Ecology Progress Series*, 23, 241–249, 1985.
- Köhler-Rink, S. and Kühl, M.: Microsensor studies of photosynthesis and respiration in larger symbiotic foraminifera. I the physico-chemical microenvironment of *Marginopora vertebralis*, *Amphistegina lobifera* and *Amphisorus hemprichii*, *Marine Biology*, 137(3), 473–486, 2000.
- Köhler-Rink, S. and Kühl, M.: Microsensor studies of photosynthesis and respiration in the larger symbiont bearing foraminifera *Amphistegina lobifera*, and *Amphisorus hemprichii*, *Ophelia*, 55(2), 111–122, doi:10.1080/00785236.2001.10409478, 2001.
- Köhler-Rink, S. and Kühl, M.: The chemical microenvironment of the symbiotic planktonic foraminifer *Orbulina universa*, *Marine Biology Research*, 1(1), 68–78, doi:10.1080/17451000510019015, 2005.
- Koho, K. A., García, R., de Stigter, H. C., Epping, E., Koning, E., Kouwenhoven, T. J. and van der Zwaan, G. J.: Sedimentary labile organic carbon and pore water redox control on species distribution of benthic foraminifera: A case study from Lisbon–Setúbal Canyon (southern Portugal), *Progress in Oceanography*, 79(1), 55–82, doi:10.1016/j.pocean.2008.07.004, 2008.
- Koho, K. A., Piña-Ochoa, E., Geslin, E. and Risgaard-Petersen, N.: Vertical migration, nitrate uptake and denitrification: survival mechanisms of foraminifers (*Globobulimina turgida*) under low oxygen conditions, *FEMS microbiology ecology*, 2011.

- Kristensen, E.: Organic matter diagenesis at the oxic/anoxic interface in coastal marine sediments, with emphasis on the role of burrowing animals, *Hydrobiologia*, 426(1), 1–24, doi:10.1023/A:1003980226194, 2000.
- Krom, M. D. and Berner, R. A.: Adsorption of phosphate in anoxic marine sediments, *Limnol. Oceanogr.*, 25(5), 797–806, 1980.
- Krom, M. D., Davison, P., Zhang, H. and Davison, W.: High-Resolution Pore-Water Sampling with a Gel Sampler, *Limnology and Oceanography*, 39(8), 1967–1972, doi:10.2307/2838401, 1994.
- Langer, M. R.: Epiphytic foraminifera, *Marine Micropaleontology*, 20(3–4), 235–265, doi:10.1016/0377-8398(93)90035-V, 1993.
- Langezaal, A. M., Ernst, S. R., Haese, R. R., van Bergen, P. F. and van der Zwaan, G. J.: Disturbance of intertidal sediments: the response of bacteria and foraminifera, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 58(2), 249–264, doi:10.1016/S0272-7714(03)00078-7, 2003.
- Langlet, D.: Réponse des foraminifères benthiques à l’anoxie des milieux côtiers : études in situ de l’écologie des foraminifères benthiques, expériences en laboratoire et analyse du métabolisme anaérobie, Thèse de Doctorat, Université d’Angers, Avril., 2014.
- Langlet, D., Baal, C., Geslin, E., Metzger, E., Zuschin, M., Riedel, B., Risgaard-Petersen, N., Stachowitsch, M. and Jorissen, F. J.: Foraminiferal species responses to in situ, experimentally induced anoxia in the Adriatic Sea, *Biogeosciences*, 11(7), 1775–1797, doi:10.5194/bg-11-1775-2014, 2014.
- Langlet, D., Geslin, E., Baal, C., Metzger, E., Lejzerowicz, F., Riedel, B., Zuschin, M., Pawlowski, J., Stachowitsch, M. and Jorissen, F. J.: Foraminiferal survival after long-term in situ experimentally induced anoxia, *Biogeosciences*, 10(11), 7463–7480, doi:10.5194/bg-10-7463-2013, 2013.
- Lara, C., Romero, J. M. and Guerrero, M. G.: Regulated nitrate transport in the cyanobacterium *Anacystis nidulans*., *J. Bacteriol.*, 169(9), 4376–4378, 1987.
- Larkum, A. W. D., Orth, R. J. and Duarte, C. M.: *Seagrasses biology, ecology, and conservation*, Springer, Dordrecht, the Netherlands. [online] Available from: <http://public.eblib.com/EBLPublic/PublicView.do?ptiID=303145>, 2006.
- Larkum, A. W., McComb, A. J. and Shepherd, S. A.: *Biology of seagrasses*, [online] Available from: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300638417>, 1989.
- Lea, D. W., Martin, P. A., Chan, D. A. and Spero, H. J.: Calcium uptake and calcification rate in the planktonic foraminifer *Orbulina universa*, *Journal of Foraminiferal Research*, 25(1), 14–23, 1995.
- Lee, D.: “On A Piece of Chalk”-Updated1, *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 40(4), 395–410, 1993.
- Lee, J. J. and Anderson, O. R.: Symbiosis in foraminifera, *Biology of foraminifera*, 157–220, 1991.

- Lee, J. J., Lanners, E. and Ter Kuile, B.: The retention of chloroplasts by the foraminifer *Elphidium crispum*, Symbiosis (Philadelphia, PA), 5(1-2), 45–59, 1988.
- Lee, J. J., McEnery, M., Pierce, S., Freudenthal, H. and Muller, W.: Tracer Experiments in Feeding Littoral Foraminifera, *The Journal of Protozoology*, 13(4), 659–670, 1966.
- Lee, K.-S. and Dunton, K. H.: Effect of in situ light reduction on the maintenance, growth and partitioning of carbon resources in *Thalassia testudinum* banks ex König, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 210(1), 53–73, doi:10.1016/S0022-0981(96)02720-7, 1997.
- Lee, K.-S. and Dunton, K. H.: Inorganic nitrogen acquisition in the seagrass *Thalassia testudinum*: Development of a whole-plant nitrogen budget, *Limnology and Oceanography*, 44(5), 1204–1215, 1999.
- Lee, K.-S., Park, S. R. and Kim, Y. K.: Effects of irradiance, temperature, and nutrients on growth dynamics of seagrasses: A review, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 350(1–2), 144–175, doi:10.1016/j.jembe.2007.06.016, 2007.
- Lewitus, A. J., Glasgow, H. B. and Burkholder, J. M.: Kleptoplastidy in the toxic dinoflagellate *Pfiesteria piscicida* (Dinophyceae), *Journal of Phycology*, 35(2), 303–312, 1999.
- Lijklema, L.: Interaction of orthophosphate with iron(III) and aluminum hydroxides, *Environ. Sci. Technol.*, 14(5), 537–541, doi:10.1021/es60165a013, 1980.
- Linke, P. and Lutze, G. F.: Microhabitat preferences of benthic foraminifera—a static concept or a dynamic adaptation to optimize food acquisition?, *Marine Micropaleontology*, 20(3–4), 215–234, doi:10.1016/0377-8398(93)90034-U, 1993.
- Lipps, J. H.: Biotic interactions in benthic Foraminifera., *Topics in geobiology* [online] Available from: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US19840113892>, 1983.
- Liu, T.: Supramolecular Structures of Polyoxomolybdate-Based Giant Molecules in Aqueous Solution, *J. Am. Chem. Soc.*, 124(37), 10942–10943, doi:10.1021/ja027045f, 2002.
- Livingston, F. E., Smith, J. A. and George, S. M.: General Trends for Bulk Diffusion in Ice and Surface Diffusion on Ice, *J. Phys. Chem. A*, 106(26), 6309–6318, doi:10.1021/jp014438c, 2002.
- Llagostera, I., Pérez, M. and Romero, J.: Trace metal content in the seagrass *Cymodocea nodosa*: Differential accumulation in plant organs, *Aquatic Botany*, 95(2), 124–128, doi:10.1016/j.aquabot.2011.04.005, 2011.
- Lopez, E.: Algal chloroplasts in the protoplasm of three species of benthic foraminifera: taxonomic affinity, viability and persistence, *Marine Biology*, 53(3), 201–211, 1979.
- Lotze, H. K., Lenihan, H. S., Bourque, B. J., Bradbury, R. H., Cooke, R. G., Kay, M. C., Kidwell, S. M., Kirby, M. X., Peterson, C. H. and Jackson, J. B.: Depletion, degradation, and recovery potential of estuaries and coastal seas, *Science*, 312(5781), 1806–1809, 2006.

- Luther III, G. W., Glazer, B., Ma, S., Trouwborst, R., Shultz, B. R., Druschel, G. and Kraiyya, C.: Iron and sulfur chemistry in a stratified lake: Evidence for iron-rich sulfide complexes, *Aquatic Geochemistry*, 9(2), 87–110, 2003.
- Luther III, G. W., Glazer, B. T., Ma, S., Trouwborst, R. E., Moore, T. S., Metzger, E., Kraiyya, C., Waite, T. J., Druschel, G., Sundby, B., Taillefert, M., Nuzzio, D. B., Shank, T. M., Lewis, B. L. and Brendel, P. J.: Use of voltammetric solid-state (micro)electrodes for studying biogeochemical processes: Laboratory measurements to real time measurements with an in situ electrochemical analyzer (ISEA), *Marine Chemistry*, 108(3–4), 221–235, doi:10.1016/j.marchem.2007.03.002, 2008.
- MacIntyre, H. L., Geider, R. J. and Miller, D. C.: Microphytobenthos: the ecological role of the “secret garden” of unvegetated, shallow-water marine habitats. I. Distribution, abundance and primary production, *Estuaries*, 19(2), 186–201, 1996.
- Madsen, T. V. and Sand-Jensen, K.: Photosynthetic carbon assimilation in aquatic macrophytes, *Aquatic Botany*, 41(1–3), 5–40, doi:10.1016/0304-3770(91)90037-6, 1991.
- Malea, P. and Kevrekidis, T.: Trace element (Al, As, B, Ba, Cr, Mo, Ni, Se, Sr, Tl, U and V) distribution and seasonality in compartments of the seagrass *Cymodocea nodosa*, *Science of The Total Environment*, 463–464, 611–623, doi:10.1016/j.scitotenv.2013.06.074, 2013.
- Malea, P., Kevrekidis, T. and Potouroglou, M.: Seasonal variation of trace metal (Mn, Zn, Cu, Pb, Co, Cd) concentrations in compartments of the seagrass *Cymodocea nodosa*, *botm*, 56(2), 169–184, doi:10.1515/bot-2012-0138, 2013.
- Mantoura, R. F. C., Martin, J.-M. and Wollast, R.: Ocean margin processes in global change., John Wiley and Sons Ltd. [online] Available from: <http://www.cabdirect.org/abstracts/19911962224.html>, 1991.
- Marbà, N., Holmer, M., Gacia, E. and Barron, C.: Seagrass Beds and Coastal Biogeochemistry, in *SEAGRASSES: BIOLOGY, ECOLOGY AND CONSERVATION*, pp. 135–157, Springer Netherlands. [online] Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4020-2983-7_6, 2006.
- Martin, R. E.: Habitat and distribution of the foraminifer *Archaias angulatus* (Fichtel and Moll)(Miliolina, Soritidae), northern Florida Keys, *The Journal of Foraminiferal Research*, 16(3), 201–206, 1986.
- Martin, R. E. and Wright, R. C.: Information loss in the transition from life to death assemblages of foraminifera in back reef environments, Key Largo, Florida, *Journal of Paleontology*, 62(3), 399–410, 1988.
- Matera, N. J. and Lee, J. J.: Environmental factors affecting the standing crop of foraminifera in sublittoral and psammolittoral communities of a Long Island salt marsh, *Marine Biology*, 14(2), 89–103, 1972.
- Mateu-Vicens, G., Box, A., Deudero, S. and Rodríguez, B.: Comparative Analysis of Epiphytic Foraminifera in Sediments Colonized by Seagrass *Posidonia Oceanica* and Invasive Macroalgae *Caulerpa* Spp., *Journal of Foraminiferal Research*, 40(2), 134–147, doi:10.2113/gsjfr.40.2.134, 2010.
- McIntyre, A. D. and Warwick, R. M.: *Meiofauna techniques.*, 1984.

- McRoy, C. P., Barsdate, R. J. and Nebert, M.: Phosphorus cycling in an eelgrass (*Zostera marina* L.) ecosystem, *Limnol. Oceanogr.*, 17(1), 58–67, 1972.
- McRoy, C. P. and McMillan, C.: Production ecology and physiology of seagrasses., [online] Available from: <http://repositories.tdl.org/tamug-ir/handle/1969.3/21921>, 1977.
- Méléder, V., Launeau, P., Barillé, L. and Rincé, Y.: Cartographie des peuplements du microphytobenthos par télédétection spatiale visible-infrarouge dans un écosystème conchylicole, *Comptes Rendus Biologies*, 326(4), 377–389, doi:10.1016/S1631-0691(03)00125-2, 2003.
- Metzger, E., Viollier, E., Simonucci, C., Prévot, F., Langlet, D. and Jézéquel, D.: Millimeter-scale alkalinity measurement in marine sediment using DET probes and colorimetric determination, *Water Res.*, 47(15), 5575–5583, doi:10.1016/j.watres.2013.06.038, 2013.
- Michael, T. S., Shin, H. W., Hanna, R. and Spafford, D. C.: A review of epiphyte community development: Surface interactions and settlement on seagrass, *Journal of Environmental Biology*, 29(4), 629–638, 2008.
- Mojtahid, M., Griveaud, C., Fontanier, C., Anschutz, P. and Jorissen, F. J.: Live benthic foraminiferal faunas along a bathymetrical transect (140–4800 m) in the Bay of Biscay (NE Atlantic), *Revue de Micropaléontologie*, 53(3), 139–162, doi:10.1016/j.revmic.2010.01.002, 2010.
- Moodley, L. and Hess, C.: Tolerance of infaunal benthic foraminifera for low and high oxygen concentrations, *The Biological Bulletin*, 183(1), 94–98, 1992.
- Moodley, L., van der Zwaan, G. J., Rutten, G. M. W., Boom, R. C. E. and Kempers, A. J.: Subsurface activity of benthic foraminifera in relation to porewater oxygen content: laboratory experiments, *Marine Micropaleontology*, 34(1–2), 91–106, doi:10.1016/S0377-8398(97)00044-3, 1998.
- Morford, J., Kalnejais, L., Martin, W., François, R. and Karle, I.-M.: Sampling marine pore waters for Mn, Fe, U, Re and Mo: modifications on diffusional equilibration thin film gel probes, *Journal of experimental marine biology and ecology*, 285, 85–103, 2003.
- Moriarty, D. J. W., Boon, P. I., Hansen, J. A., Hunt, W. G., Poiner, I. R., Pollard, P. C., Skyring, G. W. and White, D. C.: Microbial biomass and productivity in seagrass beds, *Geomicrobiology Journal*, 4(1), 21–51, doi:10.1080/01490458509385919, 1985.
- Mortimer, C. H.: The exchange of dissolved substances between mud and water in lakes, *Journal of Ecology*, 29(2), 280–329, 1941.
- Mortimer, R. J. ., Krom, M. ., Hall, P. O. ., Hulth, S. and Ståhl, H.: Use of gel probes for the determination of high resolution solute distributions in marine and estuarine pore waters, *Marine Chemistry*, 63(1–2), 119–129, doi:10.1016/S0304-4203(98)00055-3, 1998.
- Morvan, J., Debenay, J.-P., Jorissen, F., Redois, F., Bénéteau, E., Delplancke, M. and Amato, A.-S.: Patchiness and life cycle of intertidal foraminifera: Implication for environmental and paleoenvironmental interpretation, *Marine Micropaleontology*, 61(1-3), 131–154, doi:10.1016/j.marmicro.2006.05.009, 2006.

- Motelica-Heino, M., Naylor, C., Zhang, H. and Davison, W.: Simultaneous Release of Metals and Sulfide in Lacustrine Sediment, *Environ. Sci. Technol.*, 37(19), 4374–4381, doi:10.1021/es030035+, 2003.
- Mujer, C. V., Andrews, D. L., Manhart, J. R., Pierce, S. K. and Rumpho, M. E.: Chloroplast genes are expressed during intracellular symbiotic association of *Vaucheria litorea* plastids with the sea slug *Elysia chlorotica*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(22), 12333–12338, 1996.
- Müller, A. and Serain, C.: Soluble Molybdenum Blues “des Pudels Kern,” *Acc. Chem. Res.*, 33(1), 2–10, doi:10.1021/ar9601510, 2000.
- Murphy, J. and Riley, J. P.: A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters, *Analytica Chimica Acta*, 27(0), 31–36, doi:10.1016/S0003-2670(00)88444-5, 1962.
- Murray, J. W.: Ecology and palaeoecology of benthic foraminifera, Longman Scientific & Technical New York. [online] Available from: <http://www.getcited.org/pub/102871426>, 1991.
- Murray, J. W.: Introduction to benthic foraminifera, in *Quaternary Environmental Micropaleontology*, edited by S. K. Haslett, pp. 5–13, Arnold, London., 2002.
- Murray, J. W.: Ecology and applications of benthic foraminifera, Cambridge University Press, Cambridge. [online] Available from: <http://site.ebrary.com/id/10193792>, 2006.
- Murray, J. W. and Alve, E.: Natural dissolution of modern shallow water benthic foraminifera: taphonomic effects on the palaeoecological record, *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 146(1–4), 195–209, doi:10.1016/S0031-0182(98)00132-1, 1999.
- Murray, J. W. and Alve, E.: Major Aspects of Foraminiferal Variability (standing Crop and Biomass) on a Monthly Scale in an Intertidal Zone, *Journal of Foraminiferal Research*, 30(3), 177–191, doi:10.2113/0300177, 2000.
- Nardelli, M. P., Barras, C., Metzger, E., Mouret, A., Filipsson, H. L., Jorissen, F. and Geslin, E.: Experimental evidence for foraminiferal calcification under anoxia, *Biogeosciences Discuss.*, 11(3), 4669–4694, doi:10.5194/bgd-11-4669-2014, 2014.
- Nesti, U., Piazzini, L. and Balata, D.: Variability in the structure of epiphytic assemblages of the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica* in relation to depth, *Marine Ecology*, 30(3), 276–287, doi:10.1111/j.1439-0485.2008.00275.x, 2009.
- Neveux, J. and Lantoiné, F.: Spectrofluorometric assay of chlorophylls and phaeopigments using the least squares approximation technique, *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 40(9), 1747–1765, doi:10.1016/0967-0637(93)90030-7, 1993.
- Nielsen, O. I., Koch, M. S., Jensen, H. S. and Madden, C. J.: *Thalassia testudinum* phosphate uptake kinetics at low in situ concentrations using radioisotope technique, *Limnology and oceanography*, 51(1), 208, 2006.
- Nielsen, S. L., Banta, G. T. and Pedersen, M. F.: Decomposition Of Marine Primary Producers: Consequences For Nutrient Recycling And Retention In Coastal Ecosystems, in *Estuarine Nutrient Cycling: The Influence of Primary Producers*, edited by S. L. Nielsen, G.

T. Banta, and M. F. Pedersen, pp. 187–216, Springer Netherlands. [online] Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4020-3021-5_7, 2004.

Nijburg, J. W., Coolen, M., Gerards, S., Gunnewiek, P. and Laanbroek, H. J.: Effects of Nitrate Availability and the Presence of *Glyceria maxima* on the Composition and Activity of the Dissimilatory Nitrate-Reducing Bacterial Community., *Applied and environmental microbiology*, 63(3), 931–937, 1997.

Nomaki, H., Chikaraishi, Y., Tsuchiya, M., Toyofuku, T., Ohkouchi, N., Uematsu, K., Tame, A. and Kitazato, H.: Nitrate uptake by foraminifera and use in conjunction with endobionts under anoxic conditions, *Limnology and Oceanography*, 59(6), 1879–1888, doi:10.4319/lo.2014.59.6.1879, 2014.

Nomaki, H., Yamaoka, A., Shirayama, Y. and Kitazato, H.: Deep-Sea Benthic Foraminiferal Respiration Rates Measured Under Laboratory Conditions, *Journal of Foraminiferal Research*, 37(4), 281–286, doi:10.2113/gsjfr.37.4.281, 2007.

Opsahl, S. and Benner, R.: Decomposition of senescent blades of the seagrass *Halodule wrightii* in a subtropical lagoon, *Marine Ecology Progress Series*, 94, 191–205, 1993.

Orth, R. J.: A perspective on plant-animal interactions in seagrasses: physical and biological determinants influencing plant and animal abundance, *Plant–animal interactions in the marine benthos*. Clarendon Press, Oxford, 147–164, 1992.

Orth, R. J., Carruthers, T. J. B., Dennison, W. C., Duarte, C. M., Fourqurean, J. W., Heck, K. L., Hughes, A. R., Kendrick, G. A., Kenworthy, J. W. and Olyarnik, S.: A Global Crisis for Seagrass Ecosystems, *BioScience*, 56(12) [online] Available from: http://www.researchgate.net/publication/232689519_A_Global_Crisis_for_Seagrass_Ecosystems/file/d912f50c7fbace598d.pdf, 2006.

Ouisse, V., Migné, A. and Davoult, D.: Seasonal variations of community production, respiration and biomass of different primary producers in an intertidal *Zostera noltii* bed (Western English Channel, France), *Hydrobiologia*, 649(1), 3–11, doi:10.1007/s10750-010-0254-3, 2010.

Pagès, A., Teasdale, P. R., Robertson, D., Bennett, W. W., Schäfer, J. and Welsh, D. T.: Representative measurement of two-dimensional reactive phosphate distributions and co-distributed iron(II) and sulfide in seagrass sediment porewaters, *Chemosphere*, 85(8), 1256–1261, doi:10.1016/j.chemosphere.2011.07.020, 2011.

Pagès, A., Welsh, D. T., Robertson, D., Panther, J. G., Schäfer, J., Tomlinson, R. B. and Teasdale, P. R.: Diurnal shifts in co-distributions of sulfide and iron(II) and profiles of phosphate and ammonium in the rhizosphere of *Zostera capricorni*, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 115(0), 282–290, doi:10.1016/j.ecss.2012.09.011, 2012.

Papadimitriou, S., Kennedy, H., Rodrigues, R., Kennedy, D. P. and Heaton, T. H. E.: Using variation in the chemical and stable isotopic composition of *Zostera noltii* to assess nutrient dynamics in a temperate seagrass meadow, *Org Geochem*, 37, 1343–1358, 2006.

Papaspyrou, S., Diz, P., García-Robledo, E., Corzo, A. and Jimenez-Arias, J.-L.: Benthic foraminiferal community changes and their relationship to environmental dynamics in intertidal muddy sediments (Bay of Cádiz, SW Spain), *Marine Ecology Progress Series*, 490, 121–135, 2013.

- Pascal, P.-Y., Dupuy, C., Richard, P. and Niquil, N.: Bacterivory in the common foraminifer *Ammonia tepida*: Isotope tracer experiment and the controlling factors, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 359(1), 55–61, doi:10.1016/j.jembe.2008.02.018, 2008.
- Pastor, L., Deflandre, B., Viollier, E., Cathalot, C., Metzger, E., Rabouille, C., Escoubeyrou, K., Lloret, E., Pruski, A. M., Vétion, G., Desmalades, M., Buscail, R. and Grémare, A.: Influence of the organic matter composition on benthic oxygen demand in the Rhône River prodelta (NW Mediterranean Sea), *Continental Shelf Research*, 31(9), 1008–1019, doi:10.1016/j.csr.2011.03.007, 2011.
- Paterson, D. M., Wiltshire, K. H., Miles, A., Blackburn, J., Davidson, I., Yates, M. G., McGroarty, S. and Eastwood, J. A.: Microbiological mediation of spectral reflectance from intertidal cohesive sediments, *Limnology and Oceanography*, 43(6), 1207–1221, 1998.
- Patton, C. J. and Crouch, S. R.: Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia, *Analytical Chemistry*, 49(3), 464–469, 1977.
- Pedersen, M. F. and Borum, J.: Nitrogen dynamics of eelgrass *Zostera marina* during a late summer period of high growth and low nutrient availability, *Marine Ecology-Progress Series*, (80), 65–73, 1992.
- Pedersen, O., Borum, J., Duarte, C. M. and Fortes, M. D.: Oxygen dynamics in the rhizosphere of *Cymodocea rotundata*, *Mar Ecol Prog Ser*, 169, 283–288, doi:10.3354/meps169283, 1998.
- Penhale, P. A. and Wetzel, R. G.: Structural and functional adaptations of eelgrass (*Zostera marina* L.) to the anaerobic sediment environment, *Can. J. Bot.*, 61(5), 1421–1428, doi:10.1139/b83-153, 1983.
- Pernetta, J. C. and Milliman, J. D.: Land-Ocean Interactions in the Coastal Zone: implementation plan, *Oceanographic Literature Review*, 42(9) [online] Available from: <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.elsevier-e69455c3-98d4-3231-92d5-ae35640733fb>, 1995.
- Pillet, L., de Vargas, C. and Pawlowski, J.: Molecular Identification of Sequestered Diatom Chloroplasts and Kleptoplastidy in Foraminifera, *Protist*, 162(3), 394–404, doi:10.1016/j.protis.2010.10.001, 2011.
- Pina-Ochoa, E., Hogslund, S., Geslin, E., Cedhagen, T., Revsbech, N. P., Nielsen, L. P., Schweizer, M., Jorissen, F., Rysgaard, S. and Risgaard-Petersen, N.: Widespread occurrence of nitrate storage and denitrification among Foraminifera and Gromiida, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(3), 1148–1153, doi:10.1073/pnas.0908440107, 2010a.
- Pina-Ochoa, E., Koho, K., Geslin, E. and Risgaard-Petersen, N.: Survival and life strategy of the foraminiferan *Globobulimina turgida* through nitrate storage and denitrification, *Marine Ecology - Progress Series*, 417, doi:10.3354/meps08805, 2010b.
- Plus, M., Chapelle, A., Ménesguen, A., Deslous-Paoli, J.-M. and Auby, I.: Modelling seasonal dynamics of biomasses and nitrogen contents in a seagrass meadow (*Zostera noltii* Hornem.): application to the Thau lagoon (French Mediterranean coast), *Ecological Modelling*, 161(3), 213–238, doi:10.1016/S0304-3800(02)00350-2, 2003.

- Plus, M., Deslous-Paoli, J.-M., Auby, I. and Dagault, F.: Factors influencing primary production of seagrass beds (*Zostera noltii* Hornem.) in the Thau lagoon (French Mediterranean coast), *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 259(1), 63–84, doi:10.1016/S0022-0981(01)00223-4, 2001.
- Plus, M., Sébastien, D., Gilles, T., Isabelle, A., de Montaudouin, X., Emery, É., Claire, N. and Christophe, V.: Long-term evolution (1988–2008) of *Zostera* spp. meadows in Arcachon Bay (Bay of Biscay), *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 87(2), 357–366, doi:10.1016/j.ecss.2010.01.016, 2010.
- Polsenaere, P., Lamaud, E., Lafon, V., Bonnefond, J.-M., Bretel, P., Delille, B., Deborde, J., Loustau, D. and Abril, G.: Spatial and temporal CO₂ exchanges measured by Eddy Covariance over a temperate intertidal flat and their relationships to net ecosystem production, *Biogeosciences*, 9(1), 249–268, doi:10.5194/bg-9-249-2012, 2012.
- Pucci, F., Geslin, E., Barras, C., Morigi, C., Sabbatini, A., Negri, A. and Jorissen, F. J.: Survival of benthic foraminifera under hypoxic conditions: Results of an experimental study using the CellTracker Green method, *Marine Pollution Bulletin*, 59(8-12), 336–351, doi:10.1016/j.marpolbul.2009.08.015, 2009.
- Ramsing, N. and Gundersen, J.: Seawater and gases-Tabulated physical parameters of interest to people working with microsensors in marine systems. Version 2.0, Unisense Internal Report., 1994.
- Rasband, W.: Image J, 1.30. National Institutes of Health., 2003.
- Rasmussen, H. and Jørgensen, B. B.: Microelectrode studies of seasonal oxygen uptake in a coastal sediment: Role of molecular diffusion., *Marine ecology progress series*. Oldendorf, 81(3), 289–303, 1992.
- Rathburn, A. E. and Corliss, B. H.: The ecology of living (stained) deep-sea benthic foraminifera from the Sulu Sea, *Paleoceanography*, 9(1), 87–150, doi:10.1029/93PA02327, 1994.
- Redfield, A. C.: The influence of organisms on the composition of sea-water, *The Sea*, 26–77, 1963.
- Redois, F. and Debenay, J.-P.: Influence du confinement sur la repartition des foraminifères benthiques: exemple de l'estran d'une ria mesotidale de Bretagne meridionale, *Revue de Paléobiologie*, 15, 243–260, 1996.
- Reimers, C. E.: An in situ microprofiling instrument for measuring interfacial pore water gradients: methods and oxygen profiles from the North Pacific Ocean, *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 34(12), 2019–2035, 1987.
- Reise, K.: Sediment mediated species interactions in coastal waters, *Journal of Sea Research*, 48(2), 127–141, 2002.
- Revsbech, N. P.: An oxygen microsensor with a guard cathode, *Limnology and oceanography*, 34(2), 474–478, 1989.
- Revsbech, N. P., Barker Jorgensen, B. and Blackburn, T. H.: Oxygen in the sea bottom measured with a microelectrode, *Science*, 207, 1355–1356, 1980a.

- Revsbech, N. P., Sorensen, J., Blackburn, H. and Lomholt, J. P.: Distribution of oxygen in marine sediments measured with microelectrodes, *Limnology and Oceanography*, 25(3), 403–411, 1980b.
- Ribes, T., Salvadó, H., Romero, J. and Gracia, M. del P.: Foraminiferal Colonization on Artificial Seagrass Leaves, *Journal of Foraminiferal Research*, 30(3), 192–201, doi:10.2113/0300192, 2000.
- Richardson, S. L.: Response of epiphytic foraminiferal communities to natural eutrophication in seagrass habitats off Man O'War Cay, Belize, *Marine Ecology*, 27(4), 404–416, 2006.
- Rink, S., Kühl, M., Bijma, J. and Spero, H. J.: Microsensor studies of photosynthesis and respiration in the symbiotic foraminifer *Orbulina universa*, *Marine Biology*, 131(4), 583–595, doi:10.1007/s002270050350, 1998.
- Risgaard-Petersen, N., Langezaal, A. M., Ingvarsdén, S., Schmid, M. C., Jetten, M. S. M., Op den Camp, H. J. M., Derksen, J. W. M., Piña-Ochoa, E., Eriksson, S. P., Peter Nielsen, L., Peter Revsbech, N., Cedhagen, T. and van der Zwaan, G. J.: Evidence for complete denitrification in a benthic foraminifer, *Nature*, 443(7107), 93–96, doi:10.1038/nature05070, 2006.
- Roberts, D. G., McComb, A. J. and Kuo, J.: The structure and continuity of the lacunar system of the seagrass *Halophila ovalis* (R. Br.) Hook f. (Hydrocharitaceae), *Aquatic Botany*, 18(4), 377–388, doi:10.1016/0304-3770(84)90058-5, 1984.
- Robertson, Teasdale, P. R. and Welsh, D. T.: A novel gel-based technique for the high resolution, two-dimensional determination of iron (II) and sulfide in sediment, *Limnol Oceanogr Meth*, 6, 502–512, 2008.
- Romero, J., Lee, K.-S., Pérez, M., Mateo, M. A. and Alcoverro, T.: Nutrient dynamics in seagrass ecosystems, in *Seagrasses: Biology, ecology and conservation*, pp. 227–254, Springer. [online] Available from: http://link.springer.com/content/pdf/10.1007/1-4020-2983-7_9.pdf, 2006.
- Röttger, R. and Krüger, R.: Observations on the biology of Calcarinidae (Foraminiferida), *Marine Biology*, 106(3), 419–425, 1990.
- Round, F. E., Crawford, R. M. and Mann, D. G.: *The Diatoms: Biology & Morphology of the Genera*, Cambridge University Press., 1990.
- Rumpho, M. E., Summer, E. J. and Manhart, J. R.: Solar-powered sea slugs. Mollusc/algal chloroplast symbiosis, *Plant Physiology*, 123(1), 29–38, 2000.
- Rybarczyk, H., Elkaim, B., Wilson, J. and Loquet, N.: L'eutrophisation en Baie de Somme : mortalités des peuplements benthiques par anoxie, *Oceanologica Acta*, 19(2), 131–140, 1996.
- Saffert, H. and Thomas, E.: Living foraminifera and total populations in salt marsh peat cores: Kelsey Marsh (Clinton, CT) and the Great Marshes (Barnstable, MA), *Marine Micropaleontology*, 33(3–4), 175–202, doi:10.1016/S0377-8398(97)00035-2, 1998.
- Santner, J., Zhang, H., Leitner, D., Schnepf, A., Prohaska, T., Puschenreiter, M. and Wenzel, W. W.: High-resolution chemical imaging of labile phosphorus in the rhizosphere of *Brassica*

napus L. cultivars, *Environmental and Experimental Botany*, 77, 219–226, doi:10.1016/j.envexpbot.2011.11.026, 2012.

Dos Santos Afonso, M. and Stumm, W.: Reductive dissolution of iron (III)(hydr) oxides by hydrogen sulfide, *Langmuir*, 8(6), 1671–1675, 1992.

Schmidt, H.: Ökologische Beobachtungen an den Foraminiferen des Golfes von Neapel, *Paläontologische Zeitschrift*, 27(3), 123–128, 1953.

Schnetger, B. and Lehnert, C.: Determination of nitrate plus nitrite in small volume marine water samples using vanadium(III)chloride as a reduction agent, *Marine Chemistry*, 160, 91–98, doi:10.1016/j.marchem.2014.01.010, 2014.

Schoelynck, J., Bal, K., Backx, H., Okruszko, T., Meire, P. and Struyf, E.: Silica uptake in aquatic and wetland macrophytes: a strategic choice between silica, lignin and cellulose?, *New Phytologist*, 186(2), 385–391, doi:10.1111/j.1469-8137.2009.03176.x, 2010.

Schönfeld, J.: The impact of the Mediterranean Outflow Water (MOW) on benthic foraminiferal assemblages and surface sediments at the southern Portuguese continental margin, *Marine Micropaleontology*, 29, 211–236, 1997.

Schönfeld, J., Alve, E., Geslin, E., Jorissen, F., Korsun, S. and Spezzaferri, S.: The FOBIMO (FORaminiferal BIO-MONitoring) initiative—Towards a standardised protocol for soft-bottom benthic foraminiferal monitoring studies, *Marine Micropaleontology*, 94–95, 1–13, doi:10.1016/j.marmicro.2012.06.001, 2012.

Schröder, C. R., Polerecky, L. and Klimant, I.: Time-Resolved pH/pO₂ Mapping with Luminescent Hybrid Sensors, *Anal. Chem.*, 79(1), 60–70, doi:10.1021/ac0606047, 2006.

Schulz, H. D.: Quantification of early diagenesis: Dissolved constituents in pore water and signals in the solid phase, in *Marine Geochemistry*, pp. 73–124, Springer. [online] Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/3-540-32144-6_3 (Accessed 19 June 2013), 2006.

Scott, D. B., Medioli, F. S. and Schafer, C. T.: Monitoring in coastal environments using foraminifera and thecamoebian indicators, Cambridge University Press Cambridge. [online] Available from: http://www.langtoninfo.co.uk/web_content/9780521561730_frontmatter.pdf, 2001.

Semeniuk, T. A.: Spatial Variability in Epiphytic Foraminifera from Micro- to Regional Scale, *Journal of Foraminiferal Research*, 30(2), 99–109, doi:10.2113/0300099, 2000.

Semesi, I. S., Beer, S. and Björk, M.: Seagrass photosynthesis controls rates of calcification and photosynthesis of calcareous macroalgae in a tropical seagrass meadow, *Marine Ecology Progress Series*, 382, 41–47, 2009.

Serandrei-Barbero, R., Albani, A., Donnici, S. and Rizzetto, F.: Past and recent sedimentation rates in the Lagoon of Venice (Northern Italy), *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 69(1), 255–269, 2006.

Setoyama, E., Kaminski, M. A. and Tyszka, J.: Late Cretaceous Agglutinated Foraminifera and Implications for the Biostratigraphy and Palaeobiogeography of the southwestern Barents

- Sea, Proceedings of the Eight International Workshop on Agglutinated Foraminifera, (47-55), 2011.
- Shuttleworth, S. M., Davison, W. and Hamilton-Taylor, J.: Two-Dimensional and Fine Structure in the Concentrations of Iron and Manganese in Sediment Pore-Waters, *Environ. Sci. Technol.*, 33(23), 4169–4175, doi:10.1021/es990184l, 1999.
- Siano, R., Montresor, M., Probert, I., Not, F. and de Vargas, C.: *Pelagodinium* gen. nov. and *P. béii* comb. nov., a dinoflagellate symbiont of planktonic foraminifera, *Protist*, 161(3), 385–399, doi:10.1016/j.protis.2010.01.002, 2010.
- Smith, K. L. and Teal, J. M.: Deep-sea benthic community respiration: an in situ study at 1850 meters, *Science*, 179(4070), 282–283, 1973.
- Smith, R. D., Pregnall, A. M. and Alberte, R. S.: Effects of anaerobiosis on root metabolism of *Zostera marina* (eelgrass): implications for survival in reducing sediments, *Marine Biology*, 98(1), 131–141, doi:10.1007/BF00392668, 1988.
- Sochaczewski, Ł., Tych, W., Davison, B. and Zhang, H.: 2D DGT induced fluxes in sediments and soils (2D DIFS), *Environmental Modelling & Software*, 22(1), 14–23, doi:10.1016/j.envsoft.2005.09.008, 2007.
- Soetaert, K. and Meysman, F.: Reactive transport in aquatic ecosystems: Rapid model prototyping in the open source software R, *Environmental Modelling & Software*, 32, 49–60, doi:10.1016/j.envsoft.2011.08.011, 2012.
- Spero, H. J. and Parker, S. L.: Photosynthesis in the symbiotic planktonic foraminifer *Orbulina universa*, and its potential contribution to oceanic primary productivity, *The Journal of Foraminiferal Research*, 15(4), 273–281, 1985.
- Steineck, P. L. and Bergstein, J.: Foraminifera from Hommocks salt-marsh, Larchmont Harbor, New York, *The Journal of Foraminiferal Research*, 9(2), 147–158, 1979.
- Stickney, H. L., Hood, R. R. and Stoecker, D. K.: The impact of mixotrophy on planktonic marine ecosystems, *Ecological Modelling*, 125(2), 203–230, 2000.
- Stockdale, A., Davison, W. and Zhang, H.: Micro-scale biogeochemical heterogeneity in sediments: A review of available technology and observed evidence, *Earth-Science Reviews*, 92(1–2), 81–97, doi:10.1016/j.earscirev.2008.11.003, 2009.
- Stoecker, D. K.: Conceptual models of mixotrophy in planktonic protists and some ecological and evolutionary implications, *European Journal of Protistology*, 34(3), 281–290, 1998.
- Stoecker, D. K.: Mixotrophy among Dinoflagellates, *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 46(4), 397–401, doi:10.1111/j.1550-7408.1999.tb04619.x, 1999.
- Stouff, V.: Intérêts des élevages de foraminifères en laboratoire : études biologiques et ultrastructurales, Thèse de Doctorat, Université d'Angers, Angers., 1998.
- Sundby, B., Vale, C., Caetano, M. and Iii, G. W. L.: Redox Chemistry in the Root Zone of a Salt Marsh Sediment in the Tagus Estuary, Portugal, *Aquatic Geochemistry*, 9(3), 257–271, doi:10.1023/B:AQUA.0000022957.42522.9a, 2003.

- Sun, M. Y., Lee, C. and Aller, R. C.: Laboratory studies of oxic and anoxic degradation of chlorophyll *a* in Long Island Sound sediments, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 57(1), 147–157, 1993.
- Sunshine J.M., Pieters C.M., and Pratt S.F.: Deconvolution of Mineral Absorption Bands : An Improved Approach, *Journal of geophysical research*, 95(B5), 6955–696, 1990.
- Takishita, K., Kolke, K., Maruyama, T. and Ogata, T.: Molecular Evidence for Plastid Robbery (Kleptoplastidy) in Dinophysis, a Dinoflagellate causing Diarrhetic Shellfish Poisoning, *Protist*, 153(3), 293–302, doi:10.1078/1434-4610-00106, 2002.
- Teasdale, P. R., Hayward, S. and Davison, W.: In situ, High-Resolution Measurement of Dissolved Sulfide Using Diffusive Gradients in Thin Films with Computer-Imaging Densitometry, *Anal. Chem.*, 71(11), 2186–2191, doi:10.1021/ac981329u, 1999.
- Terrados, J. and Williams, S.: Leaf versus root nitrogen uptake by the surfgrass *Phyllospadix torreyi*, *Marine Ecology Progress Series*, 149, 267–277, doi:10.3354/meps149267, 1997.
- Thibault de Chanvalon, A., Metzger, E., Mouret, A., Cesbron, F., Knoery, J., Rozuel, E., Launeau, P. and Geslin, E.: Two-dimensional distribution of living benthic foraminifera in anoxic sediment layers of an estuarine mudflat (Loire Estuary), in prep.
- Tiedje, J. M.: Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium, *Biology of anaerobic microorganisms*, 717, 179–244, 1988.
- Tobin, R., Scott, D. B., Collins, E. S. and Medioli, F. S.: Infaunal benthic foraminifera in some North American marshes and their influence on fossil assemblages, *Journal of Foraminiferal Research*, 35(2), 130–147, 2005.
- Touchette, B. W. and Burkholder, J.: Nitrate reductase activity in a submersed marine angiosperm: Controlling influences of environmental and physiological factors, *Plant Physiology and Biochemistry*, 39(7–8), 583–593, doi:10.1016/S0981-9428(01)01278-5, 2001.
- Touchette, B. W. and Burkholder, J. M.: Review of nitrogen and phosphorus metabolism in seagrasses, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 250(1–2), 133–167, doi:10.1016/S0022-0981(00)00195-7, 2000.
- Trench, R.: Of 'leaves that crawl': functional chloroplasts in animal cells., in *Symposia of the Society for Experimental Biology*, p. 229., 1975.
- Turpin, D. H.: Effects of Inorganic N Availability on Algal Photosynthesis and Carbon Metabolism, *Journal of Phycology*, 27(1), 14–20, doi:10.1111/j.0022-3646.1991.00014.x, 1991.
- Véneç-Peyré, M. and Le Calvez, Y.: Les Foraminifères épiphytes de l'herbier de Posidonies de Banyuls-sur-Mer (Méditerranée occidentale) étude des variations spatiotemporelles du peuplement, *Cahiers de Micropaléontologie*, 3, 21–40, 1988.
- Vermaat, J. E. and Verhagen, F. C. A.: Seasonal variation in the intertidal seagrass *Zostera noltii* Hornem.: coupling demographic and physiological patterns, *Aquatic Botany*, 52(4), 259–281, doi:10.1016/0304-3770(95)00510-2, 1996.

- Viollier, E., Rabouille, C., Apitz, S. ., Breuer, E., Chaillou, G., Dedieu, K., Furukawa, Y., Grenz, C., Hall, P., Janssen, F., Morford, J. ., Poggiale, J.-C., Roberts, S., Shimmield, T., Taillefert, M., Tengberg, A., Wenzhöfer, F. and Witte, U.: Benthic biogeochemistry: state of the art technologies and guidelines for the future of in situ survey, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 285–286, 5–31, doi:10.1016/S0022-0981(02)00517-8, 2003.
- Walker, D. I., Campey, M. L. and Kendrick, G. A.: Nutrient dynamics in two seagrass species, *Posidonia coriacea* and *Zostera tasmanica*, on Success Bank, Western Australia, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 60(2), 251–260, doi:10.1016/j.ecss.2004.01.003, 2004.
- Walton, W. R.: Techniques for recognition of living foraminifera, Scripps Institution of Oceanography., 1952.
- Ward, L. G., Michael Kemp, W. and Boynton, W. R.: The influence of waves and seagrass communities on suspended particulates in an estuarine embayment, *Marine Geology*, 59(1–4), 85–103, doi:10.1016/0025-3227(84)90089-6, 1984.
- Waycott, M., Duarte, C. M., Carruthers, T. J. B., Orth, R. J., Dennison, W. C., Olyarnik, S., Calladine, A., Fourqurean, J. W., Heck, K. L., Hughes, A. R., Kendrick, G. A., Kenworthy, W. J., Short, F. T. and Williams, S. L.: Accelerating loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems, *PNAS*, 106(30), 12377–12381, doi:10.1073/pnas.0905620106, 2009.
- Welsh, D. t.: Nitrogen fixation in seagrass meadows: Regulation, plant–bacteria interactions and significance to primary productivity, *Ecology Letters*, 3(1), 58–71, doi:10.1046/j.1461-0248.2000.00111.x, 2000.
- Wenzhöfer, F. and Glud, R. N.: Small-Scale Spatial and Temporal Variability in Coastal Benthic O₂ Dynamics: Effects of Fauna Activity, *Limnology and Oceanography*, 49(5), 1471–1481, doi:10.2307/3597418, 2004.
- Widdows, J., Pope, N. D., Brinsley, M. D., Asmus, H. and Asmus, R. M.: Effects of seagrass beds (*Zostera noltii* and *Z. marina*) on near-bed hydrodynamics and sediment resuspension, *MARINE ECOLOGY-PROGRESS SERIES-*, 358, 125, 2008.
- Widerlund, A. and Davison, W.: Size and Density Distribution of Sulfide-Producing Microniches in Lake Sediments, *Environmental Science & Technology*, 41(23), 8044–8049, doi:10.1021/es071510x, 2007.
- Wilkie, L., O’Hare, M. T., Davidson, I., Dudley, B. and Paterson, D. M.: Particle trapping and retention by *Zostera noltii*: A flume and field study, *Aquatic Botany*, 102, 15–22, doi:10.1016/j.aquabot.2012.04.004, 2012.
- De Wit, R., Stal, L. J., Lomstein, B. A., Herbert, R. A., Van Gemerden, H., Viaroli, P., Cecherelli, V.-U., Rodríguez-Valera, F., Bartoli, M. and Giordani, G.: ROBUST: the role of buffering capacities in stabilising coastal lagoon ecosystems, *Continental Shelf Research*, 21(18), 2021–2041, 2001.
- Wollast, R.: The coastal organic carbon cycle: fluxes, sources and sinks, *Ocean margin processes in global change*, 365–381, 1991.
- Wollast, R.: Evaluation and comparison of the global carbon cycle in the coastal zone and in the open ocean, *The sea*, 10, 213–252, 1998.

Wood, E. D., Armstrong, F. and Richards, F. A.: Determination of nitrate in sea water by cadmium-copper reduction to nitrite, *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 47(01), 23–31, 1967.

Woods, J. and Mellon, M.: Molybdenum Blue Reaction: A Spectrophotometric Study, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 13(11), 760–764, doi:10.1021/i560099a003, 1941.

Woulds, C. and Cowie, G. L.: Sedimentary pigments on the Pakistan margin: Controlling factors and organic matter dynamics, *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 56(6-7), 347–357, doi:10.1016/j.dsr2.2008.05.033, 2009.

Wright, J. P. and Jones, C. G.: The Concept of Organisms as Ecosystem Engineers Ten Years On: Progress, Limitations, and Challenges, *BioScience*, 56(3), 203–209, doi:10.1641/0006-3568(2006)056[0203:TCCOAE]2.0.CO;2, 2006.

Xu, D., Chen, Y., Ding, S., Sun, Q., Wang, Y. and Zhang, C.: Diffusive Gradients in Thin Films Technique Equipped with a Mixed Binding Gel for Simultaneous Measurements of Dissolved Reactive Phosphorus and Dissolved Iron, *Environmental Science & Technology*, 10477–10484, doi:10.1021/es401822x, 2013.

Xu, D., Wu, W., Ding, S., Sun, Q. and Zhang, C.: A high-resolution dialysis technique for rapid determination of dissolved reactive phosphate and ferrous iron in pore water of sediments, *Science of The Total Environment*, 421–422, 245–252, doi:10.1016/j.scitotenv.2012.01.062, 2012.

Yu, K.-T., Lam, M. H., Yen, Y.-F. and Leung, A. P. K.: Behavior of trace metals in the sediment pore waters of intertidal mudflats of a tropical wetland, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(3), 535–542, doi:10.1002/etc.5620190303, 2000.

Zhang, H., Davison, W., Miller, S. and Tych, W.: In situ high resolution measurements of fluxes of Ni, Cu, Fe, and Mn and concentrations of Zn and Cd in porewaters by DGT, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59(20), 4181–4192, doi:10.1016/0016-7037(95)00293-9, 1995.

Zhang, H., Davison, W. and Ottley, C.: Remobilisation of major ions in freshly deposited lacustrine sediment at overturn, *Aquat. sci.*, 61(4), 354–361, doi:10.1007/s000270050071, 1999.

Zhu, Q. and Aller, R. C.: Two-dimensional dissolved ferrous iron distributions in marine sediments as revealed by a novel planar optical sensor, *Marine Chemistry*, 136–137(0), 14–23, doi:10.1016/j.marchem.2012.04.002, 2012.

Zhu, Q., Aller, R. C. and Fan, Y.: High-Performance Planar pH Fluorosensor for Two-Dimensional pH Measurements in Marine Sediment and Water, *Environ. Sci. Technol.*, 39(22), 8906–8911, doi:10.1021/es051023m, 2005.

Zhu, Q., Aller, R. C. and Fan, Y.: A new ratiometric, planar fluorosensor for measuring high resolution, two-dimensional pCO₂ distributions in marine sediments, *Marine Chemistry*, 101(1–2), 40–53, doi:10.1016/j.marchem.2006.01.002, 2006a.

Zhu, Q., Aller, R. C. and Fan, Y.: Two-dimensional pH distributions and dynamics in bioturbated marine sediments, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70(19), 4933–4949, doi:10.1016/j.gca.2006.07.033, 2006b.

Zimmerman, R. C., Smith, R. D. and Alberte, R. S.: Is growth of eelgrass nitrogen limited? A numerical simulation of the effects of light and nitrogen on the growth dynamics of *Zostera marina*., Marine ecology progress series. Oldendorf, 41(2), 167–176, 1987.

ANNEXES

Annexe 1 : “Census data for live benthic foraminifera in the > 150 μm fraction for all 6 cores from February 2011”

Annexe 2 : “Census data for live benthic foraminifera in the > 150 μm fraction for all 6 cores from July 2011”

Annexe 3 : Préparation des réactifs pour l’analyse de NH_4^+ , NO_2^- ,
 NO_3^-

Annexe 4 : Inventaire des gels DET-DGT 2D

Annexe 5 : Nouveau Chapitre de la Thèse, mentor : Christian Bertheuil, Mai 2014

Annexe 1 : “Census data for live benthic foraminifera in the $> 150 \mu\text{m}$ fraction for all 6 cores from February 2011”

Core	Level (cm)	Fraction (µm)							Core	Level (cm)	Fraction (µm)									
			<i>Ammonia tepida</i>	<i>Haynesina germanica</i>	<i>Quinqueloculina seminula</i>	<i>Cribrorbidium excavatum</i>	<i>Millammina fusca</i>	<i>Eggerella scabra</i>				<i>Trochammina sp</i>	<i>Ammonia tepida</i>	<i>Haynesina germanica</i>	<i>Quinqueloculina seminula</i>	<i>Cribrorbidium excavatum</i>	<i>Millammina fusca</i>	<i>Eggerella scabra</i>	<i>Trochammina sp</i>	
FN1	0-0.5	150	190	4	4	0	3	82	0	FZ1	0-0.5	150	1816	3	2	0	0	0	0	0
FN1	0-0.5	315	0	0	0	0	0	6	0	FZ1	0-0.5	315	2	0	0	0	0	0	0	0
FN1	0.5-1	150	11	1	0	0	0	29	0	FZ1	0.5-1	150	4	1	0	0	0	0	1	0
FN1	0.5-1	315	0	1	0	0	0	13	0	FZ1	0.5-1	315	1	0	0	0	0	0	1	0
FN1	1-1.5	150	0	0	0	0	0	37	0	FZ1	1-1.5	150	2	2	0	0	0	0	2	0
FN1	1-1.5	315	0	0	0	0	0	5	0	FZ1	1-1.5	315	0	0	0	0	0	0	0	0
FN1	1.5-2	150	1	0	0	0	0	24	0	FZ1	1.5-2	150	2	1	0	0	0	0	0	0
FN1	1.5-2	315	0	1	0	0	0	8	0	FZ1	1.5-2	315	0	0	0	0	0	0	6	0
FN1	2-3	150	1	0	0	0	0	32	0	FZ1	2-3	150	0	0	0	0	0	0	3	0
FN1	2-3	315	0	0	0	0	0	6	0	FZ1	2-3	315	0	0	0	0	0	0	3	0
FN1	3-4	150	5	0	0	0	0	45	0	FZ1	3-4	150	1	2	0	0	0	0	4	0
FN1	3-4	315	0	0	0	0	0	6	0	FZ1	3-4	315	0	0	0	0	0	0	0	0
FN1	4-5	150	0	0	0	0	0	24	0	FZ1	4-5	150	1	0	0	0	0	0	12	0
FN1	4-5	315	0	0	0	0	0	7	0	FZ1	4-5	315	0	0	0	0	0	0	9	0
FN1	5-6	150	5	0	0	0	0	8	0	FZ1	5-6	150	3	3	0	0	0	0	13	0
FN1	5-6	315	0	0	0	0	0	5	0	FZ1	5-6	315	0	0	0	0	0	0	0	0
FN1	6-7	150	1	0	0	0	0	9	0	FZ1	6-7	150	5	0	0	0	0	0	1	0
FN1	6-7	315	0	0	0	0	0	3	0	FZ1	6-7	315	0	0	0	0	0	0	0	0
FN2	0-0.5	150	1149	206	25	40	2	10	0	FZ2	0-0.5	150	1620	427	17	13	0	7	0	0
FN2	0-0.5	315	3	0	0	0	0	0	0	FZ2	0-0.5	315	1	0	0	0	0	0	0	0
FN2	0.5-1	150	52	8	1	1	0	0	0	FZ2	0.5-1	150	1829	109	25	14	0	3	0	0
FN2	0.5-1	315	0	0	0	0	0	0	0	FZ2	0.5-1	315	0	0	2	0	0	0	0	0
FN2	1-1.5	150	2	0	0	0	0	38	0	FZ2	1-1.5	150	53	13	1	1	1	4	0	0
FN2	1-1.5	315	0	0	0	0	0	5	0	FZ2	1-1.5	315	0	0	0	0	0	0	0	0
FN2	1.5-2	150	0	0	0	0	0	54	0	FZ2	1.5-2	150	10	1	0	0	1	10	0	0
FN2	1.5-2	315	0	0	0	0	0	2	0	FZ2	1.5-2	315	0	0	0	0	0	0	0	0
FN2	2-3	150	3	2	0	0	0	45	0	FZ2	2-3	150	8	0	0	0	0	20	0	0
FN2	2-3	315	0	0	0	0	0	0	0	FZ2	2-3	315	0	0	0	0	0	0	0	0
FN2	3-4	150	1	0	0	0	0	42	0	FZ2	3-4	150	4	1	0	0	0	125	0	0
FN2	3-4	315	0	0	0	0	0	1	0	FZ2	3-4	315	0	0	0	0	0	0	0	0
FN2	4-5	150	0	0	0	0	0	0	0	FZ2	4-5	150	0	0	0	0	0	44	0	0
FN2	4-5	315	0	0	0	0	0	0	0	FZ2	4-5	315	0	0	0	0	0	0	0	0
FN2	5-6	150	0	0	0	0	0	3	0	FZ2	5-6	150	1	0	0	0	0	15	0	0
FN2	5-6	315	0	0	0	0	0	4	0	FZ2	5-6	315	0	0	0	0	0	0	0	0
FN2	6-7	150	0	0	0	0	0	6	4	FZ2	6-7	150	0	0	0	0	0	1	0	0
FN2	6-7	315	0	0	0	0	0	0	0	FZ2	6-7	315	0	0	0	0	0	0	0	0
FN3	0-0.5	150	1166	235	27	8	2	26	0	FZ3	0-0.5	150	2419	368	30	13	8	23	0	0
FN3	0-0.5	315	3	1	2	0	0	0	0	FZ3	0-0.5	315	4	0	1	0	0	0	0	0
FN3	0.5-1	150	0	2	0	0	0	3	0	FZ3	0.5-1	150	83	0	0	0	0	1	0	0
FN3	0.5-1	315	0	0	0	0	0	0	0	FZ3	0.5-1	315	0	0	0	0	0	0	0	0
FN3	1-1.5	150	0	0	0	0	0	13	0	FZ3	1-1.5	150	2	0	0	0	0	8	0	0
FN3	1-1.5	315	0	0	0	0	0	0	0	FZ3	1-1.5	315	0	0	0	0	0	0	0	0
FN3	1.5-2	150	0	0	0	0	0	0	0	FZ3	1.5-2	150	3	0	0	0	0	7	0	0
FN3	1.5-2	315	0	0	0	0	0	0	0	FZ3	1.5-2	315	0	0	0	0	0	0	0	0
FN3	2-3	150	1	0	0	0	0	2	0	FZ3	2-3	150	2	0	0	0	0	44	0	0
FN3	2-3	315	0	0	0	0	0	2	0	FZ3	2-3	315	0	0	0	0	0	1	0	0
FN3	3-4	150	1	1	0	0	0	6	0	FZ3	3-4	150	0	0	0	0	0	56	0	0
FN3	3-4	315	0	0	0	0	0	0	0	FZ3	3-4	315	0	0	0	0	0	7	0	0
FN3	4-5	150	1	0	0	0	0	8	0	FZ3	4-5	150	0	0	0	0	0	4	0	0
FN3	4-5	315	0	0	0	0	0	0	0	FZ3	4-5	315	0	0	0	0	0	11	0	0
FN3	5-6	150	0	0	0	0	0	11	0	FZ3	5-6	150	1	1	0	0	0	10	0	0
FN3	5-6	315	0	0	0	0	0	1	0	FZ3	5-6	315	0	0	0	0	0	12	0	0
FN3	6-7	150	0	0	0	0	0	15	0	FZ3	6-7	150	20	0	0	0	0	7	0	0
FN3	6-7	315	0	0	0	0	0	2	0	FZ3	6-7	315	1	0	0	0	0	0	0	0

Annexe 2 : “Census data for live benthic foraminifera in the > 150 μm fraction for all 6 cores from July 2011”

Core	Level (cm)	Fraction (μm)								Core	Level (cm)	Fraction (μm)							
			<i>Ammonia tepida</i>	<i>Haynesina germanica</i>	<i>Quinqueloculina seminula</i>	<i>Cribrøelphidium excavatum</i>	<i>Miliammina fusca</i>	<i>Eggerella scabra</i>	<i>Trochammina sp</i>				<i>Ammonia tepida</i>	<i>Haynesina germanica</i>	<i>Quinqueloculina seminula</i>	<i>Cribrøelphidium excavatum</i>	<i>Miliammina fusca</i>	<i>Eggerella scabra</i>	<i>Trochammina sp</i>
JN1	0-0.5	150	247	0	7	0	1	13	0	JZ1	0-0.5	150	553	11	2	0	54	38	0
JN1	0-0.5	315	0	0	0	0	0	34	0	JZ1	0-0.5	315	0	0	0	0	0	1	0
JN1	0.5-1	150	18	6	0	0	7	64	0	JZ1	0.5-1	150	106	108	0	0	9	43	0
JN1	0.5-1	315	0	0	0	0	0	16	0	JZ1	0.5-1	315	1	0	0	0	0	12	0
JN1	1-1.5	150	5	0	0	0	0	65	0	JZ1	1-1.5	150	48	49	0	1	1	19	0
JN1	1-1.5	315	0	0	0	0	0	24	0	JZ1	1-1.5	315	1	0	0	0	0	3	0
JN1	1.5-2	150	0	0	0	0	0	12	0	JZ1	1.5-2	150	10	6	0	0	0	3	0
JN1	1.5-2	315	0	0	0	0	0	3	0	JZ1	1.5-2	315	1	0	0	0	0	0	0
JN1	2-3	150	4	3	0	0	0	128	0	JZ1	2-3	150	5	1	1	0	0	9	0
JN1	2-3	315	1	0	0	0	0	110	0	JZ1	2-3	315	0	0	0	0	0	1	0
JN1	3-4	150	3	0	0	0	0	80	0	JZ1	3-4	150	32	0	0	0	0	80	0
JN1	3-4	315	0	0	0	0	0	71	0	JZ1	3-4	315	0	0	0	0	0	4	0
JN1	4-5	150	3	1	0	0	0	395	0	JZ1	4-5	150	14	2	0	0	0	259	0
JN1	4-5	315	2	0	0	0	0	150	0	JZ1	4-5	315	0	0	0	0	0	0	0
JN1	5-6	150	10	0	0	0	0	149	0	JZ1	5-6	150	5	1	0	0	0	61	0
JN1	5-6	315	0	0	0	0	0	8	0	JZ1	5-6	315	0	0	0	0	0	2	0
JN1	6-7	150	2	0	0	0	0	84	0	JZ1	6-7	150	1	0	0	0	0	6	0
JN1	6-7	315	0	0	0	0	0	25	0	JZ1	6-7	315	0	0	0	0	0	0	0
JN2	0-0.5	150	57	1	0	0	0	26	0	JZ2	0-0.5	150	108	0	1	0	5	55	0
JN2	0-0.5	315	621	0	44	0	0	1	0	JZ2	0-0.5	315	0	0	0	0	0	11	0
JN2	0.5-1	150	14	4	0	0	1	411	0	JZ2	0.5-1	150	107	34	0	0	9	27	0
JN2	0.5-1	315	0	0	0	0	0	20	0	JZ2	0.5-1	315	0	0	0	0	0	9	0
JN2	1-1.5	150	2	3	0	0	0	180	0	JZ2	1-1.5	150	25	15	0	0	3	7	0
JN2	1-1.5	315	0	0	0	0	0	36	0	JZ2	1-1.5	315	0	0	0	0	0	2	0
JN2	1.5-2	150	4	2	0	0	0	120	0	JZ2	1.5-2	150	18	3	0	0	3	5	0
JN2	1.5-2	315	0	0	0	0	0	16	0	JZ2	1.5-2	315	0	0	0	0	0	1	0
JN2	2-3	150	3	0	0	0	0	147	0	JZ2	2-3	150	1	0	0	0	0	11	0
JN2	2-3	315	0	0	0	0	0	76	0	JZ2	2-3	315	0	0	0	0	0	7	0
JN2	3-4	150	2	0	0	0	0	203	0	JZ2	3-4	150	26	1	0	0	0	98	0
JN2	3-4	315	1	0	0	0	0	65	0	JZ2	3-4	315	0	0	0	0	0	11	0
JN2	4-5	150	12	0	0	0	0	613	0	JZ2	4-5	150	5	0	0	0	0	12	0
JN2	4-5	315	1	0	0	0	0	100	0	JZ2	4-5	315	0	0	0	0	0	14	0
JN2	5-6	150	7	1	0	0	0	546	0	JZ2	5-6	150	2	0	0	0	0	120	0
JN2	5-6	315	6	1	0	0	0	101	0	JZ2	5-6	315	0	0	0	0	0	6	0
JN2	6-7	150	2	0	0	0	0	73	0	JZ2	6-7	150	11	0	0	0	0	18	0
JN2	6-7	315	0	0	0	0	0	7	0	JZ2	6-7	315	0	0	0	0	0	0	0
JN3	0-0.5	150	174	4	3	0	0	19	0	JZ3	0-0.5	150	598	56	1	1	57	10	0
JN3	0-0.5	315	2	0	0	0	0	0	0	JZ3	0-0.5	315	1	0	0	0	0	13	0
JN3	0.5-1	150	7	0	0	0	0	300	0	JZ3	0.5-1	150	89	164	0	1	6	28	0
JN3	0.5-1	315	0	0	0	0	0	9	0	JZ3	0.5-1	315	1	0	0	0	0	7	0
JN3	1-1.5	150	6	0	0	0	0	77	0	JZ3	1-1.5	150	44	16	0	0	3	5	0
JN3	1-1.5	315	1	0	0	0	0	22	0	JZ3	1-1.5	315	0	0	0	0	0	7	0
JN3	1.5-2	150	1	0	0	0	0	91	0	JZ3	1.5-2	150	28	2	0	0	0	11	0
JN3	1.5-2	315	0	0	0	0	0	30	0	JZ3	1.5-2	315	0	0	0	0	0	40	0
JN3	2-3	150	0	0	0	0	0	30	0	JZ3	2-3	150	13	0	0	0	0	30	0
JN3	2-3	315	0	0	0	0	0	65	0	JZ3	2-3	315	0	0	0	0	0	6	0
JN3	3-4	150	8	0	0	0	0	284	0	JZ3	3-4	150	21	1	0	0	0	9	0
JN3	3-4	315	0	0	0	0	0	75	0	JZ3	3-4	315	0	0	0	0	0	0	0
JN3	4-5	150	5	3	0	0	0	660	0	JZ3	4-5	150	16	0	0	0	0	15	0
JN3	4-5	315	0	0	0	0	0	140	0	JZ3	4-5	315	0	0	0	0	0	6	0
JN3	5-6	150	4	1	0	0	0	121	0	JZ3	5-6	150	0	0	0	0	0	193	0
JN3	5-6	315	0	0	0	0	0	46	0	JZ3	5-6	315	0	0	0	0	0	48	0
JN3	6-7	150	5	0	0	0	0	31	0	JZ3	6-7	150	1	0	0	0	1	3	0
JN3	6-7	315	0	0	0	0	0	7	0	JZ3	6-7	315	0	0	0	0	0	28	0

Annexe 3 : Préparation des réactifs pour l'analyse de NH_4^+ , NO_2^- ,
 NO_3^-

Réactifs gels NH_4^+ :

- **R1** : $V_1 = 50$ mL à mettre à diffuser avec un gel 0,4 mm :
20 mL NaOH 1M (soit 1,664g NaOH + 41,6mL eau MQ)
30 mL NaOCl 0,15% (soit 364 μ L NaOCl + 28,756mL eau MQ)

- **R2** : $V_2 = 50$ mL à mettre à diffuser avec un gel 0,4 mm :
35 mL eau MQ
7,5 mL NP 5% (soit 0,375g NP + 7,5mL eau MQ)
7,5 mL thymol (soit 0,9375g thymol + 7,5mL méthanol)

Réactifs gels NO_2^- :

A mettre à diffuser avec un gel 0,4 mm :

- 55 mL eau mQ
- 5 mL sulfanilamide (soit 0,5g sulfanilamide + 50mL eau MQ + 2,6 mL HCL 37%)
- 5mL diamine (soit 10mg diamine + 10mg eau mQ)

Réactifs gels NO_3^- :

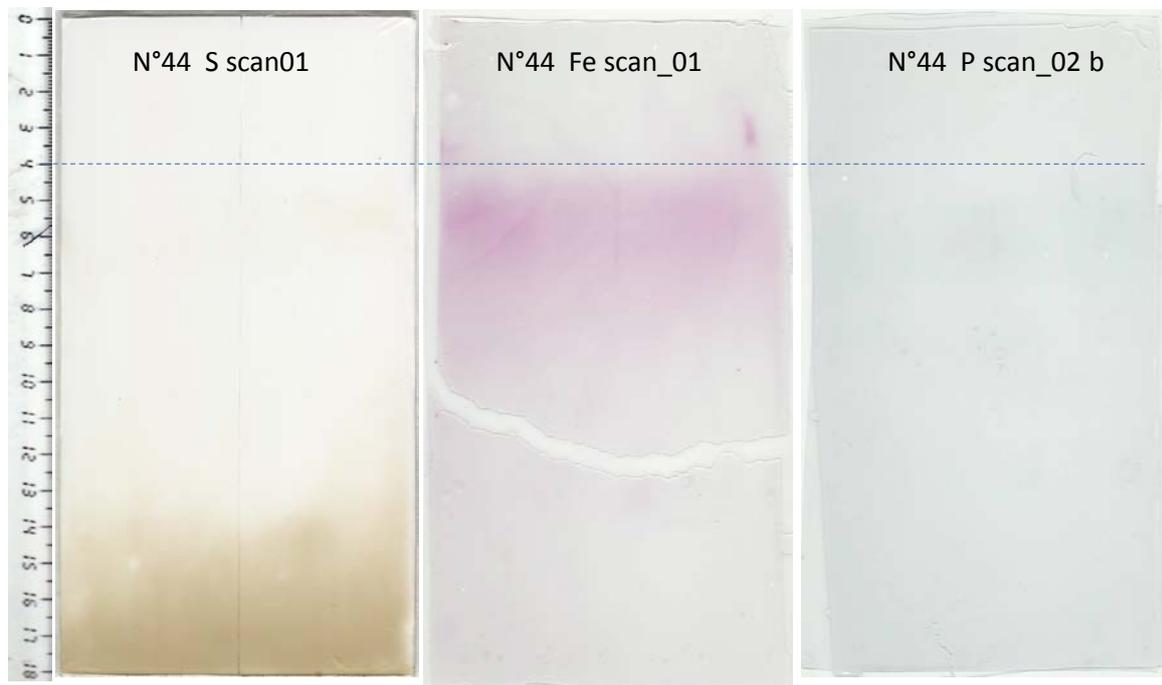
A mettre à diffuser avec un gel 0,4 mm :

- 1,47g VCL_3
- 48mL eau MQ
- 2mL HCl 37%

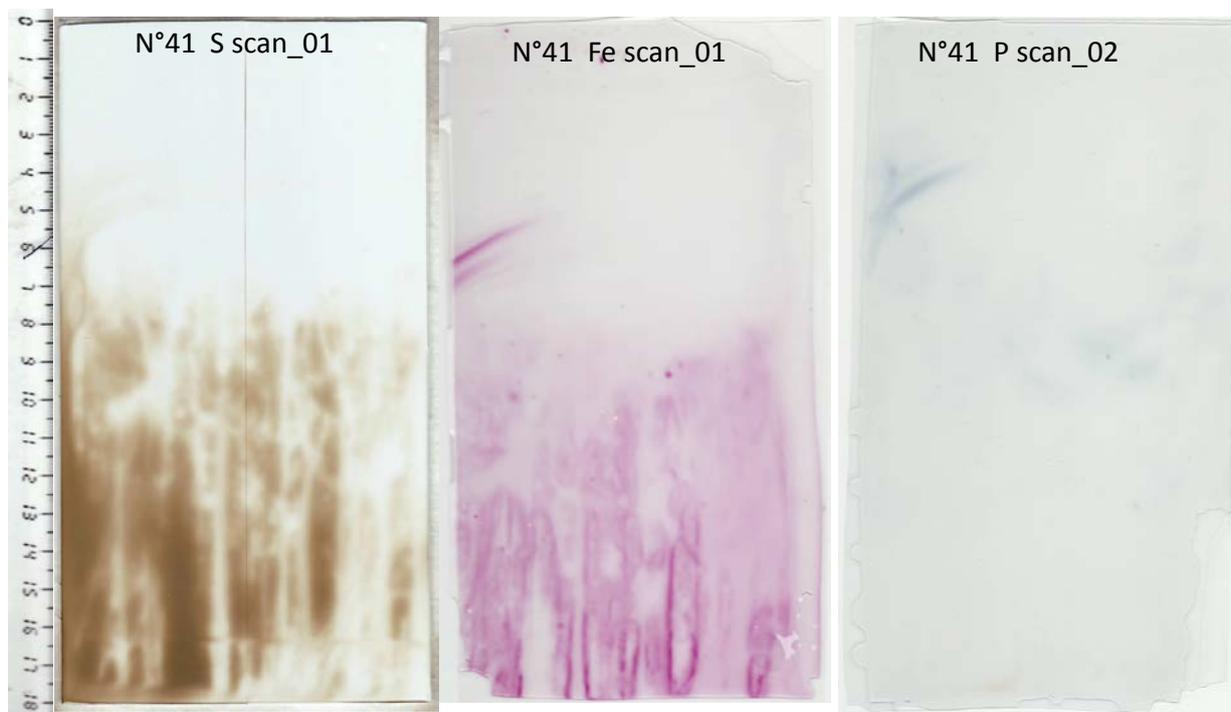
Annexe 4 : Inventaire des gels DET-DGT 2D

Les images suivantes sont issues des différentes missions réalisées par Didier Jézéquel, Edouard Metzger ou Florian Cesbron depuis Juillet 2010 sur le Bassin d’Arcachon et l’Etang de Berre. Seuls les gels prélevés lors des missions de février 2012 et juin 2012 ont été révélés par caméra hyperspectrale, les images antérieures à ces deux missions sont issues d’un traitement par scanner.

Plaque n°44 – Vase Nue

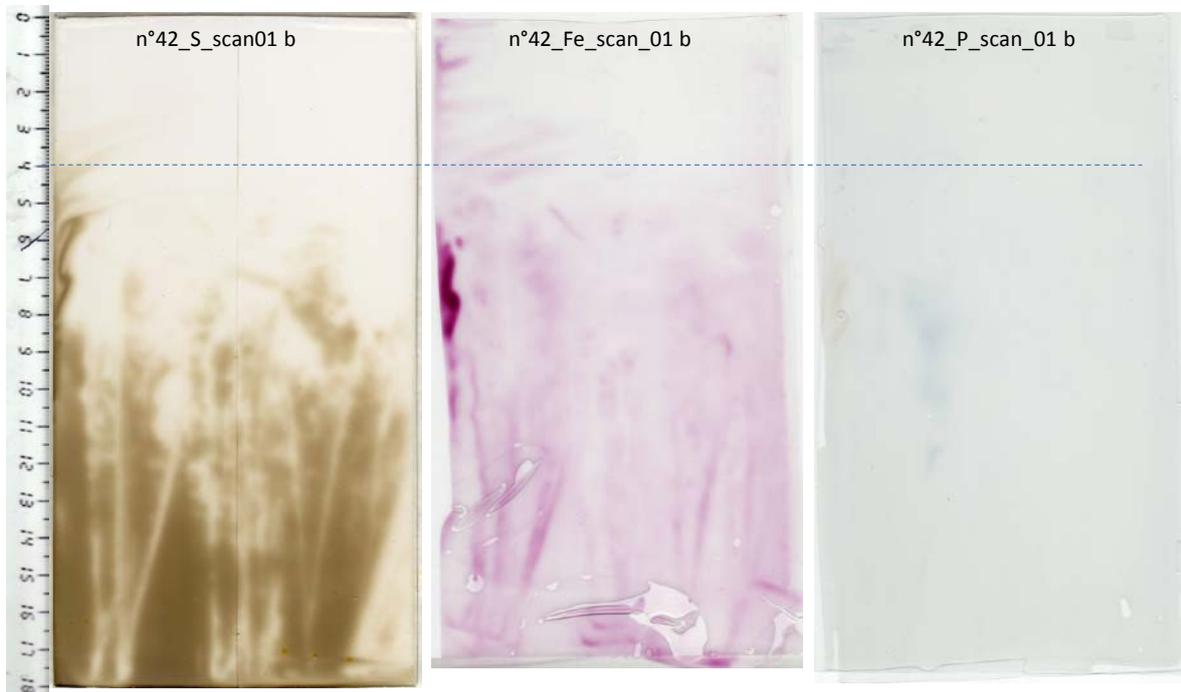
Bassin d’Arcachon
Juillet 2010Bassin d’Arcachon
Juillet 2010

Plaque n°41 – Herbière Dense (Interface eau-sédiment mal contrôlée car beaucoup de zostères)



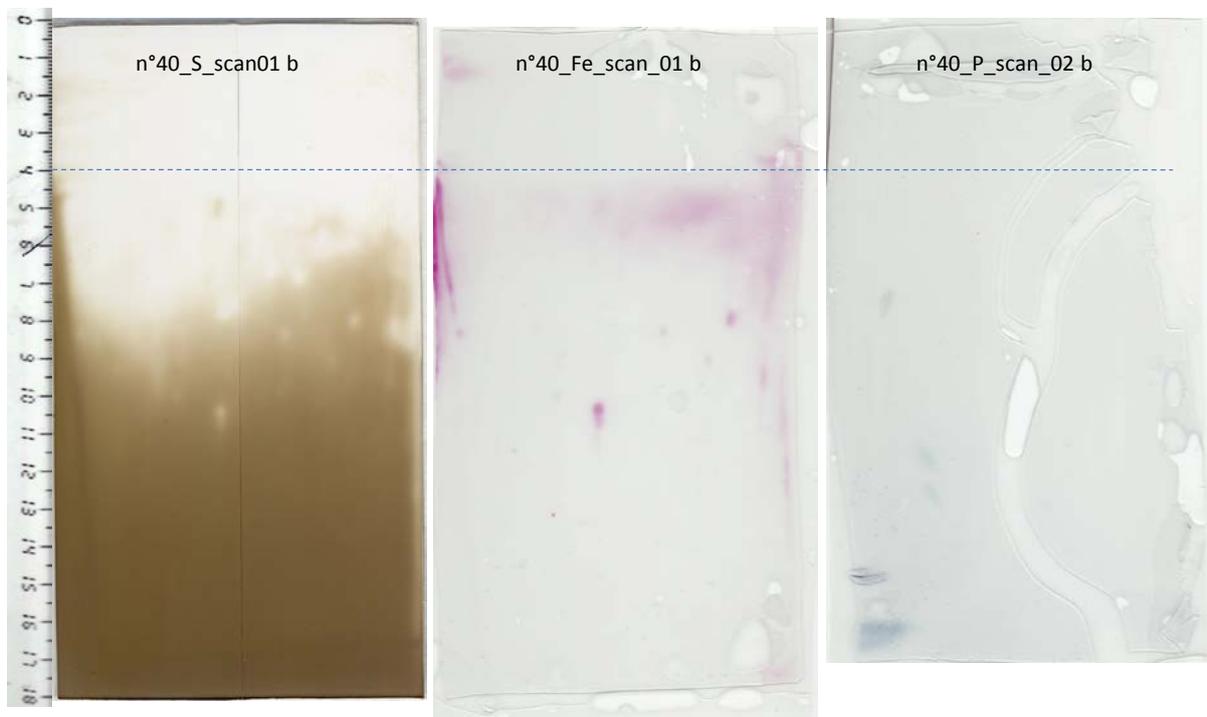
Plaque n°42 – Herbier Dense

Bassin d’Arcachon
Juillet 2010

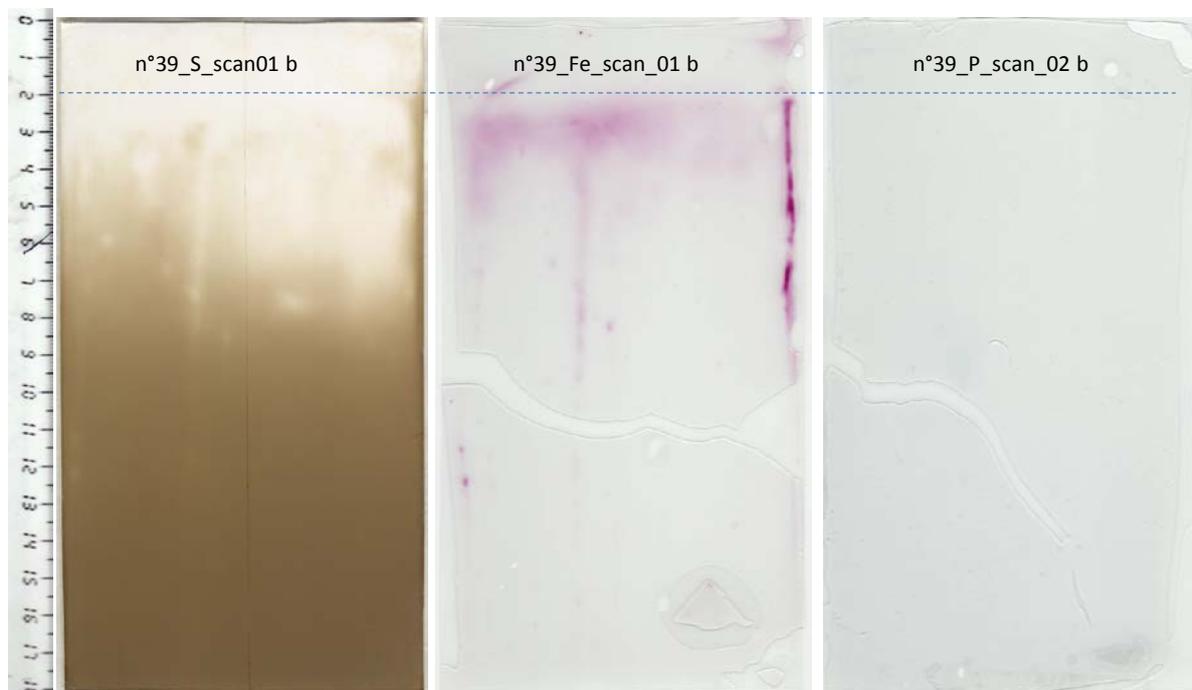


Plaque n°40 – Herbier Peu Dense

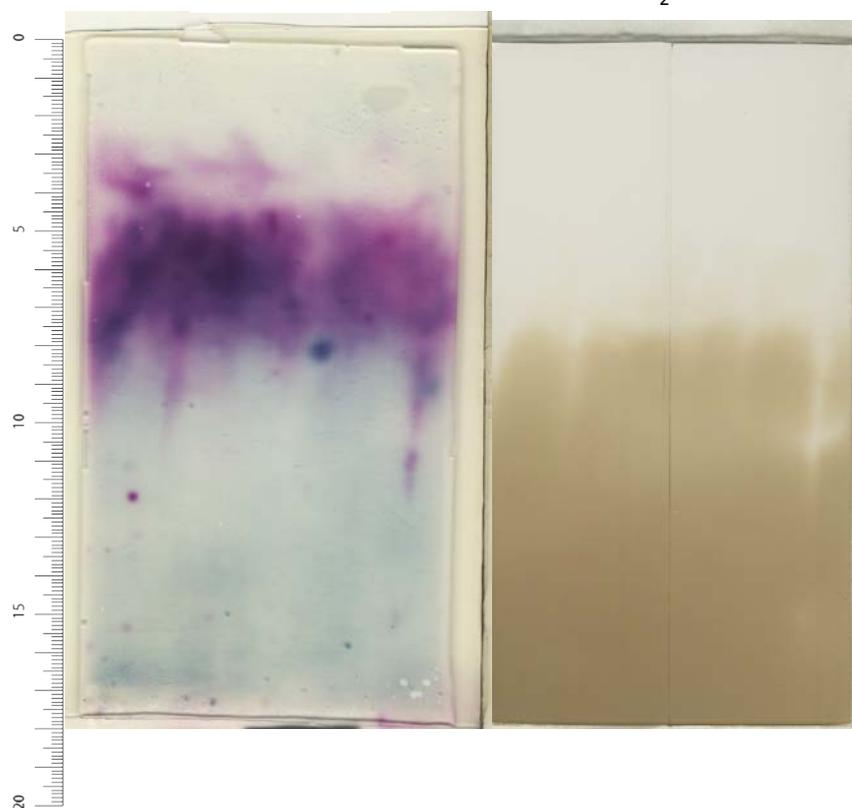
Bassin d’Arcachon
Juillet 2010

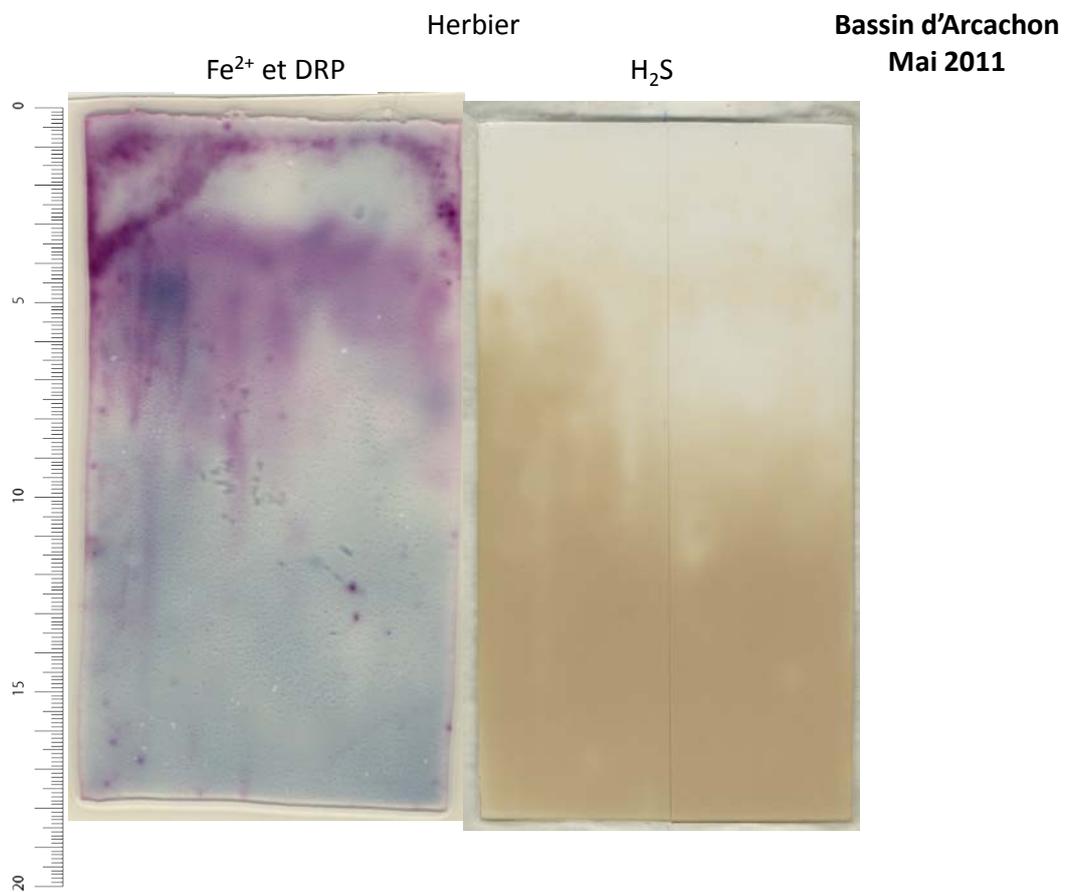
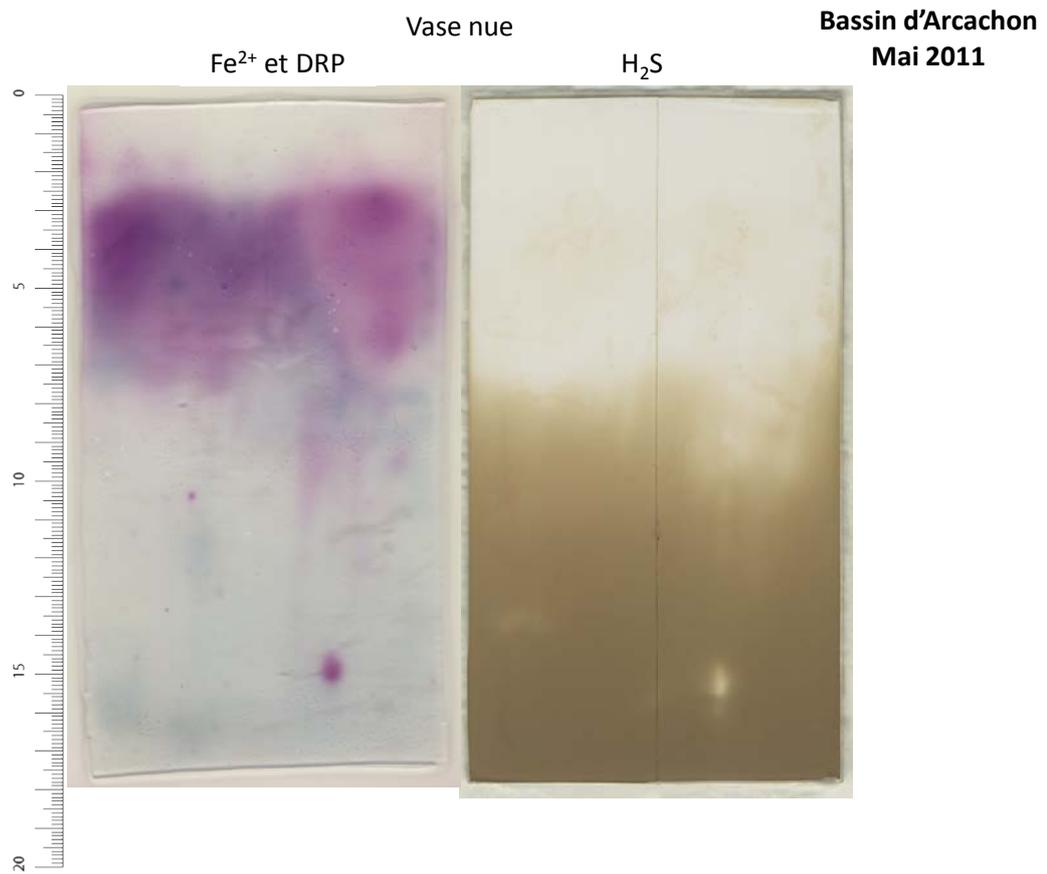


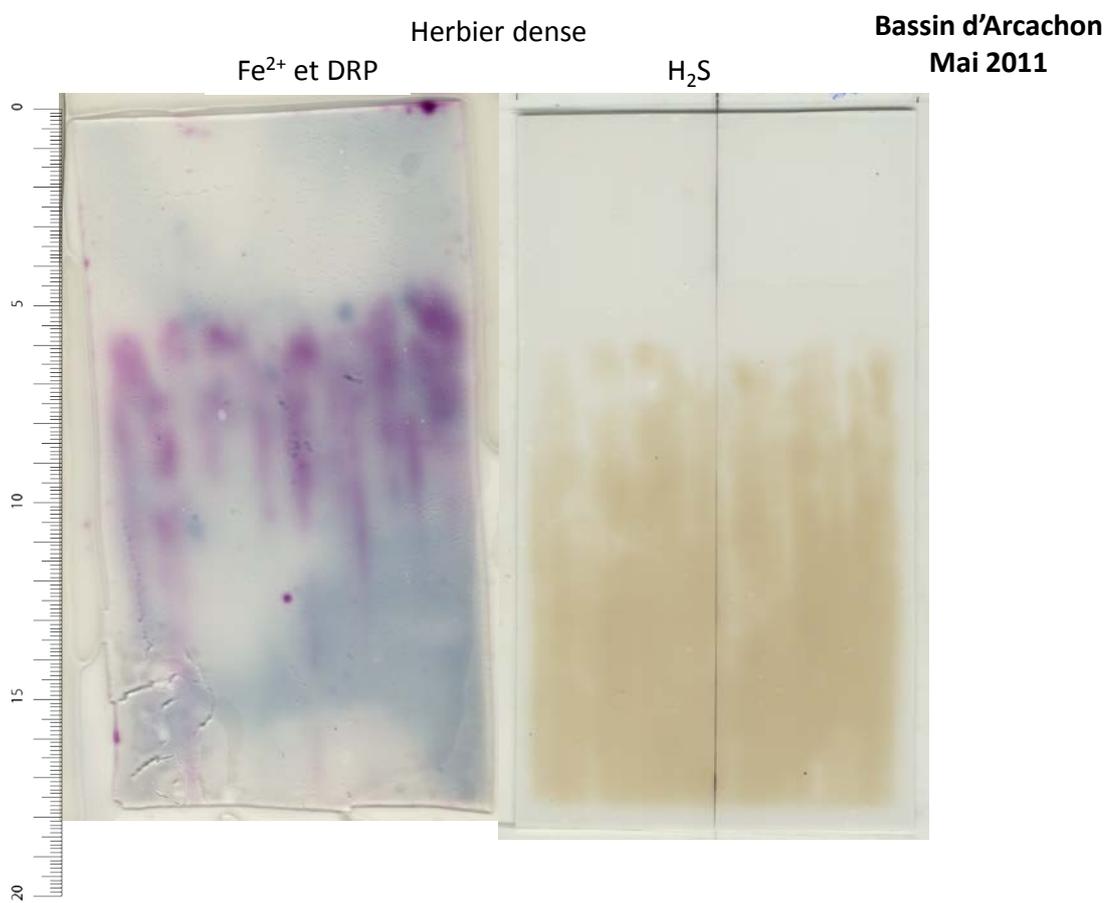
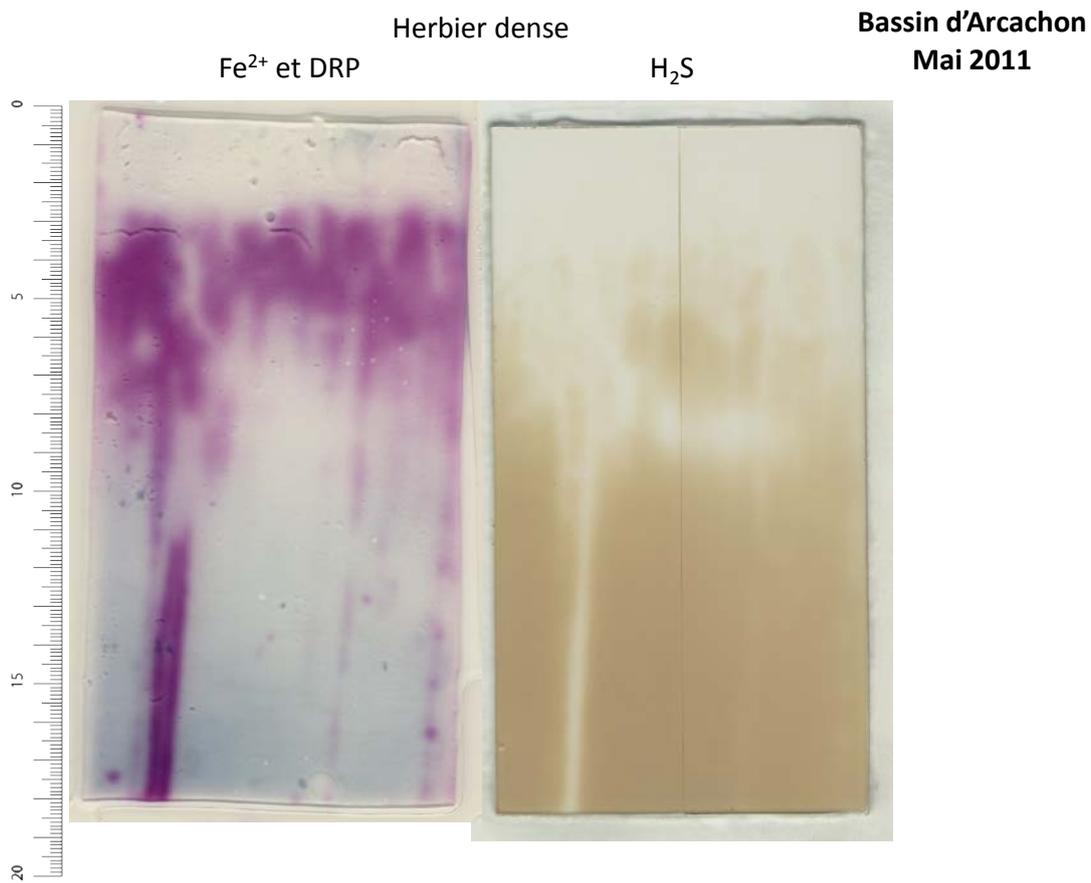
Plaque n°39 – Herbier Peu Dense (IES = trait haut)

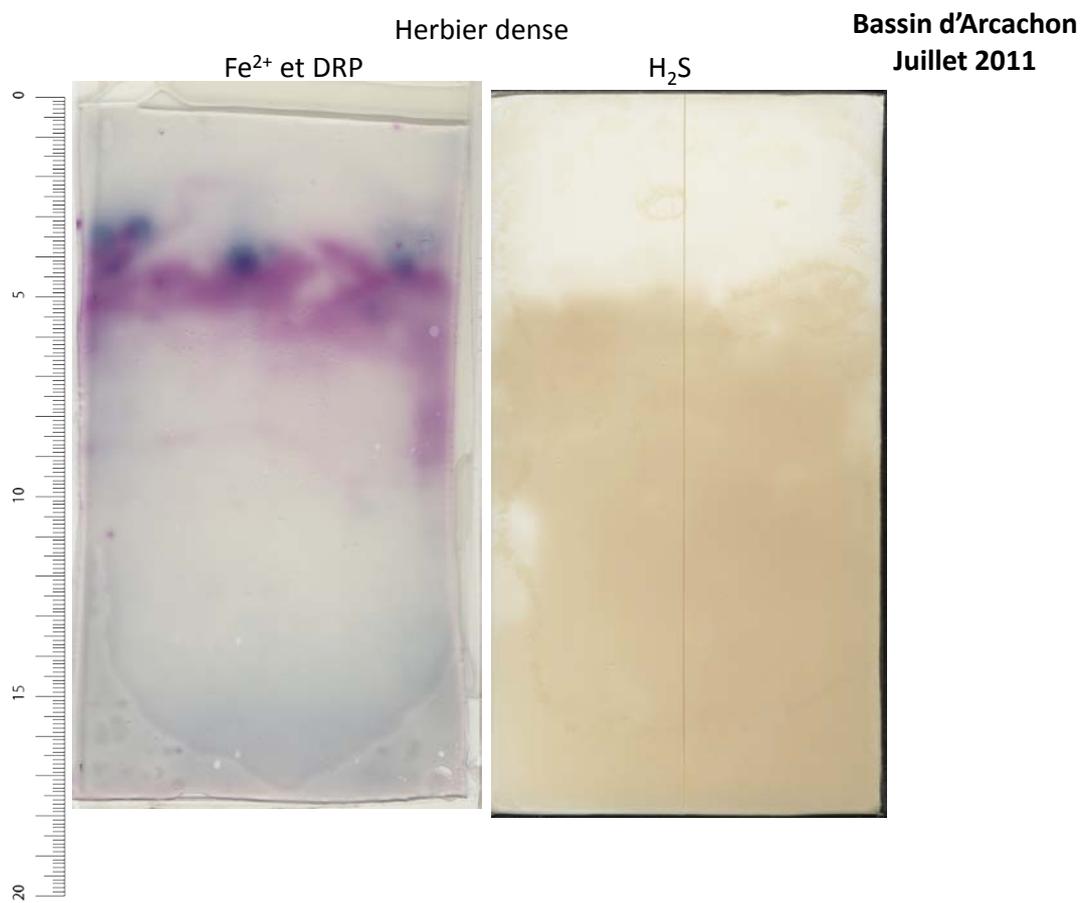
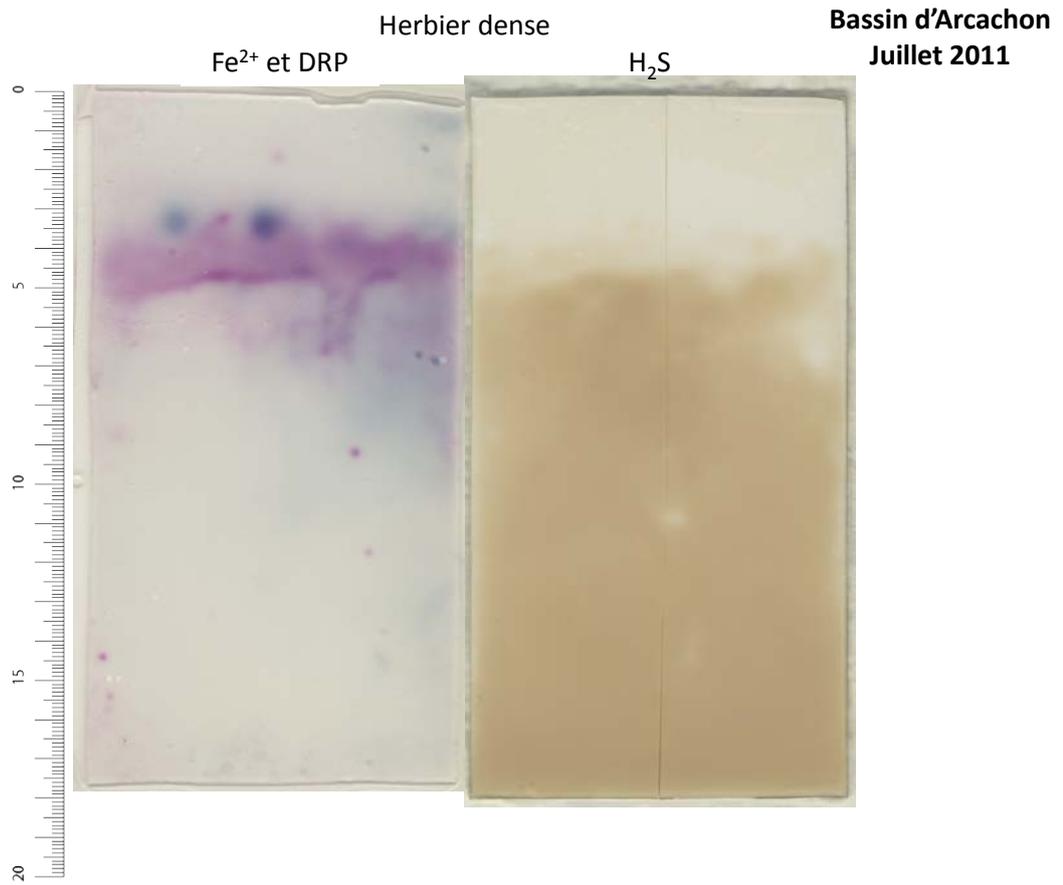
Bassin d’Arcachon
Juillet 2010Fe²⁺ et DRP

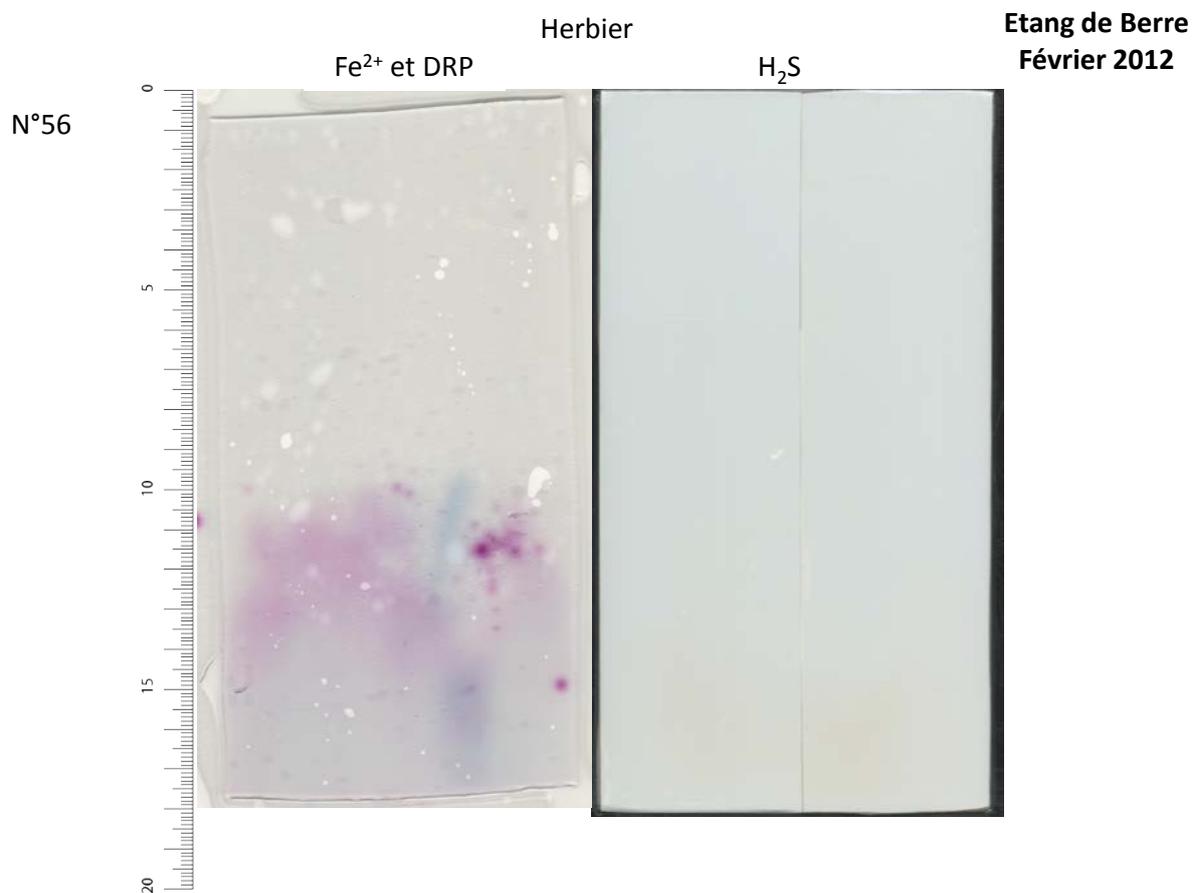
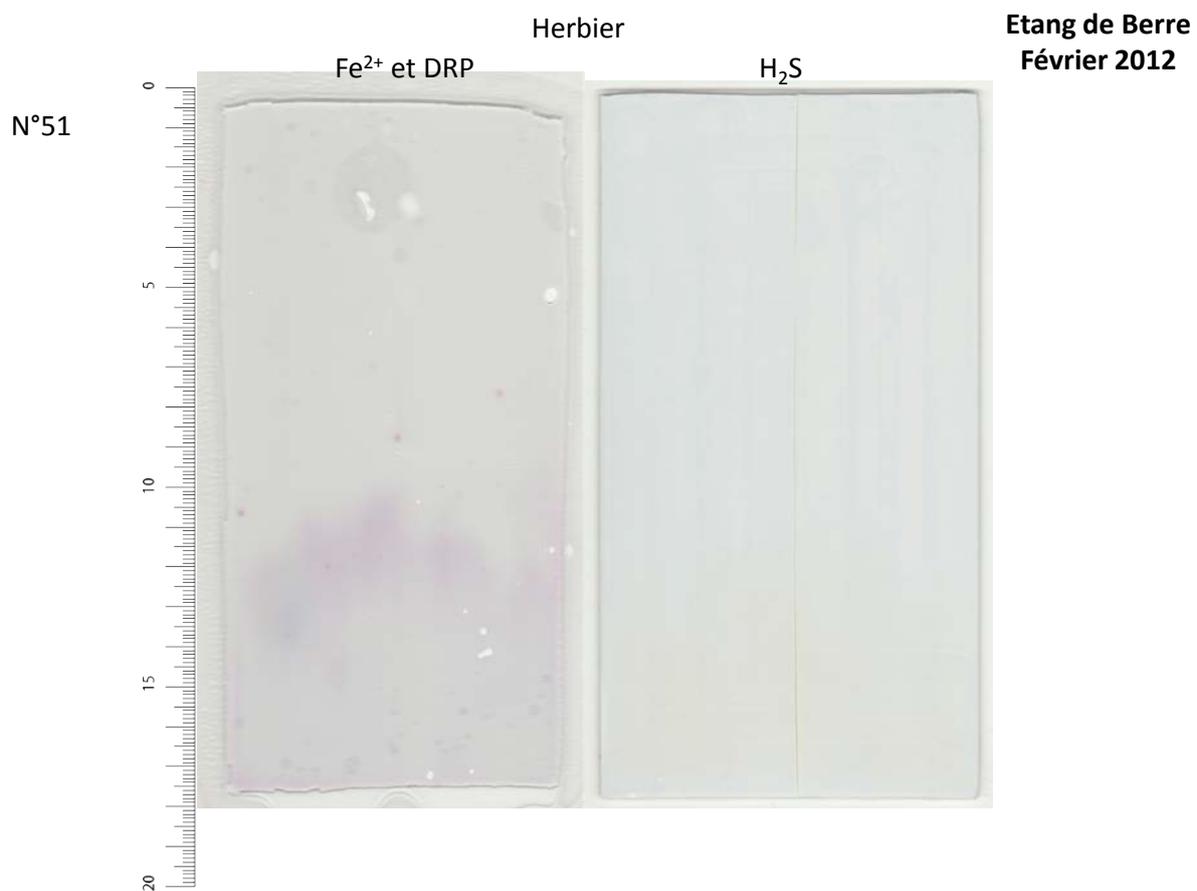
Vase nue

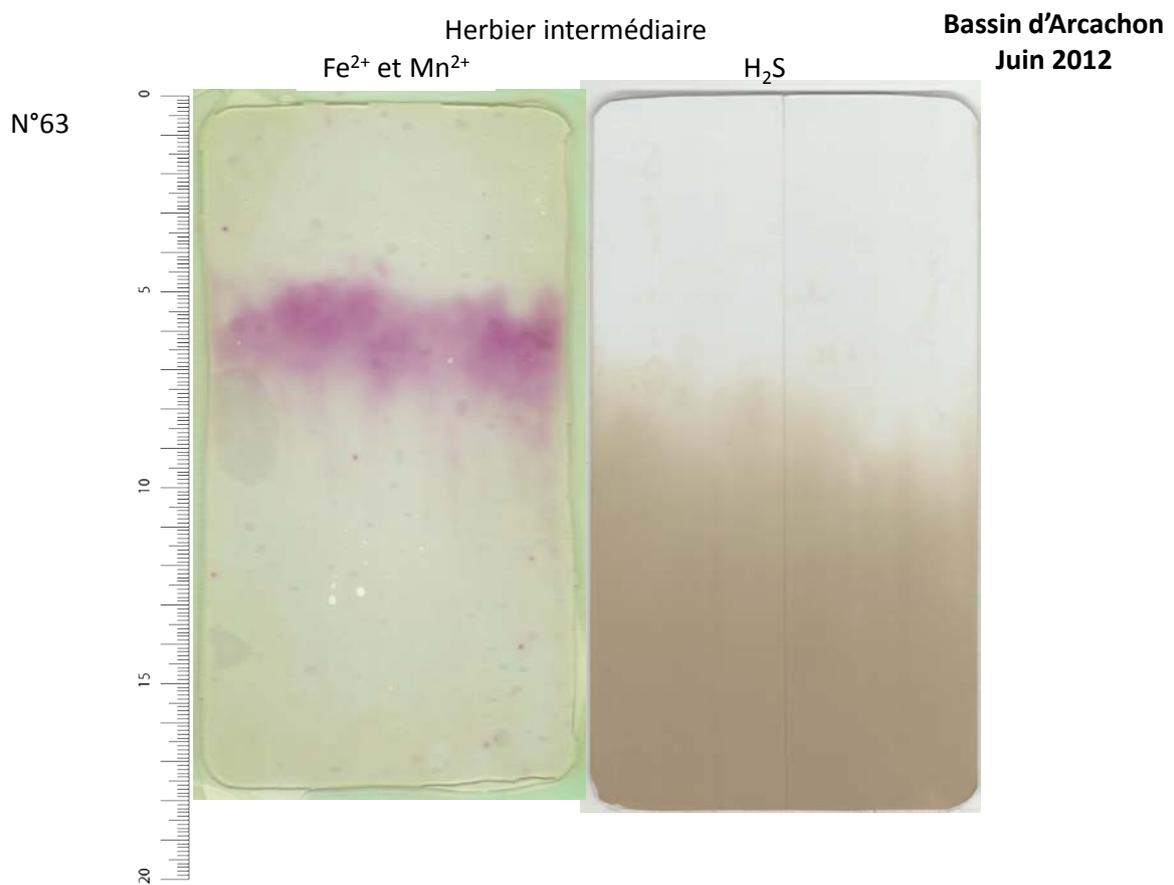
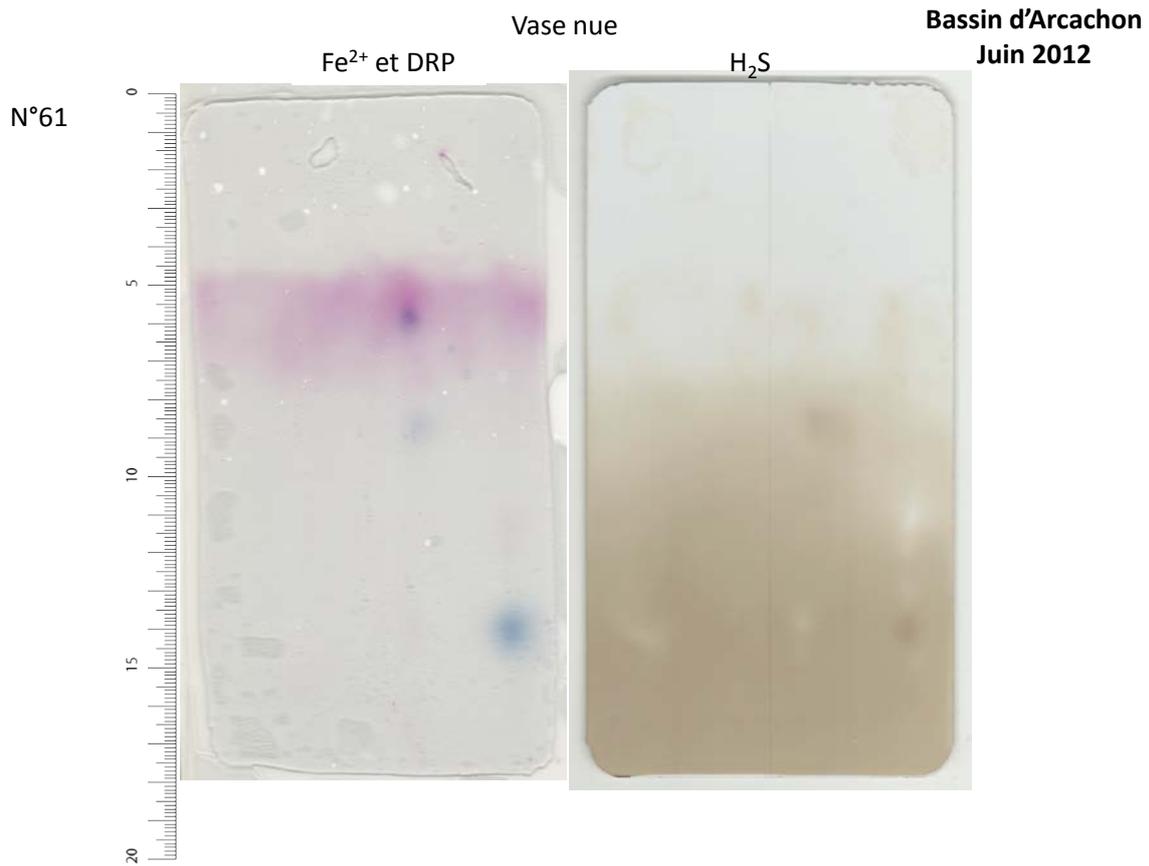
H₂SBassin d’Arcachon
Mai 2011

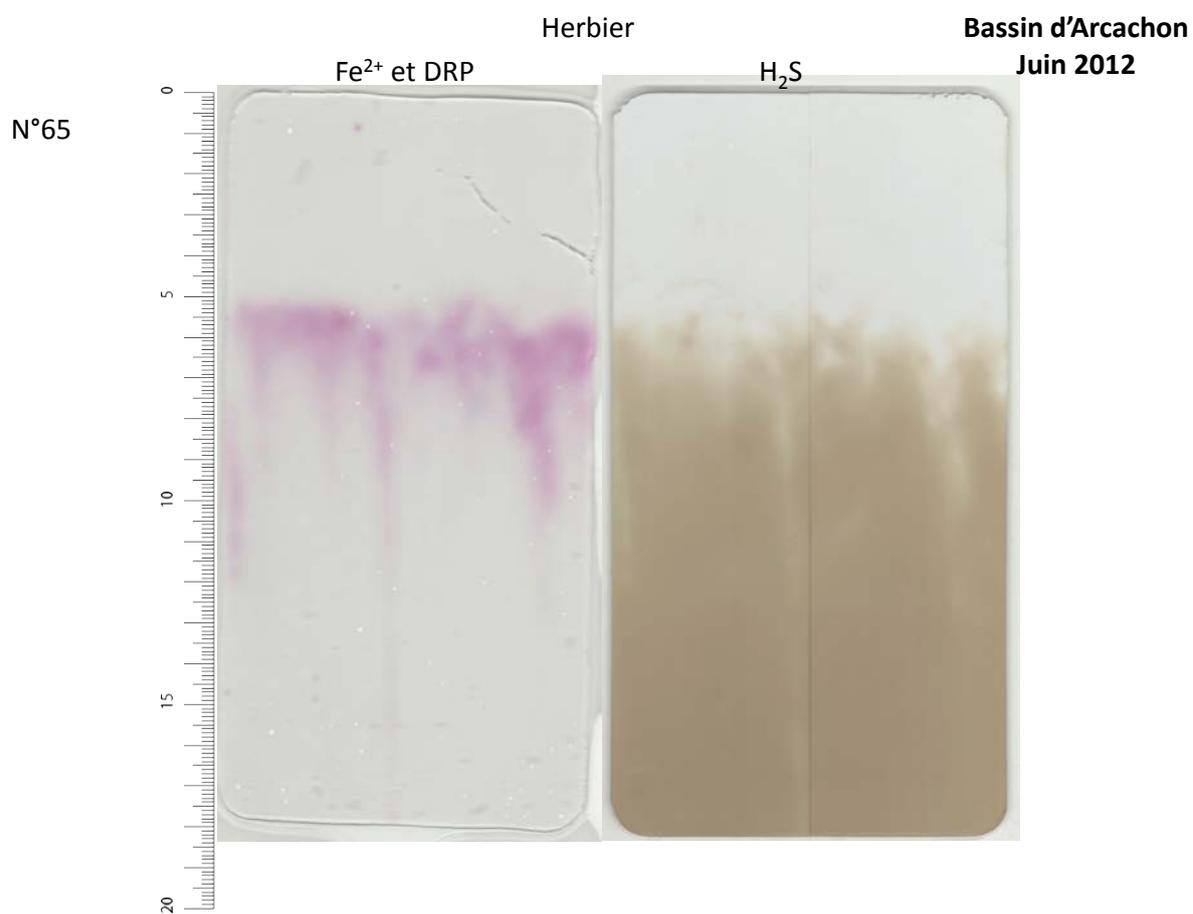
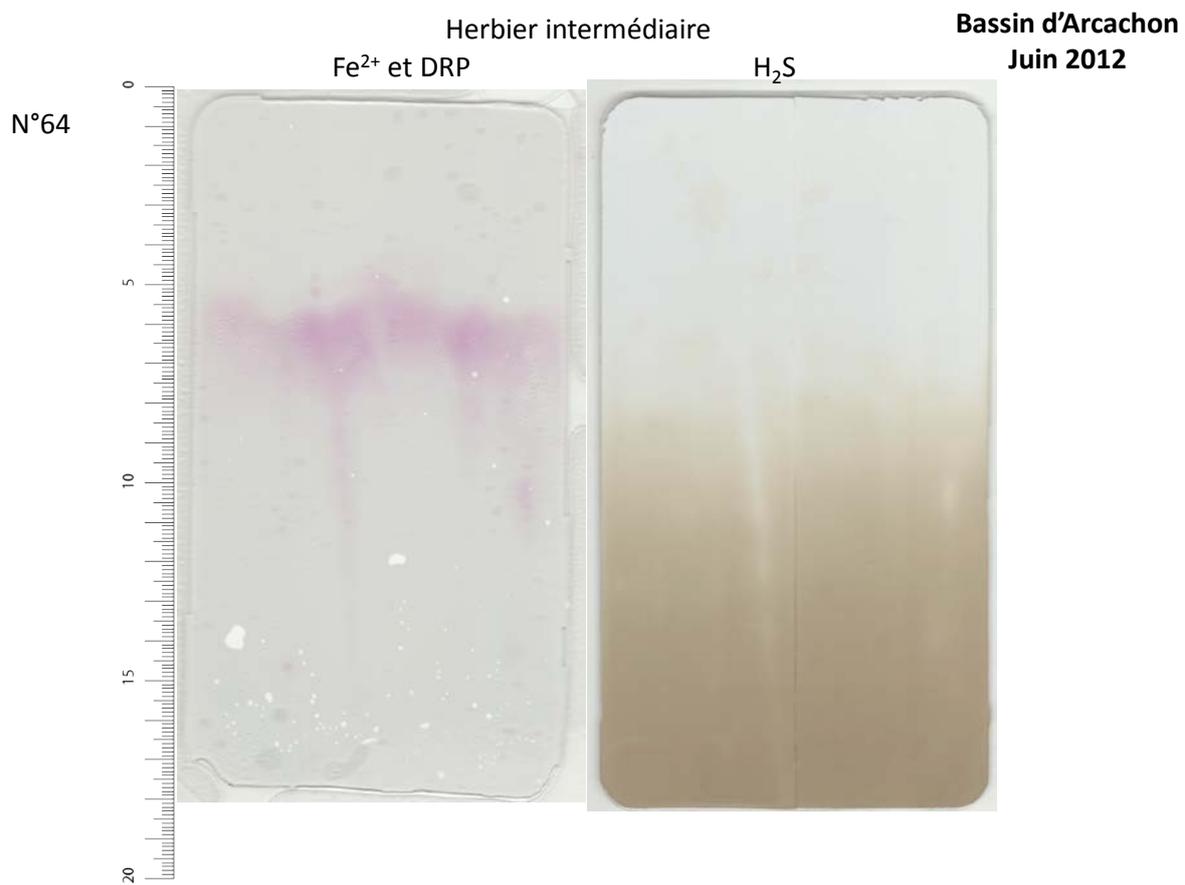


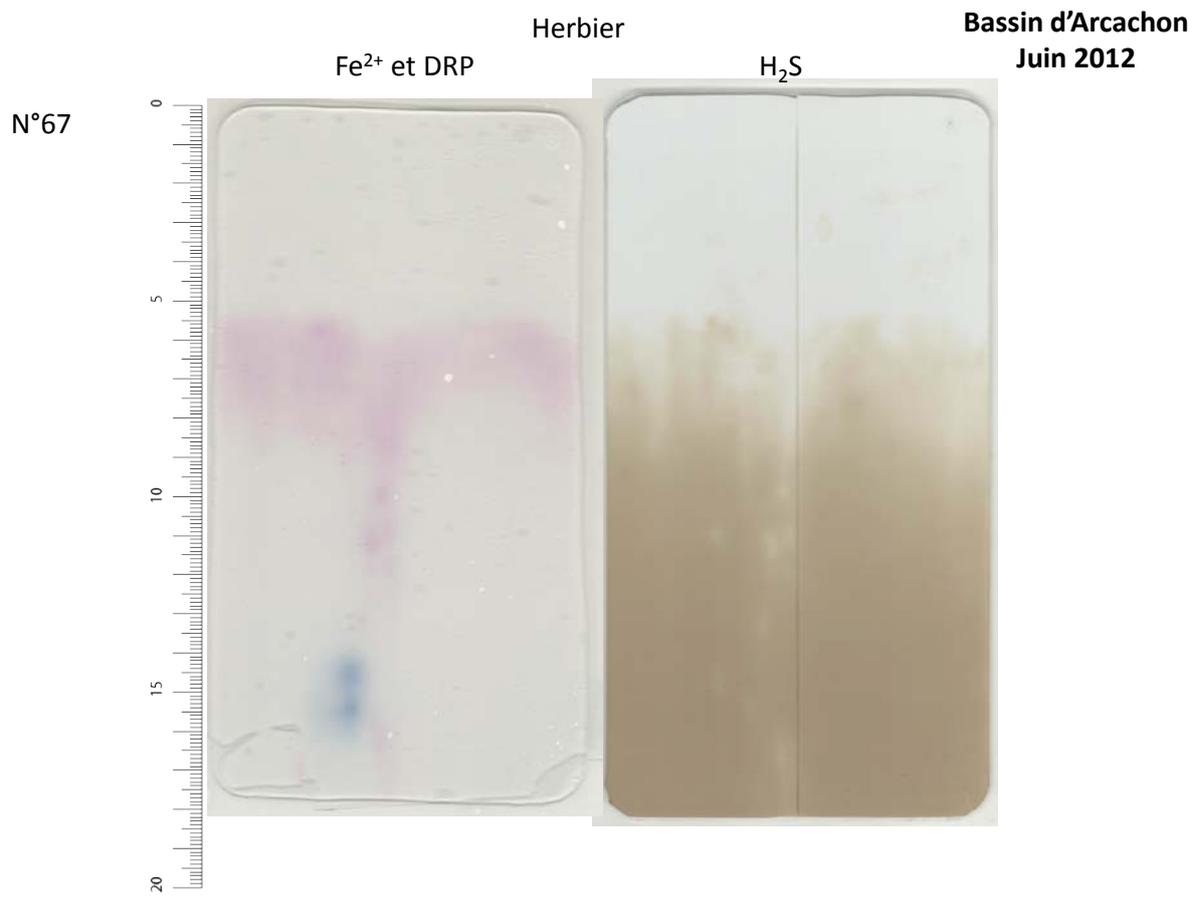












Annexe 5 : Nouveau Chapitre de la Thèse, mentor : Christian
Bertheuil, Mai 2014

Ecole doctorale VENAM

Université d'Angers

Florian Cesbron

Mentor : Christian Bertheuil



Sujet de thèse : Influence de l'herbier de *Zostera noltei* sur la géochimie et la méiofaune benthique au sein de sédiments vaseux (Bassin d'Arcachon)

Encadrants : Emmanuelle Geslin, Edouard Metzger (LPG-BIAF) et Didier Jézéquel (LGE)

Projet IZOFLUX (ANR)

Etude intégrée de l'Impact des herbiers de ZOSTÈRES sur les processus et FLUX benthiques en milieu côtier

NCT écrit en Mai 2014, soutenance de doctorat prévue pour fin 2014

Légende des photos de première de couverture (de gauche à droite) : cliché du site intertidal de Germanan sur le Bassin d’Arcachon lors de manipulations de recherche (source : Bruno Deflandre) ; Carte du Bassin d’Arcachon (source : Google Earth) ; Cliché d’un sédiment colonisé par l’herbier de Zostera noltei (source : <http://www.marinespecies.org>)

Partie 1 : Le cadre général de mon projet de thèse

Les zones côtières constituent une formidable richesse à la fois en termes de potentiel économique et de ressources naturelles. Mais elles se révèlent également des territoires fragiles. Les activités économiques, comme le transport maritime, sont en pleine mutation, et les écosystèmes des régions côtières sont particulièrement soumis aux conséquences de l'activité humaine (Corinne Lepage, Mers et zones côtières, intergroupe du parlement européen). La pression anthropique fragilise dans de nombreux cas le milieu naturel notamment par des phénomènes d'eutrophisation, c'est-à-dire par un enrichissement des eaux en sels nutritifs. Une des conséquences observables est la prolifération algale pouvant entraîner un appauvrissement voire une absence d'oxygène au sein de la colonne d'eau.

Le Bassin d'Arcachon fait partie de ces écosystèmes fragiles où l'économie, en pleine essor, joue un rôle fragilisateur sur la biodiversité locale. Les herbiers de *Zostera noltei* du Bassin d'Arcachon présentent un déclin important depuis une dizaine d'années, impactant alors les faunes le constituant.

En effet les herbiers sont des prairies subaquatiques édifiées par des plantes à fleurs adaptées à la vie sous-marine. Ils sont considérés comme un composant essentiel des environnements côtiers lagunaires qu'ils colonisent. Les zostères, largement répandues dans l'Atlantique Nord, peuvent édifier de vastes herbiers en colonisant des sédiments sableux ou vaseux. Elles contribuent alors à la stabilisation de ce substrat, abritant de nombreuses faunes marines propres à ce milieu. (Wright and Jones, 2006). Les herbiers favorisent ainsi la diversité de la faune constituant un abri contre les prédateurs, une zone de reproduction, de nurserie et une source de nourriture. Ces herbiers jouent également un rôle fondamental sur les cycles biogéochimiques des lagunes concernées.

L'étude de ces écosystèmes est devenue une nécessité puisqu'une régression des herbiers à l'échelle mondiale a été constatée. C'est dans ce contexte que s'intègre le projet IZOFLUX, financeur de mon doctorat. Ce projet a pour objectif de caractériser les relations entre flux et processus (mécanismes) dans les sédiments colonisés par les herbiers de Zostères. Mon doctorat consiste en l'étude de l'influence de l'herbier sur la géochimie du sédiment et sur la faune vivante dans le sédiment. Dès lors que l'on parle de géochimie du sédiment, on s'intéresse aux réactions chimiques mises en œuvre lors de la dégradation de la matière organique entre l'eau ou l'air et le sédiment. Pour étudier ces réactions, j'ai développé une technique de mesure de composés chimiques (le fer et le phosphate) en deux dimensions sur gels diffusifs. Les plaques contenant les gels sont placées dans le sédiment afin que les gels s'équilibrent avec le milieu dans lequel ils se trouvent. Cette technique permet d'étudier les processus existant entre ces deux composés chimiques. Le phosphate d'une part est considéré comme constituant essentiel pour les tissus de l'herbier et permet notamment la croissance de ces plantes. Le fer quant à lui agit comme une source de phosphate. L'étude conjointe de ces éléments s'avère donc primordiale. L'innovation de ma démarche est basée sur l'étude conjointe de ces deux espèces chimiques.

Le cycle annuel de croissance/ décroissance des herbiers influence profondément les cycles de ces éléments chimiques. Il est donc important d'étudier la chimie de cette zone afin de comprendre les phénomènes existants dans les milieux à herbiers.

Bien qu'une forte dynamique annuelle des éléments chimiques soit observée, des organismes se développent et vivent dans ces sédiments à herbiers. Au cours de mon doctorat je me suis aussi intéressé à une faune présente en grande densité dans les sédiments, les foraminifères. Ces organismes

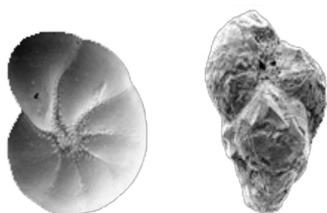


Figure 1 : Exemple de deux espèces de foraminifères (hauteur moyenne $\approx 300 \mu\text{m}$)

de petites tailles (d'environ une centaine de micromètres) sont composés d'une seule cellule et sont protégés par un squelette minéral perforé (également appelé coquille ou test). Ce sont des organismes extrêmement abondants depuis plusieurs centaines de millions d'années, ce qui leur confère une grande importance au niveau

écologique pour des études dans l'actuel comme dans le passé. Les foraminifères présents sur les sédiments des fonds marins ont des comportements très diversifiés avec des affinités variables pour l'oxygène et la matière organique. Des études ont notamment montré que certaines espèces de foraminifères étaient capables de vivre dans un environnement sans oxygène (*i.e.* anoxique). Cependant, de nombreuses interrogations existent au sein de la communauté scientifique quant à leur métabolisme de résistance à un milieu anoxique. Dans un milieu colonisé par les herbiers, les rejets d'oxygène par les racines favorisent la création d'environnements favorables aux foraminifères. Cette étude permet de mettre en relation l'adaptation métabolique de certains organismes autour de ces environnements particuliers. Il est ainsi très intéressant d'étudier les interactions existantes entre ces organismes et la géochimie de leur milieu de vie.

Dans ce contexte, mon étude porte sur les relations existantes entre la géochimie, la faune de foraminifères et le milieu colonisé par l'herbier de *Zostera nolei* avec pour objectif principal de comprendre les causes et les effets engendrés par l'importante régression que subissent actuellement les herbiers de Zostères.

A ce jour, mes travaux de doctorat m'ont permis de mettre en avant 3 conclusions majeures :

1) il est fondamental d'utiliser une approche en deux dimensions pour l'étude des environnements présentant des zones réactives (*i.e.* les zones avec présence de racines ou les zones riches en faunes de grande taille à l'activité importante dite faune bioturbatrice). Cette approche permet ainsi d'observer les processus existants entre le fer et les phosphates et ainsi d'étudier l'influence des racines de Zostères sur la biogéochimie ;

2) les processus de dégradation de la matière organique sont accélérés en présence de l'herbier de *Zostera nolei*. La distribution du fer y est alors impactée directement : la zone riche en fer est ainsi

moins importante en profondeur et les sulfures, toxiques pour les espèces vivantes, apparaissent alors plus rapidement. En revanche, aucun effet n'est observé concernant la distribution des phosphates bien que les phosphates soient considérés comme un élément clé pour le métabolisme de la plante. Une étude plus précise des processus existants entre le fer et les phosphates doit être réalisée prochainement.

3) la présence de l'herbier agit sur la distribution des faunes de foraminifères ainsi que sur la contribution des foraminifères au processus aérobie (*i.e.* en présence d'oxygène) de dégradation de la matière organique. Les foraminifères sont en effet présents en plus grande quantité et à des profondeurs plus importantes dans les sédiments à herbiers. Cette distribution particulière des faunes de foraminifères est la conséquence du relargage d'oxygène et de matière organique réalisé par les racines. Cependant l'impact de la disparition des herbiers de *Zostera noltei* sur la distribution des faunes de foraminifères et leur contribution pour la dégradation de la matière organique sont des perspectives globales qui restent encore à traiter pour la fin de mon doctorat.

Partie 2 : Le coût estimé de mon projet de thèse

Mon salaire de doctorat est financé pour moitié par une ANR Blanc IZOFLUX et pour moitié par les fonds propres du laboratoire. Une ANR Blanc a pour but de donner une **impulsion significative à des projets scientifiques ambitieux** qui se positionnent favorablement dans la compétition internationale et qui présentent des objectifs originaux, en rupture avec les itinéraires de recherche traditionnels. L'ANR IZOFLUX a pour objectif principal de caractériser les relations entre flux et processus benthiques dans les sédiments colonisés par les herbiers de *Zostera noltei* en regard des connaissances et des techniques les plus avancées dans le domaine du cycle des éléments biogènes, de la microbiologie en lien avec les cycles, et l'hydrodynamique sédimentaire. La complémentarité des acteurs du projet, la stratégie adaptée d'approche expérimentale et de terrain et le transfert vers la modélisation avaient pour but de fournir, pour la première fois, une réponse sur les relations existantes entre les densités d'herbiers, leur régression ou leur ré-implantation, et les flux benthiques pour in-fine définir de façon complète le rôle de herbiers de Zostères sur la biogéochimie et la sédimentation d'un système côtier.

L'ensemble des frais de fonctionnement pour mon doctorat (missions de terrain, congrès, ...) a été financé par l'ANR Blanche IZOFLUX. Dans le tableau suivant, un détail des dépenses réalisées pendant mon doctorat est présenté.

	Nature de la dépense	Détails	Coûts totaux (euros TTC)			
			Nombre d'unités	coût unitaire moyen	quote-part utilisation	Total
1	Ressources Humaines :	Salaires brutes				
1.1	Doctorant	2362 €/ mois	36	2 362 €	1	85 028 €
	Doctorant à activité complémentaire d'enseignement		24	338 €	1	8 114 €
1.2	Encadrant 1	4 500 €	36		0	16 200 €
1.3	Prime Encadrement	-				- €
1.4	Encadrant 2	3 500 €	36		0	12 600 €
1.5	Prime Encadrement	-				- €
1.6	Encadrant 3	4 000 €	36		0	14 400 €
1.7	Prime Encadrement	-				- €
1.8	Stagiaire	436 €	1	436 €	1	436 €
	Sous-total Ressources Humaines					136 778 €
2.	Consommables :					
2.1	Fournitures expérimentales	Consommables (plastiques jetables)	1	300 €		300 €
		Réactifs chimiques	1	413 €		413 €
		Carboglace	1	430 €		430 €
		Divers gels 2D	1	200 €		200 €
		Eau milli-Q	3	1 446 €	15	289 €
2.2	Equipements	gants, masques, ...	1	150 €		150 €
2.3	Maintenance chimique	déchets chimiques	3	300 €	15	60 €
2.4	Fournitures de bureau	800 €	3	800 €	27	89 €
	Sous-total Consommables					1 931 €
3.	Infrastructures	Estimation du loyer des locaux, nettoyage des locaux, fluides, maintenance, surveillance	36			- €
4.	Matériel (amortissements) :					
4.1	Matériel d'expérimentation	Logiciel d'analyse d'images	1	3 229 €	1	3 229 €
4.2	Ordinateur de bureau	portable	1	1 184 €	1	1 184 €
4.3	Autre	impression et copie	3	1 370 €	27	152 €
	Sous-total Matériel					4 565 €
5.	Déplacement :	Transport, hébergement + autres frais				
5.1	Missions en France :					
	Année 2011	520 €	1	520 €	1	520 €
	Année 2012	1 380 €	1	1 380 €	1	1 380 €
	Année 2013	1 530 €	1	1 530 €	1	1 530 €
	Année 2014	31 €	1	31 €	1	31 €
5.2	Congrès à l'étranger :					
	Lancaster Juillet 2013	829 €				
5.3	Déplacement de mes encadrants et stagiaires :					
	Année 2011	1 550 €	1	1 550 €	1	1 550 €
	Année 2012	3 200 €	1	3 200 €	1	3 200 €
	Année 2013	790 €	1	790 €	1	790 €
	Année 2014	301 €	1	301 €	1	301 €
5.4	Comité de suivi de thèse :					
	Année 2012	936 €	1	936 €	1	790 €
	Année 2013	755 €	1	755 €	1	790 €
	Sous-total Déplacement					10881
6.	Communication et documentation :					
6.1	Affranchissements, internet, téléphone	618 €	3	618 €	27	69 €
6.2	Communications, impressions	Rapport de l'IFREMER, thèses...	1	57 €		57 €
	Sous-total communication et documentation					126 €
7.	TOTAL					154 281 €

Partie 3 : Mes acquis personnels et professionnels

Mon projet de thèse ainsi que le NCT m'ont permis d'identifier clairement un grand nombre de compétences personnelles et scientifiques que j'ai acquises et que je pourrai mettre à profit tout au long de ma carrière professionnelle.

Mes acquis personnels

D'un point de vue personnel, un doctorat est une importante expérience humaine. D'une part entre les doctorants où notre objectif commun nous amène à nous entraider régulièrement. D'autre part avec les chercheurs du même laboratoire ou de laboratoires partenaires. C'est notamment au cours des missions en mer que le travail en équipe et l'entente cordiale se font sentir. Mon doctorat m'a ainsi éclairé sur mon goût très prononcé de travailler en équipe et de participer à des missions océanographiques.

Durant ces trois années, mon sens de l'organisation et ma persévérance ont été mis à contribution que ce soit pour les missions de terrain ou la Nuit des Chercheurs. Afin de mener au mieux l'ensemble de ces projets, j'ai appris à planifier, à diriger et à prendre des décisions souvent dans l'urgence, me faisant découvrir par la même occasion ma bonne résistance au stress.

Le doctorat m'a apporté une plus grande aisance relationnelle tant pour les congrès que les comités de suivi de thèse. Ces comités s'apparentent à des réunions avec des décideurs et/ ou financeurs comme il est possible d'en avoir dans le privé. Savoir organiser et mener les discussions au cours de ces comités m'ont permis d'appréhender au mieux les entretiens d'embauche et les réunions face à des décideurs. L'exercice du NCT a également été un atout important dans ce même domaine. En effet, la réalisation d'un inventaire personnel et professionnel au cours de ce NCT a été une étape importante pour mon avenir professionnel. Je me suis intéressé notamment à l'image que je véhicule, mes points forts et mes points faibles lors de mon travail. Cet exercice a donc été très bénéfique et nécessaire afin d'aborder les entretiens professionnels à venir.

Au cours de mon doctorat, la vulgarisation de mes travaux et de mes connaissances s'est avérée fondamentale. La vulgarisation passe notamment par la participation aux congrès où l'on se doit de présenter le plus clairement possible l'ensemble de nos résultats mais également par mon activité complémentaire d'enseignement qui m'a permis de m'initier à la vulgarisation afin de transmettre au mieux mes connaissances à des étudiants. L'organisation et la participation à la Nuit des Chercheurs m'a obligé également à vulgariser afin de présenter les travaux du laboratoire à un public très large et souvent non spécialiste. Il est ainsi nécessaire d'apprendre à expliquer son sujet de thèse, les activités du laboratoire ou même ses connaissances pour un groupe d'étudiants en cours d'apprentissage.

Mes acquis professionnels

De manière générale, mon doctorat m'a permis de gérer un projet de recherche et principalement d'acquérir de nouvelles techniques et d'être immergé dans le monde de la recherche et d'un laboratoire. J'ai ainsi pris conscience de la gestion importante du fonctionnement d'un projet de recherche. J'ai appris à définir un planning précis tout en prenant le temps de comprendre les objectifs de ce projet de recherche. Je me suis également heurté pour la première fois aux limites humaines, matérielles et financières inhérentes à un projet de recherche.

Au cours de ces trois années, j'ai acquis de nombreuses techniques analytiques mais aussi une méthodologie, une rigueur et une autonomie dans le travail. Il m'a ainsi été possible de conduire un projet de recherche de la mission de terrain jusqu'à la publication d'un article scientifique à comité de lecture en incluant une importante partie en laboratoire.

Un doctorat comprend également une importante partie d'étude bibliographique. La recherche bibliographique approfondie et la veille scientifique font partie de mes acquis majeurs au cours de ces trois années. Il en est de même pour la rédaction en langue française et en langue anglaise. La rédaction d'article scientifique, de chapitre de thèse ou simplement de résumé de ces travaux de thèse étaient des nouveautés pour moi. Une capacité de synthétisation et de précision afin de valoriser ses résultats sont les clés que j'ai acquises progressivement au cours de mes trois années de doctorat.

Partie 4 : Ma thèse, « si c'était à refaire »

Au regard de mes trois années de thèse, si c'était à refaire, plusieurs points seraient à améliorer. Dans un premier temps je souhaiterais réaliser une étude bibliographique plus poussée en amont des missions de terrain afin de choisir au mieux le pas d'échantillonnage pour l'étude des faunes de foraminifères. Dans la même optique, si c'était à refaire, je favoriserais mon étude sur un suivi annuel et non sur une étude de processus. En effet, au vu de ma personnalité, je suis plus à l'aise dans la recherche appliquée plutôt que dans la recherche fondamentale. Comme il peut arriver parfois, de gros problèmes techniques ont surgi pendant mon doctorat, nous faisant perdre une bonne partie des échantillons (congélateur défaillant). Par conséquent l'achat d'un nouveau congélateur pour ce projet serait prioritaire.

D'un point de vue plus personnel, je souhaiterais réaliser plus de congrès nationaux afin de présenter mes travaux à un public différent de celui de la recherche tels que les acteurs locaux, les chefs d'entreprises, les bureaux d'études. Cela me permettrait de mieux connaître le monde de l'entreprise et ses besoins.

Partie 5 : Mon avenir professionnel à l'issu de mon doctorat

A ce jour, j'ai pour objectif de réaliser un post-doctorat à l'étranger. Le post-doctorat serait un atout tant d'un point de vue personnel que professionnel. Cela me permettrait de conjuguer de nouvelles expériences humaines à l'étranger ainsi que de découvrir de nouvelles techniques analytiques et de nouveaux fonctionnements de laboratoire.

Mon besoin d'avoir des responsabilités et mon goût pour le travail en équipe me dirigent vers une voie où je pourrais conjuguer la coordination et la direction de projet. De plus ayant une forte affinité pour le travail sur des problématiques aux enjeux sociétaux importants, je souhaiterais m'investir dans des projets environnementaux au sein de structures tel que des EPIC (établissements public à caractère industriel et commercial), des laboratoires universitaires ou des bureaux d'études.

Je suis également intéressé par les structures publiques et privées portant sur des études environnementales à des fins de vulgarisation telles que les maisons de l'environnement, l'association Terre des Sciences à Angers, la Maison de la Mer à Lorient ... Au sein de ces structures, la transmission des savoirs et des connaissances sur l'environnement et les sciences sont la clé de leurs activités.

Thèse de Doctorat

Florian CESBRON

Influence de l'herbier de *Zostera noltei* sur la méiofaune benthique et la géochimie de sédiments intertidaux du Bassin d'Arcachon

Influence of *Zostera noltei* meadows on benthic meiofauna and geochemistry of the intertidal sediment of Arcachon Bay

Résumé

Cette thèse visait l'étude des microenvironnements géochimiques créés par la présence de l'herbier de *Zostera noltei* et de son réseau racinaire dans le Bassin d'Arcachon ainsi que ses effets 1) sur l'écologie des foraminifères benthiques, un groupe d'organismes présent en grand nombre dans les sédiments et dont l'influence sur les cycles biogéochimiques reste mal connue et 2) sur les espèces chimiques et les flux benthiques associés. Pour y répondre, une stratégie multidisciplinaire a été mise en place. L'étude écologique des foraminifères benthiques à l'échelle centimétrique, conduite dans des sédiments avec et sans végétation en février et juillet 2011, a montré la présence de trois espèces majeures aux métabolismes spécifiques. L'herbier de *Zostera noltei* semble influencer la densité et la profondeur de vie des espèces calcaires hétérotrophe (*Ammonia tepida*) et mixotrophe (*Haynesina germanica*), présentes près de la surface des sédiments. La troisième espèce (*Eggerella scabra*), au métabolisme anaérobie encore inconnu, est retrouvée sur au moins 7 cm de sédiment et semble préférer le carbone organique issu de la dégradation de l'herbier. En surface, la contribution des foraminifères à la reminéralisation aérobie a été évaluée à 7 % soit 5 fois plus que lors des études précédentes dans d'autres environnements marins. La présence de l'herbier influence également la géochimie du sédiment où des structures enrichies en fer dissous et appauvries en sulfure sont observables en 2D grâce aux gels DET-DGT développés ici. Le phosphate dissous semble dépendre de la demande des zostères et est observé à forte concentration uniquement sous forme de spots. Une tranche de sédiment, prélevée en vis-à-vis du gel DET-DGT visait la réalisation de cartes de la phase solide et de la densité des foraminifères. Bien que ce travail reste inachevé, des méthodes comme la microfluorescence et la microtomographie aux rayons X donnent des perspectives prometteuses. De nouvelles voies de recherches ont ainsi été ouvertes grâce à des méthodologies innovantes combinant physiologie, écologie et géochimie.

Mots clés

Biogéochimie, sédiment, Arcachon, *Zostera noltei*, foraminifère benthique, minéralisation, kleptoplastidie, DET, DGT, 2 dimensions, fer, phosphate, sulfure, nitrate, nitrite, ammonium.

Abstract

This thesis aimed to study the geochemical microenvironments created by *Zostera noltei* meadows and its root system in Arcachon Basin and to evaluate the effect of these microenvironments 1) on living benthic foraminifera ecology, a group of organisms present in large densities in sediment which impact on marine biogeochemical cycles remain poorly known and 2) on the chemical species and associated benthic fluxes. To fulfill these objectives, a multidisciplinary strategy was developed. The study of benthic foraminiferal ecology at centimeter scale, conducted in sediments with or without vegetation in February and July 2011, has shown the presence of three major species with specific metabolisms. *Zostera noltei* meadows seem to influence the densities and the living depth of heterotrophic (*Ammonia tepida*) and mixotrophic (*Haynesina germanica*) calcareous species, present in the sediment surface. The third species (*Eggerella Scabra*), which anaerobic metabolism is still to discover, is found throughout the sedimentary column and seems to prefer the organic matter coming from the degradation of the seagrass. In surface sediment, the contribution of these three species to aerobic remineralization was estimated at 7%, i.e. 5 times more than the maximum rates previously recorded in marine environments. The presence of the seagrass also influences geochemistry where enriched iron and depleted sulfide structures are observable in 2D thanks to DET-DGT gels developed here. Dissolved phosphorus depended on seagrass uptake and was highly concentrated only as scattered spots. A slice of sediment, taken face to face with the DET-DGT gel, was also conducted during this study aiming to map the solid phase and foraminiferal density. Despite this work is still in progress, methods such as X-ray microfluorescence and microtomography showed promising perspectives. New research pathways have been opened through technological developments and innovative approaches combining physiology, ecology, and geochemistry.

Key Words

Biogeochemistry, sediment, Arcachon, *Zostera noltei*, benthic foraminifera, mineralization, kleptoplastidy, DET, DGT 2 dimensions, iron, phosphate, nitrate, nitrite, ammonia.