



HAL
open science

Développement d'un indice biotique basé sur les foraminifères benthiques ;: application sur la façade méditerranéenne française

Briz Parent

► **To cite this version:**

Briz Parent. Développement d'un indice biotique basé sur les foraminifères benthiques ;: application sur la façade méditerranéenne française. Sciences de la Terre. Université d'Angers, 2019. Français. NNT : 2019ANGE0012 . tel-02417236

HAL Id: tel-02417236

<https://theses.hal.science/tel-02417236>

Submitted on 18 Dec 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 DE

L'UNIVERSITÉ D'ANGERS

COMUE UNIVERSITÉ BRETAGNE LOIRE

ÉCOLE DOCTORALE N° 598
Sciences de la Mer et du littoral
Spécialité : *Écologie marine*

Par

Briz PARENT

Développement d'un indice biotique basé sur les foraminifères benthiques ; application sur la façade méditerranéenne française

Thèse présentée et soutenue à Angers, le 11 septembre 2019

Unité de recherche : UMR 6112 LPG-BIAF : Bio-Indicateur Actuels et Fossiles, CNRS, Université d'Angers

Rapporteurs avant soutenance : Composition du Jury :

Ahuva ALMOGI-LABIN

Emeritus Senior Scientist,
Geological Survey of Israel

Elisabeth ALVE

Professeure, Université d'Oslo

Peter FRENZEL

Group leader and lecturer in
palaeontology, Université de Jena

Céline LABRUNE

Ingénieure de Recherche, CNRS,
LECOB (UMR 8222)

Emmanuelle GESLIN

Professeure, Université d'Angers

Directeur de thèse

Frans JORISSEN
Co-encadrante de thèse
Christine BARRAS

Professeur, Université d'Angers

Ingénieure de Recherche,
Université d'Angers

Développement d'un indice biotique basé
sur les foraminifères benthiques ;
application sur la façade méditerranéenne
française

Creative Commons

L'auteur du présent document vous autorise à le partager, reproduire, distribuer et communiquer selon les conditions suivantes :



- Vous devez le citer en l'attribuant de la manière indiquée par l'auteur (mais pas d'une manière qui suggérerait qu'il approuve votre utilisation de l'œuvre).
- Vous n'avez pas le droit d'utiliser ce document à des fins commerciales.
- Vous n'avez pas le droit de le modifier, de le transformer ou de l'adapter.



Remerciements

Voici une section particulière, qui à la fois ouvre ce travail de thèse et en est l'ultime partie rédigée. Comme une thèse ne se fait pas tout seul de nombreuses personnes ont participé de près ou de loin à son concours.

Ainsi, je souhaite remercier...

Frans et Christine pour votre encadrement, votre disponibilité et votre patience que j'ai dû mettre à rude épreuve.

L'Agence de l'Eau Rhône Méditerranée et Corse pour avoir financé cette thèse, et en particulier Pierre Boissery pour son soutien et intérêt pour les foraminifères en tant que bio-indicateurs.

Orit pour ton aide sur le projet de Palmachim, et ton accueil en Israël, תודה

Grégoire pour la granulométrie laser.

Clémence et OceanZoom pour le traitement des échantillons.

Romain et la plateforme du SCIAM de l'Université d'Angers pour les images
MEB

Elisabeth et Céline d'avoir bien voulu être membres de mon Comité de Suivi
Individuel.

Sophie Q., Sophie. S et Éric pour votre aide en labo., ou comment tout devient
nettement plus simple au labo.

Luzia et Sophie V. pour votre aide indispensable dans toutes les démarches
administratives et les départs en mission.

Manue, Doudou, Mémé, Erica et les tiramisus, Pia, Aurélia et les chantiers, Maga,
Hélène H., Hélène R., Sandrine, Stéphane et ta positivité absolue, Inge, Fabrice et
les sorties terrains animées.

Laurie pour m'avoir fait découvrir les foraminifères par hasard et être toujours là,
ありがとう

Charlotte pour les bons plans crémants troglo ou les paysages classés vaudois.

Les doctorants qui se sont succédés avant moi au labo, Aurore, Jennifer, Dewi,
Clémence, Florian, Julie, Aubin, Jassin et Matthieu.

Tout comme ceux qui suivent, Julien et les levés de Soleil, Constance pour ton
aide avec la granul., Jean-Baptiste, Eleonora et Marie.

Mes parents, Christian et Marie-Paule et votre soutien

Mon frère, Kilien, je te souhaite d'arriver au bout de ce DQPRM.

Papy, je suis sûr que tu aurais apprécié de voir la fin de ce travail et d'au moins
soupleser le manuscrit final, même si je suis sûr que tu aurais quand même jeté un
petit coup d'œil dedans.

Formations suivies, enseignement et communication

Formations suivies

Formations scientifiques :

- Summer school sur la méiofaune (Brest) : 1 semaine
- Analyses exploratoires de données multidimensionnelles : 14h

Formations professionnelles :

- How to get published in an international journal: 3h
- Cours sur la pédagogie : 14h
- Présentation du fonctionnement de l'université : 3h
- Veille sur internet : Arrêtez de chercher... trouvez ! 6h
- Gérer son stress pour une meilleure qualité de vie : 6h
- Genre et carrière professionnelle : 6h
- Introduction à l'éthique de la recherche : 3h30
- Ways and means from one's PhD to a career outside of academic world : 6h
- Préparer son insertion professionnelle dans le monde académique : 6h
- LaTeX - initiation : 7h
- Gestion des relations difficiles : 12h

Enseignement

Enseignement aux étudiants de 1^{re} année de licence : 64h

- S1-BG4 Géosciences fondamentales, Géodynamique, Géomorphologie, Paléontologie
 - Fossiles - Fossilisation - Principe Stratigraphique : TD fossiles, TP falun
 - Pétrographie intégrée à la cartographie : TP carte géologique de la France
- S2-BG5 Histoire de la terre et de la Vie
 - TP diversité des espèces fossiles (muséum d'histoire naturelle d'Angers)

Co-encadrement de stages d'étudiants de master :

- Élodie Poux : master 2^e année, février-août 2016 : Étude des foraminifères benthiques en tant que bio-indicateurs de la qualité d'un environnement marin dans la mer Méditerranée : Optimisation de protocole et validation d'indice
- Jérôme Jolain : master 1^{re} année, avril-mai 2016 : Étude des foraminifères benthiques en tant que bio-indicateur de la qualité du milieu marin en Méditerranée : validation d'indice biotique
- Constance Choquel : master 2^e année, janvier-juin 2017 : Étude des foraminifères benthiques en tant que bio-indicateurs de la qualité du milieu marin côtier en Méditerranée : Application et optimisation de l'Indice Foraminifère (FI) dans le contexte de la Directive Cadre Eau (DCE)

1^{re} summer school FRESCO/FOBIMO, Angers, France : 2 – 7 juillet 2017

- Aide à la préparation du matériel (échantillons, base de données) utilisé lors des séances de travaux pratiques,
- Responsabilité et réalisation d'une séance de travaux pratiques (d'une demi-journée),
- Aide lors de trois autres séances de travaux pratiques (d'une demi-journée chacune) et une participation aux discussions scientifiques sur les résultats de ces séances de travaux pratiques.

Communication

Publication dans une revue à comité de lecture :

Parent, B., Barras, C., Jorissen, F., 2018. An optimised method to concentrate living (Rose Bengal-stained) benthic foraminifera from sandy sediments by high density liquids. *Marine Micropaleontology* 144, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.marmicro.2018.07.003>

Congrès :

Geslin E., Barras C., Schweizer M., Richirt J., **Parent B.**, Jorissen F. Benthic foraminifera as bio-indicators in marine coastal ecosystems: What can we do accurately and what can we improve! BIOFOM workshop, 13th to 15th May 2019, São Paulo, Brazil. (Oral)

Parent B., Barras C., Jorissen F., 2018. Optimised method to concentrate living benthic foraminifera (Rose Bengal stained) from sandy sediment by means of high density liquids. FORAMS 2018. 17th to 22nd June 2018, Edinburgh, Scotland. (Oral)

Jorissen F., **Parent B.**, Choquel C., Maillet G., Bénétteau E., Barras C., 2018. The use of sediment grain size analysis in foraminiferal biomonitoring FORAMS 2018. 17th to 22nd June 2018, Edinburgh, Scotland. (Oral)

Parent B., Barras C., Jorissen F., Bicchi E., Charrieau L., Schmidt S., 2016. Benthic foraminiferal faunas along the French Mediterranean coasts: a new biotic index in the EU Water Framework Directive. CIESM 41st congress. 12th to 16th September 2016, Kiel, Germany. (Poster)

Donnay A., **Parent B.**, Barras C., Pelaprat C., 2016. Comparison of ecological quality status evaluated by soft-bottom macrofauna and by foraminifera along a sewage outfall transect in Calvi Bay, Corsica. CIESM 41st congress. 12th to 16th September 2016, Kiel, Germany. (Poster)

Parent B., Barras C., Jorissen F., Bicchi E., Charrieau L., Schmidt S., 2016. Benthic foraminiferal faunas along the French Mediterranean coasts: a new biotic index in the EU Water Framework Directive. The Micropaleontology Society, foraminifera and nannofossil group joint meeting. 19th to 24th June 2016, Angers, France. (Poster)

Vulgarisation vers le public

Nuit Européenne des chercheur·e·s 2016 :

- Participation à l'organisation et à la tenue du stand du laboratoire
- Histoire dans le noir : présentation de vulgarisation orale sans support et dans le noir.
- Interview par Radio Campus Angers

Nuit Européenne des chercheur·e·s 2017 :

- Participation à l'organisation et à la tenue du stand du laboratoire

Nuit Européenne des chercheur·e·s 2018 :

- Participation à la tenue du stand du laboratoire

Participation au concours « Ma thèse en 180 secondes » (MT180) :

- Cours de préparation au concours : 14h
- Présentation sous forme vidéo pour le concours

Vie du laboratoire

Membre élu du conseil de laboratoire en tant que représentant des non-permanents du site d'Angers de février 2017 à mai 2019.

Bourse

Appel à Projet : Mobilité Internationale pour la Recherche (MIR), d'un montant de 1700€ accordé par l'Université d'Angers pour un séjour de recherche au Geological Survey of Israel, Jérusalem, Israël, du 31 août au 10 septembre 2018.

Sommaire

Creative Commons	i
Remerciements	ii
Formations suivies, enseignement et communication.....	iv
Sommaire	vii
Chapitre 1 : Introduction	1
1.1. Foraminifères benthiques	3
1.2. Bio-monitoring	4
1.3. Directive Cadre sur l'Eau	8
1.4. Mer Méditerranée	9
1.5. Objectifs	12
Références	13
Chapitre 2 : An optimised method to concentrate living (Rose Bengal-stained) benthic foraminifera from sandy sediments by high density liquids.....	21
Abstract	23
2.1. Introduction	23
2.2. Material and methods	26
2.3. Results	31
2.4. Discussion	38
2.5. Conclusion.....	45
Acknowledgements	45
References	46
Appendices	50
Chapitre 3 : New insights in environmental quality assessment by combining benthic foraminiferal community studies and grain size analysis.....	61
Abstract	63
3.1. Introduction	63
3.2. Material and methods	68
3.3. Results and discussion.....	72
3.4. Conclusion.....	86

References	86
Chapitre 4 : Comparison of four foraminiferal indices assessing the environmental quality of coastal Mediterranean soft bottom environments.....	93
Abstract	95
4.1. Introduction	95
4.2. Material and methods	97
4.3. Results and discussion.....	103
4.4. Recommendations	114
References	115
Appendices	119
Chapitre 5 : Évaluation de la qualité environnementale des substrats meubles de la côte méditerranéenne française par les faunes de foraminifères benthiques : campagne DCE 2015	129
Résumé	131
5.1. Introduction	131
5.2. Matériels et méthodes.....	133
5.3. Résultats	137
5.4. Discussion	154
5.5. Conclusion.....	187
Références	188
Appendices	195
Chapitre 6 : Testing two biotic indices based on living (Rose Bengal-stained) benthic foraminiferal communities along a well-defined organic matter gradient in the eastern Mediterranean.....	213
Abstract	215
6.1. Introduction	215
6.2. Material and methods	218
6.3. Results	222
6.4. Discussion	233
6.5. Conclusion.....	243
References	244
Appendix	249
Chapitre 7 : Synthèse.....	251
7.1. Amélioration des méthodes	253
7.2. Comparaison des indices biotiques	256

7.3. Assignations écologiques d'espèces	262
7.4. Correction pour l'état trophique naturel du milieu.....	266
7.5. Perspectives : diffusion des indices : TSI-Med, Foram-AMBI.....	271
7.6. Changements temporels de l'environnement	271
7.7. Conclusion.....	274
Références	275
Planches taxonomiques.....	283
Table des matières	296

Chapitre 1 : Introduction

Les zones côtières sont parmi les plus impactées par les activités anthropiques. Afin de gérer et limiter l'impact de ces activités humaines sur les écosystèmes côtiers, il est nécessaire de les quantifier en évaluant la qualité de ces écosystèmes. Des outils adaptés permettant l'évaluation de la qualité de ces environnements sont donc nécessaires. Le bio-monitoring basé sur les communautés de foraminifères benthiques se développe de plus en plus. En particulier, les indices biotiques basés sur les communautés de foraminifères se sont multipliés ces dernières années. Cet essor est en partie lié à la mise en place de réglementations internationales d'évaluation de la qualité des eaux, tel que la Directive européenne Cadre sur l'Eau (DCE). Le développement de ces indices demande de grandes quantités de données de terrain pour être testés. Les campagnes d'échantillonnage mise en place dans le cadre de la DCE permettent d'obtenir de nombreux résultats. Nous avons utilisé ces données pour évaluer et tester plusieurs indices biotiques basés sur les faunes de foraminifères benthiques en Mer Méditerranée.

1.1. Foraminifères benthiques

Les foraminifères sont des eucaryotes unicellulaires hétérotrophes. Ils se distribuent dans l'océan mondial des plaines abyssales aux zones côtières et aux estuaires. Il en existe environ 3000 à 4000 espèces actuelles dont une cinquantaine de planctoniques et 30000 espèces fossiles (Murray, 2007). Les foraminifères sont des protistes pourvus de pseudopodes, qui leur servent à se déplacer et à capturer de la nourriture (Murray, 2006). La plupart des espèces possèdent un test, qui peut être en calcaire, formé de particules prises dans l'environnement et agglutinées, ou encore organiques (Murray, 2006). La composition et la forme de leur test sont à la base de la distinction morphologique des espèces.

Grâce à la présence d'un test, beaucoup d'espèces de foraminifères ont la particularité de laisser une trace dans le sédiment après la mort de l'organisme. Il est alors possible d'étudier les faunes mortes (thanatocénoses) dans les enregistrements sédimentaires. La répartition mondiale des foraminifères et leur diversité spécifique font des foraminifères de bons marqueurs stratigraphiques et des indicateurs paléo-environnementaux (Kemp *et al.*, 2012; Mojtahid *et al.*, 2013; Durand *et al.*, 2018). D'autre part, la composition de leur coquille et le mode de calcification de celles-ci sont étudiés afin de calibrer divers proxys de paramètres environnementaux comme par exemple d'oxygénation ou de température (Barras *et al.*, 2010, 2018; Groeneveld and Filipsson, 2013), utilisés pour reconstituer des écosystèmes marins du passé.

Les foraminifères vivent dans des milieux très variés. On retrouve les foraminifères dans les zones sous forte influence continentale telles que les vasières intertidales, les estuaires ou les lagunes (Debenay *et al.*, 2000). Les foraminifères sont aussi présents dans toutes les mers, de la zone côtière aux plaines abyssales, et de l'équateur (Debenay and Redois, 1997) aux pôles (Bernhard, 1987; Gooday *et al.*, 1996). Afin de vivre dans des conditions aussi variées, les nombreuses espèces de foraminifères ont développé plusieurs stratégies d'adaptation. Certaines espèces peuvent résister à de longues périodes sans apport de matière organique fraîche

(Alve, 2010) ou à l'anoxie (Langlet *et al.*, 2013; Nardelli *et al.*, 2014). D'autres espèces peuvent alterner des métabolisme aérobie et anaérobie, en étant capables de dénitrifier (Risgaard-Petersen *et al.*, 2006; Piña-Ochoa *et al.*, 2010). D'autres foraminifères encore séquestrent des chloroplastes de diatomées en les maintenant fonctionnels (Jauffrais *et al.*, 2017; LeKieffre *et al.*, 2018b). La grande diversité des foraminifères est également visible au niveau de leur ultrastructures cellulaires (LeKieffre *et al.*, 2018a). Cette très grande diversité de multiples points de vue explique leur énorme potentiel en tant que bio-indicateurs pour les études de bio-monitoring.

1.2. Bio-monitoring

Le bio-monitoring est le suivi des organismes vivants d'un environnement donné, pour étudier l'impact d'un éventuel paramètre de stress d'origine anthropique. Il permet d'obtenir des informations sur la santé des écosystèmes ainsi que leur évolution temporelle. Le bio-monitoring permet notamment de repérer et mesurer d'éventuelles dégradations des écosystèmes. Pour mesurer ces phénomènes, le bio-monitoring se base sur des prélèvements et mesures *in situ* à intervalles réguliers. L'accumulation de ces relevés de terrain au cours du temps, couplé à une synthèse des informations recueillies va être rendu sous la forme d'indices. Ces indices doivent permettre de communiquer simplement sur l'état des écosystèmes et la qualité environnementale. Les indices sont aussi des aides pour les gestionnaires d'espaces naturels pour la prise de décision.

1.2.1. Eutrophisation

Les pollutions dans l'environnement (matière organique, nutriments, métaux lourds, pesticides, etc.) sont souvent diffuses et l'une des manières les plus simples de les appréhender est de suivre l'impact de la matière organique. La matière organique est un élément important dans la régulation des écosystèmes. Le phénomène d'eutrophisation apparaît lorsque des eaux riches en nutriments, notamment azote et phosphore, et bien oxygénées voient apparaître des blooms phytoplanctoniques. Ces blooms entraînent l'augmentation de la biomasse et mènent souvent à une accumulation de matière organique au fond. Ensuite, l'augmentation de la biomasse des organismes hétérotrophes aérobies peut provoquer une chute sévère de la concentration en oxygène dissous (Cloern, 2001). L'eutrophisation représente ce changement d'équilibre conduisant à des conditions riches en matière organique et potentiellement hypoxiques ou anoxiques (Nixon, 1995).

L'eutrophisation est un phénomène naturel. Mais des apports en nutriments d'origine anthropique, notamment d'origine agricole ou de rejets de stations d'épuration, peuvent fortement augmenter l'intensité et la fréquence d'occurrence de ces phénomènes (Ferreira *et al.*, 2011). Les apports en matière organique sont donc très étudiés en bio-monitoring. De par leur situation géographique et la forte pression anthropique, les apports de matière organique impactent particulièrement les zones côtières. L'accumulation de matière organique dans l'écosystème va faire augmenter l'état trophique.

1.2.2. Qualité environnementale

En partant du dérèglement d'un écosystème lié à une augmentation de la charge en matière organique, la qualité de cet écosystème se mesurera en fonction de l'écart des conditions observées comparé aux conditions non impactées (Ferreira *et al.*, 2011). La mesure de cet écart entre conditions observées et conditions non impactées nécessite de définir des conditions de référence auxquelles se référer (Borja *et al.*, 2012). Ces conditions de référence doivent donc refléter l'état des communautés benthiques pour un état trophique naturel.

La mesure de la qualité environnementale nécessite de prendre en compte l'écosystème dans sa globalité (Borja *et al.*, 2008). La mesure de concentrations de polluants dans l'environnement permet de quantifier les pressions potentiellement subies par les organismes habitant ces environnements à cause de la présence de ces polluants. Cependant, ces mesures ne permettent pas de savoir si ces polluants sont bio-disponibles et si les communautés d'organismes benthiques sont impactées par ces pressions. Seule l'étude des communautés concernées permet de relever, et si possible, de quantifier l'éventuel impact de la présence de polluants. La quantification des impacts décrit donc l'état de l'écosystème. Un moyen simple de quantifier cet état est l'utilisation d'indices biotiques.

1.2.3. Indices biotiques

Les indices biotiques permettent de synthétiser l'information sur la qualité des écosystèmes de manière simple. Ces indices se basent sur différents groupes taxonomiques servant de bio-indicateurs, comme le phytoplancton, les macroalgues ou les poissons. Pour les substrats meubles de nombreux indices ont été développés en se basant sur la macrofaune benthique. Les communautés de foraminifères benthiques sont aussi beaucoup utilisées en bio-monitoring et servent de base à certains indices. Il existe plusieurs types d'indices biotiques. On distingue deux grandes catégories : les indices basés sur la diversité et les indices basés sur des groupes écologiques d'espèces (Birk *et al.*, 2012).

Les indices basés sur la diversité utilisent des mesures de la diversité spécifique du groupe taxonomique considéré pour évaluer l'état écologique. Ces mesures de la diversité peuvent être l'indice de Shannon (Shannon, 1948), l'ES₁₀₀ (Hurlbert, 1971) ou le BQI (Rosenberg *et al.*, 2004), par exemple. Pour relier diversité spécifique et qualité environnementale, ces indices se basent sur le principe d'une diminution de la diversité et une augmentation de la densité des individus lorsque les conditions environnementales se dégradent puis également de la chute de la densité dans les environnements les plus impactés (Gray, 1979, 1989).

L'autre grande catégorie d'indices biotiques se base sur l'assignation des espèces à des groupes écologiques (EG). La construction de ces groupes se base sur l'observation d'abord faite pour la macrofaune benthique, de successions d'espèces le long de gradients d'enrichissement organique (Pearson and Rosenberg, 1978; Nilsson and Rosenberg, 2000; Rosenberg, 2001). Le même principe s'applique aux faunes de foraminifères benthiques (van der Zwaan and Jorissen, 1991; Jorissen *et*

al., 1995; Jorissen, 1999). Les espèces vont être assignées à différents groupes suivant leurs réactions au degré d'enrichissement en matière organique que subit le milieu. Les EG ont commencé à être défini pour la macrofaune à partir des années 1980 (Glémarec and Hily, 1981; Majeed, 1987; Dauer, 1993; Grall and Glémarec, 1997) (Figure 1.1). Puis ils ont été appliqué aux faunes de foraminifères benthiques (Barras *et al.*, 2014; Alve *et al.*, 2016; Jorissen *et al.*, 2018) :

- Les espèces sensibles (EGI) : ces espèces ne supportent pas le moindre enrichissement en matière organique. Les espèces de ce groupe disparaissent rapidement en cas d'augmentation du taux de matière organique ou de diminution du taux d'oxygène. Elles ne sont présentes que dans des conditions oligotrophes.
- Les espèces indifférentes (EGII) : ces espèces sont présentes dans les milieux peu perturbés et supportent un début d'enrichissement en matière organique. Elles ne montrent cependant jamais une préférence pour des conditions d'enrichissement organique.
- Les espèces opportunistes du 3^e ordre (EGIII) : ces espèces peuvent vivre dans des milieux perturbés par des enrichissements en matière organique. Elles peuvent être présentes dans des conditions oligotrophes mais prolifèrent dans des conditions plutôt eutrophes.
- Les espèces opportunistes de 2^e et 1^{er} ordre (EGIV et EGV) : ces espèces présentent une forte capacité à proliférer rapidement lors des apports importants de matière organique. Elles sont présentes dans les conditions les plus eutrophes, et tolèrent des conditions de forte hypoxie ou d'anoxie.

La construction des indices basés sur les EG passe par la sélection de deux paramètres : la manière d'intégrer les EG dans l'indice et le mode d'assignation des espèces à chacun des EG. Parmi ces indices on retrouve par exemple l'AMBI (Borja *et al.*, 2000), le BENTIX (Simboura and Zenetos, 2002b) ou le BOPA (Dauvin and Ruellet, 2007).

Il existe aussi, pour mesurer la qualité des écosystèmes, des indices multi-métriques qui combinent les deux grands types d'indices, ceux basés sur la diversité et ceux basés sur les EG, comme par exemple le B-IBI (Weisberg *et al.*, 1997) ou le M-AMBI (Muxika *et al.*, 2007).

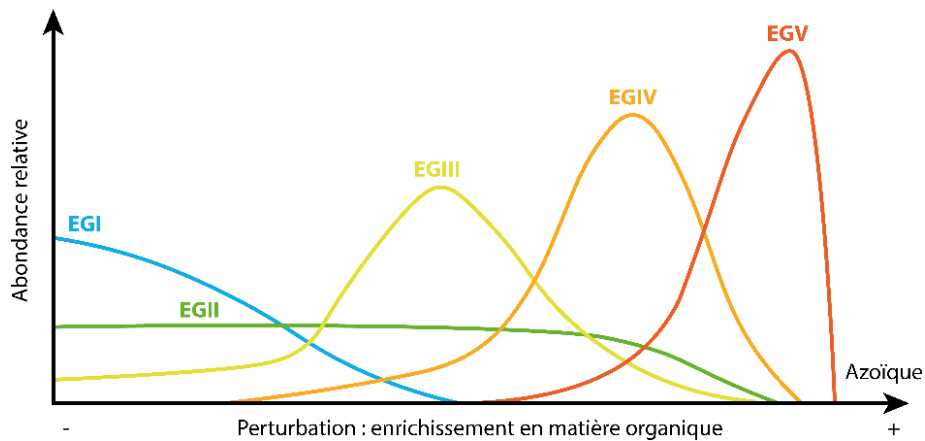


Figure 1.1 : Succession des différents groupes écologiques le long d'un gradient de perturbation d'enrichissement en matière organique. Groupes d'espèces : EGI, sensibles ; EGII, indifférentes ; EGIII, opportunistes de 3^e ordre ; EGIV, opportunistes de 2^e ordre ; EGV, opportunistes de 1^{er} ordre. Reproduit d'après Glémarec et Grall (2000) et Jorissen et al. (2018).

1.2.4. Utilisation des foraminifères benthiques en bio-monitoring

Les foraminifères benthiques sont utilisés depuis longtemps pour évaluer les modifications des écosystèmes liées à des pressions anthropiques (p. ex., Watkins, 1961; Schafer, 1973; Ellison *et al.*, 1986). Les foraminifères présentent plusieurs avantages en tant qu'espèces bio-indicatrices : 1) l'utilisation des foraminifères peut se faire à l'échelle de l'océan mondial grâce à leur large répartition ; 2) leur cycle de vie court, de quelques mois à l'année, permet, en se basant sur les communautés vivantes, d'avoir une information intégrée sur cette fenêtre temporelle ; 3) les foraminifères sont sédentaires dans les sédiments marins ce qui permet de limiter le biais lié à la capacité de migration des espèces en cas d'augmentation des pressions sur l'écosystème ; 4) leur diversité fait qu'ils possèdent de nombreuses stratégies écologiques donc une variété de réponses aux pressions ; 5) la conservation de ce test dans les sédiments marins peut permettre de retracer l'évolution de la qualité environnementale d'un écosystème.

Il est alors possible d'utiliser les foraminifères comme bio-indicateurs et de déterminer l'évolution spatiale ou temporelle de diverses pressions environnementales. Les réponses des faunes de foraminifères et la nature des pressions traçables est aussi très variée. Ces pressions peuvent être les hydrocarbures (Mojtahid *et al.*, 2006; Jorissen *et al.*, 2009), les métaux lourds (Ferraro *et al.*, 2006; Frontalini and Coccioni, 2008), les perturbations thermiques (Arieli *et al.*, 2011; Titelboim *et al.*, 2016), l'acidification des eaux (Charrieau *et al.*, 2018), les phénomènes anoxiques (Alve, 1995a; Cauille *et al.*, 2014), les enrichissements en matière organique (Mendes *et al.*, 2004; Mojtahid *et al.*, 2009).

Récemment, les faunes de foraminifères sont de plus en plus intégrées à des indices de mesures de la qualité environnementale. Parmi ces indices l'on peut citer l'*Ammonia-Elphidium* index (Sen Gupta *et al.*, 1996), le FI (Hallock *et al.*, 2003) ou le quantitative pollution index (Mojtahid *et al.*, 2006). Plus particulièrement,

dans le cadre de ce travail de thèse, nous nous intéresserons à quatre indices biotiques qui ont été développés ou testés en Mer Méditerranée. Ces indices sont l' $\exp(H'_{bc})$ (Bouchet *et al.*, 2018), le TSI-Med (Barras *et al.*, 2014), le Foram-AMBI (Jorissen *et al.*, 2018) et le FSI (Dimiza *et al.*, 2016).

1.3. Directive Cadre sur l'Eau

La Directive Cadre sur l'Eau (DCE, Commission Européenne, 2000) a été mise en place en 2000 en Europe afin d'évaluer la qualité des eaux et de permettre le retour au bon état des eaux dégradées. Les champs d'application de la DCE sont les eaux intérieures (rivières, lacs, etc.), les eaux souterraines, les eaux de transition (lagunes côtières, estuaires), et les eaux côtières jusqu'à 1 mille de la côte. Nous nous intéresserons ici seulement aux eaux côtières. Grâce à des conventions de recherche établies entre l'Agence de l'Eau Rhône Méditerranée et Corse et le LPG-BIAF, nous avons pu contribuer de façon importante au développement de la bio-indication basée sur les faunes de foraminifères benthiques.

L'application de la DCE fonctionne sous la forme de cycles selon le modèle d'amélioration continue. Chaque cycle dure 6 ans et peut être découpé en deux parties. La première moitié permet l'élaboration des stratégies pour atteindre les objectifs de qualité de la DCE et la seconde de mettre en place ces stratégies et vérifier leurs effets. Ainsi, en début d'un cycle, un état des lieux des masses d'eau permet l'élaboration des programmes de surveillance et à mi-cycle sont mis en place les Schémas Directeurs d'Aménagement et de Gestion des Eaux (SDAGE) et les programmes de mesures associés. Un nouvel état des lieux est fait en fin de cycle pour évaluer l'effet des mesures prises et lancer le cycle suivant.

Pour évaluer l'état des eaux côtières, des zones ont été délimitées le long de la côte. Ces zones sont désignées par le terme de « masse d'eau ». Le découpage de ces masses d'eaux a été réalisé afin de garantir une certaine homogénéité de conditions environnementales dans l'ensemble de la masse d'eau. Une (ou plusieurs) station à l'intérieur de cette masse d'eau est échantillonnée régulièrement pour en évaluer l'état.

La DCE impose un bon état de l'ensemble des masses d'eau. L'état final de chaque masse d'eau résulte de la combinaison d'indicateurs de l'état chimique et de l'état écologique de l'environnement en question. L'état chimique se base sur la quantification de différents polluants dans le milieu et dans certains organismes (Andral and Sargian, 2010a, 2010b). Il peut prendre deux statuts possibles : « bon » ou « mauvais ». Le dépassement de seuils de concentration va induire un classement de l'état chimique en « mauvais ».

L'état écologique se base sur différents compartiments biologiques d'après lesquels des indices biotiques sont calculés. Dans les zones côtières de Méditerranée française, les compartiments biologiques retenus pour définir l'état écologique sont le phytoplancton, les posidonies, les macroalgues, les macrophytes et la macrofaune benthique (Andral and Sargian, 2010a, 2010b). Pour chacun de ces compartiments biologiques des indices ont été développés (p. ex., l'AMBI pour la macrofaune).

Les valeurs de ces indices sont ensuite comparées à une référence. Cette référence correspond à la valeur de l'indice pour un environnement comparable, non impacté par des pressions d'origine humaine. La valeur de l'indice à la station et l'état de référence permettent d'obtenir le ratio de qualité écologique (EQR) et de comparer différents sites entre eux (European Commission and Directorate-General for the Environment, 2003). Ensuite la gamme des valeurs des EQR est subdivisée en cinq classes de qualité écologique (EQS) (très bon, bon, moyen, médiocre et mauvais). Ces EQS représentent la qualité écologique de l'écosystème. Le bon état écologique correspond à un écart faible des valeurs des indices par rapport à la référence, c'est-à-dire par rapport aux indices normalement obtenus ou attendus pour ce type de masse d'eau dans des conditions non perturbées (Commission Européenne, 2000).

Les différents paramètres de qualité chimiques et écologiques sont ensuite combinés pour obtenir le classement global de la masse d'eau dans l'une des cinq classes d'EQS. Le paramètre avec la plus mauvaise évaluation est déterminant pour la note de l'ensemble. Le dépassement du seuil entre les états « bon » et « moyen » impose la prise de mesures visant à améliorer la qualité environnementale.

En 2008, une nouvelle directive, la Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin (DCSMM, Commission Européenne, 2008) entre en vigueur pour couvrir les milieux marins ouverts. Le DCSMM s'applique à partir du trait de côte, et complète ainsi l'action de la DCE dans le milieu marin plus au large, jusqu'à l'étage bathyal. La DCSMM suit un calendrier similaire à la DCE mais ne suit pas la même construction dans l'évaluation et le suivi des milieux marins. La DCSMM ne sera pas traitée plus avant ici.

1.4. Mer Méditerranée

La Mer Méditerranée est une mer semi-fermée micro-tidale qui ne communique avec le reste des océans que par le détroit de Gibraltar à l'ouest et le canal de Suez au sud-est (Figure 1.2). La Mer Méditerranée est constituée de deux bassins principaux, occidental et oriental. Cette situation entraîne une circulation particulière des eaux. Les eaux de l'Atlantique pénètrent par le Déroit de Gibraltar et longent la côte sud de la Méditerranée (Pinardi and Masetti, 2000; Ciappa, 2014). Ces eaux vont ensuite circuler en sens antihoraire en se densifiant au fur et à mesure. Les eaux plus denses et plus profondes ressortent de la Méditerranée par le détroit de Gibraltar.

Notre zone d'étude se situe au nord-ouest de la Méditerranée le long des côtes françaises. Au niveau du Golfe du Lion, la zone d'étude est constituée d'un large plateau peu profond (< 150 m) s'étendant sur près de 80 km de large au maximum. Le Golfe du Lion est fortement influencé par les apports fluviaux du Rhône. La côte à l'est du Golfe du Lion comporte un plateau beaucoup plus étroit (< 10 km) et la pente du fond est plus abrupte. La côte ouest de la Corse a des caractéristiques similaires, faible largeur de plateau et pente forte, alors que sa côte est est peu profonde et plus similaire au Golfe du Lion. La circulation des eaux se fait dans le sens antihoraire avec une remontée des courants le long des côtes de Corse ; puis le

courant principal de la région, le courant liguro-provençal part de la mer Ligure jusqu'au sud-ouest du golfe du Lion (Millot, 1999).

Nous avons également étudié un site de rejet de station d'épuration au large de Palmachim sur les côtes israéliennes. La zone se situe à 36 m de profondeur sous l'influence d'un courant principal qui remonte vers le nord. Ce courant fait partie de la cellule littorale du Nil drainant les apports fluviaux (Menna *et al.*, 2012; Garzanti *et al.*, 2015). Cette zone géographique est la plus oligotrophe de toute la Méditerranée (Azov, 1991; Lazzari *et al.*, 2012). La région se situe également juste au nord du Canal de Suez, et, par conséquent, de nombreuses espèces invasives, dont de larges foraminifères benthiques, provenant de Mer Rouge se propagent vers le nord puis l'ouest de la Méditerranée (Hyams *et al.*, 2002; Langer *et al.*, 2012).

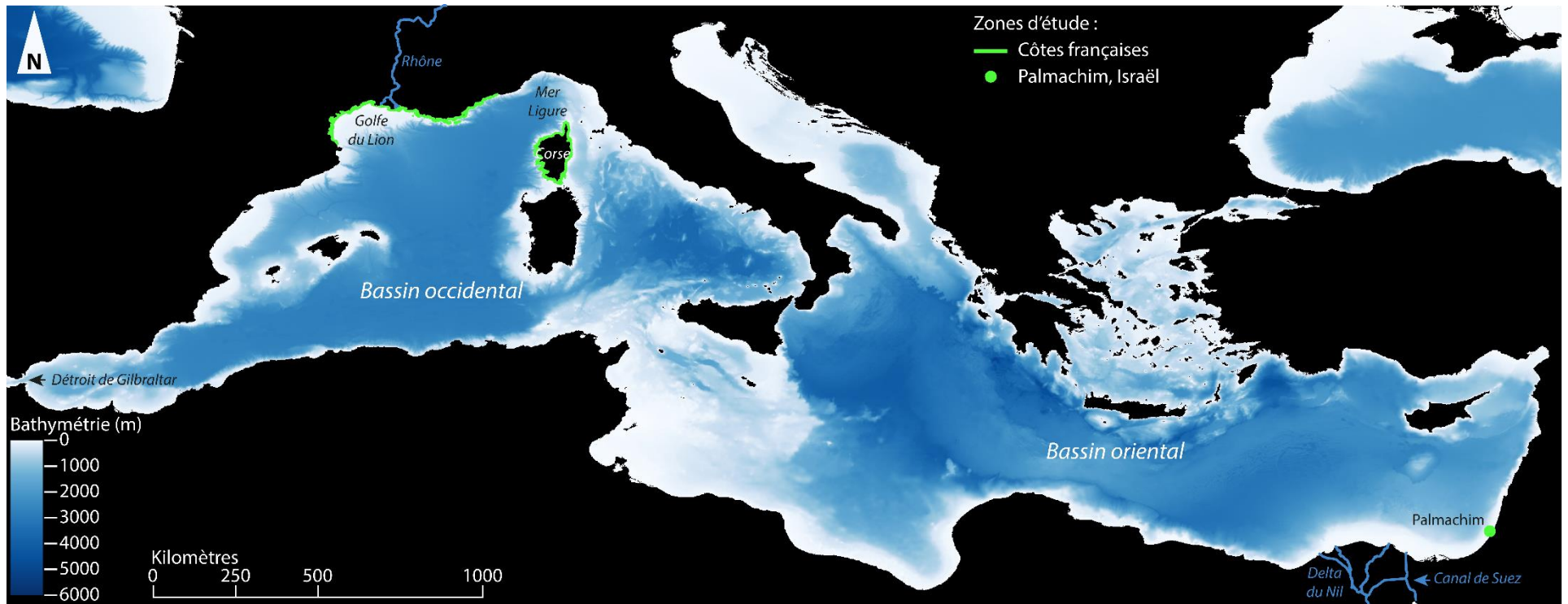


Figure 1.2 : Carte de la Mer Méditerranée présentant les zones d'étude. Le modèle numérique de terrain est issu de Marine Information Service (2016).

1.5. Objectifs

La bio-indication utilisant les foraminifères n'est pas récente mais l'intérêt de l'utilisation des faunes de foraminifères dans des indices biotiques se développe de plus en plus. Les méthodes et protocoles utilisés dans les études de bio-monitoring basées sur les faunes de foraminifères ont été standardisés (Schönfeld *et al.*, 2012), mais il reste des points d'amélioration. Le traitement des échantillons peut être très long, particulièrement les échantillons de sable dans lesquels les foraminifères se retrouvent dilués dans une quantité importante de sédiment. Il existe des méthodes pour extraire les foraminifères de ces échantillons par l'utilisation de liquides de haute densité mais jusqu'à présent, elles n'ont pas donné satisfaction. Dans le **chapitre 2**, nous nous sommes donc concentrés au développement d'une méthode fiable qui va permettre de réduire le temps d'analyse des échantillons dans le cadre d'études de bio-monitoring.

La matière organique est un élément important du stress subi par les environnements marins. En théorie, le taux de matière organique devrait permettre d'évaluer l'état trophique de l'écosystème. Néanmoins, dans notre zone d'étude, il inclut également de macro-débris algaux et de posidonies, composés de matière organique plutôt réfractaire. Le pourcentage de matière organique mesuré sur le terrain ne permet donc pas d'évaluer d'état trophique du milieu. D'autre part, une part de cet état trophique est naturelle, l'autre peut être liée aux pressions anthropiques, c'est cette dernière dont nous souhaitons évaluer l'impact. C'est pourquoi, l'indice TSI-Med, développé dans le cadre de la DCE en Méditerranée (Barras *et al.*, 2014), inclut une correction pour tenir compte de l'état trophique naturel du milieu (c.-à-d. des conditions de références). Dans le **chapitre 3**, nous avons testé différentes méthodes de quantification de l'état trophique naturel. Pour cela nous nous sommes basés sur l'analyse granulométrique du sédiment de stations réparties le long de la côte et représentant des conditions environnementales variées. Nous avons également pu tester l'application au TSI-Med de différents paramètres permettant de corriger de l'état trophique naturel.

Les indices biotiques basés sur les faunes de foraminifères se multiplient. Ces indices biotiques ont été construits pour mesurer la réponse des faunes de foraminifères aux enrichissements en matière organique. Théoriquement, les conclusions que l'on tire de ces indices en termes de statut écologique devraient donc être comparables. À l'heure actuelle, aucune comparaison des résultats des indices biotiques basés sur les foraminifères benthiques n'a été réalisée. Dans le **chapitre 4**, nous avons appliqué quatre indices biotiques à notre base de données de foraminifères en Méditerranée française : le TSI-Med, le Foram-AMBI, le FSI et l' $\exp(H'_{bc})$. Nous avons ainsi pu comparer le fonctionnement de chacun de ces indices et en quoi ils différaient ou se ressemblaient.

Dans le cadre de la DCE, les campagnes de suivi permettent de mesurer la qualité écologique des eaux côtières. La campagne d'échantillonnage effectuée en 2015 offre un large espace caractérisé par une pollution en matière organique diffuse qui nous permet de tester l'application du TSI-Med dans une large gamme de

conditions environnementales. Dans le **chapitre 5**, cette base de données nous a permis d'évaluer la pertinence des résultats de l'indice TSI-Med en comparant les valeurs de l'indice avec les pressions environnementales connues. Nous avons également pu comparer les résultats de l'indice à ceux recueillis lors de deux précédentes campagnes et étudier l'évolution de la qualité environnementale des masses d'eau dans le temps.

L'application des indices biotiques le long de gradients de pression est le meilleur moyen de pouvoir les calibrer. La décroissance continue de la pression le long du gradient permet d'observer en détail la réponse des indices biotiques et des espèces individuelles à cette pollution. Des gradients continus de pressions anthropiques sur des longues distances sont heureusement plutôt rares. Dans le **chapitre 6**, nous avons étudié les faunes de foraminifères le long d'un gradient de pollution créé par le rejet d'une station d'épuration face à Palmachim sur les côtes israéliennes. Cette étude nous a permis de tester deux indices biotiques basés sur les foraminifères benthiques : le TSI-Med et le Foram-AMBI.

Références

- Alve, E. 1995. Benthic foraminiferal distribution and recolonization of formerly anoxic environments in Drammensfjord, southern Norway. *Marine Micropaleontology*, 25: 169–186.
- Alve, E. 2010. Benthic foraminiferal responses to absence of fresh phytodetritus: A two-year experiment. *Marine Micropaleontology*, 76: 67–75.
- Alve, E., Korsun, S., Schönfeld, J., Dijkstra, N., Golikova, E., Hess, S., Husum, K., *et al.* 2016. Foram-AMBI: A sensitivity index based on benthic foraminiferal faunas from North-East Atlantic and Arctic fjords, continental shelves and slopes. *Marine Micropaleontology*, 122: 1–12.
- Andral, B., and Sargian, P. 2010a. Directive Cadre Eau - District 'Rhône et Côtiers méditerranéens' : Contrôle de surveillance/opérationnel. Campagne DCE 2009.
- Andral, B., and Sargian, P. 2010b. Directive Cadre Eau - District 'Corse' : Contrôles de surveillance/opérationnel. Campagne DCE 2009.
- Arieli, R. N., Almogi-Labin, A., Abramovich, S., and Herut, B. 2011. The effect of thermal pollution on benthic foraminiferal assemblages in the Mediterranean shoreface adjacent to Hadera power plant (Israel). *Marine Pollution Bulletin*, 62: 1002–1012.
- Azov, Y. 1991. Eastern Mediterranean—a marine desert? *Marine Pollution Bulletin*, 23: 225–232.
- Barras, C., Duplessy, J.-C., Geslin, E., Michel, E., and Jorissen, F. J. 2010. Calibration of $\delta^{18}\text{O}$ of cultured benthic foraminiferal calcite as a function of temperature. *Biogeosciences*, 7: 1349–1356.
- Barras, C., Jorissen, F. J., Labrune, C., Andral, B., and Boissery, P. 2014. Live benthic foraminiferal faunas from the French Mediterranean Coast: Towards a new biotic index of environmental quality. *Ecological Indicators*, 36: 719–743.

- Barras, C., Mouret, A., Nardelli, M. P., Metzger, E., Petersen, J., La, C., Filipsson, H. L., *et al.* 2018. Experimental calibration of manganese incorporation in foraminiferal calcite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 237: 49–64.
- Bernhard, J. M. 1987. Foraminiferal biotopes in explorers cove, McMurdo Sound, Antarctica. *Journal of Foraminiferal Research*, 17: 286–297.
- Birk, S., Bonne, W., Borja, A., Brucet, S., Courrat, A., Poikane, S., Solimini, A., *et al.* 2012. Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecological Indicators*, 18: 31–41.
- Borja, Á., Franco, J., and Pérez, V. 2000. A Marine Biotic Index to Establish the Ecological Quality of Soft-Bottom Benthos Within European Estuarine and Coastal Environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 1100–1114.
- Borja, A., Bricker, S. B., Dauer, D. M., Demetriades, N. T., Ferreira, J. G., Forbes, A. T., Hutchings, P., *et al.* 2008. Overview of integrative tools and methods in assessing ecological integrity in estuarine and coastal systems worldwide. *Marine Pollution Bulletin*, 56: 1519–1537.
- Borja, Á., Dauer, D. M., and Grémare, A. 2012. The importance of setting targets and reference conditions in assessing marine ecosystem quality. *Ecological Indicators*, 12: 1–7.
- Bouchet, V. M. P., Goberville, E., and Frontalini, F. 2018. Benthic foraminifera to assess Ecological Quality Statuses in Italian transitional waters. *Ecological Indicators*, 84: 130–139.
- Caulle, C., Koho, K. A., Mojtahid, M., Reichart, G. J., and Jorissen, F. J. 2014. Live (Rose Bengal stained) foraminiferal faunas from the northern Arabian Sea: faunal succession within and below the OMZ. *Biogeosciences*, 11: 1155–1175.
- Charrieau, L. M., Filipsson, H. L., Ljung, K., Chierici, M., Knudsen, K. L., and Kritzberg, E. 2018. The effects of multiple stressors on the distribution of coastal benthic foraminifera: A case study from the Skagerrak-Baltic Sea region. *Marine Micropaleontology*, 139: 42–56.
- Ciappa, A. C. 2014. The controversial path of Atlantic Water in the Eastern Mediterranean. *Progress in Oceanography*: 10.
- Cloern, J. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series*, 210: 223–253.
- Commission Européenne. 2000. Directive 2000/60/CE du Parlement Européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. *Journal officiel des Communautés européennes*: 1–72.
- Commission Européenne. 2008. Directive 2008/56/CE du Parlement Européen et du Conseil du 17 juin 2008 établissant un cadre d'action communautaire dans le domaine de la politique pour le milieu marin (directive-cadre «stratégie pour le milieu marin»). *Journal officiel de l'Union européenne*, L 164: 19–40.
- Dauer, D. M. 1993. Biological criteria, environmental health and estuarine macrobenthic community structure. *Marine Pollution Bulletin*, 26: 249–257.

- Dauvin, J. C., and Ruellet, T. 2007. Polychaete/amphipod ratio revisited. *Marine Pollution Bulletin*, 55: 215–224.
- Debenay, J.-P., and Redois, F. 1997. Distribution of the twenty seven dominant species of shelf benthic foraminifers on the continental shelf, north of Dakar (Senegal). *Marine Micropaleontology*, 29: 237–255.
- Debenay, J.-P., Guillou, J.-J., Redois, F., and Geslin, E. 2000. Distribution trends of foraminiferal assemblages in paralic environments. *In Environmental micropaleontology: the application of microfossils to environmental geology*, pp. 39–67. Ed. by R. E. Martin. New York, USA.
- Dimiza, M. D., Triantaphyllou, M. V., Koukousioura, O., Hallock, P., Simboura, N., Karageorgis, A. P., and Papatthanasiou, E. 2016. The Foram Stress Index: A new tool for environmental assessment of soft-bottom environments using benthic foraminifera. A case study from the Saronikos Gulf, Greece, Eastern Mediterranean. *Ecological Indicators*, 60: 611–621.
- Durand, M., Mojtahid, M., Maillet, G. M., Baltzer, A., Schmidt, S., Blet, S., Marchès, E., *et al.* 2018. Late Holocene record from a Loire River incised paleovalley (French inner continental shelf): Insights into regional and global forcing factors. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031018217312026> (Accessed 1 October 2018).
- Ellison, R. L., Broome, R., and Ogilvie, R. 1986. Foraminiferal response to trace metal contamination in the Patapsco River and Baltimore Harbour, Maryland. *Marine Pollution Bulletin*, 17: 419–423.
- European Commission, and Directorate-General for the Environment. 2003. Transitional and coastal waters: typology, reference conditions and classification systems - Guidance document No 5. OPOCE, Luxembourg. 107 pp. <http://bookshop.europa.eu/uri?target=EUB:NOTICE:KH5103196:EN:HTML> (Accessed 19 July 2018).
- Ferraro, L., Sprovieri, M., Alberico, I., Lirer, F., Prevedello, L., and Marsella, E. 2006. Benthic foraminifera and heavy metals distribution: A case study from the Naples Harbour (Tyrrhenian Sea, Southern Italy). *Environmental Pollution*, 142: 274–287.
- Ferreira, J. G., Andersen, J. H., Borja, A., Bricker, S. B., Camp, J., Cardoso da Silva, M., Garcés, E., *et al.* 2011. Overview of eutrophication indicators to assess environmental status within the European Marine Strategy Framework Directive. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 93: 117–131.
- Frontalini, F., and Coccioni, R. 2008. Benthic foraminifera for heavy metal pollution monitoring: A case study from the central Adriatic Sea coast of Italy. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 76: 404–417.
- Garzanti, E., Andò, S., Padoan, M., Vezzoli, G., and El Kammar, A. 2015. The modern Nile sediment system: Processes and products. *Quaternary Science Reviews*, 130: 9–56.

- Glémarec, M., and Hily, C. 1981. Perturbations apportées à la macrofaune benthique de la baie de Concarneau par les effluents urbains et portuaires. *Acta Oecologica Oecologia Applicata*, 2: 139–150.
- Glémarec, M., and Grall, J. 2000. Les groupes écologiques et zoologiques d'invertébrés marins face aux dégradations de l'environnement côtier. *Bulletin de la Société zoologique de France*, 125: 37–48.
- Gooday, A. J., Bowser, S. S., and Bernhard, J. M. 1996. Benthic foraminiferal assemblages in Explorers Cove, Antarctica: a shallow-water site with deep-sea characteristics. *Progress in Oceanography*, 37: 117–166.
- Grall, J., and Glémarec, M. 1997. Using biotic indices to estimate macrobenthic community perturbations in the Bay of Brest. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 44: 43–53.
- Gray, J. S. 1979. Pollution-induced changes in populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 286: 545–561.
- Gray, J. S. 1989. Effects of environmental stress on species rich assemblages. *Biological Journal of the Linnean Society*, 37: 19–32.
- Groeneveld, J., and Filipsson, H. L. 2013. Mg/Ca and Mn/Ca ratios in benthic foraminifera: the potential to reconstruct past variations in temperature and hypoxia in shelf regions. *Biogeosciences*, 10: 5125–5138.
- Hallock, P., Lidz, B. H., Cockey-Burkhard, E. M., and Donnelly, K. B. 2003. Foraminifera as bioindicators in coral reef assessment and monitoring the FORAM index. *In Coastal Monitoring through Partnerships*, pp. 221–238. Springer Netherlands, Pensacola Beach, FL, U.S.A.
- Hurlbert, S. H. 1971. The Nonconcept of Species Diversity: A Critique and Alternative Parameters. *Ecology*, 52: 577–586.
- Hyams, O., Almogi-Labin, A., and Benjaminia, C. 2002. Larger foraminifera of the southeastern Mediterranean shallow continental shelf off Israel. *Israel Journal of Earth Sciences*, 51: 169–179.
- Jauffrais, T., Jesus, B., Méléder, V., and Geslin, E. 2017. Functional xanthophyll cycle and pigment content of a kleptoplastic benthic foraminifer: *Haynesina germanica*. *PLOS ONE*, 12: e0172678.
- Jorissen, F. J., De Stigter, H., and Widmark, J. G. V. 1995. A conceptual model explaining benthic foraminiferal microhabitats. *Marine Micropaleontology*, 26: 3–15.
- Jorissen, F. J. 1999. Benthic foraminiferal microhabitats below the sediment-water interface. *In Modern Foraminifera*, pp. 161–179. Springer, Dordrecht, The Netherlands. https://doi.org/10.1007/0-306-48104-9_10.
- Jorissen, F. J., Bicchi, E., Duchemin, G., Durrieu, J., Galgani, F., Cazes, L., Gaultier, M., *et al.* 2009. Impact of oil-based drill mud disposal on benthic foraminiferal assemblages on the continental margin off Angola. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 56: 2270–2291.
- Jorissen, F. J., Nardelli, M. P., Almogi-Labin, A., Barras, C., Bergamin, L., Bicchi, E., El Kateb, A., *et al.* 2018. Developing Foram-AMBI for biomonitoring in

- the Mediterranean: Species assignments to ecological categories. *Marine Micropaleontology*, 140: 33–45.
- Kemp, A. C., Horton, B. P., Vann, D. R., Engelhart, S. E., Grand Pre, C. A., Vane, C. H., Nikitina, D., *et al.* 2012. Quantitative vertical zonation of salt-marsh foraminifera for reconstructing former sea level; an example from New Jersey, USA. *Quaternary Science Reviews*, 54: 26–39.
- Langer, M. R., Weinmann, A. E., Lotters, S., and Rodder, D. 2012. ‘Strangers’ in Paradise: Modeling the Biogeographic Range Expansion of the Foraminifera *Amphistegina* in the Mediterranean Sea. *The Journal of Foraminiferal Research*, 42: 234–244.
- Langlet, D., Geslin, E., Baal, C., Metzger, E., Lejzerowicz, F., Riedel, B., Zuschin, M., *et al.* 2013. Foraminiferal survival after long-term in situ experimentally induced anoxia. *Biogeosciences*, 10: 7463–7480.
- Lazzari, P., Solidoro, C., Ibello, V., Salon, S., Teruzzi, A., Béranger, K., Colella, S., *et al.* 2012. Seasonal and inter-annual variability of plankton chlorophyll and primary production in the Mediterranean Sea: a modelling approach. *Biogeosciences*, 9: 217–233.
- LeKieffre, C., Bernhard, J. M., Mabilieu, G., Filipsson, H. L., Meibom, A., and Geslin, E. 2018a. An overview of cellular ultrastructure in benthic foraminifera: New observations of rotalid species in the context of existing literature. *Marine Micropaleontology*, 138: 12–32.
- LeKieffre, C., Jauffrais, T., Geslin, E., Jesus, B., Bernhard, J. M., Giovani, M.-E., and Meibom, A. 2018b. Inorganic carbon and nitrogen assimilation in cellular compartments of a benthic kleptoplastic foraminifer. *Scientific Reports*, 8. <http://www.nature.com/articles/s41598-018-28455-1> (Accessed 4 July 2018).
- Majeed, S. A. 1987. Organic matter and biotic indices on the beaches of north Brittany. *Marine Pollution Bulletin*, 18: 490–495.
- Marine Information Service. 2016. EMODnet Digital Bathymetry (DTM). <http://portal.emodnet-bathymetry.eu/>.
- Mendes, I., Gonzalez, R., Dias, J. M. A., Lobo, F., and Martins, V. 2004. Factors influencing recent benthic foraminifera distribution on the Guadiana shelf (Southwestern Iberia). *Marine Micropaleontology*, 51: 171–192.
- Menna, M., Poulain, P.-M., Zodiatis, G., and Gertman, I. 2012. On the surface circulation of the Levantine sub-basin derived from Lagrangian drifters and satellite altimetry data. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 65: 46–58.
- Millot, C. 1999. Circulation in the Western Mediterranean Sea. *Journal of Marine Systems*, 20: 423–442.
- Mojtahid, M., Jorissen, F. J., Durrieu, J., Galgani, F., Howa, H., Redois, F., and Camps, R. 2006. Benthic foraminifera as bio-indicators of drill cutting disposal in tropical east Atlantic outer shelf environments. *Marine Micropaleontology*, 61: 58–75.
- Mojtahid, M., Jorissen, F. J., Lansard, B., Fontanier, C., Bombled, B., and Rabouille, C. 2009. Spatial distribution of live benthic foraminifera in the

- Rhône prodelta: Faunal response to a continental–marine organic matter gradient. *Marine Micropaleontology*, 70: 177–200.
- Mojtahid, M., Jorissen, F. J., Garcia, J., Schiebel, R., Michel, E., Eynaud, F., Gillet, H., *et al.* 2013. High resolution Holocene record in the southeastern Bay of Biscay: Global versus regional climate signals. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 377: 28–44.
- Murray, J. W. 2006. *Ecology and Applications of Benthic Foraminifera*. Cambridge University Press, Cambridge. <http://public.eblib.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=803153> (Accessed 24 July 2017).
- Murray, J. W. 2007. Biodiversity of living benthic foraminifera: How many species are there? *Marine Micropaleontology*, 64: 163–176.
- Muxika, I., Borja, Á., and Bald, J. 2007. Using historical data, expert judgement and multivariate analysis in assessing reference conditions and benthic ecological status, according to the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 55: 16–29.
- Nardelli, M. P., Barras, C., Metzger, E., Mouret, A., Filipsson, H. L., Jorissen, F., and Geslin, E. 2014. Experimental evidence for foraminiferal calcification under anoxia. *Biogeosciences*, 11: 4029–4038.
- Nilsson, H. C., and Rosenberg, R. 2000. Succession in marine benthic habitats and fauna in response to oxygen deficiency: analysed by sediment profile-imaging and by grab samples. *Marine Ecology Progress Series*, 197: 139–149.
- Nixon, S. W. 1995. Coastal marine eutrophication: A definition, social causes, and future concerns. *Ophelia*, 41: 199–219.
- Pearson, T. H., and Rosenberg, R. 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and Marine Biology - An Annual Review*, 16: 229–311.
- Piña-Ochoa, E., Høglund, S., Geslin, E., Cedhagen, T., Revsbech, N. P., Nielsen, L. P., Schweizer, M., *et al.* 2010. Widespread occurrence of nitrate storage and denitrification among Foraminifera and Gromiida. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107: 1148–1153.
- Pinardi, N., and Masetti, E. 2000. Variability of the large scale general circulation of the Mediterranean Sea from observations and modelling: a review. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 158: 153–173.
- Risgaard-Petersen, N., Langezaal, A. M., Ingvarsen, S., Schmid, M. C., Jetten, M. S. M., Op den Camp, H. J. M., Derksen, J. W. M., *et al.* 2006. Evidence for complete denitrification in a benthic foraminifer. *Nature*, 443: 93–96.
- Rosenberg, R. 2001. Marine benthic faunal successional stages and related sedimentary activity. *Scientia Marina*, 65: 107–119.
- Rosenberg, R., Blomqvist, M., Nilsson, H., Cederwall, H., and Dimming, A. 2004. Marine quality assessment by use of benthic species-abundance distributions: a proposed new protocol within the European Union Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 49: 728–739.

- Schafer, C. T. 1973. Distribution of foraminifera near pollution sources in Chaleur Bay. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2: 219–233.
- Schönfeld, J., Alve, E., Geslin, E., Jorissen, F., Korsun, S., and Spezzaferri, S. 2012. The FOBIMO (FORaminiferal BIO-MONitoring) initiative—Towards a standardised protocol for soft-bottom benthic foraminiferal monitoring studies. *Marine Micropaleontology*, 94–95: 1–13.
- Sen Gupta, B. K., Turner, R. E., and Rabalais, N. N. 1996. Seasonal oxygen depletion in continental-shelf waters of Louisiana: Historical record of benthic foraminifers: 5.
- Shannon, C. E. 1948. A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal*, 27: 379–423.
- Simboura, N., and Zenetos, A. 2002. Benthic indicators to use in Ecological Quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new Biotic Index. *Mediterranean Marine Science*, 3: 77.
- Titelboim, D., Almogi-Labin, A., Herut, B., Kucera, M., Schmidt, C., Hyams-Kaphzan, O., Ovadia, O., *et al.* 2016. Selective responses of benthic foraminifera to thermal pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 105: 324–336.
- van der Zwaan, G. J., and Jorissen, F. J. 1991. Biofacial patterns in river-induced shelf anoxia. *Geological Society, London, Special Publications*, 58: 65–82.
- Watkins, J. G. 1961. Foraminiferal Ecology around the Orange County, California, Ocean Sewer Outfall. *Micropaleontology*, 7: 199.
- Weisberg, S. B., Ranasinghe, J. A., Dauer, D. M., Schaffner, L. C., Diaz, R. J., and Frithsen, J. B. 1997. An Estuarine Benthic Index of Biotic Integrity (B-IBI) for Chesapeake Bay. *Estuaries*, 20: 149.

Chapitre 2 : An optimised
method to concentrate living
(Rose Bengal-stained)
benthic foraminifera from
sandy sediments by high
density liquids

This chapter corresponds to an article published in *Marine Micropaleontology*

Parent, B., Barras, C., and Jorissen, F. 2018. An optimised method to concentrate living (Rose Bengal-stained) benthic foraminifera from sandy sediments by high density liquids. *Marine Micropaleontology*, 144: 1–13.

Abstract

In recent years, living (Rose Bengal-stained) benthic foraminifera are increasingly used in biomonitoring studies, with the international expert group FOBIMO proposing the development of standardised methods. Until now, it has been considered inadvisable to concentrate foraminifera by density separation, because this may bias the composition of the foraminiferal fauna, and does not offer sufficient quantitative guarantees. However, biomonitoring studies often concern coastal areas with sandy sediments where living foraminifera are diluted by large amounts of sediment grains. Hence, long picking times are a serious economical setback, strongly limiting the use of foraminifera in environmental quality assessment. We aimed to select, on the basis of quantitative criteria, the best available density separation method, capable of strongly concentrating living foraminifera without a significant change in the faunal composition. We selected three test samples, from the French Mediterranean coast, with different sediment particle types and foraminiferal faunas (with a high contribution of agglutinated taxa, not well separated in earlier studies). We tested three high density solutions: trichloroethylene (TCE), zinc chloride (ZC), and sodium polytungstate (SPT). Although TCE is a highly toxic organic compound, it was commonly used in the past. We compared its efficiency with that of two salts (ZC and SPT), dissolved in water, so that their density can be easily adjusted. We tested SPT with a range of density values (*i.e.* 1.7, 2.1, 2.3, and 2.5). The deposited and floated parts of each processed sample were both carefully scrutinised for Rose Bengal-stained foraminifera. The rather low density of TCE (1.46) led to poor foraminiferal recovery rates (30–50%). ZC reacted with calcite-rich sediment, hampering a perfect separation. In spite of its high price, SPT appears to be the optimal product; at higher densities (≥ 2.1), it showed foraminiferal recovery rates $\geq 95\%$. However, at a density of 2.5, considerably more sediment particles ($> 20\%$) were recovered, whereas foraminiferal recovery only marginally improved. We calculated several diversity and faunal indices both for floated fractions and total samples, and observed no differences for densities ≥ 2.3 . Also, the relative frequencies of groups with different wall structures and of indicator taxa (stress-tolerant, stress-sensitive) showed only very minor differences between floated fractions and total samples for SPT at densities ≥ 2.3 . In conclusion, our study shows that density separation using SPT at a density of 2.3 is a perfect method to concentrate living foraminifera from sandy sediments in biomonitoring studies.

Keywords: Biomonitoring, Mediterranean Sea, density separation, benthic foraminifera, sodium polytungstate, TSI-Med

2.1. Introduction

Over the past decades, the use of living (Rose Bengal-stained) benthic foraminifera in biomonitoring studies has substantially increased. Foraminiferal communities

have been used to assess the ecosystem quality and the extent of anthropogenic impact (*e.g.*, Jorissen *et al.*, 1995, 2009; Mojtahid *et al.*, 2006; Alve *et al.*, 2009; Frontalini and Coccioni, 2011), and a wide range of benthic foraminiferal indices has been developed (*e.g.*, Hallock *et al.*, 2003; Bouchet *et al.*, 2012, 2018; Barras *et al.*, 2014; Dimiza *et al.*, 2016; Alve *et al.*, 2016; Jorissen *et al.*, 2018). In many open marine environments, the sea floor consists of muddy to silty sediments, with an average grain size well below 125 μm . In such cases, foraminifera can easily be concentrated, or even be separated from the sediment, by sieving. However, biomonitoring studies often concern coastal areas with sandy sediments, where sieving does not sufficiently concentrate the foraminifera, which makes the picking of foraminifera particularly time-consuming. The literature describes the use of high density liquids as an alternative method to concentrate foraminifera in sandy sediment, unfortunately often leading to unsatisfactory results because the method only separates part of the foraminifera, and thereby biases foraminiferal abundances. Therefore, in their recommendations concerning the standardisation of sampling and sample treatment for biomonitoring studies using foraminifera, the international expert group FOBIMO (FOraminiferal Blo-MONitoring) suggested that “density separation should be avoided as much as possible” (Schönfeld *et al.*, 2012). Their main reasons for advising against density separation were the low recovery rates and the toxicity of many of the used chemicals. However, in the case of routine studies, abstaining from heavy density separation will substantially prolong picking times, which may represent a major economic setback for foraminiferal application in biomonitoring studies.

Many previous studies have argued that density separation is a convenient way to concentrate foraminifera in sandy samples, and thereby, to reduce the time involved in picking (Appendix 2.A). Over the years, flotation methods using heavy liquids have been widely used to concentrate various sediment components (*e.g.*, minerals, palynomorphs, micro-vertebrate fossils, conodonts, dinoflagellates, and fossil and recent foraminifera, appendix 2.A). The volumetric mass density of living foraminifera depends on their test density (which depends on the type of test material), but is also influenced by the amount of foraminiferal protoplasm and of open space within the tests (Gibson and Walker, 1967; Wefer, 1976; Murray, 1979; Lehmann and Röttger, 1997). Differences in these factors may cause a rather large variability in foraminiferal density. However, it appears that the density of foraminifera is generally distinctly lower than that of most other sediment particles, in spite of the fact that the density of calcium carbonate is 2.71, which is comparable to the average density of most mineral particles that compose marine sediments (Lide, 2009). Because of the interspecific variability of density in foraminiferal assemblages, the choice of the density of the separation liquid used to concentrate foraminifera is crucial. If the density of the separation fluid is too low, the heavier species (especially those with an agglutinated test) may not float. Conversely, if the density of the separation fluid is too high, too many sediment particles will float, and the foraminifera specimens will be insufficiently concentrated.

The first density separation methods applied to foraminifera used organic compounds. In the 1930s, bromoform (CHBr_3) was the first compound used to separate foraminifera from other sediment particles (Carson, 1933, 1953; Norem,

1953; Gibson and Walker, 1967; Sen Gupta, 1971). Foraminiferal recovery rates were excellent (over 95%) (Gibson and Walker, 1967; Sen Gupta, 1971), but unfortunately, bromoform is highly toxic. In the 1950s, carbon tetrachloride (CCl₄) became the most popular separating liquid (Feyling-Hanssen, 1958; Meldgaard and Knudsen, 1978) in foraminiferal studies. However, only Lutze (1968) reported a satisfactory recovery rate (93%), whereas many other studies showed poor foraminiferal recovery (Austin, 1991; Gebhardt and Rupp, 2008), as well as large interspecific differences (Gibson and Walker, 1967; Wright and Hay, 1971). In the late 1990s, it was progressively replaced by trichloroethylene (TCE, C₂HCl₃). Duchemin *et al.* (2005) considered TCE to be satisfactory but their samples only contained 10 to 20% of agglutinated taxa and no quantitative data are given to corroborate their conclusion. Conversely, Semensatto and Dias-Brito (2007) and Schönfeld *et al.* (2013) obtained unsatisfactory results. Summarising, except for bromoform, organic compounds used to concentrate foraminifera systematically yielded a poor recovery. Moreover, these organic compounds are all very toxic (Carson, 1953; Gibson and Walker, 1967; Haynes, 1981; Kegley *et al.*, 2016), and for this reason their use has become more and more restricted.

In view of the toxic character of organic separation compounds, since the 1980s, the development of methods using inorganic separation liquids has become a priority. However, only since about 10 years ago some quantitative data about their efficiency have become available. Zinc chloride (ZC, ZnCl₂) has been widely tested on foraminifera but recoveries were not entirely satisfactory (*e.g.*, 89% in Semensatto and Dias-Brito, 2007; 72±5% in Gebhardt and Rupp, 2008), whereas its irritancy to skin and mucous membranes (Zheluboyskaya and Braynina, 1965; Ashby, 1983; McCarty and Congleton, 1994; Kegley *et al.*, 2016) represents another disadvantage. Similar conclusions can be drawn for zinc bromide (ZB, ZnBr₂) (Zheluboyskaya and Braynina, 1965; Ashby, 1983; McCarty and Congleton, 1994; Travesi, 2007; Kegley *et al.*, 2016). Sodium nitrate / Sodium thiosulfate (NaNO₃ + Na₂O₃S₂ · 5H₂O) was only tested by Semensatto and Dias-Brito (2007), at a density of 1.46; the 73% recovery rate was not considered sufficient. Sodium polytungstate (SPT) / Sodium metatungstate (SMT) (3Na₂WO₄ · 9WO₃ · H₂O) works well for palynological preparations, when used with a recommended density of 2.1 (Munsterman and Kerstholt, 1996). The same density has also been used to concentrate foraminifera (*e.g.*, Abbene *et al.*, 2006; Pruitt *et al.*, 2010; Ellis *et al.*, 2014), yet only Semensatto and Dias-Brito (2007) quantitatively tested SPT with a density of 2.5 on foraminifera, and obtained very good results (96% foraminiferal recovery). However, their samples only contained a low proportion of agglutinated taxa (13% on average). In fact, very few studies on recovery of living (Rose Bengal-stained) benthic foraminifera by means of density separation present quantitative data. A more exhaustive overview of these studies is presented in appendix 2.A.

The use of density separation methods substantially declined at the end of the 20th century (Schönfeld, 2012), after it had been conclusively shown that agglutinated taxa are harder to extract from the sediment (Haynes, 1981; Schönfeld *et al.*, 2013), leading to a modified species composition of the extracted foraminiferal faunas (Gibson and Walker, 1967; Wright and Hay, 1971; Haynes, 1981). Especially

ecological studies require accurate measures of foraminiferal density, species richness and relative taxon abundances, which seem hard to produce with existing flotation methods. In view of this, density separation was not recommended for biomonitoring studies by Schönfeld *et al.* (2012). However, we think that the economic incentives characterising biomonitoring studies that have rapidly increased over the last decades, make it urgent to reconsider this methodology, in a fully quantitative way.

In this study, we tested the efficiency of several density separation methods to separate living benthic foraminifera from other sediment particles, with the aim to 1) quantify the bias caused by the investigated density separation methods, and 2) select the solution and density value which are best adapted to coastal sandy sediments. Three different solutions were tested on sediment samples from the French Mediterranean coast: Trichloroethylene (TCE), Zinc Chloride (ZC), and Sodium Polytungstate (SPT). To determine the optimal density to be used, a range of densities was tested for the SPT solution. Test samples were selected for some specific characteristics. First, since biomonitoring studies usually concentrate on the $> 125 \mu\text{m}$ fraction (Schönfeld *et al.*, 2012), the sediment should be rich in sediment grains of this size fraction. Consequently, samples composed of fine to medium sands were chosen, in which foraminifera were strongly diluted. Next, we chose samples with very different proportions of the various sediment particles (mineral grains, organic matter, shell debris, etc.). The last criterion was the presence of large proportions of agglutinated species ($> 20\%$), which in the past always proved difficult to concentrate by density separation. In fact, samples with such high percentages of agglutinated taxa have not been quantitatively tested before (Gibson and Walker, 1967; Semensatto and Dias-Brito, 2007).

The main aim of this article is to investigate at what density optimal results were obtained. Therefore, the efficiency of the tested high density liquids was evaluated by three criteria. First, the fauna retained in the floated part of the sample was quantitatively compared with the sum of all foraminifera found in the floated and in the sunken parts together (in both of which, all foraminifera were systematically picked very carefully). Second, the recovery of other sediment particles was evaluated, keeping in mind that the optimal separating liquid should yield a maximal foraminiferal recovery, as much as possible without interspecific differences, combined with a minimum recovery of other sediment particles, thereby minimalising picking time. Finally, we investigated the impact of density separation on some of the foraminiferal indices used to describe the environmental quality. In particular we focused on the Tolerant Species Index for the Mediterranean (TSI-Med; Barras *et al.*, 2014), which was developed in the same study area.

2.2. Material and methods

2.2.1. Sampling procedure

Three stations were chosen along the French Mediterranean coast with the aim of representing the largest range of natural conditions (Figure 2.1). We wanted especially to test samples with different foraminiferal faunas, sediment grain size and types of sediment particles. The three stations were sampled in April 2015

during the French Water Framework Directive (WFD) cruise on the R/V Europe along the French Mediterranean coast. Reineck box-cores were sub-cored (inner diameter 7.45 cm), and the top centimetre of every sub-core was sampled. Sediment samples were stained with 2 g.L^{-1} Rose Bengal, preserved in 96% ethanol (according to Schönfeld *et al.* 2012) and stored at ambient temperature until faunal analysis in 2016. For each station, three replicates were obtained from three different box-core launches. In the laboratory, samples were sieved at $63 \mu\text{m}$, $125 \mu\text{m}$, $150 \mu\text{m}$ and $500 \mu\text{m}$. Sediment samples were then dried at $50 \text{ }^\circ\text{C}$. The $125\text{--}150 \mu\text{m}$ and $150\text{--}500 \mu\text{m}$ fractions were used separately for the flotation experiment. To test six different conditions (different separation liquids and densities), each of the three replicate samples was separated into two equal parts using a Folsom wet splitter (McEwen *et al.*, 1954). In this way, six comparable sub-samples were obtained for each station.

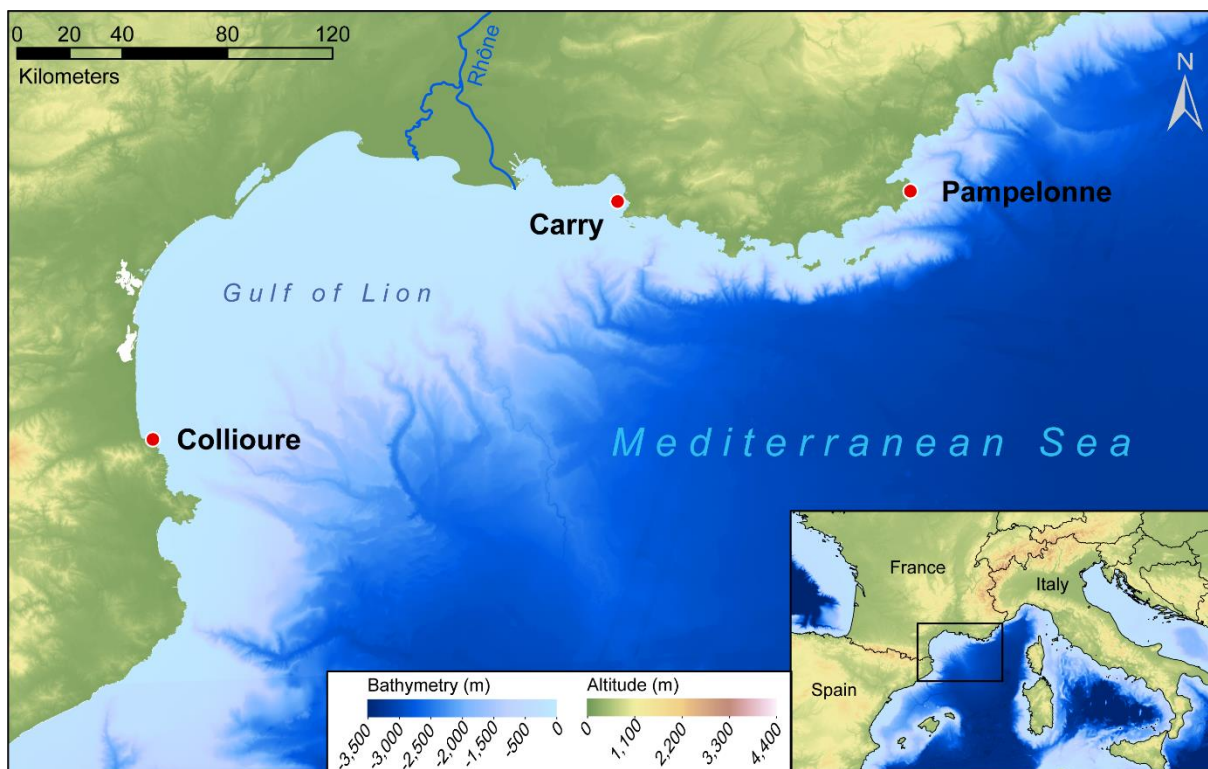


Figure 2.1: Study area showing the three sampling sites offshore Collioure, Carry and Pampelonne. Digital elevation models are from Jarvis *et al.* (2008) and Marine Information Service (2016).

2.2.2. Sediment characteristics

The sediment sample from station Carry (55 m deep) consisted of poorly sorted sand and silt with 53.5% carbonate and 4% organic matter. The sample from station Collioure (22 m deep) consisted of fine sand and silt, containing 6% carbonate and 2.5% organic matter. Finally, the sample taken at station Pampelonne (35 m deep) was composed of medium to coarse sand and silt, containing 86% carbonate and 4.5% organic matter. The type of sediment particles is important to consider because of their various densities. More detailed information about the composition of the sediment at the three samples sites and the methods for CaCO_3 and organic matter measurements is given in appendix 2.B.

2.2.3. Foraminiferal assemblages

Our aim was to test and validate a density separation method for foraminiferal faunas typical of coastal areas. Thanks to the study of samples collected at about 30 stations in 2009 (Barras *et al.*, 2014) and 2012, the foraminiferal faunas of the study area are well known. The three sampling stations were selected according to the following criteria: 1) large proportions (> 20%) of agglutinated individuals, in order to test the efficiency of density separation for this critical group; 2) high densities of living (Rose Bengal-stained) foraminifera, needed to obtain reliable quantitative data (preferably ≥ 100 individuals, Murray, 2014); 3) a large species diversity, to detect eventual interspecific differences in separation efficiency.

2.2.4. Flotation experiments

Foraminiferal concentration by flotation was tested with three different high density liquids: one organic compound (Trichloroethylene, TCE), and two diluted salts (Zinc Chloride, ZC; and Sodium Polytungstate, SPT) (Table 2.1). TCE is a ready to use solution with a density of 1.46 at 20 °C. It was chosen, in spite of its high toxicity (carcinogenic, mutagenic, and repro-toxic), because of its frequent use in many previous studies. A ZC solution with a density of 1.7 was prepared by dissolving 72 g of ZC salt in 47 ml of milli-Q® water. This must be done carefully, since the reaction is exothermic and temperature can rise to 70 °C. In view of the setbacks of ZC which rapidly appeared during our study (irritations to skin and mucus, chemical reaction with and partial dissolution of carbonate, see discussion), no other densities were tested for ZC. An SPT solution with a density of 2.5 was obtained by dissolving 50 g of SPT salt in 17.5 ml of milli-Q® water (Torresan, 1987; Munsterman and Kerstholt, 1996; Semensatto and Dias-Brito, 2007). Starting from this initial SPT solution, the density can easily be adjusted by adding milli-Q® water to reach the densities of 1.7, 2.1, and 2.3.

Table 2.1: The three separation solutions and the tested densities.

Density of the separation solution	Trichloroethylene (TCE)	Zinc Chloride (ZC)	Sodium Polytungstate (SPT)
1.46	X		
1.7		X	X
2.1			X
2.3			X
2.5			X

The prepared high density solution was poured on dry sediment in a beaker. Sediment and solution were gently homogenised and left until complete separation of the sediment into a deposited and floating phase. Next, the floating part was decanted through a filter paper (Sartorius, grade 288) in a funnel, together with most of the liquid, avoiding the bottom part of the beaker. This flotation procedure was repeated twice to obtain optimal results (Gibson and Walker, 1967; Wefer, 1976; Murray, 1979). After the second flotation, the few particles remaining on the inner walls of the beaker were gently wiped off with a wet tissue and were added to the floated part of the sample. In case of SPT and ZC, the filtered solution was recycled,

and the density of the separation solution was verified and, when necessary, adjusted before each flotation.

For TCE, the filter and beaker containing the floated and sunken parts, respectively, were left to dry overnight under a fume hood. After complete evaporation of TCE, the floating part collected in the filter (hereafter called “float”) and the sunken part left in the beaker (hereafter called “sink”) were rewet with tap water prior to picking. Immediately after the second flotation, “float” and “sink” parts of samples treated with ZC and SPT solutions were separately washed over a 63 μm sieve with tap water to prevent any coating due to salt recrystallisation. Then, living foraminifera (homogeneous and bright Rose Bengal–stained tests) from “float” and “sink” were wet-picked and determined under a binocular microscope down to species level (Loeblich and Tappan, 1988; Cimerman and Langer, 1991; Milker and Schmiedl, 2012). After picking, the 125–150 and $> 150 \mu\text{m}$ fractions of all samples were dried and weighed to determine the sediment particle recovery rates.

2.2.5. Foraminiferal faunal parameters

Our evaluation of the efficiency of the different flotation methods is based on the comparison between the foraminifera found in the “float” with the total foraminiferal assemblage (*i.e.* “float” + “sink”). First, overall foraminiferal density was compared between “float” and the total faunas. Faunal diversity was assessed by the species richness (S), the Shannon index (H' , equation 2.1, Shannon, 1948) and the Simpson diversity index (D , equation 2.2, Simpson, 1949). The Shannon index is considered more sensitive to variability of rare species whereas the Simpson diversity index should be more sensitive to variability of abundant species (Hurlbert, 1971; Peet, 1974). The comparison between these two indices could therefore inform us whether rare or more common species are most affected by the flotation process. The Pielou equitability (J' , equation 2.3, Pielou, 1966) was used as an indicator of changes in species dominance caused by flotation.

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i \quad (2.1)$$

$$D = 1 - \sum_{i=1}^S p_i^2 \quad (2.2)$$

$$J' = \frac{H'}{\ln S} \quad (2.3)$$

In the above equations, p_i represents the proportion of the i^{th} species, S the number of species, and N the total number of individuals in the sample.

Next, several faunal indices, based on relative frequencies of individual species or species groups, were compared:

1. the recovery rates of the three wall structure groups (*i.e.* hyaline, porcellaneous and agglutinated);
2. foraminifera with epiphytic or epilithic life styles were considered separately, because the flotation method may not work for foraminifera still fixed to its (heavier) substrate;

3. the cumulative percentages of the group of stress-sensitive and stress-tolerant species, which are important indices in biomonitoring studies. The list of species belonging to these two groups (Table 2.2) largely follows the classification of Barras *et al.* (2014);
4. the Tolerant Species Index for the Mediterranean (TSI-Med, Barras *et al.*, 2014) is based on the percentage of stress-tolerant species in the sample ($\%TS_x$), where a correction is made for grain size (percentage of particles $< 63 \mu\text{m}$), which is used as a proxy for the natural trophic state (Barras *et al.*, 2014). Species tolerance to eutrophication and/or hypoxia was based on the literature. The calculation of the TSI-Med is based on the 150–500 μm fraction (because the analyses underlying the definition of the index were performed before the apparition of the paper of Schönfeld *et al.* (2012), recommending the use of the $> 125 \mu\text{m}$ fraction) and follows two steps: 1) calculation of a reference percentage of tolerant species ($\%TS_{ref}$) depending on the sample grain size (Equation 2.4), and 2) standardisation of the percentage of tolerant species at the station ($\%TS_{std}$) by comparison with the reference percentage (Equation 2.5). The calculated index ranges from 0 (very good) to 100 (bad). Exceptionally, the $\%TS_{std}$ can be slightly lower than 0. This occurs if $\%TS_x$ is lower than $\%TS_{ref}$, as the latter is based on a regression of the lowest $\%TS_x$, from *in situ* data, for a given percentage of particles $< 63 \mu\text{m}$.

$$\%TS_{ref} = e^{0.0302 \times (\%<63 \mu\text{m}) + 0.1496} - 1 \quad (2.4)$$

$$\%TS_{std} = \frac{\%TS_x - \%TS_{ref}}{100 - \%TS_{ref}} \times 100 \quad (2.5)$$

Potential differences of this index between “float” and total faunas will directly inform us of the impact of the different flotation methods on ecological quality assessment and Ecological Quality Status (EQS). The TSI-Med boundaries used for the EQS are: very good ≤ 4 ; 4 < good ≤ 16 ; 16 < moderate ≤ 36 ; 36 < poor ≤ 64 ; bad > 64 (Barras, Parent & Jorissen, unpub. obs.). All data processing and statistics have been done with the R software (R Core Team, 2017). Diversity indices were calculated with the R *vegan* package (Oksanen *et al.*, 2017).

Table 2.2: List of stress-tolerant and stress-sensitive species considered in this study, based on an earlier classification by Barras et al. (2014). Epiphytic/epilithic species are designated with an *.

Stress-tolerant species	Stress-sensitive species
<i>Bulimina</i> spp.	<i>Asterigerinata</i> spp.*
<i>Bolivina dilatata</i>	<i>Buccella</i> spp.
<i>Bolivina pseudoplicata</i>	<i>Cibicides</i> spp.*
<i>Bolivina pygmaea</i>	<i>Cibicidella</i> spp.*
<i>Bolivina spathulata</i>	<i>Elphidium crispum</i>
<i>Bolivina striatula</i>	<i>Elphidium granosum</i>
<i>Cancris auriculus</i>	<i>Elphidium poeyanum</i>
<i>Cassidulina carinata</i>	<i>Gavelinopsis</i> spp.*
<i>Cassidulina oblonga</i>	<i>Hanzawaia</i> spp.*
<i>Cassidulinoides bradyi</i>	<i>Neoconorbina</i> spp.*
<i>Leptohalysis scotti</i>	<i>Planorbulina</i> spp.*
<i>Nonion</i> spp.	<i>Reussella</i> spp.*
<i>Nonionella</i> spp.	<i>Rosalina</i> spp.*
<i>Pseudoeponides falsobeccarii</i>	<i>Spirillina</i> spp.*
<i>Rectuvigerina phlegeri</i>	All porcellaneous species except
<i>Valvulineria</i> spp.	<i>Quinqueloculina seminula</i>

The Bray Curtis dissimilarity was calculated on the log transformed counts to measure dissimilarities between the “float” samples and the corresponding total samples (Bray and Curtis, 1957). The data have been log transformed to make the impact of rare species more visible.

2.3. Results

2.3.1. Flotation procedure

Although the flotation procedure is fairly simple, several aspects have to be considered. A complete density separation is only obtained when the sediment particles are divided into two parts (“float” and “sink”), separated by a transparent solution. The time needed to obtain complete separation depends on the viscosity of the solution used (from 1 to 20 min, figure 2.2); it is density dependent for SPT (Gregory and Johnston, 1987; Torresan, 1987). SPT with a density of 2.5 was difficult to manipulate because of salt crystals being deposited on the glassware. In view of its elevated price, we tried to recycle the SPT as much as possible. In practice, about 75% of the solution was recovered after each treatment. However, after repetitive use of the same SPT solution, a whitish precipitate was observed, as was earlier noticed by Krukowski (1988). A filtration was then necessary to clean the solution. This phenomenon occurred more intensely with samples from station Pampelonne, where the sediment contains more carbonate.

When using the ZC solution, a violent reaction with the sediment occurred, specifically for samples of station Pampelonne and to a lesser degree with samples from station Carry, both of which contained more than 50% carbonate and about 4% organic matter. In fact, adding the ZC solution led to the release of gas bubbles, which continued to stir the sediment/liquid mixture for a prolonged period of time (> 10 min), creating foam at the surface that trapped many sediment particles. Therefore, a complete separation could not be obtained, resulting in high sediment

particle recovery rates, in view of the relatively low density (1.7) of the liquid (Figure 2.3). An additional problem with the ZC solution was that some filter fibres were introduced in the “float” due to partial dissolution of the cellulose.

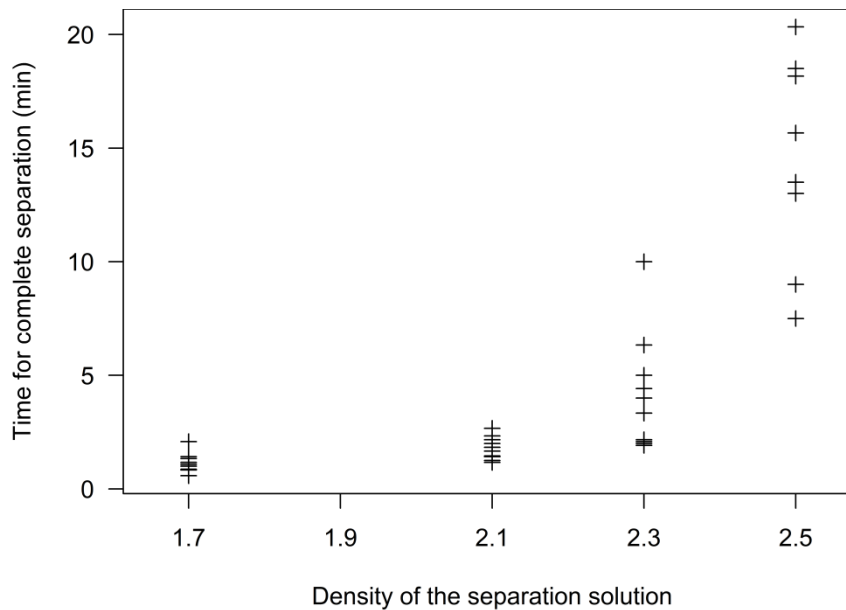


Figure 2.2: Time for complete separation of deposited and floating fractions, according to the density of the separation solution. Only experiments using Sodium Polytungstate (SPT) are shown.

2.3.2. Sediment particle recovery

Our main aims were to concentrate foraminifera, and at the same time to reduce the amount of sediment particles in the floated part as much as possible, to reduce the picking time of foraminifera. Ideally, we would like to recover at least 95% of all foraminifera and at most 20% of other sediment particles, thereby reducing picking time by 80%. Figure 2.3 (precise data given in appendix 2.C), which presents the recovery of foraminifera and sediment particles for the five experimental conditions, shows that the proportion of sediment particles recovered in the “float” increased with density, from less than 10% for densities below 2.1 to more than 40% for a density of 2.5 with SPT. However, the rate of increase was different between the three stations. For stations Carry and Pampelonne, the proportion of sediment particles in the “float” progressively increased with higher densities of the flotation liquid. Conversely, for station Collioure, where the sediment contains only 6% carbonate, the proportion of sediment particles in the float was much lower, mostly below 10%, even at higher densities.

It is remarkable that the samples of stations Carry and Pampelonne treated with ZC showed a significantly higher sediment particle recovery (in the “float”) than samples treated with SPT of the same density. As indicated before, at these stations, ZC reacted with the sediment, and a complete separation could not be obtained. No such reaction was observed with sediment from station Collioure.

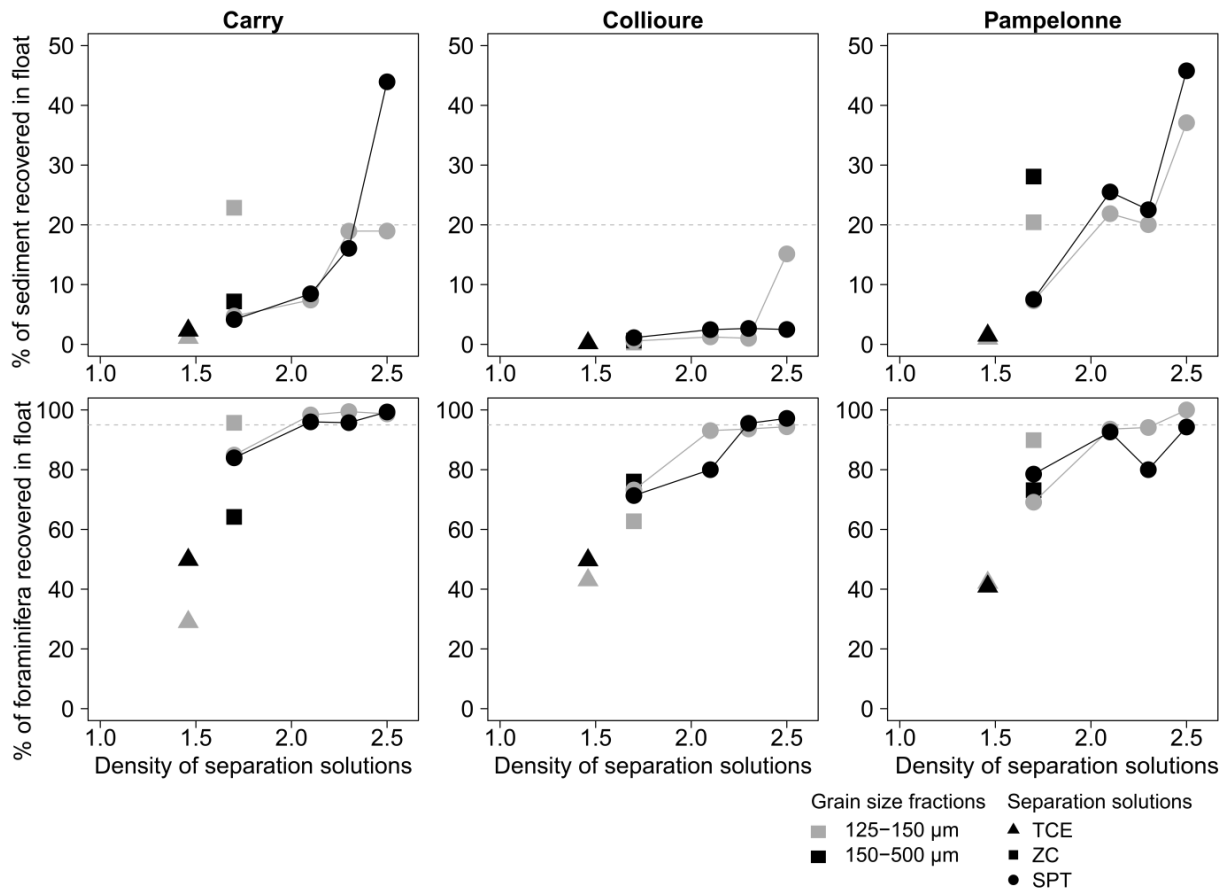


Figure 2.3: Percentages of recovered sediment particles (upper panels) and recovered foraminifera (lower panels) in the floated part, for two different grain sizes (125–150 μm and 150–500 μm), in function of the type and density of the applied separation solutions (TCE: trichloroethylene, ZC: zinc chloride, SPT: sodium polytungstate). The dashed lines represent our target values of more than 95% foraminiferal, and less than 20% sediment recovery. Detailed recovery values are presented in appendix 2.C.

2.3.3. Total foraminiferal recovery

The lower panels of figure 2.3 show the percentage of the total foraminiferal assemblage recovered in the “float” (Appendix 2.C). These values were determined on the basis of a careful inventory of all foraminifera, in the floated as well as sunken part. Raw census data of foraminifera are available in appendix 2.D. In general, foraminiferal recovery rapidly increased with higher densities of the separation liquid, to reach values above 90% for densities above 2.0 (Figure 2.3). The experiments with TCE systematically showed a very low foraminiferal recovery (30–50%). The SPT experiments showed the same increasing trend with density for all three stations. Considering experiments performed at a density of 1.7, on average, recoveries of total foraminifera for ZC and SPT were similar ($77.0 \pm 5.47\%$ and $76.8 \pm 2.72\%$) (Figure 2.3, appendix 2.C), although the results (for different stations and size fractions) were more variable for ZC than for SPT (Figure 2.3).

2.3.4. Recovery of specific groups of foraminifera

In figure 2.4a (Appendix 2.C), which shows the foraminiferal recovery rates separately for hyaline, porcellaneous and agglutinated foraminifera, clear differences can be observed for liquids with a lower density (≤ 1.7). In general,

porcellaneous foraminifera showed maximal recovery rates whereas agglutinated taxa showed minimal ones. These differences tended to disappear at densities ≥ 2.1 . In general, all experiments using SPT with a density ≥ 2.1 gave elevated recovery rates ($> 90\%$), also for agglutinated species. However, SPT with a density of 2.1 showed a somewhat lower recovery (about 85%) at station Collioure.

The groups of epiphytic, sensitive and stress-tolerant taxa showed a better recovery with higher density (Figure 2.4b, appendix 2.C). It is remarkable that the recovery of epiphytic taxa was rather low with the SPT solution at densities of 1.7 and 2.1, especially at station Collioure.

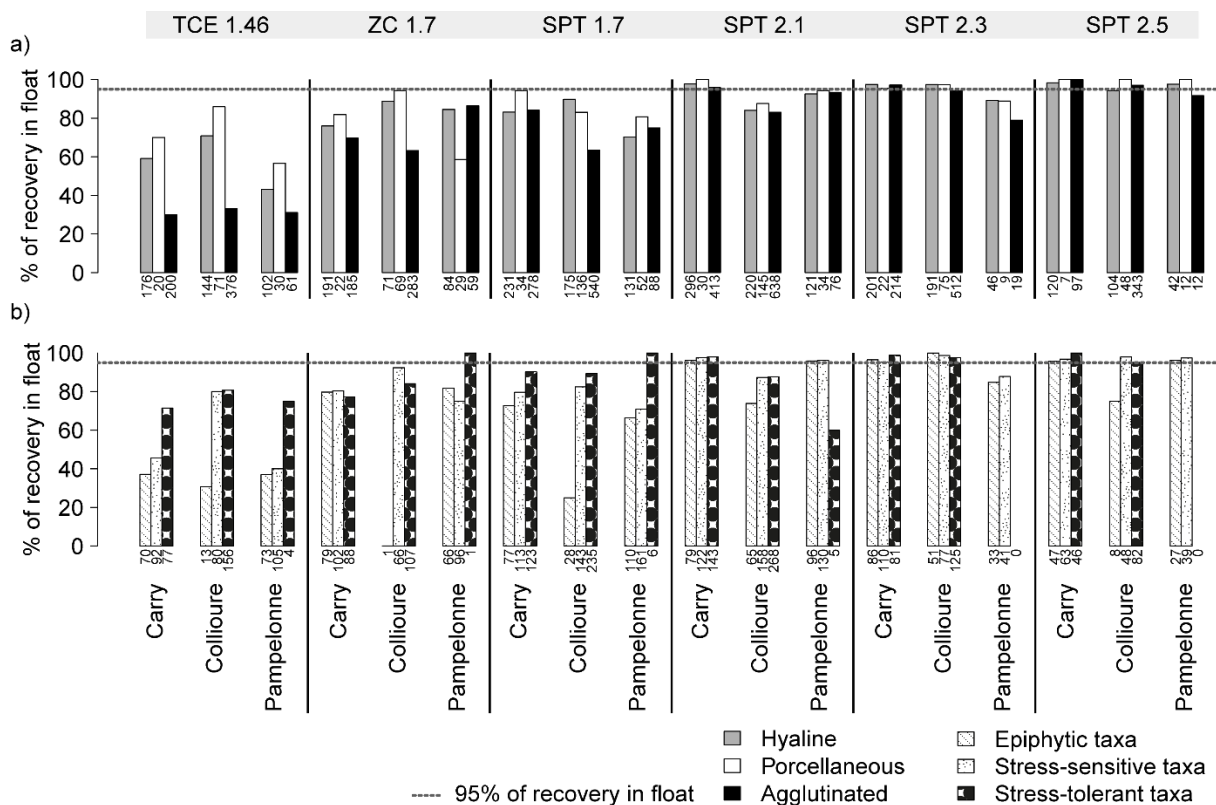


Figure 2.4: a) Percentages of recovered foraminifera for different wall structure types (hyaline, porcellaneous, and agglutinated). The total number of individuals, on which the percentages are based, is presented below each bar. b) Percentages of recovered foraminifera, presented separately for epiphytic, stress-sensitive and stress-tolerant (eutrophication, hypoxia) taxa, as defined by Barras et al. (2014). Data for 125–150 μm and 150–500 μm size fractions have been combined. The total number of individuals, on which the percentages are based, is presented below each bar. See table 2.2 for a complete list of species included in the different groups.

2.3.5. Faunal composition

In figure 2.5, the faunal composition (relative abundances) is compared between the “float” (left bars) and the total sample (“float” plus “sink”, right bars). For low density separation liquids, there were some obvious differences in species composition. These differences are apparently due to the fact that some species were not adequately concentrated. This concerned especially *Ammoscalaria pseudospiralis*, *Bigenerina nodosaria* and *Lagenammina atlantica* at station Carry, *Eggerelloides scaber* at station Collioure, and *Reophax fusiformis*, *Asterigerinata mamilla*, *Rosalina bradyi*, and *Reussella spinulosa* at station Pampelonne. The first

five species all have an agglutinated test, the latter three have an epiphytic lifestyle. The faunal composition of the “float” became virtually identical to the total assemblages at densities ≥ 2.1 . The Bray Curtis dissimilarities between “float” and total sample decreased with an increased density of the separation solution (Figure 2.6).

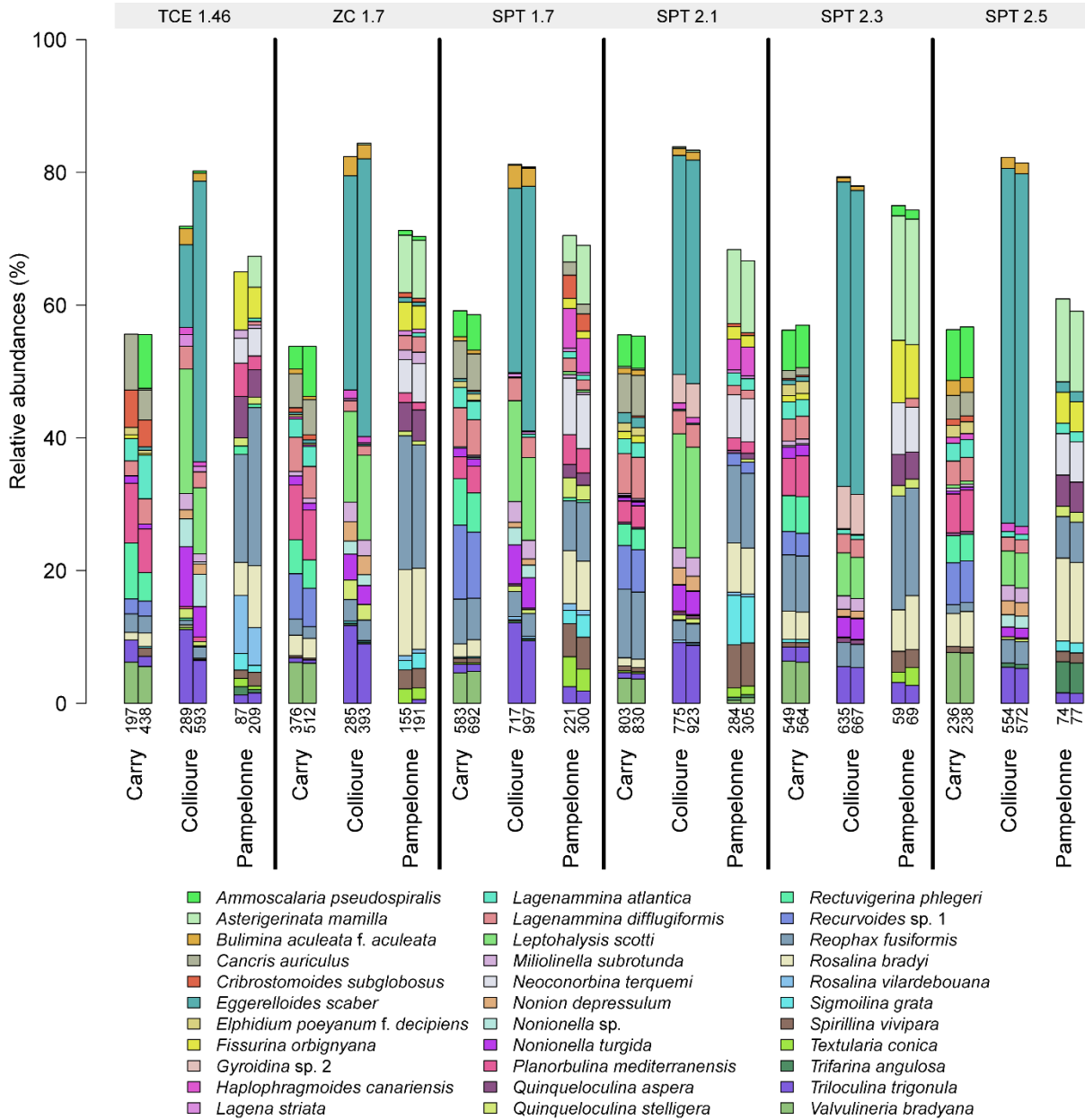


Figure 2.5: Relative abundances of major species (i.e. representing $\geq 7\%$ of the total fauna in at least one sample). Data for 125–150 μm and 150–500 μm size fractions have been combined. For each pair of bars, the left one represents the composition of the “float” and the right one the composition of the total sample. The total number of individuals is presented below each bar.

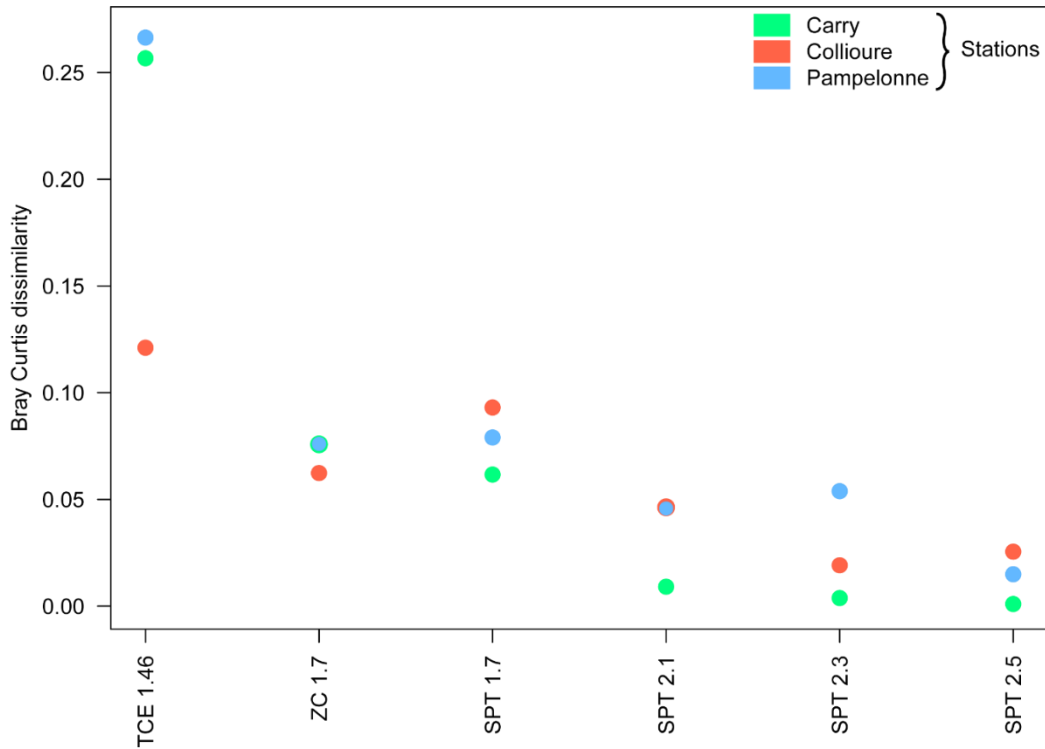


Figure 2.6: Bray Curtis dissimilarities between the "float" and the total samples for the different tested conditions. The results correspond to the 125–500 μm size fraction.

2.3.6. Impact of the flotation procedure on faunal indices

A comparison of various diversity indices, between the "float" (full circles) and total sample (open circles) is presented in figure 2.7. For all indices, strong differences were observed for TCE (density 1.46). These differences almost totally disappear at densities above 2.1. However, for densities of the separation solution ≥ 2.1 , the differences in Shannon index between "float" and total samples are significantly higher than the differences in Simpson index (Wilcoxon paired test, p -value < 0.002).

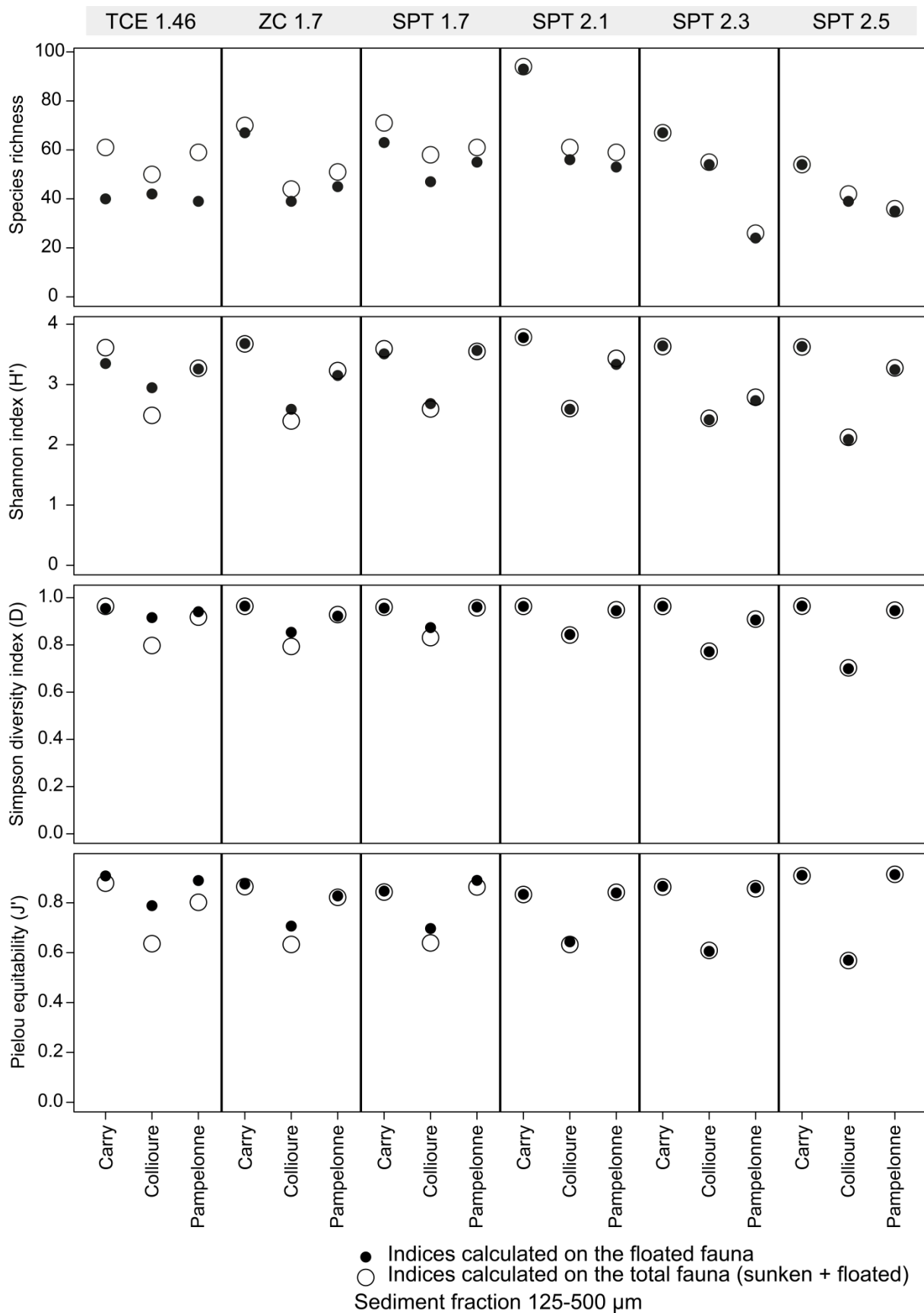


Figure 2.7: Species richness, Shannon, Simpson, and Pielou equitability calculated for the different separation solutions (TCE: trichloroethylene; ZC: zinc chloride; SPT: sodium polytungstate) and densities (1.46 to 2.5) for the three sampled stations (Carry, Collioure and Pampelonne).

A similar pattern was found for the Tolerant Species Index for the Mediterranean (TSI-Med), which is compared between “float” and total assemblage in figure 2.8. Strong differences can be observed for TCE (density 1.46), but also for ZC (density 1.7), and SPT 1.7 (station Collioure). Differences became negligible for densities ≥ 2.3 .

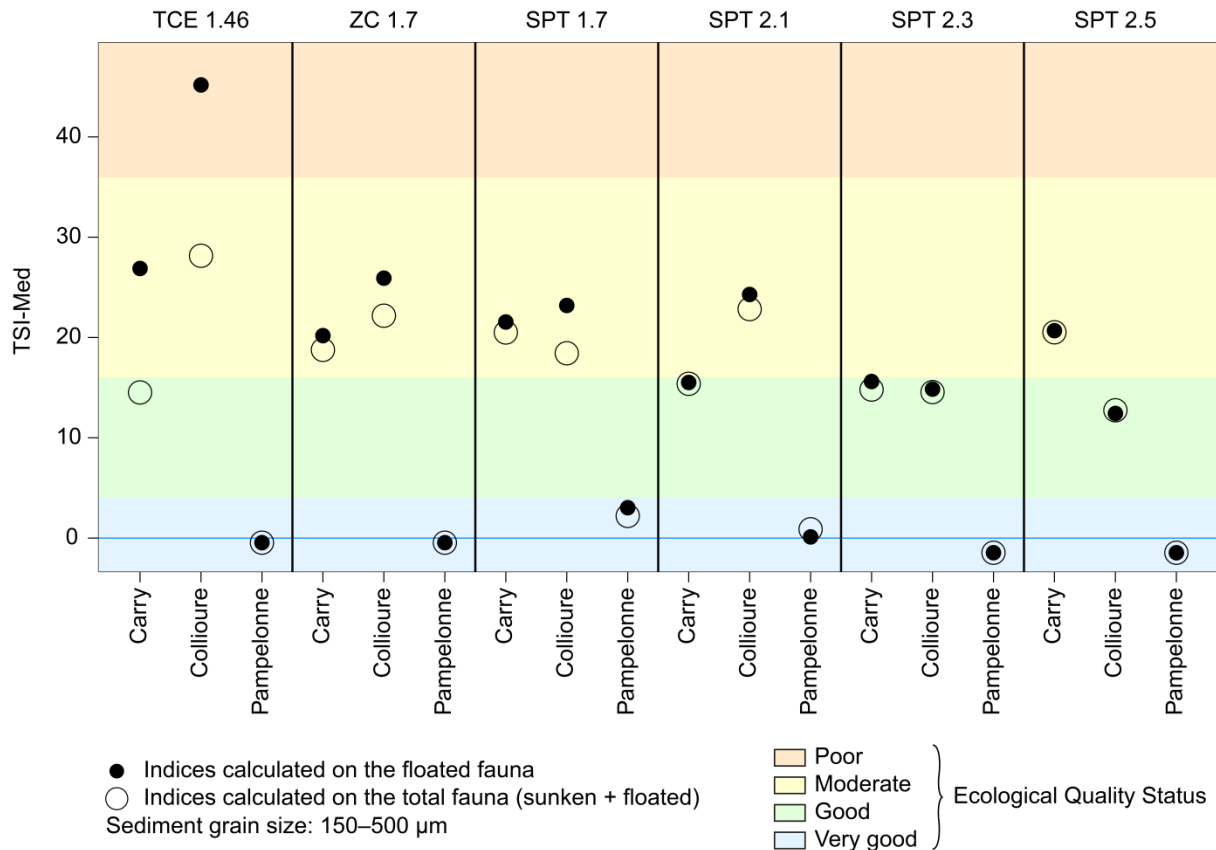


Figure 2.8: Comparison of the Tolerant Species Index for the Mediterranean (TSI-Med), as presented by Barras et al. (2014) and the corresponding Ecological Quality Status (EQS), calculated for the fraction 150–500 μm , for the different separation solutions (TCE: trichloroethylene; ZC: zinc chloride; SPT: sodium polytungstate) and densities (1.46 to 2.5) for the three sampled stations (Carry, Collioure and Pampelonne).

2.4. Discussion

In sandy samples, the size of foraminiferal tests is comparable to that of sediment grains, and therefore, sieving does not sufficiently separate foraminifera and sediment particles. If applied correctly, density separation, using high density solutions, will concentrate foraminifera and will strongly diminish the amount of sand grains, thereby substantially reducing the amount of time needed to pick and sort the foraminifera. Without density separation, sorting all foraminifera from a sediment sample from the French Mediterranean coast may take more than a week (full-time work) for an experienced technician. Due to the fact that the foraminiferal assemblage is much less diluted by sediment grains, picking becomes very probably also more accurate. However, density separation is likely to introduce a bias, and should therefore only be used in case of large samples, in which foraminifera are very strongly outnumbered by other sediment particles. In such cases, the decrease in picking time (and increase of picking accuracy) should largely outweigh the time needed for the flotation procedure and the cost of the high density solution. In this

study, we tested three high density liquids, and five different densities. For all experimental conditions, we carefully picked both the floated and sunken fractions. Therefore, we could determine very precisely what part of the total faunas was recovered in the floated fraction. The various liquids were tested at three stations in order to investigate the impact of different sediment and faunal compositions.

2.4.1. Density separation methods – practical considerations

2.4.1.1. Number of flotations

Earlier studies suggested that foraminiferal recovery could be increased by applying more than one flotation. For instance, Wefer (1976), while using carbon tetrachloride, observed a notable increase in foraminiferal recovery between the first ($\approx 60\%$) and second ($\approx 90\%$) flotation. Subsequent flotations did not cause any further improvement. Therefore, Murray (1979) recommended two or three decantations when using carbon tetrachloride or TCE. Consequently, we systematically applied two successive flotations to maximise foraminiferal recovery, without increasing substantially the manipulation time.

2.4.1.2. Potential impact of drying of the samples

Ecological studies based on Rose Bengal-stained foraminiferal faunas (considered alive) use homogeneous and brightly stained protoplasm as a primary criterion. Although the foraminiferal cytoplasm can shrink during drying, picking of dry material is generally considered just as appropriate as wet-picking of foraminifera (Schönfeld *et al.*, 2012, 2013). Here, we dried all samples prior to density separation, to remove interstitial water from the sediment and therefore avoid dilution of the high density solutions (Gibson and Walker, 1967). In fact, no substantial changes in solution density were observed during the flotation experiments (maximum variation of 0.02). After flotation, foraminifera were again put in water prior to picking. In all samples, Rose Bengal staining of the cytoplasm remained bright and homogeneous. As a positive side effect, drying of the samples may increase the flotation of foraminifera, by emptying their tests. In fact, the high density solution will often not enter all empty spaces due to its higher viscosity and surface tension (Gibson and Walker, 1967; Ashby, 1983). Therefore, drying artificially lowers the foraminiferal density (Wefer, 1976; Murray, 1979; Lehmann and Röttger, 1997).

2.4.1.3. Sediment size fraction

Most previous studies on density separation of foraminiferal faunas also considered the 63–125 μm size fraction (Gibson and Walker, 1967; Wefer, 1976; Austin, 1991; Scott *et al.*, 2003; Semensatto and Dias-Brito, 2007; Gebhardt and Rupp, 2008; Schönfeld *et al.*, 2013) (Appendix 2.D). In this study, the density separation was tested on the size fractions 125–150 μm and 150–500 μm , following the recommendations of Schönfeld *et al.* (2012) for biomonitoring studies. No systematic differences in recovery of total foraminiferal fauna were observed (Figure 2.3), in spite of some differences in sediment composition between the two size fractions (station Carry). Together with the fact that our results follow the same tendency as most literature studies (Figure 2.9), that are mostly based on the $> 63 \mu\text{m}$ fraction, this suggests that our method can probably also be applied to the 63–125 μm size fraction.

2.4.1.4. Impact of the type of sediment particles

Since different sediment particles have different specific weights, it is evident that the sediment composition will affect sediment recovery in the floated part. The percentages of recovered sediment particles were systematically higher at stations Carry and Pampelonne, where the sediment is rich in carbonate, and lower at station Collioure, where the sediment contains mainly quartz particles (Figure 2.3). In theory, calcite is heavier than quartz (density of 2.71 versus 2.65, Lide, 2009), and should be poorer in the floated fraction. However, at the stations Carry and Pampelonne, the mainly biogenic calcitic sediment is very porous, and apparently has a lower specific density than quartz.

Finally, the presence of large plant debris may also affect density separation of foraminifera, since the tests may be fixed to or trapped in these coarse organic particles (Lehmann and Röttger, 1997). Due to its much lower density, organic matter will be strongly concentrated in the floated part. Other density separation methods, not investigated here, may be applied to separate foraminifera from organic matter (*e.g.*, Burgess, 2001).

2.4.1.5. Density separation liquids

In the past, several highly toxic organic compounds were routinely used for flotation. Nowadays, health and safety principles recommend to replace carcinogenic, mutagenic and repro-toxic (CMR) compounds by non/less toxic products. We nevertheless decided to test the CMR organic compound trichloroethylene (TCE), because it has been commonly used in foraminiferal studies (*e.g.*, Murray and Alve, 2000; Moreno *et al.*, 2005; Ernst *et al.*, 2006; Morvan, 2006; Jorissen *et al.*, 2009; Eichler *et al.*, 2012; López-Belzunce *et al.*, 2014; Quintela *et al.*, 2016). As nontoxic alternatives, we selected zinc chloride (ZC) and sodium polytungstate (SPT); these salts can be diluted in water and their density can be adjusted easily. Some preliminary tests showed that none of these three solutions degraded the Rose Bengal staining or dissolved the foraminiferal tests over the experimental period of time. This observation was made earlier for TCE (Schönfeld *et al.*, 2013).

Our results with TCE confirmed earlier observations of a poor recovery rate (*e.g.*, Semensatto and Dias-Brito, 2007; Schönfeld *et al.*, 2013). In view of the strongly increasing foraminiferal recovery towards higher densities (when using other compounds), it appears that the poor results with TCE are mainly due to its low density (1.46), which cannot be increased. Together with its toxicity (Kegley *et al.*, 2016), these poor results make it clear that TCE should not be used for density separation of foraminifera. However, comparisons of other density liquids with TCE are useful, because they inform us of the potential improvement of the results with increased densities.

The main advantages of ZC are that it is easy to dissolve in water, its density can easily be adjusted and it is rather cheap. However, we observed that ZC strongly reacts with carbonate-rich sediment samples. Since this chemical reaction was most intense at station Pampelonne (86.3% CaCO₃), less intense at station Carry (53.5% CaCO₃) and not observed at station Collioure (6.3% CaCO₃), it appears that the intensity of the reaction varies in function of the proportion of carbonate in the

sample. It appears that calcite reacts with hydrochloric acid, resulting from ZC hydrolysis, thereby producing carbon dioxide (Ashby, 1983). This gas production creates convective movements in the separation liquid during flotation, artificially improving the flotation of foraminifera, but also notably increasing the amount of floated sediment particles. Therefore, depending on the sediment type, the results obtained with ZC at 1.7 were much more variable than those obtained with SPT at the same density. Visual inspection of foraminiferal tests showed no signs of dissolution after routine density separation using ZC (duration < 1 h). However, after 12 h of incubation in ZC, all calcareous foraminifera had been dissolved. Our observations suggest that ZC should be avoided for all samples containing substantial amounts of carbonate, and is therefore not suitable for routine density separation.

Among the high density liquids we tested, SPT was most efficient. Its main advantages are its easy dissolution in water and the easy adjustment of its density. Although its elevated price is a disadvantage, this can partly be remedied by recycling it. After several uses, the recycled SPT solution shows a white precipitate, probably of calcium tungstate (reaction between SPT and free calcium cations) or sodium tungstate (dehydration of SPT) (Torresan, 1987; Krukowski, 1988; Six *et al.*, 1999). More precipitate was observed for carbonate-rich samples. Six *et al.* (1999) presented a method to recycle SPT efficiently. However, the presence of this precipitate does not appear to affect the flotation efficiency and the precipitate can easily be removed by filtration. The density of SPT can easily be adjusted to any value between 1.0 and 3.1. However, at densities ≥ 2.3 , the viscosity of the SPT solution increases considerably (Torresan, 1987; Gregory and Johnston, 1987; Sahin *et al.*, 2009), and consequently also the time needed to obtain a total separation of deposited and floating particles strongly increased as well, from 3 min at 2.1 to more than 15 min at 2.5 (Figure 2.2). Similarly, also the filtration time exponentially increased with density, as Gregory and Johnston (1987) quantified in their study.

At densities ≥ 2.3 , evaporation of the SPT solution rapidly leads to salt crystal deposits on the glassware. In order to reduce this problem, several authors suggested to use plastic instead of glass ware (Krukowski, 1988; Semensatto and Dias-Brito, 2007; Schönfeld *et al.*, 2012). In our experiments, we systematically rinsed both floated and sunken parts of the sample with tap water after flotation and prior to picking, to remove salt residues. Summarising, in view of the previous considerations, it appears that among the three tested heavy density liquids, SPT is by far the most suitable compound for foraminiferal density separation.

2.4.2. Optimal density to concentrate living (RB-stained) foraminifera

Previously, Gibson and Walker (1967) found that bromoform gave satisfactory results for unstained foraminifera (fossil and recent samples) when used at a density between 2.2 and 2.4. In our study, when using SPT at densities ≥ 2.3 more than 95% of the total foraminiferal fauna was recovered in all cases, except for Pampelonne at a density of 2.3, where 64 of the 74 individuals (86.5%) were found in the “float” (Figure 2.3, appendix 2.C). However, at a still higher density (2.5),

the percentage of sediment particles found in the “float” strongly increased (Figure 2.3, appendix 2.C).

Previous studies usually tested only two or three different densities (Appendix 2.D). In our study, five different densities were tested. In figure 2.9, all available data (present study and literature) concerning foraminiferal recovery for different densities of the flotation fluid are plotted, with the exception of all data from ZC experiments, which we judged less suitable for density separation because of its reaction with carbonate-rich sediments (Appendix 2.F). The fact that the data sets obtained with different separation solutions (carbon tetrachloride, trichloroethylene, zinc chloride, sodium polytungstate, sodium thiosulfate, details in appendices 2.C, 2.E and 2.F), but similar densities, plot closely together, confirms that the solution density is the main parameter controlling the recovery rate, whereas the type of solution seems to have only a limited impact. ZC, for which the data have not been included in figure 2.9, could be an exception.

Because of the consistency of the data (Figure 2.9), we decided to use all available data points (our data plus literature) to describe the relationship between the density of the flotation liquid and the foraminiferal recovery rate. Since the buoyancy of the particles depends both on their density and on that of the solution, the results can best be described by a quantitative model with lower and upper horizontal asymptotes, described as (Equation 2.6):

$$y = \frac{100}{1 + ae^{-bx}} \quad (2.6)$$

where y is the recovery percentage of foraminifera and x is the density of the separation solution. The parameters a and b were determined by the non-linear least squares approximation method (Figure 2.9). According to the regression curve obtained for this mixed data set (Figure 2.9), the desired 95% foraminiferal recovery is obtained for a density of the separation solution of about 2.3. Foraminiferal recovery does not improve much for still higher densities, where the amount of sand continues to increase rapidly (Figure 2.3). A similar regression curve could be constructed for the amount of sediment grains recovered in the float, but the systematic differences between samples with a different sediment composition (Figure 2.3), suggests that the patterns cannot be described by a single regression curve.

In conclusion, on the basis of all evidence available, it appears that a density of 2.3 represents the best compromise between optimal foraminiferal and minimal sediment recovery. At lower densities, the foraminiferal recovery quickly falls below our critical boundary (95% recovery), whereas at higher densities, the critical amount of sediment recovery (20%) is exceeded, making the density separation less effective. Consequently, we recommend the use of SPT at a density of 2.3.

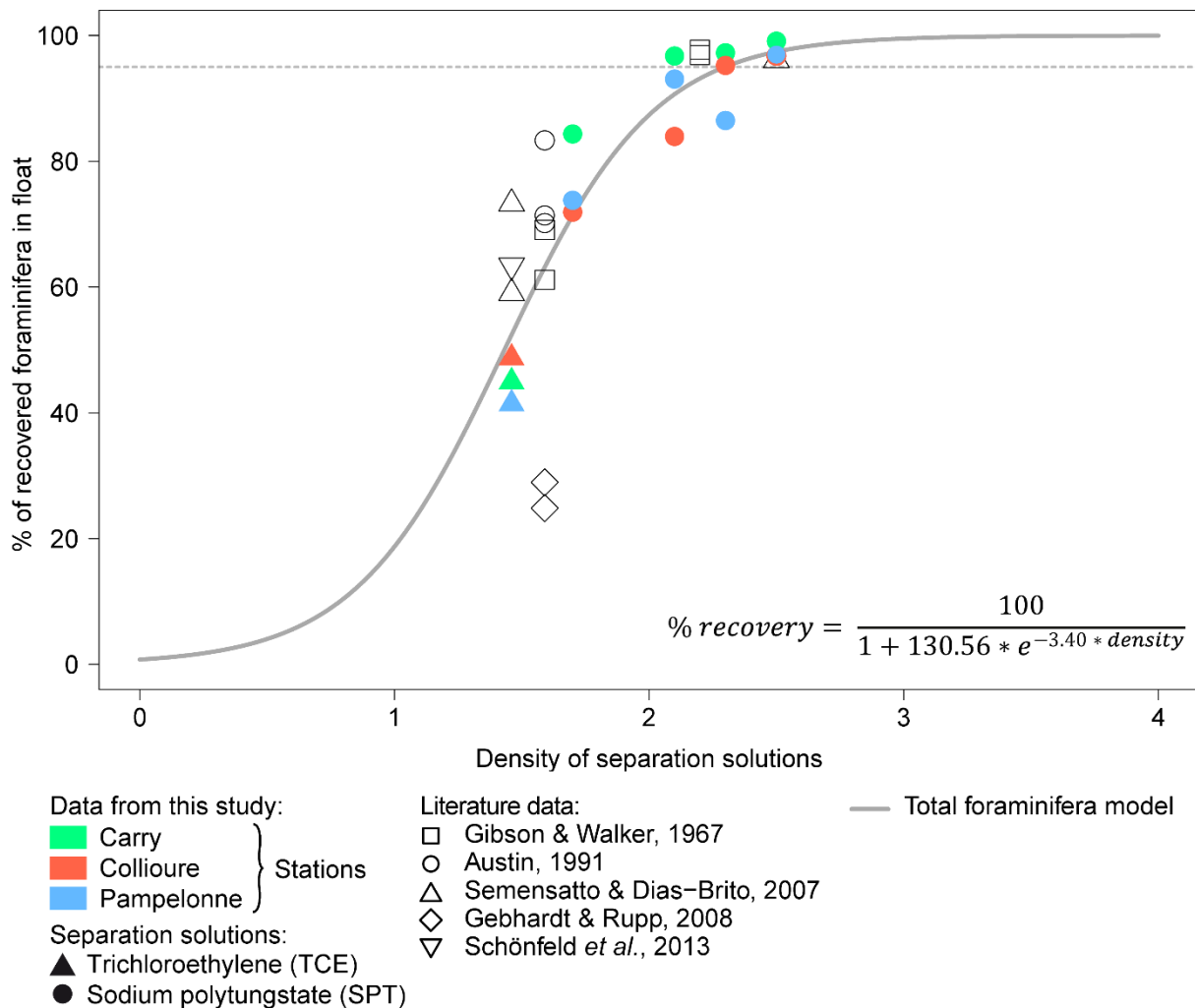


Figure 2.9: Percentage of recovery of total foraminifera in the float plotted against the density of the separation solution. Data from literature (empty symbols) and from this study (plain coloured symbols) are displayed. Dashed lines represent the target value for foraminifera (> 95%). Zinc chloride data are not included. Please refer to the appendices 2.C, 2.E and 2.F for more details about literature data.

2.4.3. Impact of density separation on the composition of the foraminiferal faunas and on biotic indices

In the past, density separation methods have often been criticised (*e.g.*, Gibson and Walker, 1967; Wright and Hay, 1971; Haynes, 1981; Gebhardt and Rupp, 2008; Schönfeld *et al.*, 2012), because it was considered that not all foraminifera would be recovered in the floated part. This would especially concern agglutinated species, because of the cemented mineral particles that compose their tests. In fact, several authors (Semensatto and Dias-Brito, 2007; Gebhardt and Rupp, 2008; Schönfeld *et al.*, 2013) observed an underrepresentation of agglutinated species in the floated part for separation liquids with a fairly low density (≤ 1.59). However, these earlier studies mainly concern samples poor in agglutinants (48±16% representing 262±193 individuals on average, figure 2.4a, appendix 2.C). Our results with TCE (density 1.46) fully confirm the earlier observations, with a much lower recovery of agglutinated taxa compared to hyaline and porcellaneous species. However, towards higher densities, this difference rapidly decreased, and at all

densities ≥ 2.1 , no difference between different wall-structure groups could be discerned (Figure 2.4a).

Epiphytic and epilithic species are a second group which may be less well concentrated, because the individuals will often be fixed either to a low (plant remains) or a high density (rock fragments, quartz grains, shell fragments, etc.) substrate. Our results show a low recovery of epiphytic species at low density (≤ 1.7), while the recovery rate is mostly satisfactory at higher densities (Figure 2.4b). However, absolute densities of this group are often low (< 30 individuals) (e.g., Collioure with SPT 1.7 and 2.5, figure 2.4b), and even large proportional differences in recovery rate are often based on small differences in the number of recovered individuals. In our samples ($> 125 \mu\text{m}$), the very large majority of epiphytic species are detached from their support. This may partly be the result of the washing/sieving process. However, many so-called epiphytic species are not sessile but are also temporarily motile (Langer, 1993).

In order to avoid misinterpretations of foraminiferal faunas in terms of ecological or environmental quality, non-selective concentration of the various foraminiferal species is essential. A comparison of relative species abundances and of faunal indices between floated fraction and total faunas may inform us about the efficiency of the method. Our results show that diversity indices are clearly affected by the flotation process at densities ≤ 1.7 . In fact, diversity indices may be either higher (station Collioure) or lower (station Carry) in the floated fraction compared to the total sample. At station Collioure, the higher diversity in the floated fraction is a result of the inadequate recovery of the dominant (42% in the total part) agglutinated species *Eggerelloides scaber* (Figures 2.5 and 2.7). Conversely, at station Carry diversity indices tend to be lower in the floated fraction, because several agglutinated species (e.g., *Ammoscalaria pseudospiralis*, *Lagenammina atlantica*, and *Lagenammina difflugiformis*) are heavily underrepresented in the "float", and the percentage of dominant hyaline species (e.g., *Cancris auriculus*, *Planorbulina mediterraneensis*, and *Rectuvigerina phlegeri*) is artificially increased (Figures 2.5 and 2.7). However, for densities of the flotation liquid equal to or higher than 2.1, the relative abundances and diversity indices are very similar between floated fractions and total samples (Figures 2.5 and 2.7). This observation is corroborated by the decrease of the Bray-Curtis dissimilarities towards increased densities of the separation solution (Figure 2.6).

It appears that for density liquids with a density ≥ 2.1 , all ecological interpretations based on foraminiferal assemblage composition and derived parameters, such as diversity indices, relative abundances of individual species or groups of indicator species, are virtually identical between the floated fractions and the total samples. In particular, the TSI-Med index, specifically developed to evaluate the ecosystem quality in coastal Mediterranean environments, and based on the percentage of stress-tolerant species (Barras *et al.*, 2014), is not impacted by the flotation process. The ecological quality status of the studied samples is correctly identified on the basis of the floated fractions alone for separation solutions with a density ≥ 2.1 . The minor differences in faunal parameters between floated fractions and total samples are negligible compared to the differences observed between replicate samples from the same station. In view of our results, we can confirm that the flotation procedure

using SPT at a density of 2.3, which we recommend on the basis of our findings, does in no way bias ecological interpretations.

2.5. Conclusion

Flotation with high density liquids is a very efficient method to concentrate foraminifera, and thereby, to speed up the sample treatment. The need for a standardised method, which at the same time gives satisfactory results and is repeatable, has become urgent, because of the recent increase of the use of living foraminifera in biomonitoring, which often concerns sandy samples. Here, we present a quantitative assessment of the various methods used in the past, where we focus especially on the type of compound used to produce the flotation liquid and the density to be used. Although organic compounds usually have a high toxicity, and are therefore progressively replaced by less toxic inorganic products, we nevertheless tested trichloroethylene (TCE), because of its wide use in the past. We confirm the low recovery of foraminifera using TCE and we definitely do not recommend its use for foraminiferal concentration. As inorganic compounds, we tested zinc chloride (ZC) and sodium polytungstate (SPT). ZC reacts with carbonate-rich sediments and this reaction hampers the rapid separation between the deposited and floated fraction. For this reason, we conclude that ZC is less suitable to be used routinely for foraminiferal density separation. Although SPT is rather expensive, it appears to be the best compound to use. On the basis of a mixed data-set, containing the data obtained in our study as well as all available quantitative data from the literature, it appears that the foraminiferal recovery rate depends largely on the density of the separation fluid, whereas the type of compound used plays only a minor role. The obtained regression model indicates that a density of 2.3 represents the best compromise between an optimal foraminiferal recovery ($\geq 95\%$) and a minimal recovery of sediment particles ($\leq 20\%$). We show that at this density, all relevant faunal parameters (diversity indices, percentages of indicator species group, and environmental quality indices) remain unchanged between the floated fraction and total sample. Summarising, we propose the use of sodium polytungstate at a density of 2.3. This method guarantees a high foraminiferal yield, and diminishes the volume of the sample to be picked by 75 to 90%. By substantially concentrating foraminifera and diminishing the size of the sample to be analysed, this method will probably also largely reduce the manipulation error (*i.e.* individuals overlooked during picking). Therefore, the loss of small amounts of foraminifera (less than 5% of the total assemblage) is probably largely compensated by a more precise sample analysis.

Acknowledgements

The authors wish to acknowledge the French Water Agency Rhône Méditerranée Corse for funding this study and also the Ifremer and the R/V Europe crew for providing cruise facilities during the Water Framework Directive 2015 campaign. Élodie Poux is thanked for producing part of the data. Sophie Sanchez is thanked for technical assistance with the various heavy liquid separation procedures. The authors also thank the two reviewers, Fabrizio Frontalini and Yvonne Milker, and the editor in chief, Richard Jordan, for their comments, which helped to improve the manuscript.

References

- Abbene, I.J., Culver, S.J., Corbett, D.R., Buzas, M.A., Tully, L.S., 2006. Distribution of foraminifera in Pamlico Sound, North Carolina, over the past century. *Journal of Foraminiferal Research* 36, 135–151.
- Alve, E., Korsun, S., Schönfeld, J., Dijkstra, N., Golikova, E., Hess, S., Husum, K., Panieri, G., 2016. Foram-AMBI: A sensitivity index based on benthic foraminiferal faunas from North-East Atlantic and Arctic fjords, continental shelves and slopes. *Marine Micropaleontology* 122, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.marmicro.2015.11.001>
- Alve, E., Lepland, A., Magnusson, J., Backer-Owe, K., 2009. Monitoring strategies for re-establishment of ecological reference conditions: Possibilities and limitations. *Marine Pollution Bulletin* 59, 297–310. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.08.011>
- Ashby, J.N., 1983. Improvements in the Technique for the Extraction and Statistical Faunal Analysis of Radiolarians from Neogene Mudstones. *Micropaleontology* 29, 146. <https://doi.org/10.2307/1485564>
- Austin, W.E.N., 1991. Late quaternary benthonic foraminiferal stratigraphy of the western U.K. continental shelf. University College of North Wales, School of Ocean Sciences, Menai Bridge, Anglesey.
- Barras, C., Jorissen, F.J., Labrune, C., Andral, B., Boissery, P., 2014. Live benthic foraminiferal faunas from the French Mediterranean Coast: Towards a new biotic index of environmental quality. *Ecological Indicators* 36, 719–743. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.09.028>
- Bouchet, V.M.P., Alve, E., Rygg, B., Telford, R.J., 2012. Benthic foraminifera provide a promising tool for ecological quality assessment of marine waters. *Ecological Indicators* 23, 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.03.011>
- Bouchet, V.M.P., Goberville, E., Frontalini, F., 2018. Benthic foraminifera to assess Ecological Quality Statuses in Italian transitional waters. *Ecological Indicators* 84, 130–139. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.07.055>
- Bray, J.R., Curtis, J.T., 1957. An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin. *Ecological Monographs* 27, 325–349. <https://doi.org/10.2307/1942268>
- Burgess, R., 2001. An improved protocol for separating meiofauna from sediments using colloidal silica sols. *Marine Ecology Progress Series* 214, 161–165.
- Carson, C.M., 1953. Heavy Liquid Concentration of Foraminifera. *Journal of Paleontology* 27, 880–881.
- Carson, C.M., 1933. A method of concentrating foraminifera. *Journal of Paleontology* 7, 439.
- Cimerman, F., Langer, M.R., 1991. Mediterranean Foraminifera, Dela / Slovenska akademija znanosti in umetnosti, Razred za naravoslovne vede = Opera / Academia Scientiarum et Artium Slovenica, Classis IV--Historia naturalis ; Znanstvenoraziskovalni center SAZU, Paleontološki inštitut Ivana Rakovca. Slovenska akademija znanosti in umetnosti, Ljubljana.
- Dimiza, M.D., Triantaphyllou, M.V., Koukousioura, O., Hallock, P., Simboura, N., Karageorgis, A.P., Papathanasiou, E., 2016. The Foram Stress Index: A new tool for environmental assessment of soft-bottom environments using benthic foraminifera. A case study from the Saronikos Gulf, Greece, Eastern Mediterranean. *Ecological Indicators* 60, 611–621. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.07.030>

- Duchemin, G., Jorissen, F.J., Andrieux-Loyer, F., Le Loc'h, F., Hily, C., Philippon, X., 2005. Living benthic foraminifera from "La Grande Vasiere", French Atlantic continental shelf: Faunal composition and microhabitats. *Journal of Foraminiferal Research* 35, 198–218.
- Eichler, P.P.B., Eichler, B.B., Gupta, B.S., Rodrigues, A.R., 2012. Foraminifera as indicators of marine pollutant contamination on the inner continental shelf of southern Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 64, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.10.032>
- Ellis, A.M., Culver, S.J., Mallinson, D.J., Corbett, D.R., Leorri, E., Buzas, M.A., Shazili, N.A., 2014. The influence of aquaculture on modern foraminifera and sediments in the Setiu estuary and lagoon, Terengganu, Malaysia: a spatial investigation. *Journal of Foraminiferal Research* 44, 390–415.
- Ernst, S.R., Morvan, J., Geslin, E., Le Bihan, A., Jorissen, F.J., 2006. Benthic foraminiferal response to experimentally induced Erika oil pollution. *Marine Micropaleontology* 61, 76–93. <https://doi.org/10.1016/j.marmicro.2006.05.005>
- Feyling-Hanssen, R.W., 1958. Mikropaleontologiens teknikk. *Norges geol. Unders* 203, 35–48.
- Frontalini, F., Coccioni, R., 2011. Benthic foraminifera as bioindicators of pollution: A review of Italian research over the last three decades. *Revue de Micropaléontologie* 54, 115–127. <https://doi.org/10.1016/j.revmic.2011.03.001>
- Gebhardt, H., Rupp, C., 2008. Vergleich der Anreicherung von Foraminiferenschalen und anderer Mikrofossilien aus sandigen Sedimenten mit Hilfe von Zinkchlorid-Lösung und Tetrachlorkohlenstoff. *Jb. Geol. B.-A.* 148, 177–181.
- Gibson, T.G., Walker, W.M., 1967. Flotation methods for obtaining foraminifera from sediment samples. *Journal of Paleontology* 1294–1297.
- Gregory, M.R., Johnston, K.A., 1987. A nontoxic substitute for hazardous heavy liquids—aqueous sodium polytungstate ($3\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 9\text{WO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) solution (Note). *New Zealand Journal of Geology and Geophysics* 30, 317–320. <https://doi.org/10.1080/00288306.1987.10552626>
- Hallock, P., Lidz, B.H., Cockey-Burkhard, E.M., Donnelly, K.B., 2003. Foraminifera as bioindicators in coral reef assessment and monitoring the FORAM index, in: *Coastal Monitoring through Partnerships*. Presented at the Fifth Symposium on the Environmental Monitoring and Assessment Program (EMAP), Springer Netherlands, Pensacola Beach, FL, U.S.A, pp. 221–238. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-0299-7>
- Haynes, J.R., 1981. *Foraminifera*, Macmillan Publishers Ltd. ed. Wiley Online Library, London and Basingstoke.
- Hurlbert, S.H., 1971. The Nonconcept of Species Diversity: A Critique and Alternative Parameters. *Ecology* 52, 577–586.
- Jarvis, A., Reuter, H.I., Nelson, A., Guevara, E., 2008. Hole-filled SRTM for the globe Version 4, available from the CGIAR-CSI SRTM 90m Database [WWW Document]. URL <http://srtm.csi.cgiar.org>
- Jorissen, F.J., Bicchi, E., Duchemin, G., Durrieu, J., Galgani, F., Cazes, L., Gaultier, M., Camps, R., 2009. Impact of oil-based drill mud disposal on benthic foraminiferal assemblages on the continental margin off Angola. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 56, 2270–2291. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2009.04.009>

- Jorissen, F.J., De Stigter, H., Widmark, J.G.V., 1995. A conceptual model explaining benthic foraminiferal microhabitats. *Marine Micropaleontology* 26, 3–15.
- Jorissen, F.J., Nardelli, M.P., Almogi-Labin, A., Barras, C., Bergamin, L., Bicchi, E., El Kateb, A., Ferraro, L., McGann, M., Morigi, C., Romano, E., Sabbatini, A., Schweizer, M., Spezzaferri, S., 2018. Developing Foram-AMBI for biomonitoring in the Mediterranean: Species assignments to ecological categories. *Marine Micropaleontology*.
<https://doi.org/10.1016/j.marmicro.2017.12.006>
- Kegley, S.E., Hill, B.R., Orme, S., Choi, A.H., 2016. PAN Pesticides Database [WWW Document]. Pesticide Action Network, North America (Oakland, CA). URL <http://www.pesticideinfo.org>
- Krukowski, S.T., 1988. Sodium metatungstate: a new heavy-mineral separation medium for the extraction of conodonts from insoluble residues. *Journal of Paleontology* 62, 314–316.
- Lehmann, G., Röttger, R., 1997. Techniques for the concentration of foraminifera from coastal salt meadow sediments. *Journal of Micropalaeontology* 16, 144.
<https://doi.org/10.1144/jm.16.2.144>
- Lide, D.R. (Ed.), 2009. CRC Handbook of Chemistry and Physics, 90th Edition. CRC Press/Taylor and Francis, Boca Raton, FL.
- Loeblich, A.R., Tappan, H., 1988. Foraminiferal Genera and Their Classification. Springer US, Boston, MA. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-5760-3>
- López-Belzunce, M., Blázquez, A.M., Pretus, J.L., 2014. Recent benthic foraminiferal assemblages and their relationship to environmental variables on the shoreface and inner shelf off Valencia (Western Mediterranean). *Marine Environmental Research* 101, 169–183.
<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2014.06.011>
- Lutze, G.F., 1968. Jahrgang der Foraminiferen-Fauna in der Bottsaild-Lagune (westliche Ostsee). *Meyniana* 18, 13–30.
- Marine Information Service, 2016. EMODnet Digital Bathymetry (DTM). <https://doi.org/10.12770/c7b53704-999d-4721-b1a3-04ec60c87238>
- McCarty, R., Congleton, J., 1994. Heavy liquids: Their use and methods in paleontology, in: Leiggi, P., May, P. (Eds.), *Vertebrate Paleontological Techniques*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- McEwen, G.F., Johnson, M.W., Folsom, T.R., 1954. A statistical analysis of the performance of the folsom plankton sample splitter, based upon test observations. *Archiv für Meteorologie, Geophysik und Bioklimatologie Serie A* 7, 502–527. <https://doi.org/10.1007/BF02277939>
- Meldgaard, S., Knudsen, K.L., 1978. Metoder til indsamling og oparbejdning af prøver til foraminifer-analyser. Mikropalæontologisk Afdeling, Geologisk Institut, Aarhus Universitet, Århus, Denmark.
- Milker, Y., Schmiedl, G., 2012. A taxonomic guide to modern benthic shelf foraminifera of the western Mediterranean Sea. *Palaeontologia electronica* 15, 1–134.
- Mojtahid, M., Jorissen, F.J., Durrieu, J., Galgani, F., Howa, H., Redois, F., Camps, R., 2006. Benthic foraminifera as bio-indicators of drill cutting disposal in tropical east Atlantic outer shelf environments. *Marine Micropaleontology* 61, 58–75. <https://doi.org/10.1016/j.marmicro.2006.05.004>
- Moreno, J., Fatela, F., Andrade, C., Cascalho, J., Moreno, F., Drago, T., 2005. Living foraminifera assemblages from the Minho and Coura estuaries (northern Portugal): a stressful environment. *Thalassas* 21, 17–28.

- Morvan, J., 2006. Foraminifères benthique de l'estran de la Baie de Bourgneuf : Variabilités spatiale et temporelle - Utilisation en tant que bio-indicateurs après une pollution par hydrocarbures (Thèse de doctorat). Université d'Angers, Angers, France.
- Munsterman, D., Kerstholt, S., 1996. Sodium polytungstate, a new non-toxic alternative to bromoform in heavy liquid separation. *Review of Palaeobotany and Palynology* 91, 417–422.
- Murray, J.W., 2014. *Ecology and Palaeoecology of Benthic Foraminifera*, Taylor & Francis. ed. Routledge, New York, USA. <https://doi.org/10.4324/9781315846101>
- Murray, J.W., 1979. *British nearshore foraminiferids*, Published for the Linnean Society of London and the Estuarine and Brackish-water Sciences Association. ed, Synopses of the British Fauna (New Series). Academic Press, London, England.
- Murray, J.W., Alve, E., 2000. Major aspects of foraminiferal variability (standing crop and biomass) on a monthly scale in an intertidal zone. *Journal of Foraminiferal Research* 30, 177–191.
- Norem, W.L., 1953. Separation of Spores and Pollen from Siliceous Rocks. *Journal of Paleontology* 27, 881–883.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P.R., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Szoecs, E., Wagner, H., 2017. *vegan: Community Ecology Package*.
- Peet, R.K., 1974. The Measurement of Species Diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 5, 285–307.
- Pielou, E.C., 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. *Journal of theoretical biology* 13, 131–144.
- Pruitt, R.J., Culver, S.J., Buzas, M.A., Corbett, D.R., Horton, B.P., Mallinson, D.J., 2010. Modern foraminiferal distribution and recent environmental change in Core Sound, North Carolina, USA. *Journal of Foraminiferal Research* 40, 344–365.
- Quintela, M., Costa, P.J.M., Fatela, F., Drago, T., Hoska, N., Andrade, C., Freitas, M.C., 2016. The AD 1755 tsunami deposits onshore and offshore of Algarve (south Portugal): Sediment transport interpretations based on the study of Foraminifera assemblages. *Quaternary International* 408, 123–138. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2015.12.029>
- R Core Team, 2017. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Sahin, M., Ayranci, K., Kosun, E., Ayranci, E., 2009. Density, sound velocity and viscosity properties of aqueous sodium metatungstate solutions and an application of these solutions in heavy mineral separations. *Chemical Geology* 264, 96–100. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2009.02.016>
- Schönfeld, J., 2012. History and development of methods in Recent benthic foraminiferal studies. *Journal of Micropalaeontology* 31, 53–72. <https://doi.org/10.1144/0262-821X11-008>
- Schönfeld, J., Alve, E., Geslin, E., Jorissen, F., Korsun, S., Spezzaferri, S., 2012. The FOBIMO (FORaminiferal BIO-MONitoring) initiative—Towards a standardised protocol for soft-bottom benthic foraminiferal monitoring studies. *Marine Micropaleontology* 94–95, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.marmicro.2012.06.001>
- Schönfeld, J., Golikova, E., Korsun, S., Spezzaferri, S., 2013. The Helgoland Experiment—assessing the influence of methodologies on Recent benthic

- foraminiferal assemblage composition. *Journal of Micropalaeontology* 32, 161–182.
- Scott, G.A., Scourse, J.D., Austin, W.E.N., 2003. The distribution of benthic foraminifera in the Celtic Sea: The significance of seasonal stratification. *Journal of Foraminiferal Research* 33, 32–61.
- Semensatto, D.L., Dias-Brito, D., 2007. Alternative saline solutions to float foraminiferal tests. *Journal of Foraminiferal Research* 37, 265–269.
- Sen Gupta, B.K., 1971. The Benthonic Foraminifera of the Tail of the Grand Banks. *Micropaleontology* 17, 69. <https://doi.org/10.2307/1485038>
- Shannon, C.E., 1948. A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal* 27, 379–423.
- Simpson, E.H., 1949. Measurement of Diversity. *Nature* 163, 688. <https://doi.org/10.1038/163688a0>
- Six, J., Schultz, P.A., Jastrow, J.D., Merckx, R., 1999. Recycling of sodium polytungstate used in soil organic matter studies. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 1193–1196.
- Torresan, M., 1987. The use of sodium polytungstate in heavy mineral separations (Open-File Report No. 87–590). United States Department of the Interior Geological Survey, Menlo Park, California.
- Travese, A., 2007. *Paleopalynology*, second edition, Springer. ed, Topics in Geobiology. Dordrecht, The Netherlands.
- Wefer, G., 1976. Umwelt, Production und Sedimentation benthischer Foraminiferan in der Westlichen Ostsee (Laboratory Report for internal circulation No. 14). Universität Kiel, Kiel, Germany.
- Wright, R.C., Hay, W.W., 1971. The abundance and distribution of foraminifers in a back-reef environment, Molasses reef, Florida, in: Jones, J.I., Bock, W.D. (Eds.), *Memoir 1: A Symposium of Recent Benthic Foraminifera*. Presented at the A symposium of recent benthic foraminifera, Miami Geological Society, Miami, FL, USA, pp. 121–157.
- Zhelubovskaya, K.V., Braynina, B.I., 1965. Separational method of removing microfauna from Quaternary rocks using heavy liquid PD-3. *International Geology Review* 7, 2063–2065. <https://doi.org/10.1080/00206816509474179>

Appendices

Appendix 2.A: State of the art of density separation methods

The first density separation methods used organic compounds. They are affordable, traditionally widely used in mineralogy, and their low viscosity (Rhodes and Miles, 1991) made them easy to use. The first mention of density separation to concentrate foraminifera from sandy paleontological samples was by Carson (1933) who used bromoform (or tribromomethane) (CHBr_3). Bromoform has a density of 2.89 at 20 °C (Gibson and Walker, 1967) which can be lowered by dilution with absolute alcohol (Carson, 1933; Norem, 1953), methanol (Carson, 1953), acetone, or dimethylformamide (Gibson and Walker, 1967). Gibson and Walker (1967) proposed a density of 2.2 to concentrate foraminifera with a mixture of bromoform and acetone. They found a 95% recovery for fossil and unstained recent foraminifera. However, their samples were first floated with carbon tetrachloride, prior to the flotation with bromoform. Sen Gupta (1971) found similar recoveries (99%) with the same method.

Carbon tetrachloride (or tetrachloromethane) (CCl_4) has been also widely used in the early stages of density separation because of its density of 1.59 at 25 °C (Green and Perry, 2008). The use of this liquid for concentrating foraminifera in sandy samples was proposed by Feyling-Hanssen (1958). The efficiency of this method was tested by Austin (1991), who compared the relative abundances of foraminiferal faunas based on the index of affinity (Rogers, 1976) between floated and sunken fractions. He found many differences in relative abundances. However, only 79.3% to 89.5% of the foraminifera were recovered in the floated fraction, which in our opinion is not satisfactory for quantitative studies. Other studies obtained similar results either with fossil or living (RB-stained) foraminifera, with poor total foraminiferal recoveries (< 50% to 85%) (Gibson and Walker, 1967; Sen Gupta, 1971) or selective loss of species (Gibson and Walker, 1967; Wright and Hay, 1971). Only Lutze (1968) found satisfactory recovery (93%) of total foraminifera in silicoclastic sediment using CCl_4 . Meldgaard and Knudsen (1978) also investigated foraminiferal recovery using CCl_4 .

Tetrabromoethane (TBE, $\text{C}_2\text{H}_2\text{Br}_4$) has a density of 2.96 at 20 °C and was essentially used for mineral separation (Gregory and Johnston, 1987). Armstrong and Brasier (2005) describe different methods using CCl_4 , bromoform and TBE. They present two methods using CCl_4 , one to concentrate foraminifera, radiolarians, and diatoms and one to concentrate organic-walled microfossils. The method using bromoform or TBE is applied to concentrate conodonts or calcareous and siliceous microfossils. They did not propose any dilution of the different liquids used.

Trichloroethylene (TCE, C_2HCl_3) is another well-known compound used for density separation. Its density is 1.46 at 20 °C. Duchemin *et al.* (2005) considered TCE efficient to concentrate foraminifera from sediment particles from the silty “Grande Vasière” (NW Bay of Biscay). However, the samples contained only 10 to 20% of agglutinated taxa and no quantitative data are given to corroborate their conclusion. On the contrary, Semensatto and Dias-Brito (2007) obtained very unsatisfactory results using TCE to concentrate foraminifera (total recovery: 60%). Over the years, TCE progressively replaced CCl_4 in foraminiferal studies. CCl_4 was much used from the late 1950s to the late 2000s. After its use had been forbidden in many countries because of its strong toxicity, TCE was proposed as a less toxic replacement. TCE has mainly been used from the late 1990s onward. Perchloroethylene (C_2Cl_4) is another organic compound, which has only rarely been used in foraminiferal studies (Alve, 1995a; Alve and Murray, 1999; Debenay, 2012), and for which no quantitative data are available.

The previously mentioned organic compounds are all considered as highly toxic and are now classified as carcinogenic, mutagenic, and/or repro-toxic (Kegley *et al.*, 2016). Even if not all the impacts and consequences of this toxicity were known, the toxicity of these compounds has been known for a long time (Carson, 1953; Gibson and Walker, 1967). In the early 1980s new flotation methods were proposed, using nontoxic inorganic compounds, in response to increasing regulations of toxic organic compounds used until then. These inorganic compounds are mainly metallic salts, and have the common advantage of being easier to use, partly because it is easier to obtain a specific density by dissolution in

water. At that time, very few unsatisfying tests had been performed with some of these inorganic compounds (Gibson and Walker, 1967).

Zinc chloride (ZC, ZnCl_2) is one of the most tested inorganic compounds. Its density is adjustable from 1 to 2.9 (Travese, 2007). Gebhardt and Rupp (2008) compared the efficiency of CCl_4 and ZC ($d = 1.7$) to concentrate foraminifera and other microfossils (ostracods) in sandy samples. They found a very low recovery with CCl_4 (26%), and also the 72% recovery obtained with ZC was considered insufficient, despite a major reduction in picking time (80%). Semensatto and Dias-Brito (2007) obtained a promising result with ZC at a density of 1.7, and considered it as a good cost-effective replacement for organic compounds. According to Travese (2007), zinc bromide (ZB, ZnBr_2) is very similar to ZC and can be used interchangeably with it. ZB has a higher density at saturation (4.2) than ZC (2.9), but otherwise has similar chemical properties (Ashby, 1983; McCarty and Congleton, 1994; Travese, 2007). Both salts are irritant for skin and mucous membranes (Zhelubovskaya and Braynina, 1965; McCarty and Congleton, 1994; Kegley *et al.*, 2016), even if ZB is less toxic than ZC (McCarty and Congleton, 1994). However, ZB is supposed to be unsuitable for foraminifera as it is too acidic (Ashby, 1983). Also, the filter paper can swell and burst with ZB (Ashby, 1983).

Sodium polytungstate (SPT) / Sodium metatungstate (SMT) ($3\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 9\text{WO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) is another nontoxic and widely studied compound. Its adjustable density can reach high values compared to organic compounds (from 1 to 3.1) (Gregory and Johnston, 1987; Krukowski, 1988). SPT was first used for heavy mineral separation; its adequacy was compared with that of TBE (Gregory and Johnston, 1987; Torresan, 1987). Later, Krukowski (1988) used it for conodont recovery and obtained very satisfactory results, with nearly 100% recovery for Paleozoic conodonts. However, conodonts have a density ranging from 2.90 to 3.04 (Jeppsson and Anehus, 1999), substantially higher than sediment particles. Contrary to the usual procedure, in this case, the conodonts are concentrated in the sunken part whereas the rest of the sediment particles float. Savage (1988) recommends SPT at a density of 2.78 for conodont separation. SPT was also successfully tested for palynological preparations with a recommended density of 2.1 (Munsterman and Kerstholt, 1996). It appears that some authors took it for granted that this liquid works well for foraminifera as well (Abbene *et al.*, 2006; Pruitt *et al.*, 2010; Ellis *et al.*, 2014). However, the good results obtained for sporomorphs and dinocysts are probably resulting from their low densities (1.1 and 1.3, respectively) (Slipper, 2005). This is much lower than the density of foraminifera with a calcareous test, inorganic calcite having a density of 2.7 and quartz of 2.65 (Slipper, 2005). In the same study, he also compared SPT and bromoform, both at a density of 2.1, and found similar results. SPT was also successfully used to extract living dinoflagellate cysts from marine sediment with a density of 1.3 (Bolch, 1997), and vertebrate fossils with a density up to 2.8 (Mitchell and Heckert, 2010). Concerning foraminifera, the best results were obtained by Semensatto and Dias-Brito (2007) using an SPT solution with a density of 2.5. They recovered 96% of the total foraminifera with no significant changes in the relative abundances. However, their material contained only a low proportion of agglutinated taxa (13%), so that doubts remained concerning the efficiency of the method for this group of foraminifera.

Finally, sodium nitrate / sodium thiosulfate (SNT) ($\text{NaNO}_3 + \text{Na}_2\text{O}_3\text{S}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) at a density of 1.46 has been tested by Semensatto and Dias-Brito (2007) for foraminifera, but did not have the necessary efficiency (72.8% recovery).

References

- Alve, E., 1995. Benthic foraminiferal distribution and recolonization of formerly anoxic environments in Drammensfjord, southern Norway. *Marine Micropaleontology* 25, 169–186.
- Alve, E., Murray, J.W., 1999. Marginal marine environments of the Skagerrak and Kattegat: a baseline study of living (stained) benthic foraminiferal ecology. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 146, 171–193.
- Armstrong, H., Brasier, M.D., 2005. *Microfossils*, 2nd ed. ed. Blackwell Pub, Malden, Mass.
- Bolch, C.J.S., 1997. The use of sodium polytungstate for separation and concentration of living dinoflagellate cysts from marine sediments. *Phycologia* 36, 472–478.
- Debenay, J.-P., 2012. A guide to 1,000 foraminifera from Southwestern Pacific: New Caledonia. IRD Editions.
- Green, D.W., Perry, R.H., 2008. *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, Eighth Edition. McGraw-Hill.
- Jeppsson, L., Anehus, R., 1999. A new technique to separate conodont elements from heavier minerals. *Alcheringa: An Australasian Journal of Palaeontology* 23, 57–62. <https://doi.org/10.1080/03115519908619339>
- Mitchell, J.S., Heckert, A.B., 2010. The setup, use and efficacy of sodium polytungstate separation methodology with respect to microvertebrate remains. *Journal of Paleontological Techniques* 7, 1–12.
- Rhodes, D., Miles, N.J., 1991. Fine coal characterization. *Minerals Engineering* 4, 503–510.
- Rogers, M.J., 1976. An evaluation of an index of affinity for comparing assemblages, in particular of foraminifera. *Palaeontology* 19, 503–515.
- Savage, N.M., 1988. The use of sodium polytungstate for conodont separations. *Journal of Micropalaeontology* 7, 39–40. <https://doi.org/10.1144/jm.7.1.39>
- Slipper, I.J., 2005. Micropalaeontological techniques. *Encyclopaedia of Geology* 3, 470–475.

Appendix 2.B: Sediment particle characteristics

a) Stations characteristics: b) Sediment composition observed in both studied fractions at each station (Qualitative scale of particles abundances: - absent, + rare, ++ common, +++ abundant, ++++ very abundant); Please note the higher contribution of calcitic particles and organic matter for stations Carry and Pampelonne. Station Carry is the only one with larger plant debris. In addition, particle types were very different between the two investigated sediment size fractions at this station.

a) Stations characteristics	Carry	Carry	Collioure	Collioure	Pampelonne	Pampelonne
	125–150 μm	150–500 μm	125–150 μm	150–500 μm	125–150 μm	150–500 μm
Position (WGS84)	43° 18.479' N 5° 09.601' E		42° 31.856' N 3° 05.367' E		43° 13.800' N 6° 41.722' E	
Depth (m)	55		22		35	
CaCO ₃ % (*)	53.5		6.3		86.3	
Organic matter % (**)	4.0		2.5		4.5	
Very fine gravel % (***)	0.0		0.0		2.1	
Very coarse sand %	2.6		0.1		9.6	
Coarse sand %	12.5		3.5		22.0	
Medium sand %	14.5		19.4		22.0	
Fine sand %	15.1		30.9		11.7	
Very fine sand %	17.0		17.2		6.0	
Very coarse silt %	10.5		7.9		4.3	
Coarse silt %	6.1		6.0		4.3	
Medium silt %	5.8		5.2		4.9	
Fine silt %	5.8		4.5		5.6	
Very fine silt %	5.0		3.0		4.3	
Clay %	5.1		2.2		3.3	
b) Type of particles	Carry	Carry	Collioure	Collioure	Pampelonne	Pampelonne
	125–150 μm	150–500 μm	125–150 μm	150–500 μm	125–150 μm	150–500 μm
Inorganic particles						
Quartz	++++	+	++++	++++	+	+
Detrital black particles	+++	+	-	-	-	-
Detrital grey-black particles with metallic sheen	-	-	++++	++++	-	-
Biotite	-	-	+	+	-	-
Magnetite	+	-	+	+	-	-
Organic particles						
Dead foraminifera	+	++	+	+	+++	+++
Bryozoans	++	+++	+	+	++++	+++
Ostracods	+	+	-	-	-	-
Mollusc shells debris	+	++	+	+	+	++
Sea urchin spines	-	+	+	+	-	-
Other sea urchin debris	+	+	-	-	+	+
Other organic calcitic debris	+	+++	-	-	++++	+++
Sponge spicules	+	-	-	-	++	+
Plant debris	++	+++	+	+	+	+

(*) The percentage of carbonate was determined on a dedicated sample of raw sediment. The sediment was dried, ground with a ball mill, then, carbonate content was determined using a Bernard calcimeter.

(**) The percentage of organic matter was measured with the loss by ignition method on 20 g of sediment (dry sediment burned in a muffle oven at 450 °C for 4h30).

(***) Grain size classes follows description after Blott and Pye, 2001.

Blott and Pye, 2001. *Earth Surf. Process. Landforms* 26, 1237–1248 (2001), DOI: 10.1002/esp.261

Appendix 2.C: Recovery rates (%) in the floated fraction for specific groups of foraminiferal species and sediment according to the separation solution and its density.

The tested solutions are TCE: trichloroethylene, ZC: zinc chloride, SPT: sodium polytungstate. The total numbers of individuals (ind.) for the different groups of foraminifera and the total sediment weight (g) in the sample are presented below each rate. All results are presented for the size fraction 125–500 µm.

Station	Solution	Density	Fraction		Total individuals	Hyaline	Porcellaneous	Agglutinated	Epiphytic	Stress-sensitive	Stress-tolerant		Sediment
Carry	TCE	1.46	125–500 µm	%	44.9	59.1	70.0	30.0	37.1	45.7	71.4	%	2.1
				ind.	396	176	20	200	70	92	77	g	9.7
			125–150 µm	%	29.0	34.6	0	24.3	5.0	12.0	44.0	%	1.1
				ind.	93	52	4	37	20	25	25	g	1.5
			150–500 µm	%	49.8	69.4	87.5	31.3	50.0	58.2	84.6	%	2.3
				ind.	303	124	16	163	50	67	52	g	8.2
	ZC	1.7	125–500 µm	%	73.4	75.9	81.8	69.7	79.7	80.4	77.3	%	9.4
				ind.	398	191	22	185	79	102	88	g	9.2
			125–150 µm	%	95.7	98.3	100	92.6	100	100	96.4	%	22.9
				ind.	116	59	3	54	27	31	28	g	1.3
			150–500 µm	%	64.2	65.9	78.9	60.3	69.2	71.8	68.3	%	7.2
				ind.	282	132	19	131	52	71	60	g	7.9
SPT	1.7	125–500 µm	%	84.3	83.1	94.1	84.2	72.7	79.6	90.2	%	4.2	
			ind.	543	231	34	278	77	113	123	g	8.2	
		125–150 µm	%	84.9	83.5	100	84.7	71.4	78.9	94.0	%	4.7	
			ind.	225	85	9	131	28	38	50	g	1.2	
		150–500 µm	%	84.0	82.9	92.0	83.7	73.5	80.0	87.7	%	4.1	
			ind.	318	146	25	147	49	75	73	g	7.0	
SPT	2.1	125–500 µm	%	96.8	97.6	100	95.9	96.2	97.5	97.9	%	8.3	
			ind.	739	296	30	413	79	122	143	g	8.8	
		125–150 µm	%	98.3	99.0	100	97.6	96.7	97.9	100	%	7.4	
			ind.	239	105	9	125	30	47	53	g	1.3	
		150–500 µm	%	96.0	96.9	100	95.1	95.9	97.3	96.7	%	8.5	
			ind.	500	191	21	288	49	75	90	g	7.5	
SPT	2.3	125–500 µm	%	97.3	97.5	95.5	97.2	96.5	95.5	98.8	%	16.5	
			ind.	437	201	22	214	86	110	81	g	6.2	
		125–150 µm	%	99.4	98.9	100	100	100	100	97.2	%	18.9	

Station	Solution	Density	Fraction		Total individuals	Hyaline	Porcellaneous	Agglutinated	Epiphytic	Stress-sensitive	Stress-tolerant		Sediment
				ind.	179	87	7	85	40	49	36	g	1.0
			150–500 µm	%	95.7	96.5	93.3	95.3	93.5	91.8	100	%	16.1
				ind.	258	114	15	129	46	61	45	g	5.3
	SPT	2.5	125–500 µm	%	99.1	98.3	100	100	95.7	96.8	100	%	39.1
				ind.	224	120	7	97	47	63	46	g	6.0
			125–150 µm	%	98.7	97.2	100	100	93.3	95.5	100	%	19.0
				ind.	76	36	1	39	15	22	12	g	1.2
			150–500 µm	%	99.3	98.8	100	100	96.9	97.6	100	%	43.9
				ind.	148	84	6	58	32	41	34	g	4.8
Collioure	TCE	1.46	125–500 µm	%	48.7	70.8	85.9	33.2	30.8	80.0	80.8	%	0.2
				ind.	591	144	71	376	13	80	156	g	25.4
			125–150 µm	%	43.0	87.5	76.9	22.8	100	78.6	76.9	%	0.2
				ind.	86	16	13	57	1	14	13	g	3.8
			150–500 µm	%	49.7	68.8	87.9	35.1	25.0	80.3	81.1	%	0.2
				ind.	505	128	58	319	12	66	143	g	21.5
	ZC	1.7	125–500 µm	%	72.6	88.7	94.2	63.3	0.0	92.4	84.1	%	0.6
				ind.	423	71	69	283	1	66	107	g	21.8
			125–150 µm	%	62.7	92.0	94.4	43.3	NA	94.4	75.8	%	0.3
				ind.	110	25	18	67	0	18	33	g	4.1
			150–500 µm	%	76.0	87.0	94.1	69.4	0.0	91.7	87.8	%	0.6
				ind.	313	46	51	216	1	48	74	g	17.6
	SPT	1.7	125–500 µm	%	71.9	89.7	83.1	63.3	25.0	82.5	89.4	%	1.0
				ind.	851	175	136	540	28	143	235	g	12.6
			125–150 µm	%	73.2	85.2	70.7	69.3	85.7	72.9	90.7	%	0.6
				ind.	265	61	41	163	7	48	118	g	2.6
			150–500 µm	%	71.3	92.1	88.4	60.7	4.8	87.4	88.0	%	1.1
				ind.	586	114	95	377	21	95	117	g	10.0
	SPT	2.1	125–500 µm	%	83.9	84.1	87.6	83.1	73.8	87.3	87.7	%	2.2
				ind.	1003	220	145	638	65	158	268	g	14.9
			125–150 µm	%	93.1	90.7	93.3	94.1	85.0	88.2	92.9	%	1.2
				ind.	303	86	30	187	40	34	98	g	3.3
			150–500 µm	%	80.0	79.9	86.1	78.5	56.0	87.1	84.7	%	2.5
				ind.	700	134	115	451	25	124	170	g	11.6
	SPT	2.3	125–500 µm	%	95.2	97.4	97.3	94.1	100	98.7	97.6	%	2.4
				ind.	778	191	75	512	51	77	125	g	19.1
			125–150 µm	%	93.6	100	100	91.5	100	100	100	%	1.0
				ind.	110	18	10	82	6	11	17	g	3.5
			150–500 µm	%	95.5	97.1	96.9	94.7	100	98.5	97.2	%	2.7
				ind.	668	173	65	430	45	66	108	g	15.6
	SPT	2.5	125–500 µm	%	96.8	94.2	100	97.1	75.0	97.9	95.1	%	4.4
				ind.	495	104	48	343	8	48	82	g	17.6
			125–150 µm	%	94.4	91.3	100	95.0	NA	100	95.2	%	15.1
				ind.	71	23	8	40	0	8	21	g	2.6

Station	Solution	Density	Fraction		Total individuals	Hyaline	Porcellaneous	Agglutinated	Epiphytic	Stress-sensitive	Stress-tolerant		Sediment	
			150–500 μm	%	97.2	95.1	100	97.4	75.0	97.5	95.1	%	2.5	
				ind.	424	81	40	303	8	40	61	g	15.0	
Pampelonne	TCE	1.46	125–500 μm	%	41.5	43.1	56.7	31.1	37.0	40.0	75.0	%	1.5	
				ind.	193	102	30	61	73	105	4	g	12.6	
				125–150 μm	%	42.2	51.2	76.9	13.8	42.9	52.9	75.0	%	1.0
					ind.	83	41	13	29	21	34	4	g	0.6
				150–500 μm	%	40.9	37.7	41.2	46.9	34.6	33.8	NA	%	1.5
					ind.	110	61	17	32	52	71	0	g	11.9
		ZC	1.7	125–500 μm	%	80.8	84.5	58.6	86.4	81.8	75.0	100	%	27.7
				ind.	172	84	29	59	66	96	1	g	11.5	
				125–150 μm	%	89.9	94.3	75.0	88.9	92.3	88.2	100	%	20.4
					ind.	79	35	8	36	26	34	1	g	0.6
				150–500 μm	%	73.1	77.6	52.4	82.6	75.0	67.7	NA	%	28.1
					ind.	93	49	21	23	40	62	0	g	10.8
		SPT	1.7	125–500 μm	%	73.8	70.2	80.8	75.0	66.4	70.8	100	%	7.5
					ind.	271	131	52	88	110	161	6	g	2.9
				125–150 μm	%	69.1	64.6	80.0	69.6	59.3	65.4	100	%	7.3
					ind.	136	65	25	46	54	78	2	g	0.2
				150–500 μm	%	78.5	75.8	81.5	81.0	73.2	75.9	100	%	7.5
					ind.	135	66	27	42	56	83	4	g	2.7
		SPT	2.1	125–500 μm	%	93.1	92.6	94.1	93.4	95.8	96.2	60.0	%	25.3
					ind.	231	121	34	76	96	130	5	g	2.4
				125–150 μm	%	93.6	96.4	94.1	88.9	97.8	98.3	66.7	%	21.9
					ind.	109	56	17	36	45	60	3	g	0.1
				150–500 μm	%	92.6	89.2	94.1	97.5	94.1	94.3	50.0	%	25.5
					ind.	122	65	17	40	51	70	2	g	2.2
	SPT	2.3	125–500 μm	%	86.5	89.1	88.9	78.9	84.8	87.8	NA	%	22.4	
				ind.	74	46	9	19	33	41	0	g	10.3	
			125–150 μm	%	94.1	92.0	100	100	86.7	88.2	NA	%	20.0	
				ind.	34	25	3	6	15	17	0	g	0.7	
			150–500 μm	%	80.0	85.7	83.3	69.2	83.3	87.5	NA	%	22.5	
				ind.	40	21	6	13	18	24	0	g	9.7	
	SPT	2.5	125–500 μm	%	97.0	97.6	100	91.7	96.3	97.4	NA	%	45.4	
				ind.	66	42	12	12	27	39	0	g	10.7	
			125–150 μm	%	100	100	100	100	100	100	NA	%	37.1	
				ind.	31	21	3	7	9	13	0	g	0.5	
			150–500 μm	%	97.0	97.6	100	91.7	96.3	97.4	NA	%	45.4	
				ind.	66	42	12	12	27	39	0	g	10.7	

Appendix 2.D: Complete census of foraminifera.

The tested high density solutions are TCE: trichloroethylene, ZC: zinc chloride, and SPT: sodium polytungstate. The “sink” and the “float” correspond to the parts where foraminifera were found, the total samples is obtained by adding a “float” part to its corresponding “sink”. The sediment size fraction is in micrometres. The volumes are in millilitres and correspond to the volume of sediment washed for each replicate and the volume of each split.

The data base is available at: <https://www.seanoe.org/data/00458/57004/>

Appendix 2.E: Type of samples and separation solutions used in the literature for density separation on foraminifera.

Tested solutions: CCl₄: carbon tetrachloride, TCE: trichloroethylene, ZC: zinc chloride, SPT: sodium polytungstate, SNT sodium thiosulfate. The detailed results of these experiments (when available) are presented appendix 2.F.

Authors	Tested separation solutions	Tested density of the separation solutions	Type of observed foraminiferal fauna	Sampling	Sediment size fractions	Sediment depth
Quantitative data available						
Gibson and Walker (1967)	CCl ₄ , Bromoform	1.59, 2.2	Fossil & recent (living RB-stained + dead)	-	> 74 µm	-
Austin (1991)	CCl ₄	1.59	Fossil	Vibro-cores	> 63 µm	Layers from 2 to 10 cm thick
Semensatto and Dias-Brito (2007)	TCE, SNT, ZC, SPT	1.46, 1.7, 2.5	Total recent (living + dead) unstained	-	62–500 µm	Bulk
Gebhardt and Rupp (2008)	CCl ₄ , ZC	1.59, 1.7	Total recent (living + dead) unstained	-	> 63 µm	-
Schönfeld <i>et al.</i> (2013)	TCE	1.46	Living (RB-stained)	Bulked, box-corer	> 63 µm	0–1 cm
This study	TCE, ZC, SPT	1.46, 1.7, 2.1, 2.3, 2.5	Living (RB-stained)	Sub-cored box-corer	125–150 µm & 150–500 µm	0–1 cm
No quantitative data available						
Wefer (1976)	CCl ₄	1.59	Dead & living (RB-stained)	Core	63–2000 µm	Surface
Lutze (1968)	CCl ₄	1.59	Total recent (living stained + dead)	Core	> 100 µm	0–5 cm
Scott <i>et al.</i> (2003)	CCl ₄	1.59	Dead & living (RB-stained)	Grab	> 63 µm	~0–0.5 cm
Duchemin <i>et al.</i> (2005)	TCE	1.46	Living (RB-stained)	-	63–150 µm & > 150 µm	0–0.5 cm

Appendix 2.F: Literature data: recovery rates (%) in the floated fraction for foraminifera in the total samples according to the separation solution and its density.

The total numbers of individuals (ind.) for the different groups of foraminifera and the total sediment weight (g) in the sample are presented below each rate when available. The different density separation liquids were CCl₄: carbon tetrachloride, TBM: bromoform, TCE: trichloroethylene, SNT: sodium natrium thiosulfate, ZC: zinc chloride, and SPT: sodium polytungstate. Further information on these experiments is presented in appendix 2.D.

Authors	Sample	Solution	Density		Total individuals		Sediment
Gibson and Walker (1967)	2204-1	CCl ₄	1.59	%	61.1	%	-
				ind.	3928	g	-
	2204-1	TBM	2.2	%	97.8	%	-
				ind.	6280	g	-
	2204-2	CCl ₄	1.59	%	69.1	%	-
				ind.	5682	g	-
	2204-2	TBM	2.2	%	96.9	ù	-
				ind.	7968	g	-
Austin (1991)	VE 57/-09/89 1.94-2.00 m	CCl ₄	1.59	%	83.3	%	-
				ind.	445	g	-
	VE 57/-09/89 2.11-2.13 m	CCl ₄	1.59	%	71.4	%	-
				ind.	459	g	-
	VE 57/-09/89 2.13-2.15 m	CCl ₄	1.59	%	70.2	%	-
				ind.	400	g	-
Semensatto and Dias-Brito (2007)		TCE	1.46	%	59.0	%	-
				ind.	288	g	-
		SNT	1.46	%	73.3	%	-
				ind.	351	g	-
		ZC	1.7	%	89.4	%	-
				ind.	428	g	-
		SPT	2.5	%	96.1	%	-
				ind.	467	g	-
Gebhardt and Rupp (2008)	A_ZnCl2	ZC	1.7	%	68.1	%	11.7
				ind.	3136	g	9.4
	A_CCl4	CCl ₄	1.59	%	24.8	%	3.1
				ind.	1576	g	9.6
	B_ZnCl2	ZC	1.7	%	75.7	%	20.3
				ind.	2048	g	12.8
	B_CCl4	CCl ₄	1.59	%	28.9	%	8.3
				ind.	984	g	14.4
Schönfeld <i>et al.</i> (2013)		TCE	1.46	%	63.4	%	-
				ind.	118	g	-

Chapitre 3 : New insights in
environmental quality
assessment by combining
benthic foraminiferal
community studies and
grain size analysis

Abstract

Organic matter enrichment from anthropogenic activities affects many coastal ecosystems, and may be responsible for large changes of their trophic state. Many biotic indices exist to measure the influence of organic enrichment and associated hypoxia/anoxia on benthic soft bottom faunas. However, organic enrichment is a complex process, and it is very difficult to determine the precise factors affecting the benthic faunas. Organic matter is also a complex mixture of various components, only part of which will control the natural trophic state. For instance, the trophic state will only be marginally influenced by rather inert organic detritus from seagrass and algae, whereas the fine organic matter fraction may be much more labile and will have a much higher impact on the overall trophic state of the ecosystem. The contribution of this labile fine organic matter fraction can be estimated by measuring the relative proportion of fine detrital material (clay and fine silt) in the total sediment. In fact, the close link between fine-grained organic matter and detrital material is explained by two mechanisms, the adsorption of organic particles to phyllosilicates and the similar hydrodynamism of organic and detrital particles. The TSI-Med is the only biotic index based on foraminiferal communities that includes a grain size parameter (% grains < 62.5 μm) to correct for the natural trophic state. Here, we investigate whether this grain size parameter adequately describes the natural trophic state. We used a combination of Grain Size Analysis (GSA) and decarbonation and decalcification to extract the Grain Size Distribution (GSD) of detrital, calcitic and organic components of the sediment separately. Additionally, we deconvolved the GSA results to describe individual detrital grain populations. We tested four parameters as proxies for the natural trophic state of the ecosystem: the percentages of grains < 62.5 μm and < 8 μm , and the cumulative percentages of the detrital populations with a mode < 62.5 μm and < 8 μm . These four methods yielded very similar results when applied on our Mediterranean Sea data set. Our results suggest that the simplest method, which is to determine the percentage of grains < 62.5 μm , provides an adequate approximation of the natural trophic state, which can be used in biomonitoring studies.

Keywords: grain size analysis, deconvolution, organic matter, TSI-Med, biomonitoring, trophic conditions

3.1. Introduction

The recognition of environmental degradation due to organic matter enrichment and the introduction of associated other pollutants originating from anthropogenic activities is a main aim of many biomonitoring studies. In fact, introduction of abundant organic matter leads to a modification of the main redox cycles, and can therefore have a major impact on the functioning and quality of coastal areas (Pearson and Stanley, 1979; Hyland *et al.*, 2005). Benthic communities from coastal environments show a succession of communities along organic enrichment gradients (Pearson and Rosenberg, 1978; Jorissen *et al.*, 1995; Jorissen, 1999; Nilsson and Rosenberg, 2000; Rosenberg, 2001). The increase of national and

international environmental awareness and regulations led to the creation of a wide range of biotic indices, which aim to measure the environmental quality (Martínez-Crego *et al.*, 2010; Ferreira *et al.*, 2011; Birk *et al.*, 2012). Many of these indices are based on the paradigm of faunal successions along organic enrichment gradients (*e.g.*, Borja *et al.*, 2000; Simboura and Zenetos, 2002b; Muxika *et al.*, 2007; Simboura and Argyrou, 2010; Labrune *et al.*, 2012). Recently, several indices using benthic foraminiferal communities have been proposed (Hallock *et al.*, 2003; Bouchet *et al.*, 2012, 2018; Barras *et al.*, 2014; Alve *et al.*, 2016, 2019; Jorissen *et al.*, 2018). Like most macrofaunal indices, also the foraminiferal indices depend largely on the community characteristics to assess the impact of this organic matter input on the quality of soft bottom environments.

For all biotic indices, the comparison of the index values of the studied station(s) with those representing reference conditions, considered non-impacted, is essential. This comparison is necessary to determine the Ecological Quality Ratio (EQR) (Borja *et al.*, 2012a). This EQR should measure the deviation in ecological quality, due to anthropogenic impact, from the natural conditions (Borja *et al.*, 2013). However, in the absence of long historical observational records, the description of this reference state mostly relies on arbitrarily chosen reference stations (Borja *et al.*, 2012a). Besides the virtual impossibility to find pristine areas today, the definition of reference conditions is particularly difficult because of diffusive organic enrichment and potential multi pollution mixed effects (Crain *et al.*, 2008; Borja *et al.*, 2012a).

In nature, soft bottom environments without clear anthropogenic impact present a large variety in organic matter input. Some areas, such as river mouth or upwelling areas are characterised by high (natural) organic matter supplies, leading to eutrophic conditions. Other areas, sheltered from continental input, have a much lower natural organic matter input, and can be considered as oligotrophic. Anthropogenic nutrient and/or organic matter input is superposed on this natural variability. The overall trophic state of the ecosystem is therefore determined by the natural trophic state plus the added trophic charge due to anthropogenic input. Since environmental indices are mainly interested in the decrease of environmental quality in response to anthropogenic pressure, it is evident that they should not only consider the overall trophic state, but should especially study the effects of organic enrichment and associated pollutants related to anthropogenic activities. To determine the latter factor, it is essential to determine the natural trophic state first.

Organic matter in the sediment represents a mixture of very different nature and scale, reflecting its multiple origins. From a sedimentological point of view, organic matter can be separated into two main fractions (Bainbridge *et al.*, 2018): 1) a fine fraction adsorbed to phyllosilicates (clay) (Horowitz and Elrick, 1987; Hedges and Keil, 1999; Bock and Mayer, 2000; Arnarson and Keil, 2001) and 2) a coarser fraction composed of larger organic particles (remains of animals, microorganisms, macroalgae, seagrasses at different stages of decomposition, etc.) (Gregorich *et al.*, 2006). Next, both the quantity of continental organic detritus, and of organic

remains resulting from marine biological production may be strongly enhanced by anthropogenic nutrient input (Turner and Rabalais, 1994; Carpenter *et al.*, 1998). And finally, parts of these different organic matter types may be very labile, and contribute considerably to eutrophication phenomena, whereas others (such as cellulose from continental origin, or large remains of macroalgae or sea grasses) are rather refractory, and will hardly affect the benthic ecosystem.

This complex situation makes it extremely difficult to clearly identify the impact of organic matter from anthropogenic origin on soft bottom marine faunas in the marine environment. Since measurements of total organic matter in the sediment fail to distinguish its origin and lability, it is essentially impossible to decide on the basis of such measurements, what is the impact of organic matter input resulting from anthropogenic activities.

Organic matter tends to be enriched in fine-grained sediments (Premuzic *et al.*, 1982; Hedges *et al.*, 1993; Bianchi *et al.*, 2018). Many sedimentological studies have shown a strong negative correlation between grain size and organic matter content (*e.g.*, Burone *et al.*, 2003; Trannum *et al.*, 2006; Magni *et al.*, 2008; Secrieru and Oaie, 2009; Pelletier *et al.*, 2011). This is for two main reasons:

1. Large quantities of organic matter are adsorbed to clay minerals (Hedges *et al.*, 1993; Mayer, 1994; Bock and Mayer, 2000). Since adsorption of organic matter to clay is a slow process, which takes especially place in soils, most organic matter adsorbed to clays is of continental origin (Premuzic *et al.*, 1982; Wilson, 1999; Burone *et al.*, 2003; Burdige, 2006).
2. Due to its low specific weight, organic matter has a hydrodynamic behaviour (Tyson, 2001, 2005; Wakeham *et al.*, 2009; Bao *et al.*, 2016) much more similar to clay and fine silt particles (both are easily transported in suspension) than to coarser mineral particles in the silt and sand fractions (Engel and Macko, 1993). Therefore, clayey sediments in a marine habitat will also be enriched naturally in marine organic matter, deposited simultaneously with clay and fine silt particles, because of the similarity in hydrodynamic behaviour (Tyson, 2001, 2005; Bao *et al.*, 2016).

These two points explaining the link between organic matter and fine-grained sediment have been summarised by Engel and Macko (1993) who distinguished two hypotheses: 1) the adsorptive hypothesis, and 2) the hydrodynamic equivalent hypothesis. The relative importance of these two processes, and the distribution mechanisms of organic matter in shelf sediments in general, are still discussed (Cathalot *et al.*, 2013; Bainbridge *et al.*, 2018; Bianchi *et al.*, 2018; Bao *et al.*, 2019).

No real cutoff exists to designate fine-grained sediment strongly correlated to organic matter. Phyllosilicates, to which organic matter is bound, are the main component of sediment with a grain size $< 4 \mu\text{m}$ (clay). However, phyllosilicates

correspond to a mineralogical definition, which imply that their size can exceed the size of clay (Weaver, 1989). The value of 8 μm as the upper limit of these strongly bound to organic matter particles, representing clay and fine silt, is relevant to test (Keil *et al.*, 1994; De Falco *et al.*, 2004; Magni *et al.*, 2008).

Summarising, in general, fine-grained sediments will be naturally enriched in organic matter, and because part of this organic matter will be labile particulate marine organic matter, fine-grained sediments naturally have a higher trophic status than more coarse-grained sediments. In practice, this means that faunas from clayey substrates contain higher proportions of species adapted to an increased organic load, which are generally considered as “stress-tolerant” (Jorissen, 1987; Armynot du Châtelet *et al.*, 2009; Pelletier *et al.*, 2011; Nicastrò and Bishop, 2013).

In biotic indices, this natural amount of labile organic matter present in the sediment should be taken into account, because it determines the natural trophic state of the ecosystem. In view of the close relationship between sediment grain size and organic matter content, it appears that any natural modification of the grain size distribution of the sediment should also change the trophic state of the ecosystem, which would on its turn affect the characteristics (density, diversity, species composition) of the natural macrofaunal and foraminiferal assemblages. In this paper, we will explore the possibility to use the proportion of fine-grained sediment (clay and fine silt) as a proxy of the fine grain-bound organic matter fraction in the sediment, which determines the natural trophic state of benthic ecosystem.

As indicated before, the total amount of organic matter in a sediment may be extremely heterogeneous. There may be continental organic matter adsorbed to clay particles, refractory Particulate Organic Matter (POM) (*e.g.*, plant remains), labile phytodetritus remains, more or less labile organic matter in macrofaunal/meiofaunal faecal pellets, etc. Eutrophication due to anthropogenic nutrient input may strongly increase marine primary production, and therefore, the input of labile organic matter. In our coastal marine environments, POM measurements are often strongly determined by large macroalgae and seagrass remains, which have only a very limited nutritious value, and are therefore not reflecting the trophic status of the environment.

Here, we will investigate how we can use sediment grain size analysis to characterise the natural trophic status of the environment, and whether and how the quantitative description of grain size can be implemented in biotic indices to correct for this natural trophic status.

As explained before, naturally supplied organic matter will be mainly associated with the detrital fraction of the sediment. By applying a combination of decalcification, decarbonation, and laser grain size analysis, we will not only be able to determine the relative proportions of the detrital, carbonate (resulting from marine biological production) and organic fractions of the sediment, but also the individual grain size distribution of each of these components. Since most labile organic particles will be associated to the detrital clay and fine silt fraction, the

determination of the relative importance of this fraction will allow us to estimate the amount of labile organic matter expected in natural conditions.

Grain size distribution (GSD) studies often use a strictly parametric approach (*e.g.*, percentage of grains of successive size classes, median, skewness, etc.) (Flemming, 2007; Le Roux and Rojas, 2007). However, several studies have shown that it is possible to decompose the overall grain size spectrum into different particle populations, and to reconstruct the grain size distribution of each population separately (Folk and Ward, 1957; Flemming, 1988; Weltje, 1997). We applied a modal approach to do this. This procedure will finally allow us to quantify the detrital clay and fine silt fraction, which is thought to be accompanied in natural conditions by a proportional amount of organic matter.

Different marine environments have sediments with very different characteristics. Therefore, in this study, we test a large set of different sediments, to investigate how sediment characteristics can be used to define the natural trophic status of the sediment. We sampled all along the French Mediterranean coast where very heterogeneous hydrodynamic conditions occur. The Gulf of Lion in the west is composed of a large shelf influenced by Rhône River outflow, leading to naturally enriched conditions. East of the Rhône delta, the shelf is narrower and the sediment is much coarser. Some stations are characterised by sediments with an almost exclusively detrital content whereas others have sediments with a much higher calcitic content. Other stations are characterised by sediments with a high proportion of coarse organic matter (*i.e.* seagrass, macro vegetables debris).

Among the biotic indices that aim to measure environmental quality on the basis of foraminiferal faunas, the TSI-Med index, developed by Barras *et al.* (2014), is based on the proportion of stress-tolerant species. Such species are favoured by high concentrations of organic matter and are tolerant to dysoxia resulting from eutrophication. The TSI-Med index uses the percentage of sediment grains $< 63 \mu\text{m}$ to correct for the natural level of organic enrichment. The choice of the $< 63 \mu\text{m}$ fraction is not entirely corroborated by the sedimentological studies cited before (Cammen, 1982; De Falco *et al.*, 2004; Dinakaran and Krishnayya, 2011; Baudin *et al.*, 2017; Bianchi *et al.*, 2018), which suggest that most of the labile organic fraction is associated with the clay ($< 2 \mu\text{m}$) and fine silt ($2\text{--}8 \mu\text{m}$) fractions of the sediment. In this paper, we will investigate if a more deepgoing sedimentological analysis can allow us to refine the correction for the natural trophic state proposed by Barras *et al.* (2014).

Summarising, the combined integrated analysis of sediment grain size and benthic community composition is a novel approach in biomonitoring studies. In this study, using the analysis of the particle distributions of detrital, calcitic, and organic content of several types of sediment, we aim: 1) to characterise the natural trophic status of the investigated soft bottom environments, 2) to find a reliable and simple sediment descriptor to assess these natural trophic conditions and, 3) to test the use of this sediment descriptor in a biotic index (TSI-Med) aiming to describe the environmental quality.

3.2. Material and methods

3.2.1. Sampling

In spring 2015, we sampled 12 stations along the French Mediterranean coast during the Water Frame Work Directive (WFD) survey, on board the R/V Europe (Figure 3.1). For 12 stations, with very different sediment characteristics, we performed detailed grain size analyses, which are the subject of this paper. Stations in the Gulf of Lion are under the influence of the Rhône river plume; they contain more detrital particles and generally have a smaller grain size. The stations east of the Rhône delta (from Carry to Menton) and in Corsica generally have a larger sediment grain size and can contain much more calcitic particles such as shell debris or maerl. Some stations also have high amounts of large organic matter, typically seagrass and macroalgae remains. At each station, three launches with a Reineck box-corer were performed, to obtain three replicates. The box-cores were sub-cored with a tube of 7.45 cm diameter, and the top centimetre was sliced, stained with 2 g.L^{-1} Rose Bengal and preserved in 96% ethanol, to study foraminiferal assemblages. The procedure follows the FOBIMO recommendations (Schönfeld *et al.*, 2012). At each station, after the sub-core for foraminiferal fauna analysis was taken, the remaining surface sediment (top $\approx 1 \text{ cm}$) of one box-core was sampled with a spoon to fill a 250 mL jar for grain size analyses.

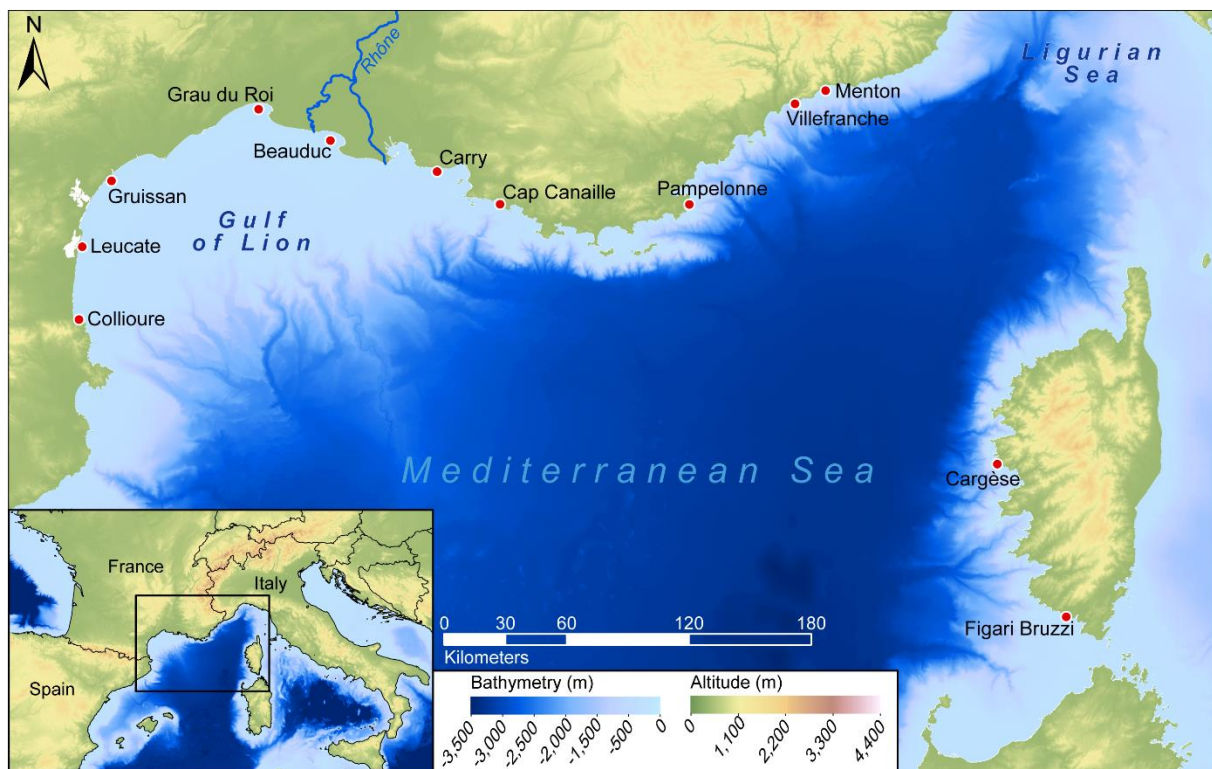


Figure 3.1: Stations sampled during the WFD survey in 2015 and used in this study. Digital elevation models are from Jarvis *et al.* (2008) and Marine Information Service (2016).

3.2.2. Foraminiferal faunas

At the laboratory, foraminifera samples were washed through 63, 125, 150 and 500 μm mesh size sieves. The 125–500 μm size fraction was wet-picked under a stereomicroscope for living foraminifera (Rose Bengal-stained). Foraminifera with a bright and homogeneous protoplasm, in all but the last chambers, were considered as living and preserved in micropaleontological slides. Individuals were determined to the species level. Samples with a high proportion of sand were concentrated using a solution of sodium polytungstate at a density of 2.3 (Parent *et al.*, 2018), prior to picking.

3.2.3. Environmental quality assessment: TSI-Med

The biotic index we used to assess environmental quality is the TSI-Med index developed by Barras *et al.* (2014). In the original description the TSI-Med is based on the percentage of stress-tolerant species ($\%TS_x$) and a grain size parameter, defined as the percentage of grains $< 63 \mu\text{m}$. This limit is in fact 62.5 μm (Wentworth, 1922), which has been rounded off to the first integer above. The calculation of the TSI-Med follows two steps. First, the reference percentage of stress-tolerant species ($\%TS_{ref}$) is determined, in function of the percentage of grains $< 62.5 \mu\text{m}$ in the sediment (Equation 3.1). Secondly, the TSI-Med is calculated by the comparison of $\%TS_{ref}$ with the reference curve (Equation 3.2).

$$\%TS_{ref} = 0.1547 \times (\% \text{ grains } < 62.5 \mu\text{m}) - 0.3638 \quad (3.1)$$

$$TSI - Med = \frac{\%TS_x - \%TS_{ref}}{100 - \%TS_{ref}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.4. Grain size analyses

3.2.4.1. Treatment of the different sediment fractions

In order to analyse the three main types of sediment particles (*i.e.* detrital, calcitic and organic), each sample from the box-core surface (top 1st cm) was divided into four subsamples. Three subsamples, of ≈ 20 g each, were dedicated to grain size analyses (GSA), whereas the fourth subsample, of ≈ 5 g, was used for calcimetry.

The first subsample was directly measured with a Malvern Mastersizer 3000 laser grain sizer to obtain the overall grain size distribution (GSD) of the untreated sediment. Prior to grain size analysis all subsamples were homogenised with a mixer mill, without ball, for 2 min at 17 Hz, and sieved at 2000 μm . The amount of sediment introduced in the laser grain sizer was adjusted to obtain a laser obscuration around 10% for silts to medium sands and 20% for coarse sands.

The second subsample was first dried at 50 °C, and then put into 30% chloric acid for 48 h to remove all calcitic content, prior to homogenisation and laser grain size analysis. The third subsample was dried at 50 °C and burned in a muffle oven at 450 °C for 4h30, to remove all organic content. Next, this third subsample was treated by 30% chloric acid for 48 h to remove all calcite as well. The remaining, strictly detrital, part of this subsample was subjected to homogenisation and laser

grain size analysis. For this third subsample, we determined the total percentage of organic matter by loss on ignition. Finally, we measured the total percentage of calcitic particles on the fourth subsample, after grinding it in a mixer mill for 3 min at 17 Hz, with a Bernard calcimeter, which is considered as a reliable method (Lamas *et al.*, 2005). This succession of analyses is graphically summarised figure 3.2.

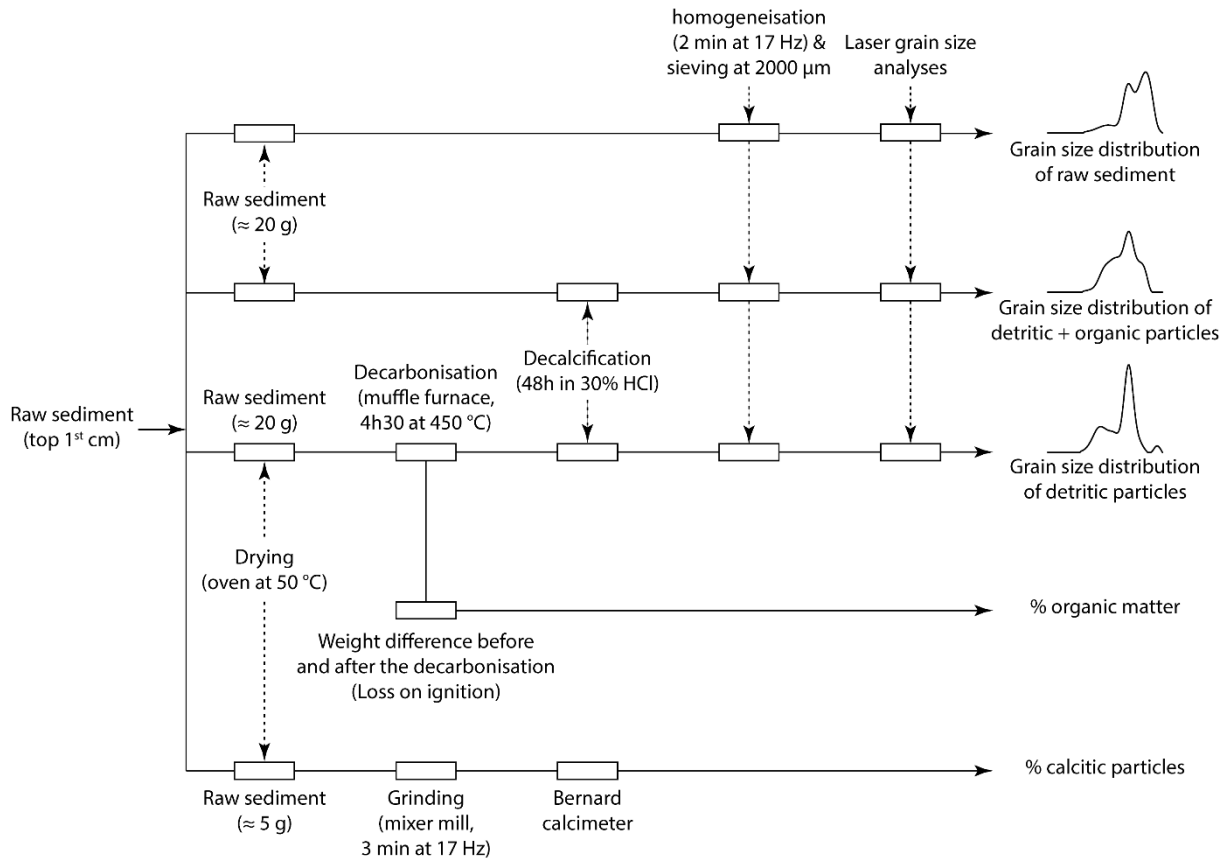


Figure 3.2: Schematic representation of the methodological process for the sediment samples.

3.2.4.2. Size distribution of the different grain populations

From the measurements described in the previous section, we obtain five parameters concerning the sediment composition at each station: the total percentage of 1) CaCO_3 ($\% \text{CaCO}_3$) and 2) organic matter ($\% \text{OM}$), and the relative grain size distribution (GSD) of 3) raw sediment ($dist_{raw}$), 4) decalcified sediment ($dist_{deCaCO_3}$), and 5) decarbonised and decalcified sediment ($dist_{deCaCO_3_deOM}$). These five parameters allow us to reconstruct the GSD of each of the main particle types (*i.e.* calcitic, detrital, and organic matter) from the sediment separately. In the following section, each variable starting with % represents a relative value, the proportional weight of the considered type of sediment grains, whereas all variables with a name starting with *dist* represent the grain size distribution, expressed as a matrix with the samples presented on lines and the proportions of the successive grain size classes (presented as percentages) in columns.

First, we calculated the total weight percentage of detrital particles ($\%detrital$) according to equation 3.3:

$$\%detrital = 100 - (\%CaCO_3 + \%OM) \quad (3.3)$$

Where $\%CaCO_3$ represents the total weight percentage of calcitic content and $\%OM$ the total weight percentage of organic matter. Next, we can deduce the GSD of calcitic particles ($dist_CaCO_3$, equation 3.4).

$$dist_CaCO_3 = dist_raw - \left(dist_deCaCO_3 * \frac{(\%OM + \%detrital)}{100} \right) \quad (3.4)$$

Where $dist_raw$ represents the GSD of the raw sediment, $dist_deCaCO_3$ the GSD of the decarbonised sediment, and $\%OM$ and $\%detrital$ are the total weight percentages of organic matter and detrital particles, respectively.

By applying a similar equation, we obtained the distribution of the detrital particles plus the small amount of ash produced during the loss on ignition procedure ($dist_detrital_plusash$, equation 3.5).

$$dist_detrital_plusash = dist_deCaCO_3_deOM * \frac{\%detrital}{100} \quad (3.5)$$

Where $dist_deCaCO_3_deOM$ represents the GSD of decarbonised and decalcified sediment.

The assessment of the GSD of organic carbon is somewhat more complex. In fact, during the loss on ignition procedure, larger organic particles yield small amounts of ash, which remain present in the decarbonised sample, and may cause a small increase of the smaller grain size classes. Similar to what is usually done in the loss on ignition method, we will neglect this potential small bias by neglecting this process. However, the presence of ash could eventually explain the incidental appearance of small negative values in the smaller size classes of the calculated organic matter GSD.

With this restriction, The GSD of organic matter particles ($dist_OM_minusash$) can be defined as (Equation 3.6):

$$dist_OM_minusash = dist_raw - (dist_detrital_plusash + dist_CaCO_3) \quad (3.6)$$

To summarise, for every sample we obtained distribution patterns for the three major sediment components: the distribution of the calcitic content ($dist_CaCO_3$), of the detrital content ($dist_detrital$), and of the organic matter ($dist_OM$). The sum of these three GSD corresponds to the GSD of the total sediment and can be compared to the distribution of the raw sediment ($dist_raw$).

3.2.5. Deconvolution of the grain size distribution

Grain size distributions (GSD) can be decomposed into several individuals populations of grains (*e.g.*, Folk and Ward, 1957; McLaren and Bowles, 1985; Xiao

et al., 2012). These individual populations can be recognised on size/frequency diagrams by the presence of one or several modes. The deconvolution of the GSD allows us to quantify the individual sediment grain populations present in a sample.

Several models of GSD are discussed in the literature (*e.g.*, log-hyperbolic, Weibull, and log-normal distributions) (Barusseau, 2011). The pertinence of each of these distribution models would depend on the considered grain size fraction and the concerned sedimentary processes (Barusseau *et al.*, 1999; Barusseau, 2011). For our mode analyses, since there appears to be a relative consensus in the literature, we decided to use a log-normal distribution to model each individual population identified in the GSDs (Flemming, 1988; Barusseau, 2011; Xiao *et al.*, 2012; Gammon *et al.*, 2017).

To deconvolve the mixture of grain size populations we used the PeakFit® v4.12 software (SeaSolve Software Inc.; www.seasolve.com). Each GSD was scrutinised to identify all present peaks. Additional peaks, representing hidden populations, were added if this decreased the standard error of the model. After the deconvolution process of the GSD of the detrital content, all peaks with a mode < 62.5 µm were considered as fine-grained material. The total proportion of fine-grained detrital particles was defined as the sum of the areas of all populations with a mode < 62.5 µm compared to the total sediment content. Similarly, all population with modes < 8 µm were considered as the clay/fine silt population.

3.3. Results and discussion

3.3.1. Sediment composition

The calculated weight percentages of detrital, calcitic and organic particles are listed in table 3.1, together with the volume proportion of grains < 62.5 µm and < 8 µm in the total, untreated, sediment. It appears that the 12 investigated stations have very different sediment characteristics, and that no clear correlations exist between the three components and sediment grain size.

The results of the three successive grain size analyses, on raw sediment, on decalcified and on decalcified and decarbonised sediment, are presented in figure 3.3. Two main types of patterns can be distinguished. For some stations, such as Beauduc, Gruissan or Leucate, the three grain size distributions are very similar. Comparison with table 3.1 shows that these samples are characterised by low percentages of Organic Matter (%OM) and by low to intermediate percentages of carbonate. Conversely, a second group of stations, such as Carry, Pampelonne or Villefranche, shows much larger differences between the three grain size distributions. These samples are all rich in carbonate and have a high organic matter content (Table 3.1).

The PCA analysis of the results presented in table 3.1 confirms this picture (Figure 3.4). A first group of samples, with negative scores on dimension 1, is characterised by a sandy sediment (< 40% silt and clay) with a very high percentage of detrital particles (> 65%), a low organic matter content ($\leq 2.5\%$) and a low to intermediate

carbonate content (6–31%). These samples systematically show only minor differences between the three grain size analyses (Figure 3.3).

Stations Menton and Grau du Roi, which plot around zero on dimension 1, but have a high positive score on dimension 2, have more muddy/silty sediments (about 55% < 62.5 μm) with a higher organic matter percentage (3.6–4.9%). The three grain size distributions are again fairly similar.

The five stations plotting on the positive side of dimension 1 are all rich in carbonate (> 50%) and have an elevated %OM ($\geq 4\%$). In this group, Villefranche, and to a lesser degree also Carry, have clayey-silty sediments (63% and 42% respectively), whereas the other three stations have more sandy sediments (less than 25% grains < 62.5 μm). All five stations show large differences between the three successive grain size analyses, indicating that the two main sediment components, detrital grains and carbonate, do not have the same grain size distribution.

Table 3.1: Characteristic elements of the sediment at each station. Organic matter (OM), CaCO_3 , and detrital content are weight percentages and grains < 62.5 μm and < 8 μm are volume percentages.

Station	% OM	% CaCO_3	% detrital	% grains < 62.5 μm	% grains < 8 μm	Change in grain size distribution profiles between the grain size analyses (Figure 3.3)
Collioure	2.5	6.3	91.2	30.1	10.8	Minor
Leucate	1.6	7.1	91.3	9.3	2.2	Minor
Gruissan	2.0	31.1	66.9	18.6	8.1	Minor
Grau du Roi	4.9	29.4	65.7	54.7	11.8	Minor
Beauduc	2.1	30.9	67.0	37.7	8.2	Minor
Carry	4.0	56.5	39.5	41.7	17.2	Major
Cap Canaille	4.1	76.9	19.0	20.5	6.0	Major
Pampelonne	4.5	86.3	9.2	24.6	14.3	Major
Villefranche	8.9	52.4	38.7	62.6	21.3	Major
Menton	3.6	33.0	63.4	53.3	16.4	Minor
Figari Bruzzi	3.9	87.3	8.8	8.1	2.9	Major
Cargèse	1.3	21.3	77.4	0.2	0.0	Minor

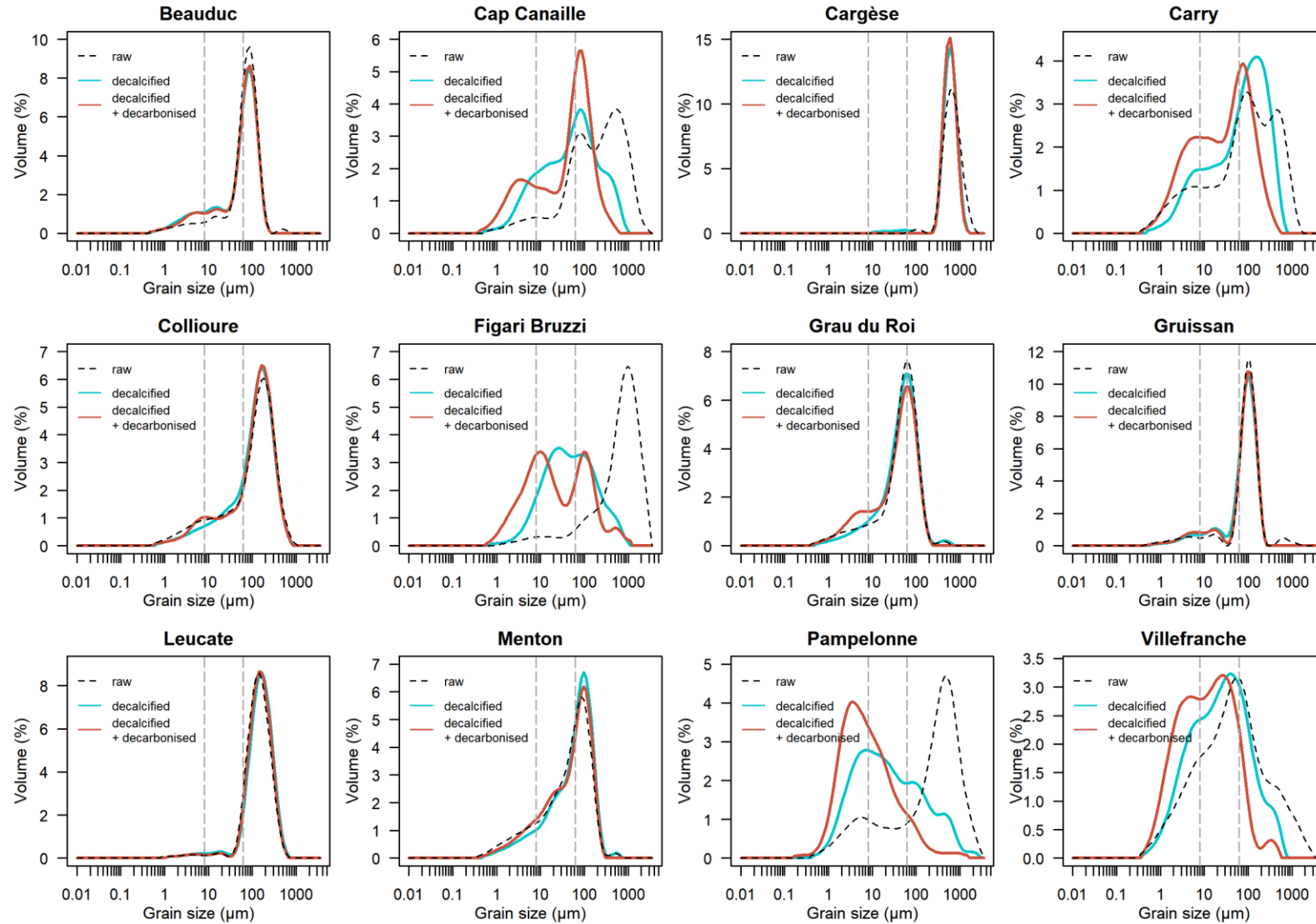


Figure 3.3: Grain size distribution of sediment at each station. The grain size distribution of raw, decalcified, and decalcified + decarbonised sediments are displayed. The vertical dashed lines represent the limits between clay and fine silt at 8 μm and silt and sand at 62.5 μm .

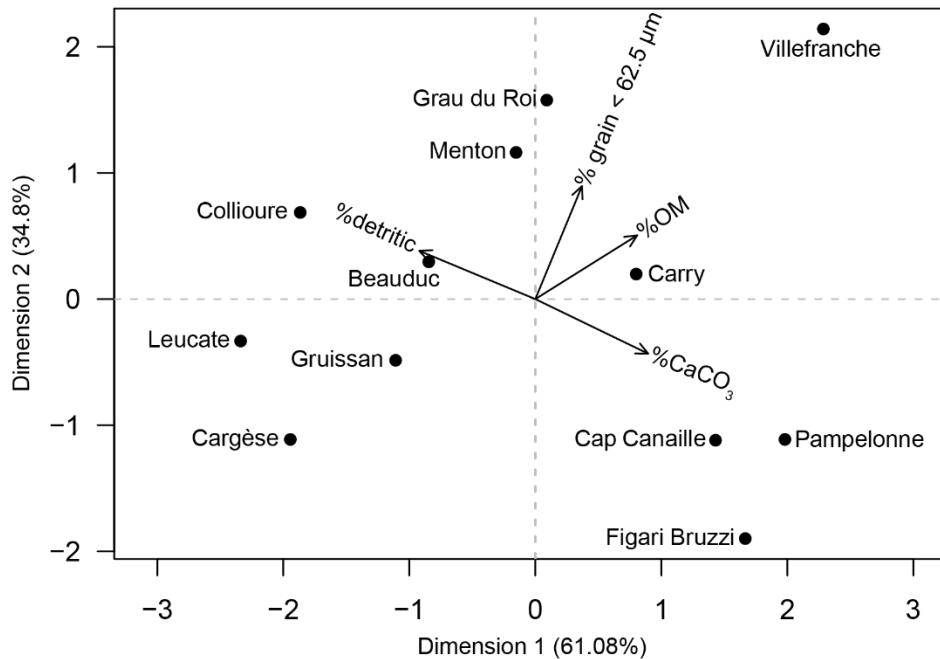


Figure 3.4: PCA based on the proportions of the main types of particle in the sediment (calclitic, detrital, and organic matter) and the proportion of grain < 62.5 μm .

3.3.2. Grain size distribution of the different sediment components

In this section, we present the individual GSD for each of the three main sediment components (*i.e.* detrital and calcitic particles, and organic matter). In figure 3.3, which shows the results of the three successive grain size analyses, the weight percentages of the three components have not been taken into account, and each curve sums up to 100%. By combining the grain size analyses with the data presented in table 3.1, the grain size distribution of each of the three components can be calculated individually (Figures 3.5 and 3.6).

3.3.2.1. Organic matter content: correction for production of ash during the loss on ignition

Figure 3.5 presents the individual GSD of detrital particles and of organic matter. In all samples with a high organic matter content, we can observe a zone with negative values for organic matter towards lower grain size classes (Figure 3.5). These negative values are probably the consequence of the production of ash (with a smaller grain size than the original organic matter) during the loss on ignition treatment. Figure 3.5 shows that the extent of this phenomenon is proportional to the quantity of organic matter present in the sediment. Therefore, a correction has been applied to correct for this artefact by removing the excess particles from the detrital GSD (solid lines in figure 3.5).

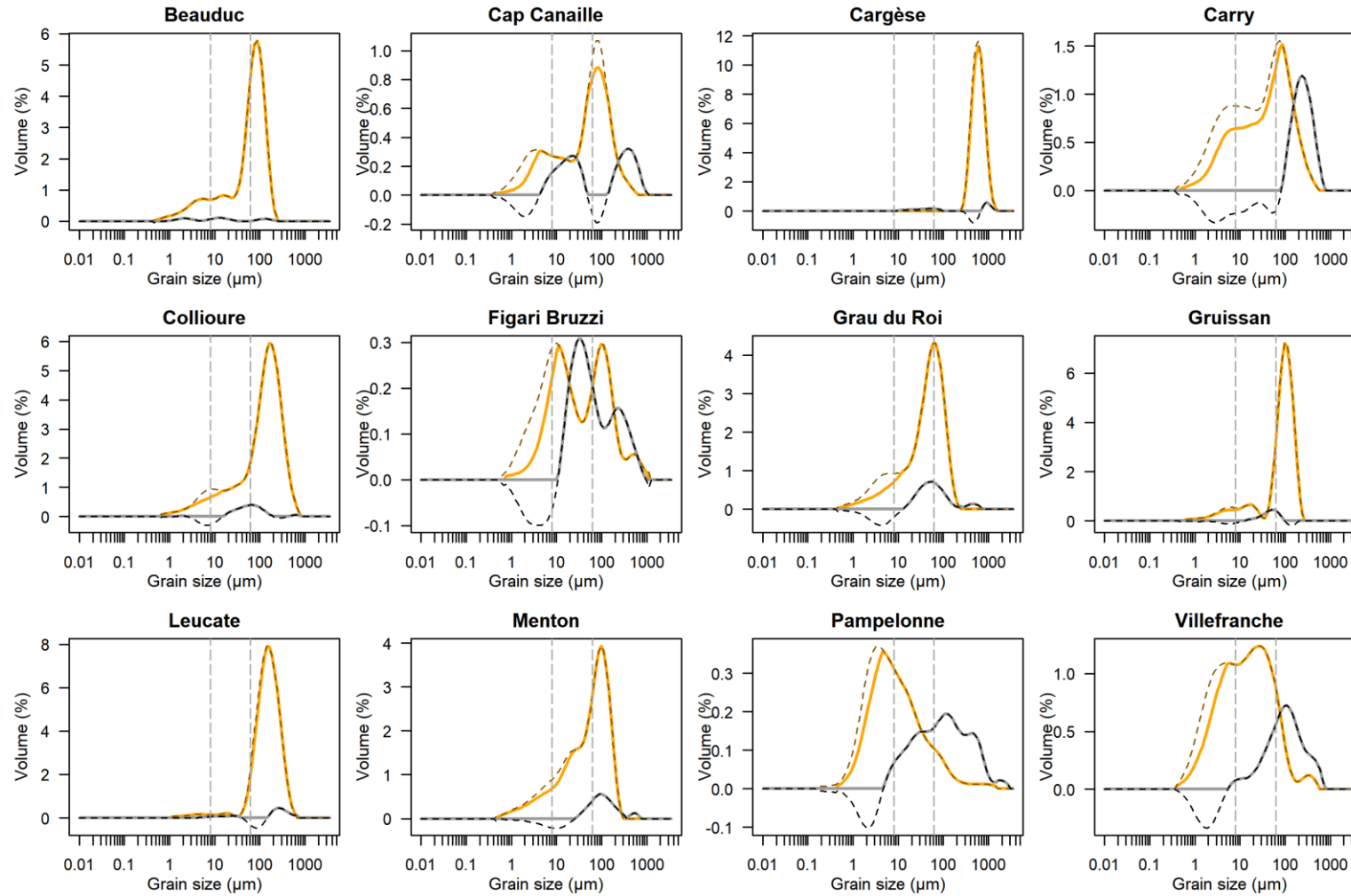


Figure 3.5: Original grain size distribution obtained from the laser grain size analyses of the detrital content rescaled for the weight percentage of the detrital content in the sediment (orange dashed lines) and the calculated organic matter grain size distribution (black dashed lines). The same grain size distributions corrected for the presence of ashes (solid lines), detrital content (orange) and organic matter (grey). The vertical dashed lines represent the limits between clay and fine silt at 8 µm and silt and sand at 62.5 µm.

3.3.2.2. Individual grain size distribution of the three sediment components

In figure 3.6, the GSD of the three main particle types is plotted according to their proportions in the raw sediment, the three GSD together account for 100%. We can see that not only the proportions of these three particle types are very different between the stations, but also that the GSD of these three components can be different in a single sample.

In the samples with a low calcitic content (*e.g.*, stations Collioure, Cargèse, and Leucate), the GSD of the detrital content is roughly the same as that of the raw sediment. Conversely, in samples with a high calcitic content (*e.g.*, stations Pampelonne and Figari Bruzzi), the GSD of the detrital fraction alone is often very different from the GSD of the raw sediment.

At several stations with a sediment rich in carbonate (stations Cap Canaille, Carry, Villefranche), the GSD of the calcitic content presents two modes, one around 600 μm , and a second one around 100 μm . In these cases, visual observations suggest that the coarser mode corresponds to shell debris, whereas the smaller mode represents foraminifera.

At stations with abundant organic matter (*e.g.*, stations Carry and Villefranche), the GSD shows a dominant population with a mode of 100–300 μm (Figure 3.6). Visual observation of the sediment shows that this corresponds to the remains of sea grasses and macroalgae.

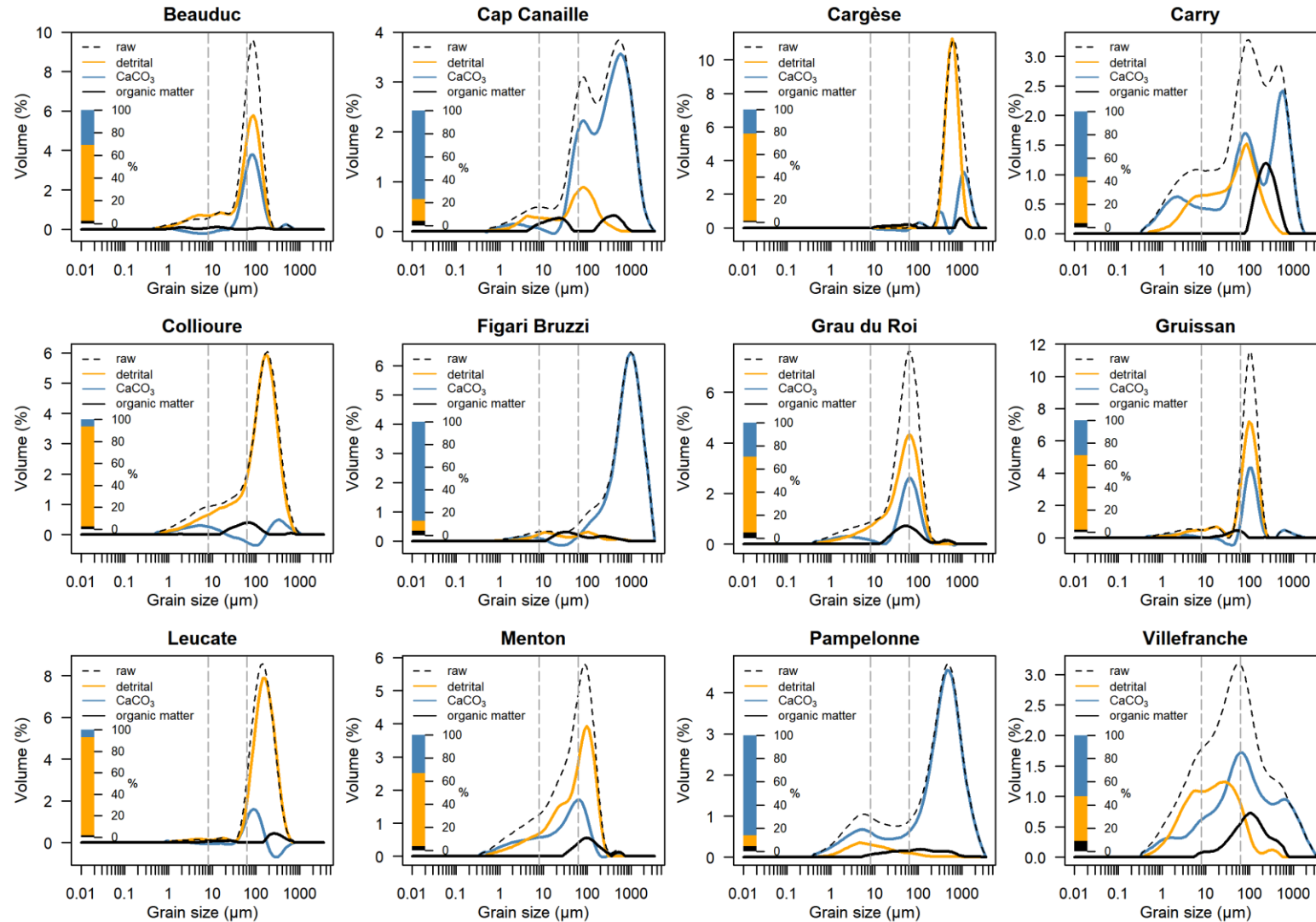


Figure 3.6: Grain size distribution of the raw sediment and the main types of particles (carbonate, siliciclastic, and organic matter) for each station. The vertical dashed lines represent the limits between clay and fine silt at 8 μm and silt and sand at 62.5 μm . The bars on the left represent the total proportions of the three main types of particles (carbonate, blue; siliciclastic, yellow; and organic matter, black).

3.3.3. Deconvolution of the grain size distribution of the detrital content

A deconvolution procedure has been applied to separate the GSD of the detrital content into individual particle populations (Figure 3.7). Each population is characterised by a log-normal distribution and can therefore be characterised by its mode. In table 3.2, for all 12 stations, the different modes, as well as the proportional volume of each detrital grain size population are listed, together with the cumulative percentage of particles belonging to populations with modes $< 62.5 \mu\text{m}$ and $< 8 \mu\text{m}$, and the percentage of detrital grains $< 62.5 \mu\text{m}$ and $< 8 \mu\text{m}$ as determined by the original GSA.

In figure 3.8, the total (volume) percentage of grains $< 62.5 \mu\text{m}$, measured on the whole sediment (used in the TSI-Med index, Barras *et al.*, 2014), is plotted against a) the cumulative percentage of all detrital populations with a mode $< 62.5 \mu\text{m}$, and b) the cumulative percentage of all detrital populations with modes $< 8 \mu\text{m}$ (clay and very fine silt). Figure 3.8c compares the percentages of grains $< 62.5 \mu\text{m}$ and $< 8 \mu\text{m}$ measured on the raw sediment. All three graphs show a strong positive correlation, with a good alignment of all points. This suggests that a simple measurement of the volume percentage of grains $< 62.5 \mu\text{m}$ performed on the whole, untreated sample, can be considered as representative of each of the two more precisely defined assemblages. However, the investigated number of samples is too small to definitely conclude that this is always the case. It is interesting to note that on figure 3.8a, all samples plot below the 1:1 line. This is because only the detrital part of the sediment is taken into account when individual populations are considered, whereas the whole sediment (including calcitic and organic fractions) is considered for the basic measurement of grains $< 62.5 \mu\text{m}$.

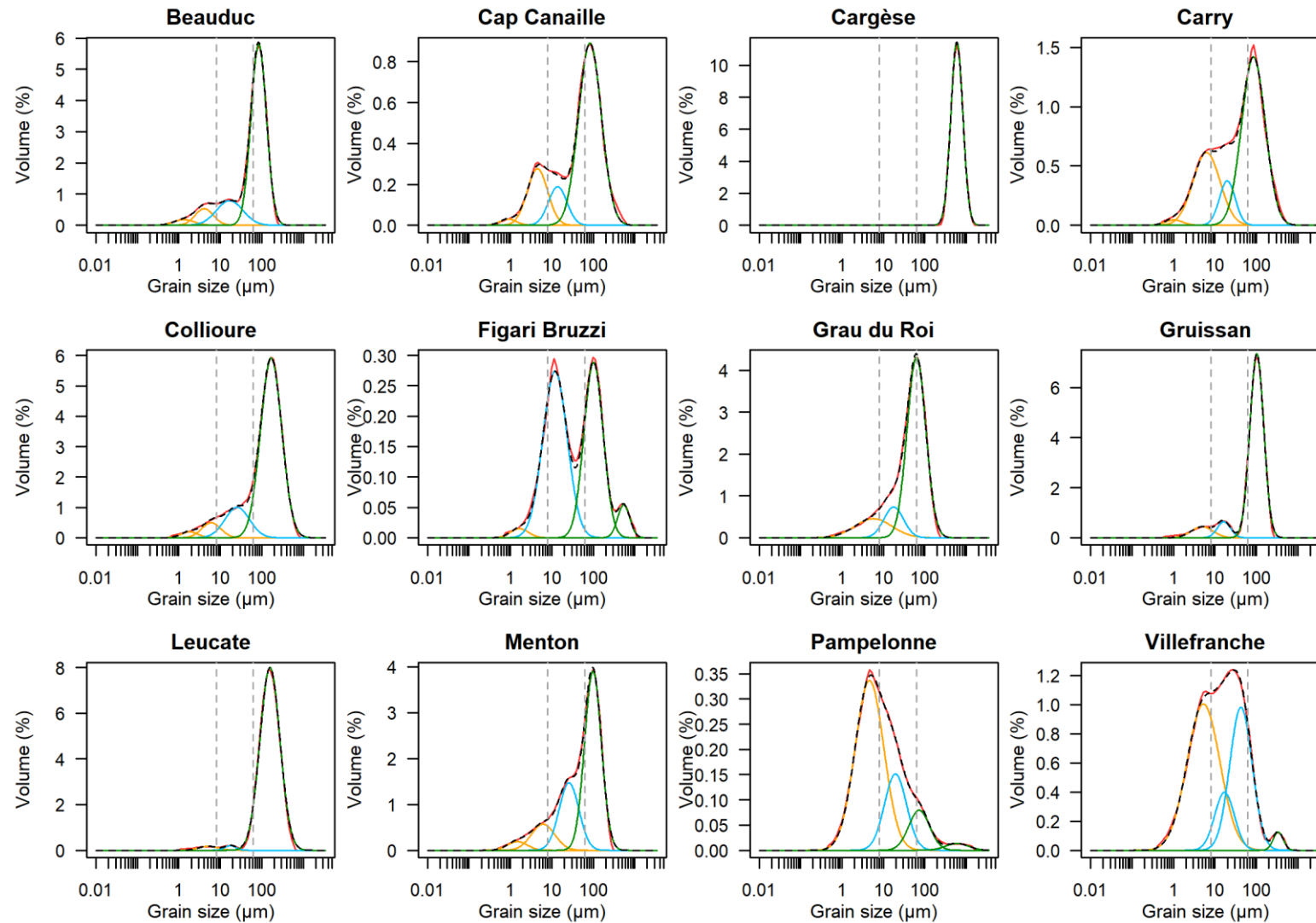


Figure 3.7: Grain size distribution of the detrital sediment and the deconvolved populations for each station. Green: populations with a mode $\geq 62.5 \mu\text{m}$, blue, populations with a mode $< 62.5 \mu\text{m}$ and $\geq 8 \mu\text{m}$, orange, populations with a mode $< 8 \mu\text{m}$. Red: distribution of detrital particles; dashed black: model. The vertical dashed grey lines represent the limit between coarse silt and sand at $62.5 \mu\text{m}$ and very fine and fine silt at $8 \mu\text{m}$.

Table 3.2: Results of the deconvolution procedure of the detrital fraction. For each station, the mode of all deconvolved grain populations is presented together with the percentage of the population with respect to the total raw sediment. Modes are organised by size windows in columns b) to f). The total percentages of detrital populations with a mode < 62.5 μm and < 8 μm are presented in columns g) and h), respectively. The percentages of grains < 62.5 μm and < 8 μm as determined by the untreated grain size analysis are presented in columns i) and j), respectively.

a) Station	b)		c)		d)		e)		f)		g)	h)	i)	j)
	0-4 μm (clay)		4-8 μm (very fine silt)		8-62.5 μm (fine-coarse silt)		62.5-250 μm (very fine-fine sand)		> 250 μm (medium-coarse sand)		% detrital mode < 62.5 μm	% detrital mode < 8 μm	% grains < 62.5 μm	% grains < 8 μm
	mode (μm)	population %	mode (μm)	population %	mode (μm)	population %	mode (μm)	population %	mode (μm)	population %				
Leucate			5.18	1.9	17.63	1.2	158.00	87.6			3.1	1.9	9.3	2.2
Collioure	1.81	1.8	6.08	5.2	25.71	13.4	168.73	68.3			20.4	7.0	30.1	10.8
Cargèse									590.46	75.2	0.0	0.0	0.2	0.0
Beauduc	1.34	2.0	4.11	5.3	16.95	11.4	84.33	48.7			18.7	7.3	37.7	8.2
Gruissan			4.92	5.2	16.42	4.6	102.07	55.4			9.9	5.2	18.6	8.1
Grau du Roi			5.75	9.2	17.73	7.9	62.67	44.1			17.1	9.2	54.7	11.8
Menton	1.47	2.1	6.15	7.3	25.94	15.9	98.16	35.6			25.3	9.3	53.3	16.4
Carry	1.03	0.4	6.26	9.1	19.83	3.2	84.71	18.3			12.7	9.5	41.7	17.2
Villefranche			5.28	18.0	16.99	4.3			335.92	0.7	34.3	18.0	62.6	21.3
Cap Canaille	0.88	0.3	4.50	3.1	13.85	1.9	83.01	11.1			5.3	3.4	20.5	6.0
Pampelonne			4.61	5.3	19.53	1.8	73.14	0.9	596.90	0.2	7.1	5.3	24.6	14.3
Figari Bruzzi	1.66	0.2			11.93	3.6	101.33	3.0	541.30	0.4	3.8	0.2	8.1	2.9

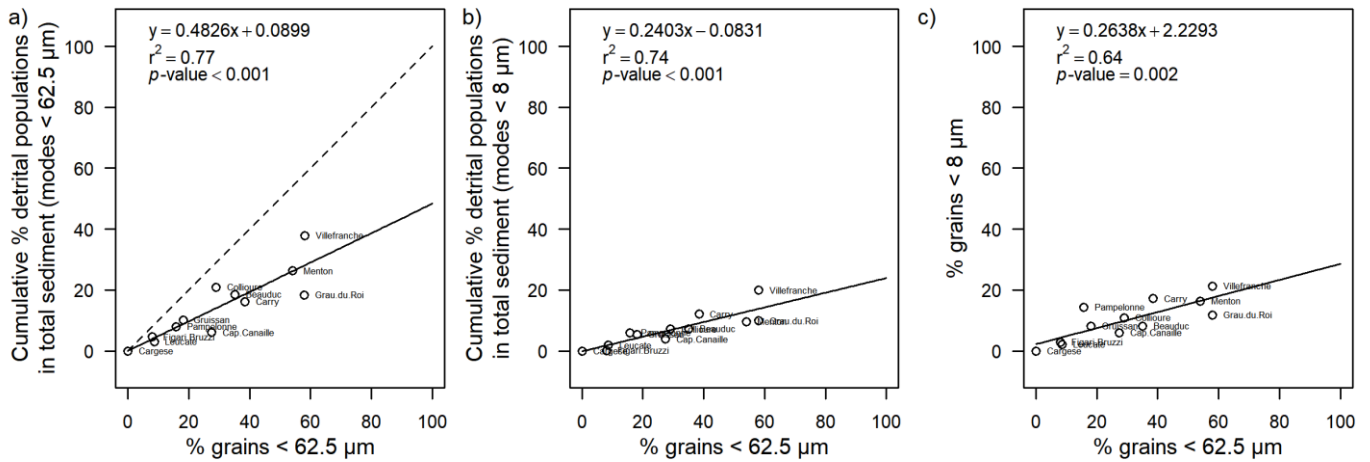


Figure 3.8: Comparison of grain size measurements. a) Percentage of grains < 62.5 μm in the raw sediment plotted against the cumulative percentage of detrital grain populations < 62.5 μm, dash line = 1:1. b) Idem, but now plotted against the cumulative percentage of detrital grain populations < 8 μm. c) Idem, but plotted against the volume percentage of grains < 8 μm in the raw sediment. Solid lines are the regression lines.

3.3.4. Utilisation of GSA data in biotic indices: how to correct for the natural trophic status?

In the first version of TSI-Med, published by Barras *et al.* (2014), the weight percentage of sediment grains < 63 μm (in reality, 62.5 μm is the limit between silt and very fine sand, Wentworth, 1922), is used to correct for the natural trophic state. This correction is based on the hypothesis of a strong natural relationship between fine-grained detrital input and organic matter (Premuzic *et al.*, 1982; Burone *et al.*, 2003; Bianchi *et al.*, 2018). In a natural environment, there would therefore also be a relationship between the relative proportion of fine-grained sediment and the percentage of foraminiferal taxa tolerant for increased organic input. In case of anthropogenic eutrophication, the introduction of organic matter would be increased with respect to the natural ratio between organic matter and the proportion of fine-grained detrital components, leading to increased frequencies of stress-tolerant taxa.

In this paper, we investigate the grain size distribution of individual sediment components, because several studies show that organic matter is preferentially associated with the detrital clay and very fine silt fraction (*e.g.*, Keil *et al.*, 1994; Burone *et al.*, 2003; De Falco *et al.*, 2004; Magni *et al.*, 2008; Secieru and Oaie, 2009). Dilution of the detrital sediment fraction with large amounts of calcitic material (shell remains) will change the proportion of sediment grains < 62.5 μm, it will also change the nature of the habitat, and will perhaps also change the natural trophic status, making the ecosystem less eutrophic, by diluting the labile organic compounds. For these reasons, we think that it is preferable to define this natural trophic status on the basis of the GSD of only the cumulative percentage of detrital grain populations < 62.5 μm (because labile organic compounds are associated with this fraction), but consider the proportion of this fraction compared to the total sediment. Such an approach is very different from the more basic one, based on a grain size analysis of the whole sediment proposed by Barras *et al.* (2014).

Next, since several literature studies conclusively show that organic matter is preferentially associated with the clay and very fine silt fraction (*e.g.*, Cammen, 1982; De Falco *et al.*, 2004; Dinakaran and Krishnayya, 2011; Bianchi *et al.*, 2018), it appeared more logical to define the trophic status by quantifying the proportion of the grain populations $< 8 \mu\text{m}$. In the previous section, we showed that in our test set of 12 samples, there is a strong positive correlation between the percentage of grains $< 63 \mu\text{m}$ measured on the total sample (as proposed by Barras *et al.*, 2014) and the cumulative percentage of the populations of detrital grains $< 8 \mu\text{m}$. This suggests that although for theoretical reasons, the latter approach may be preferable, in practice the method propose by Barras *et al.* (2014) may be satisfying. In the following, we will test both approaches.

After calculating the cumulative proportions of all population of grains $< 62.5 \mu\text{m}$ and $< 8 \mu\text{m}$ in the detrital fraction (counting the whole population when the mode is below $62.5 \mu\text{m}$ or $8 \mu\text{m}$), it is necessary to redefine the relationship between grain size and the percentage of stress-tolerant species in natural conditions. This is done by determining a regression curve which passes through the samples with a minimum percentage of stress-tolerant taxa for various grain sizes (Barras *et al.*, 2014).

In figure 3.9a, the percentage of stress-tolerant species (%TS) observed at the various stations is plotted against the percentage of grains $< 62.5 \mu\text{m}$ measured on the whole sample. In order to compare strictly similar patterns, we calculated a new reference curve for the 12 stations used for this comparison, according to the method described by Barras *et al.* (2014) (Equation 3.7 and figure 3.9a).

$$\%TS_{ref\ inf62.5} = 0.1926 \times (\% \text{ grains } < 62.5 \mu\text{m}) - 0.1853 \quad (3.7)$$

We observe that this curve based on the 2015 data is very similar to the reference curve from Barras *et al.* (2015) estimated from the 2012 data (dashed line in figure 3.9a). This suggests that the 12 studied samples can be considered as representative for the whole data set, consisting of 28 stations.

Next, references curves were calculated in the same way for the %TS plotted versus the cumulative percentage of detrital grain populations $< 62.5 \mu\text{m}$ and $< 8 \mu\text{m}$, and the percentage of grains $< 8 \mu\text{m}$ (Figures 3.9b, 3.9c and 3.9d).

$$\%TS_{ref\ mode62.5} = 0.3662 \times (\% \text{ mode } < 62.5 \mu\text{m}) - 0.7877 \quad (3.8)$$

$$\%TS_{ref\ mode8} = 0.4812 \times (\% \text{ mode } < 8 \mu\text{m}) + 1.0361 \quad (3.9)$$

$$\%TS_{ref\ inf8} = 0.3589 \times (\% \text{ grains } < 8 \mu\text{m}) + 0.8386 \quad (3.10)$$

In all four graphs, the solid lines connect the points with a minimum %TS for various grain sizes, and are supposed to reflect the natural trophic status. The comparison of figures 3.9a and 3.9b confirms that the percentage of grains $< 62.5 \mu\text{m}$ decreases when we only consider the detrital part of the sediment. Since the percentage of tolerant species remains the same, this results in a much steeper regression line.

If we look at the relation between the cumulative percentage of detrital populations with modes $< 8 \mu\text{m}$ and %TS (Figure 3.9c), we logically find a still steeper regression line. In fact, it is not surprising that in natural conditions, a very clayey substrate contains a very large majority of stress-tolerant taxa; numerous examples of such conditions can be found in the literature (*e.g.*, Jorissen, 1987; van der Zwaan and Jorissen, 1991; Duijnsteet *et al.*, 2003; Diz *et al.*, 2006; Armynot du Châtelet *et al.*, 2009; Dessandier *et al.*, 2016). Similar as for the $< 62.5 \mu\text{m}$ fraction, when we consider the percentage of grains $< 8 \mu\text{m}$ in the whole sediment (including calcitic and organic fractions), the regression line for the natural trophic state is less steep (Figure 3.9d). In both cases the regression line based on the whole sediment is less steep than the regression based on the cumulative percentage of all populations of the detrital fraction with modes below the threshold value. However, the less steep curves obtained for the whole sediment GSA does not imply that the correction for natural trophic state is weaker.

To verify that the calculation of the %TS_{ref} on the basis of the detrital populations $< 8 \mu\text{m}$ does not cause, for the 12 samples tested here, a main difference compared to the original method of Barras *et al.* (2014), who based the %TS_{ref} on the volume percentage of grains $< 62.5 \mu\text{m}$ measured on the raw sediment, we calculated TSI-Med values for each of the four methods. In figure 3.10, we see only some minor differences between the four methods, with a maximum difference in TSI-Med of about 5 units.

It is evident that the present test set of 12 samples is too small to take a definitive conclusion; both methods should be tested in a much larger data set. On the basis of theoretical considerations, it appears preferable to base the characterisation of the trophic state of the environment (and the expected percentage of stress-tolerant taxa) on the relative proportion of clay and very fine silt particles in the detrital fraction alone. However, the very strong correlation with the percentage of clay and very fine silt particles in the detrital fraction and the proportion of grains $< 62.5 \mu\text{m}$ in the total sediment, and the very similar TSI-Med values calculated for all samples of the data set, suggest that the much easier method proposed by Barras *et al.* (2014) may be just as efficient.

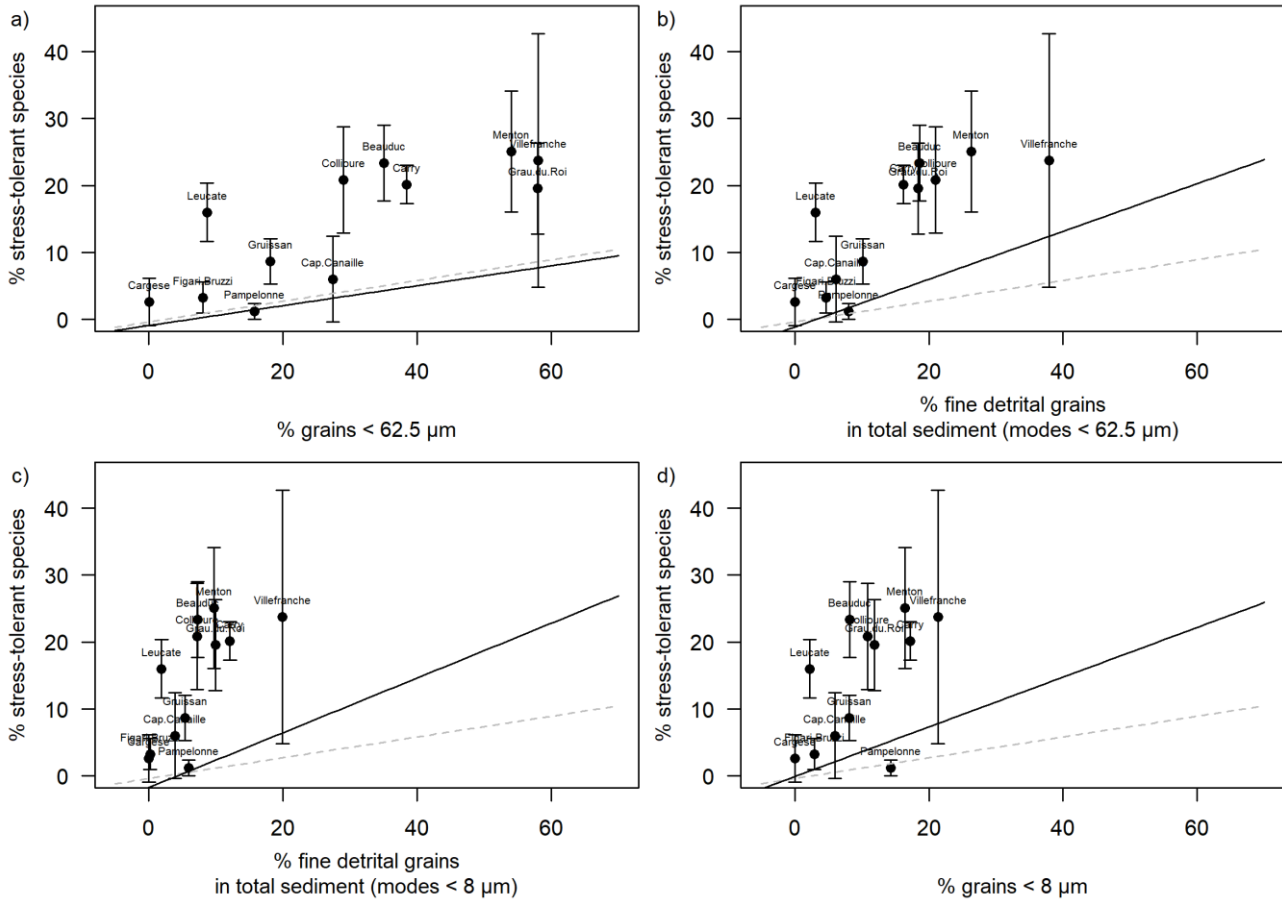


Figure 3.9: Percentages of stress-tolerant species compared to a) the percentages of grains < 62.5 μm in the raw sample, b) the cumulative percentage of fine detrital particle populations with a mode < 62.5 μm , c) for the cumulative percentage of fine detrital particle populations with a mode < 8 μm , and d) the percentage of grains < 8 μm . The solid regression lines correspond to the reference curve used in the TSI-Med to correct for the natural trophic conditions. The equations are for a) equation 3.7, for b) equation 3.8, for c) equation 3.9, and for d) equation 3.10. The dashed lines represents the original TSI-Med reference curve based on Barras et al. (2015) and correspond to the equation 3.1.

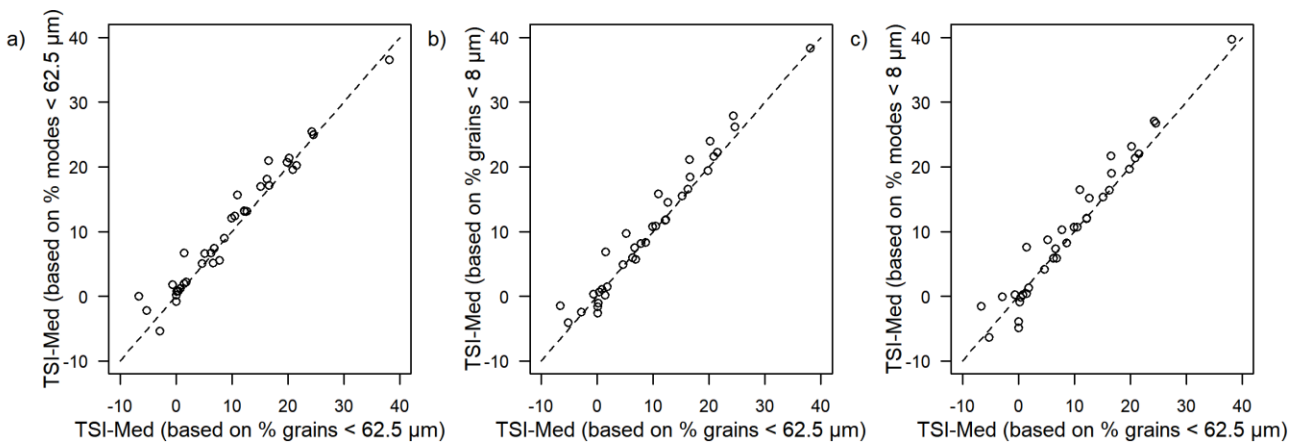


Figure 3.10: Original TSI-Med calculation, using the % grains < 62.5 μm to correct for natural trophic state against the TSI-Med calculated using a) cumulative percentage of detrital populations with a mode < 62.5 μm , b) cumulative percentage of detrital populations with a mode < 8 μm , and c) percentage of grains < 8 μm . Dashed lines = 1:1.

3.4. Conclusion

Organic matter in sediment is a mixture of different particle types with a different origin. Anthropogenic eutrophication is a process that is tracked by biomonitoring studies. We use sequential grain size analyses to estimate the natural organic load, which is thought to vary in function of sediment grain size. In natural coastal ecosystems, organic matter is preferentially associated with the clay and very fine silt fractions (Premuzic *et al.*, 1982; Burdige, 2006). In fact, organic matter is not only adsorbed to clay minerals, but also have a similar hydrodynamic behaviour as the sediment particles of this grain size (Tyson, 2001, 2005; Bao *et al.*, 2016).

The grain size analysis on raw, decalcified, and decalcified and decarbonised sediment allows to separate the populations of different type of particles (calcitic, detrital, organic matter), and to obtain their individual GSD. A deconvolution procedure allows us to distinguish all grain populations of the detrital fraction. We think that in view of the close relation between organic matter and the clay and very fine silt fractions of the sediment, the cumulative percentage of the populations of detrital grains smaller than 8 μm best represents the natural trophic status of a sedimentary environment. Different natural trophic states would be characterised by different percentages of stress-tolerant taxa. Comparing the percentage of stress-tolerant taxa found at a certain site with the proportion expected in natural conditions makes it therefore possible to determine which part has been added in response to anthropogenic rise of trophic state, due to organic matter and nutrient input.

The obtained reference curve for the natural trophic state correction is steeper when the cumulative percentage of detrital populations with a mode < 8 μm is used, compared to the curve based on the percentage of grains < 62.5 μm in the total sediment (Figure 3.9). However, the correction for natural trophic state remains very similar compared to the original method of Barras *et al.* (2014). Therefore, it seems that the much more straightforward measurement of the percentage of grains < 62.5 μm in the whole sediment is an adequate method to quantitatively estimate the trophic state of the ecosystem, and should be included in biomonitoring studies.

References

- Alve, E., Korsun, S., Schönfeld, J., Dijkstra, N., Golikova, E., Hess, S., Husum, K., et al. 2016. Foram-AMBI: A sensitivity index based on benthic foraminiferal faunas from North-East Atlantic and Arctic fjords, continental shelves and slopes. *Marine Micropaleontology*, 122: 1–12.
- Alve, E., Hess, S., Bouchet, V. M. P., Dolven, J. K., and Rygg, B. 2019. Intercalibration of benthic foraminiferal and macrofaunal biotic indices: An example from the Norwegian Skagerrak coast (NE North Sea). *Ecological Indicators*, 96: 107–115.
- Armynot du Châtelet, É., Bout-Roumazeilles, V., Riboulleau, A., and Trentesaux, A. 2009. Sediment (grain size and clay mineralogy) and organic matter quality control on living benthic foraminifera. *Revue de Micropaléontologie*, 52: 75–84.

- Arnarson, T. S., and Keil, R. G. 2001. Organic–mineral interactions in marine sediments studied using density fractionation and X-ray photoelectron spectroscopy. *Organic Geochemistry*, 32: 1401–1415.
- Bainbridge, Z., Lewis, S., Bartley, R., Fabricius, K., Collier, C., Waterhouse, J., Garzon-Garcia, A., et al. 2018. Fine sediment and particulate organic matter: A review and case study on ridge-to-reef transport, transformations, fates, and impacts on marine ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*, 135: 1205–1220.
- Bao, R., McIntyre, C., Zhao, M., Zhu, C., Kao, S.-J., and Eglinton, T. I. 2016. Widespread dispersal and aging of organic carbon in shallow marginal seas. *Geology*, 44: 791–794.
- Bao, R., Zhao, M., McNichol, A., Galy, V., McIntyre, C., Haghypour, N., and Eglinton, T. I. 2019. Temporal constraints on lateral organic matter transport along a coastal mud belt. *Organic Geochemistry*, 128: 86–93.
- Barras, C., Jorissen, F. J., Labruno, C., Andral, B., and Boissery, P. 2014. Live benthic foraminiferal faunas from the French Mediterranean Coast: Towards a new biotic index of environmental quality. *Ecological Indicators*, 36: 719–743.
- Barras, C., Jorissen, F. J., Parent, B., Bicchi, E., Charrieau, L., and Schmidt, S. 2015. Étude des faunes de foraminifères benthiques de la côte méditerranéenne française : mise en place d'un nouvel indice biotique dans le cadre de Directive Cadre Eau - Campagne DCE 2012. UMR CNRS 6112 LPG-BIAF, Université d'Angers, Angers, France.
- Barusseau, J.-P., Diouf, M. B., de la Bardonne, M., and El Ghandour, N. 1999. Méthodologie pour une simulation des transformations granulométriques de sables de la zone d'avant-côte. *Oceanologica Acta*, 22: 179–191.
- Barusseau, J.-P. 2011. Influence of Mixtures of Grain-Size Populations on the Parametric and Modal Characteristics of Coastal Sands (Herauld, Mediterranean Sea, France). *Journal of Sedimentary Research*, 81: 611–629.
- Baudin, F., Tribouillard, N., and Trichet, J. 2017. *Géologie de la matière organique. Géosphères*. EDP Sciences.
- Bianchi, T. S., Cui, X., Blair, N. E., Burdige, D. J., Eglinton, T. I., and Galy, V. 2018. Centers of organic carbon burial and oxidation at the land-ocean interface. *Organic Geochemistry*, 115: 138–155.
- Birk, S., Bonne, W., Borja, A., Brucet, S., Courrat, A., Poikane, S., Solimini, A., et al. 2012. Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecological Indicators*, 18: 31–41.
- Bock, M. J., and Mayer, L. M. 2000. Mesodensity organo–clay associations in a near-shore sediment. *Marine Geology*, 163: 65–75.
- Borja, Á., Franco, J., and Pérez, V. 2000. A Marine Biotic Index to Establish the Ecological Quality of Soft-Bottom Benthos Within European Estuarine and Coastal Environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 1100–1114.
- Borja, Á., Dauer, D. M., and Grémare, A. 2012. The importance of setting targets and reference conditions in assessing marine ecosystem quality. *Ecological Indicators*, 12: 1–7.

- Borja, Á., Elliott, M., Andersen, J. H., Cardoso, A. C., Carstensen, J., Ferreira, J. G., Heiskanen, A.-S., et al. 2013. Good Environmental Status of marine ecosystems: What is it and how do we know when we have attained it? *Marine Pollution Bulletin*, 76: 16–27.
- Bouchet, V. M. P., Alve, E., Rygg, B., and Telford, R. J. 2012. Benthic foraminifera provide a promising tool for ecological quality assessment of marine waters. *Ecological Indicators*, 23: 66–75.
- Bouchet, V. M. P., Goberville, E., and Frontalini, F. 2018. Benthic foraminifera to assess Ecological Quality Statuses in Italian transitional waters. *Ecological Indicators*, 84: 130–139.
- Burdige, D. J. 2006. *Geochemistry of Marine Sediments*. Princeton University Press. 609 pp.
- Burone, L., Muniz, P., Pires-Vanin, A. M. S., and Rodrigues, M. 2003. Spatial distribution of organic matter in the surface sediments of Ubatuba Bay (Southeastern - Brazil). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 75: 77–80.
- Cammen, L. 1982. Effect of Particle Size on Organic Content and Microbial Abundance Within Four Marine Sediments. *Marine Ecology Progress Series*, 9: 273–280.
- Carpenter, S. R., Caraco, N. F., Correll, D. L., Howarth, R. W., Sharpley, A. N., and Smith, V. H. 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen, *Ecological Applications*, 8: 559–568.
- Cathalot, C., Rabouille, C., Tisnérat-Laborde, N., Toussaint, F., Kerhervé, P., Buscail, R., Loftis, K., et al. 2013. The fate of river organic carbon in coastal areas: A study in the Rhône River delta using multiple isotopic ($\delta^{13}\text{C}$, $\Delta^{14}\text{C}$) and organic tracers. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 118: 33–55.
- Crain, C. M., Kroeker, K., and Halpern, B. S. 2008. Interactive and cumulative effects of multiple human stressors in marine systems. *Ecology Letters*, 11: 1304–1315.
- De Falco, G., Magni, P., Teräsvuori, L. M. H., and Matteucci, G. 2004. Sediment grain size and organic carbon distribution in the Cabras lagoon (Sardinia, western Mediterranean). *Chemistry and Ecology*, 20: 367–377.
- Dessandier, P.-A., Bonnin, J., Kim, J.-H., Bichon, S., Deflandre, B., Grémare, A., and Sinninghe Damsté, J. S. 2016. Impact of organic matter source and quality on living benthic foraminiferal distribution on a river-dominated continental margin: A study of the Portuguese margin: BENTHIC FORAMINIFERA. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 121: 1689–1714.
- Dinakaran, J., and Krishnayya, N. S. R. 2011. Variations in total organic carbon and grain size distribution in ephemeral river sediments in western India. *International Journal of Sediment Research*, 26: 239–246.
- Diz, P., Francés, G., and Rosón, G. 2006. Effects of contrasting upwelling–downwelling on benthic foraminiferal distribution in the Ría de Vigo (NW Spain). *Journal of Marine Systems*, 60: 1–18.

- Duijnste, I. A. P., Ernst, S. R., and van der Zwaan, G. J. 2003. Effect of anoxia on the vertical migration of benthic foraminifera. *Marine Ecology Progress Series*, 246: 85–94.
- Engel, M. H., and Macko, S. A. (Eds). 1993. *Organic Geochemistry: Principles and Applications*. Topics in geobiology. Springer Verlag, Boston, MA, US. 861 pp.
- Ferreira, J. G., Andersen, J. H., Borja, A., Bricker, S. B., Camp, J., Cardoso da Silva, M., Garcés, E., et al. 2011. Overview of eutrophication indicators to assess environmental status within the European Marine Strategy Framework Directive. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 93: 117–131.
- Flemming, B. W. 1988. Process and pattern of sediment mixing in a microtidal coastal lagoon along the west coast of South Africa. In *Tide-influenced sedimentary environments and facies*, pp. 275–288. Ed. by P. L. de Boer, A. van Gelder, and S. D. Nio. D Reidel Publ.Co., Dordrecht.
- Flemming, B. W. 2007. The influence of grain-size analysis methods and sediment mixing on curve shapes and textural parameters: Implications for sediment trend analysis. *Sedimentary Geology*, 202: 425–435.
- Folk, R. L., and Ward, W. C. 1957. Brazos River bar: A Study in the Significance of Grain Size Parameters. *Journal of Sedimentary Petrology*, 27: 3–26.
- Gammon, P. R., Neville, L. A., Patterson, R. T., Savard, M. M., and Swindles, G. T. 2017. A log-normal spectral analysis of inorganic grain-size distributions from a Canadian boreal lake core: Towards refining depositional process proxy data from high latitude lakes. *Sedimentology*, 64: 609–630.
- Gregorich, E. G., Beare, M. H., McKim, U. F., and Skjemstad, J. O. 2006. Chemical and Biological Characteristics of Physically Uncomplexed Organic Matter. *Soil Science Society of America Journal*, 70: 975.
- Hallock, P., Lidz, B. H., Cockey-Burkhard, E. M., and Donnelly, K. B. 2003. Foraminifera as bioindicators in coral reef assessment and monitoring the FORAM index. In *Coastal Monitoring through Partnerships*, pp. 221–238. Springer Netherlands, Pensacola Beach, FL, U.S.A.
- Hedges, J. I., Keil, R. G., and Cowie, G. L. 1993. Sedimentary diagenesis: organic perspectives with inorganic overlays. *Chemical Geology*, 107: 487–492.
- Hedges, J. I., and Keil, R. G. 1999. Organic geochemical perspectives on estuarine processes: sorption reactions and consequences. *Marine Chemistry*, 65: 55–65.
- Horowitz, A. J., and Elrick, K. A. 1987. The relation of stream sediment surface area, grain size and composition to trace element chemistry. *Applied Geochemistry*, 2: 437–451.
- Hyland, J., Balthis, L., Karakassis, I., Magni, P., Petrov, A., Shine, J., Vestergaard, O., et al. 2005. Organic carbon content of sediments as an indicator of stress in the marine benthos. *Marine Ecology Progress Series*, 295: 91–103.
- Jarvis, A., Reuter, H. I., Nelson, A., and Guevara, E. 2008. Hole-filled SRTM for the globe Version 4, available from the CGIAR-CSI SRTM 90m Database. <http://srtm.csi.cgiar.org>.
- Jorissen, F. J. 1987. The distribution of benthic foraminifera in the Adriatic Sea. *Marine Micropaleontology*, 12: 21–48.

- Jorissen, F. J., De Stigter, H., and Widmark, J. G. V. 1995. A conceptual model explaining benthic foraminiferal microhabitats. *Marine Micropaleontology*, 26: 3–15.
- Jorissen, F. J. 1999. Benthic foraminiferal microhabitats below the sediment-water interface. In *Modern Foraminifera*, pp. 161–179. Springer, Dordrecht, The Netherlands. https://doi.org/10.1007/0-306-48104-9_10.
- Jorissen, F. J., Nardelli, M. P., Almogi-Labin, A., Barras, C., Bergamin, L., Bicchi, E., El Kateb, A., et al. 2018. Developing Foram-AMBI for biomonitoring in the Mediterranean: Species assignments to ecological categories. *Marine Micropaleontology*, 140: 33–45.
- Keil, R. G., Tsamakis, E., Fuh, C. B., Giddings, J. C., and Hedges, J. I. 1994. Mineralogical and textural controls on the organic composition of coastal marine sediments: Hydrodynamic separation using SPLITT-fractionation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58: 879–893.
- Labrune, C., Romero-Ramirez, A., Amouroux, J. M., Duchêne, J. C., Desmalades, M., Escoubeyrou, K., Buscail, R., et al. 2012. Comparison of ecological quality indices based on benthic macrofauna and sediment profile images: A case study along an organic enrichment gradient off the Rhône River. *Ecological Indicators*, 12: 133–142.
- Lamas, F., Irigaray, C., Oteo, C., and Chacón, J. 2005. Selection of the most appropriate method to determine the carbonate content for engineering purposes with particular regard to marls. *Engineering Geology*, 81: 32–41.
- Le Roux, J. P., and Rojas, E. M. 2007. Sediment transport patterns determined from grain size parameters: Overview and state of the art. *Sedimentary Geology*, 202: 473–488.
- Magni, P., De Falco, G., Como, S., Casu, D., Floris, A., Petrov, A. N., Castelli, A., et al. 2008. Distribution and ecological relevance of fine sediments in organic-enriched lagoons: The case study of the Cabras lagoon (Sardinia, Italy). *Marine Pollution Bulletin*, 56: 549–564.
- Marine Information Service. 2016. EMODnet Digital Bathymetry (DTM). <http://portal.emodnet-bathymetry.eu/>.
- Martínez-Crego, B., Alcoverro, T., and Romero, J. 2010. Biotic indices for assessing the status of coastal waters: a review of strengths and weaknesses. *Journal of Environmental Monitoring*, 12: 1013.
- Mayer, L. M. 1994. Relationships between mineral surfaces and organic carbon concentrations in soils and sediments. *Chemical Geology*, 114: 347–363.
- McLaren, P., and Bowles, D. 1985. The Effects of Sediment Transport on Grain-Size Distributions. *SEPM Journal of Sedimentary Research*, Vol. 55. <https://pubs.geoscienceworld.org/jsedres/article/55/4/457-470/97803> (Accessed 5 March 2019).
- Muxika, I., Borja, Á., and Bald, J. 2007. Using historical data, expert judgement and multivariate analysis in assessing reference conditions and benthic ecological status, according to the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 55: 16–29.

- Nicastro, A., and Bishop, M. J. 2013. Weak and Habitat-Dependent Effects of Nutrient Pollution on Macrofaunal Communities of Southeast Australian Estuaries. *PLoS ONE*, 8: e65706.
- Nilsson, H. C., and Rosenberg, R. 2000. Succession in marine benthic habitats and fauna in response to oxygen deficiency: analysed by sediment profile-imaging and by grab samples. *Marine Ecology Progress Series*, 197: 139–149.
- Parent, B., Barras, C., and Jorissen, F. 2018. An optimised method to concentrate living (Rose Bengal-stained) benthic foraminifera from sandy sediments by high density liquids. *Marine Micropaleontology*, 144: 1–13.
- Pearson, T. H., and Rosenberg, R. 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and Marine Biology - An Annual Review*, 16: 229–311.
- Pearson, T. H., and Stanley, S. O. 1979. Comparative measurement of the redox potential of marine sediments as a rapid means of assessing the effect of organic pollution. *Marine Biology*, 53: 371–379.
- Pelletier, M. C., Campbell, D. E., Ho, K. T., Burgess, R. M., Audette, C. T., and Detenbeck, N. E. 2011. Can sediment total organic carbon and grain size be used to diagnose organic enrichment in estuaries? *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30: 538–547.
- Premuzic, E. T., Benkovitz, C. M., Gaffney, J. S., and Walsh, J. J. 1982. The nature and distribution of organic matter in the surface sediments of world oceans and seas. *Organic Geochemistry*, 4: 63–77.
- Rosenberg, R. 2001. Marine benthic faunal successional stages and related sedimentary activity. *Scientia Marina*, 65: 107–119.
- Schönfeld, J., Alve, E., Geslin, E., Jorissen, F., Korsun, S., and Spezzaferrri, S. 2012. The FOBIMO (FORaminiferal BIO-MONitoring) initiative—Towards a standardised protocol for soft-bottom benthic foraminiferal monitoring studies. *Marine Micropaleontology*, 94–95: 1–13.
- Secrieru, D., and Oaie, G. 2009. The Relation between the Grain Size Composition of the Sediments from the NW Black Sea and their Total Organic Carbon (TOC) Content. *Geo-eco-marina*, 15: 5.
- Simboura, N., and Zenetos, A. 2002. Benthic indicators to use in Ecological Quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new Biotic Index. *Mediterranean Marine Science*, 3: 77.
- Simboura, N., and Argyrou, M. 2010. An insight into the performance of benthic classification indices tested in Eastern Mediterranean coastal waters. *Marine Pollution Bulletin*, 60: 701–709.
- Trannum, H. C., Brakstad, F., and Neff, J. 2006. Sediment characterization and parameter estimation: ERSM Report no. 12. APN-411.3119. Akvaplan niva, Tromsø, Norway.
- Turner, R. E., and Rabalais, N. N. 1994. Coastal eutrophication near the Mississippi river delta. *Nature*, 368: 619–621.
- Tyson, R. V. 2001. Sedimentation rate, dilution, preservation and total organic carbon: some results of a modelling study. *Organic Geochemistry*, 32: 333–339.

- Tyson, R. V. 2005. Deposition of Organic-Carbon-Rich Sediments: Models. *SEPM (Society for Sedimentary Geology)*: 17–33.
- van der Zwaan, G. J., and Jorissen, F. J. 1991. Biofacial patterns in river-induced shelf anoxia. *Geological Society, London, Special Publications*, 58: 65–82.
- Wakeham, S. G., Canuel, E. A., Lerberg, E. J., Mason, P., Sampere, T. P., and Bianchi, T. S. 2009. Partitioning of organic matter in continental margin sediments among density fractions. *Marine Chemistry*, 115: 211–225.
- Weaver, C. E. 1989. *Clays, muds, and shales. Developments in sedimentology.* Elsevier : Distributors for the U.S. and Canada, Elsevier Science Pub. Co, Amsterdam ; New York. 819 pp.
- Weltje, G. J. 1997. End-member modeling of compositional data: Numerical-statistical algorithms for solving the explicit mixing problem. *Mathematical Geology*, 29: 503–549.
- Wentworth, C. K. 1922. A Scale of Grade and Class Terms for Clastic Sediments. *The Journal of Geology*, 30: 377–392.
- Wilson, M. J. 1999. The origin and formation of clay minerals in soils: past, present and future perspectives. *Clay Minerals*, 34: 7–25.
- Xiao, J., Chang, Z., Fan, J., Zhou, L., Zhai, D., Wen, R., and Qin, X. 2012. The link between grain-size components and depositional processes in a modern clastic lake: Grain-size components of Hulun Lake sediments. *Sedimentology*, 59: 1050–1062.

Chapitre 4 : Comparison of
four foraminiferal indices
assessing the environmental
quality of coastal
Mediterranean soft bottom
environments

Abstract

Coastal environments are exposed to numerous pressures that potentially affect soft bottom faunas. Several indices based on living (Rose Bengal-stained) foraminiferal communities have recently been developed to assess the induced impact and determine the environmental quality of these environments. Here, we use a Mediterranean Sea data set to test four foraminiferal indices: 1) the effective number of species ($\exp(H'_{bc})$), 2) the Foraminifera AMBI (Foram-AMBI), 3) the Tolerant Species Index for the Mediterranean (TSI-Med), and 4) the Foram Stress Index (FSI). These indices are all supposed to measure the response of the foraminiferal communities to organic matter enrichment, and therefore, their results should be very similar. We found that the $\exp(H'_{bc})$ is not suitable to evaluate the environmental quality of our Mediterranean coastal setting, as it has a non-monotonic relationship with the organic matter enrichment gradient. The three indices based on groups of indicator species (TSI-Med, Foram-AMBI, and FSI) yield fairly similar results. For Foram-AMBI, the results are clearly improved if the total assemblage is used to calculate proportions of indicator species, and not only assigned species, as defined in the original methodology. In TSI-Med, a correction based on sediment grain size is applied to distinguish between natural and anthropogenic organic enrichment. Such a correction could also be added to Foram-AMBI and FSI. In future, it will be necessary to redefine the limits between the Ecological Quality Status classes for each index. This could not be realised here because of a lack of sites with a poor and bad environmental quality in the studied data set.

Keywords: biomonitoring, Foram-AMBI, TSI-Med, FSI, effective number of species, organic matter enrichment

4.1. Introduction

Anthropogenic pressures strongly impact coastal environments, in particular soft bottom ecosystems. Benthic communities living in these habitats respond to the chemical (*e.g.*, organic input, nutrients, heavy metal contamination) and/or physical (*e.g.*, trawling, dumping of dredging residues) pressures induced by human activities (Zeppilli *et al.*, 2015). In the case of organic matter enrichment and associated oxygen depletion, this results in successions of different benthic communities along the pressure gradient (Pearson and Rosenberg, 1978; Jorissen *et al.*, 1995; Jorissen, 1999; Nilsson and Rosenberg, 2000; Puente and Diaz, 2015). Based on this paradigm, various biotic indices using macrofaunal benthic communities have been developed, allowing to assess quantitatively the ecological quality of the concerned environments (*e.g.*, Borja *et al.*, 2000; Simboura and Zenetos, 2002a; Rosenberg *et al.*, 2004; Muxika *et al.*, 2007; Gobert *et al.*, 2009).

In recent years, benthic foraminifera have been increasingly used in biomonitoring studies, partly because of the conservation of their tests in the sediment archive, offering the potential to assess past environmental baseline conditions (*e.g.*, Alve *et al.*, 2009; Dolven *et al.*, 2013; Francescangeli *et al.*, 2016). Consequently, several

indices based on living foraminiferal faunas have been developed recently. These indices, which are all based on faunal successions along stress gradients, use slightly different approaches. The majority use indicator taxa, some being mainly based on stress-tolerant species, others on stress-sensitive ones. Still other methods give more importance to diversity indices.

In this study, we compare four different foraminiferal indices, by applying them on a large data set from the French Mediterranean coast. The three indices based on indicator species groups have all been implemented in the Mediterranean Sea: the Tolerant Species Index (TSI-Med, Barras *et al.*, 2014), the Foram Stress Index (FSI, Dimiza *et al.*, 2016), and the AZTI's Marine Biotic Index based on Foraminifera (Foram-AMBI, Jorissen *et al.*, 2018). As diversity index, we tested the $\exp(H'_{bc})$, which is a measure of the effective number of species (Hill, 1973; Chao and Tsung-Jen, 2003).

The three indices using indicator species are all based on the relative proportions in the fauna of several groups of indicator taxa. They differ in three main aspects: 1) the types of indicator taxa used (*i.e.* stress-sensitive and/or stress-tolerant species, and the number of classes considered), 2) the relative weight given to each group of indicator taxa in the calculation of the index value, and 3) the addition or not of a correction for natural trophic state. In TSI-Med and Foram-AMBI the index value is mainly based on groups of stress-tolerant taxa. However, TSI-Med is based on a single group of stress-tolerant taxa, whereas Foram-AMBI distinguishes five different ecological groups (sensitive, indifferent, and three levels of opportunistic behaviour). The FSI subdivides the fauna in stress-sensitive and stress-tolerant taxa, and uses the relative proportions of these two groups to calculate the index value, attributing ten times more weight to the first group. Only TSI-Med attempts to correct for the natural trophic state. These three biotic indices all intend to assess the environmental response to organic matter enrichment, and should therefore lead to more or less similar conclusions.

The diversity measure $\exp(H'_{bc})$ tested here, was used for the first time for foraminiferal faunas in Norwegian fjords by Bouchet *et al.* (2012), where it showed a strong correlation with bottom-water dissolved oxygen concentration, but a weaker relationship with organic matter enrichment. Recently, it was also applied on foraminiferal communities from Mediterranean lagoons (Bouchet *et al.*, 2018).

The three indices based on indicator species groups were developed in different areas in the Mediterranean Sea: the French Mediterranean coast for TSI-Med, Elefsis Bay and Saronikos Gulf in the Aegean Sea, near Athens, for FSI and various geographic areas in the Mediterranean for Foram-AMBI, mostly the Italian coasts (especially Adriatic Sea), the Levantine basin, and the French coast. The publications introducing these three indices (Barras *et al.*, 2014; Dimiza *et al.*, 2016; Jorissen *et al.*, 2018) all present lists of species assigned to the different ecological groups. Unfortunately, there are more or less important differences between the species assignments. This is due to regional faunal differences, but probably also due to the fact that two different methods were used: in TSI-Med and

FSI species assignments are based on a general literature review, whereas for Foram-AMBI assignments are based on a detailed analysis of the species response to organic matter enrichment described in 15 previous studies from the Mediterranean (see Jorissen *et al.* (2018) for details).

In principle, a biotic index is expected to express the environmental quality of sampling sites in a quantitative way. The definition of a number of Ecological Quality Status (EQS) classes (usually five, grading from “very good”, “good”, “moderate”, “poor” to “bad”) and especially of the limits between these EQS classes, is crucial, as it allows to transform ecological quality measurements (the index values) to environmental quality labels (Borja *et al.*, 2012a). These limits are especially important for policy makers and environmental management structures. However, it is very difficult to find objective criteria to define these limits, and for this reason, the definition of EQS limits and the intercalibration of different indices remains an important issue (Muxika *et al.*, 2007; Dolven *et al.*, 2013; Bouchet *et al.*, 2018).

In this study, we compare for the first time the four foraminiferal indices briefly presented above, by applying them to a 38 stations sample set along the French Mediterranean coast, with contrasting sea floor characteristics, representing 147 samples. Our main aims were: 1) to test the differences in both approaches (*i.e.* indices based on groups of indicator taxa and on diversity); 2) to test the influence of the index calculations, by using the same ecological assignments of indicator taxa for each index; 3) to test the feasibility of a correction for the natural trophic state; 4) to consider how EQS limits could be defined more objectively for the four studied biotic indices.

4.2. Material and methods

4.2.1. Study area and sampling

Stations were sampled along the French Mediterranean coast during two surveys in spring (March-April) 2012 and 2015 (Figure 4.1, appendix 4.A). Among the 38 stations, 26 were sampled in both years. Sampling was performed with a Reineck box-corer, which was sub-cored with a tube of 7.45 cm inner diameter. The first centimetre of each sub-core was sliced off, preserved and stained in a solution of 2 g.L⁻¹ Rose Bengal in 96% ethanol. At each station, triplicate samples (three box-corer launches) were taken. The study area represents a wide range of environments, from muddy bottoms in the Gulf of Lion to coarse sands with shell debris more to the east. Some stations show high quantities of large organic matter debris, mostly macroalgae and seagrass remains (Barras *et al.*, 2014).

In the laboratory, samples were washed through 63, 125, 150, and 500 µm sieves. All stained (Rose Bengal) foraminifera from the 125–150 µm and the 150–500 µm size fractions were wet-picked under a stereomicroscope, stored in micropaleontological slides, and specimens were determined to the species level. To follow the recommendations of the FOBIMO expert group (Schönfeld *et al.*, 2012), the 125-150 µm fraction was studied as well. Both the 125-150 µm and 150-

500 μm fractions were pooled and considered together (125–500 μm). Foraminifera from sandy samples of the 2015 survey were concentrated using a solution sodium polytungstate at a density of 2.3 (Parent *et al.*, 2018). To limit the bias due to low total abundances, only samples with 50 or more individuals are considered in this study.

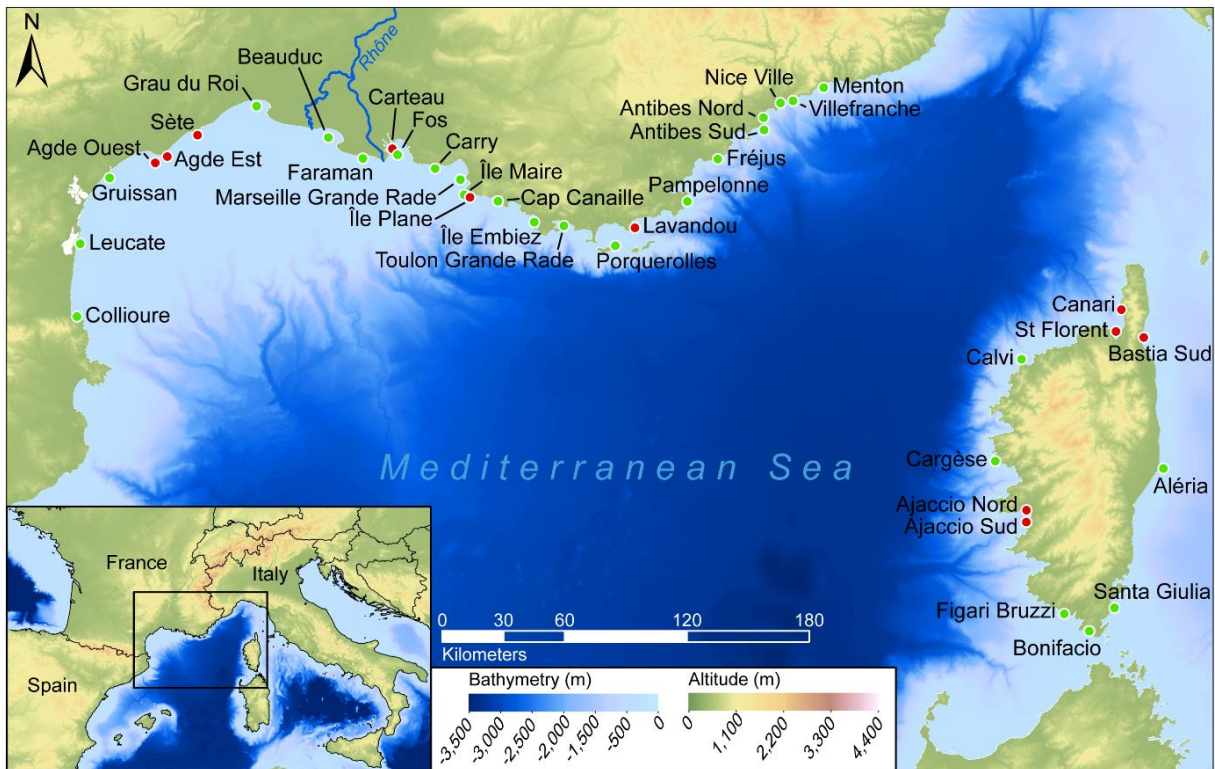


Figure 4.1: Sampled stations during the two surveys (2012 and 2015). The stations sampled during both surveys are in green, stations only sampled in 2012 or 2015 are in red. See appendix 4.A for details. Digital elevation models are from Jarvis *et al.* (2008) and Marine Information Service (2016).

4.2.2. Biotic indices based on diversity

Since biodiversity is expected to decrease with increasing eutrophication, and diversity indices are incorporated in several multimetric macrofaunal indices, we decided to compare our indicator-species based indices with the biodiversity index $\exp(H'_{bc})$, which is a measure of the effective number of species present in a sample. This index is derived from the exponential of the Shannon entropy ($N_1 = \exp(H')$, Hill, 1973), where the Shannon entropy (H' , Shannon, 1948) is bias-controlled for unobserved species (H'_{bc} , Chao and Tsung-Jen, 2003). Therefore, $\exp(H'_{bc})$ expresses the number of species that would be found in the sample if the species evenness was equal to 1. The index only takes the relative abundances of all species into account; no assumptions are made concerning the relationship between individual species and trophic state. The bias controlled entropy (H'_{bc}) was calculated using the R package *entropy* (Hausser and Strimmer, 2014), where its exponential ($\exp(H'_{bc}) = e^{H'_{bc}}$) is the effective number of species.

4.2.3. Biotic indices based on group of indicator species

4.2.3.1. Index calculations

We compared three biotic indices based on groups of indicator species. First, the Tolerant Species Index for the Mediterranean (TSI-Med, Barras *et al.*, 2014) is based on the percentage of stress-tolerant species in the sample ($\%TS_x$), where species tolerant to eutrophication and/or hypoxia have been selected on the basis of a general literature review. A correction factor based on the percentage of particles $< 63 \mu\text{m}$ is applied in order to take the natural trophic conditions at the station into account. In fact, organic matter is preferentially associated with the clay and silt fraction of the sediment (Hedges *et al.*, 1993; Bock and Mayer, 2000), which generally leads to naturally higher organic carbon contents in fine-grained sediments, and consequently, higher percentages of stress-tolerant taxa (Jorissen, 1987). This correction aims to avoid finding systematically lower ecological quality values for muddy stations, which are naturally rich in stress-tolerant taxa, than for sandy stations.

The calculation of the TSI-Med follows three steps. First, the percentage of stress-tolerant species in the fauna ($\%TS_x$) is calculated, taking into account all available taxa. Next, the reference percentage of tolerant species ($\%TS_{ref}$) is determined, in function of the grain size of the sample (*i.e.* correction for the natural trophic state). Originally, $\%TS_{ref}$ was calculated on the basis of the percentage of stress-tolerant species present in the 150–500 μm fraction (Equation 4.1), as described by Barras *et al.* (2014). However, the FOBIMO group recommends to use the fraction $> 125 \mu\text{m}$ in biomonitoring studies (Schönfeld *et al.*, 2012) and consequently, the 125–500 μm fraction was studied for the 2012 and 2015 samples. Therefore, we needed to reassess the reference curve for the 125–500 μm fraction (Equation 4.2), see section 4.2.3.3 for details. Finally, the TSI-Med value is calculated on the basis of a comparison of $\%TS_x$ and $\%TS_{ref}$ (Equation 4.3). TSI-Med values range from about 0 (percentage of stress-tolerant taxa equal to the percentage under theoretical reference conditions, high environmental quality) to 100 (much more stress-tolerant taxa than expected under reference conditions, bad environmental quality). Exceptionally, when an individual $\%TS_x$ is lower than $\%TS_{ref}$ (based on a regression of the lowest $\%TS_x$), the TSI-Med value can be slightly lower than 0.

$$\%TS_{ref} = e^{0.0302 \times (\% \text{ grains } < 63 \mu\text{m}) + 0.1496} - 1 \quad (4.1)$$

$$\%TS_{ref} = 0.1547 \times (\% \text{ grains } < 63 \mu\text{m}) - 0.3638 \quad (4.2)$$

$$TSI - Med = \frac{\%TS_x - \%TS_{ref}}{100 - \%TS_{ref}} \times 100 \quad (4.3)$$

The second index considered is Foram-AMBI (Alve *et al.*, 2016; Jorissen *et al.*, 2018), derived from the AMBI index developed for macrofauna (Borja *et al.*, 2000). This index is based on the relative frequencies of five groups of indicator species (EGI to EGV, representing sensitive, indifferent, 3rd order opportunistic, 2nd order

opportunistic, and 1st order opportunistic species, respectively). For the Mediterranean, the species assignments to the five indicator groups (Jorissen *et al.*, 2018) are based on a comparison of the distribution of the various species and sediment TOC contents in 15 earlier Mediterranean studies. The Foram-AMBI is calculated as follows:

Foram – AMBI

$$= (0 * EGI) + (1,5 * EGII) + (3 * EGIII) + (4,5 * EGIV) \quad (4.4)$$

$$+ (6 * EGV)$$

where *EGI*, *EGII*, *EGIII*, *EGIV*, and *EGV* represent the proportions of species assigned to each group. In Foram-AMBI, unassigned species are excluded from the data set before proportions are calculated (Borja *et al.*, 2000, 2012b), so that the proportions of the five indicator groups sum up to 1. Values of Foram-AMBI range from 0 (100% species of *EGI*) to 6 (100% species of *EGV*); samples without living fauna are given a value of 7.

The third index based on indicator species, the Foram Stress Index (FSI, Dimiza *et al.*, 2016), divides the fauna into two groups, of stress-sensitive and stress-tolerant species. The attribution of the taxa to these two groups is based on literature evidence. In case of taxa for which no ecological evidence is available, the assignment may be based on a multivariate statistical analysis (pers. com. Triantaphyllou & Hallock). The FSI value is then defined as:

$$FSI = (10 * Sen) + (Str) \quad (4.5)$$

where *Sen* represents the proportion of stress-sensitive species, and *Str* represents the proportion of stress-tolerant species. The index value is largely determined by the proportion of stress-sensitive species. Contrary to TSI-Med and Foram-AMBI, the highest value of the FSI (10) corresponds to optimal environmental conditions whereas the lowest value (1) should correspond to highly deteriorated environments. A value of 0 is given to samples when no living fauna is present. As it is defined, the FSI is more a measure of the absence of impact.

In the present study, the proportion of taxa which were not assigned by Dimiza *et al.* (2016) to either stress-sensitive or stress-tolerant taxa was sometimes rather high. This problem concerned especially many agglutinated taxa with organic cement (*e.g.*, *Reophax*, *Trochammina*, etc.). In order to respect as much as possible, the philosophy behind the index (*i.e.* considering all species, either as stress-tolerant or sensitive), we decided to exclude these unassigned taxa from the data set, before recalculating species proportions (similar to the procedure followed in Foram-AMBI). Therefore, the sum of stress-sensitive and stress-tolerant species proportions equals 1.

To summarise, the main characteristics of these three indices are the strong contribution of the relative proportion of stress-tolerant species in the calculation of TSI-Med and Foram-AMBI, compared to the high contribution of stress-sensitive species in the calculation of FSI. Additionally, TSI-Med includes a correction for the natural trophic state, using sediment grain size. To obtain a more general picture, Ecological Quality Status (EQS) classes were displayed for each of these indices, using the EQS limits proposed by the authors who developed the indices (Table 4.1). For each index, EQS limits were proposed specifically for foraminiferal fauna, except for the Foram-AMBI, for which at present only the EQS limits used for macrofauna are available.

Table 4.1: Limits of the EQS classes proposed for each foraminiferal index. NC: Not Concerned

Index	Very good	Good	Moderate	Poor	Bad	Azoic	Reference
exp(H' _{bc})	≥ 10	$10 \geq x > 7.5$	$7.5 \geq x > 5$	$5 \geq x > 2.5$	> 2.5	NC	Bouchet <i>et al.</i> (2012)
TSI-Med	≤ 4	$4 \leq x < 16$	$16 \leq x < 36$	$36 \leq x < 64$	$64 \leq x \leq 100$	NC	Barras and Jorissen (2011)
Foram-AMBI	≤ 1.2	$1.2 \leq x < 3.3$	$3.3 \leq x < 4.3$	$4.3 \leq x < 5.5$	$5.5 \leq x \leq 6$	7	Borja <i>et al.</i> (2003)
FSI	≥ 9	$9 \geq x > 5.5$	$5.5 \geq x > 2$		$2 \geq x \geq 1$	0	Dimiza <i>et al.</i> (2016)

4.2.3.2. Homogenised list of indicator species

Among the biotic indices we compared, the three indices based on indicator species groups (TSI-Med, Foram-AMBI Med, FSI) not only differ in their approach, but also the ecological assignments of the indicator taxa are partly different (Table 4.2 and appendix 4.B). The TSI-Med is based on the proportion of a single group of (stress-tolerant) taxa, whereas FSI is based on a subdivision of the fauna into two groups, of stress-sensitive and stress-tolerant taxa. In both cases species assignments have been made on the basis of literature reviews and expert knowledge. Foram-AMBI distinguishes five classes of indicator species, ranging from stress-sensitive species to 1st order opportunists (Table 4.2). Species assignments are based on a review of 15 earlier Mediterranean studies (Jorissen *et al.*, 2018), in which the relation between species distribution and TOC content of the samples was used as a main criterion. In order to distinguish between 1) the different approaches underlying the three indices and 2) the effect of differences in species assignments, we calculated the three indices twice; first with the original species assignments (which show differences for several species), and a second time with the same species assignments for all three indices, following the more objective assignments, specific for the Mediterranean, proposed by Jorissen *et al.* (2018). In the latter case, 1st, 2nd and 3rd order opportunists (as described by Jorissen *et al.*, 2018) were grouped together in the stress-tolerant category when testing TSI-Med and FSI.

Table 4.2: Groups of indicator species considered by TSI-Med, Foram-AMBI, and FSI indices. Species groups that contribute most to the value of the biotic index are in bold.

	TSI-Med	Foram-AMBI	FSI
Assigned species	Not Considered	Group I: sensitive	Stress-sensitive
		Group II: indifferent	Not Considered
		Group III: 3rd order opportunist	
	Stress-tolerant	Group IV: 2nd order opportunist	Stress-tolerant
		Group V: 1st order opportunist	
Unassigned species	Included	Excluded before percentages are calculated	In principle, all species are assigned. In the present study, they were excluded before calculating percentages

4.2.3.3. Reassessing the TSI-Med reference curve

The TSI-Med index has the particularity that it includes a correction for the natural trophic state, based on the proportion of silts and clays in the sample (fraction < 63 μm ; (Barras *et al.*, 2014). As explained before, since this study is based on the 125–500 μm fraction, instead of the 150–500 μm fraction used by Barras *et al.* (2014), we had to reassess the reference curve, which describes the percentage of stress-tolerant taxa found in supposedly natural, unimpacted conditions, for habitats with different grain size. Following the same methodology as Barras *et al.* (2014), and using the 2012 dataset, we selected reference sites on the basis of a minimal percentage of stress-tolerant taxa (as observed in one of the three replicate samples) representing the whole range of grain sizes (from clayey to sandy substrates). A new reference curve, describing the expected percentages of stress-tolerant taxa in function of grain size, was obtained by linearly regressing these reference points (Figure 4.2a). When, in the second part of our comparison, we used a homogenised list of stress-tolerant species (following Jorissen *et al.*, 2018), we had again to reassess the reference curve for TSI-Med (Figure 4.2b).

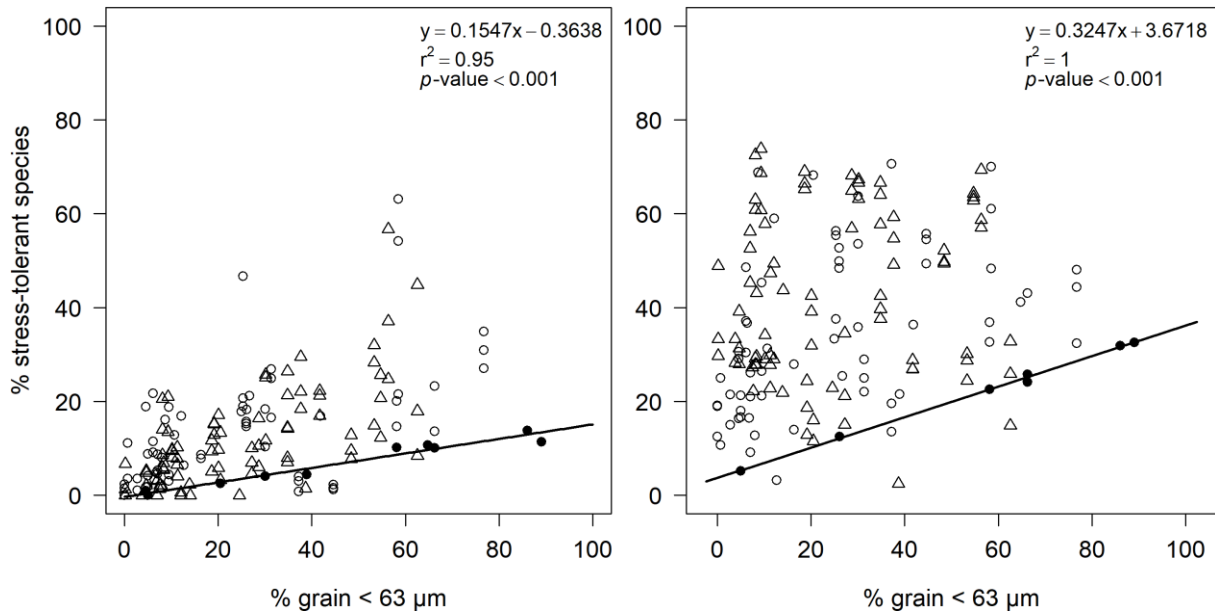


Figure 4.2: Reference curves for the TSI-Med index. The percentage of the tolerant taxa in the 125–500 μm fraction is plotted as a function of sediment grain size (% grains < 63 μm). \circ : 2012; Δ : 2015. Plain symbols: reference stations. Left panel: reference curve based on the ecological assignments of Barras et al. 2(014). Right panel: new reference curve based on the ecological assignments of Jorissen et al. (2018). NB: Both reference curves are only based on the 2012 data (circles) from stations along the French mainland coast, which explains why some of the data (e.g., stations from Corsica or from 2015) plot below the reference curve.

4.3. Results and discussion

4.3.1. Effective number of species

We started by comparing the effective number of species ($\exp(H'_{bc})$, Hill, 1973; Chao and Tsung-Jen, 2003) with the three other indices (Figure 4.3). $\exp(H'_{bc})$ shows weak but significant linear correlations with Foram-AMBI (negative, $r^2 = 0.17$, p -value < 0.001) and with FSI (positive, $r^2 = 0.17$, p -values < 0.001) but not with TSI-Med. In the case of Foram-AMBI and FSI, this means that the effective species number tends to decrease towards sites with a lower environmental quality. However, in all three cases, the scatter is very important and the linear models never explain more than 17% of the total variability ($r^2 \leq 0.17$). As the absence of a strong linear relationship does not exclude a strong non-linear relationship between variables, we calculated the Spearman's correlation coefficient (ρ). This coefficient ranges from 1, indicating a very strong positive monotonic relationship, to -1, indicating a very strong negative monotonic relationship; values close to 0 indicating the absence of monotonic relationship. In our case, the relation between $\exp(H'_{bc})$ with the three other indices were: $\rho = -0.52$ for Foram-AMBI ($n = 147$, p -value < 0.001), $\rho = -0.06$ for TSI-Med ($n = 147$, p -value = 0.447), and $\rho = 0.49$ for FSI ($n = 147$, p -value < 0.001). This shows weak monotonic relationships between $\exp(H'_{bc})$ and Foram-AMBI (negative) and FSI (positive), and the absence of a monotonic relationship between $\exp(H'_{bc})$ and TSI-Med. In fact, for all three indices, a hump-shaped pattern can be seen, with the maximum effective number of species corresponding to intermediate values of TSI-

Med, Foram-AMBI or FSI, whereas minimal values of $\exp(H'_{bc})$ correspond to extreme values of Foram-AMBI, TSI-Med and FSI, either high or low (*i.e.* good or bad environmental quality).

The $\exp(H'_{bc})$ of foraminiferal assemblages was first tested as index of environmental quality in Norwegian fjords, where $\exp(H'_{bc})$ was strongly correlated with bottom water $[O_2]$ at the time of sampling but showed a weaker correlation with TOC content or grain size (Bouchet *et al.*, 2012). Indices based on diversity and indices based on macrofaunal indicator taxa show discrepancies in Mediterranean transitional waters (lagoons and coastal lakes), whereas diversity indices based on foraminifera and on macrofauna show similar results (Bouchet *et al.*, 2018). Transitional environments (fjords and lagoons) are often highly impacted, by multiple stressors, and the organic matter content is naturally higher than in open marine areas. It appears that in these environments, only the lower part of the total overall environmental quality gradient could be present, in which there could be a positive linear correlation between $\exp(H'_{bc})$ and environmental quality (Bouchet *et al.*, 2018). In the Mediterranean open marine ecosystems tested here, a much wider range of environmental quality appears to exist toward the higher part of the trophic state gradient (*i.e.* lower organic matter content). Some of these ecosystems are rather oligotrophic, and in such cases, an increase in organic matter input will lead to an increase in diversity. Diversity will only start to decrease again, when environmental stress surpasses a critical threshold value. Therefore, the relationship between the biotic indices and $\exp(H'_{bc})$ is non-monotonic here. Similar results were found by Subida *et al.* (2012) for macrofauna in the Mediterranean. Because of the non-monotonic relationship between $\exp(H'_{bc})$ and environmental quality, it appears that $\exp(H'_{bc})$ is not a suitable index for our open marine Mediterranean environments, which are generally more oligotrophic than Norwegian fjords and Mediterranean lagoons. Consequently, we decided not to investigate this index any further.

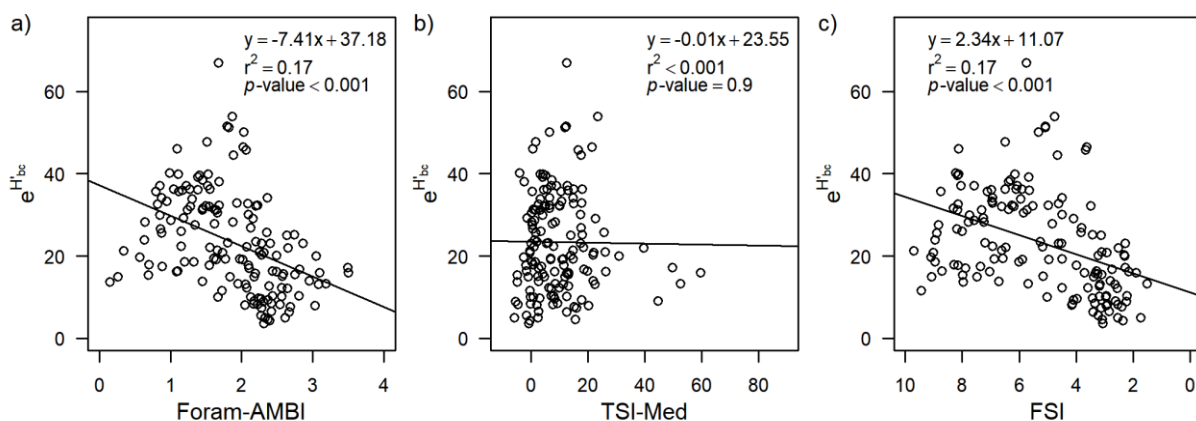


Figure 4.3: Values of the effective number of species ($\exp(H'_{bc})$) compared to the values of the Foram-AMBI, TSI-Med, and FSI for the 125–500 μm size fraction. The scale for FSI is reverse so that the environmental quality scale increases to the right for each index.

4.3.2. Comparing the three indices based on species composition

4.3.2.1. Philosophy of the different indices

The three biotic indices tested here have a different philosophy:

- In TSI-Med, only the percentage of a single group, of stress-tolerant species, is determined. Consequently, all species are implicitly included in the index calculation. The fact that in TSI-Med, only stress-tolerant taxa are quantified makes this index easy to apply, because it is only necessary to determine the percentage of a limited number of taxa in the total assemblage.
- In Foram-AMBI, species are assigned to five ecological groups on the basis of a comparison of species distributions and organic matter gradients in 15 previous published studies. All species which could not be assigned are removed from the data set, and new percentages are calculated, so that the sum of all assigned species is 100%.
- In FSI, all taxa are divided into two groups, of stress-tolerant or sensitive taxa. As for TSI-Med, this subdivision is based on a literature review and on expert knowledge. According to the authors (pers. com. Dimiza & Hallock), all species should be assigned to either of these two categories. Multivariate statistics can be used as an additional tool to attribute the taxa to either of the two groups (pers. com. Hallock). In our opinion, a subdivision into only two extreme groups is not realistic, since many species are neither stress-sensitive, nor stress-tolerant. Lack of information is an additional problem.

4.3.2.2. Comparing the indices using original species assignments

Even when using the original ecological species assignments, which are different for the three tested indices based on groups of indicator taxa, the three indices are significantly correlated (p -value < 0.001) (Figure 4.4, table 4.3). The coefficients of determination (r^2) are 0.76 for FSI versus Foram-AMBI, 0.30 for Foram-AMBI versus TSI-Med and 0.28 for FSI versus TSI-Med. Additionally, TSI-Med and Foram-AMBI show a majority of high ecological quality values, whereas the values are more equally distributed between bad, moderate and good quality for FSI (Figure 4.4). Of course, this offset is largely due to the limits between the quality classes, as they have been determined originally. The systematic offset in ecological quality classes (EQS) between TSI-Med/Foram-AMBI and FSI strongly suggests that the limits between the five ecological quality classes should be reconsidered. This point will be treated in more detail in section 4.3.4.

Since TSI-Med and Foram-AMBI are both largely based on the percentage of stress-tolerant taxa, the rather poor fit is somewhat surprising. This appears to be mainly the consequence of the very large scatter in Foram-AMBI for samples with high environmental quality. The coefficient of determination between TSI-Med and FSI is even weaker. In figure 4.4b, it can be seen that this low r^2 (0.28) is largely due to the fact that samples with a low TSI-Med value (low percentage of stress-

tolerant taxa, indicative of good quality) cover the whole range of FSI values. This implies that such samples have highly variable percentages of stress-sensitive taxa, which largely (for 91%) determine the FSI value. On the contrary, the correlation coefficient between FSI and Foram-AMBI (Figure 4.4c) is much higher (0.69), probably because stress-sensitive taxa also contribute substantially to the Foram-AMBI value.

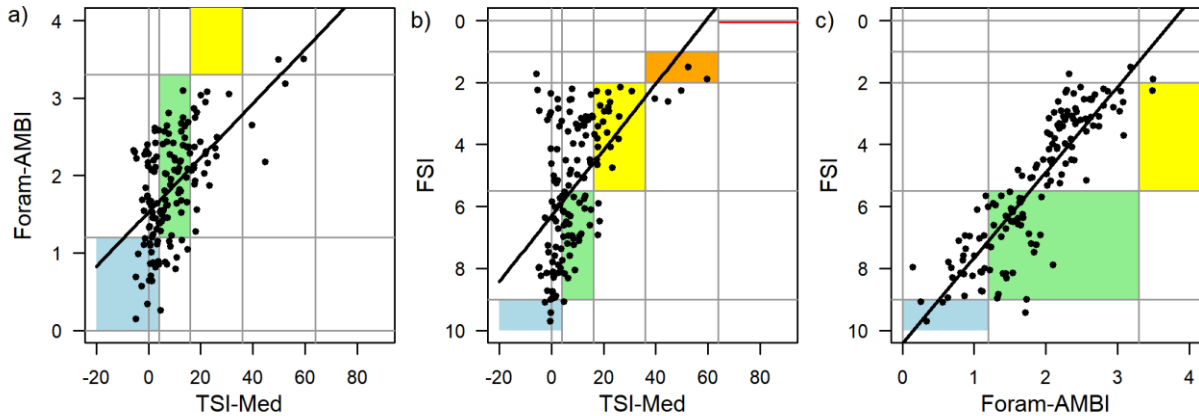


Figure 4.4: Quality indices based on groups of indicator species compared two by two. a) Foram-AMBI vs TSI-Med, b) FSI vs TSI-Med, c) FSI vs Foram-AMBI. Information on linear regressions is summarised in table 4.3. For all comparisons, the original ecological assignments have been used. For FSI and Foram-AMBI percentages have been calculated after omitting unassigned taxa. The grey horizontal and vertical lines represent the Ecological Quality Status limits presented in table 4.1. Coloured rectangles correspond to the areas where both indices have the same EQS: blue, “very good”; green, “good”; yellow, “moderate”; orange, “poor” and red, “bad”. The scale for FSI is reverse so that the environmental quality scale is in the same direction for each index.

Table 4.3: Summarised information on the simple linear regressions between the indices based on group of indicator species (Foram-AMBI, TSI-Med, and FSI).

List of species	Correction for grain size	Figure	Compared indices	Equation	r ²	p-value
Original species assignment		Figure 4.4a	Foram-AMBI vs TSI-Med	$y = 0.035x + 1.524$	0.30	< 0.001
		Figure 4.4b	FSI vs TSI-Med	$y = -0.106x + 6.300$	0.28	< 0.001
	Foram-AMBI and FSI are not corrected for grain size	Figure 4.4c	FSI vs Foram-AMBI	$y = -2.757x + 10.410$	0.76	< 0.001
Homogenised list of indicator species		Figure 4.5a	Foram-AMBI vs TSI-Med	$y = 0.025x + 1.092$	0.57	< 0.001
		Figure 4.5b	FSI vs TSI-Med	$y = -0.075x + 6.953$	0.58	< 0.001
		Figure 4.5c	FSI vs Foram-AMBI	$y = -2.845x + 9.979$	0.94	< 0.001
	Grain size corrected	Figure 4.7b	Foram-AMBI vs TSI-Med	$y = 0.032x + 0.133$	0.77	< 0.001
	Foram-AMBI and FSI	Figure 4.7c	FSI vs TSI-Med	$y = -0.104x + 9.345$	0.73	< 0.001

4.3.2.3. Testing the indices with the same list of indicator species for all indices

In order to eliminate the effect of different species assignments in the three investigated methods, and to see only the effect of the different approaches of the three indices, we next used for all three indices the list of ecological species assignments of Jorissen *et al.* (2018). For FSI, as before, we recalculated species proportions after withdrawing all unassigned and indifferent species from the data set. For Foram-AMBI, the same procedure was followed for unassigned taxa.

It has been suggested that the reaction of a species to a stress factor could not be the same in different environmental settings or climates (Grémare *et al.*, 2009; Martínez-Crego *et al.*, 2010; Zettler *et al.*, 2013; Gillett *et al.*, 2015; Robertson *et al.*, 2016). For this reason, the FOBIMO group proposed two different lists of ecological species assignments for the north-eastern Atlantic (Alve *et al.*, 2016) and the Mediterranean Sea (Jorissen *et al.*, 2018). In our case, with all investigated samples coming from the French Mediterranean coast, regional differences in species autecology should be minor or non-existent, and the use of the Mediterranean list of ecological species assignments appears to be justified.

The recalculated indices using this homogenised species list are presented in figure 4.5. Not surprisingly, all bivariate correlations between the three indices are again significant, and the coefficients of determination have considerably increased (Figure 4.5, table 4.3), from 0.76 to 0.94 for Foram-AMBI versus FSI, from 0.30 to

0.57 for TSI-Med versus Foram-AMBI and from 0.28 to 0.58 for TSI-Med versus FSI. This indicates that a substantial part of the scatter around the regression lines in figure 4.4 is due to different species assignments rather than to the different approaches of the three indices. The difference with the previous version is especially striking for TSI-Med versus FSI (Figure 4.4b). In fact, TSI-Med values substantially increased when the homogenised list of ecological assessments was used, in spite of the fact that we calculated a new reference curve, considering the new list of stress-tolerant taxa (Figure 4.2b). This overall increase in TSI-Med values is due to the larger number of species assigned as stress-tolerant when using the list of Jorissen *et al.* (2018).

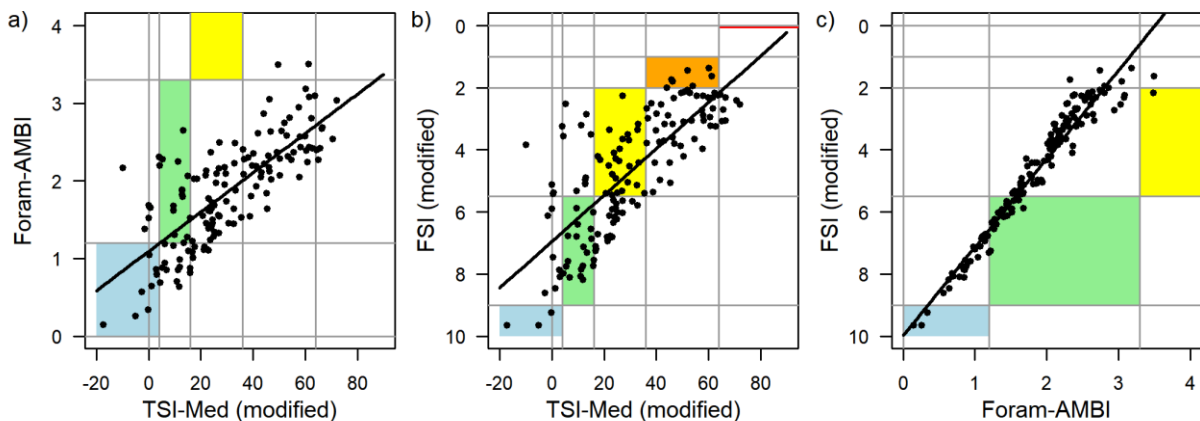


Figure 4.5: Quality indices based on homogenised groups of indicator species (i.e. Foram-AMBI assignment, Jorissen *et al.* (2018) compared two by two. a) Foram-AMBI vs modified TSI-Med, b) modified FSI vs modified TSI-Med, c) modified FSI vs Foram-AMBI. Information on linear regressions is summarised in table 4.3. The grey horizontal and vertical lines represent the Ecological Quality Status limits presented in table 4.1. Coloured rectangles correspond to the areas where both indices have the same EQS: blue, “very good”; green, “good”; yellow, “moderate”; orange, “poor” and red, “bad”. The scale for FSI is reverse so that the environmental quality scale is in the same direction for each index.

4.3.2.4. Treatment of unassigned species

It is evident that with a high percentage of unassigned species, all three indices become unreliable. Consequently, for macrofaunal AMBI, two critical limits have been proposed: with less than 80% of the total fauna consisting of assigned species, the AMBI index should be interpreted with much care and below a threshold of 50% of assigned species, AMBI should not be calculated (Borja and Muxika, 2005).

Using the ecological species assignments of Jorissen *et al.* (2018), in our data set, species not assigned to any ecological category account for $22 \pm 13\%$, with a maximum of 74%. Figure 4.6 represents the distribution of the unassigned species percentage for all samples. Among these unassigned species, 13 can be considered as major species (*i.e.* > 10% in at least one sample). Table 4.4 summarises the distributional data for these 13 species. It appears that some of these species attain only high percentages in a few samples, whereas they are low frequent, or even absent in all other samples. This concerns *Hormosinella guttifera*, *Lagena striata* and *Quinqueloculina* sp. 1. Conversely, some other species, such as *Ammoscalaria*

pseudospiralis, *Cancris auriculus*, *Fissurina orbignyana*, *Nouria* cf. *polymorphinoides*, and *Recurvoides* sp. 1, are present with high percentages in many samples. On average, when present, their average relative proportion is higher than 2.5%. Additionally, there are also many minor unassigned species, with percentages which tend to be low in all samples. All these minor unassigned species, which never represent more than 10% in a sample, account for $11.2 \pm 7.1\%$ on average, up to 37.5%.

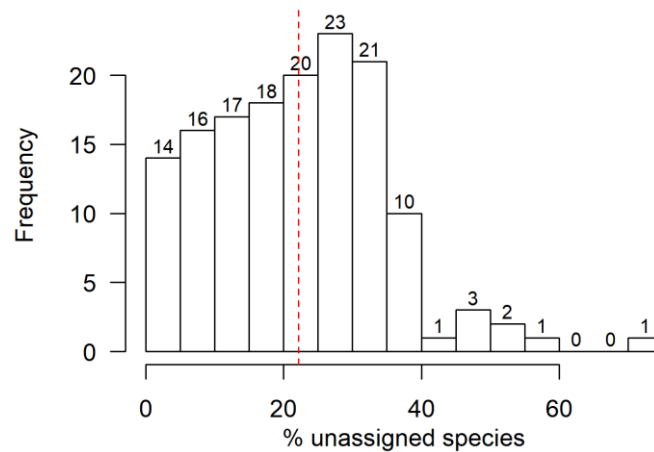


Figure 4.6: Histogram of the unassigned species percentage. Total number of samples = 147. Counts are presented above each bar. The vertical dash line is the average.

Table 4.4: Unassigned major species (i.e. at least present > 10% in one sample). Total number of samples = 147.

Species	Average (\pm SD) percentage in all samples	Average (\pm SD) percentage when present	Number of samples where present	Number of samples where present > 1%	Number of samples where present > 5%
<i>Ammoscalaria pseudospiralis</i>	2.8 \pm 4.0	5.0 \pm 4.1	81	62	37
<i>Ammoscalaria</i> sp. 1	0.3 \pm 1.1	1.3 \pm 2.0	34	12	1
<i>Ammoscalaria</i> sp. 2	0.5 \pm 1.8	2.4 \pm 3.2	32	20	2
<i>Cancris auriculus</i>	1.7 \pm 3.1	3.2 \pm 3.8	76	48	17
<i>Fissurina orbignyana</i>	0.8 \pm 2.6	2.8 \pm 4.2	43	24	6
<i>Haplophragmoides canariensis</i>	0.6 \pm 1.4	1.3 \pm 1.8	72	24	6
<i>Hormosinella guttifer</i>	0.3 \pm 2.7	9.9 \pm 12.5	5	3	2
<i>Lagena striata</i>	0.2 \pm 1.0	0.8 \pm 1.7	43	7	1
<i>Nouria</i> cf. <i>polymorphinoides</i>	1.2 \pm 2.6	2.8 \pm 3.3	65	41	12
<i>Quinqueloculina</i> cf. <i>laevigata</i>	0.2 \pm 1.1	1.2 \pm 2.5	23	4	1
<i>Quinqueloculina</i> sp. 1	0.2 \pm 1.2	1.9 \pm 3.2	16	7	1
<i>Recurvoides</i> sp. 1	1.8 \pm 5.7	4.7 \pm 8.6	56	35	13
<i>Robertinoides bradyi</i>	0.2 \pm 1.1	0.9 \pm 1.9	39	7	1

All these species have not been assigned by Jorissen *et al.* (2018), because insufficient information was available in the 15 previous studies considered in this paper. It is remarkable that 8 of the 13 major species are agglutinant taxa with an organic cement, with a test that will rapidly disintegrate after their death. Such non-fossilising agglutinants are only present in high quality samples in which the sediment surface is sampled adequately. Their systematic lack in some of the 15 studies considered by Jorissen *et al.* (2018) may be due to the use of thanatocoenoses (*e.g.*, Jorissen, 1988; Romano *et al.*, 2009; Ferraro *et al.*, 2012). Additionally, some of these species may not have been recognised as alive in these earlier studies, because the stained protoplasm can only be seen easily, when the foraminifera are picked wet, which was not the case for all studies.

It seems possible that part of the major unassigned species (Table 4.4) have a life strategy typical of opportunistic and/or stress-tolerant taxa. As in the more extensive literature study of Barras *et al.* (2014), for example, *Cancris auriculus* was recognised as stress-tolerant. This would mean that at present, all indices underestimate the proportion of stress-tolerant taxa. Especially for TSI-Med, which consider the whole fauna and do not recalculate group percentages. Alternatively, among the less frequent taxa, many could be K-selected stress-sensitive taxa, which are characterised by low percentages. Not considering these taxa will especially have the tendency to increase the Foram-AMBI values and to diminish a lot more the value of the FSI.

It appears essential that for all these taxa, reliable data become available, so that they can be assigned to ecological groups. With the present high average percentages of unassigned species, the reliability of all three biotic indices becomes questionable in samples where the percentage is very high.

4.3.3. Corrections for the natural trophic state

The TSI-Med is the only index that includes an environmental parameter (% grains < 63 μm), which aims to correct for the natural trophic state. Here, we test the possibility to include such a correction on Foram-AMBI and FSI as well. We will use the homogenised list of indicator species to exclude the impact of different species assignments, as described in section 4.3.2.3.

Figure 4.7a shows the same correlation between TSI-Med and Foram-AMBI as previously shown in figure 4.5a, but superposed on this, the coloured background gradient represents the percentage of sediment grains < 63 μm . It appears that samples with a high proportion of grains < 63 μm tend to have a high Foram-AMBI value compared to TSI-Med, whereas samples with a low proportion of < 63 μm grains show the inverse pattern (high TSI-Med versus low Foram-AMBI). This means that the scatter around the regression line is largely determined by the grain size of the sampled sites, which in our opinion reflects the natural trophic status. In fact, TSI-Med lowers the index value in case of a high proportion of grains < 63 μm , assuming that such samples represent naturally eutrophic conditions, whereas Foram-AMBI does not apply such a correction.

In order to have a better idea about the importance of this correction, we corrected also the Foram-AMBI values for the natural trophic state (using the sediment grain size), using the same methodology as for TSI-Med (see section 4.2.3.3). The two reference curves determined for Foram-AMBI (Figure 4.8a) and FSI (Figure 4.8b) are presented equations 4.6 and 4.7.

$$ForamAMBI_{ref} = 0.014 \times (\% \text{ grains} < 63 \mu\text{m}) + 0.522 \quad (4.6)$$

$$FSI_{ref} = -0.041 \times (\% \text{ grains} < 63 \mu\text{m}) + 8.659 \quad (4.7)$$

Then the corrected Foram-AMBI ($ForamAMBI_{corrected}$) and the corrected FSI ($FSI_{corrected}$) were calculated using the equations 4.8 and 4.9, respectively.

$$ForamAMBI_{corrected} = \frac{(ForamAMBI - ForamAMBI_{ref})}{(6 - ForamAMBI_{ref})} \times 6 \quad (4.8)$$

$$FSI_{corrected} = \frac{FSI}{FSI_{ref}} \times 10 \quad (4.9)$$

In figure 4.7b, we compare both the corrected (red dots) and uncorrected (black dots) Foram-AMBI values with the TSI-Med values. The corrected Foram-AMBI values are systematically much lower, indicating a better environmental quality (Figure 4.7b), and the scatter around the regression line is highly reduced, leading to an increase in r^2 from 0.57 to 0.79 (Table 4.3).

Next, we applied the same procedure to FSI. In figure 4.7c, both the uncorrected (black dots) and corrected (red dots) FSI values are plotted against TSI-Med. It can be seen that the FSI values strongly increase, indicating a better environmental quality; the attributed EQS classes have become much more realistic. The scatter is also reduced, r^2 decreased from 0.58 (non-corrected FSI) to 0.73 (corrected FSI), see table 4.3.

In conclusion, it appears that when a correction for sediment grain size (as a proxy of the natural trophic state) is applied to Foram-AMBI and FSI, their values shift toward higher quality values, indicative of a better environmental quality. This correction substantially improves their correlation with TSI-Med, and seems to yield much more realistic EQS values. Consequently, we strongly recommend to include a correction for the natural trophic state when using these indices, following the procedure used for TSI-Med (Barras *et al.*, 2014). This is all the more important for regions with important variability of sediment grain size.

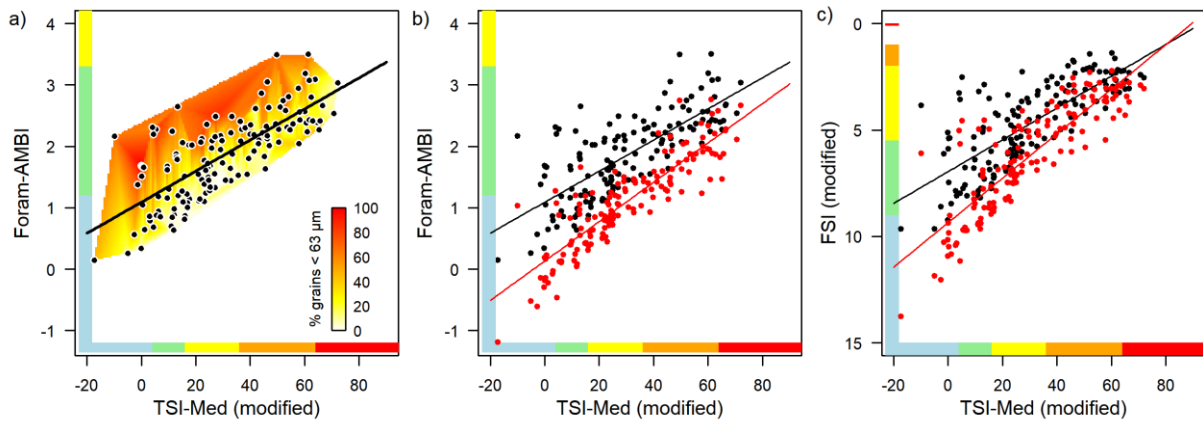


Figure 4.7: a) Foram-AMBI as function of TSI-Med, (see table 4.3 for regression line). b) black dots: Foram-AMBI and TSI-Med, black line is the regression line; red dots represents a grain size corrected Foram-AMBI as a function of TSI-Med, red line is the regression line. c) black dots: FSI and TSI-Med, black line is the regression line; red dots represents a grain size corrected FSI as a function of TSI-Med, red line is the regression line. See table 4.3 for regression parameters. Coloured rectangles on the borders represent the EQS: blue, "very good"; green, "good"; yellow, "moderate"; orange, "poor" and red, "bad". The homogenised list of indicator species was used (i.e. Foram-AMBI assignment, Jorissen et al. (2018)). The scale for FSI is reverse so that the environmental quality scale is in the same direction for each index.

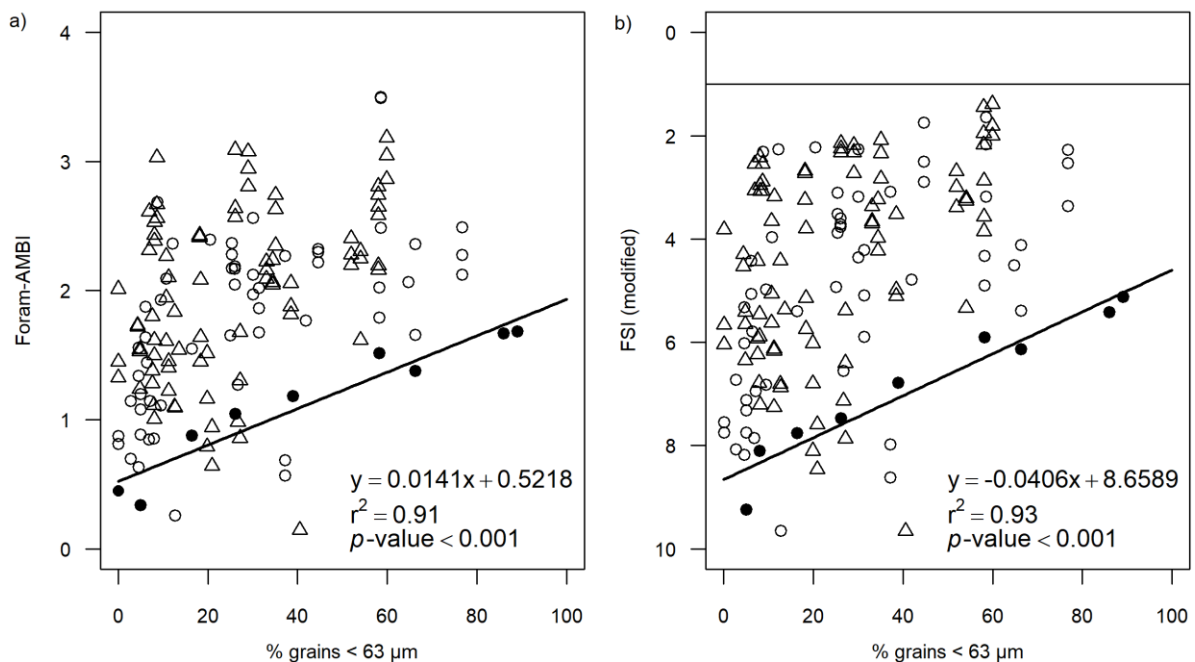


Figure 4.8: Reference curves for the corrected Foram-AMBI and corrected FSI. a) The Foram-AMBI and b) FSI (modified) are plotted as a function of sediment grain size (% grains < 63 μm). ○: 2012; Δ : 2015. Plain symbols: reference stations. The reference curves are based on the ecological assignments of Jorissen et al. (2018). NB: Both reference curves are only based on the 2012 data (circles) from stations along the French mainland coast, which explains why some of the data (e.g., stations from Corsica or from 2015) plot below the reference curve.

4.3.4. Attempt to define the EQS class limits

The Ecological Quality Status (EQS) represents the final quantitative evaluation of environmental quality (ranging from “very good” to “bad”). To determine the appropriate EQS category, for each biotic index, the range of values is divided into five classes. In this context, the precise definition of the limits between the EQS categories is crucial. For the present study, we used the EQS class limits as proposed by Barras and Jorissen (2011) for TSI-Med, and by Dimiza *et al.* (2016) for FSI (Table 4.1). For Foram-AMBI, we used the limits proposed for macrofaunal AMBI by Borja *et al.* (2003) (Table 4.1). In all three cases, these class limits appear to have been largely based on expert knowledge. When comparing the EQS obtained with the three indices (Figure 4.4), it appears that Foram-AMBI places 99% of the sites in the classes “very good” and “good”, TSI-Med considers 80% of the sites as “very good” or “good” qualities, whereas FSI attributes 52% of the samples to the “moderate” and “poor” classes, and only 3% to the “very good” class (Table 4.5). When the indices are homogenised, by a) using the same list of species assignments (Figure 4.5), b) using a homogenised list of assigned species (section 4.3.2.3), and c) applying a correction for the natural trophic state, the results of the indices become more similar, but systematic differences still exist. For this reason, it is important to determine the EQS class limits in a more objective way for these three indices.

Table 4.5: Percentages of sites assigned to each EQS classes by the three biotic indices based on groups of indicator species (TSI-Med, Foram-AMBI, and FSI). NC: not concerned.

Condition	Index	Very good	Good	Moderate	Poor	Bad
Original indices	TSI-Med	36.1	44.2	16.3	3.4	0.0
	Foram-AMBI	20.4	78.2	1.4	0.0	0.0
	FSI	3.4	44.2	50.3	2.0	
Modified indices as in section 4.3.2.3 (homogenised list)	TSI-Med	9.5	19.7	32.0	34.0	4.8
	Foram-AMBI			NC		
	FSI	2.0	32.0	61.9	4.1	
Modified indices as in section 4.3.3 (homogenised list + grain size correction)	TSI-Med			NC		
	Foram-AMBI	66.7	33.3	0.0	0.0	0.0
	FSI	15.6	38.1	46.3	0.0	

However, at present we lack data that cover the full range of possible environmental quality needed to pursue a reliable statistical determination of the EQS class limits. This lack of data mostly concerns the “poor”, “moderate”, and “bad” environmental qualities. More sites of poor to bad environmental quality should be sampled, and used to test the foraminiferal indices discussed here. Next, the EQS values yielded by the foraminiferal indices should be compared with EQS values given by indices based on other biological compartments, for which the EQS values have already been determined and validated. An optimisation algorithm could then be used to find the best EQS class limits that minimise the mean squared error (MSE) between EQS of the foraminifera index and the EQS of the reference index. We expect that especially in Foram-AMBI, this would lead to a substantial decrease of the EQS class limits.

4.4. Recommendations

We compared four quality indices based on living (Rose Bengal-stained) foraminiferal faunas that evaluate the environmental quality due to organic matter enrichment and its associated oxygen depletion. These indices are based on two different approaches, species diversity and groups of indicator species. $\exp(H'_{bc})$, based on diversity, shows a non-monotonic relation with other quality indices suggesting that the index does not have a monotonic relation with the gradient of impact. Therefore, **we do not recommend the use of diversity-based index in coastal soft-bottom environments of the Mediterranean.**

The three foraminiferal indices based on group of indicator species present some important differences: only TSI-Med includes a correction for the natural trophic state; TSI-Med and FSI are based on the entire assemblage, whereas Foram-AMBI is based on a reduced data-set, using only assigned and/or indicator taxa; the index value of TSI-Med and Foram-AMBI is mainly determined by stress-tolerant taxa, whereas the index value of FSI is largely determined by the frequency of stress-sensitive taxa. In view of these differences, it is reassuring that these three methods yield comparable results.

Our tests further show that the list of species assignments to ecological categories largely influences the precise index values. For this reason, it appears essential that all methods use the same list of assignments. **For the Mediterranean sea, we recommend the use of the list proposed by Jorissen *et al.* (2018),** because it is rather exhaustive, and is based on an objective analysis of a large number of quantitative studies. However, the absence of many taxa on this list strongly decreases the reliability of the indices, and should be addressed urgently.

TSI-Med and Foram-AMBI are mostly based on stress-tolerant species whereas FSI is largely dependent on stress-sensitive species. Both methods yield similar results, which are significantly correlated. We have not found any objective indications that one of these indices performs better than the other two. However, for **reasons of parsimony**, it seems preferable to use the simplest available index. This criterion **would favour the TSI-Med**, which use a limited number of categories and

indicator species, and not Foram-AMBI and FSI, in which all taxa are considered, what requires a much more extensive taxonomical knowledge of the operator.

The treatment of **unassigned species** strongly influences the results of each index. Because the ecological strategies of these species is mostly unknown, for FSI and Foram-AMBI, which include all species, it seems preferable to **exclude them from data set, and to recalculate percentages** afterwards.

An important question is whether an environmental index should incorporate a correction for the natural trophic state or not. We think that a sensible characterisation of an environment can only be made when the natural (baseline) conditions are taken into account. At present, only the TSI-Med index includes this aspect, and for this reason, it has our preference. However, as we have shown, it is easy to incorporate a similar correction in the FSI or Foram-AMBI indices as well.

References

- Alve, E., Lepland, A., Magnusson, J., and Backer-Owe, K. 2009. Monitoring strategies for re-establishment of ecological reference conditions: Possibilities and limitations. *Marine Pollution Bulletin*, 59: 297–310.
- Alve, E., Korsun, S., Schönfeld, J., Dijkstra, N., Golikova, E., Hess, S., Husum, K., et al. 2016. Foram-AMBI: A sensitivity index based on benthic foraminiferal faunas from North-East Atlantic and Arctic fjords, continental shelves and slopes. *Marine Micropaleontology*, 122: 1–12.
- Barras, C., and Jorissen, F. J. 2011. Étude des faunes de foraminifères benthiques de la côte méditerranéenne française: mise en place d'un nouvel indice biotique dans le cadre de Directive Cadre Eau - Campagne DCE 2009. Laboratoire des Bio-Indicateurs Actuels et Fossiles (BIAF) Université d'Angers, Angers, France.
- Barras, C., Jorissen, F. J., Labrunne, C., Andral, B., and Boissery, P. 2014. Live benthic foraminiferal faunas from the French Mediterranean Coast: Towards a new biotic index of environmental quality. *Ecological Indicators*, 36: 719–743.
- Bock, M. J., and Mayer, L. M. 2000. Mesodensity organo–clay associations in a near-shore sediment. *Marine Geology*, 163: 65–75.
- Borja, Á., Franco, J., and Pérez, V. 2000. A Marine Biotic Index to Establish the Ecological Quality of Soft-Bottom Benthos Within European Estuarine and Coastal Environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 1100–1114.
- Borja, A., Muxika, I., and Franco, J. 2003. The application of a Marine Biotic Index to different impact sources affecting soft-bottom benthic communities along European coasts. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 835–845.
- Borja, Á., and Muxika, I. 2005. Guidelines for the use of AMBI (AZTI's Marine Biotic Index) in the assessment of the benthic ecological quality. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 787–789.
- Borja, Á., Dauer, D. M., and Grémare, A. 2012a. The importance of setting targets and reference conditions in assessing marine ecosystem quality. *Ecological Indicators*, 12: 1–7.

- Borja, Á., Mader, J., and Muxika, I. 2012b. Instructions for the use of the AMBI index software (Version 5.0). *Revista de Investigación Marina*, 19: 71–82.
- Bouchet, V. M. P., Alve, E., Rygg, B., and Telford, R. J. 2012. Benthic foraminifera provide a promising tool for ecological quality assessment of marine waters. *Ecological Indicators*, 23: 66–75.
- Bouchet, V. M. P., Goberville, E., and Frontalini, F. 2018. Benthic foraminifera to assess Ecological Quality Statuses in Italian transitional waters. *Ecological Indicators*, 84: 130–139.
- Chao, A., and Tsung-Jen, S. 2003. Nonparametric estimation of Shannon's index of diversity when there are unseen species in sample. *Environmental and Ecological Statistics*, 10: 429–443.
- Dimiza, M. D., Triantaphyllou, M. V., Koukousioura, O., Hallock, P., Simboura, N., Karageorgis, A. P., and Papatthanasiou, E. 2016. The Foram Stress Index: A new tool for environmental assessment of soft-bottom environments using benthic foraminifera. A case study from the Saronikos Gulf, Greece, Eastern Mediterranean. *Ecological Indicators*, 60: 611–621.
- Dolven, J. K., Alve, E., Rygg, B., and Magnusson, J. 2013. Defining past ecological status and in situ reference conditions using benthic foraminifera: A case study from the Oslofjord, Norway. *Ecological Indicators*, 29: 219–233.
- Ferraro, L., Alberico, I., Lirer, F., and Vallefucio, M. 2012. Distribution of benthic foraminifera from the southern Tyrrhenian continental shelf (South Italy). *Rendiconti Lincei*, 23: 103–119.
- Francescangeli, F., Armynot du Chatelet, E., Billon, G., Trentesaux, A., and Bouchet, V. M. P. 2016. Palaeo-ecological quality status based on foraminifera of Boulogne-sur-Mer harbour (Pas-de-Calais, Northeastern France) over the last 200 years. *Marine Environmental Research*, 117: 32–43.
- Gillett, D. J., Weisberg, S. B., Grayson, T., Hamilton, A., Hansen, V., Leppo, E. W., Pelletier, M. C., et al. 2015. Effect of ecological group classification schemes on performance of the AMBI benthic index in US coastal waters. *Ecological Indicators*, 50: 99–107.
- Gobert, S., Sartoretto, S., Rico-Raimondino, V., Andral, B., Chery, A., Lejeune, P., and Boissery, P. 2009. Assessment of the ecological status of Mediterranean French coastal waters as required by the Water Framework Directive using the *Posidonia oceanica* Rapid Easy Index: PREI. *Marine Pollution Bulletin*, 58: 1727–1733.
- Grémare, A., Labrune, C., Vanden Berghe, E., Amouroux, J., Bachelet, G., Zettler, M., Vanaverbeke, J., et al. 2009. Comparison of the performances of two biotic indices based on the MacroBen database. *Marine Ecology Progress Series*, 382: 297–311.
- Hausser, J., and Strimmer, K. 2014. Estimation of Entropy, Mutual Information and Related Quantities. <https://CRAN.R-project.org/package=entropy>.
- Hedges, J. I., Keil, R. G., and Cowie, G. L. 1993. Sedimentary diagenesis: organic perspectives with inorganic overlays. *Chemical Geology*, 107: 487–492.
- Hill, M. O. 1973. Diversity and Evenness: A Unifying Notation and Its Consequences. *Ecology*, 54: 427–432.

- Jarvis, A., Reuter, H. I., Nelson, A., and Guevara, E. 2008. Hole-filled SRTM for the globe Version 4, available from the CGIAR-CSI SRTM 90m Database. <http://srtm.csi.cgiar.org>.
- Jorissen, F. J. 1987. The distribution of benthic foraminifera in the Adriatic Sea. *Marine Micropaleontology*, 12: 21–48.
- Jorissen, F. J. 1988. Benthic foraminifera from the Adriatic Sea: principles of phenotypic variation. Utrecht University, Utrecht, The Netherlands. 174 pp. <https://dspace.library.uu.nl/handle/1874/205896> (Accessed 23 July 2017).
- Jorissen, F. J., De Stigter, H., and Widmark, J. G. V. 1995. A conceptual model explaining benthic foraminiferal microhabitats. *Marine Micropaleontology*, 26: 3–15.
- Jorissen, F. J. 1999. Benthic foraminiferal microhabitats below the sediment-water interface. In *Modern Foraminifera*, pp. 161–179. Springer, Dordrecht, The Netherlands. https://doi.org/10.1007/0-306-48104-9_10.
- Jorissen, F. J., Nardelli, M. P., Almogi-Labin, A., Barras, C., Bergamin, L., Bicchi, E., El Kateb, A., et al. 2018. Developing Foram-AMBI for biomonitoring in the Mediterranean: Species assignments to ecological categories. *Marine Micropaleontology*, 140: 33–45.
- Marine Information Service. 2016. EMODnet Digital Bathymetry (DTM). <http://portal.emodnet-bathymetry.eu/>.
- Martínez-Crego, B., Alcoverro, T., and Romero, J. 2010. Biotic indices for assessing the status of coastal waters: a review of strengths and weaknesses. *Journal of Environmental Monitoring*, 12: 1013.
- Muxika, I., Borja, Á., and Bald, J. 2007. Using historical data, expert judgement and multivariate analysis in assessing reference conditions and benthic ecological status, according to the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 55: 16–29.
- Nilsson, H. C., and Rosenberg, R. 2000. Succession in marine benthic habitats and fauna in response to oxygen deficiency: analysed by sediment profile-imaging and by grab samples. *Marine Ecology Progress Series*, 197: 139–149.
- Parent, B., Barras, C., and Jorissen, F. 2018. An optimised method to concentrate living (Rose Bengal-stained) benthic foraminifera from sandy sediments by high density liquids. *Marine Micropaleontology*, 144: 1–13.
- Pearson, T. H., and Rosenberg, R. 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and Marine Biology - An Annual Review*, 16: 229–311.
- Puente, A., and Diaz, R. J. 2015. Response of benthos to ocean outfall discharges: does a general pattern exist? *Marine Pollution Bulletin*, 101: 174–181.
- Robertson, B. P., Savage, C., Gardner, J. P. A., Robertson, B. M., and Stevens, L. M. 2016. Optimising a widely-used coastal health index through quantitative ecological group classifications and associated thresholds. *Ecological Indicators*, 69: 595–605.
- Romano, E., Bergamin, L., Ausili, A., Pierfranceschi, G., Maggi, C., Sesta, G., and Gabellini, M. 2009. The impact of the Bagnoli industrial site (Naples, Italy)

- on sea-bottom environment. Chemical and textural features of sediments and the related response of benthic foraminifera. *Marine Pollution Bulletin*, 59: 245–256.
- Rosenberg, R., Blomqvist, M., C Nilsson, H., Cederwall, H., and Dimming, A. 2004. Marine quality assessment by use of benthic species-abundance distributions: a proposed new protocol within the European Union Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 49: 728–739.
- Schönfeld, J., Alve, E., Geslin, E., Jorissen, F., Korsun, S., and Spezzaferri, S. 2012. The FOBIMO (FOraminiferal Bio-MONitoring) initiative—Towards a standardised protocol for soft-bottom benthic foraminiferal monitoring studies. *Marine Micropaleontology*, 94–95: 1–13.
- Shannon, C. E. 1948. A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal*, 27: 379–423.
- Simboura, N., and Zenetos, A. 2002. Benthic indicators to use in Ecological Quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new Biotic Index. *Mediterranean Marine Science*, 3/2: 77–111.
- Subida, M. D., Drake, P., Jordana, E., Mavrič, B., Pinedo, S., Simboura, N., Torres, J., et al. 2012. Response of different biotic indices to gradients of organic enrichment in Mediterranean coastal waters: Implications of non-monotonic responses of diversity measures. *Ecological Indicators*, 19: 106–117.
- Zeppilli, D., Sarrazin, J., Leduc, D., Arbizu, P. M., Fontaneto, D., Fontanier, C., Gooday, A. J., et al. 2015. Is the meiofauna a good indicator for climate change and anthropogenic impacts? *Marine Biodiversity*, 45: 505–535.
- Zettler, M. L., Proffitt, C. E., Darr, A., Degraer, S., Devriese, L., Greathead, C., Kotta, J., et al. 2013. On the Myths of Indicator Species: Issues and Further Consideration in the Use of Static Concepts for Ecological Applications. *PLoS ONE*, 8: e78219.

Appendices

Appendix 4.A: details on sampled stations

Station	Region	Sampling year	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Depth (m)
Ajaccio Nord	Corsica	2012	41° 55' 1.65"	8° 46' 34.16"	65
Ajaccio Sud	Corsica	2012	41° 51' 51.52"	8° 46' 37.92"	37
Aléria (Tavignano)	Corsica	2012	42° 3' 29.78"	9° 34' 28.87"	44
Aléria (Tavignano)	Corsica	2015	42° 7' 49.57"	9° 34' 58.36"	40
Bastia Sud	Corsica	2012	42° 39' 56.14"	9° 27' 38.35"	30
Bonifacio	Corsica	2012	41° 23' 22.82"	9° 9' 12.97"	20
Bonifacio	Corsica	2015	41° 23' 21.6"	9° 9' 17.11"	18.5
Calvi (Revellata)	Corsica	2012	42° 34' 51.12"	8° 43' 50.46"	43
Calvi (Revellata)	Corsica	2015	42° 34' 51.24"	8° 43' 52.71"	44
Canari	Corsica	2012	42° 48' 21.21"	9° 19' 34.59"	34
Cargèse	Corsica	2012	42° 9' 41.46"	8° 33' 31.56"	60
Cargèse	Corsica	2015	42° 7' 22.68"	8° 36' 32.55"	38.7
Figari Bruzzi	Corsica	2012	41° 27' 54.48"	9° 0' 18.85"	39
Figari Bruzzi	Corsica	2015	41° 27' 28.48"	9° 0' 9.91"	41.5
Saint Florent	Corsica	2012	42° 42' 31.09"	9° 17' 38.94"	36
Santa Giulia	Corsica	2012	41° 30' 51.42"	9° 18' 11.1"	36
Santa Giulia	Corsica	2015	41° 28' 36.04"	9° 17' 27.91"	38.8
Agde Est	LR-PACA	2012	43° 16' 15.21"	3° 32' 25.73"	22
Agde Ouest	LR-PACA	2015	43° 14' 20.79"	3° 28' 20.46"	18.8
Antibes Nord	LR-PACA	2012	43° 36' 49.2"	7° 8' 9.91"	17.9
Antibes Nord	LR-PACA	2015	43° 36' 47.6"	7° 8' 10.41"	30
Antibes Sud	LR-PACA	2012	43° 33' 37.89"	7° 8' 38.63"	30.5
Antibes Sud	LR-PACA	2015	43° 33' 36.08"	7° 8' 37.23"	30
Beauduc	LR-PACA	2012	43° 24' 47.61"	4° 30' 51.9"	13
Beauduc	LR-PACA	2015	43° 24' 3.05"	4° 29' 51.92"	14.5
Cap Canaille	LR-PACA	2012	43° 10' 53.83"	5° 33' 14.41"	71
Cap Canaille	LR-PACA	2015	43° 12' 1.44"	5° 31' 46.64"	49
Carry	LR-PACA	2012	43° 18' 40.9"	5° 9' 37.29"	41
Carry	LR-PACA	2015	43° 18' 28.77"	5° 9' 36.04"	55
Carteau	LR-PACA	2012	43° 23' 11.21"	4° 53' 41.45"	10
Collioure	LR-PACA	2012	42° 31' 55.17"	3° 5' 22.11"	23
Collioure	LR-PACA	2015	42° 31' 51.39"	3° 5' 22.05"	22
Faraman	LR-PACA	2012	43° 19' 40.83"	4° 42' 47.13"	11.9
Faraman	LR-PACA	2015	43° 19' 41.21"	4° 42' 44.72"	11
Fos	LR-PACA	2012	43° 21' 45"	4° 55' 36.23"	18
Fos	LR-PACA	2015	43° 22' 0.27"	4° 55' 53.31"	20
Fréjus (St Raphaël)	LR-PACA	2012	43° 25' 16.14"	6° 52' 5.9"	38.5
Fréjus (St Raphaël)	LR-PACA	2015	43° 25' 11.18"	6° 52' 20.56"	52.6
Grau du Roi	LR-PACA	2012	43° 31' 2.49"	4° 3' 39.94"	14.5
Grau du Roi	LR-PACA	2015	43° 30' 58.09"	4° 4' 8.88"	14.5
Gruissan	LR-PACA	2012	43° 9' 8.72"	3° 12' 7.03"	20
Gruissan	LR-PACA	2015	43° 9' 10.34"	3° 12' 2.31"	20

Station	Region	Sampling year	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Depth (m)
Île Embiez	LR-PACA	2012	43° 6' 2.01"	5° 46' 36.04"	32
Île Embiez	LR-PACA	2015	43° 6' 0.48"	5° 46' 32.37"	35
Île Maire	LR-PACA	2012	43° 12' 14.28"	5° 20' 48.11"	41
Île Maire	LR-PACA	2015	43° 12' 14.35"	5° 20' 48.72"	44
Île Plane	LR-PACA	2012	43° 11' 44.61"	5° 22' 58.03"	34
Lavandou	LR-PACA	2012	43° 6' 5.16"	6° 23' 16.56"	36
Leucate	LR-PACA	2012	42° 51' 21"	3° 3' 29.94"	22
Leucate	LR-PACA	2015	42° 51' 24.94"	3° 3' 39.62"	16
Marseille Grande Rade	LR-PACA	2015	43° 15' 54.72"	5° 19' 24.65"	37
Menton	LR-PACA	2012	43° 45' 17.95"	7° 29' 41.44"	53
Menton	LR-PACA	2015	43° 45' 21.65"	7° 29' 38.84"	64
Nice Ville	LR-PACA	2012	43° 40' 45.68"	7° 14' 9.5"	13
Nice Ville	LR-PACA	2015	43° 40' 46.39"	7° 14' 6.41"	12.7
Pampelonne	LR-PACA	2012	43° 13' 44.9"	6° 41' 42.39"	43
Pampelonne	LR-PACA	2015	43° 13' 47.98"	6° 41' 43.33"	38
Porquerolles	LR-PACA	2012	43° 1' 20.53"	6° 16' 31.16"	45
Porquerolles	LR-PACA	2015	43° 1' 21.6"	6° 16' 30.06"	44
Sète	LR-PACA	2012	43° 22' 38.81"	3° 42' 43.04"	20
Toulon Grande Rade	LR-PACA	2012	43° 5' 36.58"	5° 56' 53.7"	29
Toulon Grande Rade	LR-PACA	2015	43° 5' 14.52"	5° 58' 10.41"	48
Villefranche	LR-PACA	2012	43° 41' 27.14"	7° 18' 44.16"	52
Villefranche	LR-PACA	2015	43° 41' 29.49"	7° 18' 50.27"	64

Appendix 4.B: Species assignment for the biotic indices based on groups of indicator species (TSI-Med, Foram-AMBI, and FSI)

The list below contains only the species assigned by one or several authors in this study and is not a complete list of all species assigned by each author.

Species	Author	Tolerance/sensitivity, Barras et al. (2014)	Tolerance/sensitivity, Dimiza et al. (2016)	Foram-AMBI EG Jorissen et al. (2018)	Tolerance/sensitivity based on Foram- AMBI EG
<i>Adelosina elegans</i>	(Williamson, 1858)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Adelosina ferussaci</i>	(d'Orbigny, sp. Brady, 1884)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Adelosina longirostra</i>	(d'Orbigny, 1826)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Adelosina mediterraneensis</i>	(Le Calvez & Le Calvez, 1958)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Adelosina</i> spp.		sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Ammoglobigerina globigeriniformis</i>	(Parker & Jones, 1865)			2	
<i>Ammonia beccarii</i>	(Linnaeus, 1758)		tolerant	2	
<i>Ammonia inflata</i>			tolerant	2	
<i>Ammonia parkinsoniana</i>	(d'Orbigny, 1839)		tolerant	1	sensitive
<i>Ammonia tepida</i>	(Cushman, 1926)		tolerant	4	tolerant
<i>Ammonia perlucida</i>	(Heron-Allen & Earland, 1913)		tolerant	3	tolerant
<i>Ammonia</i> spp.			tolerant		
<i>Amphycorina scalaris</i>	(Batsch, 1791)		tolerant	2	
<i>Articulina</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Asterigerinata adriatica</i>	Haake, 1977	sensitive	sensitive	3	tolerant
<i>Asterigerinata mamilla</i>	(Williamson, 1858)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Astrononion stelligerum</i>	(d'Orbigny, 1839)		tolerant	1	sensitive
<i>Bigenerina nodosaria</i>	d'Orbigny, 1826		tolerant	2	
<i>Biloculinella cylindrica</i>	Todd, 1958	sensitive	sensitive		
<i>Biloculinella inflata</i>	(Wright, 1902)	sensitive	sensitive		
<i>Biloculinella irregularis</i>	(d'Orbigny, 1839)	sensitive	sensitive		

Species	Author	Tolerance/sensitivity, Barras et al. (2014)	Tolerance/sensitivity, Dimiza et al. (2016)	Foram-AMBI EG Jorissen et al. (2018)	Tolerance/sensitivity based on Foram- AMBI EG
<i>Biloculinella labiata</i>	(Schlumberger, 1891)	sensitive	sensitive	2	
<i>Bolivina dilatata</i>	Reuss, 1850	tolerant	tolerant	2	
<i>Bolivina pseudoplicata</i>	Heron-Allen & Earland, 1930	tolerant	tolerant	2	
<i>Bolivina pygmaea</i>	(Brady, 1881)	tolerant	tolerant		
<i>Bolivina spathulata</i>	(Williamson, 1858)	tolerant	tolerant	3	tolerant
<i>Bolivina</i> spp.	d'Orbigny, 1839	tolerant	tolerant		
<i>Bolivina striatula</i>	Cushman, 1922	tolerant	tolerant	3	tolerant
<i>Bolivina subaenariensis</i>	Cushman, 1922	tolerant	tolerant	2	
<i>Bolivina variabilis</i>	(Williamson, 1858)	tolerant	tolerant	2	
<i>Buccella granulata</i>	(di Napoli Alliata, 1952)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Buccella</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Bulimina aculeata</i>	d'Orbigny, 1826	tolerant	tolerant	3	tolerant
<i>Bulimina elongata</i>	d'Orbigny, 1846	tolerant	tolerant	3	tolerant
<i>Bulimina gibba</i>	Fornasini, 1902	tolerant	tolerant	3	tolerant
<i>Bulimina costata</i>	d'Orbigny, 1852 †	tolerant	tolerant	2	
<i>Bulimina marginata</i>	d'Orbigny, 1826	tolerant	tolerant	3	tolerant
<i>Bulimina</i> spp.		tolerant	tolerant		
<i>Cancris auriculus</i>	(Fichtel & Moll, 1798)	tolerant	tolerant		
<i>Cassidulina carinata</i>	Silvestri, 1896	tolerant	tolerant	4	tolerant
<i>Cassidulina oblonga</i>	Reuss, 1850	tolerant	tolerant	2	
<i>Cassidulinoides bradyi</i>	(Norman, 1881)	tolerant	tolerant		
<i>Cibicidella variabilis</i>	(d'Orbigny, 1826)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Cibicides lobatulus</i>	(Walker & Jacob, 1798)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Cibicides refulgens</i>	Montfort, 1808	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Cibicides</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Cibicidoides pseudoungarianus</i>	(Cushman, 1922)	sensitive	sensitive		
<i>Clavulina cylindrica</i>	d'Orbigny, 1852			3	tolerant

Species	Author	Tolerance/sensitivity, Barras et al. (2014)	Tolerance/sensitivity, Dimiza et al. (2016)	Foram-AMBI EG Jorissen et al. (2018)	Tolerance/sensitivity based on Foram- AMBI EG
<i>Cornuspira foliacea</i>	(Philippi, 1844)	sensitive	sensitive		
<i>Cornuspira involvens</i>	(Reuss, 1850)	sensitive	sensitive	3	tolerant
<i>Cornuspira</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Cornuspiroides striolata</i>	(Brady, 1882)	sensitive	sensitive		
<i>Cycloforina</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Cycloforina tenuicollis</i>	(Wiesner, 1923)	sensitive	sensitive		
<i>Discorbinella bertheloti</i>	(d'Orbigny, 1839)		sensitive	1	sensitive
<i>Eggerelloides scaber</i>	(Williamson, 1858)		tolerant	3	tolerant
<i>Elphidium aculeatum</i>	(d'Orbigny, 1846)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Elphidium advenum</i>	(Cushman, 1922)	sensitive	sensitive	2	
<i>Elphidium bartletti</i>	Cushman, 1933	sensitive	sensitive		
<i>Elphidium complanatum</i>	(d'Orbigny, 1839)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Elphidium crispum</i>	(Linnaeus, 1758)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Elphidium gerthi</i>	Van Voorthuysen, 1957	sensitive	sensitive		
<i>Elphidium granosum</i>	(d'Orbigny, 1846)	sensitive	sensitive	3	tolerant
<i>Elphidium incertum</i>	(Williamson, 1858)	sensitive	sensitive		
<i>Elphidium macellum</i>	(Fichtel & Moll, 1798)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Elphidium poeyanum f. decipiens</i>	(O.G.Costa, 1856)	sensitive	sensitive	2	
<i>Elphidium</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Elphidium williamsoni</i>	Haynes, 1973	sensitive	sensitive		
<i>Fursenkoina acuta</i>	(d'Orbigny, 1846)		tolerant		
<i>Fursenkoina complanata</i>	(Egger, 1893)		tolerant		
<i>Fursenkoina</i> spp.			tolerant		
<i>Gavelinopsis praegeri</i>	(Heron-Allen & Earland, 1913)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Gavelinopsis</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Glabratella erecta</i>	(Sidebottom, 1908)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Glabratella hexacamerata</i>	Seiglie & Bermúdez, 1965	sensitive	sensitive	1	sensitive

Species	Author	Tolerance/sensitivity, Barras et al. (2014)	Tolerance/sensitivity, Dimiza et al. (2016)	Foram-AMBI EG Jorissen et al. (2018)	Tolerance/sensitivity based on Foram- AMBI EG
<i>Globobulimina affinis</i>	(d'Orbigny, 1839)		tolerant	2	
<i>Globocassidulina subglobosa</i>	(Brady, 1881)		tolerant	2	
<i>Gyroidina umbonata</i>	(Silvestri, 1898)		tolerant	2	
<i>Hanzawaia boueana</i>	(d'Orbigny, 1846)	sensitive	tolerant		
<i>Hanzawaia</i> spp.		sensitive	tolerant		
<i>Hauerina</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Haynesina germanica</i>	(Ehrenberg, 1840)		tolerant	3	tolerant
<i>Lagenammia atlantica</i>	(Cushman, 1944)			2	
<i>Lagenammia difflugiformis</i>	(Brady, 1879)			2	
<i>Leptohalysis scotti</i>	(Chaster, 1892)	tolerant	tolerant	5	tolerant
<i>Melonis barleeanus</i>	(Williamson, 1858)		tolerant	3	tolerant
<i>Melonis</i> spp.			tolerant		
<i>Miliammia fusca</i>	(Brady, 1870)	sensitive	sensitive		
<i>Miliolids</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Miliolinella albatrossi</i>		sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Miliolinella</i> cf. <i>hybrida</i>	(Terquem, 1878)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Miliolinella dilatata</i>	(d'Orbigny, 1839)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Miliolinella elongata</i>	Kruit, 1955	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Miliolinella oblonga</i>	(Montagu, 1803)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Miliolinella semicostata</i>	(Wiesner, 1923)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Miliolinella</i> spp.		sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Miliolinella subrotunda</i>	(Montagu, 1803)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Miliolinella webbiana</i>	(d'Orbigny, 1839)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Neoconorbina</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Neoconorbina terquemi</i>	(Rzehak, 1888)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Nonion depressulum</i>	(Walker & Jacob, 1798)	tolerant	tolerant	2	
<i>Nonion scaphum</i>	(Fichtel & Moll, 1798) †	tolerant	tolerant	4	tolerant

Species	Author	Tolerance/sensitivity, Barras et al. (2014)	Tolerance/sensitivity, Dimiza et al. (2016)	Foram-AMBI EG Jorissen et al. (2018)	Tolerance/sensitivity based on Foram- AMBI EG
<i>Nonion</i> spp.		tolerant	tolerant		
<i>Nonionella</i> spp.		tolerant	tolerant		
<i>Nonionella stella</i>	Cushman & Moyer, 1930	tolerant	tolerant		
<i>Nonionella turgida</i>	(Williamson, 1858)	tolerant	tolerant	5	tolerant
<i>Nonionoides grateloupii</i>	(d'Orbigny, 1839)		tolerant	2	
<i>Nouria polymorphinoides</i>	Heron-Allen & Earland, 1914			3	tolerant
<i>Nubecularia lucifuga</i>	Defrance, 1825	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Nummoloculina</i> spp.	Steinmann, 1881	sensitive	sensitive		
<i>Parasorites marginalis</i>	(Lamarck, 1816)	sensitive	sensitive		
<i>Peneroplis pertusus</i>	(Forskål, 1775)		sensitive	1	sensitive
<i>Planorbulina mediterranensis</i>	d'Orbigny, 1826	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Pseudobolivina</i> spp.	Wiesner, 1931	sensitive	sensitive		
<i>Pseudoeponides falsobeccarii</i>	Rouvillois, 1974	tolerant	tolerant	3	tolerant
<i>Pseudotriloculina cyclostoma</i>	(Reuss, 1850)	sensitive	sensitive		
<i>Pyrgo anomala</i>	(Schlumberger, 1891)	sensitive	sensitive		
<i>Pyrgo depressa</i>	(d'Orbigny, 1826)	sensitive	sensitive		
<i>Pyrgo elongata</i>	(d'Orbigny, 1826)	sensitive	sensitive		
<i>Pyrgo sphaera</i>	(d'Orbigny, 1839)	sensitive	sensitive		
<i>Quinqueloculina aspera</i>	d'Orbigny, 1826	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Quinqueloculina boschiana</i>	d'Orbigny, 1839	sensitive	sensitive	2	
<i>Quinqueloculina</i> cf. <i>laevigata</i>	d'Orbigny, 1839	sensitive	sensitive		
<i>Quinqueloculina costata</i>	d'Orbigny in Terquem, 1878	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Quinqueloculina eburnea</i>	(d'Orbigny, 1839)	sensitive	sensitive		
<i>Quinqueloculina laevigata</i>	d'Orbigny, 1839	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Quinqueloculina lamarckiana</i>	d'Orbigny, 1839	sensitive	sensitive		
<i>Quinqueloculina limbata</i>	d'Orbigny in Fornasini, 1905	sensitive	sensitive		
<i>Quinqueloculina oblonga</i>	(Montagu, 1803)	sensitive	sensitive		

Species	Author	Tolerance/sensitivity, Barras et al. (2014)	Tolerance/sensitivity, Dimiza et al. (2016)	Foram-AMBI EG Jorissen et al. (2018)	Tolerance/sensitivity based on Foram- AMBI EG
<i>Quinqueloculina parvula</i>	Schlumberger, 1894	sensitive	sensitive	2	
<i>Quinqueloculina pygmaea</i>	Reuss, 1850	sensitive	sensitive	3	tolerant
<i>Quinqueloculina seminula</i>	(Linnaeus, 1758)		sensitive	3	tolerant
<i>Quinqueloculina seminula</i> f. <i>longa</i>	(Linnaeus, 1758)		sensitive	4	tolerant
<i>Quinqueloculina</i> spp.	d'Orbigny, 1826	sensitive	sensitive		
<i>Quinqueloculina stalkerii</i>	Loeblich & Tappan, 1953	sensitive	sensitive		
<i>Quinqueloculina stelligera</i>	Terquem, 1882 †	sensitive	sensitive	3	tolerant
<i>Rectuvigerina phlegeri</i>	Le Calvez, 1959	tolerant	tolerant	3	tolerant
<i>Reophax fusiformis</i>	(Williamson, 1858)			3	tolerant
<i>Reophax nana</i>	Rhumbler, 1913			3	tolerant
<i>Reophax scorpiurus</i>	Montfort, 1808			2	
<i>Reussella spinulosa</i>	(Reuss, 1850)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Rosalina bradyi</i>	(Cushman, 1915)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Rosalina globularis</i>	d'Orbigny, 1826	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Rosalina</i> spp.		sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Rosalina vilardebouana</i>	d'Orbigny, 1839	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Scuttuloris</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Sigmoilina grata</i>	(Terquem, 1878)	sensitive	sensitive		
<i>Sigmoilina</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Sigmoilinita</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Siphonaperta agglutinans</i>	(d'Orbigny, 1839)		sensitive	1	sensitive
<i>Spirillina</i> spp.		sensitive			
<i>Spirillina tuberculata</i>	Brady, 1878	sensitive			
<i>Spirillina vivipara</i>	Ehrenberg, 1843	sensitive		3	tolerant
<i>Spiroloculina corrugata</i>	Cushman & Todd, 1944	sensitive	sensitive		
<i>Spiroloculina elevata</i>	Wiesner, 1923	sensitive	sensitive		
<i>Spiroloculina excavata</i>	d'Orbigny, 1846	sensitive	sensitive	1	sensitive

Species	Author	Tolerance/sensitivity, Barras et al. (2014)	Tolerance/sensitivity, Dimiza et al. (2016)	Foram-AMBI EG Jorissen et al. (2018)	Tolerance/sensitivity based on Foram- AMBI EG
<i>Spiroloculina grateloupi</i>	d'Orbigny, 1852	sensitive	sensitive		
<i>Spiroloculina</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Spiroloculina tenuiseptata</i>	Brady, 1884	sensitive	sensitive		
<i>Spiroplectammina earlandi</i>	(Parker, 1952)			2	
<i>Stainforthia fusiformis</i>	(Williamson, 1848)		tolerant	3	tolerant
<i>Textularia agglutinans</i>	d'Orbigny, 1839		tolerant	3	tolerant
<i>Textularia conica</i>	Ehrenberg, 1840 †		tolerant	1	sensitive
<i>Trifarina angulosa</i>	(Williamson, 1858)		tolerant	2	
<i>Triloculina oblonga</i>	(Montagu, 1803)	sensitive	sensitive		
<i>Triloculina plicata</i>	Terquem, 1878	sensitive	sensitive	3	tolerant
<i>Triloculina</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Triloculina tricarinata</i>	d'Orbigny in Deshayes, 1832	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Triloculina trigonula</i>	(Lamarck, 1804)	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Triloculinella</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Uvigerina mediterranea</i>	Hofker, 1932		tolerant	2	
<i>Valvulineria bradyana</i>	(Fornasini, 1900)	tolerant	tolerant	4	tolerant
<i>Valvulineria</i> spp.		tolerant	tolerant		
<i>Vertebralina</i> spp.		sensitive	sensitive		
<i>Vertebralina striata</i>	d'Orbigny, 1826	sensitive	sensitive	1	sensitive
<i>Wellmanellinella striata</i>	(Sidebottom, 1904)	sensitive	sensitive		
<i>Wiesnerella auriculata</i>	(Egger, 1893)	sensitive	sensitive		

Chapitre 5 : Évaluation de la
qualité environnementale
des substrats meubles de la
côte méditerranéenne
française par les faunes de
foraminifères benthiques :
campagne DCE 2015

Résumé

Les zones côtières de Méditerranée sont particulièrement impactées par les activités anthropiques. La législation européenne impose un retour au bon état écologique des masses d'eau en général et des masses d'eaux côtières en particulier. Dans ce cadre, des campagnes de suivi sont mises en place le long des côtes françaises afin de prélever les données nécessaires au calcul des différents indices permettant l'évaluation de la qualité écologique de ces masses d'eau. Les faunes de foraminifères benthiques sont de bons indicateurs et des indices biotiques se développent basés sur ces organismes. C'est le cas du TSI-Med qui se base sur la proportion d'un groupe d'espèces tolérantes et incorpore une correction pour prendre en compte l'état trophique naturel. Nous avons échantillonné 28 stations le long des côtes méditerranéennes françaises afin d'en évaluer la qualité écologique. La grande majorité des stations possède une qualité écologique bonne à très bonne. Les faunes de foraminifères benthiques se répartissent suivant de grandes aires plus au moins géographiques, se répartissant dans des habitats benthiques avec des caractéristiques sédimentaires assez différentes. La correction pour l'état trophique du TSI-Med devrait corriger pour ses différences d'habitats, mais cette correction n'est pas suffisante et des différences systématiques persistent entre les différents habitats. Nous avons également testé un autre indice biotique basé sur les faunes de foraminifères benthiques, le Foram-AMBI. Cet indice se base sur la proportion de cinq groupes écologiques et donne des résultats similaires au TSI-Med. En fonction de nos résultats, nous discutons l'assignation aux groupes écologiques pour deux espèces importantes : *Eggerelloides scaber* et *Reophax fusiformis*.

Mots-clés : TSI-Med, Directive Cadre sur l'Eau, bio-monitoring, indice biotique

5.1. Introduction

La Directive Cadre Eau (DCE, Commission Européenne, 2000), adoptée en 2000, est appliquée en France par les Agences de l'Eau afin d'évaluer et de suivre la qualité environnementale des masses d'eau continentales et souterraines mais aussi des masses d'eau côtières et de transition. Seules c'est deux dernières vont nous intéresser ici. Dans ce cadre, l'Agence de l'Eau Rhône Méditerranée Corse applique en routine plusieurs descripteurs chimiques et écologiques pour mesurer la qualité des masses d'eaux côtières de la Méditerranée française. En parallèle des indices écologiques classiquement utilisés (macrofaune benthique, macroalgues, posidonies), un autre descripteur écologique, basé sur les faunes de foraminifères benthiques, a été développé. Les foraminifères benthiques sont suivis depuis trois campagnes (2009, 2012 et 2015) et les résultats des campagnes de 2009 et 2012 ont fait l'objet de deux rapports (Barras and Jorissen, 2011; Barras *et al.*, 2015). Ainsi, ce chapitre présente les résultats pour la dernière campagne d'échantillonnage effectuée en 2015 et se veut la base du rapport attendu par l'Agence de l'Eau Rhône Méditerranée et Corse.

La mesure de la qualité des substrats meubles par les faunes de foraminifères benthiques est rendue possible par l'observation des changements successifs des communautés benthiques en fonction des gradients de pressions sur le milieu

(Pearson and Rosenberg, 1978; Jorissen et al., 1995; Jorissen, 1999; Nilsson and Rosenberg, 2000; Rosenberg, 2001; Puente and Diaz, 2015). Dans ce contexte, on s'intéressera ici à l'impact des enrichissements en matière organique. La grande diversité des foraminifères permet de couvrir tout le spectre de réponses aux pressions subies par les substrats meubles. De plus, les foraminifères possèdent un cycle de vie court qui en fait de bons intégrateurs de la qualité écologique d'une période allant jusqu'à quelques mois. L'étude des coquilles de foraminifères préservées dans le sédiment après leur mort, permet ensuite d'établir des reconstitutions sur de longues périodes (pluriannuelles) des communautés de foraminifères benthiques. Ainsi, les foraminifères benthiques ont le potentiel de pouvoir définir un état de référence qui peut servir à mieux définir l'évolution récente de la qualité environnementale (p. ex., Alve *et al.*, 2009; Dolven *et al.*, 2013; Francescangeli *et al.*, 2016).

Il existe plusieurs indices biotiques basé sur les faunes de foraminifères benthiques permettant d'évaluer la qualité des substrats meubles, avec une très nette expansion ces dernières années (Bouchet *et al.*, 2012, 2018; Barras *et al.*, 2014; Alve *et al.*, 2016, 2019; Dimiza *et al.*, 2016; Jorissen *et al.*, 2018). Les campagnes DCE sur le littoral méditerranéen français ont permis le développement de l'indice TSI-Med par Barras *et al.* (2014). Cet indice relativement simple est basé sur les relevés des faunes de foraminifères de la campagne de 2009 (Barras and Jorissen, 2011). Le calcul du TSI-Med se base sur la proportion d'un groupe d'espèces tolérantes aux stress environnementaux, ici l'enrichissement en matière organique, et une correction est faite pour l'état trophique naturel du site. La campagne de 2009 avait permis d'établir que l'étude de la fraction supérieur à 150 μm du centimètre supérieur de la carotte échantillonnée est suffisante pour représenter les faunes de foraminifères (Barras and Jorissen, 2011).

En 2012, la deuxième campagne d'échantillonnage aux mêmes stations avait permis d'adapter l'indice TSI-Med aux recommandations du groupe d'expert FOBIMO (FORaminiferal Bio-MONitoring) (Schönfeld *et al.*, 2012). Ces recommandations reflètent une volonté de standardiser les méthodes d'échantillonnage et de traitement des échantillons dans le cadre d'étude de bio-monitoring utilisant les foraminifères benthiques. Plus concrètement, cette adaptation du TSI-Med s'est traduit par la réévaluation de la courbe de référence suite à la prise en compte de la fraction 125–150 μm en plus de la fraction 150–500 μm sur laquelle la méthode avait été basée en 2009 (Barras *et al.*, 2015). Également, l'échantillonnage de trois réplicats par station s'est avéré indispensable.

La campagne de 2015 s'inscrit dans la continuité des travaux d'évaluation de la qualité environnementale des côtes méditerranéennes françaises. La poursuite du développement et de l'évaluation de l'outil TSI-Med sur la base des résultats issus de cette campagne vont permettre de perfectionner l'utilisation des faunes vivantes (colorées au Rose Bengale) de foraminifères benthiques dans l'évaluation de la qualité environnementale. Également, la comparaison avec les campagnes effectuées en 2009 et en 2012 aux mêmes stations permet d'étudier l'évolution de la qualité environnementale le long des côtes méditerranéennes françaises.

5.2. Matériels et méthodes

5.2.1. Zone d'étude et échantillonnage

La zone d'étude se situe dans le nord-ouest de la Méditerranée le long des côtes françaises (Figure 5.1, tableau 5.1). Les côtes continentales se caractérisent à l'ouest par le Golfe du Lion et son large (environ 80 km) plateau continental peu profond (< 150 m) et à l'est par un plateau continental beaucoup plus étroit (< 10 km). La côte ouest de la Corse est également bordée d'un étroit plateau continental (< 10 km), contrairement à sa côte est. Le Golfe du Lion est fortement influencé par les rejets du Rhône. Du fait de ces caractéristiques bathymétriques et sédimentaires différentes, nous distinguerons par la suite trois grandes régions géographiques (celles-ci diffèrent légèrement des régions administratives : LR, PACA, Corse) : le Golfe du Lion (de Collioure à Fos), l'Est (de Carry à Menton) et la Corse. Le courant majeur qui œuvre dans les eaux de surface de cette région de la Méditerranée est le courant liguro-provençal qui longe les côtes de la Mer Ligure vers le Golfe du Lion à l'ouest.

Aux mois d'avril et mai 2015, 28 stations ont été échantillonnées par le N/O Europe (Figure 5.1). L'échantillonnage fut réalisé avec un carottier boîte de type Reineck d'une surface de 0,02 m². Trois lancements ont été effectués à chaque station afin d'obtenir trois répliqués. Arrivées à bord, chaque boîte a été sous-carottée avec un tube de 7,45 cm de diamètre interne. Le centimètre supérieur de cette sous-carotte a été prélevé puis coloré au rose Bengale à 2 g.L⁻¹ et conservé dans de l'éthanol à 96%. La surface du sédiment restant dans la boîte (\approx 1 cm) a été récoltée à la cuillère et mis en pot pour les analyses granulométriques. Un seul carottier a été prélevé pour la granulométrie, dans le cas où le sédiment apparaissait visuellement très hétérogène un prélèvement supplémentaire a été effectué.

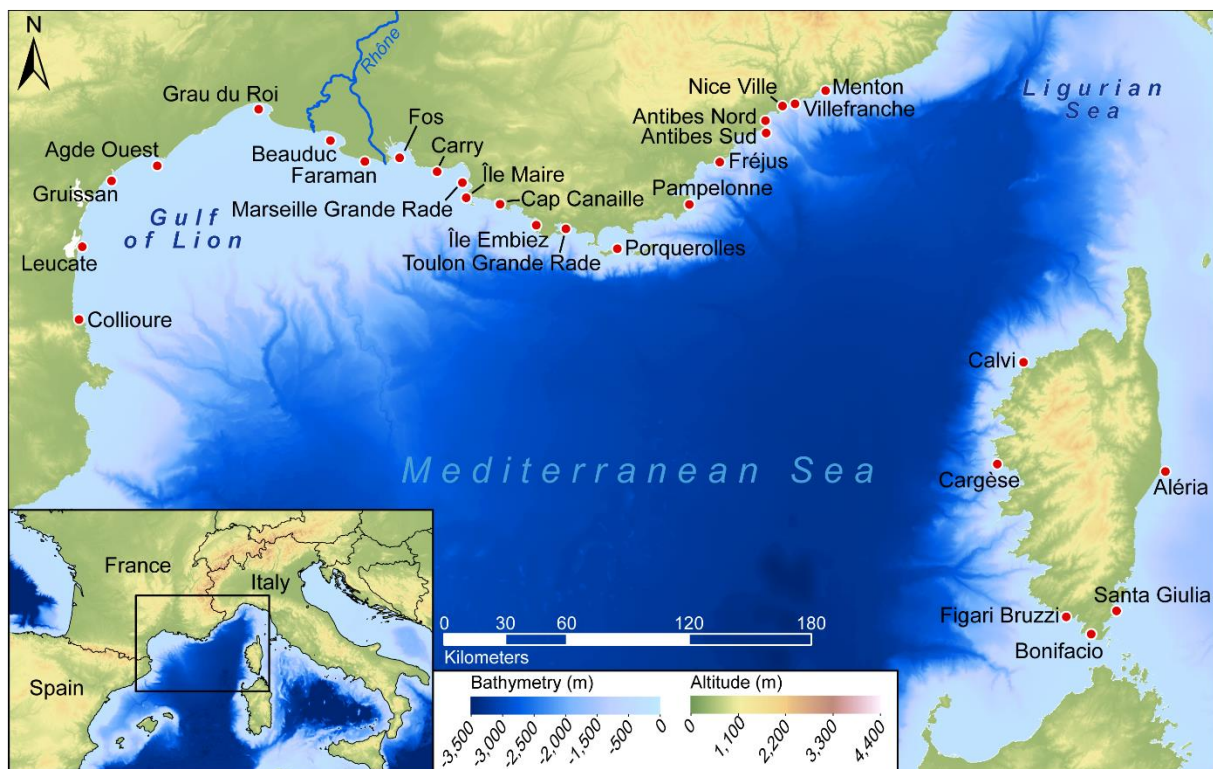


Figure 5.1: Zone d'étude et stations échantillonnées lors de la campagne DCE 2015. Les modèles numériques d'élévation de terrain sont issus de Jarvis et al, (2008) et Marine Information Service (2016).

5.2.2. Traitements des échantillons

Au laboratoire, les échantillons ont été lavés et tamisés à 63, 125, 150 et 500 μm . Les foraminifères colorés au Rose Bengale (un colorant vital) de la fraction 125–500 μm furent extraits sous loupe binoculaire et préservés dans des cellules de comptage. Chaque individu fut déterminé jusqu'au niveau de l'espèce. Pour certains échantillons sableux (Tableau 5.1) les foraminifères furent concentrés grâce à une solution de sodium polytungstate d'une densité de 2,3 (Parent *et al.*, 2018).

Pour chaque station, une mesure de granulométrie a été réalisée sur un échantillon dédié. Trois sous-échantillons furent prélevés et placés dans des fioles pour être homogénéisés avec un agitateur pendant 2 min à 17 Hz, puis tamisés à 2000 μm avant de passer dans le granulomètre laser Malvern Master Sizer 3000. Trois mesures furent réalisées par sous-échantillon. À cause de la grande ressemblance des résultats, une seule mesure parmi les neuf réalisées fut choisie arbitrairement pour représenter la granulométrie du sédiment à la station. Le reste de l'échantillon dédié aux mesures granulométriques a servi à la mesure des taux de calcite et de matière organique. Le pourcentage de particules calciques dans les échantillons fut mesuré par réaction à l'acide chlorhydrique dilué à 30% grâce à un calcimètre Bernard. Le taux de matière organique fut mesuré par la méthode de perte au feu dans un four à moufle à 450 °C pendant 4h30.

Tableau 5.1 : Stations échantillonnées lors de la campagne DCE 2015 avec leur région d'appartenance, coordonnées géographiques, la profondeur et l'application éventuelle de la méthode de flottaison.

Station	Région	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Réplicat sur lesquelles la flottaison est appliquée
Collioure	Golfe du Lion	42° 31' 51,39"	3° 5' 22,05"	22,0	aucun
Leucate	Golfe du Lion	42° 51' 24,94"	3° 3' 39,62"	16,0	a, b et c
Gruissan	Golfe du Lion	43° 9' 10,34"	3° 12' 2,31"	20,0	aucun
Agde Ouest	Golfe du Lion	43° 14' 20,79"	3° 28' 20,46"	18,8	a, b et c
Grau du Roi	Golfe du Lion	43° 30' 58,09"	4° 4' 8,88"	14,5	aucun
Beauduc	Golfe du Lion	43° 24' 3,05"	4° 29' 51,92"	14,5	aucun
Faraman	Golfe du Lion	43° 19' 41,21"	4° 42' 44,72"	11,0	a, b et c
Fos	Golfe du Lion	43° 22' 0,27"	4° 55' 53,31"	20,0	aucun
Carry	Est	43° 18' 28,77"	5° 9' 36,04"	55,0	aucun
Marseille Grande Rade	Est	43° 15' 54,72"	5° 19' 24,65"	37,0	a, b et c
Île Maire	Est	43° 12' 14,35"	5° 20' 48,72"	44,0	a, b et c
Cap Canaille	Est	43° 12' 1,44"	5° 31' 46,64"	45,0	b et c
Île Embiez	Est	43° 6' 0,48"	5° 46' 32,37"	35,0	a, b et c
Toulon Grande Rade	Est	43° 5' 14,52"	5° 58' 10,41"	38,9	a, b et c
Porquerolles	Est	43° 1' 21,6"	6° 16' 30,06"	44,0	a, b et c
Pampelonne	Est	43° 13' 47,98"	6° 41' 43,33"	37,0	aucun
Fréjus (St Raphaël)	Est	43° 25' 11,18"	6° 52' 20,56"	52,6	a, b et c
Antibes Sud	Est	43° 33' 36,08"	7° 8' 37,23"	30,0	a, b et c
Antibes Nord	Est	43° 36' 47,6"	7° 8' 10,41"	30,0	a, b et c
Nice Ville	Est	43° 40' 46,39"	7° 14' 6,41"	12,7	a, b et c
Villefranche	Est	43° 41' 29,49"	7° 18' 50,27"	64,0	aucun
Menton	Est	43° 45' 21,65"	7° 29' 38,84"	64,0	c
Aléria (Tavignano)	Corse	42° 7' 49,57"	9° 34' 58,36"	40,0	a, b et c
Santa Giulia	Corse	41° 28' 36,04"	9° 17' 27,91"	38,2	a, b et c
Bonifacio	Corse	41° 23' 21,6"	9° 9' 17,11"	17,4	a, b et c
Figari Bruzzi	Corse	41° 27' 28,48"	9° 0' 9,91"	42,0	aucun
Cargèse	Corse	42° 7' 22,68"	8° 36' 32,55"	38,6	a, b et c
Calvi (Révellata)	Corse	42° 34' 51,24"	8° 43' 52,71"	43,9	a, b et c

5.2.3. Paramètres faunistiques

En plus de la densité (absolue standardisée pour 50 cm³ et relative), plusieurs paramètres de diversité ont été utilisés pour décrire la structure des communautés de foraminifères. Ceux-ci sont le nombre d'espèces (S), l'indice de Shannon (H' , Shannon (1948), équation (5.1)) et l'indice d'équitabilité de Pielou (J' , Pielou (1966), équation (5.2)).

$$H' = \sum_{i=1}^n p_i \ln p_i \quad (5.1)$$

$$J' = \frac{H'}{\ln S} \quad (5.2)$$

Où p_i est la proportion de la i^e espèce. Nous avons également calculé le nombre d'espèces attendues pour 100 individus (ES_{100} , Hurlbert (1971), équation (5.3)).

$$ES_{100} = \sum_{i=1}^S \frac{(N - N_i)! (N - 100)!}{(N - N_i - 100)! N!} \quad (5.3)$$

Où N correspond au nombre total d'individu, N_i au nombre d'individu de la i^e espèce et S le nombre d'espèces. Ces paramètres ainsi que les paramètres faunistiques et environnementaux sont regroupés sous forme de tableaux en appendices 5.A et 5.B.

5.2.4. Indices biotiques

Nous avons appliqué l'indice biotique, TSI-Med, qui vise à évaluer la qualité des substrats meubles en se basant sur le taux d'espèces tolérantes à l'eutrophisation en intégrant une correction pour l'état trophique naturel de la station (Barras *et al.*, 2014). Il se calcule en deux étapes. Premièrement, on détermine le taux d'espèces tolérantes de référence à la station ($\%TS_{ref}$) en fonction de la granulométrie ($\%$ grains $< 63 \mu m$), c'est-à-dire le pourcentage d'espèces tolérantes qu'on s'attendrait à trouver en l'absence de pollution anthropique. Pour ce faire, deux équations ont été déterminées : la première est applicable pour la fraction 150–500 μm (équation (5.4), $\%TS_{ref150}$) et la seconde pour la fraction 125–500 μm (Équation (5.5), $\%TS_{ref125}$). Deuxièmement, on compare le taux effectif d'espèces tolérantes à la station ($\%TS_x$) avec ce taux de référence ($\%TS_{ref150}$ ou $\%TS_{ref125}$), ce qui donne la valeur du TSI-Med (Équation (5.6)).

$$\%TS_{ref150} = e^{0,0302 \times (\% \text{ grains } < 63 \mu m) + 0,1496} - 1 \quad (5.4)$$

$$\%TS_{ref125} = 0,1547 \times (\% \text{ grains } < 63 \mu m) - 0,3638 \quad (5.5)$$

$$TSI - Med = \frac{\%TS_x - \%TS_{ref}}{100 - \%TS_{ref}} \times 100 \quad (5.6)$$

Le Foram-AMBI est un indice biotique basé sur les faunes de foraminifères qui reprend le principe de l'AMBI développé pour la macrofaune (Borja *et al.*, 2000; Alve *et al.*, 2016; Jorissen *et al.*, 2018). Le Foram-AMBI est basé sur cinq groupes écologiques d'espèces indicatrices, d'EGI à EGV. Ces groupes écologiques correspondent respectivement aux espèces sensibles (EGI), indifférentes (EGII) et opportunistes de 3^e, 2^e puis 1^{er} ordre (EGIII à EGV). L'assignation des espèces de foraminifères à ces différents groupes est basée sur une comparaison des abondances relatives de chaque espèce avec les taux de TOC aux différentes stations. Actuellement, deux listes d'assignation existent pour le Foram-AMBI, l'une pour l'Atlantique nord-est (Alve *et al.*, 2016) et l'autre pour la Méditerranée (Jorissen *et al.*, 2018). Nous avons donc utilisé cette dernière liste, qui est basée sur les données de 15 études faites en Méditerranée, pour assigner les espèces aux

différents groupes écologiques. Le Foram-AMBI se calcule suivant l'équation (4.4) :

Foram – AMBI

$$= (0 * EGI) + (1,5 * EGII) + (3 * EGIII) + (4,5 * EGIV) + (6 * EGV) \quad (5.7)$$

où *EGI* à *EGV* représentent la proportion des cinq groupes écologiques par rapport à la faune totale. Les espèces non-assignées sont exclues de la base de données avant le calcul des proportions de chaque groupe écologique. Ainsi, la somme des proportions des cinq groupes écologiques est égale à 1.

Afin d'établir la qualité environnementale mesurée à la station, les échelles du TSI-Med et Foram-AMBI sont subdivisées en Statuts de Qualité Écologique (EQS). Les limites utilisées entre les classes d'EQS sont celles présentées dans le tableau 5.2.

Tableau 5.2 : Limites des classes d'EQS utilisées pour le TSI-Med et le Foram-AMBI.

Indice	Très bon	Bon	Moyen	Médiocre	Mauvais	Référence
TSI-Med	≤ 4	$4 \leq x < 16$	$16 \leq x < 36$	$36 \leq x < 64$	≥ 64	Barras and Jorissen (2011)
Foram-AMBI	≤ 1.2	$1.2 \leq x < 3.3$	$3.3 \leq x < 4.3$	$4.3 \leq x < 5.5$	≥ 5.5	Borja <i>et al.</i> (2003)

5.2.5. CAH et analyse multivariée

Afin d'étudier la composition spécifique des foraminifères, une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) en mode Q et une Analyse des Principales Coordonnées (PCoA) ont été réalisées. Pour ces deux analyses, les abondances de foraminifères standardisées pour 50 cm³ ont été utilisées. Les réplicats ont été moyennés par station et une transformation logarithmique a été appliquée sur les données ($\ln(x + 1)$). Pour la CAH, l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis (Bray and Curtis, 1957) a été calculé entre les stations. La méthode d'agglomération utilisée est celle de Ward pour la construction du dendrogramme (Ward, 1963). La PCoA est aussi basée sur l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis. Les paramètres faunistiques (p. ex., nombre d'individu, indice de Shannon, etc.) et environnementaux n'interviennent pas dans la PCoA et sont tracés *a posteriori*. Les indices de diversité, la CAH et la PCoA sont réalisés grâce au package *vegan* (Oksanen *et al.*, 2017) sous R (R Core Team, 2017). Les analyses statistiques sont aussi réalisées sous R (R Core Team, 2017).

5.3. Résultats

5.3.1. Paramètres environnementaux

La figure 5.2 montre les principaux paramètres environnementaux mesurés à chaque station (Appendice 5.A). Les stations du Golfe du Lion sont échantillonnées

à plus faible profondeur (17 ± 4 m), que celles des autres régions (40 ± 13 m). Seules les stations Nice ville (12,7 m), dans la région Est, et Bonifacio (17,4 m) en région Corse, ont été échantillonnées à une profondeur similaire aux stations du Golfe du Lion. Les taux de matière organique sont semblables pour une région géographique donnée (Figure 5.2b), à l'exception des stations de Villefranche (8,9%) et Bonifacio (8,8%) qui ont des taux de matière organique largement plus élevés par rapport aux autres stations.

Les stations du Golfe du Lion présentent des teneurs en calcite relativement faibles ($\leq 35\%$, figure 5.2c). Les teneurs en calcite sont les plus élevées pour les stations entre Marseille et Pampelonne ($> 73\%$), à l'exception d'Île Embiez et de Toulon. La seule autre station avec une teneur aussi élevée est Figari Bruzzi (90%) en Corse. Les stations de Bonifacio et Calvi ont également une teneur assez élevée ($\approx 65\%$) mais les autres stations de Corse ont les teneurs en calcite parmi les plus faibles de toute la zone d'étude (16–22%), bien que supérieurs aux valeurs de Collioure et Leucate dans le Golfe du Lion (6–7%).

Le pourcentage de grains $< 63 \mu\text{m}$ est un paramètre important car il entre dans le calcul du TSI-Med en tant que correction pour l'état trophique naturel (Figure 5.2d). On remarque que les sédiments des stations proches de l'embouchure du Rhône (stations Grau du Roi à Fos) sont plutôt fins ($> 35\%$), à l'exception de la station Faraman (6,9%). Plus vers l'est, Antibes Sud, Villefranche et Menton présentent aussi une forte proportion de sédiment fin (54–58%). Les sédiments de Corse comportent proportionnellement moins de grains fins que les autres régions ($< 11,3\%$), excepté la station Bonifacio.

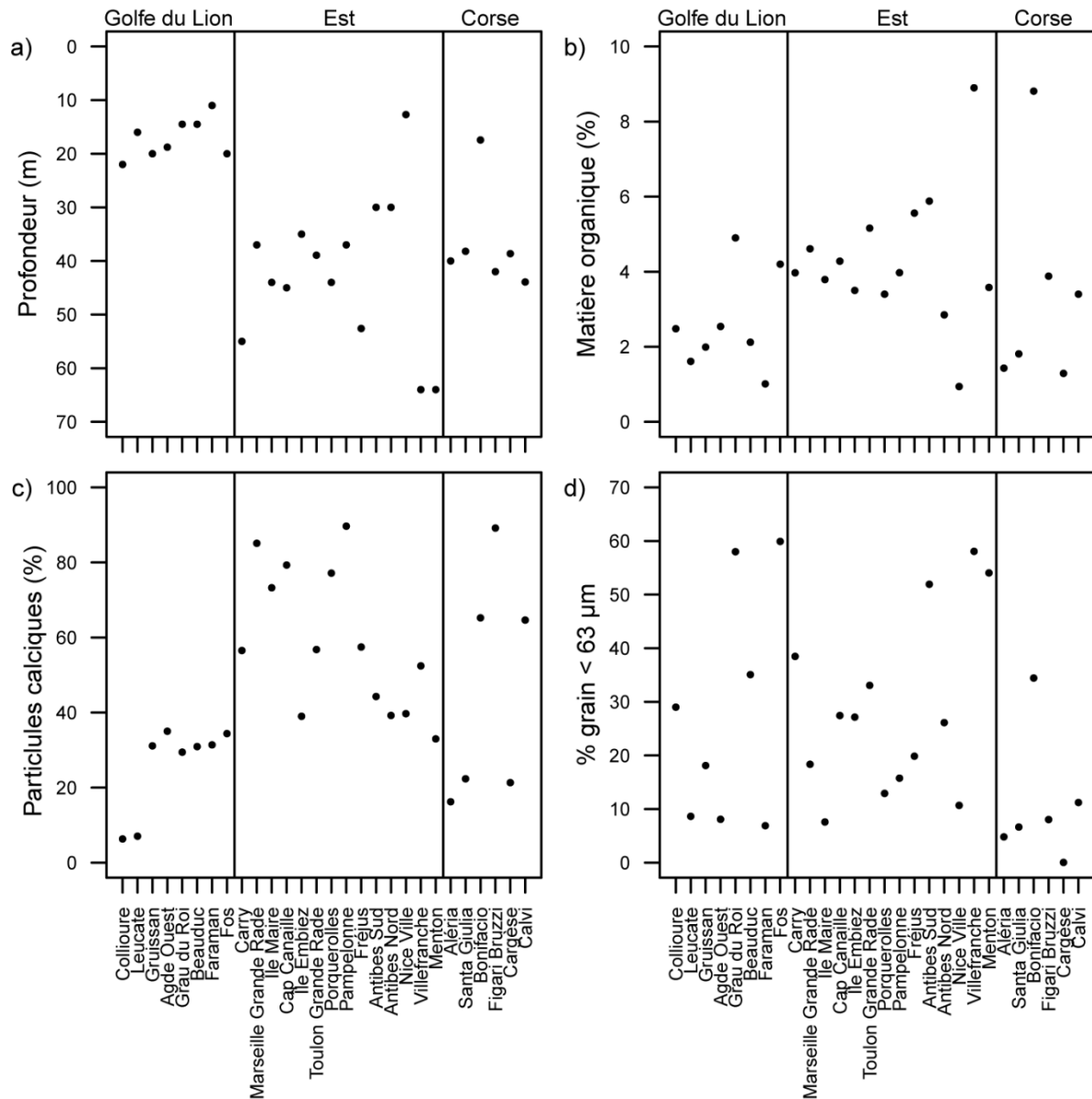


Figure 5.2 : a) Profondeur, b) pourcentage de matière organique, c) pourcentage de particules calciques et d) pourcentage de particules < 63 µm pour chaque station. Les valeurs sont présentées appendice 5.A.

5.3.2. Les communautés de foraminifères

Plusieurs paramètres concernant la densité et la diversité des faunes de foraminifères benthiques sont présentés en figure 5.3. La densité varie de 48 à 2104 individus par 50 cm³ (Figure 5.3a). Le Golfe de Lion et la zone Est montrent une très grande variabilité. Par contre, les stations de Corse ont une densité moins variable et plus faible (53 à 445 individus par 50 cm³). Les faunes des stations de Faraman et Cargèse sont très pauvres avec moins de 50 individus pour certains répliquats.

Le nombre d'espèces montrent également une grande variabilité (de 5 à 111 espèces). Les valeurs les plus faibles sont trouvées en Corse (de 17 à 55 espèces) et

dans le Golfe du Lion (de 5 à 51 espèces), excepté la station de Collioure qui présente jusqu'à 80 espèces (Figure 5.3b).

L' ES_{100} a été calculé pour les répliqués contenant 100 individus ou plus et varie entre 16 et 42 (Figure 5.3c). L' ES_{100} a des valeurs plus faibles dans le Golfe du Lion ($23,2 \pm 3,9$) par rapport aux autres régions. Cependant la région Est est assez contrasté entre de fortes valeurs d' ES_{100} aux stations entre Carry et Fréjus, à l'exception des stations Cap Canaille et Porquerolles ($35,6 \pm 3,6$). Les valeurs d' ES_{100} sont plus faibles à Cap Canaille et Porquerolles et entre Antibes Sud et Menton ($29,3 \pm 3,9$). La région Corse présente des valeurs d' ES_{100} assez élevés ($35,2 \pm 3,7$) pour notre zone d'étude sans compter les stations de Santa Giulia ($24,9 \pm 7,0$) et Bonifacio ($19,1 \pm 1,3$) qui ont des valeurs plus faibles. L' ES_{100} n'a pu être calculé pour les stations Faraman et Cargèse à cause de la faible densité des faunes de foraminifères.

La diversité mesurée par l'indice de Shannon (Figure 5.3d) varie entre 1,25 et 3,84. Les valeurs sont relativement plus faibles dans le Golfe du Lion ($2,3 \pm 0,6$), surtout aux stations les plus à l'ouest (Collioure, Leucate, Gruissan), comparée à la région Est ($3,1 \pm 0,4$) et la Corse ($2,9 \pm 0,5$). L'indice de Shannon (Figure 5.3d) et de Pielou (Figure 5.3e) montrent une même tendance. Seule la station Faraman, dont la densité de faune est très faible (< 84 individus), sort de cette tendance avec un indice de Shannon très faible (1,25 à 1,52) alors que l'indice d'équitabilité (0,73 à 0,79) est comparable aux autres stations.

Les faunes de stations autour de la Corse se distinguent de celles de la région Est par de plus faibles abondances (Figure 5.3a) et nombres d'espèces (Figure 5.3b). Néanmoins, les faunes des deux régions présentent une diversité (Shannon, figure 5.3d) et une équitabilité (Pielou, figure 5.3e) similaires. Les stations de Villefranche et Bonifacio présentent un minimum d'équitabilité pour ces régions Est et Corse (Figure 5.3e).

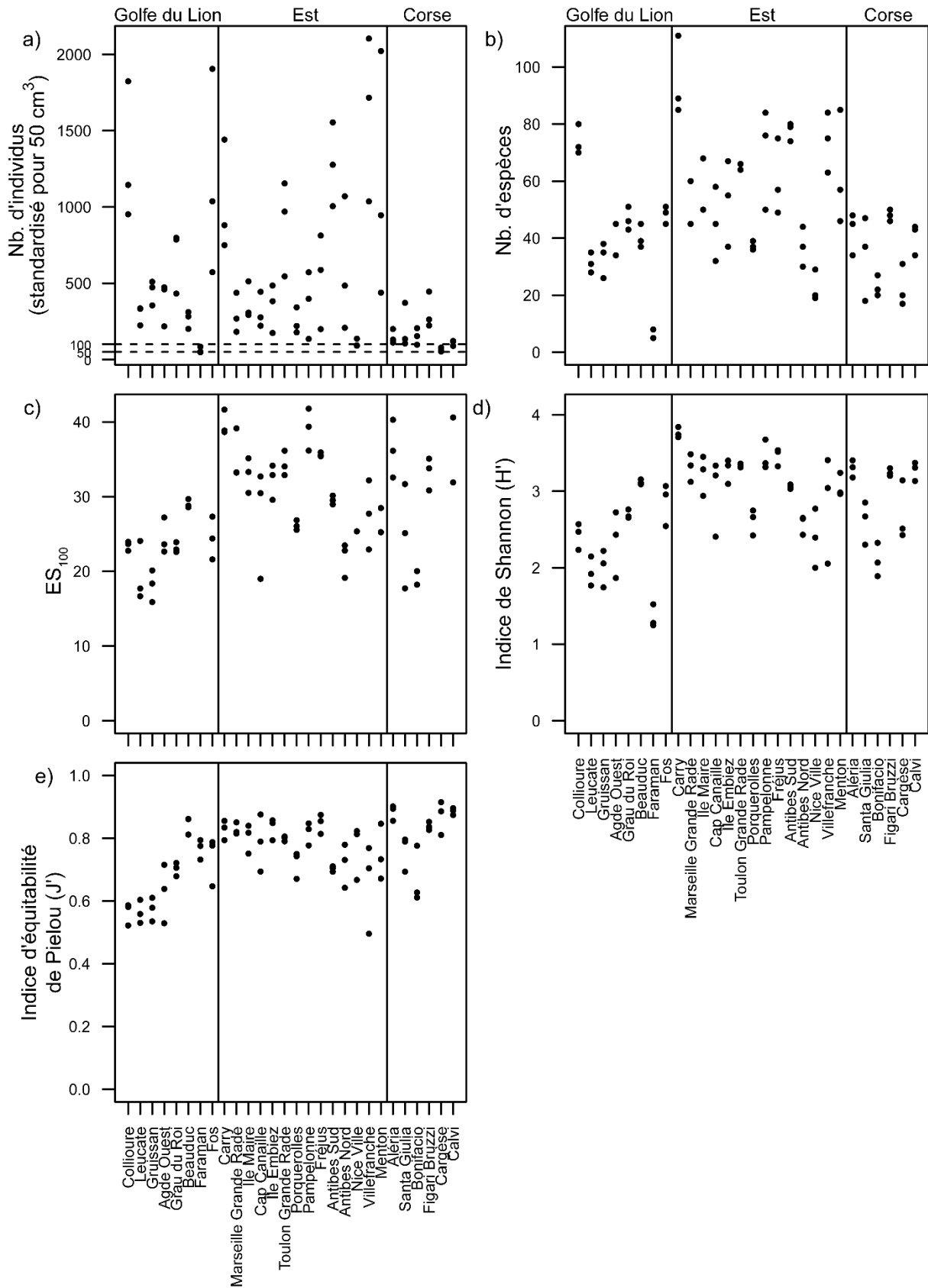


Figure 5.3 : a) Nombre total d'individus, b) nombre d'espèces, c) ES₁₀₀, d) Indice de Shannon et e) Indice d'équitabilité de Pielou par station pour la campagne DCE 2015. Les lignes pleines verticales séparent les principales sous-régions. Fraction : 125–500 μ m.

La figure 5.4a présente les abondances relatives des espèces majeures, c'est-à-dire dont la moyenne des répliquats représente 10% ou plus pour au moins une station. On remarque la présence abondante d'*Eggerelloides scaber* dans les stations du Golfe du Lion ainsi que les stations d'Antibes Nord et Sud, Nice Ville, Aléria et Bonifacio. *Reophax fusiformis* représente une large proportion des faunes à la majorité des stations des régions Est et Corse à l'exception des stations Cap Canaille, Nice Ville, Villefranche, Menton et Bonifacio. Dans le Golfe de Lion, cette espèce est notamment présente à la station Beauduc. *Leptohalysis scotti* est surtout présent aux stations Collioure, Leucate, Antibes Nord, Nice Ville et Calvi. *Rectuvigerina phlegeri* est très abondante à la station de Fos et dans une moindre mesure aux stations Toulon, Villefranche et Menton notamment. *Recurvoides* sp. 1 est surtout présente aux stations Villefranche et Menton.

L'espèce épiphyte *Asterigerinata mamilla* est très présente aux stations Cap Canaille, Porquerolles et Pampelonne. Une autre espèce épiphyte, *Rosalina bradyi*, est présente dans toutes les stations des régions Est et Corse, sauf les stations Antibes Nord et Nice et elle est absente de la région du Golfe du Lion.

Quinqueloculina aspera se retrouve dans de nombreuses stations sur toute la zone d'étude. Elle est présente dans le Golfe du Lion aux stations Leucate, Gruissan, Agde Ouest et Faraman, dans la région Est principalement à la station Île Embiez mais surtout Nice Ville. Elle est aussi présente dans presque toutes les stations de la région Corse sauf aux stations Figari Bruzzi et Cargèse où elle est presque absente.

Quelques autres espèces sont très notables à une station comparée à leurs présences dans les autres stations. C'est le cas d'*Ammonia beccarii* que l'on retrouve essentiellement à la station Grau du Roi, mais aussi *Ammoscalaria* sp. 2 et *Hormosinella guttifera* à la station Faraman ; *Fissurina orbignyana* à la station Cap Canaille ou encore *Spirillina vivipara* à la station Figari Bruzzi.

La figure 5.4b représente la proportion des espèces par type de test (hyalin, porcelané, agglutiné) par station. Les stations du Golfe du Lion sont caractérisées par les plus fortes proportions de foraminifères à test agglutiné, sauf les stations Grau du Roi, Beauduc et Fos. Les proportions d'espèces à test agglutiné et hyalin sont presque égales à ces stations. Dans la région Est, la proportion d'espèces à test agglutiné et hyalin est également similaire. En revanche, la station Cap Canaille possède beaucoup plus d'espèces à test hyalin. Les stations Antibes Nord et Sud sont dominées par les espèces à test agglutiné et la station de Nice Ville possède une proportion d'espèce à test porcelané plus élevée que les autres stations. Les stations de la région Corse sont caractérisées par des proportions d'espèces à test porcelané plus importantes que dans les autres régions. Aux stations Santé Giulia et Bonifacio, les proportions d'espèces à test agglutiné sont plus importantes et celles à test hyalin moins importantes que les autres stations de la région Corse.

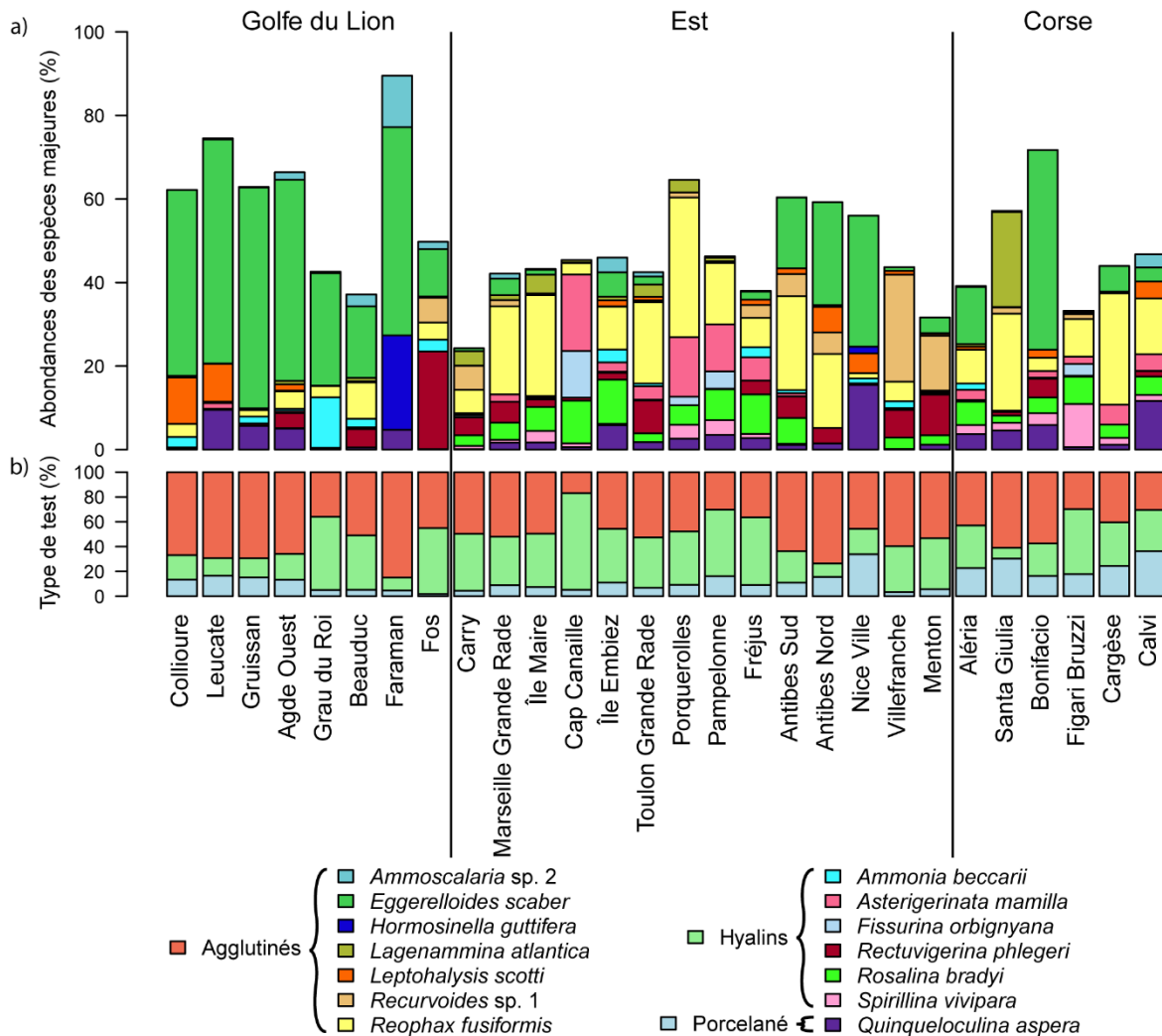


Figure 5.4 : a) Abondances relatives des espèces majeures dont la moyenne des réplicats est $\geq 10\%$ dans au moins une station. b) Abondances relatives des différents types de test, agglutiné, hyalin et porcelané.

5.3.3. Répartition des espèces sensibles et tolérantes à l'enrichissement en matière organique

Les pourcentages cumulatifs des groupes d'espèces sensibles et tolérantes, tels que définis pour le TSI-Med par Barras *et al.* (2014) sont présentés en figure 5.5a. La proportion d'espèces sensibles est nettement plus faible dans le Golfe du Lion (4–26%) comparés aux autres régions (8–66%) (Figure 5.5a). Dans la région Est, seules les stations de Toulon Grande Rade, Antibes Nord et Villefranche présentent des taux d'espèce sensibles comparables à ceux du Golfe du Lion. En Corse, la proportion des espèces sensibles (24–66%) est toujours plus élevée que les valeurs observées dans le Golfe de Lion.

La proportion cumulative des espèces tolérantes ne dépasse que rarement 25%. De manière générale, la proportion des espèces tolérantes est plus élevée dans le Golfe du Lion ($18 \pm 13\%$) que dans la région Est ($12 \pm 9\%$), et montre les valeurs minimales en Corse ($5 \pm 4\%$). Cette proportion est particulièrement élevée pour les stations de Fos ($40 \pm 16\%$), Villefranche ($24 \pm 19\%$) et Menton ($25 \pm 9\%$) (Figure 5.5b).

Les pourcentages de chaque groupe écologique (de EGI à EGV), tels que définis par Jorissen *et al.* (2018) sont présentés en figure 5.5b. La proportion d’EGIII est majoritaire pour les stations du Golfe du Lion ($62\pm 9\%$) par rapport aux quatre autres groupes écologiques. Pour les stations de la région Est les EGI ($39\pm 20\%$) et EGIII ($43\pm 16\%$) sont majoritaires. Certaines stations vont être dominées par des espèces d’EGI telles que Cap Canaille, Île Embiez, Pampelonne ou Fréjus. D’autres stations sont dominées par EGIII, telles que Marseille, Toulon et les stations d’Antibes Sud à Menton. Seule la station de Carry présente des pourcentages équivalents entre les EGI, EGII et EGIII. Les stations de la région Corse présentent aussi des pourcentages similaires entre les EGI ($42\pm 14\%$) et EGIII ($44\pm 14\%$). Seule la station de Santa Giulia possède un pourcentage d’EGI (18%, 22% et 28%) plus faible que les autres stations de la région. Ces plus faibles valeurs pour l’EGI sont compensées par un pourcentage plus élevé d’EGII (24%, 32% et 45%).

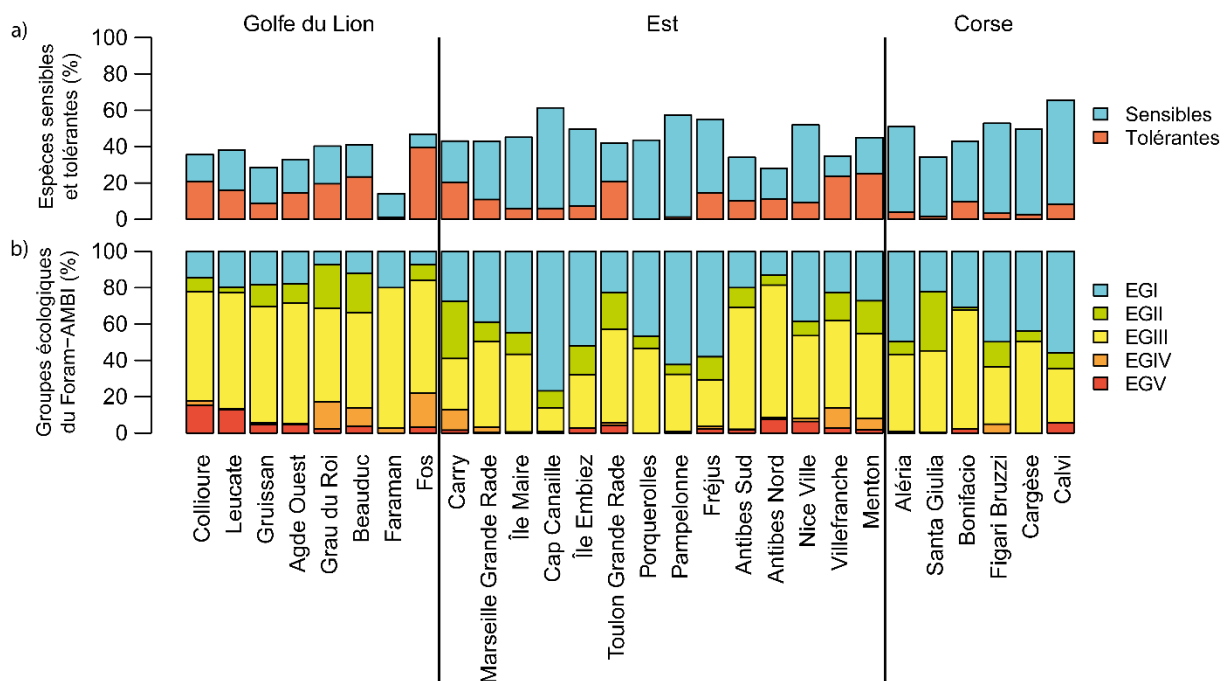


Figure 5.5: a) Abondances relatives des espèces sensibles et tolérantes par stations suivant l’assignation des espèces définie par Barras *et al.* (2014) ; b) Abondances relatives des groupes écologiques (EG) par station suivant l’assignation des espèces définie par Jorissen *et al.* (2018).

5.3.4. TSI-Med et campagne de mesure DCE 2015

Les valeurs du TSI-Med pour la campagne de 2015 sont présentées en figure 5.6a. Les Statuts de Qualité Écologique (EQS), représentant la qualité environnementale, sont présentés sous la forme de zones de couleurs. Pour la grande majorité des stations, le TSI-Med (basé sur la liste originale d’assignation des espèces, utilisée en 2009 et 2012) donne un EQS « bon » ou « très bon ». En moyenne, les stations du Golfe du Lion présentent des valeurs de TSI-Med légèrement plus élevées ($14,7\pm 11,6$) avec souvent un réplikat au-dessus de 16,0, correspondant à un EQS « moyen ». La station de Fos présente les valeurs de TSI-Med les plus élevées de toutes les stations étudiées en 2015, avec 17,4, 31,0 et 52,5 pour les trois répliquats. En moyenne, les valeurs du TSI-Med sont plus faibles dans la région Est ($8,2\pm 8,9$,

bonne qualité) que dans le Golfe du Lion. Les stations de Toulon Grande Rade, Villefranche et Menton présentent les valeurs de TSI-Med les plus élevées dans cette région Est, avec un EQS entre « bon » et « moyen ». Les valeurs de TSI-Med sont en moyenne les plus faibles pour la région Corse ($3,6 \pm 3,1$, très bonne qualité).

En figure 5.6b, le Foram-AMBI montre des valeurs les plus élevées dans la région du Golfe du Lion ($2,67 \pm 0,26$). Les valeurs du Foram-AMBI de la région Est sont plus faibles ($1,73 \pm 0,63$) et montrent de grande disparité. Les valeurs les plus faibles de la région sont trouvées aux stations Cap Canaille, Île Embiez, Pampelonne, Fréjus et les plus élevées aux stations Toulon, Antibes Sud, Villefranche, Menton et surtout Antibes Nord. Les valeurs de Foram-AMBI de la région Corse ($1,62 \pm 0,35$) sont en moyenne similaire à celle de la région Est. Presque toutes les stations montrent un EQS « bon ». Seules les stations Cap Canaille, Pampelonne, Fréjus et un réplicat des stations Île Embiez, Porquerolles en région Est et Figari Bruzzi en Corse montrent un EQS « très bon ».

En comparant, en figure 5.6, les valeurs des deux indices TSI-Med et Foram-AMBI, on s'aperçoit que les valeurs du TSI-Med sont relativement plus élevées, surtout pour la région du Golfe du Lion. On peut noter aussi que ce ne sont pas toujours les mêmes stations qui ressortent avec la plus mauvaise qualité entre les deux indices. Par exemple, pour la région du Golfe du Lion, la station Fos ne ressort pas aussi nettement au-dessus des autres stations avec le Foram-AMBI. De même, les stations Carry, Toulon, Villefranche et Menton qui ressortaient avec des valeurs élevées de TSI-Med sont plus dans la moyenne des autres stations de la région Est avec le Foram-AMBI. C'est surtout la station Antibes Nord qui montre des valeurs plus élevées pour le Foram-AMBI. Cependant les valeurs des deux indices restent corrélées (Figure 5.7). Sur la figure 5.7, les valeurs d'EQS « bon » s'accordent bien entre les deux indices mais les EQS inférieurs et supérieurs divergent entre les deux indices.

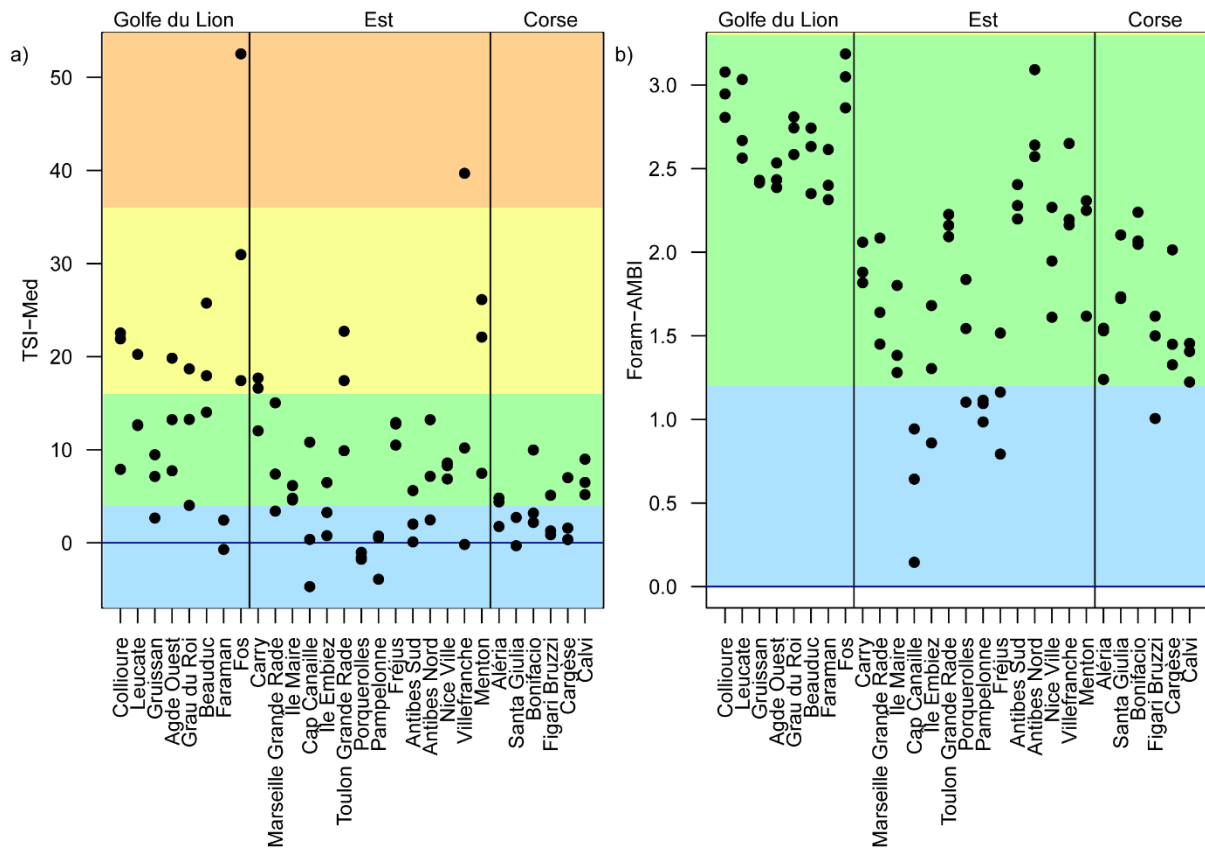


Figure 5.6 : a) TSI-Med, b) Foram-AMBI. Fraction 125–500 μm . Les zones de couleurs correspondent au EQS : bleu, très bon ; vert, bon ; jaune, moyen ; orange, médiocre. Les limites entre les classes d'EQS ont été définies par Barras and Jorissen (2011) pour le TSI-Med et suivent celles de la macrofaune (Borja et al., 2003) pour le Foram-AMBI.

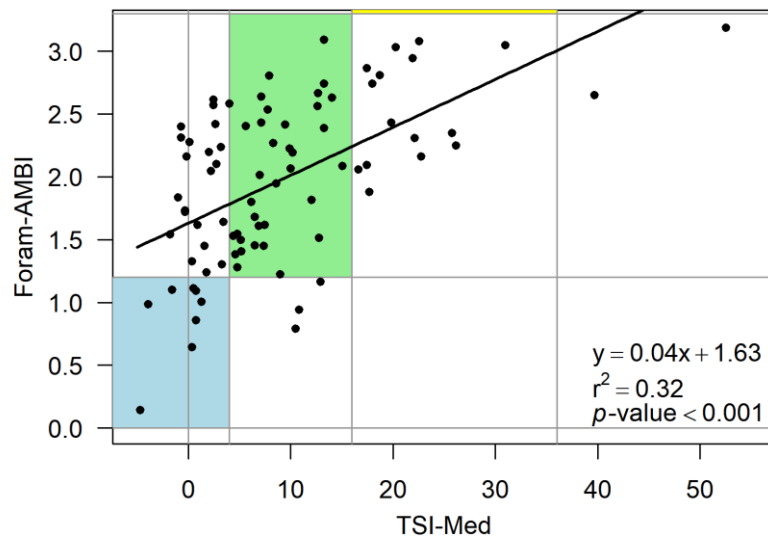


Figure 5.7 : Valeurs du Foram-AMBI contre les valeurs du TSI-Med. La droite représente la courbe de régression. Les lignes verticales et horizontales grises représentent les limites entre les EQS et les couleurs représentent les zones de même EQS pour les deux indices : bleu, très bon ; vert, bon ; jaune, moyen.

5.3.5. Analyse de cluster

La Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) permet de classer les différentes stations en groupes dont la composition spécifique en foraminifères est relativement proche (Figure 5.8). Nous avons ainsi obtenu cinq groupes de stations représentées en figure 5.9. On trouve une certaine cohérence géographique dans la constitution de ces groupes. Cependant, les stations Cap Canaille, Porquerolles et Pampelonne de la région Est forment un groupe à part, auquel se rapproche la station Figari Bruzzi (région Corse). Ensuite, la station Antibes Nord présente une faune plus similaire à celle du Golfe de Lion. Les stations de Nice, Leucate et Faraman présentent une composition de leurs faunes assez différentes des stations qui les entourent géographiquement. Les paramètres faunistiques et environnementaux sont synthétisés par groupes en tableau 5.3.

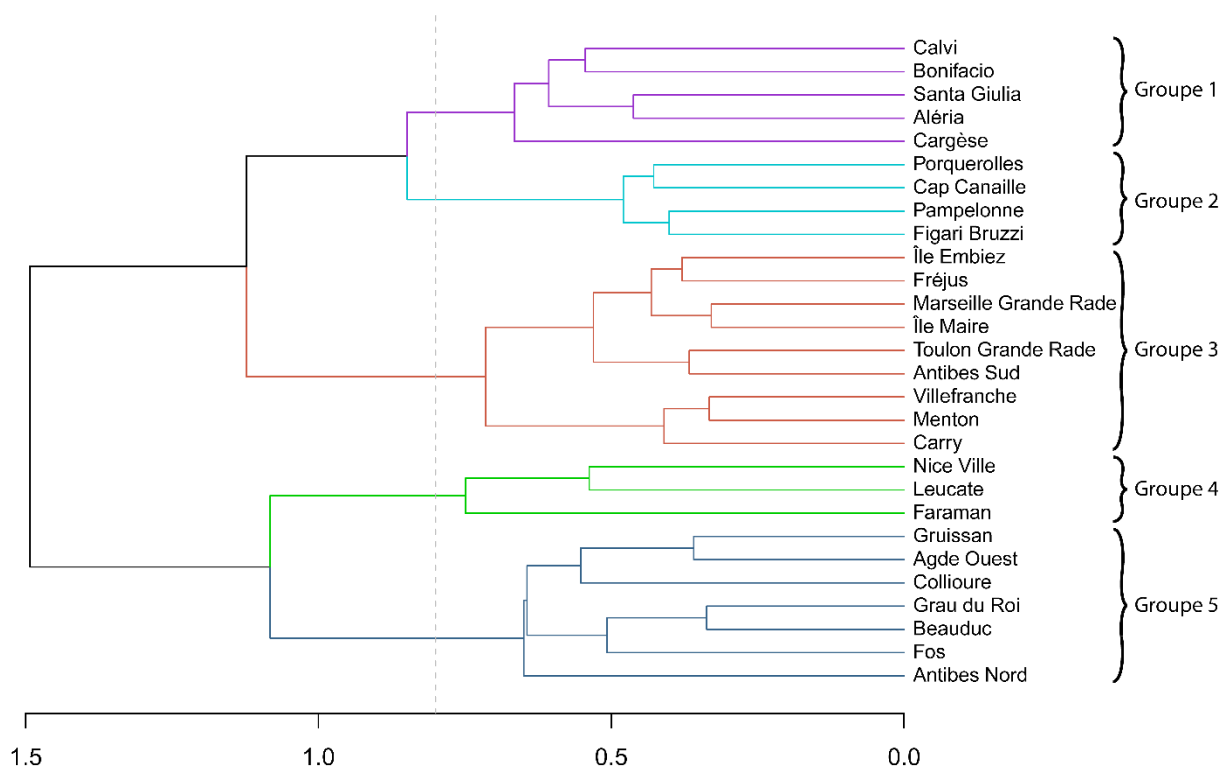


Figure 5.8 : Dendrogramme montrant le résultat de la CAH sur la moyenne (des trois réplicats) des abondances standardisées pour 50 cm³ (transformation logarithmique des données ln(x+1)) par station. La classification est basée sur une matrice de dissimilarité de Bray-Curtis et la méthode d'agglomération de Ward.

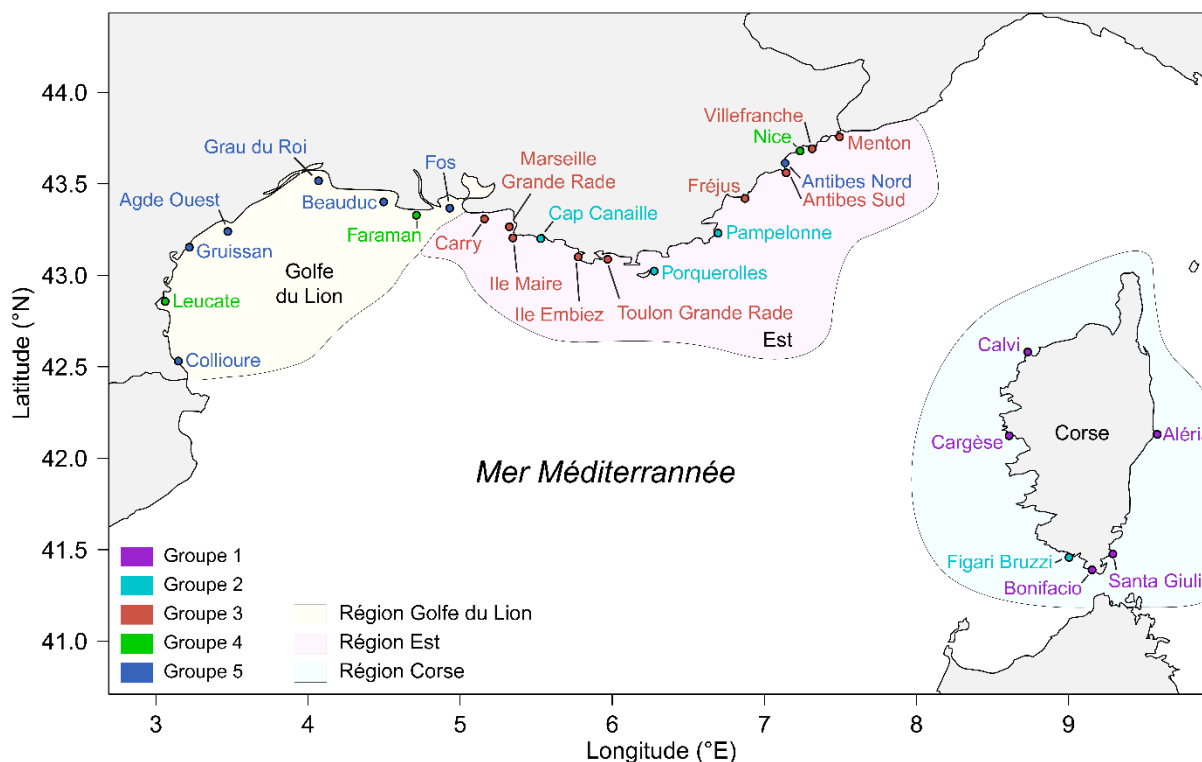


Figure 5.9 : Répartition géographique des stations suivant les groupes issus de la CAH (Figure 5.8).

Tableau 5.3 : Moyennes (\pm écart-type) des paramètres faunistiques et environnementaux par groupe issus de la CAH (Figure 5.8). Pour les indices biotiques, les couleurs correspondent aux EQS : bleu : très bon, vert : bon (voir les limites d'EQS tableau 5.2).

Groupe	Profondeur (m)	% matière organique	% particules calciques	% particules < 63 μ m	Nb. d'individus (N)	Nb. d'espèces (S)	ES ₁₀₀
1	36 \pm 10	3,35 \pm 2,94	38 \pm 23	11,4 \pm 12,6	135 \pm 79	33 \pm 11	29 \pm 9
2	42 \pm 4	3,88 \pm 0,42	83,8 \pm 6,5	16 \pm 9,8	310 \pm 131	50 \pm 16	31 \pm 6
3	47 \pm 12	4,99 \pm 1,64	55,3 \pm 15,6	33,7 \pm 16,5	833 \pm 560	67 \pm 17	33 \pm 5
4	13 \pm 2	1,19 \pm 0,32	26 \pm 14,7	8,7 \pm 1,6	155 \pm 114	20 \pm 12	21 \pm 4
5	20 \pm 5	3,01 \pm 1,05	29,5 \pm 10,2	33,5 \pm 18,4	690 \pm 487	46 \pm 14	24 \pm 3

Groupe	Shannon (H')	Équitabilité Pielou (J')	% espèces sensibles (liste Barras et al., 2014)	% espèces tolérantes (liste Barras et al., 2014)	% espèces tolérantes attendus (liste Barras et al., 2014)	TSI-Med	Foram-AMBI
1	2,79 \pm 0,51	0,81 \pm 0,1	43,5 \pm 13	5,2 \pm 4,1	1,4 \pm 1,9	3,9 \pm 3,2	1,67 \pm 0,34
2	3,07 \pm 0,41	0,79 \pm 0,07	51,1 \pm 8,1	2,7 \pm 3,8	2,1 \pm 1,5	0,6 \pm 4,1	1,13 \pm 0,46
3	3,26 \pm 0,34	0,78 \pm 0,08	28,2 \pm 12	15,4 \pm 9,5	4,9 \pm 2,6	11 \pm 9,2	1,82 \pm 0,48
4	1,89 \pm 0,51	0,7 \pm 0,11	26 \pm 14,6	8,7 \pm 6,9	1 \pm 0,3	7,8 \pm 6,9	2,38 \pm 0,42
5	2,57 \pm 0,39	0,68 \pm 0,11	16,6 \pm 5,4	19,6 \pm 11,9	4,8 \pm 2,8	15,7 \pm 11,4	2,7 \pm 0,26

Le tableau 5.4, présentes les espèces majeures (c.-à-d. dont l'abondance relative moyenne par station est $\geq 10\%$ pour au moins une station). Dans ce tableau, les différents fonds gris indiquent le degré de prépondérance des espèces concernées dans chaque groupe issu de la CAH. Le tableau 5.3 présente la moyenne des principaux paramètres environnementaux et faunistiques pour chaque groupe issu de la CAH (Figure 5.8). Les caractéristiques principales des cinq groupes, présentées en tableaux 5.4 et 5.3, sont décrites plus en détails ci-dessous.

- Groupe 1 : Ce groupe rassemble toutes les stations situées en Corse, sauf la station Figari Bruzzi. Ces stations sont caractérisées par une profondeur intermédiaire (36 ± 10 m). Ces stations ne possèdent pas un pourcentage moyen de matière organique très élevé mais démontrent une très grande variabilité ($3,35 \pm 2,94\%$), tout comme le pourcentage de particules calciques ($38 \pm 23\%$). Le pourcentage de sédiment fin est assez faible ($11,4 \pm 12,6\%$ grains $< 63 \mu\text{m}$). La faune comprend très peu d'individus ($S = 135 \pm 79$) et la diversité est moyenne ($H' = 2,79 \pm 0,51$) mais l'équitabilité est forte ($J' = 0,81 \pm 0,1$). Il y a peu d'espèces tolérantes ($5,2 \pm 4,1\%$) ce qui donne de faibles valeurs de TSI-Med ($3,9 \pm 3,2$) et de Foram-AMBI ($1,67 \pm 0,34$). Les faunes de ce groupe sont dominées par deux espèces agglutinées, *Reophax fusiformis* ($14,9 \pm 10,6\%$) et *Eggerelloides scaber* ($14,3 \pm 18,5\%$). Cependant, le pourcentage moyen d'*E. scaber* est surtout très élevé par la station Bonifacio où l'espèce représente 37–54%. *Quinqueloculina aspera* représente aussi un pourcentage important à ces stations ($5,4 \pm 4,5\%$).
- Groupe 2 : Ce groupe représente trois stations de la région Est (Cap Canaille, Porquerolles et Pampelonne) et une station de Corse (Figari Bruzzi). Ces stations sont très profondes (42 ± 4 m). Le sédiment à ces stations se distingue par une forte teneur en matière organique ($3,88 \pm 0,42\%$) et des taux en particules calciques les plus élevés ($83,8 \pm 6,5\%$), ce qui s'explique par l'observation abondante de maërl dans le sédiment de ces stations. Le maërl est constitué d'algues rouges calcaires, vivantes ou mortes, sous forme de bancs (Basso, 2012; Basso *et al.*, 2016). Le sédiment est assez grossier par rapport à toute la zone d'étude ($16 \pm 9,8\%$ grains $< 63 \mu\text{m}$). La faune de ces stations contient relativement peu d'individus (310 ± 131). Mais la diversité est élevée ($S = 50 \pm 16$, $H' = 3,07 \pm 0,41$), ce qui se traduit par une forte équitabilité ($J' = 0,79 \pm 0,07$). Le pourcentage d'espèces tolérantes est très faible ($2,7 \pm 3,8\%$), ce qui conduit à des valeurs de TSI-Med ($0,6 \pm 4,1$) et Foram-AMBI ($1,13 \pm 0,46$) aussi très faibles. Les faunes sont dominées presque à égalité par *Reophax fusiformis* ($15,0 \pm 13,3\%$) et *Asterigerinata mamilla* ($11,4 \pm 8,6\%$). Deux autres espèces sont aussi très présentes à ces stations *Rosalina bradyi* ($7,2 \pm 3,6\%$) et *Fissurina orbignyana* ($5,1 \pm 5,7\%$).
- Groupe 3 : Ce groupe comprend toutes les stations situées dans la région Est, à l'exception des stations Cap Canaille, Porquerolles, Pampelonne, Antibes Nord et Nice. Ces stations sont les plus profondes (47 ± 12 m), surtout Villefranche, Menton, Carry et Fréjus. Les stations de ce groupe ont aussi les plus forts pourcentages de matière organique ($4,99 \pm 1,64\%$), des

pourcentages de particules calciques très élevés ($55,3 \pm 15,6\%$) et un sédiment très fin ($33,7 \pm 16,5\%$ grain $< 63 \mu\text{m}$). La faune de ces stations est la plus abondante en termes d'individus (833 ± 560) et d'espèces (67 ± 17). Cela se traduit par la plus forte diversité ($ES_{100} = 33 \pm 5$, $H' = 3,26 \pm 0,34$). Le pourcentage d'espèces tolérantes ($15,4 \pm 9,8\%$) est parmi les plus élevés de la zone d'étude. Les valeurs du TSI-Med ($11 \pm 9,2$) sont donc assez élevées aussi. Mais en comparaison les valeurs du Foram-AMBI ($1,82 \pm 0,48$) sont relativement faibles. Les faunes de ce groupe sont caractérisées par la présence de *Reophax fusiformis* ($12,8 \pm 9,5\%$) et dans une moindre mesure *Rosalina bradyi* ($5,1 \pm 4,0\%$) et *Rectuvigerina phlegeri* ($5,0 \pm 3,9\%$).

- Groupe 4 : Ce groupe est constitué de trois stations (Leucate, Faraman et Nice) très peu profondes (13 ± 2 m). Le sédiment à ces stations contient très peu de matière organique ($1,19 \pm 0,32\%$) et peu de particules calciques ($26 \pm 14,7\%$). Le sédiment est le plus grossier de la zone d'étude ($8,7 \pm 1,6\%$ grains $< 63 \mu\text{m}$). Les faunes sont caractérisées par de très faibles nombres d'individus (155 ± 114) et d'espèces. Les faunes ont donc une diversité également très faible ($ES_{100} = 21 \pm 4$, $H' = 1,89 \pm 0,51$). Le pourcentage d'espèces tolérantes n'est pas très élevé ($8,7 \pm 6,9\%$) ce qui se traduit par des valeurs de TSI-Med moyennes ($7,8 \pm 6,9$) mais les valeurs de Foram-AMBI sont parmi les plus élevées ($2,38 \pm 0,42$). Une espèce domine la faune de ces stations pour près de la moitié, *Eggerelloides scaber* ($45,0 \pm 13,4\%$). *Quinqueloculina aspera* ($9,9 \pm 5,4\%$) et *Hormosinella guttifer* ($8,1 \pm 11,7\%$) représentent aussi une large part de la faune. L'espèce *H. guttifer* est surtout présente à la station de Faraman (15–30%).
- Groupe 5 : Dans ce groupe on trouve toutes les stations du Golfe du Lion, à l'exception des stations Leucate et Faraman, il comprend également la station Antibes Nord. Ces stations sont caractérisées par une profondeur plutôt faible (20 ± 5 m), le sédiment est parmi le plus fin ($33 \pm 18,4\%$ grains $< 63 \mu\text{m}$) et les plus pauvres en carbonate ($29,5 \pm 10,2\%$) de la zone d'étude. Le pourcentage en matière organique est dans la moyenne ($3,01 \pm 1,05\%$). Les faunes sont riches ($S = 46 \pm 14$) mais dans la moyenne de la zone d'étude avec une biodiversité plutôt moyenne basse ($H' = 2,57 \pm 0,39$, $J' = 0,68 \pm 0,11$). Le pourcentage d'espèces tolérantes est le plus élevé ($19,6 \pm 11,9\%$), ce qui cause des valeurs de TSI-Med ($15,7 \pm 11,4$) et Foram-AMBI ($2,7 \pm 0,3$) maximales. Les faunes de ce groupe sont largement dominées par l'espèce à test agglutinée, *Eggerelloides scaber* ($32,2 \pm 16,7\%$) et dans une moindre mesure par *Reophax fusiformis* ($6,0 \pm 6,5\%$) et *Rectuvigerina phlegeri* ($5,1 \pm 8,9\%$).

Tableau 5.4 : Abondances relatives moyennes (\pm écart-type) des espèces majeures (c.-à-d. dont l'abondance relative moyenne par station est $\geq 10\%$ pour au moins une station) par groupe issue de la CAH (Figure 5.8). Les valeurs sur fond gris correspondent aux espèces qui ont une abondance moyenne $\geq 5\%$ (gris clair), $\geq 10\%$ (gris moyen) ou $\geq 15\%$ (gris foncé) pour un groupe donné.

N° groupes CAH	1	2	3	4	5
Agglutinés					
<i>Ammoscalaria</i> sp. 2	0,7 \pm 1,3		0,7 \pm 1,3	4,2 \pm 6,2	1,0 \pm 1,4
<i>Eggerelloides scaber</i>	14,3 \pm 18,5	0,2 \pm 0,3	4,1 \pm 5,2	45,0 \pm 13,4	32,2 \pm 16,7
<i>Hormosinella guttifera</i>				8,1 \pm 11,7	
<i>Lagenammia atlantica</i>	4,8 \pm 9,8	1,2 \pm 1,3	1,5 \pm 2,1		0,4 \pm 0,5
<i>Leptohalysis scotti</i>	1,4 \pm 2,1		0,7 \pm 0,8	4,6 \pm 5,3	2,7 \pm 4,8
<i>Recurvoides</i> sp. 1	0,3 \pm 1,2	0,7 \pm 1,1	6,1 \pm 11,4		1,6 \pm 3,0
<i>Reophax fusiformis</i>	14,9 \pm 10,6	15,0 \pm 13,3	12,8 \pm 9,5	0,5 \pm 0,8	6,0 \pm 6,5
Hyalins					
<i>Ammonia beccarii</i>	0,3 \pm 0,9		1,1 \pm 1,4	0,4 \pm 1,2	3,1 \pm 4,1
<i>Asterigerinata mamilla</i>	2,6 \pm 2,4	11,4 \pm 8,6	1,6 \pm 1,9	0,6 \pm 0,8	0,2 \pm 0,3
<i>Fissurina orbignyana</i>		5,1 \pm 5,7	0,1 \pm 0,2		
<i>Rectuvigerina phlegeri</i>	1,4 \pm 1,9	0,3 \pm 0,6	5,0 \pm 3,9		5,1 \pm 8,9
<i>Rosalina bradyi</i>	3,7 \pm 2,4	7,2 \pm 3,6	5,1 \pm 4,0		
<i>Spirillina vivipara</i>	2,0 \pm 1,4	4,5 \pm 4,9	0,6 \pm 1,0		
Porcelanés					
<i>Quinqueloculina aspera</i>	5,4 \pm 4,5	1,8 \pm 1,7	1,8 \pm 2,0	9,9 \pm 5,4	1,9 \pm 2,5

5.3.6. Analyse multivariée

L'Analyse des Principales Coordonnées (PCoA) permet de situer les stations les unes par rapport aux autres dans le plan dans une vision plus synthétique (Figure 5.10). Les couleurs font ressortir les groupes issus de la CAH (Figure 5.8) qui sont bien distincts les uns des autres. Les paramètres environnementaux mesurés à chaque station et les paramètres faunistiques (c.-à-d. diversité, équitabilité, etc.) sont replacés sur le résultat de la PCoA *a posteriori* (Figure 5.10). Ainsi, il semble que les stations avec de fortes teneurs en calcite aient aussi une forte équitabilité. Les stations avec une profondeur élevée semblent être accompagnées d'un ES₁₀₀ et d'un indice de Shannon également plus élevé. De fortes teneurs en matière organique sont plutôt liées à un nombre d'espèces et, en général, à une diversité plus importante. Les stations avec une valeur de l'indice de qualité TSI-Med élevée ont également une teneur en sédiments fins plus importante. Cette tendance n'est plus vraie pour le Foram-AMBI. Les valeurs élevées de TSI-Med et surtout de Foram-AMBI correspondent à des stations avec le moins de particules calciques, mais aussi une équitabilité plus faible. Les valeurs des coefficients de corrélation entre les différents paramètres environnementaux et faunistiques sont présentées en tableau 5.5. Les valeurs du TSI-Med et du Foram-AMBI sont corrélées. Cependant, les valeurs du TSI-Med ne sont pas corrélées à la diversité alors que celles du Foram-AMBI sont négativement corrélées à la diversité. On remarque également que les valeurs du Foram-AMBI sont négativement corrélées à la profondeur mais

pas celles du TSI-Med. Cela est lié à l'augmentation de la diversité avec l'augmentation de la profondeur.

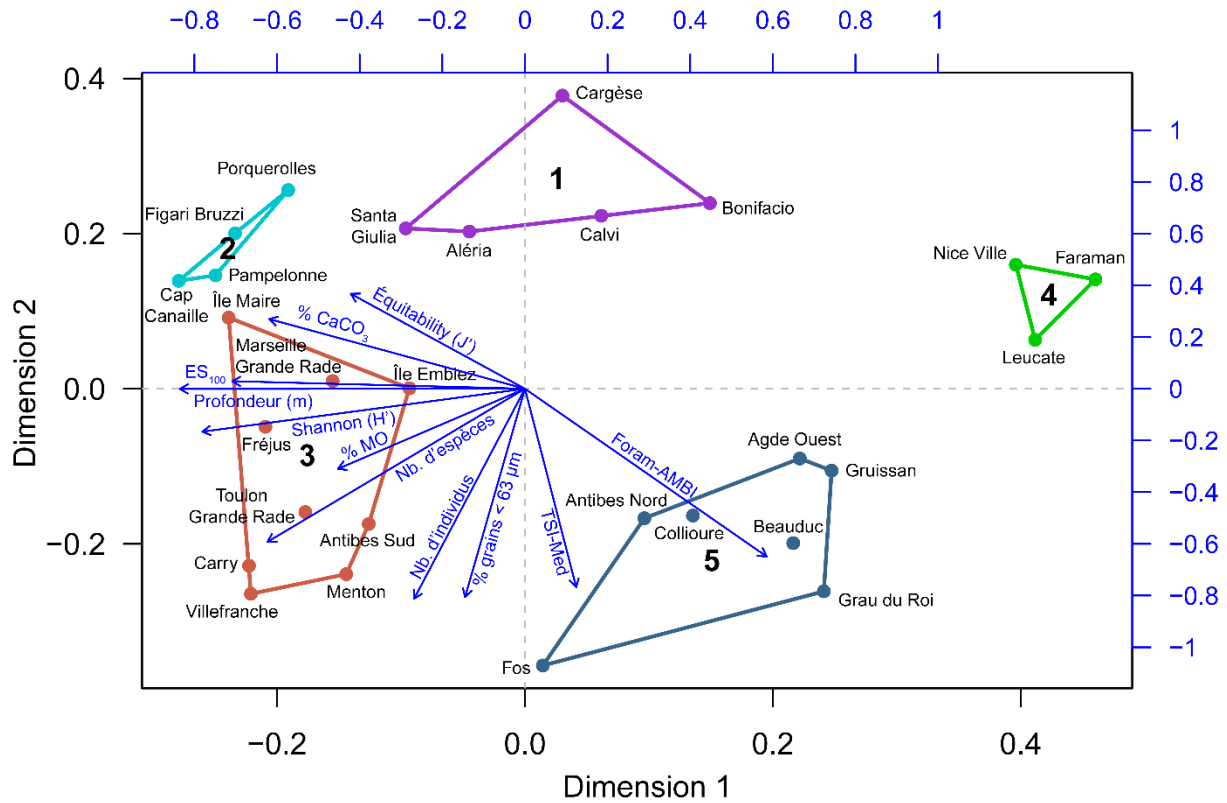


Figure 5.10 : PCoA calculée sur les abondances de foraminifères standardisées par 50 cm^3 transformées en $(\log(x+1))$. Les couleurs et chiffres correspondent aux groupes extraits de la CAH (Figure 5.8) et représentés géographiquement en figure 5.9. Les paramètres environnementaux et de la faune (en bleu) sont ajoutés a posteriori sur le plan de la PCoA.

Tableau 5.5 : Coefficients de corrélation (Pearson) entre chaque paramètre environnemental et faunistique. Les valeurs absolues supérieures à 0,5 sont indiquées en gras.

	Profondeur (m)	% MO	% CaCO ₃	% grains < 63 µm	Nombre d'individus	Nombre d'espèces	Indice de Shannon (H')	Équitabilité de Pielou (J')	ES ₁₀₀	TSI-Med
% MO	0,36									
% CaCO ₃	0,41	0,48								
% grains < 63 µm	0,12	0,61	-0,05							
Nombre d'individus	0,32	0,48	-0,13	0,80						
Nombre d'espèces	0,56	0,45	0,24	0,51	0,75					
Indice de Shannon (H')	0,65	0,28	0,47	0,19	0,22	0,70				
Équitabilité de Pielou (J')	0,40	-0,09	0,40	-0,23	-0,37	0,04	0,67			
ES ₁₀₀	0,51	0,28	0,57	-0,14	-0,09	0,57	0,94	0,82		
TSI-Med	-0,06	0,15	-0,34	0,60	0,60	0,31	0,09	-0,25	-0,22	
Foram-AMBI	-0,55	-0,06	-0,63	0,42	0,44	-0,07	-0,52	-0,66	-0,63	0,61

5.4. Discussion

5.4.1. Communautés des foraminifères benthiques et leurs milieux de vie

Les stations échantillonnées le long des côtes méditerranéennes françaises lors des campagnes DCE regroupent plusieurs types d'environnements très différents. Les faunes de foraminifères benthiques varient grandement entre ces différents milieux. Cette variabilité des communautés de foraminifères peut avoir une incidence sur la mesure de la qualité environnementale. Ainsi, il est important de considérer d'abord la variabilité des faunes de foraminifères en fonction des paramètres naturels du milieu.

Par le biais de l'analyse de la Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) et la PCoA, cinq groupes de stations, qui correspondent à cinq communautés de foraminifères benthiques, ont pu être distingués le long des côtes échantillonnées (Figures 5.8 et 5.9). Deux types de groupes de stations sont retenus par cette classification : 1) des groupes géographiques qui comprennent uniquement des stations d'une même région (groupes 1, 3 et 5), et 2) des groupes transversaux qui regroupent des stations de plusieurs régions (groupes 2 et 4). Ces groupes sont basés sur la ressemblance des faunes entre les stations. Cependant, les paramètres environnementaux et notamment sédimentaires permettent d'expliquer la ressemblance des faunes de foraminifères entre les stations de chaque groupe.

- Groupe 1 : Ce groupe rassemble toutes les stations situées en Corse, sauf la station Figari Bruzzi. Les stations sont relativement profondes (35 à 44 m), à l'exception de la station Bonifacio (18 m). La granulométrie des sédiments de ce groupe est très hétérogène. Le sédiment des stations Calvi et Bonifacio se compose de sables très fins, comparé à de sables moyens à la station Aléria, et grossiers pour les stations Cargèse et Santa Giulia. Les stations Calvi et Bonifacio présentent également de forts pourcentages de particules calciques (65%), alors que les stations Aléria, Cargèse et Santa Giulia présentent des taux de 16% à 27%. Les faunes de se groupes sont donc également hétérogènes. Certaines espèces ne sont présentes que dans quelques stations. C'est le cas d'*Eggerelloides scaber* ($14,3 \pm 17,9\%$), présente aux stations Cargèse et Calvi, mais surtout Bonifacio et Aléria ; et *Lagenammia atlantica* ($4,8 \pm 9,4\%$; station Santa Giulia). Cependant, d'autres espèces sont présentes dans toutes les stations, telles que *Reophax fusiformis* ($12,5 \pm 10,2\%$), *Quinqueloculina aspera* ($5,4 \pm 4,4\%$), *Rosalina bradyi* ($3,7 \pm 2,3\%$) et *Triloculina trigonula* ($3,3 \pm 3,5\%$). Ce sont ces dernières espèces qui causent le regroupement des stations et qui les différencient des stations du continent. De plus, les stations de ce groupe présentent des pourcentages d'espèces tolérantes parmi les plus faibles ($5,2 \pm 4,0\%$). La seule station située en Corse ne faisant pas partie de ce groupe est Figari Bruzzi, ce point sera traité dans la discussion du groupe 2.
- Groupe 2 : Ce groupe représente trois stations de la région Est (Cap Canaille, Porquerolles et Pampelonne) et une station de Corse (Figari

Bruzzi). Ces stations sont également assez profondes (49 m, 44 m, 38 m et 42 m). Le sédiment de ces stations se distingue par de très forts taux de particules calcaïques ($83,8 \pm 6,2\%$) (Figures 5.2 et 5.10), ce qui s'explique par le fait qu'il contient beaucoup de maërl. Les faunes du groupe 2 comportent de forts pourcentages de *Reophax fusiformis* ($15,0 \pm 12,7\%$). Elles sont par contre les seules à comprendre de larges proportions d'espèces épiphytes, *Asterigerinata mamilla* ($11,4 \pm 8,2\%$) et *Rosalina bradyi* ($7,2 \pm 3,4\%$), *Neoconorbina terquemi* ($4,7 \pm 2,4\%$) et *Spirillina vivipara* ($4,5 \pm 4,7\%$). *Eggerelloides scaber* et *Leptohalysis scotti* sont quasiment absentes. Milker *et al.* (2009) ont également observé des communautés d'espèces épiphytes dominées par *Asterigerinata mamilla*, *Neoconorbina terquemi*, *Cibicides* spp., *Rosalina macropora* and *Elphidium* spp., caractéristiques de la présence de particules issues de maërl, entre 40 et 80 m, en Mer d'Alboran. Les pourcentages d'espèces tolérantes des stations de ce groupe sont les plus faibles de toute la zone d'étude ($2,7 \pm 3,6\%$), ce qui est reflété par les valeurs de TSI-Med très faibles ($0,6 \pm 3,9$). Pour la station Figari Bruzzi, le sédiment consiste presque exclusivement de maërl. Sa faune est assez différente des autres stations de Corse. Notamment à cause de la présence de plusieurs espèces absentes aux autres stations corse, telles *Asterigerinata mamilla* (1,3%, 23,8% et 8,7%), *Neoconorbina terquemi* (0,6%, 2,8% et 7,4%), *Spirillina vivipara* (0,6%, 2,4% et 7,0%) et *Fissurina orbignyana* (0,0%, 1,6% et 4,7%). Ce sont ces quatre espèces qui rapprochent les faunes de la station Figari Bruzzi de celles du groupe 2. D'autres espèces, comme *Eggerelloides scaber* et *Rectuvigerina phlegeri*, sont absentes à la station Figari Bruzzi par rapport aux autres stations de Corse.

- Groupe 3 : Toutes les stations situées dans la région Est, à l'exception des stations Cap Canaille, Porquerolles, Pampelonne, Antibes Nord et Nice. Ces stations sont les plus profondes (47 ± 12 m). Les sédiments de ces stations contiennent une large proportion de sables moyens à très grossiers mais également une proportion de silts qui peut représenter jusqu'à la moitié du volume du sédiment ($34,3 \pm 16,7\%$ grains $< 63 \mu\text{m}$). Ces caractéristiques sédimentaires sont relativement homogènes, favorisent une faune assez similaire pour toutes les stations de ce groupe. Les faunes de foraminifères de ce groupe sont caractérisées par la présence prépondérante de *Reophax fusiformis* ($11,5 \pm 9,4\%$), *Ammoscalaria pseudospiralis* ($5,6 \pm 3,0\%$), *Rosalina bradyi* ($5,1 \pm 3,9\%$) et *Rectuvigerina phlegeri* ($5,0 \pm 3,9\%$). Par contre, l'espèce *Leptohalysis scotti* ($0,7 \pm 0,8\%$) est presque absente à ces stations. Les quelques dissimilarités des faunes proviennent principalement des trois autres espèces qui sont présentes de manière très hétérogène, *Recurvoides* sp. 1 ($6,1 \pm 11,2\%$), *Cancris auriculus* ($4,3 \pm 4,2\%$) et *Eggerelloides scaber* ($4,1 \pm 5,1\%$). Les pourcentages d'espèces tolérantes des stations de ce groupe sont également très hétérogènes ($15,4 \pm 9,3\%$) allant de 4,6% à 44,9%. En conséquence, les valeurs de TSI-Med sont également très hétérogènes ($11,0 \pm 9,0$).

- Groupe 4 : Ce groupe est constitué de trois stations (Leucate, Faraman et Nice) peu profondes (11–16 m). Par rapport aux autres stations peu profondes dans le Golfe du Lion, à Leucate et Faraman le sédiment présente une granulométrie plus grossière, comportant du sable fin et très peu de silt ($8,7 \pm 1,5\%$). C'est cette fraction de silt qui fait la principale différence avec les sédiments des autres stations du Golfe du Lion (groupe 5). Le sédiment à la station Nice Ville présente une granulométrie du sédiment très comparable. Ces trois stations comportent très peu de matière organique (1,01%, 1,61% et 0,94%). Ce sédiment plus grossier se traduit par des faunes différentes, comportant très peu d'individus (155 ± 108). Même si elles restent dominées par *Eggerelloides scaber* ($39,0 \pm 20,9\%$) comme dans le reste du Golfe du Lion, une seconde espèce caractérise les faunes à ces stations, notamment *Quinqueloculina aspera* ($9,9 \pm 5,1\%$). On peut noter aussi la présence très hétérogène d'*Hormosinella guttifera* ($22,7 \pm 6,2\%$ à la station Faraman), *Leptohalysis scotti* ($9,1 \pm 5,3\%$ à la station Leucate) ou *Quinqueloculina* sp. 1 ($7,0 \pm 4,3\%$ à la station Nice Ville). En revanche, certaines espèces très présentes dans les stations du groupe 5 sont presque absentes aux stations du groupe 4, telles *Reophax fusiformis* ou *Rectuvigerina phlegeri*. Le pourcentage d'espèces tolérantes est très hétérogène. Il est de 0–3% à la station Faraman, 14–20% à la station Leucate et 8–9% à la station Nice Ville.
- Groupe 5 : Ce groupe comprend essentiellement des stations du Golfe du Lion. La seule station qui soit incluse dans ce groupe en dehors du Golfe du Lion est Antibes Nord dans la région Est. La station Antibes Nord est plus profonde (30 m) par rapport aux autres stations de ce groupe (18 ± 3 m). Cependant, le sédiment à cette station est très similaire à celui rencontré aux autres stations de ce groupe dans le Golfe du Lion. Le sédiment aux stations de ce groupe est composé de sables fins à très fins, accompagnée d'une fraction de silt assez importante ($33,5 \pm 18,4\%$ grains $< 63 \mu\text{m}$). De plus, à la station Antibes Nord, les taux de matière organique (2,85%) et de particules calciques (39,2%) sont également similaires à ceux rencontrés dans le Golfe du Lion. Enfin, la station d'Antibes Nord possède une faune très proche de celle rencontrée dans le Golfe du Lion, caractérisée par de forts pourcentages d'*Eggerelloides scaber* (16% à 33% pour les 3 répliquats, comparé à $32,2 \pm 16,7\%$ pour les stations du Golfe du Lion), *Reophax fusiformis* (8,5% à 29,8% versus $6,0 \pm 6,5\%$) et *Rectuvigerina phlegeri* (1% à 8,5% versus $5,1 \pm 8,9\%$). Le pourcentage d'espèces tolérantes est assez élevé aux stations de ce groupe ($19,6 \pm 11,9\%$) mais recèle une hétérogénéité importante, allant de 5,0% à 56,7%. Les valeurs de TSI-Med suivent également cette tendance ($15,7 \pm 11,4$). Les stations Leucate et Faraman, bien que faisant partie du Golfe du Lion, ne font pas partie de ce groupe, ce point sera traité dans la discussion du groupe 4.

Il apparaît donc que le long des côtes méditerranéennes françaises, les faunes de foraminifères se répartissent partiellement selon une systématique géographique (groupes 1, 3 et 5). Cette zonation est au moins partiellement la conséquence de

caractéristiques environnementales très différentes entre les trois régions étudiées. En effet, les stations du Golfe de Lion sont considérablement moins profondes (17 ± 4 m) que celles de la région Est (42 ± 14 m) et de la Corse (37 ± 9 m). Ensuite, les types de sédiment sont très différents, aussi bien en termes de composition que de granulométrie. Les stations de Corse ont un sédiment plus grossier comparé aux stations de la région Est et du golfe du Lion. Le sédiment des stations de la région Est contient plus de particules calciques que les autres régions. Superposé sur cette zonation régionale, il y a deux groupes qui rassemblent des stations de différentes régions avec des conditions environnementales et des faunes comparables. Cela concerne surtout des stations de faible profondeur avec un sédiment sableux (groupe 4) et des stations profondes avec un sédiment comportant du maërl (groupe 2). Les caractéristiques sédimentaires jouent donc un rôle déterminant dans la répartition des espèces. Il est important de se rendre compte, qu'une partie des différences régionales de faunes observées sont très probablement dues à un échantillonnage à des profondeurs différentes entre les régions (Figure 5.2).

Des valeurs plus élevées des pourcentages d'espèces tolérantes peuvent être observées dans les groupes 3, 4 et 5, induisant de fortes valeurs de TSI-Med. Cependant, il existe une assez large variation des valeurs du TSI-Med au sein de ces trois groupes. Il ne ressort donc pas de groupe spécifique de stations qui montrerait un impact anthropique marqué. Ainsi, au sein de chaque groupe, des espèces tolérantes différentes sont responsables de fortes valeurs de TSI-Med. En majorité, on retrouvera *Rectuvigerina phlegeri* pour le groupe 5, *Rectuvigerina phlegeri*, *Cancris auriculus* et *Valvulineria bradyana* pour le groupe 3 et *Leptohalysis scotti* pour le groupe 4.

5.4.2. Qualité environnementale lors de la campagne DCE 2015 et évolution temporelle

Nous avons vu dans la section précédente qu'une grande tendance régionale se dégage de la répartition des faunes de foraminifères. Superposées sur cette tendance régionale, des particularités locales peuvent mener à la présence de faunes particulières. Néanmoins, les stations subissant de fortes pressions anthropiques ne ressortent pas distinctement parmi ces grandes tendances. À présent, nous mettons en parallèle nos observations faunistiques et sédimentaires avec l'évaluation de la qualité écologique par l'indice TSI-Med, exprimée de façon simplifiée par les classes d'EQS.

En considérant le suivi des sites, lors de trois campagnes DCE, qui se sont déroulées en 2009, 2012 et 2015, nous pouvons envisager l'évolution de la qualité environnementale des différentes stations pendant cette période (Figure 5.11 et tableau 5.7). Les valeurs du TSI-Med rapportées dans la figure 5.11 et le tableau 5.7 pour l'année 2009 se basent sur la fraction 150–500 μm et le pourcentage d'espèces tolérantes de référence utilisée provient des mêmes données (Barras and Jorissen, 2011; Barras *et al.*, 2014). Pour les années 2012 et 2015, la fraction 125–500 μm a été utilisée et le pourcentage d'espèces tolérantes de référence est basé

sur les données de 2012 (Barras *et al.*, 2015). L'utilisation de deux fractions différentes rend les interprétations plus délicates.

La faible abondance de foraminifères à certaines stations peut poser problème dans l'interprétation des résultats de la qualité écologique. En effet, le TSI-Med repose sur une proportion, celle des espèces tolérantes, dont la significativité diminue pour de faibles abondances totales. Deux stations sont partiellement concernées par cette contrainte : Cargèse (53, 57 et 78 individus dans chacun des trois réplicats) et Faraman (84, 51 et 48 individus) (Figure 5.3a). Les réplicats individuels de ces deux stations ont une valeur de TSI-Med correspondant à un EQS « très bon ». En regroupant les trois réplicats, on arrive à 188 et 183 spécimens, respectivement, et l'EQS reste toujours « très bon », suggérant que les EQS ne sont pas vraiment affectées par la densité relativement faible. Le TSI-Med n'a pas été calculé pour les réplicats avec moins de 30 individus (cas de huit réplicats au total sur les trois campagnes).

En 2009, un seul réplicat fut échantillonné par station, comparé avec trois pour 2012 et 2015. Lorsque plusieurs réplicats sont disponibles, on observe souvent une forte hétérogénéité entre eux. Cette hétérogénéité traduit une variabilité environnementale importante sur des courtes distances, et souligne l'importance de faire des réplicats à chaque station. Par contre, le fait d'avoir trois réplicats par station rend aussi plus difficile l'interprétation, non seulement de la qualité écologique du site, mais aussi de l'évolution temporelle de cette qualité écologique. Ainsi, lorsque des réplicats sont présents, les valeurs du TSI-Med des trois réplicats sont moyennées pour obtenir une seule valeur de TSI-Med pour chaque station.

À cela s'ajoute le problème de la localisation des stations. Pour certaines stations, les échantillons n'ont pas été pris exactement aux mêmes endroits pendant les trois missions. Dans des cas où ces changements correspondent à un changement de faciès sédimentaire, cela peut avoir des conséquences majeures sur les mesures de qualité. D'importants changements de site de prélèvement sont à noter pour les stations Aléria, Figari Bruzzi et Santa Giulia. Même si les faunes peuvent être très différentes, dû au changement de faciès sédimentaire sur de courtes distances la qualité écologique devrait être la même au sein d'une masse d'eau. Cela met en évidence la problématique de donner un unique statut écologique pour une masse d'eau qui peut être vaste et variée en termes de conditions environnementales et de faunes. Nous pensons que ce problème peut expliquer les résultats très différents obtenus pour les réplicats des stations Cap Canaille, Villefranche, Fréjus et Antibes Nord pour l'échantillonnage de 2015 (voir section 5.4.2.2).

À cause de ces complications, seules des évolutions temporelles majeures, impliquant des changements de Statut de Qualité Écologique (EQS), peuvent réellement être mises en exergue de manière confiante. On s'intéressera particulièrement aux variations du TSI-Med amenant des changements d'EQS entre « bon » et « moyen », qui marque la limite à partir de laquelle des actions doivent être prises dans le cadre de la DCE (Commission Européenne, 2000) pour obtenir un retour au bon état écologique. De manière générale, on remarque que la grande

majorité des stations se retrouve avec un EQS bon à très bon (Tableau 5.6). Cependant, en 2009 plus de stations avaient un EQS très bon par rapport à bon, contrairement aux années 2012 et 2015. Ce changement est potentiellement dû à l'utilisation de la fraction 125–500 μm en 2012 et 2015, puisque les pourcentages d'espèces tolérantes sont légèrement supérieurs pour la fraction 125–500 μm ($12,1 \pm 10,6\%$) par rapport à la fraction 150–500 μm ($10,3 \pm 9,6\%$). Le nombre de station avec un EQS inférieur à bon (c.-à-d. moyen ou médiocre) reste stable, avec entre 3 et 6 stations par campagne.

Tableau 5.6 : Nombre de stations par classe d'EQS pour les trois années d'échantillonnage. ND = Non Disponible.

EQS	2009	2012	2015
Très bon	17	8	10
Bon	7	15	12
Moyen	4	3	6
Médiocre	1	0	0
Mauvais	0	0	0
ND	0	3	1

D'après la figure 5.6a, en 2015, on remarque que la majorité des stations (22 sur 28) possèdent un EQS très bon à bon. Seules les stations Collioure, Beauduc, Fos, Toulon Grande Rade, Menton et Villefranche possèdent un EQS moyen, cependant aucune station ne possède un EQS médiocre ou mauvais.

La plupart des stations montrent une relative stabilité de la qualité écologique au cours du temps (Figure 5.11 et tableau 5.7), particulièrement les stations de Corse qui conservent des EQS « bon » à « très bon ». Pour les régions continentales quelques changements sont à noter. Certaines stations montrent des différences importantes des valeurs du TSI-Med entre 2009, 2012 et 2015. Un 1^{er} groupe de stations (Collioure, Beauduc et Fos) montrent plutôt une tendance à une augmentation du TSI-Med de 2009 à 2015, un 2^e groupe (Leucate, Carry, et Pampelonne) montre une diminution progressive des valeurs du TSI-Med, tandis qu'un 3^e groupe de stations (Toulon Grande Rade, Menton, Cap Canaille et Faraman) montre des différences sans tendance nette.

Ici, nous allons donc considérer en plus de détail toutes les stations affichant une qualité environnementale médiocre ou mauvaise, ainsi que les stations montrant des changements temporels d'EQS important.

Tableau 5.7 : Valeurs du TSI-Med pour les trois années d'échantillonnage : 2009, 2012 et 2015.
 ND = Non Disponible.

Région	Station	Réplikat	TSI-Med 2009	TSI-Med 2012	TSI-Med moyen à la station 2012	TSI-Med 2015	TSI-Med moyen à la station 2015
Golfe du Lion	Collioure	a		ND		22,6	
		b	2,4	11,7	11,7	21,9	17,4±8,3
		c		ND		7,9	
	Leucate	a		16,0		20,2	
		b	45,7	17,8	26,2±16,1	12,7	15,2±4,4
		c		44,7		12,6	
	Gruissan	a		ND		7,1	
		b	8,2	-0,3	-0,3	2,7	6,4±3,5
		c		ND		9,5	
	Agde Ouest	a		ND		13,2	
		b	1,2	ND	ND	19,8	13,6±6,1
		c		ND		7,7	
	Agde Est	a		15,3		ND	
		b	1,9	ND	15,3	ND	ND
		c		ND		ND	
	Grau du Roi	a		ND		13,3	
		b	-0,9	1,0	1,0	4,0	12,0±7,4
		c		ND		18,7	
	Beauduc	a		11,5		25,7	
		b	2,9	ND	11,5	18,0	19,2±6,0
		c		ND		14,0	
Faraman	a		ND		2,4		
	b	-0,4	15,6	15,6	-0,7	0,3±1,8	
	c		ND		-0,7		
Fos	a		-0,2		52,5		
	b	16,9	14,7	7,0±7,5	17,4	33,6±17,7	
	c		6,4		31,0		
Est	Carry	a		15,1		17,7	
		b	33,7	ND	15,1	16,6	15,4±3,0
		c		ND		12,0	
	Marseille Grande Rade	a		ND		15,0	
		b	15,9	ND	ND	7,4	8,6±5,9
		c		ND		3,4	
	Île Maire	a		ND		6,2	
		b	10,8	ND	7,2	4,8	5,2±0,8
		c		7,2		4,6	
	Cap Canaille	a		23,5	19,2±5,8	10,8	
		b	-0,4	21,4		-4,7	2,2±7,9

Région	Station	Réplicat	TSI-Med 2009	TSI-Med 2012	TSI-Med moyen à la station 2012	TSI-Med 2015	TSI-Med moyen à la station 2015
	Île Embiez	c		12,6		0,4	
		a		ND		0,8	
		b	3,4	ND	-1,3	6,5	3,5±2,9
		c		-1,3		3,3	
	Toulon Grande Rade	a		ND		22,7	
		b	19,3	ND	18,1	17,4	16,7±6,4
		c		18,1		9,9	
	Porquerolles	a		-0,4		-1,8	
		b	-0,6	ND	-0,4	-1,6	-1,5±0,4
		c		ND		-1,0	
	Pampelonne	a		0,6		0,5	
		b	7,9	1,4	6,8±10,2	0,7	-0,9±2,6
		c		18,5		-3,9	
	Fréjus	a		6,6		12,8	
		b	1,9	5,8	4,5±2,9	12,9	12,1±1,4
		c		1,2		10,5	
	Antibes Sud	a		ND		2,0	
		b	-1,8	-2,4	-2,4	0,1	2,6±2,8
		c		ND		5,6	
	Antibes Nord	a		2,7		2,5	
		b	-0,2	ND	2,7	7,1	7,6±5,4
		c		ND		13,2	
	Nice Ville	a		ND		8,6	
		b	-0,3	14,9	14,9	6,9	7,9±0,9
		c		ND		8,3	
	Villefranche	a		4,1		-0,2	
		b	6,2	0,2	6,4±7,6	10,2	16,6±20,7
		c		14,8		39,7	
	Menton	a		1,7		22,1	
		b	21,0	6,5	6,9±5,4	26,1	18,6±9,8
c			12,5		7,5		
Corse	Aléria	a		3,5		4,8	
		b	-0,5	0,9	2,2±1,8	1,8	3,7±1,7
		c		ND		4,4	
	Santa Giulia	a		4,6		-0,3	
		b	4,2	8,0	5,5±2,2	-0,3	0,7±1,8
		c		3,8		2,7	
	Bonifacio	a		-1,5		10,0	
		b	-5,1	-2,5	-2,9±1,7	2,2	5,1±4,2
		c		-4,8		3,2	
	Figari Bruzzi	a	0,3	8,4	4,5±3,5	5,1	2,4±2,3

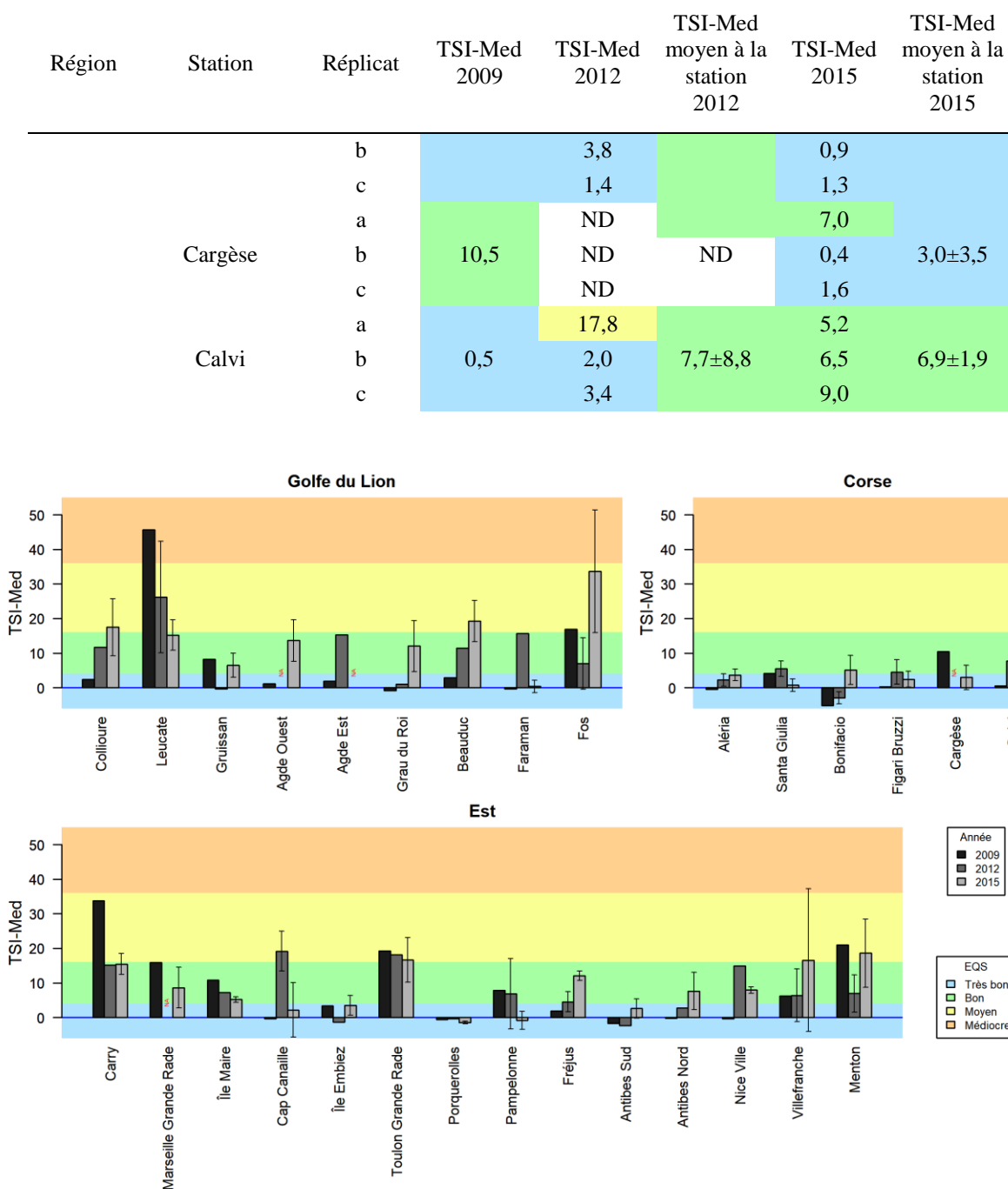


Figure 5.11 : Évolution temporelle du TSI-Med sur les trois années échantillonnées. Lorsque que plusieurs réplicats sont disponibles, la moyenne et l'écart-type sont présentés. Le TSI-Med est basé sur la fraction 150–500 µm et la référence de 2009 (Barras and Jorissen, 2011; Barras et al., 2014) pour 2009 et 125–500 µm et la référence de 2012 (Barras et al., 2015) pour 2012 et 2015. NA : Non disponible.

5.4.2.1. Stations montrant une augmentation des valeurs de TSI-Med au cours du temps

Certaines stations montrent des valeurs de TSI-Med qui augmentent au cours du temps. Ceci concerne notamment les stations Collioure, Beauduc et Fos. Ces trois stations sont discutées plus en détail afin de déterminer si cette augmentation des

valeurs de TSI-Med est attribuable à une dégradation anthropique ou à une variabilité naturelle.

À la station **Collioure**, on observe que le pourcentage d'argile et de silt du sédiment augmente au cours du temps indiquant un sédiment plus fin (Tableau 5.8). Le pourcentage de matière organique augmente également. En 2009, la faune était dominée par *Triloculina trigonula*, *Lagenammina difflugiformis* et *Eggerelloides scaber*. En 2012, *Ammonia beccarii* est apparue. Ainsi qu'une espèce tolérante *Nonionella turgida* qui est responsable de la majorité du taux d'espèces tolérantes en 2012. En 2015, *Nonionella turgida* est moins présente, mais une nouvelle espèce tolérante est apparue, *Leptohalysis scotti*. Entre 2012 et 2015, *Lagenammina difflugiformis* a presque disparue et les abondances relatives de *Triloculina trigonula* ont fortement diminuées. Néanmoins, un des répliquat de 2015 montre la plus faible abondance relative d'espèces tolérantes, ce qui est en partie due à la plus grande proportion d'*Eggerelloides scaber* dans ce répliquat. Il semble que la correction pour l'état trophique naturel, qui prend en compte l'augmentation du pourcentage de silt, n'a pas entièrement compensé l'augmentation du pourcentage d'espèces tolérantes. Ainsi, les valeurs de TSI-Med ont augmenté depuis 2009, pour devenir maximales en 2015. Cette augmentation correspond à un envasement du site, avec un sédiment progressivement plus riche en matière organique. Le site de Collioure semble subir particulièrement les pressions anthropiques liées à l'urbanisation de la côte et à la ville de Collioure (Holon *et al.*, 2015). À cela pourrait s'ajouter les rejets liés aux activités agricoles et industrielles provenant des embouchures du Tech et de la Massane ou le rejet de la station d'épuration d'Argelès-sur-Mer transporté jusqu'à la station par le courant côtier (Holon *et al.*, 2015).

À la station **Beauduc**, le sédiment est très fin (Tableau 5.9). Il est exclusivement composé de silts et de sables très fin. Néanmoins, en 2009, la fraction d'argile et silt est beaucoup plus importante que celle de sable très fin, alors que les deux fractions ont des pourcentages presque équivalents en 2012 et 2015. De façon quelque peu surprenante (en vue de la tendance vers un sédiment moins fin), le pourcentage de matière organique augmente légèrement au cours du temps. Le pourcentage d'espèces tolérantes a progressivement augmenté depuis 2009, pour atteindre un maximum de $23,3 \pm 5,7\%$ en 2015 pour un pourcentage attendu de $5,1\%$ selon la courbe de référence. *Nonion scaphum*, *Ammonia beccarii*, *Elphidium granosum* et *Elphidium macellum* montrent des pourcentages élevés en 2009 et/ou 2012, et sont tous fortement diminué en 2015. Par contre, les espèces tolérantes *Nonion depressulum*, *Rectuvigerina phlegeri* et *Bulimina aculeata* augmentent en pourcentage, pour atteindre un maximum en 2015. L'augmentation considérable du pourcentage d'espèces tolérantes et des valeurs de TSI-Med au cours du temps, montre clairement que l'état écologique à la station s'est dégradé entre 2012 et 2015. La position de cette station, sous l'influence des rejets du Rhône pourrait expliquer l'état écologique de la station. Cependant cela ne semble pas suffisant et aucune pression prépondérante ne ressort clairement sur cette zone (Micheli *et al.*, 2013; Holon *et al.*, 2015).

Tableau 5.8 : Paramètres granulométriques du sédiment et faunistiques à la station Collioure. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » ; vert, « bon » et jaune, « moyen ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Collioure																	
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	Sables très fins : % grains 63–125 µm	% matière organique	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Leptohalys scotti</i>	<i>Nonion</i> spp.	<i>Nonionella turgida</i>	<i>Nonionella</i> spp.	<i>Eggerelloides scaber</i>	<i>Lagena mmina difflugiformis</i>	<i>Ammonia beccarii</i>	<i>Triloculina trigonulata</i>	
2009	42° 31' 54,18"	3° 5' 21,96"	23	2,9	13,9	1,37	2,7	2,4	0,0	1,6	1,1	0,0	12,3	17,1	0,0	47,1	
2012	42° 31' 55,17"	3° 5' 22,11"	23	10,7	23,3	1,90	12,8	11,7	0,0	2,1	8,7	1,5	12,3	20,5	17,9	10,8	
2015	42° 31' 51,39"	3° 5' 22,05"	22	29,0	17,1	2,48	25,7	22,5	11,4	4,3	4,0	4,2	43,3	0,2	2,2	7,7	
							25,1	21,9	15,5	3,5	1,1	2,2	37,1	3,4	2,2	9,5	
							11,7	7,9	6,4	2,2	0,3	1,9	53,2	0,3	3,0	5,8	

Tableau 5.9 : Paramètres granulométriques du sédiment et faunistiques à la station Beauduc. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » ; vert, « bon » et jaune, « moyen ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Beauduc																	
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	Sables très fins : % grains 63–125 µm	% matière organique	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Bulimina aculeata</i>	<i>Nonion depressulum</i>	<i>Nonion scaphulum</i>	<i>Nonionella turgida</i>	<i>Rectuvigerina phlegeri</i>	<i>Ammonia beccarii</i>	<i>Elphidium granosum</i>	<i>Elphidium macellum</i>	
2009	43° 24' 48"	4° 30' 7,8"	14	87,5	10,8	1,7	17,8	2,9	0,0	0,0	14,1	2,5	0,0	8,6	9,8	0,0	
2012	43° 24' 47,61"	4° 30' 51,9"	13	41,9	56,9	1,9	16,9	11,5	0,9	8,7	4,3	0,9	0,4	4,8	17,3	11,7	
2015	43° 24' 3,05"	4° 29' 51,92"	15	35,1	47,2	2,1	29,5	25,7	3,3	10,4	6,0	2,7	3,8	3,3	3,3	0,0	
							22,1	18,0	1,4	3,2	7,4	3,5	6,0	2,5	1,1	0,0	
							18,4	14,0	3,3	4,0	3,3	2,6	3,3	0,4	3,3	0,0	

À la station **Fos**, le sédiment est aussi fin, avec l'essentiel des grains partagés entre silts et sables très fins (Tableau 5.10). Néanmoins, on observe un sédiment moins fin en 2012 et 2015. Cette tendance est accompagnée par une augmentation de la teneur en matière organique en 2015, après une baisse entre 2009 et 2012. L'évolution des faunes et du TSI-Med reflète l'évolution de la matière organique. De nombreuses espèces sensibles montrent des pourcentages fortement diminués en 2015, telles qu'*Adelosina longirostra*, *Ammonia beccarii* et *Elphidium poeyanum*. Au contraire, plusieurs espèces tolérantes, comme *Rectuvigerina phlegeri* et *Valvulineria bradyana*, montrent une forte augmentation. D'après la granulométrie du sédiment l'on se serait attendu à 8,9% d'espèces tolérantes en 2015 d'après la courbe de référence contre 56,7%, 24,8% et 37,1% en réalité pour les trois répliqués. Cela s'est traduit par de fortes valeurs de TSI-Med en 2015. Les répliqués de cette année suggèrent une forte hétérogénéité spatiale, mais la valeur moyenne du TSI-Med de 2015 est beaucoup plus élevée que celle de 2012 et même de 2009. Le fort enrichissement en matière organique et le changement important des faunes tend à montrer une réelle dégradation de la qualité écologique à cette station. La position de la station dans le Golfe de Fos indiquerait que la dégradation pourrait être le résultat des pressions issues des industries et de la forte urbanisation du golfe alentour (Holon *et al.*, 2015). La station subirait également les pressions des apports en nutriments et en pollution organique en provenance du Rhône (Micheli *et al.*, 2013)

Tableau 5.10 : Paramètres granulométriques du sédiment et faunistiques à la station Fos. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » ; vert, « bon » ; jaune, « moyen » et orange, « médiocre ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Fos																
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	Sables très fins : % grains 63–125 µm	% matière organique	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Rectuvigerina phlegeri</i>	<i>Valvulineria bradyana</i>	<i>Nonion scaphum</i>	<i>Nonionella turgida</i>	<i>Adelosinella longirostris</i>	<i>Ammonia beccarii</i>	<i>Elphidium poeyanum</i> f. <i>decipiens</i>	<i>Eggerelloides scaber</i>
2009	43° 21' 38,4"	4° 55' 45,6"	21	73,6	12,4	3,1	24,9	16,9	3,8	2,7	14,5	1,6	2,2	18,6	14,0	4,4
2012	43° 21' 45"	4° 55' 36,23"	18	30,1	53,0	2,3	4,1	-0,2	0,3	0,0	0,8	0,3	0,3	16,3	0,0	43,8
							18,4	14,7	3,5	0,3	7,4	2,3	10,3	16,8	7,4	14,2
							10,4	6,4	1,5	0,0	3,7	5,2	3,7	13,3	5,9	39,3
2015	43° 22' 0,27"	4° 55' 53,31"	20	59,9	27,8	4,2	56,7	52,5	37,6	9,1	4,9	2,1	0,6	2,1	0,4	4,6
							24,8	17,4	13,2	5,5	1,2	2,3	0,5	4,1	1,2	18,2
							37,1	31,0	19,3	7,2	4,4	2,8	1,2	2,3	1,7	11,2

La qualité écologique semble donc diminuée entre 2009 et 2015 pour ces trois stations. Chaque station est proche d'une ou plusieurs sources de pressions d'origine anthropique, notamment les rejets de stations d'épuration pour la station de Collioure. La station de Fos pourrait subir les actions combinées des sources de pollution apportées par le Rhône et les activités anthropiques plus proches. Seule la station de Beauduc ne semble pas présenter d'origine anthropique à la dégradation de la qualité écologique.

5.4.2.2. Stations montrant une diminution des valeurs de TSI-Med au cours du temps

Seule la station Leucate montre une diminution très importante des valeurs de TSI-Med entre 2009 et 2015. À la station **Leucate**, le sédiment est plus fin en 2009 et 2012 par rapport à 2015 et la profondeur d'échantillonnage passe en même temps de 22 m à 16 m (Tableau 5.11). C'est entre 2012 et 2015 que l'on observe le plus grand changement de faune. Surtout au niveau des espèces tolérantes. En 2009 et 2012, ce groupe comprend essentiellement *Nonion depressulum* et *Nonionella turgida*. En 2015, ces deux espèces ne représentent plus qu'un faible pourcentage des espèces tolérantes et *Leptohalysis scotti* est majoritaire. Dans l'ensemble le pourcentage d'espèces tolérantes a très fortement diminué au cours du temps et les valeurs de TSI-Med aussi. Les EQS passent de « médiocre » en 2009 à « moyen » en 2012 à « bon » en 2015. Cependant, la forte valeur du TSI-Med en 2009 est basée sur un seul réplikat. Parmi les trois réplikats de 2012, il s'en trouve aussi un avec une valeur aussi élevée qu'en 2009. En effet, les réplikats montrent une grande variabilité en 2012 et 2015. Cette variabilité pourrait traduire une hétérogénéité spatiale importante à cette station. L'étude du sédiment dans le Golfe du Lion révèle une variation de la granulométrie en fonction de la profondeur, passant de sables à des vases en direction du large avec une différence plus marquée autour de 20 m (Got and Aloisi, 1990; Roussiez *et al.*, 2005; Labrune *et al.*, 2008). Cette différence sédimentologique s'accompagne d'une différence marquée de la macrofaune (Labrune *et al.*, 2006, 2008). Le changement d'habitat entraîné par la faible différence de profondeur entre 2012 et 2015 suffirait donc à expliquer les changements de faune de foraminifères qui ont induit la diminution des valeurs de TSI-Med en 2015 par rapport à 2009 et 2012. Il semble que la correction apportée pour le sédiment plus fin (en 2009 et 2012) n'a pas été suffisante afin de prendre en compte cette différence de faciès sédimentaire.

Tableau 5.11 : Paramètres granulométriques du sédiment et faunistiques à la station Leucate. Les couleurs correspondent aux EQS : vert, « bon » ; jaune, « moyen » et orange, « médiocre ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Leucate													
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Leptohalysis scotti</i>	<i>Nonion depressulum</i>	<i>Nonionella turgida</i>	<i>Eggerelloides scaber</i>	<i>Lagenammina difflugiformis</i>	<i>Quinqueloculina aspera</i>	<i>Triloculina trigonula</i>
2009	42° 51' 9"	3° 4' 0"	22	19,7	46,3	45,7	6,7	18,4	16,1	14,4	3,0	4,1	8,9
2012	42° 51' 21"	3° 3' 29,94"	22	25,4	19,0	16,0	0,0	12,4	5,3	47,7	6,8	9,9	4,7
					20,7	17,8	0,4	5,4	12,5	38,6	5,4	14,6	6,4
					46,7	44,7	0,5	34,3	8,9	23,5	7,5	6,6	4,0
2015	42° 51' 24,94"	3° 3' 39,62"	16	8,6	21,0	20,2	15,3	1,4	2,4	52,5	0,0	6,8	3,4
					13,5	12,7	9,5	0,8	2,1	55,7	0,0	13,3	0,8
					13,5	12,6	2,3	2,3	3,1	52,7	0,0	8,5	2,3

Des diminutions moins importantes peuvent être observées pour les stations Carry et Pampelonne.

À la station **Carry**, le sédiment est très similaire entre les années et est constitué en grande partie d'argile et silt. Mais ce sédiment est plutôt hétérogène et contient aussi beaucoup de sables très fins à grossiers. Les sites échantillonnés sont très proches les uns des autres, seul celui échantillonné en 2015 est un peu plus au large (380 m), ce qui peut expliquer sa plus grande profondeur. Les répliquats de 2015 ne montrent qu'une faible hétérogénéité spatiale. Les valeurs de TSI-Med sont très proches entre 2012 et 2015, à la limite entre le « bon » et le « moyen » état écologique. Le pourcentage d'espèces tolérantes est constitué d'espèces différentes suivant les années, *Cancris auriculus* et *Nonion scaphum* en 2009, *Cancris auriculus* en 2012 et *Cancris auriculus*, *Nonion scaphum* et *Valvulineria bradyana* en 2015. Seules les variations de ces espèces tolérantes sont responsables des variations du TSI-Med étant donnée l'homogénéité du sédiment entre les années. La plus forte valeur du TSI-Med obtenue en 2009 par rapport à 2012 et 2015 est due au fort pourcentage de *N. scaphum*, et, dans une moindre mesure, de *C. auriculus*. Il est possible que les plus forts pourcentages de ces espèces de grande taille soient partiellement expliqués par l'utilisation de la fraction 150–500 µm en 2009.

A la station **Pampelonne**, le pourcentage d'argile et silt ne montre pas de changements majeurs au cours du temps (Tableau 5.13). Quand on considère la composition faunistique, on est frappé par les différences majeures entre les répliquats d'une même année. Cela concerne surtout l'espèce tolérante *Cancris auriculus*, quasiment absente dans cinq des sept répliquats des trois années, et très nombreux dans les deux répliquats restant, de 2009 et 2012, où l'espèce dominante *Reophax fusiformis*, attribuée au EGIII par Jorissen *et al.* (2018), atteint également des pourcentages maximaux. L'augmentation de l'abondance relative de *C. auriculus* est responsable des fortes valeurs de TSI-Med. Il apparaît qu'on soit confronté ici à une hétérogénéité spatiale importante, avec des habitats plutôt oligotrophes, avec de forts pourcentages d'espèces épiphytes, qui alternent spatialement avec des habitats plus eutrophes, avec de forts pourcentages de *C. auriculus* et *R. fusiformis*. Ces deux habitats pourraient correspondre à des sites à proximité d'herbiers de posidonie (abondant dans la zone ; (Andromede Oceanologie and RMC Agence de l'eau, 2019)), et des sites avec un sédiment peut-être plus vaseux, et plus riche en matière organique entre les prairies de posidonie. Ce contraste nous amène à deux observations :

1. On s'attend à une même valeur d'indice pour les deux types d'habitat. Si on avait pris des échantillons pour la granulométrie dans les mêmes boîtes que les échantillons pour les foraminifères en 2012, on aurait pu trouver des différences de granulométrie, qui auraient pu nous permettre de corriger l'indice pour cet effet habitat, et
2. Il semble que, dans ce cas précis, le nombre de trois répliquats ne soit pas suffisant pour décrire adéquatement la complexité de cet environnement. Il est très probable qu'en 2015, on a simplement échantillonné des habitats proches d'herbiers de posidonie et failli à échantillonner l'habitat le plus

éloigné des herbiers. Ce qui explique la plus basse valeur moyenne du TSI-Med.

Les EQS diminuent également légèrement pour les stations Santa Giulia et Cargèse (Appendice 5.C). L'EQS d'une station est déterminé à partir de la moyenne des valeurs du TSI-Med de chaque réplikat. Cette méthode n'est pas toujours pertinente dans les cas d'une grande différence entre les réplikats. Pour des stations qui présentent une mosaïque d'habitats très différents, tel que Pampelonne, il serait pertinent dans l'avenir 1) de considérer les réplikats séparément et donc de prélever des échantillons pour les analyses granulométriques dans chaque carottier boîte pour corriger au mieux l'indice, et/ou, 2) si c'est possible, augmenter le nombre de réplikats.

5.4.2.1. Variations des valeurs de TSI-Med variables sans tendance temporelle claire

Quatre stations montrent des différences importantes au cours du temps sans tendance claire : Toulon, Menton, Cap Canaille et Faraman.

À la station **Toulon Grande Rade**, le site échantillonné en 2012 se trouve à 1,4 km à l'ouest des sites de 2009 et 2015. Ainsi, on observe un changement de profondeur en 2012 où l'échantillonnage a été réalisé 10 m moins profond qu'en 2009 et 2015. Le sédiment est plus fin en 2009 qu'en 2012 et 2015. En 2015, le sédiment possède également une fraction fine importante (33,1% grains < 63 µm soit 4,8% d'espèces tolérantes attendues dans des conditions naturelles), mais aussi une fraction de sable plus grossier conséquente (27,5% grains > 500 µm). Les faunes de foraminifères ont changé entre les échantillonnages, notamment les espèces tolérantes. Parmi ces espèces, les abondances relatives de *Cancris auriculus* ont diminué, alors que celles de *Nonion depressulum* et *Rectuvigerina phlegeri* ont augmenté. Au final, le pourcentage d'espèces tolérantes n'a pas évolué au cours du temps, même si le sédiment était plus fin en 2009. Cela indique que la correction pour l'état trophique naturel, qui a été plus forte en 2009 (à cause du sédiment plus vaseux) n'a pas eu de grosses conséquences pour la qualité écologique retenue. Le déplacement du site d'échantillonnage en 2012 n'a pas eu d'influence sur la mesure de la qualité écologique non plus. Les valeurs de TSI-Med restent élevées en 2015. La position de la station et les cartes de pression suggèrent que ces valeurs élevées sont dues à la très forte urbanisation de la côte et à la forte population présente autour de la rade de Toulon (Holon *et al.*, 2015). Également, la proximité du rejet de la station d'épuration de Toulon Est (Pont de la Clue) exerce une pression sur l'environnement proche (Holon *et al.*, 2015), et pourrait expliquer la mauvaise qualité enregistrée par le TSI-Med.

Tableau 5.12 : Quelques paramètres environnementaux et faunistiques à la station Carry. Les couleurs correspondent aux EQS : vert, « bon » et jaune, « moyen ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Carry															
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Cancris auriculus</i>	<i>Nonion scaphum</i>	<i>Valvulineria bradyana</i>	<i>Ammoscalaria pseudopiralis</i>	<i>Fissurina orbigniana</i>	<i>Lagena mmina difflugiformis</i>	<i>Planorbulina mediterranea</i>	<i>Recurvodes</i> sp. 1	<i>Reophax fusiformis</i>
2009	43° 18' 39,6"	5° 9' 37,8"	48	26,3	34,8	33,7	16,4	14,9	0,3	7,2	0,0	8,3	4,6	0,0	1,1
2012	43° 18' 40,9"	5° 9' 37,29"	41	26,1	18,2	15,1	11,6	0,0	0,0	4,6	8,8	10,0	5,5	0,9	2,7
2015	43° 18' 28,77"	5° 9' 36,04"	55	38,5	22,3	17,7	5,3	3,1	6,2	8,4	0,1	4,6	7,6	4,3	2,3
					21,3	16,6	6,2	1,2	4,4	5,4	0,7	6,2	3,8	8,4	8,3
					17,0	12,0	2,0	1,2	5,4	7,0	0,6	3,6	6,4	4,5	6,2

Tableau 5.13 : Paramètres granulométriques du sédiment et faunistiques à la station Pampelonne. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » ; vert, « bon » et jaune, « moyen ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Pampelonne											
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	% espèces épiphytes	<i>Cancris auriculus</i>	<i>Asterigerina mamilla</i>	<i>Reophax fusiformis</i>	<i>Rosalina bradyi</i>
2009	43° 13' 44,4"	6° 41' 43,8"	42	19,1	8,8	7,9	21,2	7,7	7,3	28,8	2,3
2012	43° 13' 44,9"	6° 41' 42,39"	43	4,5	0,9	0,6	31,2	0,0	13,9	19,4	6,4
					1,7	1,4	57,8	0,9	23,3	7,8	13,8
					18,8	18,5	11,8	12,9	3,5	27,1	3,5
2015	43° 13' 47,98"	6° 41' 43,33"	35	7,9	1,4	0,5	38,3	0,0	6,6	21,5	10,7
			38	12,7	2,3	0,7	38,9	0,8	10,3	10,5	7,6
				26,7	0,0	-3,9	37,4	0,0	16,8	12,2	3,8

Tableau 5.14 : Quelques paramètres environnementaux et faunistiques à la station Toulon Grande Rade. Les couleurs correspondent aux EQS : vert, « bon » et jaune, « moyen ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Toulon Grande Rade													
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 μm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Cancris auriculus</i>	<i>Nonion depressulum</i>	<i>Rectuverina phlegeri</i>	<i>Ammocalaria pseudopiralis</i>	<i>Asterigerina mamillata</i>	<i>Lagena mmina difflugiformis</i>	<i>Reophax fusiformis</i>
2009	43° 5' 33,6"	5° 57' 54"	43	50,9	22,8	19,3	12,7	0,0	3,4	2,6	3,0	8,2	2,2
2012	43° 5' 36,58"	5° 56' 53,7"	29	26,7	21,2	18,1	6,2	0,3	7,3	5,9	5,1	4,0	1,7
2015	43° 5' 14,52"	5° 58' 10,41"	39	33,1	26,4	22,7	2,3	7,3	8,1	10,4	2,5	4,3	17,9
					21,3	17,4	4,4	1,2	9,3	8,1	3,7	7,2	17,8
					14,2	9,9	2,0	1,0	6,2	9,5	3,5	5,2	22,6

À la station **Menton** le sédiment est un peu plus grossier en 2009 et l'échantillonnage est plus profond en 2015 même si l'échantillonnage est très proche d'une année sur l'autre (< 130 m) (Tableau 5.15). Les faunes de foraminifères ont changé entre les années, mais les pourcentages d'espèces tolérantes sont assez similaires. Ces pourcentages sont cependant un peu plus élevés pour deux réplicats en 2015, avec 28,3% et 32,0%, qu'en 2009 et 2012. D'après la granulométrie du sédiment l'on devrait s'attendre à 8,0% d'espèces tolérantes dans des conditions non anthropisées. Les valeurs de TSI-Med plus faibles en 2012, comparé à 2009, sont dues à une correction pour l'état trophique naturel plus importante car le sédiment est plus fin. Par contre, l'augmentation du TSI-Med en 2015, malgré la forte correction appliquée, est due à une augmentation du pourcentage d'espèces tolérantes. En 2015, les espèces tolérantes consistent aux deux tiers de *Cancris auriculus* et *Rectuvigerina phlegeri*. D'après les pressions subies par cette station l'état écologique « moyen » proviendrait de la forte urbanisation de la côte et de la population importante, cependant le sens des courants semble indiquer que la pression qui serait la source du plus fort impact serait le rejet de la station d'épuration de Menton et dans une moindre mesure celui de la station de Roquebrune-Cap-Martin (Holon *et al.*, 2015).

Pour la station **Cap Canaille**, deux facteurs importants ont changé entre les échantillonnages des trois années, une profondeur plus importante en 2012 et un site différent en 2015 (Tableau 5.16). La valeur du TSI-Med indiquait un EQS « bon » en 2009 qui est passé à « moyen » en 2012 pour revenir à « bon » voire « très bon » en 2015. L'échantillonnage a été fait à 43 m de profondeur en 2009, puis à 71 m en 2012. En 2015, l'échantillonnage a de nouveau été réalisé à une profondeur similaire à 2009 (49 m), mais à 2,7 km au nord-ouest en 2015 par rapport à 2009 et 2012. Le site de 2015 est plus à l'intérieur de la baie de Cassis, et se trouve donc plus entouré d'herbiers de posidonie (Andromède Oceanologie and RMC Agence de l'eau, 2019). En parallèle, il y a proportionnellement beaucoup plus d'espèces épiphytes en 2015 ($47,0 \pm 7,8\%$) par rapport à 2009 et 2012 ($13,7 \pm 2,7\%$), notamment *Asterigerinata mamilla*, *Neoconorbina terquemi* et *Rosalina bradyi*. L'apparente dégradation de la qualité écologique en 2012 est due à de plus fortes abondances de *Cassidulina oblonga*, *Cancris auriculus*, *Pseudoeponides falsobeccarii* et surtout *Valvulineria bradyana*. Le changement géographique de site en 2015 n'a pas eu d'influence sur la qualité écologique, car le type de substrat échantillonné était relativement similaire entre 2009 et 2015. Par contre, l'échantillonnage à une profondeur beaucoup plus élevée en 2012 sur un substrat plus vaseux est très probablement responsable du changement majeur dans la qualité écologique mesurée. Dans ce cas, la correction pour l'état trophique naturel semble avoir été insuffisante pour compenser ce changement majeur de localisation de l'échantillonnage (profondeur en particulier).

Tableau 5.15 : Quelques paramètres environnementaux et faunistiques à la station Menton. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » ; vert, « bon » et jaune, « moyen ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Menton															
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Bulimina aculeata</i>	<i>Cancris auriculus</i>	<i>Rectuvigerina phlegeri</i>	<i>Valvulineria bradyana</i>	<i>Ammoscalaria pseudopiralis</i>	<i>Eggerelloides scaber</i>	<i>Nouria cf. polymorphinoides</i>	<i>Recurvodes sp. 1</i>	<i>Textularia agglutinans</i>
2009	43° 45' 21"	7° 29' 41,4"	51	28,3	22,3	21,0	8,3	2,6	2,1	3,9	4,7	2,6	0,0	0,0	13,5
2012	43° 45' 17,95"	7° 29' 41,44"	53	58,2	10,2	1,7	1,1	0,3	0,8	4,9	2,7	3,7	12,1	3,3	0,3
					14,6	6,5	1,9	0,9	0,7	7,2	1,4	7,2	4,6	2,1	5,6
					20,0	12,5	2,3	3,9	3,6	4,5	1,0	6,2	4,1	7,3	5,0
2015	43° 45' 21,65"	7° 29' 38,84"	64	54,0	28,3	22,1	1,0	12,1	9,9	2,9	10,0	1,7	9,9	17,5	4,9
					32,0	26,1	0,4	9,4	16,0	3,5	7,8	1,4	15,2	10,5	4,8
					14,9	7,5	2,6	4,4	3,3	2,8	6,9	8,2	3,8	11,5	8,7

Tableau 5.16 : Quelques paramètres environnementaux et faunistiques à la station Cap Canaille. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » ; vert, « bon » et jaune, « moyen ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Cap Canaille																
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Cancris auriculus</i>	<i>Cassidulina oblonga</i>	<i>Pseudomonides falsobecarii</i>	<i>Valvulineria bradyana</i>	<i>Asterigerinata mamilla</i>	<i>Fissurina orbigniana</i>	<i>Melonis barleeanus</i>	<i>Reophax fusiformis</i>	<i>Reussella spinulosa</i>	<i>Rosalina bradyi</i>
2009	43° 11' 6,6"	5° 33' 11,4"	43	13,3	0,4	-0,4	0,4	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	7,5	3,2	0,0
2012	43° 10' 53,83"	5° 33' 14,41"	71	31,3	26,9	23,5	4,2	2,8	3,1	8,1	0,9	1,3	0,7	5,0	2,4	7,0
					24,9	21,4	5,4	1,9	2,7	4,8	1,9	2,1	12,9	0,8	3,8	3,8
					16,5	12,6	1,3	2,5	1,7	3,8	0,8	4,7	2,5	5,1	4,7	5,1
2015	43° 12' 1,44"	5° 31' 46,64"	49	20,9	13,4	10,8	6,4	0,5	2,7	0,5	10,7	3,2	4,8	3,7	10,2	7,0
				40,5	1,5	-4,7	1,0	0,0	0,0	0,0	28,7	20,3	2,0	0,0	1,5	11,9
			37	20,9	3,2	0,4	0,3	0,0	0,0	0,3	15,6	9,9	0,0	4,6	1,6	11,8

À la station **Faraman**, le sédiment est composé de sables très fins à moyens ; cette composition reste assez homogène entre les années (Tableau 5.17). Les faunes restent aussi relativement homogènes à l'exception du seul réplikat de 2012. Le score de TSI-Med plus élevé de ce réplikat, est largement dû au fort pourcentage de l'espèce tolérante *Nonion depressulum*, totalement absent en 2009 et 2015. Néanmoins, en tableau 5.17, on observe d'autres différences importantes, notamment pour *Hormosinella guttifera* (fort pourcentage en 2015, absent en 2009 et 2012) et les espèces épiphytes *Buccella granulata*, *Quinqueloculina aspera* (les deux très riches en 2009) et l'espèce *Quinqueloculina* cf. *laevigata* (uniquement présente en 2012). Au vu de ces résultats, il est évident que cette station a subi des changements de faunes importants, qui semblent indiquer une diminution de la qualité environnementale en 2012, suivi par un rétablissement en 2015. La proximité du Rhône a peut-être favorisé le déplacement des sédiments dans cette zone favorisant ces changements importants de communautés de foraminifères benthiques.

5.4.2.1. Hétérogénéité spatiale

Dans le chapitre précédent, nous avons vu qu'à certaines stations, des différences importantes entre les réplikats suggèrent une hétérogénéité spatiale importante. Dans de tels cas, l'étude des réplikats peut alors résulter en différents états écologiques. Cette hétérogénéité se place à deux échelles, locale entre les réplikats d'une même année et plus large entre des échantillonnages fait à des années différentes et à des localisations différentes. L'hétérogénéité spatiale entre les réplikats d'une même année concerne par exemple les stations Grau du Roi et Villefranche.

Pour la station **Grau du Roi**, on observe une certaine hétérogénéité spatiale en 2015 puisque les pourcentages d'espèces tolérantes sont assez variables, en particulier les abondances relatives de *Nonion depressulum* et *Nonion scaphum* (Tableau 5.18). Cela entraîne des valeurs de TSI-Med différentes entre les réplikats et trois EQS différents entre les trois réplikats : « très bon », « bon » et « moyen ». Il est ainsi compliqué d'attribuer une classe de qualité écologique. Il n'est pas possible de vérifier si l'hétérogénéité spatiale était aussi importante en 2012 puisqu'un seul réplikat a été analysé pour la fraction 125–500 µm.

Tableau 5.17 : Quelques paramètres environnementaux et faunistiques à la station Faraman. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » et vert, « bon ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Faraman														
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Nonion depressulum</i>	<i>Ammoscalaria</i> sp. 2	<i>Buccella granulata</i>	<i>Eggerelloides scaber</i>	<i>Hormosira guttifer</i>	<i>Quinqueloculina aspera</i>	<i>Quinqueloculina</i> cf. <i>laevigata</i>	
2009	43° 20' 0,06"	4° 43' 12,78"	10	6,2	0,0	-0,4	0,0	0,0	27,3	40,9	0,0	22,7	0,0	
2012	43° 19' 40,83"	4° 42' 47,13"	12	12,2	16,9	15,6	16,9	0,0	6,0	55,4	0,0	2,4	12,0	
2015	43° 19' 41,21"	4° 42' 44,72"	11	6,9	3,1	2,4	0,0	14,1	6,3	40,6	29,7	3,1	0,0	
					0,0	-0,7	0,0	12,5	8,3	56,3	14,6	8,3	0,0	
					0,0	-0,7	0,0	10,5	10,5	52,6	23,7	2,6	0,0	

Tableau 5.18 : Quelques paramètres environnementaux et faunistiques à la station Grau du Roi. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » et vert, « bon ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Grau du Roi															
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Bulimina aculeata</i>	<i>Nonion depressulum</i>	<i>Nonion scaphum</i>	<i>Nonionella turgida</i>	<i>Ammonia beccarii</i>	<i>Ammonia tepida</i>	<i>Eggerelloides scaber</i>	<i>Elphidium crispum</i>	<i>Elphidium granosum</i>
2009	43° 31' 33,6"	4° 3' 12"	15	67,9	7,2	-0,9	0,0	1,6	2,7	1,1	11,4	0,5	4,6	54,6	2,4
2012	43° 31' 2,49"	4° 3' 39,94"	15	86,0	13,8	1	2,6	2,5	3,4	2,0	26,7	2,5	8,5	28,5	4,8
2015	43° 30' 58,09"	4° 4' 8,88"	15	58,0	20,7	13,3	1,9	8,9	4,9	1,6	13,5	8,3	24,6	0,4	13,5
					12,3	4,0	3,0	2,4	3,4	1,3	14,0	7,3	30,2	0,0	9,5
					25,7	18,7	2,4	8,9	7,1	3,5	8,8	10,0	26,2	0,0	6,9

Dans certain cas, la forte hétérogénéité spatiale semble reliée à des différences bathymétriques entre les réplicats.

Par exemple, la station de **Villefranche** montre un moyen EQS « bon », mais la composition spécifique des trois réplicats est plutôt différente (Tableau 5.19). En 2015, un des réplicats avait un EQS « moyen » alors que les deux autres avaient des EQS « bon » et « très bon ». Ceci est dû à un fort pourcentage de deux espèces tolérantes, *Cancris auriculus* (19,5%) et *Rectuvigerina phlegeri* (14,2%), dans le premier réplikat. Cette hétérogénéité se retrouve également pour l'année 2012, mais cette fois-ci, elle est due à *Rectuvigerina phlegeri*, *Bulimina aculeata*, *Leptohalysis scotti*. Il existe donc apparemment une forte hétérogénéité spatiale à cette station. Le site d'échantillonnage dans la rade de Villefranche se situe sur un fond possédant une pente relativement importante. Dans la zone de la rade échantillonnée (légèrement au sud du Lazaret), la profondeur passe de 30 m à 65 m en l'espace de 300 m. Les réplicats sont éloignés de l'ordre de 150–300 m entre les années, et cela a suffi à induire un changement de profondeur important (Tableau 5.19). Dans des zones où la profondeur change rapidement en fonction de la position cela peut amener à échantillonner des substrats différents entre les réplicats successifs. Les faunes peuvent ainsi être très différentes entre les réplicats. Il semble que ce soit le cas pour la station de Villefranche. En 2015, l'un des réplicats présente une valeur de TSI-Med particulièrement élevée et un EQS « moyen ». Cette qualité peut résulter de la forte urbanisation de la côte (Holon *et al.*, 2015).

Tableau 5.19 : Quelques paramètres environnementaux et faunistiques à la station Villefranche. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » ; vert, « bon » et orange, « médiocre ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Villefranche														
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Bulimina aculeata</i>	<i>Cancris auriculus</i>	<i>Leptohalysis scotti</i>	<i>Rectuvigerina phlegeri</i>	<i>Recurvoides</i> sp. 1	<i>Rosalina bradyi</i>	<i>Eggerelloides scaber</i>	<i>Ammoscariopsis pseudopiralis</i>
2009	43° 41' 34,8"	7° 18' 39,6"	42	14,7	6,9	6,2	0,1	3,2	0,1	3,5	0,0	4,8	0,9	3,8
2012	43° 41' 27,14"	7° 18' 44,16"	52	66,3	13,6	4,1	7,0	0,4	0,9	1,3	3,1	14,5	3,1	6,1
					10,1	0,2	2,3	1,9	0,9	1,6	22,1	10,4	5,0	5,2
					23,3	14,8	0,2	2,2	9,9	8,7	3,5	9,4	10,6	4,0
2015	43° 41' 29,49"	7° 18' 50,27"	64	58,1	8,5	-0,2	0,9	0,4	0,3	0,6	58,3	2,3	1,2	9,8
					17,9	10,2	0,6	3,3	0,2	4,9	11,4	3,7	1,0	11,7
					44,9	39,7	0,3	19,5	2,1	14,2	7,1	2,2	0,5	8,5

De la même façon, des changements de la profondeur d'échantillonnage apparaissent avoir eu des conséquences plus ou moins importantes sur l'évaluation de la qualité écologique aux stations : Cap Canaille, Nice Ville, Fréjus, Antibes Nord (Appendice 5.C). Ces changements de profondeur entre les échantillonnages apparaissent essentiellement dans des zones où la pente du fond est importante. Des substrats très différents peuvent alors être échantillonnés entre deux années mais aussi entre les répliqués d'une même année. Les conditions sédimentaires et de faunes peuvent changer de façon considérable. En appendice 5.D, nous détaillons nos idées concernant les principaux facteurs responsables pour les changements les indices foraminifère remarquables et/ou les changements temporels de ces indices.

Dans les environnements présentant une forte hétérogénéité spatiale, il paraît indispensable qu'un prélèvement pour analyse granulométrique se fasse pour chaque répliqué individuellement. En effet, cela permettra d'avoir une correction pour le niveau trophique naturel (cf. courbe de référence) au plus proche de la réalité de l'échantillon. En effet, au vu de nos résultats, il semble judicieux de faire une analyse granulométrique individuelle pour chaque prélèvement faunistique.

D'autre part, on pourrait argumenter que le nombre de trois répliqués semble insuffisant et ne permet pas d'avoir une image suffisamment précise de l'état écologique des stations présentant une forte hétérogénéité spatiale. En effet, nous utilisons actuellement trois répliqués, tel qu'est recommandé par le groupe d'expert FOBIMO (Schönfeld *et al.*, 2012), ce qui nous a déjà permis de mettre en évidence l'importante hétérogénéité spatiale à certaines stations. Le nombre de répliqués considérés par l'étude de la macrofaune a longtemps été de cinq afin d'optimiser le rapport coût-efficacité (Longhurst, 1958; Lie, 1968; Ferraro *et al.*, 1989). Leur protocole est maintenant passé à neuf échantillons par station, avec trois sites par station et trois répliqués par site. Ce nombre paraît excessif compte-tenu du temps de traitement des échantillons. Néanmoins, il serait intéressant d'élargir l'étude des foraminifères à plus que trois répliqués pour les stations présentant une variabilité spatiale importante.

Il reste le problème du changement de statut écologique avec le changement de profondeur d'échantillonnage aux stations Cap Canaille, Villefranche, Nice Ville, Fréjus, Antibes Nord et Leucate. Si une station doit représenter l'état écologique de la masse d'eau entière, les indices biotiques ne doivent pas être dépendants de la profondeur d'échantillonnage dans toute la masse d'eau. Dans les milieux côtiers, la profondeur est un paramètre important de la distribution des communautés benthiques, entre autres car les changements de la granulométrie du sédiment varient partiellement en fonction de la profondeur. Cette modification des habitats influence la distribution des communautés de foraminifères benthiques en fonction de la profondeur (p. ex., Jorissen, 1987; Debenay and Redois, 1997; Milker *et al.*, 2009; Buosi *et al.*, 2012; Ferraro *et al.*, 2012; Avnaim-Katav *et al.*, 2015). Si les faunes de foraminifères sont modifiées par ces changements, les valeurs du TSI-Med doivent idéalement rester les mêmes et indiquer un même état écologique pour toute la masse d'eau. Le fait que ce n'est pas le cas dans notre étude montre que la

correction pour le niveau trophique naturel des sites, apportées par notre indice TSI-Med, ne soit pas suffisante.

Pour résumer, dans les sections précédentes nous avons vu qu'un changement des valeurs des TSI-Med ne sont pas toujours la conséquence d'un changement de la qualité environnementale, comme on pouvait l'espérer. Dans un nombre limité de cas, ces changements semblent dus à un changement de la localisation du site d'échantillonnage, plus particulièrement de la profondeur. Puisque dans un tel cas, la qualité environnementale ne devait pas changer, on pourrait espérer que la correction apportée au TSI-Med pour le statut trophique, corrigerait pour un tel changement de site. Le fait que ce n'est pas toujours le cas suggère que cette correction pourrait être insuffisante.

Un autre problème est rencontré aux sites avec une forte hétérogénéité spatiale, avec une mosaïque de plusieurs types d'habitats. Dans un tel cas, il est impératif que les échantillons destinés à la granulométrie soient pris dans la même boîte que les échantillons pour la faune, afin qu'une correction pour l'état trophique naturel puisse être faite. Il serait donc judicieux de systématiquement faire une analyse granulométrique pour chaque échantillon destiné à l'analyse de la faune. Il s'avère aussi que dans un tel cas, le nombre de trois réplicats est parfois insuffisant.

5.4.3. Efficacité de la correction pour l'état trophique du milieu dans l'indice TSI-Med

Le but de la correction appliquée en TSI-Med en fonction de la composition granulométrique du sédiment, était d'obtenir une mesure de la qualité écologique qui prend en compte d'éventuelles différences naturelles du niveau trophique, afin de mesurer la déviation par rapport à cet état naturel, et non pas l'état actuel de l'environnement seul. En effet, un milieu vaseux, naturellement riche en matière organique labile ne devait idéalement pas systématiquement avoir une valeur de TSI-Med plus élevée qu'un fond sableux très pauvre en matière organique.

Assez étonnamment, le TSI-Med et le taux de matière organique dans le sédiment ne sont pas corrélés (modèle linéaire, $r^2 = 0.002$, p -value = 0.28, figures 5.12 et 5.10). Cette faible corrélation s'illustre bien avec les stations du groupe 3 (particulièrement les stations Carry, Menton et Villefranche) qui montrent toutes un fort taux de matière organique, mais des valeurs modérées de TSI-Med (Figures 5.2b, 5.10 et 5.6a). En effet, la majorité de la matière organique présente à ces stations est constituée de macro-débris d'algues ou de posidonie (Cf. chapitre 2, granulométrie), qui ne sont pas indicatives d'une éventuelle eutrophisation du milieu. Ceci montre que la mesure du taux de carbone organique tout seul ne peut pas renseigner sur le statut trophique de l'environnement, en particulier en Méditerranée, en présence de large quantité de déchets de posidonies à certaines stations. Le TSI-Med est donc sensible aux perturbations liées à des apports en matière organique labile et non pas au taux élevé de matière organique d'une matière organique réfractaire.

Dans le tableau 5.3, sont présentés à la fois les moyennes réelles des pourcentages d'espèces tolérantes par groupe (groupes de stations 1 à 5 issus des analyses de cluster sur les faunes, figures 5.8 et 5.9) ainsi que les pourcentages d'espèces tolérantes prévues en fonction de la granulométrie, selon la courbe de référence du TSI-Med. Ce pourcentage prévu correspond au taux d'espèces tolérantes auquel on s'attend dans un milieu non impacté et se base sur la granulométrie du sédiment ($\%TS_{ref125}$, équation 5.5). La comparaison de ces deux pourcentages nous apporte le degré de correction appliqué pour chaque groupe. Il est normal d'observer des pourcentages d'espèces tolérantes attendus différent pour chaque groupe car chacun de ces groupes caractérise des habitats différents. En cas d'un environnement naturel, non impacté, le pourcentage d'espèces tolérantes observé devrait plus ou moins correspondre au pourcentage attendu. Ce n'est le cas que pour le groupe 2 où les pourcentages réels et attendus sont équivalents. Pour les groupes 1, 3, 4 et 5, le pourcentage attendu est toujours plus faible que le pourcentage réel, ce qui est normal puisque les stations avec les valeurs TSI-Med minimales ont été utilisées pour déterminer l'ampleur de la correction. Ces groupes sont donc composés d'un mélange de stations plus ou moins impactées.

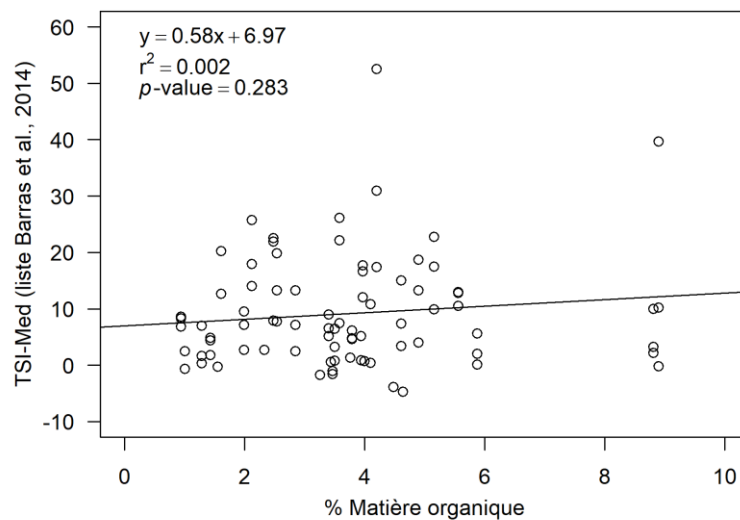


Figure 5.12 : TSI-Med en fonction du pourcentage de matière organique.

5.4.4. TSI-Med : comparaison avec le Foram-AMBI

L'AMBI est un indice biotique initialement développé pour la macrofaune benthique (Borja *et al.*, 2000). Il a récemment été adapté pour les faunes de foraminifères benthiques sous le nom de Foram-AMBI (Alve *et al.*, 2016; Jorissen *et al.*, 2018). Le Foram-AMBI est basé sur cinq groupes d'espèces indicatrices, EGI à EGV (sensible, indifférente, et trois groupes d'opportunistes de 3^e à 1^{er} ordre) (Jorissen *et al.*, 2018). Une liste d'assignation des espèces de foraminifères a été proposée par Jorissen *et al.* (2018), basée sur les faunes de Méditerranée. Pour ces assignations, Jorissen *et al.* (2018) ont réanalysé les bases de données de 15 études publiées, en considérant particulièrement les relations entre les abondances relatives de chaque espèce et les teneurs en carbone organique total à la station. Cette liste, qui a d'abord été développé pour l'indice Foram-AMBI, est donc

différente de la liste des espèces tolérantes considérées dans le TSI-Med, qui a été composée sur la base d'une revue générale de la littérature (Barras *et al.*, 2014). La méthode utilisée par le Foram-AMBI pour l'assignation des espèces aux différents groupes écologiques peut être jugée comme plus objective.

En figures 5.6 et 5.7, les résultats du TSI-Med sont comparés avec ceux de Foram-AMBI. La corrélation entre les deux indices est bonne mais il existe une certaine dispersion des points autour de la droite de régression. Notamment, aux faibles valeurs du TSI-Med correspondent des valeurs de Foram-AMBI plus variables (Figure 5.7). Dans l'ensemble, les valeurs de TSI-Med sont plus regroupées dans la partie basse de la gamme totale de l'indice, avec quelques valeurs très écartées de la moyenne, alors que les valeurs du Foram-AMBI sont plus réparties sur la gamme totale de valeurs. Ainsi, les valeurs du TSI font mieux ressortir les répliquats avec une mauvaise qualité par rapport au Foram-AMBI.

Pour la classification des stations dans les différentes classes d'EQS, on observe une différence assez importante entre les deux indices, avec des EQS en général plus mauvaises pour le TSI-Med (Figure 5.6). Cette différence est largement due au fait que les classes d'EQS ne sont pas définies adéquatement pour le Foram-AMBI. En effet, pour Foram-AMBI, nous utilisons les limites de classes déterminées pour la macrofaune, et ces limites doivent certainement être redéfinies pour les foraminifères. Hormis ce problème, la répartition des classes d'EQS est plutôt comparable entre les deux méthodes, à quelques nuances près. Dans le Golfe du Lion, les deux indices montrent un maximum de valeurs les plus élevées, ce qui correspond à une mauvaise qualité environnementale. Néanmoins, pour le Foram-AMBI, toutes les stations montrent des valeurs élevées, tandis que les résultats sont beaucoup plus nuancés pour TSI-Med. Les résultats pour les régions Est et Corse semblent plus similaires entre les deux indices.

5.4.4.1. Assignation d'espèces particulières

En général, les espèces des groupes écologiques EGI et EGIII sont dominantes dans les faunes (Figure 5.5b) et participent donc le plus aux valeurs du Foram-AMBI, même si des pourcentages relativement modestes des EGIV et EGV peuvent, à cause de leur plus forte contribution (Équation (4.4)), causer une augmentation notable de ces valeurs.

Le groupe EGI présente de plus forts pourcentages pour les stations de la région Est, expliquant ainsi les plus basses valeurs du Foram-AMBI dans cette région. Ce groupe comporte de nombreuses espèces.

Un second groupe, EGIII, représente une large part des espèces assignées pour le Foram-AMBI (Figure 5.5b). En principe, le pourcentage cumulé d'EGIII, EGIV et EGV devrait correspondre au groupe d'espèces tolérantes utilisé pour le TSI-Med. Cependant, on remarque une différence assez importante entre les deux, avec une proportion beaucoup plus faible pour le TSI-Med. Cette différence est largement due aux espèces attribuées au groupe EGIII, qui ne sont pas toutes considérées comme espèces tolérantes par Barras *et al.* (2014). C'est notamment le cas pour

Eggerelloides scaber et *Reophax fusiformis*. Les abondances relatives de ces deux espèces sont résumées en appendice 5.E pour chaque station. Ces deux espèces représentent un fort pourcentage de la faune lorsqu'elles sont présentes et leurs assignations (EGIII pour Foram-AMBI, ni sensibles, ni tolérantes pour TSI-Med) vont donc avoir une influence majeure sur les indices biotiques.

Dans ce contexte, l'espèce *Eggerelloides scaber* a les abondances relatives les plus importants. À cause de la très grande variabilité de ses proportions, avec une très forte dominance à certaines stations, cette espèce contribue largement à la valeur du Foram-AMBI, et donc à la mesure de la qualité écologique. *Eggerelloides scaber* est trouvée en grande quantité aux stations du Golfe du Lion, aux stations Antibes Nord et Sud, Nice ville et Bonifacio, pour toutes ces stations cette espèce représente de 4,6% à 62,2% de la faune ($35,4 \pm 16,7\%$) (Figure 5.4).

L'assignation finale d'*Eggerelloides scaber* au groupe des espèces opportuniste de 3^e ordre (EGIII) par Jorissen *et al.* (2018) se base sur huit études. Parmi ces études, celles de Mojtafid *et al.* (2009) et Goineau *et al.* (2011) dans le pro-delta du Rhône, ont permis de classer *Eggerelloides scaber* en EGIV et celle de Ernst (2005), en laboratoire à partir de sédiment prélevé au nord de la Mer Adriatique, en EGII-III. Quatre autres études ont permis de classer *Eggerelloides scaber* en EGII, Ferraro *et al.* (2012) entre les Golfes de Salerne et Policastro en Mer Tyrrhénienne, Donnici et Serandrei-Barbero (2002) face à l'embouchure du Po en Mer Adriatique et Hyams-Kaphzan *et al.* (2008) et Hyams-Kaphzan *et al.* (2009) sur la côte israélienne. Une dernière étude de Frontalini *et al.* (2011) face à trois embouchures de rivières en Mer Adriatique concluait à un classement en EGI. Ces études montrent qu'*Eggerelloides scaber* est largement présente dans des zones sous forte influence fluviale, notamment aux embouchures des fleuves Rhône et Po. Les études de Hyams-Kaphzan *et al.* (2008) et Hyams-Kaphzan *et al.* (2009) bien que sur les côtes israéliennes sont sous l'influence significative du Nil, auquel s'ajoute un rejet de station d'épuration dans le deuxième cas. Dans le cas d'assignation contradictoire entre les études traitées, comme c'est le cas ici, Jorissen *et al.* (2018) ont systématiquement privilégié les observations de comportement opportuniste, et ont donc classé cette espèce en EGIII.

Les études citées dans le paragraphe précédent ont également été intégrées dans la revue de littérature, parmi d'autres, faite par Barras *et al.* (2014) qui n'a pas intégré *Eggerelloides scaber* parmi les espèces tolérantes pour le TSI-Med. Les conclusions de Barras *et al.* (2014) se basent sur le fait qu'*Eggerelloides scaber* est présente dans une grande variété d'environnements, aussi bien non-impactés qu'impactés par la matière organique, oxygéné et sous-oxygénés, dans des sédiments vaseux et sableux. Ainsi, Barras *et al.* (2014) conclut que cette espèce ne montre pas systématiquement un comportement opportuniste et qu'inclure cette espèce, qui peut avoir de fortes abondances relatives, en tant qu'espèce tolérante aurait masqué la réponse d'espèces tolérantes plus indicatrices.

En effet, *Eggerelloides scaber* est abondamment présente dans des zones avec de forte proportion de matière organique réfractaire comme des vasières intertidales

(Martins *et al.*, 2015; Cesbron *et al.*, 2016) ou des environnements subtidaux sous forte influence estuarienne (Mendes *et al.*, 2004; Diz *et al.*, 2006; Diz and Francés, 2008; Goineau *et al.*, 2012). Cette espèce vit en surface comme en profondeur dans le sédiment (Hohenegger *et al.*, 1993; Cesbron *et al.*, 2016) ce qui peut favoriser son développement dans des types d'environnements très variables. *Eggerelloides scaber* se retrouve donc dans des zones peu profondes (10–30 m) à proximité des fleuves et sous l'influence de leurs apports en matière organique plus ou moins réfractaire.

Dans notre zone d'étude, les échantillons avec une proportion élevée d'*Eggerelloides scaber* sont peu profonds avec un taux de matière organique moyen et un sédiment composé de près d'un quart d'argile et silt (Tableau 5.20). On remarque également qu'*Eggerelloides scaber* peut être présente en forte quantité dans des sédiments à la fois riche et pauvre en particules fines, avec des abondances légèrement plus importantes pour les sédiments plus grossiers (Figure 5.13a). Dans notre zone d'étude, *Eggerelloides scaber* présente les plus fortes abondances (> 15%) pour les stations avec un taux de matière organique ne dépassant pas 2,5%, hormis une station (Bonifacio) avec un taux de matière organique à 8,8% (Figure 5.13b). Cependant, la matière organique de cette station est composée majoritairement de débris de posidonie. Les plus fortes abondances relatives (> 15%) de cette espèce se trouvent dans le Golfe du Lion, ce qui s'expliquerait par la proximité de nombreuses lagunes et fleuves se déversant dans le Golfe du Lion, avec notamment une influence majeure du Rhône. De fortes abondances relatives d'*Eggerelloides scaber* sont aussi présentes aux stations Antibes Sud et Nord et Nice Ville. Ces stations sont dans la zone où le plateau continental est le plus large entre Carry et Menton et pourraient subir l'influence du Var. En Corse, deux stations présentent des abondances relatives élevées d'*Eggerelloides scaber* : Aléria située sur la côte est de la Corse, qui se situe proche de l'embouchure du Tavignano, et la station Bonifacio qui se situe dans le Goulet de Bonifacio. Les fortes abondances observées ne semblent donc correspondre qu'à l'habitat naturel d'*Eggerelloides scaber* qui peut être caractérisé par une influence fluviale avec d'importantes quantités de matière organiques plus ou moins labile. Au vu de ces observations, il semble donc plus judicieux de conserver *Eggerelloides scaber* EGIII pour la liste du Foram-AMBI et de considérer de le placer dans le groupe des espèces tolérantes pour le TSI-Med.

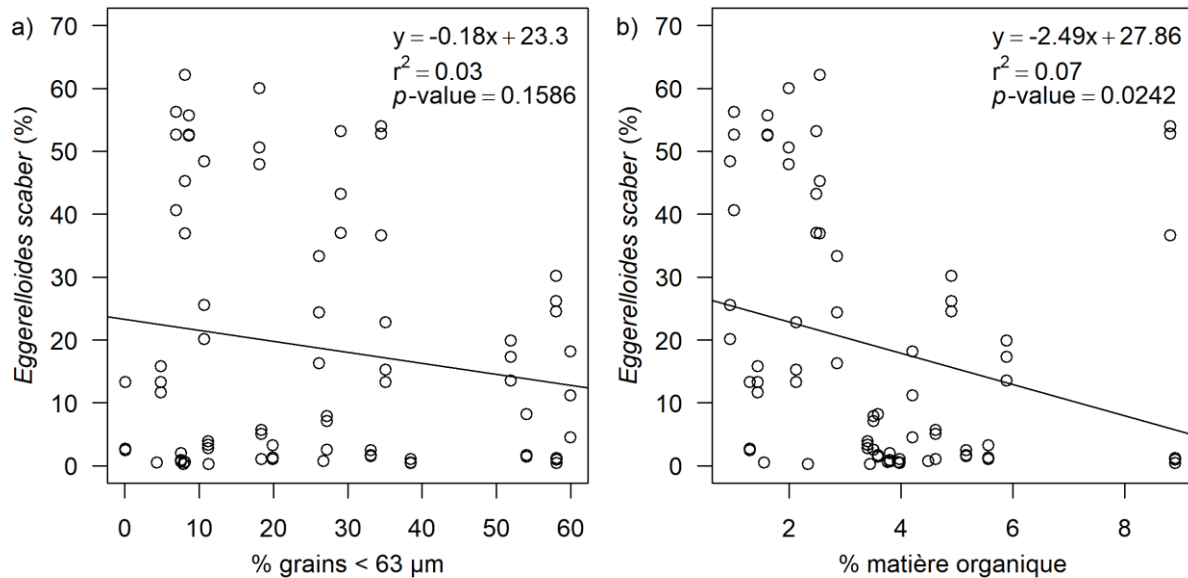


Figure 5.13 : Abondances relatives d'*Eggerelloides scaber* en fonction a) du pourcentage de grains < 63 μm et b) du pourcentage de matière organique. Seuls les répliquats où *Eggerelloides scaber* est présent sont pris en compte. La droite correspond à la droite de régression.

La même problématique se pose pour une autre espèce agglutinée, *Reophax fusiformis*. Cette espèce est aussi classifiée comme opportuniste de 3^e ordre par Jorissen *et al.* (2018), mais n'était pas classée comme tolérante par Barras *et al.* (2014). *Reophax fusiformis* représente aussi de fortes proportions dans de nombreuses stations : Marseille, Île Maire, Île Embiez, Toulon, Porquerolles, Pampelonne, Antibes Nord et Sud, Santa Giulia, Figari Bruzzi, Cargèse et Calvi (Figure 5.4). Dans ces stations, *Reophax fusiformis* varie entre 3,0% et 44,8%, soit en moyenne $19,6 \pm 9,2\%$. Les stations où *R. fusiformis* est majoritaire ne montrent en général qu'une faible abondance ou une absence d'*Eggerelloides scaber*.

L'assignation générale de *Reophax fusiformis* par Jorissen *et al.* (2018) comme espèces opportuniste de 3^e ordre (EGIII) est basé sur deux études de Basso et Spezzaferri (2000) et Goineau *et al.* (2011). L'étude de Basso et Spezzaferri (2000) dans la baie d'Iskendun en Turquie a permis à Jorissen *et al.* (2018) d'assigner *Reophax fusiformis* en tant qu'opportuniste sans pouvoir spécifier l'ordre (EGIII-IV-V). L'étude de Goineau *et al.* (2011) dans le pro-delta du Rhône a permis un assignement en indifférente (EGII). Les études de Donnici et Serandrei-Barbero (2002) face à l'embouchure du Po et Mojtahid *et al.* (2009) au niveau du pro-delta du Rhône ont aussi été prise en compte par Jorissen *et al.* (2018), mais de trop faibles abondances n'ont pas permis de les utiliser pour assigner *Reophax fusiformis*.

L'étude de Basso et Spezzaferri (2000) montre la distribution des foraminifères benthiques dans la baie d'Iskendun. Cette baie subit de nombreuses pollutions d'origines anthropiques. Cependant, *Reophax fusiformis* est surtout présent dans la partie profonde de la baie (≈ 50 m) où la matière organique s'accumule de manière importante (5,5–14,8%) et où le sédiment est plus fin (argile et silt), mais aussi plus

oxygéné. Dans cette étude les abondances absolues de cette espèce sont faibles (1–8 individus pour 5 g de sédiment sec). Il semble donc que l'évidence pour attribuer cette espèce à EGIII soit plutôt faible.

Reophax fusiformis est une espèce commune sur la pente et le plateau continental en Atlantique nord-est où elle remonte jusqu'à environ 50–60 m de profondeur en Manche (Murray, 1965, 1970), 54–138 m dans le loch d'Etive en Écosse (Murray *et al.*, 2003), et en Atlantique nord-ouest en général (Murray and Alve, 2011). L'espèce y supporte sur de longues périodes (2 ans) l'absence d'apport en matière organique fraîche (Alve, 2010). Sur la marge portugaise, *Reophax fusiformis* est présent dans les zones les plus oligotrophes en bordure de canyon sur la pente du plateau continental (Koho *et al.*, 2008) jusqu'à la plaine abyssale (Phipps *et al.*, 2012).

La même distribution de *Reophax fusiformis* est observée en Méditerranée, dans les assemblages morts entre 100 m et 600 m sur le plateau continental sur les côtes israéliennes (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2018). *Reophax fusiformis* est aussi présente dans les faunes vivantes à 25 m de profondeur entre des eaux saumâtres en surface et dysoxique au fond en Mer de Marmara (Chendeş *et al.*, 2004) et sur le plateau et milieu de pente, à 146–578 m en Mer Adriatique (de Stigter *et al.*, 1998).

Bien qu'on puisse douter qu'une espèce avec une répartition bathymétrique aussi vaste soit génétiquement homogène, il apparaît donc que *Reophax fusiformis* vit plutôt dans des zones oligotrophes à mésotrophes mais semble supporter des concentrations en matière organique plus importantes. Sa répartition bathymétrique est plus profonde qu'*Eggerelloides scaber*, ce qui explique qu'on ne retrouve presque pas les deux espèces ensemble dans notre zone d'étude. Dans notre zone d'étude, *Reophax fusiformis* est présente en plus grande abondance à une profondeur moyenne de 38 m, avec un sédiment moyennement chargé en matière organique et contenant moins de 20% de particules fines, notamment dans la région Est et Corse (Tableau 5.20). On retrouve également *Reophax fusiformis* en fortes abondances (> 15%) aux stations avec un sédiment contenant une proportion allant jusqu'à 50% de particules fines (Figure 5.14a). *Reophax fusiformis* est aussi présent en forte proportion (> 15%) aux stations ayant jusqu'à 5,9% de matière organique sans tendances générale (Figure 5.14b). Au vu de ces résultats, il semble qu'il y a peu d'arguments pour classifier *Reophax fusiformis* en tant qu'espèce indifférentes.

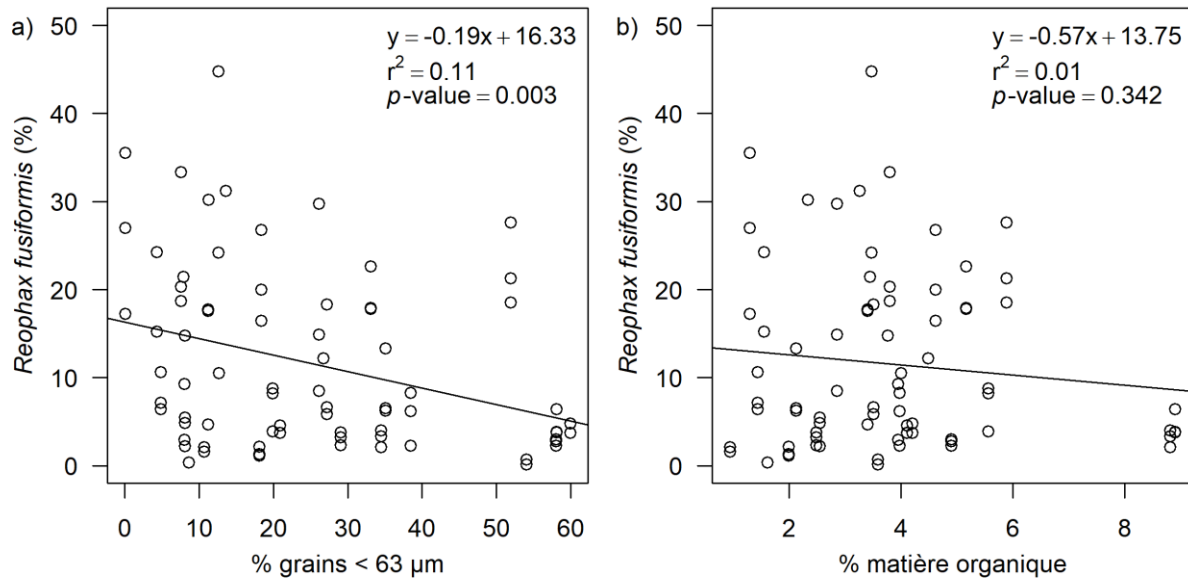


Figure 5.14 : Abondances relatives de *Reophax fusiformis* en fonction a) du pourcentage de grains < 63 μm et b) du pourcentage de matière organique. Seuls les répliquats où *Reophax fusiformis* est présent sont pris en compte. La droite correspond à la droite de régression.

En résumé, les espèces *Eggerelloides scaber* et *Reophax fusiformis* représentent une large part des faunes dans de nombreuses stations. Il est donc essentiel d'assigner ces espèces aux bons groupes écologiques. Nos conclusions sont qu'il semble préférable à l'heure actuelle de conserver ces deux espèces comme espèces opportunistes de 3^e ordre (EGIII) pour le Foram-AMBI et de les considérer dans les espèces tolérantes pour le TSI-Med.

Tableau 5.20 : Profondeur, % matière organique et % grains < 63 μm moyens (\pm écart-type) pour les stations où chacune des trois espèces *Eggerelloides scaber* et *Reophax fusiformis* sont les plus abondantes.

Espèce	Abondance relative	Nb. d'échantillon considéré (total = 84)	Profondeur (m)	% matière organique	% grains < 63 μm
<i>Eggerelloides scaber</i>	$\geq 20\%$	27	17 \pm 5	3,0 \pm 2,4	22,5 \pm 16,3
<i>Reophax fusiformis</i>	$\geq 15\%$	26	38 \pm 5	3,6 \pm 1,5	18,3 \pm 15,8

5.5. Conclusion

Les côtes méditerranéennes françaises ont été échantillonnées dans le but de mesurer la qualité écologique en utilisant les communautés de foraminifères benthiques. Nous avons appliqué l'indice biotique TSI-Med développé par Barras *et al.* (2014) sur ces côtes. Les résultats de la qualité écologique montrent un état bon ou très bon pour la majorité des stations. Seules 5 stations sur 28 semblent impactées et présentent une qualité écologique moyenne. Ces sites correspondent à une baie fortement anthropisée sous l'influence des rejets du Rhône (Fos), une autre baie fortement anthropisée sous l'influence de rejets de stations d'épuration

(Toulon Grande Rade et Menton), une zone l'influence de rejet de station d'épuration et probablement d'autre apport lié à l'industrie ou aux activités agricoles (Collioure) et une zone dont l'origine anthropique de la dégradation de la qualité semble difficile à établir (Beauduc), enfin, une zone de forte urbanisation et une forte hétérogénéité spatiale (Villefranche).

L'étude historique sur les trois années d'échantillonnage (2009, 2012 et 2015) a mis en évidence la difficulté de suivre la qualité entre deux études. Cette difficulté est surtout causée par la grande hétérogénéité spatiale qu'on trouve à beaucoup de sites. Un positionnement des sites d'échantillonnage rigoureusement identique au cours des années peut partiellement résoudre ce problème, mais pas entièrement. Dans des sites qui présentent une mosaïque de plusieurs types d'habitat, un nombre plus important de répliquats semble nécessaire pour correctement décrire la complexité du milieu.

La correction pour l'état trophique naturel appliqué au TSI-Med est importante, parce qu'elle devrait permettre de différencier entre une qualité environnementale médiocre naturelle, et une mauvaise qualité due à un impact anthropique. Cette correction, basée sur la granulométrie du sédiment donne des résultats encourageants, mais ne semble pas être suffisante pour corriger pour les différences entre répliquats avec une sédimentologie différente. Une mesure de la granulométrie pour chaque répliquats devrait diminuer l'hétérogénéité spatiale lors de l'échantillonnage d'un site.

Nous avons également comparé l'indice TSI-Med avec le Foram-AMBI, développé récemment pour la Méditerranée. En effet, cette dernière méthode est basée sur une liste d'espèces avec des assignations écologiques développée par Jorissen *et al.* (2018). La comparaison des deux indices montre des différences majeures. Une analyse plus poussée montre que ces différences sont largement dues aux espèces *Eggerelloides scaber* et *Reophax fusiformis*. Une réassignation éventuelle de ces deux espèces en EGII améliorerait nettement la comparabilité des indices TSI-Med et Foram-AMBI en se rapprochant plus de la réalité écologique. Cependant, les limites d'EQS restent à redéfinir pour le Foram-AMBI. Pour cela, plus de stations de mauvaise qualité sont nécessaires.

Références

- Alve, E., Leland, A., Magnusson, J., and Backer-Owe, K. 2009. Monitoring strategies for re-establishment of ecological reference conditions: Possibilities and limitations. *Marine Pollution Bulletin*, 59: 297–310.
- Alve, E. 2010. Benthic foraminiferal responses to absence of fresh phytodetritus: A two-year experiment. *Marine Micropaleontology*, 76: 67–75.
- Alve, E., Korsun, S., Schönfeld, J., Dijkstra, N., Golikova, E., Hess, S., Husum, K., et al. 2016. Foram-AMBI: A sensitivity index based on benthic foraminiferal faunas from North-East Atlantic and Arctic fjords, continental shelves and slopes. *Marine Micropaleontology*, 122: 1–12.
- Alve, E., Hess, S., Bouchet, V. M. P., Dolven, J. K., and Rygg, B. 2019. Intercalibration of benthic foraminiferal and macrofaunal biotic indices: An

- example from the Norwegian Skagerrak coast (NE North Sea). *Ecological Indicators*, 96: 107–115.
- Andromede Oceanologie, and RMC Agence de l'eau. 2019. DONIA EXPERT : Cartographie détaillée des habitats marins - Données consultées le 03/2019 sur la plateforme de surveillance MEDTRIX. www.medtrix.fr.
- Avnaim-Katav, S., Hyams-Kaphzan, O., Milker, Y., and Almogi-Labin, A. 2015. Bathymetric zonation of modern shelf benthic foraminifera in the Levantine Basin, eastern Mediterranean Sea. *Journal of Sea Research*, 99: 97–106.
- Barras, C., and Jorissen, F. J. 2011. Étude des faunes de foraminifères benthiques de la côte méditerranéenne française : mise en place d'un nouvel indice biotique dans le cadre de Directive Cadre Eau - Campagne DCE 2009. Laboratoire des Bio-Indicateurs Actuels et Fossiles (BIAF) Université d'Angers, Angers, France.
- Barras, C., Jorissen, F. J., Labrune, C., Andral, B., and Boissery, P. 2014. Live benthic foraminiferal faunas from the French Mediterranean Coast: Towards a new biotic index of environmental quality. *Ecological Indicators*, 36: 719–743.
- Barras, C., Jorissen, F. J., Parent, B., Bicchi, E., Charrieau, L., and Schmidt, S. 2015. Étude des faunes de foraminifères benthiques de la côte méditerranéenne française : mise en place d'un nouvel indice biotique dans le cadre de Directive Cadre Eau - Campagne DCE 2012. UMR CNRS 6112 LPG-BIAF, Université d'Angers, Angers, France.
- Basso, D., and Spezzaferri, S. 2000. The distribution of living (stained) benthic foraminifera in Iskenderum Bay (Eastern Turkey): a statistical approach. *Bulletino della Società Paleontologica Italiana*, 39: 359–379.
- Basso, D. 2012. Carbonate production by calcareous red algae and global change. *Geodiversitas*, 34: 13–33.
- Basso, D., Babbini, L., Kaleb, S., Bracchi, V. A., and Falace, A. 2016. Monitoring deep Mediterranean rhodolith beds: Monitoring deep Mediterranean rhodolith beds. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 26: 549–561.
- Borja, Á., Franco, J., and Pérez, V. 2000. A Marine Biotic Index to Establish the Ecological Quality of Soft-Bottom Benthos Within European Estuarine and Coastal Environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 1100–1114.
- Borja, A., Muxika, I., and Franco, J. 2003. The application of a Marine Biotic Index to different impact sources affecting soft-bottom benthic communities along European coasts. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 835–845.
- Bouchet, V. M. P., Alve, E., Rygg, B., and Telford, R. J. 2012. Benthic foraminifera provide a promising tool for ecological quality assessment of marine waters. *Ecological Indicators*, 23: 66–75.
- Bouchet, V. M. P., Goberville, E., and Frontalini, F. 2018. Benthic foraminifera to assess Ecological Quality Statuses in Italian transitional waters. *Ecological Indicators*, 84: 130–139.
- Bray, J. R., and Curtis, J. T. 1957. An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin. *Ecological Monographs*, 27: 325–349.

- Buosi, C., Armynot du Châtelet, E., and Cherchi, A. 2012. Benthic Foraminifera Assemblages in the Current-Dominated Strait of Bonifacio (Mediterranean Sea). *The Journal of Foraminiferal Research*, 42: 39–55.
- Cesbron, F., Geslin, E., Jorissen, F. J., Delgard, M. L., Charrieau, L., Deflandre, B., Jézéquel, D., et al. 2016. Vertical distribution and respiration rates of benthic foraminifera: Contribution to aerobic remineralization in intertidal mudflats covered by *Zostera noltei* meadows. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 179: 23–38.
- Chendeş, C., Kaminski, M. A., Filipescu, S., Aksu, A. E., and Yaşar, D. 2004. The response of Modern Benthic Foraminiferal assemblages to water-mass properties along the southern shelf of the Marmara Sea. *Acta Palaeontologica Romaniae*, 4: 69–80.
- Commission Européenne. 2000. Directive 2000/60/CE du Parlement Européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. *Journal officiel des Communautés européennes*: 1–72.
- de Stigter, H. C., Jorissen, F. J., and van der Zwaan, G. J. 1998. Bathymetric Distribution and Microhabitat Partitioning of Live (Rose Bengal Stained) Benthic Foraminifera Along a Shelf to Bathyal Transect in the Southern Adriatic Sea. *Journal of Foraminiferal Research*, 38: 40–65.
- Debenay, J.-P., and Redois, F. 1997. Distribution of the twenty seven dominant species of shelf benthic foraminifers on the continental shelf, north of Dakar (Senegal). *Marine Micropaleontology*, 29: 237–255.
- Dimiza, M. D., Triantaphyllou, M. V., Koukousioura, O., Hallock, P., Simboura, N., Karageorgis, A. P., and Papatheanasiou, E. 2016. The Foram Stress Index: A new tool for environmental assessment of soft-bottom environments using benthic foraminifera. A case study from the Saronikos Gulf, Greece, Eastern Mediterranean. *Ecological Indicators*, 60: 611–621.
- Diz, P., Francés, G., and Rosón, G. 2006. Effects of contrasting upwelling–downwelling on benthic foraminiferal distribution in the Ría de Vigo (NW Spain). *Journal of Marine Systems*, 60: 1–18.
- Diz, P., and Francés, G. 2008. Distribution of live benthic foraminifera in the Ría de Vigo (NW Spain). *Marine Micropaleontology*, 66: 165–191.
- Dolven, J. K., Alve, E., Rygg, B., and Magnusson, J. 2013. Defining past ecological status and in situ reference conditions using benthic foraminifera: A case study from the Oslofjord, Norway. *Ecological Indicators*, 29: 219–233.
- Donnici, S., and Serandrei-Barbero, R. 2002. The benthic foraminiferal communities of the northern Adriatic continental shelf. *Marine Micropaleontology*, 44: 92–123.
- Ernst, S. 2005. Experimental effects of an organic matter pulse and oxygen depletion on a benthic foraminiferal shelf community. *The Journal of Foraminiferal Research*, 35: 177–197.
- Ferraro, L., Alberico, I., Lirer, F., and Vallefucio, M. 2012. Distribution of benthic foraminifera from the southern Tyrrhenian continental shelf (South Italy). *Rendiconti Lincei*, 23: 103–119.

- Ferraro, S. P., Cole, F. A., DeBen, W. A., and Swartz, R. C. 1989. Power-Cost Efficiency of Eight Macrobenthic Sampling Schemes in Puget Sound, Washington, USA. *Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques*, 46: 2157–2165.
- Francescangeli, F., Armynot du Chatelet, E., Billon, G., Trentesaux, A., and Bouchet, V. M. P. 2016. Palaeo-ecological quality status based on foraminifera of Boulogne-sur-Mer harbour (Pas-de-Calais, Northeastern France) over the last 200 years. *Marine Environmental Research*, 117: 32–43.
- Frontalini, F., Semprucci, F., Coccioni, R., Balsamo, M., Bittoni, P., and Covazzi-Harriague, A. 2011. On the quantitative distribution and community structure of the meio and macrofaunal communities in the coastal area of the Central Adriatic Sea (Italy). *Environmental Monitoring and Assessment*, 180: 325–344.
- Goineau, A., Fontanier, C., Jorissen, F. J., Lansard, B., Buscail, R., Mouret, A., Kerhervé, P., et al. 2011. 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: 58–75.
- Goineau, A., Fontanier, C., Jorissen, F., Buscail, R., Kerhervé, P., Cathalot, C., Pruski, A. M., et al. 2012. Temporal variability of live (stained) benthic foraminiferal faunas in a river-dominated shelf – Faunal response to rapid changes of the river influence (Rhône prodelta, NW Mediterranean). *Biogeosciences*, 9: 1367–1388.
- Got, H., and Aloisi, J. C. 1990. The Holocene sedimentation on the Gulf of Lions margin: a quantitative approach. *Continental Shelf Research*, 10: 841–855.
- Hohenegger, J., Piller, W. E., and Baal, C. 1993. Horizontal and vertical spatial microdistribution of foraminifers in the shallow subtidal Gulf of Trieste, northern Adriatic Sea. *The Journal of Foraminiferal Research*, 23: 79–101.
- Holon, F., Mouquet, N., Boissery, P., Bouchoucha, M., Delaruelle, G., Tribot, A.-S., and Deter, J. 2015. Fine-Scale Cartography of Human Impacts along French Mediterranean Coasts: A Relevant Map for the Management of Marine Ecosystems. *PLOS ONE*, 10: e0135473.
- Hurlbert, S. H. 1971. The Nonconcept of Species Diversity: A Critique and Alternative Parameters. *Ecology*, 52: 577–586.
- Hyams-Kaphzan, O., Almogi-Labin, A., Sivan, D., and Benjamini, C. 2008. Benthic foraminifera assemblage change along the southeastern Mediterranean inner shelf due to fall-off of Nile-derived siliciclastics. *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie - Abhandlungen*, 248: 315–344.
- Hyams-Kaphzan, O., Almogi-Labin, A., Benjamini, C., and Herut, B. 2009. Natural oligotrophy vs. pollution-induced eutrophy on the SE Mediterranean shallow shelf (Israel): Environmental parameters and benthic foraminifera. *Marine Pollution Bulletin*, 58: 1888–1902.
- Hyams-Kaphzan, O., Lubinevsky, H., Crouvi, O., Harlavan, Y., Herut, B., Kanari, M., Tom, M., et al. 2018. Live and dead deep-sea benthic foraminiferal macrofauna of the Levantine basin (SE Mediterranean) and their ecological

- characteristics. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 136: 72–83.
- Jarvis, A., Reuter, H. I., Nelson, A., and Guevara, E. 2008. Hole-filled SRTM for the globe Version 4, available from the CGIAR-CSI SRTM 90m Database. <http://srtm.csi.cgiar.org>.
- Jorissen, F. J. 1987. The distribution of benthic foraminifera in the Adriatic Sea. *Marine Micropaleontology*, 12: 21–48.
- Jorissen, F. J., De Stigter, H., and Widmark, J. G. V. 1995. A conceptual model explaining benthic foraminiferal microhabitats. *Marine Micropaleontology*, 26: 3–15.
- Jorissen, F. J. 1999. Benthic foraminiferal microhabitats below the sediment-water interface. In *Modern Foraminifera*, pp. 161–179. Springer, Dordrecht, The Netherlands. https://doi.org/10.1007/0-306-48104-9_10.
- Jorissen, F. J., Nardelli, M. P., Almogi-Labin, A., Barras, C., Bergamin, L., Bicchi, E., El Kateb, A., et al. 2018. Developing Foram-AMBI for biomonitoring in the Mediterranean: Species assignments to ecological categories. *Marine Micropaleontology*, 140: 33–45.
- Koho, K. A., García, R., de Stigter, H. C., Epping, E., Koning, E., Kouwenhoven, T. J., and van der Zwaan, G. J. 2008. 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: 55–82.
- Labrune, C., Amouroux, J. M., Sarda, R., Dutrieux, E., Thorin, S., Rosenberg, R., and Grémare, A. 2006. Characterization of the ecological quality of the coastal Gulf of Lions (NW Mediterranean). A comparative approach based on three biotic indices. *Marine Pollution Bulletin*, 52: 34–47.
- Labrune, C., Grémare, A., Amouroux, J.-M., Sardá, R., Gil, J., and Taboada, S. 2008. Structure and diversity of shallow soft-bottom benthic macrofauna in the Gulf of Lions (NW Mediterranean). *Helgoland Marine Research*, 62: 201–214.
- Lie, U. 1968. A Quantitative Study in Puget Sound, Washington, USA, IN 1963–1964. *Fiskeridirektoratets skrifter*, 14: 229–556.
- Longhurst, A. R. 1958. The Sampling Problem in Benthic Ecology. *Proceedings of the New Zealand Ecological Society*: 8–12.
- Marine Information Service. 2016. EMODnet Digital Bathymetry (DTM). <http://portal.emodnet-bathymetry.eu/>.
- Martins, M. V. A., Silva, F., Laut, L. L. M., Frontalini, F., Clemente, I. M. M. M., Miranda, P., Figueira, R., et al. 2015. Response of Benthic Foraminifera to Organic Matter Quantity and Quality and Bioavailable Concentrations of Metals in Aveiro Lagoon (Portugal). *PLOS ONE*, 10: e0118077.
- Mendes, I., Gonzalez, R., Dias, J. M. A., Lobo, F., and Martins, V. 2004. Factors influencing recent benthic foraminifera distribution on the Guadiana shelf (Southwestern Iberia). *Marine Micropaleontology*, 51: 171–192.
- Micheli, F., Halpern, B. S., Walbridge, S., Ciriaco, S., Ferretti, F., Fraschetti, S., Lewison, R., et al. 2013. Cumulative Human Impacts on Mediterranean and

- Black Sea Marine Ecosystems: Assessing Current Pressures and Opportunities. *PLoS ONE*, 8: e79889.
- Milker, Y., Schmiedl, G., Betzler, C., Römer, M., Jaramillo-Vogel, D., and Siccha, M. 2009. Distribution of recent benthic foraminifera in shelf carbonate environments of the Western Mediterranean Sea. *Marine Micropaleontology*, 73: 207–225.
- Mojtahid, M., Jorissen, F. J., Lansard, B., Fontanier, C., Bombled, B., and Rabouille, C. 2009. Spatial distribution of live benthic foraminifera in the Rhône prodelta: Faunal response to a continental–marine organic matter gradient. *Marine Micropaleontology*, 70: 177–200.
- Murray, J. W. 1965. On the Foraminiferida of the Plymouth region. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 45: 481.
- Murray, J. W. 1970. Foraminifers of the Western Approaches to the English Channel. *Micropaleontology*, 16: 471.
- Murray, J. W., Alve, E., and Cundy, A. 2003. The origin of modern agglutinated foraminiferal assemblages: evidence from a stratified fjord. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 58: 677–697.
- Murray, J. W., and Alve, E. 2011. The distribution of agglutinated foraminifera in NW European seas: Baseline data for the interpretation of fossil assemblages. *Palaeontologia Electronica*, 14: 41.
- Nilsson, H. C., and Rosenberg, R. 2000. Succession in marine benthic habitats and fauna in response to oxygen deficiency: analysed by sediment profile-imaging and by grab samples. *Marine Ecology Progress Series*, 197: 139–149.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlenn, D., Minchin, P. R., et al. 2017. *vegan: Community Ecology Package*. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Parent, B., Barras, C., and Jorissen, F. 2018. An optimised method to concentrate living (Rose Bengal-stained) benthic foraminifera from sandy sediments by high density liquids. *Marine Micropaleontology*, 144: 1–13.
- Pearson, T. H., and Rosenberg, R. 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and Marine Biology - An Annual Review*, 16: 229–311.
- Phipps, M., Jorissen, F., Pusceddu, A., Bianchelli, S., and De Stigter, H. 2012. Live Benthic Foraminiferal Faunas Along a Bathymetrical Transect (282–4987 m) on the Portuguese Margin (NE Atlantic). *The Journal of Foraminiferal Research*, 42: 66–81.
- Pielou, E. C. 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. *Journal of theoretical biology*, 13: 131–144.
- Puente, A., and Diaz, R. J. 2015. Response of benthos to ocean outfall discharges: does a general pattern exist? *Marine Pollution Bulletin*, 101: 174–181.
- R Core Team. 2017. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.

- Rosenberg, R. 2001. Marine benthic faunal successional stages and related sedimentary activity. *Scientia Marina*, 65: 107–119.
- Roussiez, V., Aloisi, J.-C., Monaco, A., and Ludwig, W. 2005. Early muddy deposits along the Gulf of Lions shoreline: A key for a better understanding of land-to-sea transfer of sediments and associated pollutant fluxes. *Marine Geology*, 222–223: 345–358.
- Schönfeld, J., Alve, E., Geslin, E., Jorissen, F., Korsun, S., and Spezzaferri, S. 2012. The FOBIMO (FORaminiferal BIO-MONitoring) initiative—Towards a standardised protocol for soft-bottom benthic foraminiferal monitoring studies. *Marine Micropaleontology*, 94–95: 1–13.
- Shannon, C. E. 1948. A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal*, 27: 379–423.
- Ward, J. H. 1963. Hierarchical Grouping to Optimize an Objective Function. *Journal of the American Statistical Association*, 58: 236.

Appendices

Appendice 5.A : Paramètres environnementaux principaux pour chaque station.

Région	Station	Profondeur (m)	% matière organique	% particules calciques	% particules < 63 µm
Corse	Aléria	40,0	1,4	16,2	4,8
Corse	Bonifacio	17,4	8,8	65,2	34,4
Corse	Calvi	43,9	3,4	64,6	11,2
Corse	Cargèse	38,6	1,3	21,3	0,0
Corse	Figari Bruzzi	42,0	3,9	89,2	8,0
Corse	Santa Giulia	38,2	1,8	22,3	6,6
Est	Antibes Nord	30,0	2,9	39,2	26,1
Est	Antibes Sud	30,0	5,9	44,3	46,5
Est	Fréjus	52,6	5,6	57,5	19,9
Est	Île Embiez	35,0	3,5	39,0	27,1
Est	Île Maire	44,0	3,8	73,3	7,6
Est	Marseille Grande Rade	37,0	4,6	85,1	18,3
Est	Menton	64,0	3,6	33,0	54,0
Est	Nice Ville	12,7	0,9	39,7	10,7
Est	Pampelonne	37,0	4,0	89,7	15,8
Est	Porquerolles	44,0	3,4	77,1	12,9
Est	Toulon Grande Rade	38,9	5,2	56,8	33,1
Est	Villefranche	64,0	8,9	52,4	58,1
Golfe du Lion	Agde Ouest	18,8	2,5	35,0	8,1
Golfe du Lion	Beauduc	14,5	2,1	30,9	35,1
Golfe du Lion	Cap Canaille	45,0	4,3	79,3	27,4
Golfe du Lion	Carry	55,0	4,0	56,5	38,5
Golfe du Lion	Collioure	22,0	2,5	6,3	29,0
Golfe du Lion	Faraman	11,0	1,0	31,4	6,9
Golfe du Lion	Fos	20,0	4,2	34,4	59,9
Golfe du Lion	Grau du Roi	14,5	4,9	29,4	58,0
Golfe du Lion	Gruissan	20,0	2,0	31,1	18,1
Golfe du Lion	Leucate	16,0	1,6	7,1	8,6

Appendice 5.B : Paramètres faunistiques des stations échantillonnées en 2015

Région	Station	Réplicat	Nb. d'individus (standardisé pour 50 cm ³)	Nb. d'espèces	Indice de Shannon (H')	Équitabilité de Pielou (J')	ES ₁₀₀ (ND, Non Défini)	% d'espèce hyaline	% d'espèce porcelanée	% d'espèce agglutinée	% d'espèce sensible	% d'espèce tolérante	% EGI	% EGII	% EGIII	% EGIV	% EGV	TSI-Med	Foram-AMBI
Golfe du Lion	Collioure	a	952	70	2,47	0,58	24	20,9	14,3	64,8	15,9	25,7	13,7	6,8	58,6	2,5	18,4	22,54	3,08
Golfe du Lion	Collioure	b	1824	80	2,57	0,59	24	18,9	15,5	65,6	17,0	25,1	17,3	9,4	52,0	1,9	19,3	21,91	2,95
Golfe du Lion	Collioure	c	1145	72	2,23	0,52	23	19,2	10,6	70,2	11,4	11,7	12,1	7,6	69,4	2,9	8,0	7,90	2,81
Golfe du Lion	Leucate	a	332	31	1,92	0,56	18	12,2	15,9	71,9	20,0	21,0	16,6	3,0	61,3	0,0	19,2	20,24	3,03
Golfe du Lion	Leucate	b	335	28	1,77	0,53	17	11,9	18,6	69,5	24,9	13,5	22,1	3,4	61,5	0,3	12,6	12,68	2,67
Golfe du Lion	Leucate	c	224	35	2,15	0,60	24	18,1	15,4	66,5	21,5	13,5	20,4	2,9	68,9	1,0	6,8	12,61	2,56
Golfe du Lion	Gruissan	a	473	38	2,22	0,61	20	17,8	12,5	69,6	18,1	9,4	15,7	15,7	63,8	0,5	4,3	7,13	2,43
Golfe du Lion	Gruissan	b	355	26	1,74	0,54	16	11,6	13,6	74,8	17,8	5,0	16,9	11,3	68,1	0,8	2,8	2,66	2,42
Golfe du Lion	Gruissan	c	510	35	2,06	0,58	18	16,6	19,6	63,8	23,5	11,7	22,7	8,9	59,9	1,7	6,8	9,47	2,42
Golfe du Lion	Agde Ouest	a	474	45	2,43	0,64	24	20,4	13,8	65,9	19,5	14,0	19,5	10,5	65,7	0,2	4,1	13,23	2,39
Golfe du Lion	Agde Ouest	b	460	45	2,72	0,72	27	27,6	15,3	57,1	20,9	20,5	20,0	13,3	58,6	0,9	7,3	19,84	2,43
Golfe du Lion	Agde Ouest	c	217	34	1,87	0,53	23	14,4	10,8	74,8	15,3	8,6	14,6	7,3	75,2	0,5	2,4	7,74	2,53
Golfe du Lion	Grau du Roi	a	786	51	2,67	0,68	23	63,7	3,5	32,8	21,2	20,7	3,5	27,9	52,4	14,5	1,7	13,26	2,74
Golfe du Lion	Grau du Roi	b	432	43	2,66	0,71	24	54,5	5,6	39,9	22,8	12,3	10,2	21,7	55,2	11,5	1,4	4,02	2,58
Golfe du Lion	Grau du Roi	c	798	46	2,76	0,72	23	58,8	6,0	35,1	18,0	25,7	8,2	22,3	47,2	18,4	3,8	18,69	2,81
Golfe du Lion	Beauduc	a	200	37	3,11	0,86	29	57,4	4,9	37,7	23,5	29,5	14,0	31,1	42,1	9,8	3,0	25,75	2,35
Golfe du Lion	Beauduc	b	311	39	3,15	0,86	29	36,8	7,0	56,1	14,4	22,1	9,9	17,6	56,7	11,6	4,3	17,95	2,74
Golfe du Lion	Beauduc	c	282	45	3,09	0,81	30	37,1	3,7	59,2	15,4	18,4	12,5	15,9	59,1	8,7	3,8	14,03	2,63
Golfe du Lion	Faraman	a	84	8	1,52	0,73	ND	12,5	3,1	84,4	9,4	3,1	17,1	0,0	74,3	8,6	0,0	2,44	2,61
Golfe du Lion	Faraman	b	51	5	1,28	0,79	ND	8,3	8,3	83,3	16,7	0,0	22,9	0,0	77,1	0,0	0,0	-0,71	2,31
Golfe du Lion	Faraman	c	48	5	1,25	0,78	ND	10,5	2,6	86,8	13,2	0,0	20,0	0,0	80,0	0,0	0,0	-0,71	2,40
Golfe du Lion	Fos	a	1906	51	2,54	0,65	22	65,7	1,4	32,8	4,0	56,7	4,0	5,5	67,4	20,4	2,7	52,52	3,19
Golfe du Lion	Fos	b	572	49	3,07	0,79	27	42,2	2,3	55,4	8,9	24,8	9,8	11,5	59,7	15,7	3,2	17,42	2,86
Golfe du Lion	Fos	c	1037	45	2,96	0,78	24	51,3	1,8	47,0	9,1	37,1	8,2	8,3	59,6	19,7	4,2	30,96	3,05

Région	Station	Réplikat	Nb. d'individus (standardisé pour 50 cm ³)	Nb. d'espèces	Indice de Shannon (H')	Équitabilité de Pielou (J')	ES ₁₀₀ (ND, Non Défini)	% d'espèce hyaline	% d'espèce porcelanée	% d'espèce agglutinée	% d'espèce sensible	% d'espèce tolérante	% EGI	% EGII	% EGIII	% EGIV	% EGV	TSI- Med	Foram- AMBI
Est	Carry	a	881	85	3,71	0,83	39	49,6	4,7	45,7	25,3	22,3	31,8	28,2	24,3	14,3	1,4	17,70	1,88
Est	Carry	b	1442	111	3,74	0,79	39	40,6	4,3	55,0	16,4	21,3	16,6	40,5	33,0	8,6	1,2	16,62	2,06
Est	Carry	c	750	89	3,84	0,86	42	47,1	4,5	48,4	27,1	17,0	33,7	26,0	27,7	10,5	2,1	12,04	1,82
Est	Marseille Grande Rade	a	438	60	3,34	0,82	33	37,1	6,3	56,6	22,9	17,1	26,4	15,0	52,8	5,1	0,8	15,04	2,08
Est	Marseille Grande Rade	b	268	60	3,48	0,85	39	49,5	6,8	43,7	40,9	9,7	47,1	10,5	41,0	1,4	0,0	7,39	1,45
Est	Marseille Grande Rade	c	182	45	3,12	0,82	33	30,4	13,8	55,8	32,6	5,8	43,0	6,5	48,6	1,9	0,0	3,41	1,64
Est	Île Maire	a	308	50	2,94	0,75	31	31,7	9,8	58,5	31,7	6,9	31,1	18,2	50,2	0,5	0,0	6,15	1,80
Est	Île Maire	b	292	50	3,29	0,84	33	52,8	6,9	40,3	45,8	5,6	54,3	6,7	38,4	0,6	0,0	4,78	1,28
Est	Île Maire	c	513	68	3,45	0,82	35	44,2	5,8	50,0	40,0	5,4	48,8	10,8	39,7	0,7	0,0	4,60	1,38
Est	Cap Canaille	a	221	45	3,33	0,88	33	73,3	3,7	23,0	49,7	13,4	62,1	15,2	21,2	0,8	0,8	10,81	0,94
Est	Cap Canaille	b	277	32	2,41	0,69	19	89,1	1,5	9,4	58,4	1,5	94,0	2,2	3,7	0,0	0,0	-4,70	0,15
Est	Cap Canaille	c	444	58	3,21	0,79	30	71,5	10,2	18,3	57,8	3,2	74,3	10,4	14,3	0,4	0,7	0,37	0,64
Est	Île Embiez	a	174	37	3,10	0,86	30	51,6	7,2	41,2	52,3	4,6	67,3	11,8	19,1	0,0	1,8	0,77	0,86
Est	Île Embiez	b	485	67	3,34	0,79	34	36,6	16,7	46,7	38,9	10,1	41,1	15,5	38,5	0,0	4,9	6,48	1,68
Est	Île Embiez	c	382	55	3,40	0,85	33	41,2	9,4	49,4	36,4	7,0	47,3	21,2	30,2	0,0	1,4	3,26	1,30
Est	Toulon Grande Rade	a	970	66	3,31	0,79	33	42,7	6,1	51,2	19,8	26,4	22,6	23,5	46,8	1,5	5,6	22,73	2,16
Est	Toulon Grande Rade	b	1155	66	3,36	0,80	34	43,8	6,0	50,2	22,1	21,3	24,1	19,8	51,3	2,2	2,7	17,43	2,09
Est	Toulon Grande Rade	c	545	64	3,35	0,81	36	35,1	8,5	56,5	21,9	14,2	21,7	17,4	55,9	0,7	4,3	9,90	2,23
Est	Porquerolles	a	342	39	2,75	0,75	26	43,8	11,4	44,9	47,4	0,0	46,5	4,1	49,4	0,0	0,0	-1,77	1,54
Est	Porquerolles	b	220	36	2,66	0,74	26	51,2	9,3	39,5	53,6	0,0	58,7	9,0	32,3	0,0	0,0	-1,61	1,10
Est	Porquerolles	c	178	37	2,42	0,67	27	34,3	7,0	58,7	29,1	0,6	35,4	6,8	57,8	0,0	0,0	-1,02	1,84
Est	Pampelonne	a	398	76	3,37	0,78	36	51,2	16,3	32,5	55,9	1,4	61,8	3,8	32,6	1,7	0,0	0,52	1,11
Est	Pampelonne	b	572	84	3,67	0,83	39	49,3	16,2	34,5	56,6	2,3	60,6	7,1	31,4	0,6	0,3	0,73	1,09
Est	Pampelonne	c	135	50	3,32	0,85	42	60,3	16,0	23,7	55,7	0,0	64,6	5,1	30,3	0,0	0,0	-3,91	0,98
Est	Fréjus	a	587	57	3,54	0,87	36	44,7	9,7	45,6	34,3	15,1	49,6	10,9	32,5	2,6	4,4	12,76	1,52

Région	Station	Réplikat	Nb. d'individus (standardisé pour 50 cm ³)	Nb. d'espèces	Indice de Shannon (H')	Équitabilité de Pielou (J')	ES ₁₀₀ (ND, Non Défini)	% d'espèce hyaline	% d'espèce porcelanée	% d'espèce agglutinée	% d'espèce sensible	% d'espèce tolérante	% EGI	% EGII	% EGIII	% EGIV	% EGV	TSI-Med	Foram-AMBI
Est	Fréjus	b	813	75	3,51	0,81	35	52,0	12,4	35,6	36,5	15,3	54,5	15,4	28,7	0,8	0,6	12,91	1,16
Est	Fréjus	c	199	49	3,33	0,85	36	66,9	5,1	28,1	51,1	12,9	69,9	11,4	16,3	0,8	1,6	10,50	0,79
Est	Antibes Sud	a	1005	79	3,03	0,69	30	29,4	8,7	61,9	26,7	9,5	23,8	10,0	63,9	0,4	1,9	2,02	2,20
Est	Antibes Sud	b	1277	74	3,06	0,71	30	22,1	11,5	66,3	22,7	7,8	19,3	12,9	66,0	0,3	1,6	0,10	2,28
Est	Antibes Sud	c	1554	80	3,09	0,70	29	24,6	12,9	62,6	22,6	12,9	16,8	10,1	71,1	0,0	2,0	5,62	2,40
Est	Antibes Nord	a	485	37	2,64	0,73	23	12,3	20,7	67,0	22,6	6,0	13,6	7,6	75,7	0,0	3,1	2,46	2,57
Est	Antibes Nord	b	1070	44	2,43	0,64	19	13,5	9,0	77,5	9,7	10,6	11,8	6,8	77,6	1,2	2,6	7,14	2,64
Est	Antibes Nord	c	208	30	2,65	0,78	23	6,5	16,9	76,6	18,4	16,4	13,5	2,5	65,6	1,2	17,2	13,23	3,09
Est	Nice Ville	a	93	19	2,39	0,81	ND	20,7	32,9	46,3	43,9	9,8	40,4	10,5	38,6	0,0	10,5	8,58	1,95
Est	Nice Ville	b	136	29	2,77	0,82	25	22,6	47,6	29,8	54,0	8,1	46,9	8,6	37,0	4,9	2,5	6,86	1,61
Est	Nice Ville	c	90	20	2,00	0,67	ND	17,9	21,1	61,1	30,5	9,5	28,0	4,9	61,0	0,0	6,1	8,29	2,27
Est	Villefranche	a	1036	63	2,05	0,50	23	17,2	3,1	79,7	7,8	8,5	26,8	15,2	46,0	10,9	1,1	-0,18	2,16
Est	Villefranche	b	1716	84	3,41	0,77	32	36,9	2,9	60,2	13,3	17,9	22,8	20,2	45,7	10,7	0,7	10,19	2,20
Est	Villefranche	c	2104	75	3,04	0,70	28	56,7	4,5	38,9	11,6	44,9	18,5	10,7	52,7	11,7	6,4	39,69	2,65
Est	Menton	a	2022	85	2,98	0,67	25	39,0	4,8	56,1	13,9	28,3	19,3	23,0	46,4	7,1	4,2	22,10	2,31
Est	Menton	b	946	57	2,96	0,73	25	44,6	3,8	51,7	14,0	32,0	19,5	20,4	51,7	7,2	1,1	26,13	2,25
Est	Menton	c	438	46	3,24	0,85	28	39,5	8,7	51,8	31,8	14,9	42,8	11,1	41,6	4,5	0,0	7,47	1,62
Corse	Aléria	a	200	48	3,31	0,86	36	32,3	19,8	47,8	43,5	5,2	46,4	10,2	40,4	0,0	3,0	4,81	1,55
Corse	Aléria	b	111	34	3,18	0,90	33	34,0	27,7	38,3	51,1	2,1	55,1	7,2	37,7	0,0	0,0	1,75	1,24
Corse	Aléria	c	130	45	3,40	0,89	40	36,5	20,6	42,9	46,0	4,8	47,0	4,0	49,0	0,0	0,0	4,40	1,53
Corse	Santa Giulia	a	135	37	2,85	0,79	32	9,0	33,3	57,6	37,3	0,0	28,1	28,1	43,7	0,0	0,0	-0,31	1,73
Corse	Santa Giulia	b	105	18	2,30	0,80	18	4,3	30,4	65,2	29,3	0,0	20,3	44,6	35,1	0,0	0,0	-0,31	1,72
Corse	Santa Giulia	c	371	47	2,67	0,69	25	13,1	27,3	59,6	32,3	4,1	18,2	24,8	56,3	0,0	0,7	2,73	2,10
Corse	Bonifacio	a	97	20	2,33	0,78	ND	30,0	20,0	50,0	37,8	14,4	35,4	1,2	58,5	0,0	4,9	9,98	2,07
Corse	Bonifacio	b	154	22	1,89	0,61	18	21,1	21,1	57,7	35,9	7,0	32,8	0,7	65,0	0,0	1,5	2,19	2,05

Région	Station	Réplikat	Nb. d'individus (standardisé pour 50 cm ³)	Nb. d'espèces	Indice de Shannon (H')	Équitabilité de Pielou (J')	ES ₁₀₀ (ND, Non Défini)	% d'espèce hyaline	% d'espèce porcelanée	% d'espèce agglutinée	% d'espèce sensible	% d'espèce tolérante	% EGI	% EGII	% EGIII	% EGIV	% EGV	TSI- Med	Foram- AMBI
Corse	Bonifacio	c	205	27	2,07	0,63	20	27,3	8,0	64,7	25,3	8,0	24,3	2,2	73,5	0,0	0,0	3,20	2,24
Corse	Figari Bruzzi	a	223	48	3,30	0,85	35	54,5	16,8	28,7	52,0	5,9	48,6	10,4	33,3	7,6	0,0	5,11	1,50
Corse	Figari Bruzzi	b	262	46	3,20	0,84	34	44,8	20,9	34,3	45,3	1,7	40,9	17,4	34,8	7,0	0,0	0,87	1,62
Corse	Figari Bruzzi	c	445	50	3,23	0,83	31	57,7	15,7	26,5	51,2	2,2	59,9	13,1	27,0	0,0	0,0	1,29	1,01
Corse	Cargèse	a	53	20	2,43	0,81	ND	26,7	17,8	55,6	24,4	6,7	28,6	8,6	62,9	0,0	0,0	7,00	2,01
Corse	Cargèse	b	57	17	2,51	0,89	ND	35,1	29,7	35,1	62,2	0,0	53,8	3,8	42,3	0,0	0,0	0,36	1,33
Corse	Cargèse	c	78	31	3,14	0,92	ND	43,2	25,9	30,9	54,3	1,2	49,2	5,1	45,8	0,0	0,0	1,59	1,45
Corse	Calvi	a	121	44	3,31	0,87	41	34,3	33,3	32,4	51,9	6,5	53,8	6,3	36,3	0,0	3,8	5,18	1,41
Corse	Calvi	b	119	34	3,13	0,89	32	26,7	41,1	32,2	54,4	7,8	50,0	12,1	33,3	0,0	4,5	6,49	1,45
Corse	Calvi	c	89	43	3,37	0,90	ND	38,6	34,6	26,8	66,1	10,2	64,1	7,8	19,4	0,0	8,7	8,99	1,22

Appendice 5.C : Informations complémentaires sur l'évolution de la qualité écologique de certaines stations.

À la station **Aléria**, on observe le plus grand déplacement géographique de site d'échantillonnage (Tableau 5.21). Le site de 2009 et 2012 est situé à 8 km au nord de celui de 2015. Cependant le sédiment est très similaire entre les années et se compose essentiellement de sables fins. La profondeur d'eau n'a pas changé entre les échantillonnages. Des changements de la faune sont à observer, notamment l'apparition d'*Ammoscalaria pseudospiralis* et la présence d'*Eggerelloides scaber* en plus grande proportion en 2015. Certaines espèces épiphytes sont moins présentes en 2015 telles qu'*Asterigerinata mamilla*, *Cibicides lobatulus* et *Neoconorbina terquemi*. Cependant le pourcentage d'espèces tolérantes reste stable et faible. La qualité écologique mesurée sur les deux sites d'échantillonnage est quasiment identique avec un EQS allant de « bon » à « très bon ».

En 2015, la station **Marseille Grande Rade** a été échantillonnée 1,36 km plus à l'est qu'en 2009 (Tableau 5.22). Le sédiment est plus fin en 2015 avec 18,3% de grains < 63 µm par rapport à seulement 3,2% en 2009. Cela correspond à des pourcentages d'espèces tolérantes prévues de 2,5% et 0,3% respectivement. Le changement majeur de la faune est l'apparition de *Reophax fusiformis* en 2015. Les abondances relatives des espèces tolérantes *Cancris auriculus* et *Nonion scaphum* ont fortement diminuées, alors que la proportion de *Rectuvigerina phlegeri* a augmentée. Au total, le pourcentage d'espèces tolérantes reste similaire entre 2009 et 2015. Et le TSI-Med n'a pas changé entre 2009 et 2015. Le changement de site d'échantillonnage n'a pas eu d'influence sur la qualité écologique.

Tableau 5.21 : Quelques paramètres environnementaux et faunistiques à la station Aléria. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » et vert, « bon ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Aléria																	
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Ammoscalaria pseudopiralis</i>	<i>Asterigerina mamilla</i>	<i>Cibicides lobatulus</i>	<i>Eggerelloides scaber</i>	<i>Neoconorbina terquemi</i>	<i>Quinqueloculina seminula</i>	<i>Reophax fusiformis</i>	<i>Rosalina bradyi</i>	<i>Triloculina trigonula</i>	<i>Tritaxis</i> sp.	<i>Trochammina</i> sp.
2009	42° 3' 30"	9° 34' 40,8"	46	7,4	0,0	-0,5	0,0	19,7	16,7	1,5	12,1	1,5	0,0	4,5	0,0	0,0	0,0
2012	42° 3' 29,78"	9° 34' 28,87"	44	2,8	3,6	3,5	0,0	8,9	0,0	1,8	8,9	0,0	14,3	8,9	0,0	3,6	0,0
					1,0	0,9	0,0	8,0	11,0	4,0	5,0	4,0	0,0	1,0	17,0	10,0	0,0
					ND	ND	0,0	7,1	7,1	0,0	3,6	10,7	0,0	14,3	0,0	14,3	10,7
2015	42° 7' 49,57"	9° 34' 58,36"	40	4,8	5,2	4,8	10,3	2,6	0,4	13,4	0,9	0,0	6,5	3,0	1,7	6,5	0,0
					2,1	1,8	6,4	3,2	0,0	11,7	4,3	0,0	10,6	7,4	3,2	0,0	0,0
					4,8	4,4	1,6	1,6	0,0	15,9	2,4	1,6	7,1	6,3	4,0	3,2	1,6

Tableau 5.22 : Quelques paramètres environnementaux et faunistiques à la station Marseille Grande Rade. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » ; vert, « bon » et jaune, « moyen ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Marseille Grande Rade										
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Cancris auriculus</i>	<i>Nonion scaphum</i>	<i>Rectuvigerina phlegeri</i>	<i>Reophax fusiformis</i>
2009	43° 16' 10,2"	5° 18' 28,2"	35	3,2	16,1	15,9	9,7	4,8	1,6	0,0
2015	43° 15' 54,72"	5° 19' 24,65"	37	18,3	17,1	15,0	3,4	3,4	8,9	20,0
					9,7	7,4	2,5	1,1	5,4	16,5
					5,8	3,4	2,2	1,4	0,7	26,8

À la station **Nice Ville**, bien que les trois échantillonnages soient situés à moins de 200 m les uns des autres entre les années, l'échantillonnage de 2009 se situe à une profondeur plus importante par rapport à 2012 et 2015 (Tableau 5.23). Le sédiment est donc plus fin en 2009, constitué essentiellement d'argile et silt, et plus grossier en 2012 et 2015, essentiellement des sables très fins et fins. Le changement de sédiment a entraîné un changement des faunes de foraminifères. Les espèces tolérantes sont presque absentes en 2009. *Bulimina* spp. et *Nonion* spp. représentent les espèces tolérantes en 2012 et *Leptohalysis scotti* apparaît en 2015. Les valeurs du TSI-Med sont beaucoup plus importantes en 2012 et 2015 par rapport à 2009. D'après les données de 2015, il y a assez peu d'hétérogénéité spatiale à cette station. Donc, la qualité écologique plus faible en 2009 est donc probablement due à l'échantillonnage à une profondeur plus importante.

Pour la station **Fréjus**, l'échantillonnage s'est un peu éloigné de la côte au fur et à mesure des années (400 m au total) entraînant un éloignement par rapport aux zones à herbier (Andromède Oceanologie and RMC Agence de l'eau, 2019) et une profondeur d'échantillonnage plus importante (Tableau 5.24) (2009 : 33 m, 2012 : 39 m, 2015 : 45 m). Le sédiment est très similaire entre les années et les répliquats. Il est composé en majorité de sables fins, mais est mal trié. Seul un répliquat de 2012 montre un fort pourcentage d'argile et silt comparé aux autres répliquats. La granulométrie plus fine de ce répliquat a apporté une correction pour l'état trophique naturel plus importante et explique la plus faible valeur de TSI-Med, les espèces tolérantes représentant une proportion similaire pour les trois répliquats de 2012. Les pourcentages d'espèces tolérantes de la station de Fréjus ne démontrent pas une hétérogénéité spatiale importante. Cependant, le répliquat au sédiment plus fin de 2012 présente une composition en espèces tolérantes différentes des autres répliquats, avec une plus forte abondance de *Leptohalysis scotti*. Par ailleurs, les mêmes espèces tolérantes sont présentes les trois années, *Cancris auriculus*, *Leptohalysis scotti* et *Rectuvigerina phlegeri*. On remarque que leurs abondances relatives augmentent au cours du temps entraînant une augmentation des valeurs de TSI-Med. Cette augmentation est sûrement due à la profondeur d'échantillonnage qui a augmenté.

Tableau 5.23 : Quelques paramètres environnementaux et faunistiques à la station Nice Ville. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » et vert, « bon ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Nice Ville											
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Leptohalys scotti</i>	<i>Bulimina</i> spp.	<i>Nonion</i> spp.	<i>Eggerelloides scaber</i>	<i>Quinqueloculina</i> spp.
2009	43° 40' 51"	7° 14' 7,8"	30	46,1	3,4	-0,3	0,0	3,0	0,0	46,8	11,2
2012	43° 40' 45,68"	7° 14' 9,5"	13	25,0	17,8	14,9	0,0	8,9	8,5	8,9	15,5
2015	43° 40' 46,39"	7° 14' 6,41"	13	10,7	9,8	8,6	7,3	1,2	1,2	25,6	26,8
					8,1	6,9	1,6	0,0	5,6	20,2	34,7
					9,5	8,3	5,3	0,0	2,1	48,4	17,9

Tableau 5.24 : Quelques paramètres environnementaux et faunistiques à la station Fréjus. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » et vert, « bon ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Fréjus																
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Cancris auriculus</i>	<i>Leptohalys scotti</i>	<i>Rectuvigerina phlegeri</i>	<i>Ammonia beccarii</i>	<i>Ammoscarella pseudopiralis</i>	<i>Eggerelloides scaber</i>	<i>Reophax fusiformis</i>	<i>Reussella spinulosa</i>	<i>Rosalina bradyi</i>	<i>Spirillina vivipara</i>
2009	43° 25' 20,4"	6° 52' 6,6"	33	17,3	2,8	1,9	1,0	0,2	1,4	1,2	0,8	1,6	12,3	0,2	2,2	0,0
2012	43° 25' 16,14"	6° 52' 5,9"	39	16,4	8,6	6,6	6,7	0,0	1,1	3,5	8,9	2,4	3,5	2,4	14,0	3,5
					7,9	5,8	5,7	0,5	0,7	3,9	4,5	8,5	12,2	1,2	7,1	4,1
					64,7	10,7	1,2	0,4	9,1	0,8	11,1	1,6	10,3	3,7	0,0	14,8
2015	43° 25' 11,18"	6° 52' 20,56"	53	19,9	15,1	12,8	5,2	2,5	5,0	0,0	7,0	1,4	8,8	3,4	5,0	2,0
					15,3	12,9	11,0	0,2	2,7	5,1	6,9	3,3	8,2	3,5	7,2	1,0
					12,9	10,5	6,2	1,1	2,2	2,2	4,5	1,1	3,9	10,1	16,3	0,0

À la station **Antibes Nord** les échantillonnages sont très proches pour les trois années (< 100 m) (Tableau 5.25). Cependant, la profondeur d'échantillonnage est plus faible en 2009 et 2012 par rapport à 2015 et le sédiment devient nettement plus fin en 2015. Au même temps, de nombreux changements de la faune sont observés, certaines espèces apparaissent comme *Ammonia beccarii*, *Nouria* cf. *polymorphinoides* ou *Recurvoides* sp. 1 et d'autres diminuent, comme *Buccella granulata*. Les deux espèces tolérantes *Leptohalysis scotti* et *Rectuvigerina phlegeri* qui apparaissent ont fait augmenter le pourcentage d'espèces tolérantes. La correction pour l'état trophique naturel est plus importante en 2015, mais néanmoins, l'EQS est passé de très bon à bon, suggérant que la correction appliquée n'est pas suffisante.

En 2015, la station **Santa Giulia** a été échantillonnée à 4.3 km au nord du site de 2009 et 2012 (Tableau 5.26). On observe un peu plus de sédiment fin en 2009, mais la granulométrie n'a pas changé entre 2012 et 2015, quand le sédiment comporte entre 73% et 93% de sables moyens à grossier. On remarque un changement des faunes entre le site de 2009 et 2012 d'un côté et le site 2015 de l'autre. Ce changement concerne toutes les espèces, notamment les espèces tolérantes. Parmi ces espèces, *Cancriis auriculus*, *Nonion* sp. et *Nonionella turgida* sont présentes en 2009 et 2012. En 2015, ces trois espèces disparaissent et sont remplacées par *Rectuvigerina phlegeri* dans les espèces tolérantes. Parmi les autres espèces, on note également la quasi disparition d'*Eggerelloides scaber* ainsi que de nombreuses espèces épiphytes telles que *Neoconorbina terquemi*, *Reussella spinulosa*, *Rosalina bradyi*, *R. globularis*, et l'apparition de *Lagenammia atlantica*. Cela indiquerait un site plus proche d'herbier en 2009 et 2012 qu'en 2015. Les espèces tolérantes sont différentes entre le site de 2009 et 2012 et le site de 2015, mais leurs abondances relatives restent similaires. Ainsi la qualité écologique n'a pas beaucoup changé entre les années et le site échantillonné en 2009 et 2012 et celui de 2015 ont une qualité écologique avec un EQS qui va de « bon » à « très bon ».

Tableau 5.25 : Quelques paramètres environnementaux et faunistiques à la station Antibes Nord. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » et vert, « bon ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Antibes Nord																
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Leptohalysis scotti</i>	<i>Rectuvigerina phlegeri</i>	<i>Ammonia beccarii</i>	<i>Buccella granulata</i>	<i>Eggerell oides scaber</i>	<i>Nouria cf. polymorphinoides</i>	<i>Quinqueloculina aspera</i>	<i>Recurvoides sp. 1</i>	<i>Reophax fusiformis</i>	
2009	43° 36' 47,4"	7° 8' 6,6"	19	1,6	0,0	-0,2	0,0	0,0	8,4	5,5	33,6	0,0	13,0	0,0	2,5	
2012	43° 36' 49,2"	7° 8' 9,91"	18	6,4	3,3	2,7	0,0	0,0	5,0	10,0	16,7	1,7	28,3	0,0	13,3	
2015	43° 36' 47,6"	7° 8' 10,41"	30	26,1	6,0	2,5	2,6	1,6	0,0	1,4	16,3	1,6	2,3	2,3	29,8	
					10,6	7,1	1,8	8,5	0,0	0,0	33,4	13,1	0,5	10,7	8,5	
					16,4	13,2	13,9	1,0	0,0	1,5	24,4	6,5	1,5	2,5	14,9	

Tableau 5.26 : Quelques paramètres environnementaux et faunistiques à la station Santa Giulia. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » et vert, « bon ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Santa Giulia																	
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Cancris auriculus</i>	<i>Rectuvigerina phlegeri</i>	<i>Nonion sp.</i>	<i>Nonionella turgida</i>	<i>Eggerell oides scaber</i>	<i>Lagena mmina atlantica</i>	<i>Reophax fusiformis</i>	<i>Reussella spinulosa</i>	<i>Rosalina bradyi</i>	<i>Rosalina globularis</i>	
2009	41° 30' 52,8"	9° 18' 19,8"	41	27,1	0,0	4,2	5,0	0,4	0,0	0,0	5,4	0,0	1,8	5,0	1,4	8,2	
2012	41° 30' 51,42"	9° 18' 11,1"	36	7,1	3,6	4,6	0,0	0,0	5,3	0,0	5,3	0,0	15,8	0,0	5,3	0,0	
					1,0	8,0	2,9	1,4	0,0	2,9	11,6	0,0	7,2	1,4	17,4	0,0	
					ND	3,8	4,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	9,1	13,6	13,6	0,0	
2015	41° 28' 36,04"	9° 17' 27,91"	39	4,3	5,2	-0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	17,5	24,3	0,0	1,7	0,0	
					2,1	-0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	31,5	15,2	0,0	2,2	0,0	
					11,3	4,8	2,7	0,0	2,6	0,6	0,3	0,3	19,2	30,2	0,9	1,2	0,0

Pour la station **Cargèse**, un site différent a également été échantillonné en 2015, à 5,96 km au sud de la pointe de Cargèse, alors qu'en 2009 le site échantillonné se trouvait au nord de la pointe d'Omigna (Tableau 5.27). Le site de 2015 se trouve à 39 m de fond, moins profond qu'en 2009 (60 m). Le sédiment présente plus de silt en 2009 (10%) alors qu'il n'y en avait pas en 2015, quand le sédiment était composé de sables grossiers (77%). Le pourcentage d'espèces tolérantes est de 11% en 2009 pour un pourcentage attendu de 0.6%. En 2015, il est de 6,7%, 0,0% et 1,2%, indiquant une certaine hétérogénéité spatiale pour cette année, alors que le pourcentage attendu est de 0,0%. Deux espèces différentes sont responsables pour le pourcentage d'espèces tolérantes, *Rectuvigerina phlegeri* en 2009 et *Nonion depressulum* en 2015. Néanmoins, les faunes de foraminifères restent très similaires entre 2009 et 2015, malgré la grande différence de site, avec pour espèces majeures *Reophax fusiformis*, *Quinqueloculina* spp., *Eggerelloides scaber*, *Planorbulina mediterraneensis* et *Asterigerinata mamilla*. Ainsi, le même type d'habitat aurait été échantillonné en 2009 et 2015. Le déplacement du site d'échantillonnage n'a donc pas eu d'impact sur la mesure de la qualité écologique. Les variations observées du TSI-Med sont essentiellement dues à l'hétérogénéité spatiale. Cette hétérogénéité spatiale peut-être due à la présence de larges zones à herbiers de posidonie proches (≈ 180 m) (Andromede Oceanologie and RMC Agence de l'eau, 2019).

Tableau 5.27 : Quelques paramètres environnementaux et faunistiques à la station Cargèse. Les couleurs correspondent aux EQS : bleu, « très bon » et vert, « bon ». Les abondances des espèces sont en pourcentage.

Cargèse														
Année	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Profondeur (m)	Argile + silt : % grains < 63 µm	% espèces tolérantes	TSI-Med	<i>Rectwigierina phlegeri</i>	<i>Nonion depressulum</i>	<i>Asterigerinata mamilla</i>	<i>Eggerelloides scaber</i>	<i>Elphidium incertum</i>	<i>Planorbulina mediterraneanensis</i>	<i>Quinqueloculina</i> spp.	<i>Reophax fusiformis</i>
2009	42° 9' 35,4"	8° 33' 34,8"	60	10,4	11,0	10,5	5,7	0,0	5,7	7,1	0,0	0,9	13,7	14,6
2015	42° 7' 22,68"	8° 36' 32,55"	39	0,0	6,7	7,0	0,0	4,4	0,0	13,3	0,0	0,0	8,9	35,6
					0,0	0,4	0,0	0,0	8,1	2,7	5,4	10,8	18,9	27,0
					1,2	1,6	0,0	0,0	6,2	2,5	3,7	0,0	12,3	17,3

Appendice 5.D : Pour chaque station sont indiqués les changements maximums de position géographique et de profondeur entre les années, l'hétérogénéité spatiale, les tendances suivies par le changement d'EQS entre les années et les causes des variations de la qualité écologique pour chaque station.

Région	Station	Changement maximum de position entre les années (≥ 1 km, jaune)	Changement maximum de profondeur entre les années (≥ 10 m, jaune)	Présence d'une forte hétérogénéité spatiale entre les répliqués	Changement maximum du % grains < 63 µm entre les années (≥ 10%, jaune et ≥ 20%, orange)	Changement maximum du % espèces tolérantes entre les années (≥ 5%, jaune et ≥ 10%, orange)	Changement maximum du TSI-Med entre les années (≥ 5, jaune et ≥ 10, orange)	Changement d'EQS entre les années	Causes du changement d'EQS entre les années	EQS de la station "moyen" en 2015
Golfe du Lion	Collioure	0,12	1		26,1	9,8	8,8	augmentation	granulométrie plus fine des sédiments, enrichissement en matière organique potentiellement d'origine anthropique	oui
	Leucate	0,78	6	Très fort	16,7	14,5	14,6	diminution	échantillonnage (profondeur) et hétérogénéité spatiale	
	Gruissan	0,31	2		24,2	4,0	4,1			
	Agde Ouest	0,10	1		10,6	7,8	7,9			
	Agde Est	0,09	1		0,2	9,7	9,4			
	Grau du Roi	1,68	0	Très fort	28	7,3	8,4		hétérogénéité spatiale	
	Beauduc	1,93	2		52,4	5,2	8,4	augmentation	enrichissement en matière organique, potentiellement d'origine naturelle	oui
	Faraman	0,86	2	Fort	5,3	7,3	7,0	sans tendance	hétérogénéité spatiale	
Fos	0,70	3	Fort	43,5	17,6	17,4	augmentation	enrichissement en matière organique, potentiellement d'origine anthropique	oui	
Est	Carry	0,38	14	Fort	12,4	7,1	8,5	diminution	hétérogénéité spatiale	
	Marseille Grande Rade	1,36	2	Fort	15,1	5,4	6,0	sans tendance	échantillonnage (localisation) et hétérogénéité spatiale	
	Île Maire	0,07	4		3,2	2,3	2,5			
	Cap Canaille	2,88	34		27,2	11,1	11,0	sans tendance	échantillonnage (profondeur)	
	Île Embiez	0,41	3		11,9	2,4	3,0			

Région	Station	Changement maximum de position entre les années (≥ 1 km, jaune)	Changement maximum de profondeur entre les années (≥ 10 m, jaune)	Présence d'une forte hétérogénéité spatiale entre les répliqués	Changement maximum du % grains < 63 µm entre les années (≥ 10%, jaune et ≥ 20%, orange)	Changement maximum du % espèces tolérantes entre les années (≥ 5%, jaune et ≥ 10%, orange)	Changement maximum du TSI-Med entre les années (≥ 5, jaune et ≥ 10, orange)	Changement d'EQS entre les années	Causes du changement d'EQS entre les années	EQS de la station "moyen" en 2015
	Toulon Grande Rade	1,44	14		24,2	4,4	4,7	augmentation	enrichissement en matière organique, potentiellement d'origine anthropique	oui
	Porquerolles	0,41	5		8,6	0,3	0,6			
	Pampelonne	0,11	8	Fort	22,2	6,8	7,4	diminution	hétérogénéité spatiale	
	Fréjus	0,42	20		48,3	4,5	4,9	augmentation	échantillonnage (profondeur)	
	Antibes Sud	0,25	6		52,5	4,7	3,2			
	Antibes Nord	0,09	12	Fort	24,5	6,4	5,3	augmentation	échantillonnage (profondeur) et hétérogénéité spatiale	
	Nice Ville	0,17	17		35,4	8,5	8,7	sans tendance	échantillonnage (profondeur)	
	Villefranche	0,29	22	Très fort	51,6	13,2	13,8		échantillonnage (profondeur) et hétérogénéité spatiale	oui
	Menton	0,13	13		29,9	7,9	9,2	augmentation	granulométrie plus fine des sédiments, enrichissement en matière organique potentiellement d'origine anthropique	oui
	Aléria	8,05	6		4,6	2,1	2,1	sans tendance	échantillonnage (localisation) et hétérogénéité spatiale	
	Santa Giulia	4,39	6		22,8	3,1	2,9	diminution	échantillonnage (localisation)	
Corse	Bonifacio	0,21	4		20,6	4,9	5,4			
	Figari Bruzzi	0,83	4		3,1	2,9	2,9			
	Cargèse	5,96	21	Fort	10,4	7,5	7,3	diminution	échantillonnage (localisation)	
	Calvi	0,10	2		4,6	5,8	5,8			

Appendice 5.E : Abondances relatives d'*Eggerelloides scaber* et *Reophax fusiformis* pour chaque station.

Région	Station	Réplikat	<i>Eggerelloides scaber</i>	<i>Reophax fusiformis</i>
Golfe du Lion	Collioure	a	43,3	2,3
		b	37,1	3,2
		c	53,2	3,8
	Leucate	a	52,5	0,0
		b	55,7	0,0
		c	52,7	0,4
	Gruissan	a	48,0	2,2
		b	60,1	1,2
		c	50,7	1,3
	Agde Ouest	a	45,3	5,5
		b	37,0	4,9
		c	62,2	2,3
	Grau du Roi	a	24,6	2,3
		b	30,2	2,8
		c	26,2	3,0
	Beauduc	a	15,3	6,6
		b	13,3	13,3
		c	22,8	6,3
	Faraman	a	40,6	0,0
		b	56,3	0,0
		c	52,6	0,0
Fos	a	4,6	3,7	
	b	18,2	3,7	
	c	11,2	4,8	
Est	Carry	a	0,5	2,3
		b	1,1	8,3
		c	0,5	6,2
	Marseille Grande Rade	a	5,7	20,0
		b	1,1	16,5
		c	5,1	26,8
	Île Maire	a	2,0	33,3
		b	0,9	20,4
		c	0,7	18,7
	Cap Canaille	a	0,0	3,7
		b	0,0	0,0
		c	0,0	4,6
	Île Embiez	a	2,6	5,9
		b	7,1	18,3
		c	7,9	6,7
	Toulon Grande Rade	a	2,5	17,9
		b	1,5	17,8
		c	1,7	22,6
	Porquerolles	a	0,0	31,3
		b	0,0	24,2
		c	0,0	44,8
Pampelonne	a	0,3	21,5	
	b	0,0	10,5	
	c	0,8	12,2	
Fréjus	a	1,4	8,8	
	b	3,3	8,2	
	c	1,1	3,9	
Antibes Sud	a	13,5	27,6	
	b	19,9	21,3	

Région	Station	Réplikat	<i>Eggerelloides scaber</i>	<i>Reophax fusiformis</i>
		c	17,3	18,5
	Antibes	a	16,3	29,8
	Nord	b	33,4	8,5
		c	24,4	14,9
	Nice Ville	a	25,6	0,0
		b	20,2	1,6
		c	48,4	2,1
	Villefranche	a	1,2	3,8
		b	1,0	6,4
		c	0,5	3,9
	Menton	a	1,7	0,2
		b	1,4	0,7
		c	8,2	0,0
	Aléria	a	13,4	6,5
		b	11,7	10,6
		c	15,9	7,1
	Santa Giulia	a	0,6	24,3
		b	0,0	15,2
		c	0,3	30,2
	Bonifacio	a	36,7	3,3
		b	52,8	2,1
		c	54,0	4,0
Corse	Figari	a	0,0	3,0
	Bruzzi	b	0,6	9,3
		c	0,6	14,8
	Cargèse	a	13,3	35,6
		b	2,7	27,0
		c	2,5	17,3
	Calvi	a	2,8	17,6
		b	3,3	17,8
		c	3,9	4,7

Chapitre 6 : Testing two
biotic indices based on living
(Rose Bengal-stained)
benthic foraminiferal
communities along a well-
defined organic matter
gradient in the eastern
Mediterranean

Abstract

Coastal environments are under numerous pressures from anthropogenic activities, among which organic enrichment is particularly important. Foraminiferal communities react to environmental changes by changes in community structure (density, diversity, species composition) and behaviour (metabolism, feeding strategy, reproduction, mortality, etc.). A number of biotic indices based on foraminiferal faunas have been developed to measure the impact of organic enrichment due to anthropogenic activities on the ecological status of marine soft bottom environments. However, very often the origin of the organic enrichment is multiple, and the diffusive dispersion of organic matter makes it difficult to clearly identify pressure gradients and the community changes along these gradients. In this context, sewage outlets in the sea, which represent localised point sources of organic matter, offer us the possibility to study faunal successions along well-developed stress gradients. Here, we test two biotic indices based on foraminiferal communities, TSI-Med and Foram-AMBI, along such an organic matter gradient, developed around a sewage outlet on the Israeli coast, south of Tel-Aviv. The tested biotic indices basically translate the successional changes in benthic foraminiferal communities along the pressure gradient into a single quantitative measurement. Along the studied organic enrichment gradient, *Caronia silvestrii* dominated the faunas in the most severely impacted zone. Further away from the sewage outlet, faunas were characterised by the dominance of *Ammonia tepida*. Finally, in the least affected area, farthest away from the sewage outlet, *Leptohalysis scotti* was a dominant taxon. It is surprising that our observations are not in accordance with earlier assignments (Jorissen *et al.*, 2018) of *Caronia silvestrii* and *Leptohalysis scotti* to ecological groups III (3rd order opportunists) and V (1st order opportunists), respectively. This strongly suggests that additional studies are urgently needed to better characterise the ecological strategies of ecological index species. When, as we propose here, *Caronia silvestrii* and *Leptohalysis scotti* are assigned respectively to ecological groups V and III, both tested indices, TSI-Med and Foram-AMBI clearly show the decreasing impact of organic enrichment with greater distance from the sewage outlet.

Keywords: Levantine basin, sewage outlet, subtidal coastal area, TSI-Med, Foram-AMBI, biomonitoring

6.1. Introduction

Coastal environments are subject to various pressures of anthropogenic origin. The vicinity of highly populated areas and the partly enclosed character of many coastal areas emphasise this phenomenon. One of these pressures is the enhanced input of organic matter from anthropogenic sources. This may be particularly problematic in the eastern Mediterranean, because this is naturally a very oligotrophic basin, and consequently, unlike the situation in naturally more eutrophic areas, the benthic faunas are probably not pre-adapted to eutrophication phenomena. In soft bottoms environments, an increased organic load leads to substantial changes in macrofaunal (Pearson and Rosenberg, 1978; Rosenberg, 2001) as well as in

foraminiferal communities (Alve, 1995b; Jorissen *et al.*, 1995; Jorissen, 1999). These compositional changes allow us to use assemblage composition to assess the impact of various stressors, especially of eutrophication due to organic matter input and associated hypoxia (*e.g.*, van der Zwaan and Jorissen, 1991; Mojtahid *et al.*, 2008, 2009; Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009; Sabbatini *et al.*, 2012).

In recent years, many biotic indicators were developed, following new national and international regulations (Martínez-Crego *et al.*, 2010; Ferreira *et al.*, 2011; Birk *et al.*, 2012). These biotic indicators aim to give a simple and synthetic quantitative description of the ecological quality at the time of sampling (Pinto *et al.*, 2009; Dauvin *et al.*, 2010; Martínez-Crego *et al.*, 2010). Ideally, such indices should have a monotonic response along an environmental stress gradient.

The paradigm of a well-developed faunal succession along an organic enrichment gradient (Pearson and Rosenberg, 1978) appears to be very robust (Puente and Diaz, 2015), and has allowed the definition of a succession of groups of indicator species (Glémarec and Hily, 1981; Gray and Pearson, 1982; Grall and Glémarec, 1997; Grémare *et al.*, 2009; Leonardsson *et al.*, 2015), a concept which is now widely followed. At present, a majority of biotic indices is based on the relative proportions at the investigated stations of the various groups of indicator taxa (*e.g.*, Borja *et al.*, 2000; Simboura and Zenetos, 2002b; Muxika *et al.*, 2007; Pinedo *et al.*, 2015, for macrofauna).

Also foraminifera are highly reactive to various pollution sources and show clear successions along stress gradients (*e.g.*, Alve, 1995b; Jorissen *et al.*, 1995, 2009; Mojtahid *et al.*, 2006, 2008; Arieli *et al.*, 2011; Frontalini and Coccioni, 2011; Goineau *et al.*, 2011). Consequently, several biotic indices based on foraminiferal communities were developed to assess environmental quality, and especially the impact of increased organic matter input (Hallock *et al.*, 2003; Bouchet *et al.*, 2012; Barras *et al.*, 2014; Alve *et al.*, 2016; Dimiza *et al.*, 2016; Jorissen *et al.*, 2018).

However, these biotic indices were mostly developed in areas with diffuse organic matter pollution, where it is very difficult to obtain objective measures of stress of anthropogenic origin. Nevertheless, such measures are needed to calibrate the faunal indices, and to identify boundaries between the various classes of environmental quality (Muxika *et al.*, 2005). Without clear descriptors of physical stress, it is also very difficult to differentiate between the anthropogenic signal and the natural background conditions. In view of the difficulties to define ecological reference states, which are needed to assess environmental quality (Alve *et al.*, 2009; Martínez-Crego *et al.*, 2010; Borja *et al.*, 2012a; Dolven *et al.*, 2013), the study of faunal successions along quantitatively well constrained pollution gradients is essential. In fact, individual species can only be attributed to ecological groups by studying their behaviour along such gradients, and biotic indices using indicator groups can only be successfully calibrated when such gradients are available for study.

Until today, in the Mediterranean, there is a lack of descriptions of foraminiferal successions along clear, quantitatively well-described, pollution gradients. This lack of observations strongly hampered the recent effort to construct a list of Mediterranean foraminiferal indicator species (Jorissen *et al.*, 2018). Here, we study the foraminiferal successions along a well-described anthropogenic organic matter gradient. This gradient is resulting from a major sewage outlet situated at 36 m depth, some 4.4 km offshore of the town of Palmachim in Israel. After being introduced at the sea floor, the anthropogenic organic matter is transported to the NNE by the prevailing bottom current, leading to a clear organic matter gradient, which can be followed for about 8 km.

Our study area is situated in the Levantine basin, which is not only the most oligotrophic part of the Mediterranean (Lazzari *et al.*, 2012), but also one of the world's most oligotrophic areas (Azov, 1991). Consequently, major point sources of organic matter, like the Palmachim sewage outlet, are likely to produce localised eutrophication phenomena. Due to the presence of rather strong bottom currents, organic pollutants are spread out over a considerable distance, and eutrophication phenomena progressively become less severe. These conditions make this area particularly suited to study the succession of foraminiferal communities in response to decreasing/increasing organic matter load, and to calibrate foraminiferal biotic indices.

The Dan Region Treatment Plant (Shafdan) near Palmachim was installed in 1987 to treat the domestic and industrial sewage from the Tel-Aviv metropole, representing 1.5 million inhabitants in the early 2000's and 2.5 million in 2016 (Kress *et al.*, 2004, 2016). The excess sewage represents a continuous discharge at sea of $\approx 15,000 \text{ m}^3 \cdot \text{day}^{-1}$, which remains rather constant over the year (Kress *et al.*, 2016). The sewage sludge contains about 1% of particulate matter, which is mainly composed of organic matter such as bacteria and/or synthetic organic compounds, but also contains inorganic nutrients and heavy metals (Kress *et al.*, 2004, 2016). Fortunately, the heavy metal input has drastically declined since 1998 (Kress *et al.*, 2016).

The biomonitoring program affected at the Palmachim sewage outlet started in 1992 with studies of macrofauna (Kress *et al.*, 2004, 2016). A clear impact on macrofaunal communities was measured up to 4 km NNE of the outlet (Kress *et al.*, 2004). However, the size of the impacted zone varies seasonally (Kress *et al.*, 2016). Organic carbon and metals are generally considered as the pollutants which most severely affect macrofauna. However, in view of recent decrease of metal concentrations in the sewage sludge (Kress *et al.*, 2016) and the continued impact indicated by faunal indices, it appears that organic carbon is the main stressor affecting benthic macrofauna.

Benthic foraminiferal communities from nearshore areas of the Levantine Basin are well known (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2008; Avnaim-Katav *et al.*, 2015). At the Palmachim sewage outlet, the faunal composition has been studied at some stations in the 1990's (Yanko *et al.*, 1994). Hyams-Kaphzan *et al.* (2009) showed seasonal

variations of the foraminiferal communities at two stations (PL03 and PL29), between January 2003 and May 2004. As expected, these variations are more important at the less impacted station than at the station close to the sewage outlet, where the foraminifera are permanently confronted with organic enrichment and hypoxia/anoxia. In 2012, Tadir *et al.* (2017) observed a large decrease in total standing stocks at the least impacted stations, putatively caused by a diminished TOC input and an increased grain size. It appears that storm events may have an important influence on foraminiferal faunas by reworking the sediment and by remobilizing buried sludge (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009; Tadir *et al.*, 2017). Until today, the foraminiferal communities around the Palmachim sewage outlet have only been studied at three contrasted stations, whereas the full, 8 km long OM enrichment gradient has never been studied in detail, so that the faunal succession across this gradient is still rather poorly known. Here, we will remedy this lack of knowledge by studying the foraminiferal communities at 17 stations, covering the whole organic enrichment gradient, as well as a short transect perpendicular to the main SSW-NNE direction of the gradient.

The faunal successions described in this paper will be used in two different ways. First, we will study the distribution of individual taxa along the stress gradient to gain knowledge about the species autecology. This will allow us to propose some important changes with respect to the species attributions to ecological groups proposed by Jorissen *et al.* (2018). Next, we will test two foraminiferal indices: TSI-Med (Barras *et al.*, 2014) and Foram-AMBI (Alve *et al.*, 2016; Jorissen *et al.*, 2018). For TSI-Med, the index value is based on the cumulative proportion of a group of stress-tolerant species, which is corrected for the natural trophic conditions by using a grain size parameter (% grains < 63 μm). For Foram-AMBI, the index value is based on the cumulative proportions of five groups of indicators species (from EGI to EGV, stress-sensitive, indifferent, 3rd order opportunist, 2nd order opportunist, and 1st order opportunist) with different responses to organic enrichment.

Summarising, the aim of this study is twofold: by studying in detail, for the first time in the Mediterranean, the foraminiferal successions along a well quantified organic matter gradient, we intend to 1) improve the list of ecological species assignments of Jorissen *et al.* (2018), and 2) to test the TSI-Med and Foram-AMBI indices.

6.2. Material and methods

6.2.1. Study area

The sampling area consists of a 8 km long main SSW-NNE transect around a sewage outlet positioned at 36 m depth, 4.4 km offshore the city of Palmachim, 20 km south of Tel-Aviv on the Israeli coast (Figure 6.1). The main SSW-NNE transect is composed of 13 stations. Perpendicular to this main transect, four stations were sampled in cross-shore direction (Figure 6.1). Both transects were sampled in May 2017. The dispersal of sewage is largely determined by a SSW-

NNE long-shore current, which makes part of the Nile littoral cell (Garzanti *et al.*, 2015). Together with the eastward winds from the Sahara desert, this current is responsible for abundant supplies of silicoclastic particles from the Nile delta (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2008; Garzanti *et al.*, 2015).

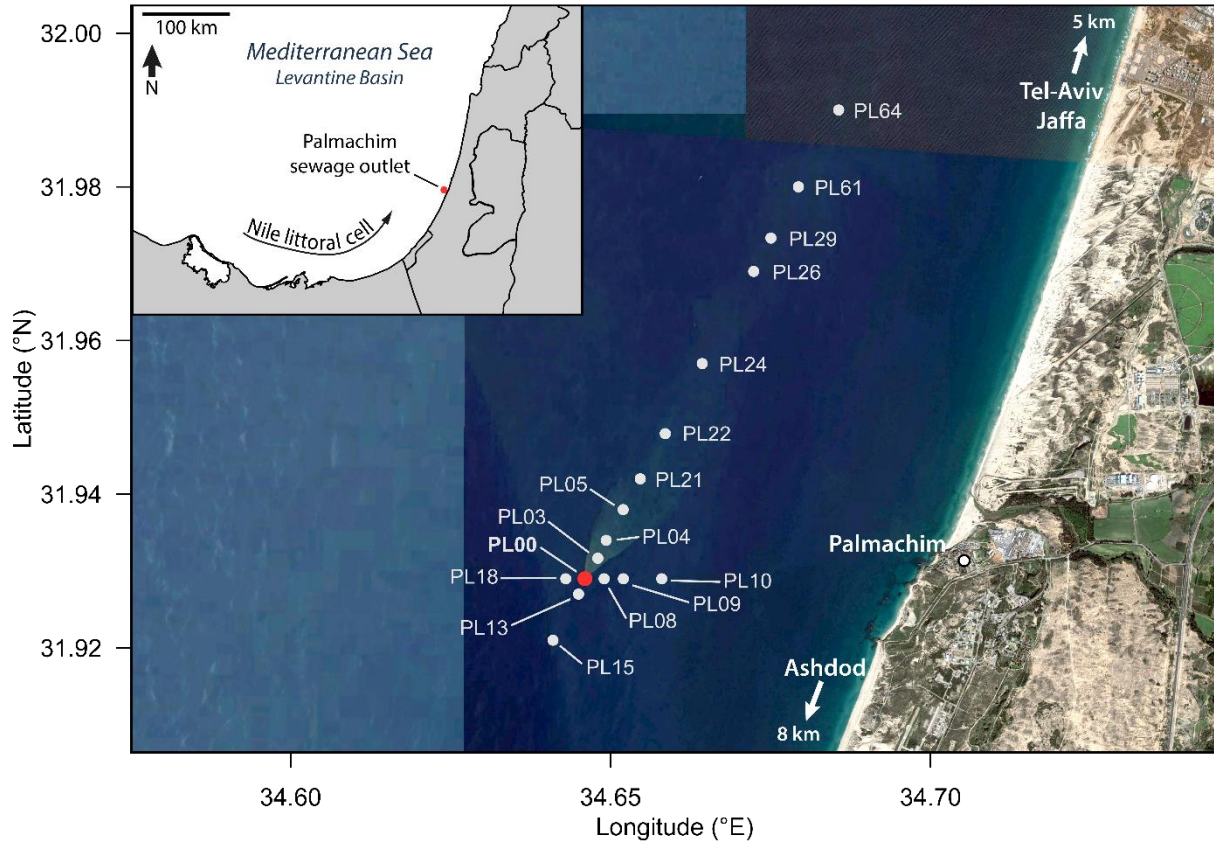


Figure 6.1: Study area showing the sampled stations along the main SSW-NNE transect (the red dot, station PL00, represents the sewage outlet). The background satellite image clearly shows the progressing northward dilution of the sludge plume (Google Earth, Image Landsat / Copernicus, Image © 2018 Digital Globe, 26/12/2014).

6.2.2. Sampling and treatment of the foraminiferal faunas

At 17 stations samples (Appendix 6.A) were taken with a box-corer (Ocean Instruments BX 700 AL) with a surface area of 0.062 m². Three replicate samples were taken at each station (*i.e.* three launches of the box-corer), except for station PL13 where only two replicates were collected. The surface sediment (0–1 cm) from each box-core was put into a 250 mL jar and was stained and preserved with 2 g.L⁻¹ Rose Bengal in 96% ethanol. In the laboratory, the samples were washed over 63, 125, and 500 µm mesh size sieves, and the exact volume of sediment was measured. The whole 125–500 µm fraction was observed under a stereomicroscope and all living foraminifera (Rose Bengal-stained) were extracted. Only individuals with a bright pink and homogeneous cytoplasm were considered as alive. Individuals were identified to the species level and preserved in micropaleontological slides. All replicates “a” were treated by Orit Hyams-Kaphzan, whereas replicates “b” and “c” were elaborated by Briz Parent. For some

samples, which contained large amounts of sandy sediment grains, foraminifera were concentrated using a high density solution of sodium polytungstate at a density of 2.3 (Parent *et al.*, 2018).

6.2.3. Sediment analyses

A sample dedicated to grain size analysis was taken in one of the box-cores of each station. The raw sediment was sieved over a 2000 μm mesh size. Then, the grain size distribution was measured in three aliquots with a Malvern Mastersizer 2000. The three aliquots always had a very similar grain size distribution. Therefore, a single measurement was chosen randomly to describe the grain size distribution at each station. To separate all modes from the grain size distribution individually, we used PeakFit® v4.12 software (SeaSolve Software Inc.; www.seasolve.com). Individual modes were modelled with a log-normal distribution. The deconvolution allows us describe and compare the individual grain populations making up the total sediment. The percentage of Total Organic Carbon (TOC) was determined with the dichromate method after (Gelman *et al.*, 2012).

6.2.4. Analysis of the foraminiferal faunas

6.2.4.1. Diversity indices and multivariate analysis

Concerning foraminiferal faunas, their total density was standardised to 50 cm^3 , whereas diversity was characterised by the species richness (total number of species, S), and the Shannon index (H' , equation 6.1, Shannon, 1948):

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i \quad (6.1)$$

where p_i corresponds to the proportion of the i^{th} species.

A Q-mode Principal Components Analysis (PCA) was performed on the basis of the relative abundances, without normalisation. We compared the eigenvalues to the broken stick model to determine the significant dimensions of the PCA. On all PCA biplots, we only display species with a cumulative contribution on dimensions 1 and 2, which is higher than 1.5 times the average cumulative contribution of all species on these two dimensions. At a second stage, to investigate the relations between the foraminiferal species composition and the environmental conditions along the pollution gradient, the values of three environmental parameters were correlated with the PCA scores of the stations. Their correlation coefficients (Pearson) with the two first dimensions were added on the X-Y plot. This concerns the percentage of sediment particles $< 63 \mu\text{m}$ and of TOC, as well as the metric distance from the outlet. The values of these parameters were normalised before being added to the PCA and did not influence the species and sample scores.

The different statistical analyses were performed with the software R (R Core Team, 2017). The diversity indices were calculated using the *vegan* package (Oksanen *et al.*, 2017), and the multivariate analyses with the package *FactoMineR* (Lê *et al.*, 2008).

6.2.4.2. Quality indices

We used two biotic indices to describe the environmental quality around the sewage outlet: Foram-AMBI, with the ecological species assignment list for the Mediterranean (Jorissen *et al.*, 2018) and TSI-Med index (Barras *et al.*, 2014). Both indices are based on a list of indicator species. First, we calculated Foram-AMBI, following equation 6.2:

$$\begin{aligned} \text{Foram} - \text{AMBI} &= (0 * EGI) + (1,5 * EGII) + (3 * EGIII) \\ &+ (4,5 * EGIV) + (6 * EGV) \end{aligned} \quad (6.2)$$

where *EGI* to *EGV* are the proportions of each ecological group (EG) of indicator species: sensitive, indifferent, 3rd order opportunists, 2nd order opportunists, and 1st order opportunists, respectively. Species not assigned to any of the five ecological groups were excluded from the dataset before the calculation of the relative proportions of the five ecological groups. Consequently, the cumulative proportion of *EGI* to *EGV* is equal to 1.

The TSI-Med index is calculated in two steps (Barras *et al.*, 2014). First, we calculated the reference percentage of stress-tolerant species ($\%TS_{ref}$), *i.e.* the expected percentage of stress-tolerant species in a non-polluted station with the same grain size (percentage of particles < 63 μm) as observed at the sampling station. This reference percentage is thought to reflect the natural trophic state (Equation 6.3). Next, the index (TSI-Med) is calculated based on a comparison of the percentages of stress-tolerant species in the sample ($\%TS_x$) and under reference conditions ($\%TS_{ref}$), according to equation 3.2.

$$\%TS_{ref} = 0.3247 \times (\% < 63 \mu\text{m}) + 3.6718 \quad (6.3)$$

$$\text{TSI} - \text{Med} = \frac{\%TS_x - \%TS_{ref}}{100 - \%TS_{ref}} \times 100 \quad (6.4)$$

TSI-Med was originally developed on the French Mediterranean coast. The original list of species assigned as stress-tolerant by Barras *et al.* (2014) is based on a literature review and reflects the behaviour of species present in that area. To adapt the TSI-Med to our study area on the Israeli coast, it would have been necessary to do a second literature review to include some species typical for the very oligotrophic Levantine basin, which were absent in the original list. However, the list of indicator species presented by Jorissen *et al.* (2018) is based on an objective inventory of species distribution in function of TOC as observed in 15 studies from the whole Mediterranean, including the Levantine basin. In view of this, we decided not to apply the original list of stress-tolerant species of Barras *et al.* (2014) but used the list proposed by Jorissen *et al.* (2018). To do so, we merged indicator groups GIII, GIV, and GV (3rd, 2nd, and 1st order opportunist) as stress-tolerant species, as suggested in chapter 3 (comparison of biotic indices). Consequently, we also used the equation for reference conditions (Equation 6.3), determined in chapter 3 for this set of marker species.

To determine the environmental quality from the biotic index it is necessary to convert the index values into Ecological Quality Status (EQS) classes. This was done by using EQS limits to separate the index gradient into five EQS from “very good” to “bad”. Initially, we used the EQS limits proposed by Barras and Jorissen (2011) for TSI-Med, whereas for the Foram-AMBI, for which no EQS limits have been defined yet, we tentatively applied the EQS limits defined for macrofauna (Borja *et al.*, 2003). On the basis of the present data, we will discuss the validity of these limits.

6.3. Results

6.3.1. Sediment properties

Sediment grain size analyses reveal four main populations of grains at all stations. The first three populations consist of fine material: clay with a mode at $1.0 \pm 0.1 \mu\text{m}$, fine silt with a mode at $4.5 \pm 0.5 \mu\text{m}$, and coarse silt with a mode at $18.9 \pm 3.2 \mu\text{m}$. Finally, a population of coarser material is present: very fine to fine sand with a mode at $113.8 \pm 9.3 \mu\text{m}$. These modes are very consistent for all the stations (Figure 6.2). Occasionally, a coarse population with a mode at $808 \pm 264 \mu\text{m}$, mainly composed of mollusc shell debris, is present at stations distant from the outlet (Figure 6.2b). The content of the $> 2000 \mu\text{m}$ fraction represents $2.3 \pm 1.5\%$ of the total sediment and contains many bivalve mollusc shells.

Station PL03, immediately north of the outlet, is the only one where the population of silt is more abundant than the population of fine sand (Figure 6.2a). The other grain size distribution profiles show a higher proportion of fine sand, in varying degrees (Figures 6.2b and 6.2c).

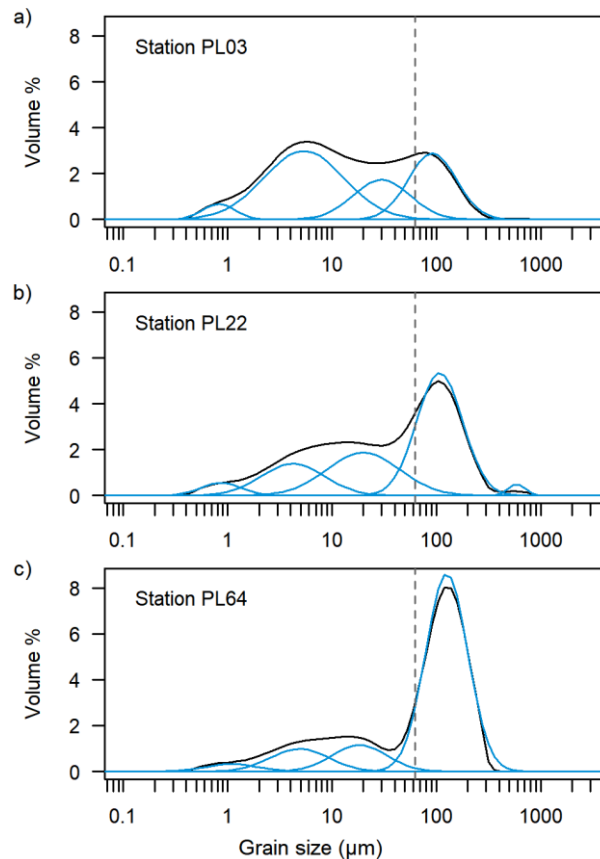


Figure 6.2: Three typical grain size distributions found at various distances of the sewage outlet: a) PL03: immediately NNE (0.2 km) of the sewage outlet, b) PL22: 2 km NNE of the outlet, with a high proportion of silt and clay (< 63 μm), c) PL64: 7 km NNE of the outlet. The vertical dashed lines represent 63 μm . The blue curves represent the deconvoluted populations.

Figure 6.3 shows the percentage of grains < 63 μm (representing silt and clay) and of TOC along both transects. In figure 6.3a, if we exclude station PL03, the values for the percentage of grains < 63 μm vary between 30% and 60%. There appears to be a minor decrease of the percentage of grains < 63 μm values from the SSW to the NNE.

Along the SSW-NNE transect, the percentage of TOC (Figure 6.3b) shows maximum values of about 1.0% at stations PL21 and PL22, followed by a progressive decrease to the NNE (Figure 6.3b left). On the W-E transect a maximum slightly below 1.0% can be observed at station PL08 (Figure 6.3b right).

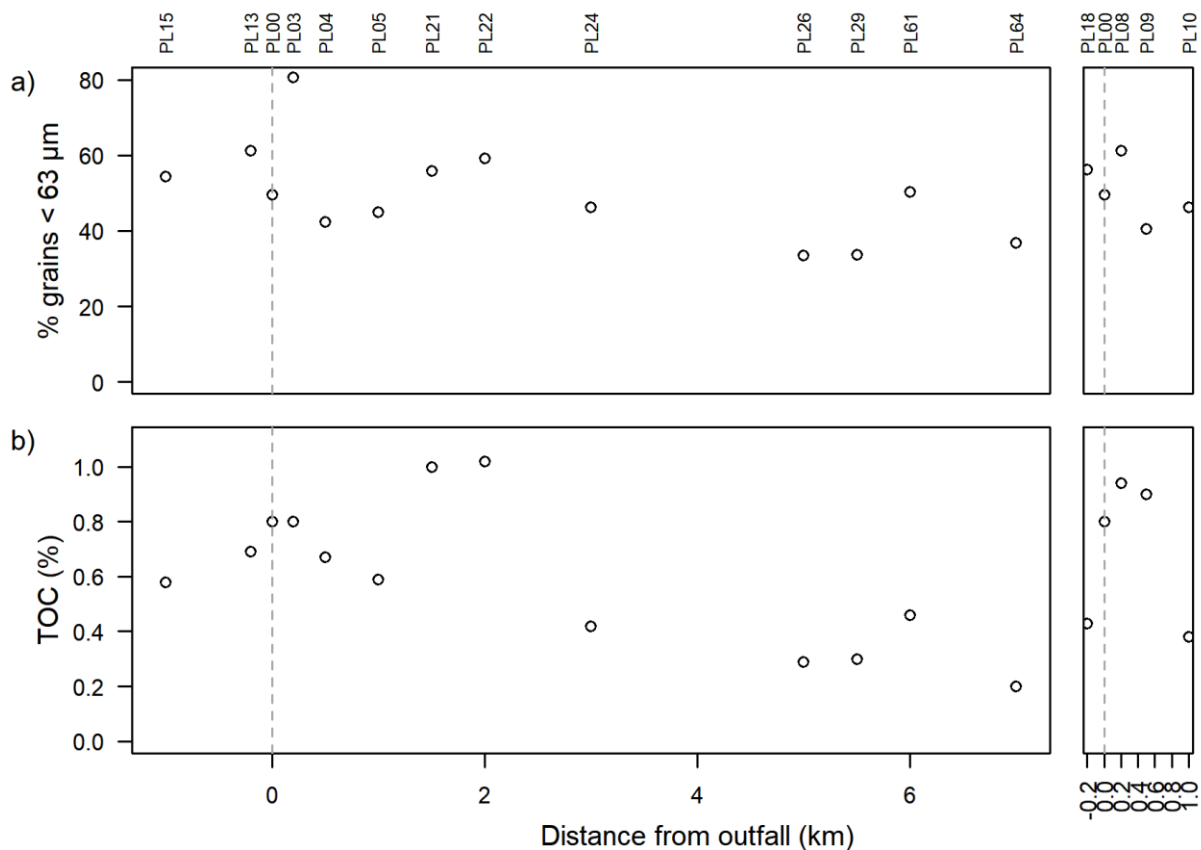


Figure 6.3: a) The percentages of grains < 63 μm, and b) of TOC along the two transects. The left panels represent the SSW-NNE transect and the right panels the W-E transect. The vertical dashed lines indicate the sewage outlet. Station names are indicated above.

6.3.2. Foraminiferal community characteristics

As a consequence of the slightly different methodology used by the two operators, unfortunately some systematic differences can be observed between replicate a (processed by Orit Hyams-Kaphzan) and replicates b and c (processed by Briz Parent). This point is further discussed in section 6.4.2.1. In view of these differences, we decided to base the following description uniquely on replicates b and c. However, in all figures, replicate a will be shown with grey symbols.

6.3.2.1. Foraminiferal density and diversity

Figure 6.4a presents the total foraminiferal abundances standardised for 50cm³. The lowest abundances, of about 30 individuals/50 cm³, are found in the area immediately NNE and East of the sewage outlet (Stations PL04 to PL22 and PL08). This zone of minimal density seems to be bordered by a narrow area with maximal densities, of about 200 ind./50 cm³, observed at stations PL13, PL18 and PL24. At still greater distance with respect to the sewage outlet, foraminiferal density decreases again, until values of 100–150 ind./50 cm³, observed at station PL64, 7 km NNE of the sewage outlet.

The species number follows a very similar pattern (Figure 6.4b), with minimum values, of about 10 species, in the area immediately NNE and ESE of the sewage

outlet, and increasing trends in all directions, until a maximum of about 40 species at PL61, 6.5 km NNE of the outlet. The Shannon index (Figure 6.4c) shows a very similar pattern, and varies between 1.79 and 3.20.

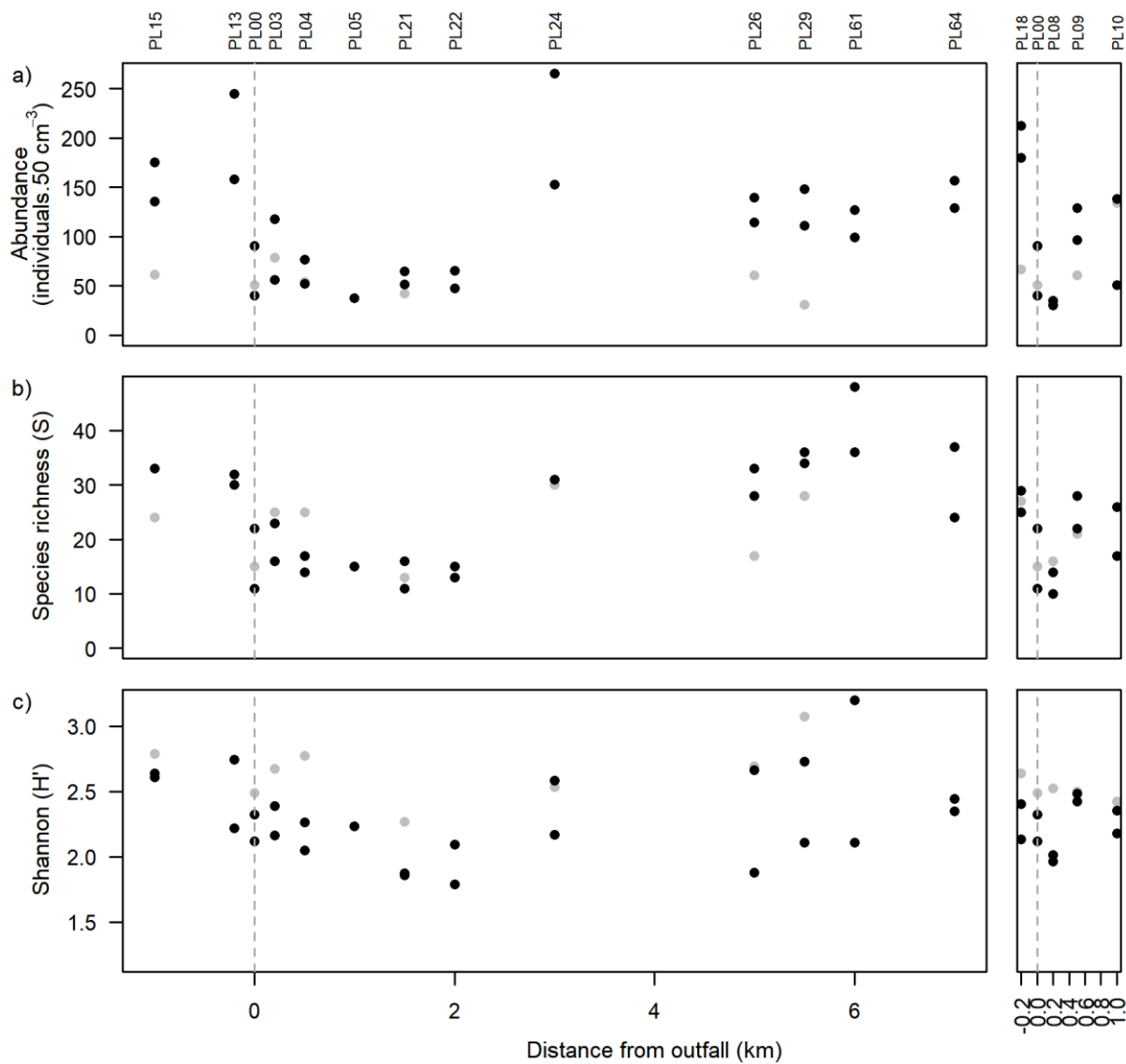


Figure 6.4: a) standardised number of individuals for 50 cm³, b) species richness, and c) exponential of Shannon diversity index along both transects. Left panels represent the SSW-NNE transect and right panels the W-E transect. Grey dots represent replicate a; black dots represent replicates b and c. The vertical dashed lines indicate the sewage outlet. Station names are indicated above. Only samples with more than 20 individuals are displayed.

6.3.2.2. Species composition

Figure 6.5 shows the percentage distribution of the nine major species (> 10% of the total fauna in at least one of the replicates b or c). Together these nine species represent on average 78±6% of the total faunas in replicates b and c.

The faunas in the zone immediately NNE and E of the sewage outlet, where foraminiferal density and diversity are minimal (Stations PL04 to PL22 and PL08), are strongly dominated by *Caronia silvestrii*, whereas *Ammonia tepida*,

Eggerelloides advenus and *E. scaber* are subordinate species. Slightly SSW and W of this area, where faunal density shows localised maxima (Stations PL13 and PL18), *Ammonia tepida* shows a maximum relative abundance. At station PL24, immediately NNE of the low density/diversity area, where faunal density also shows a maximum value, *Bolivina striatula*, *Quinqueloculina boschiana* and *Acostata mariae* present perspicuous relative frequency maxima. Towards greater distance from the sewage outlet, the percentages of all aforementioned taxa tend to show a progressive decrease, which is compensated by a strong increase in the percentage of *Leptohalysis scotti*, which dominates the assemblages in the most northern (PL26 to PL64) and eastern (PL10) stations. Also *Cycloforina quinquecarinata* shows a slight percentage increase at these stations.

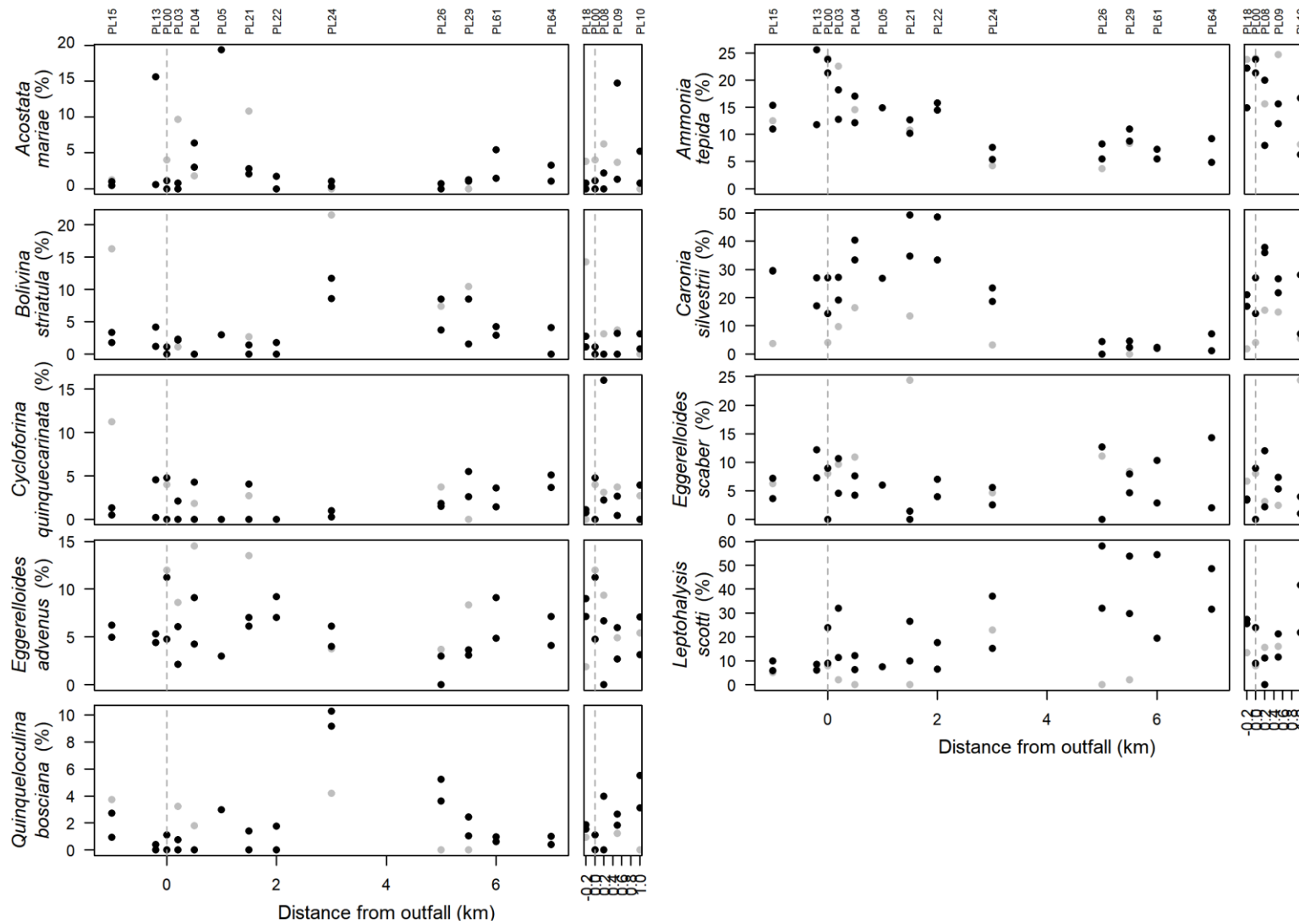


Figure 6.5: Relative abundances of the major species along the two transects. The left panel represents the SSW-NNE transect and the right panel the W-E transect. Grey dots represent replicate a; black dots represent replicates b and c. The vertical dashed lines represent the sewage outlet. Station names are indicated above. Only samples with more than 20 individuals are displayed.

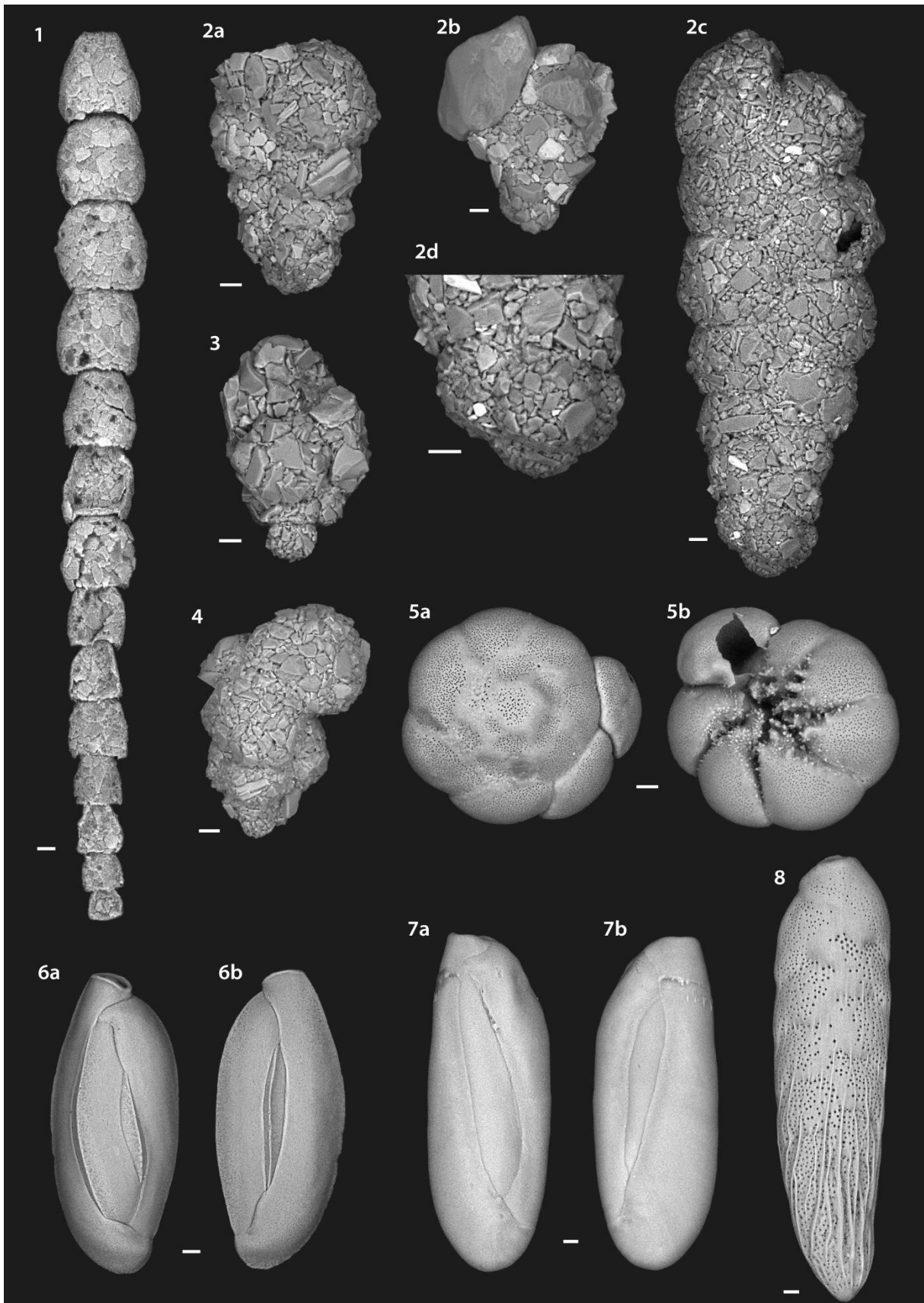


Plate 6.1: 1: *Leptohalysis scotti*; 2: *Caronia silvestrii*, a) and b) juveniles, c) adult, d) zoom on the apex of c); 3: *Eggerelloides scaber*; 4: *Eggerelloides advenus*; 5: *Ammonia tepida*, a) dorsal view, b) umbilical view; 6: *Cycloforina quinquecarinata*; 7: *Quinqueloculina bosciana*, a) front view, b) dorsal view; 8: *Bolivina striatula*; Scale = 20 μm .

6.3.3. Multivariate analyses

Figure 6.6 shows the first two dimensions of a PCA calculated on the basis of the relative frequencies of the total foraminiferal database. After comparing the eigenvalues to the broken stick model, only the first two dimensions, which together explain 69.4% of the total variance, appeared to be significant. The first dimension is mainly loaded by *Leptohalysis scotti* (positively) and *Caronia silvestrii* (negatively). These two species load negatively on dimension 2, where they are opposed to *Trochammina* sp., *Eggerelloides scaber* and *Bolivina striatula*. The major feature observed on the PCA axial plot (Figure 6.6) is the almost perfect separation between all replicates a, which have positive scores on dimension 2, and replicates b and c, which mostly have negative scores (Figure 6.6). As indicated before, this difference is very probably due to a slightly different method used by the two operators, which will be further discussed in section 6.4.2.1. Because of this important systematic difference, we decided to further focus exclusively on replicates b and c.

Figure 6.7 represents the same PCA, but now only calculated on the basis of replicates b and c. Again, only the first two dimensions, explaining 80.6% of the variability, are significant. Only species with a cumulative contribution higher than 0.6 on the two first dimensions are plotted; contributions are presented in table 6.1. The first dimension is negatively loaded by *L. scotti*, whereas *C. silvestrii* and, with a much weaker contribution, *Ammonia tepida* plot on the positive side. Again, *L. scotti* and *C. silvestrii* together plot on the positive side of dimension 2; they are counterbalanced, in decreasing order, by *E. scaber*, *Acostata mariae*, *Cycloforina quinquecarinata* and *Bolivina striatula* on the negative side. The other two major species, *Eggerelloides advenus* and *Quinqueloculina bosciana*, have only a small contribution to the two first dimensions.

The samples plotted in figure 6.7 have arbitrarily been divided into three groups. Samples PL00 to PL22, along the SSW-NNE transect, and PL08, which are all characterised by a low faunal density and diversity, are plotted in red, samples PL13, PL18 and PL24, which are all characterised by maximal faunal densities are plotted in green, whereas all other samples are plotted in blue.

The first group of samples mostly plot on the positive side of dimension 1, the second group of four stations forms a cluster in the middle of the plot, whereas most stations of the third group plot on the negative part of dimension 1. Samples PL09 and PL15 and replicate PL10c, which all have a high faunal diversity and abundance, plot on the positive side of dimension 1. Samples PL03c and PL00c, with low abundances, plot on the negative side of the dimension 1.

In figure 6.7 and table 6.1, the first PCA dimension is strongly negatively correlated (Pearson coefficient = -0.73, p -value < 0.001) with the distance from the sewage outlet, whereas it correlates positively with the percentage of grains < 63 μ m (Pearson coefficient = 0.48, p -value = 0.004) and with the percentage of TOC (Pearson coefficient = 0.74, p -value < 0.001).

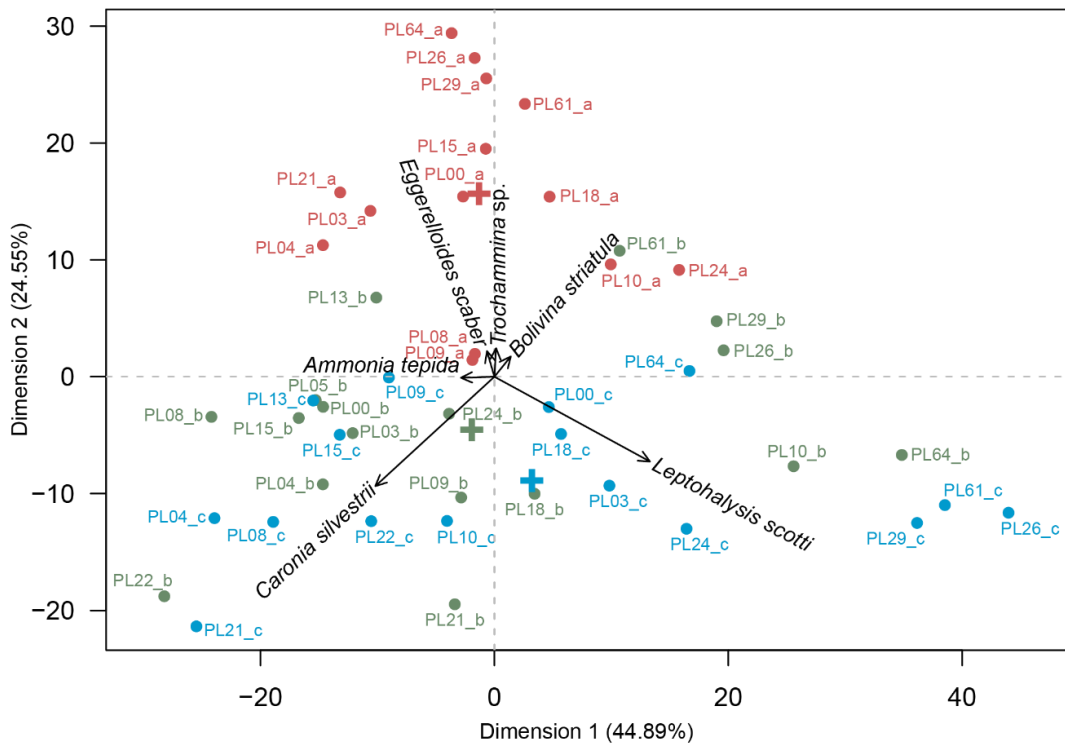


Figure 6.6: Scores of each station on the two first dimensions of a PCA computed on the basis of the total foraminiferal database. The percentage of the total variance explained by each dimension is presented within brackets on the axis labels. Colours represents the replicates: a, red; b, green, and c, blue. Crosses represents the centre of gravity of the three replicates. The species which explain the most variability on both dimensions are displayed.

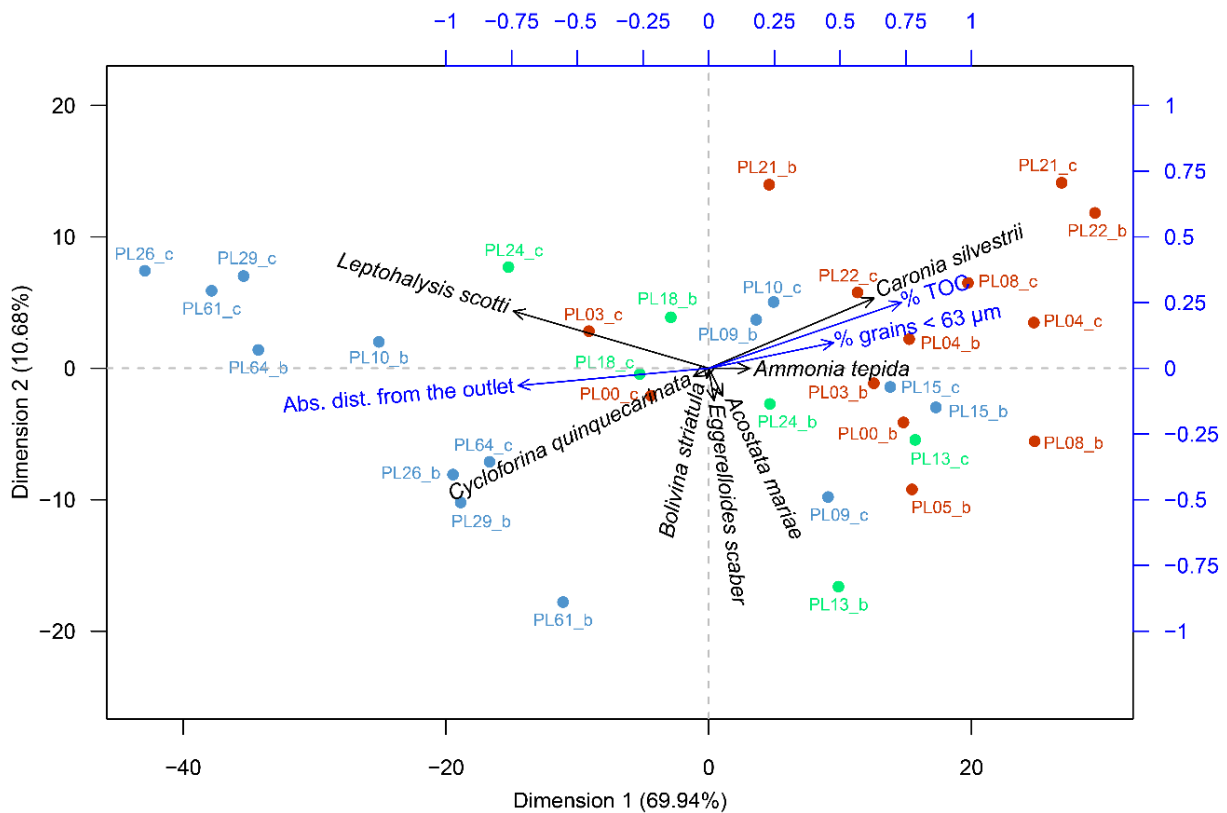


Figure 6.7: Scores of each station on the two first dimensions of a PCA computed on a subset of the foraminiferal database, including only replicates b and c. The percentage of the total variance explained by each dimension is presented within brackets on the axis labels. Only species with a cumulative contribution > 0.6 on the two first dimensions are displayed. Colours are arbitrary attributed to stations with low foraminiferal density and diversity (red), highest density (green), and high density and diversity (blue).

Table 6.1: a) percentage of total variance explained by the first five dimensions. b) Species contributions to the PCA for the five first dimensions. c) Correlation coefficients (Pearson) for the environmental parameters and each of the five first PCA dimensions. *Major species (representing > 10% in at least one sample) with a cumulative contribution < 0.6 on the two first dimensions.

PCA dimension	1	2	3	4	5
a) Percentage of variance explained	69.9	10.7	4.8	4.1	2.2
b) Major species					
<i>Acostata mariae</i>	0.3	7.4	5.5	58.3	5.4
<i>Ammonia tepida</i>	2.4	0.0	71.4	2.9	0.0
<i>Bolivina striatula</i>	0.3	0.6	4.2	0.2	32.3
<i>Caronia silvestrii</i>	40.1	47.3	3.1	0.0	0.7
<i>Cycloforina quinquecarinata</i>	0.0	1.0	2.6	9.6	21.9
<i>Eggerelloides scaber</i>	0.0	10.0	0.3	10.1	6.8
<i>Eggerelloides advenus*</i>	0.2	0.0	1.4	0.2	2.2
<i>Leptohalysis scotti</i>	56.1	31.4	0.1	1.0	2.1
<i>Quinqueloculina boschiana*</i>	0.1	0.0	4.6	0.8	16.9
c) Environmental parameters					
Absolute distance from the outlet (km)	-0.72	-0.09	0.26	0.08	-0.02
% TOC	0.73	0.25	-0.04	-0.03	-0.23
% grains < 63 µm	0.48	0.10	-0.21	0.15	-0.02

6.3.4. Biotic indices

TSI-Med index is based on the cumulative percentage of stress-tolerant species. This percentage has been calculated as the sum of the group of indicator species III, IV, and V of the ecological list proposed by Jorissen *et al.* (2018). Figure 6.8a shows that the cumulative percentage of stress-tolerant species is very high for all stations (65–90%) and no clear pattern can be seen. However, if we remove *Leptohalysis scotti*, which was placed in EGV by Jorissen *et al.* (2018) from the group of stress-tolerant species (Figure 6.8b), a clear trend with decreasing values with increasing distance from the sewage outlet can be observed.

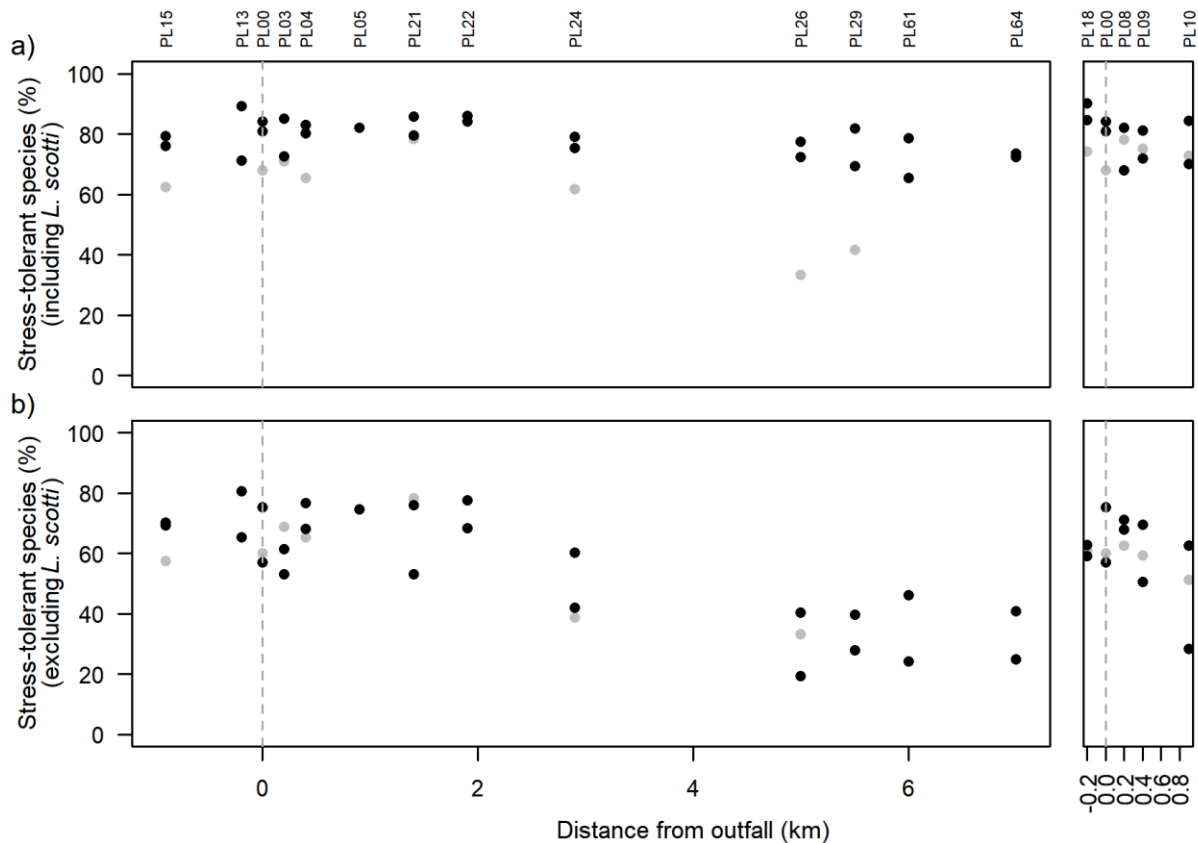


Figure 6.8: a) Cumulative percentage of stress-tolerant species according to the list of Jorissen et al. (2018) (ecological groups III, IV, and V); along the two transects. The left part represents the SSW-NNE transect, the right part the W-E transect (Cf. figure 6.1). b) Similar to a), but now *Leptohalysis scotti* has not been included in the percentage of stress-tolerant taxa. Grey dots represent replicate a; black dots represent replicates b and c. The vertical dashed lines represent the sewage outlet. Station names are indicated above. Only samples with more than 20 individuals are displayed.

Figure 6.9 shows the evolution of two biotic indices (Foram-AMBI and TSI-Med) along the two transects. In figure 6.9a Foram-AMBI shows high values, between 2.4 and 4.7, at all stations, with a tendency towards higher values at greater distance from the sewage outlet. Figure 6.9b shows the TSI-Med values for all stations. Again, values are very high (> 57) at all stations, with only a slight decrease of the index values moving away from the outlet.

The EQS classes assigned on the basis of these faunal indices are different. Whereas most stations are classified as “moderate” by Foram-AMBI, with some replicate as “good” and others as “poor” (Figure 6.9a), TSI-Med describes most stations as “bad” with some replicates as “poor” (Figure 6.9b).

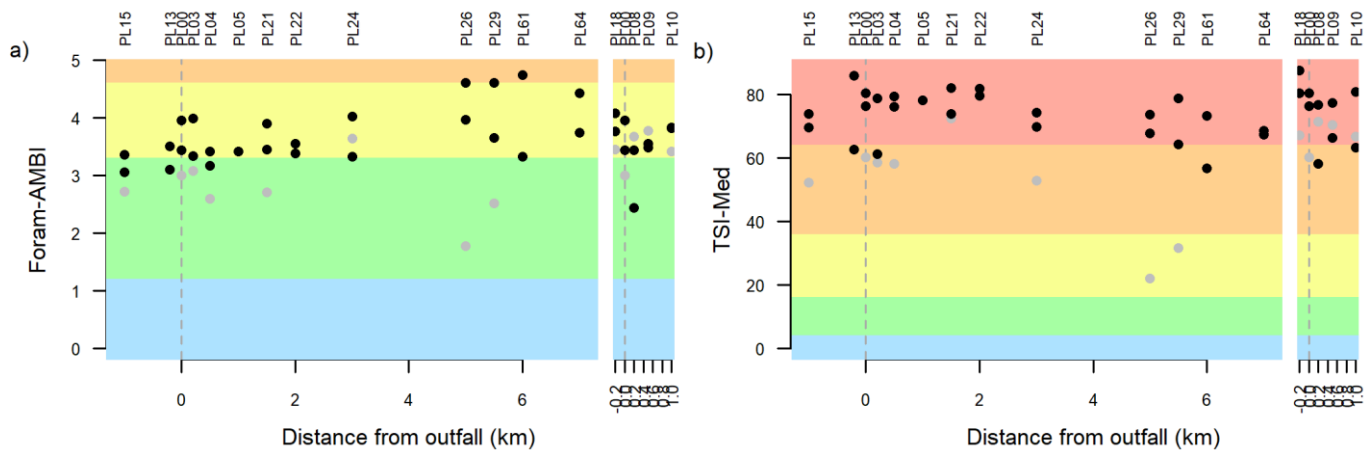


Figure 6.9: Biotic indices along the SSW-NNE and the W-E transects a) Foram-AMBI, b) TSI-Med. Coloured areas represent the EQS: blue: very good; green: good; yellow: moderate; orange: poor; red: bad. Grey dots represent replicate a, black dots replicates b and c. The vertical dashed lines represent the sewage outlet. Station names are indicated above. Only samples with more than 20 individuals are displayed.

6.4. Discussion

The main aims of this chapter are, by studying foraminiferal succession along a well defined organic matter gradient, 1) to verify the ecological assignments of Mediterranean species as recently proposed by Jorissen *et al.* (2018) and 2) to test two biotic indices, based on group of indicator species, developed in the Mediterranean sea.

Like in all similar studies, even in a context of well-constrained environmental parameters, it is essential to define what are the natural conditions of the study area, and what are the modifications due to anthropogenic impact (in this case, due to the introduction of organic rich sludge from a sewage outlet). To answer this question, we will use a combination of grain size and TOC measurements.

Next, we have to consider the faunal successions along the stress gradient, from the severely impacted sites close to the sewage outlet to the sites 7 km NNE of the sewage outlet, which are not, or only marginally affected. This will allow us to verify the ecological assignments of the dominant species published by Jorissen *et al.* (2018). And finally, we have to apply the two biotic indices, TSI-Med (Barras *et al.*, 2014) and Foram-AMBI (Alve *et al.*, 2016) to investigate whether these indices give an adequate description of the environmental quality for each of the stations.

6.4.1. Natural conditions versus anthropogenic pressure gradient

All thirteen stations of the longshore (SSW-NNE) transect are situated at the 36 m isobath. Also along the cross-shore transect, bathymetry changes only very slightly, so that changes in water depth can be ruled out as an explanation for faunal differences. However, at about 40 m water depth, there is a boundary between coarse silts to the west, and fine sands to the east (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2008; Avnaim-Katav *et al.*, 2015). The slight decrease of fine-grained sediment along the W-E transect (Figure 6.3a) could therefore reflect a natural sediment gradient, which could to some extent affect the foraminiferal habitats, and therefore also the community characteristics.

At all 17 stations, the grain size analyses clearly show two main types of sediment grains; a dominant very fine sand population with a mode of $113.8 \pm 9.3 \mu\text{m}$, which is accompanied by two quantitatively much less important coarse silt populations, with modes of $4.5 \pm 0.5 \mu\text{m}$ and $18.9 \pm 3.2 \mu\text{m}$, respectively (Figure 6.2). Only at station PL03, immediately NNE of the sewage outlet, the population of fine silt with a mode of about $4.5 \mu\text{m}$ is much more important. This can only be explained by the introduction of large amounts of silt at the sewage outlet (Figure 6.3).

Figure 6.10, in which the proportion of grains $< 63 \mu\text{m}$ is plotted against the %TOC, shows a significant positive correlation ($r^2 = 0.34$, $p\text{-value} = 0.014$) with a fairly wide scatter. It is remarkable that all stations in the far NNE (PL24, PL26, PL29, PL61, PL64), the two stations SSW of the sewage outlet (PL15, PL13) as well as the two extreme stations of the W-E transect (PL18, PL10) all plot on a straight line (solid dots in figure 6.10). For these stations the correlation between the percentage of clay and silt and the %TOC is much stronger ($r^2 = 0.80$).

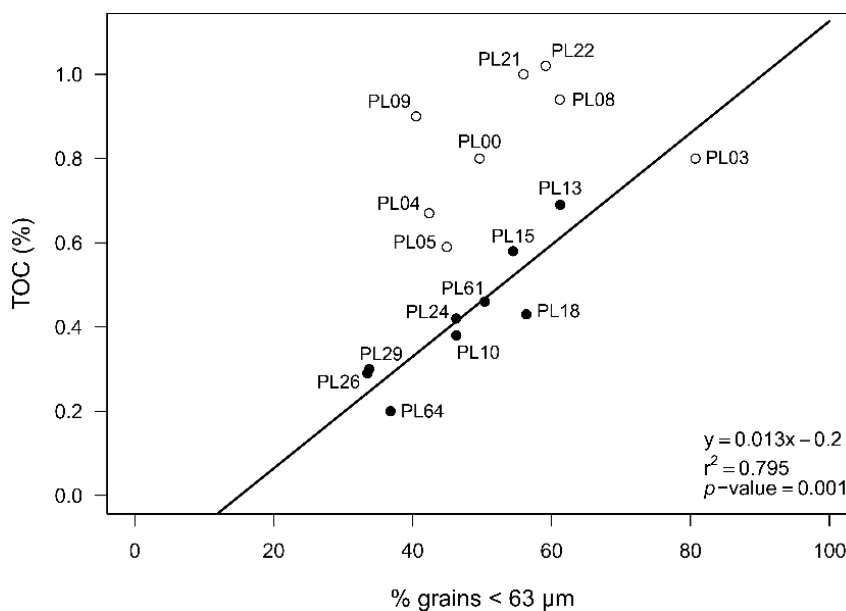


Figure 6.10: percentage of grains $< 63 \mu\text{m}$ against the percentage of TOC. Open symbols: stations close to sewage outlet; solid symbols: stations at greater distance from sewage outlet. The regression curve only includes the second group (solid symbols).

Conversely, all stations close to the outlet, with the exception of station PL03, which appears to be strongly enriched anthropogenically in fine silt, plot well above this line. In our opinion, the trend line for the stations at greater distance from the sewage outlet describes the natural variability of the TOC content in function of sediment grain size, whereas the points close to sewage outlet, which plot above the trend line, are all affected by anthropogenic organic enrichment. By comparing for each station the measured %TOC value with the value corresponding to the station's grain size according to the regression equation based on the station not affected by organic matter enrichment, we can calculate for each station an enrichment factor (Table 6.2).

Table 6.2: for each station the % grains < 63 μm and % TOC are listed. The predicted % TOC is based on the equation presented in figure 6.10. The enrichment factor corresponds to the ratio between the measured % TOC and the % TOC predicted in function of grain size. In red: enrichment factors of stations anthropogenically enriched in TOC. All samples with enrichment factors > 1.25 are considered as impacted (last column).

Station	% grains < 63 μm	% TOC	Predicted % TOC	Enrichment factor	Natural / Impacted
SSW-NNE transect					
PL15	54.5	0.58	0.52	1.11	Natural
PL13	61.2	0.69	0.61	1.13	Natural
PL00	49.6	0.80	0.46	1.75	Impacted
PL03	80.7	0.80	0.87	0.92	Impacted
PL04	42.4	0.67	0.36	1.86	Impacted
PL05	44.9	0.59	0.39	1.49	Impacted
PL21	56.0	1.00	0.54	1.85	Impacted
PL22	59.1	1.02	0.58	1.75	Impacted
PL24	46.3	0.42	0.41	1.02	Natural
PL26	33.5	0.29	0.24	1.19	Natural
PL29	33.7	0.30	0.25	1.22	Natural
PL61	50.4	0.46	0.47	0.98	Natural
PL64	36.8	0.20	0.29	0.70	Natural
W-E transect					
PL18	56.4	0.43	0.55	0.79	Natural
PL00	49.6	0.80	0.46	1.75	Impacted
PL08	61.2	0.94	0.61	1.54	Impacted
PL09	40.5	0.90	0.34	2.68	Impacted
PL10	46.3	0.38	0.41	0.92	Natural

In table 6.2, enrichment factors for the stations farthest away from the sewage site (solid dots in figure 6.10) vary from 0.70 to 1.22, whereas the enrichment factors of stations close to the sewage outlet (open dots in figure 6.10), varies between 1.49 and 2.68, with the exception of station PL03 (0.92). For the latter station, we have shown an important anthropogenic addition of silt particles, explaining the lower enrichment factor. We think that the enrichment factors presented in table 6.2 give a very adequate description of the relative amount of anthropogenic organic enrichment, and we will use these factors for comparison with the faunal data.

To summarise, the comparison of grain size analyses and TOC content strongly suggests that the anthropogenic impact is affecting stations NNE of the sewage outlet, until station PL22, about 2 km NNE. Beyond this point, stations appear no longer to be impacted. On the W-E transect, stations PL08 and PL09, respectively 200 m and 400 m east of the outlet, seem to be organic-enriched, whereas at station PL10, sediment characteristics suggest an absence of anthropogenic impact. The major question is now to what extent the foraminiferal faunal characteristics reflect the various degrees of anthropogenic impact of the sewage outlet?

6.4.2. Response of foraminiferal faunas to anthropogenic enrichment

6.4.2.1. Replicates

Three replicates were sampled at each station (except station PL13). Replicate a was analysed by operator 1 (OH), replicates b and c by operator 2 (BP). Only the second operator used the density separation method (Parent *et al.*, 2018) when judged necessary (in case of large sandy sediment residues). Unfortunately, the two operators obtained different results, which are evidenced by the PCA including the three replicates (Figure 6.6). On average, the inventories of replicates a contained 40% less individuals than those of replicates b and c (Figure 6.4). Additionally, certain species were not found in replicate a, or their relative frequency was an order of magnitude lower than in replicates b and c (Figure 6.5). In certain samples, especially those of the stations with a high amount of sand fraction, the foraminifera are highly diluted in the sediment. In such samples, when the whole sediment is picked, foraminifera can very easily be overlooked, especially very small agglutinant species like *Caronia silvestrii*, which can be easily taken for a sand grain. It appears that after applying the density separation method developed and tested by Parent *et al.* (2018), a much larger part of the total foraminiferal assemblage is obtained.

An additional difference between the two operators was that operator 1 (replicates a) picked dry samples, whereas operator 2 (replicates b and c) picked the samples wet, immersed in water. This second methodological difference very probably explains the much larger amount of miliolids in replicate a compared to b and c ($16.5 \pm 13.4\%$ versus $9.5 \pm 5.7\%$). In fact, dead miliolid tests easily absorb the Rose Bengal stain on the outside of their tests, also specimens which don't contain any protoplasm. For the differentiation between stained and unstained miliolids, it is therefore essential to see whether the protoplasm within the test is stained. It appears that the presence of stained protoplasm can be much better assessed when the foraminiferal tests are immersed in water, so that the otherwise rather opaque tests become transparent. Additionally, when the foraminifera are put into a liquid, the protoplasm (which shrinks when dried) expands, and in many cases, part of the (stained) protoplasm sticks out of the aperture. However, for part of the miliolids, the test is too thick to see the protoplasm even when wetted, and in such cases the test should have been broken to inspect its contents. This has been systematically done by operator 2. We think that the much higher percentage of miliolids in replicates a is the result of these methodological differences. In fact, we think that overestimation of the stained fauna, especially concerning the non-transparent miliolids, leading to unrealistic high foraminiferal densities, is a problem in many studies published in the literature.

As shown by the PCA including the three replicates (Figure 6.6), the replicates a show much less variation along both PCA axes than replicates b and c, especially on the first axis, indicating more similar faunas. It appears therefore that they describe the overall faunal variability less adequately. In view of the systematic differences between replicates a versus b and c, which appear to be largely due to methodological issues, we decided to base our faunal analysis, as well as the following discussion, only on replicates b and c.

6.4.2.2. Previous studies on foraminifera and on macrofauna in the study area

The seasonal variability of benthic foraminiferal community was studied at two stations (PL03 and PL29) every two months between January 2003 and May 2004 (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009). Tadir *et al.* (2017) resampled these stations four times in 2012 (January, May, July, and November), and studied station PL64 in fall and spring. The results show the important impact of the sewage outlet at station PL03 compared to PL29 and PL64. In all seasons, foraminiferal abundances were lower at the eutrophic station PL03 than at the more oligotrophic stations PL29 and PL64. At the more oligotrophic station PL29, the seasonal changes in the foraminiferal faunas were more important than at the eutrophic station PL03. According to Tadir *et al.* (2017), food and oxygen availability are the two main parameters controlling the seasonal variations of the foraminiferal faunas. Chl *a* and TOC are maximal in spring and summer, when foraminiferal faunas attain maximal densities as well (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009). Seasonal anoxia occur in fall at the eutrophic station PL03, and consequently, foraminifera largely disappear. A dead zone was observed in fall 2003 at station PL03 (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009). This dead zone around the outlet was not observed in 2012, probably because of strong storms that year (Tadir *et al.*, 2017). The absence of a dead zone in 2012 may also be related to a tendency towards coarser sediments over time (Tadir *et al.*, 2017). The dead zone developing in fall can extend up to 1 km to the NNE of the sewage outlet (Kress *et al.*, 2004). Foraminifera live deeper in the sediment at the oligotrophic station PL29 but only at the surface at the eutrophic PL03 (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009).

Kress *et al.* (2016) suggested that meteorological conditions in winter appear to greatly influence faunal abundances in spring. Stronger storms occur during rainy winters, which are also characterised by a strengthened northward coastal current. These conditions would favour the northward dispersal of the sewage sludge and thereby diminish the organic load at the most impacted stations, so that the sediment close to the outlet can be reoxygenised. In the spring following such events, macrofauna abundances are higher than the average spring abundances. According to Tadir *et al.* (2017), these phenomena affect the foraminiferal faunas in the same way, and recolonization of the most impacted areas is realised after transport from adjacent areas.

The spring phytoplanktonic bloom is generally followed by a peak of polychaetes in the sediment (Kress *et al.*, 2004). At the eutrophic station PL03, important amounts of polychaetes strongly increase bioturbation, which in turns increases oxygen penetration into the sediment. Next, foraminiferal abundances peak with a short time lag compared to polychaetes, before oxygen is consumed by macrofauna, leading to hypoxia/anoxia in late summer/autumn (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009; Kress *et al.*, 2016).

Our sampling survey took place in May, just before the oxygen concentrations started to drop. At this period of the year, total foraminiferal standing stocks can be very variable from one year to another, depending on the timing of phytoplanktonic blooms and the weather conditions in the previous winter. Our faunal densities correspond well to the average abundances found in spring at stations PL03, PL29 by Hyams-Kaphzan *et al.* (2009) and Tadir *et al.* (2017) but are higher for stations

PL64. We found the same dominant species, although *A. tepida* seems less dominant at stations PL29 and PL64 than in the past (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009; Tadir *et al.*, 2017).

6.4.2.3. Foraminiferal successions along the organic enrichment gradient

Low diversity, high dominance, and low total abundances are characteristic for siliciclastic environments in the study area (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2008; Avnaim-Katav *et al.*, 2015) (Figure 6.4). With a faunal density between 4 and 500 individuals per 50 cm³ in the 0-1 cm level and a species number varying from 2 to 48, this observation is confirmed by our data set. A succession of foraminiferal assemblages can be distinguished along our anthropogenic enrichment gradient (Figure 6.5).

Firstly, a zone where organic enrichment is maximal (Table 6.2; PL00 to PL22 on the SSW-NNE transect, PL00 to PL09 on the W-E transect) is characterised by low faunal densities (30 to 129 individuals per 50 cm³) and species richness (10 to 28 species). Only station PL09 shows slightly raised values for both parameters. A dominance of *Caronia silvestrii* (14–49%) and a high percentage of *Ammonia tepida* (8–24%) are typical for this area (Figure 6.5). In fact, these two species both plot on the positive side of the first dimension of the PCA (Figure 6.7). However, the much higher contribution of *C. silvestrii* suggests that this species is more tolerant to organic enrichment than *A. tepida* (Figure 6.7).

The area of organic enrichment is bordered by a narrow area (observed at stations PL13, PL18, PL24, and to a lesser degree PL15), where organic enrichment is no longer seen in the TOC versus granulometry plot (Figure 6.10 and table 6.2), but where faunal densities are maximal (62–265 individuals per 50 cm³). *Caronia silvestrii* remains a major species at all these stations, but the faunas are further characterised by increased percentages of *Ammonia tepida* (PL13, PL18), *Acostata mariae* (PL13), *Bolivina striatula* and *Quinqueloculina bosciana* (PL24). It appears that these species, which (except *Quinqueloculina bosciana*) on the PCA plot negatively on dimension 2, are less resistant to maximal organic input, but profit from a minor degree of ecosystem enrichment (Figure 6.5).

At the remaining stations (PL26 to PL64 and PL10), where faunal density is average (31 to 157) and the species number attains maximal values (17 to 48), the faunas show a strong dominance of *Leptohalysis scotti*, whereas *Cycloforina quinquecarinata* shows slightly increased percentages (Figure 6.5). Logically, *L. scotti* strongly loads on the negative side of the PCA (Figure 6.7). It appears that these two species are least resistant (among the dominant taxa) to organic enrichment. This is surprising, because *Leptohalysis scotti* has been classified as a 1st order opportunist by Jorissen *et al.* (2018). This major discrepancy will be discussed in the next section.

Two of the major species, *Eggerelloides scaber* and *E. advenus*, have a very low contribution on the first two dimensions (Table 6.2 and figure 6.7). These low contributions are explained by the fact that the relative abundances of these two species do not show a clear trend along the organic enrichment gradient (Figure 6.5).

The succession of foraminiferal faunas along the transect corresponds rather well with the distribution of the macrofauna, which also shows an area of maximal impact from station PL13 to PL22. This area of maximum impact is surrounded by an area of maximal abundances (Kress *et al.*, 2004).

6.4.2.4. Autecology of *Leptohalysis scotti* and *Caronia silvestrii*

Along our organic enrichment gradient, we have observed a clear succession of the three dominant species. *Caronia silvestrii* attains maximal frequencies at the most impacted stations. *Ammonia tepida* peaks a stations at the outskirts of the impacted area, whereas *Leptohalysis scotti* shows maximal percentages at the least impacted stations. Jorissen *et al.* (2018) classified these species in ecological groups III, IV and V, respectively. Although the high percentages in our study area confirm their opportunistic life strategy, their succession along the organic enrichment gradient is the opposite of what could be expected on the basis of the assignments of Jorissen *et al.* (2018). The assignments of *Leptohalysis scotti* and *Caronia silvestrii* appear therefore to be problematic.

Surprisingly, for *Leptohalysis scotti* we observe the highest relative abundances at the stations least affected by organic enrichment (PL10 and PL29 to PL64). In the study area, the same pattern was described by Tadir *et al.* (2017) and Hyams-Kaphzan *et al.* (2009), who observed higher abundances of *Leptohalysis scotti* at the oligotrophic stations PL29 and PL64 than at the eutrophic station PL03, especially from spring to fall. This result is surprising since it contradicts the assignment by Jorissen *et al.* (2018) of *Leptohalysis scotti* to Ecological Group V, which contains the most opportunistic species (1st order opportunists).

The final assignment of *Leptohalysis scotti* to EGV by Jorissen *et al.* (2018) is based on four studies by Hyams-Kaphzan *et al.* (2009), Mojtahid *et al.* (2009), Goineau *et al.* (2011), and Sabbatini *et al.* (2012). In the studies, of Mojtahid *et al.* (2009) and Goineau *et al.* (2011) in the Rhône pro-delta, and Sabbatini *et al.* (2012) on the Italian Adriatic coast, the species was only identified as opportunistic. However, the study from Hyams-Kaphzan *et al.* (2009) in our study area, at stations PL03 and PL29, allowed Jorissen *et al.* (2018) to classify *L. scotti* in EGI. Our present data set shows that assignment to EGI is probably incorrect.

Many observations converge to indicate that *Leptohalysis scotti* can react very rapidly to fresh organic matter input (Scott *et al.*, 2005; Diz *et al.*, 2006; Diz and Francés, 2008; Mojtahid *et al.*, 2009; Goineau *et al.*, 2011), and can act as a first coloniser of newly formed organic-rich substrates (Goineau *et al.*, 2011). In natural environments, *L. scotti* has been observed in subtidal areas close to river mouths (Scott *et al.*, 2005; Diz and Francés, 2008; Mojtahid *et al.*, 2009; Goineau *et al.*, 2011). The species is reactive to high quality organic matter (Diz *et al.*, 2006; Sabbatini *et al.*, 2012), and in experimental settings can migrate upward when organic matter is imported (Ernst, 2005).

Leptohalysis scotti is a shallow sediment dweller (Duijnsteet *et al.*, 2003; Mojtahid *et al.*, 2010). It was found at the surface of sediment where organic carbon concentrations are highest in anthropogenically polluted estuaries (Scott *et al.*, 2005) or in environments impacted by organic matter introduction (Diz and Francés, 2008). In oxygen depleted environments, *Leptohalysis scotti* has been found closer to the sediment surface than under normoxia (Duijnsteet *et al.*, 2003).

Hence, oxygen seems to limit the development of *Leptohalysis scotti* in deeper sediment layers (Duijnsteet *et al.*, 2003; Ernst, 2005).

In our study area, *Leptohalysis scotti* has been observed with high relative abundances at station PL29 in spring (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009), the season we sampled. But these high abundances appear not to be present every year, especially when low oxygen conditions prevail (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009). *Leptohalysis scotti* was found preferentially in the superficial sediment layer in 2012 at the oligotrophic stations PL29 and PL64 (Tadir *et al.*, 2017). At stations PL29, *L. scotti* was found below the first centimetre of sediment only in winter, when the oxygen penetration depth is maximum (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009). Unfortunately, no oxygen measurements are available for our sampling campaign. However, in 2003, oxygen concentrations showed a decrease from May to November and higher oxygen penetration depth (7 mm) in winter (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009).

To summarise, the strong response of *L. scotti* to organic matter input has led to the conclusion that it is a highly opportunistic species, hence its classification as a 1st order opportunist (EGV) by Jorissen *et al.* (2018). It appears that *L. scotti* is indeed capable to respond opportunistically to organic matter input, but only if this input is not accompanied by strongly adverse conditions, like strong hypoxia or anoxia. Our present data, which show maximal percentages of *L. scotti* at the least impacted stations, strongly suggest that this species is less resistant to the adverse conditions accompanying organic enrichment than *Caronia silvestrii* and *Ammonia tepida*, and that consequently, it should rather be classified as a third order opportunist (EGIII).

The species *Caronia silvestrii* shows the highest relative abundances at the most impacted stations (PL00 to PL22, and PL08) and a decrease to the NNE. Jorissen *et al.* (2018) assigned *Caronia silvestrii* as a 3rd order opportunist (EGIII) on the basis of only two studies, Ernst (2005) and Hyams-Kaphzan *et al.* (2009). *Caronia silvestrii* could only be assigned as an opportunist species (EGIII-IV-V) on the basis of Ernst (2005), whereas it behaved as an indifferent species (EGII) in the study from Hyams-Kaphzan *et al.* (2009).

In the Adriatic Sea, *Caronia silvestrii* has been described in organic-rich settings, with a microhabitat extending down to several centimetres (Jorissen *et al.*, 1992; Barmawidjaja *et al.*, 1995). In experimental settings with sediment from the northern Adriatic Sea, populations of *Caronia silvestrii* were present at several centimetres depth in the sediment, even in oxygen depleted conditions (Ernst *et al.*, 2002; Duijnsteet *et al.*, 2004; Ernst, 2005). *Caronia silvestrii* was shown to strongly react to organic matter enrichment, by moving to the sediment surface (Ernst, 2005).

In our study area, *Caronia silvestrii* has been described with increased abundances in May (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009). However, its relative abundance was not higher at the eutrophic station PL03 compared to the oligotrophic one PL29 (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009) and it was only found in very low abundances in 2012 (Tadir *et al.*, 2017).

To summarise, *Caronia silvestrii* is highly tolerant to organic matter enrichment, and contrary to *Leptohalysis scotti* it can also live deeper in sediment and support low oxygen levels.

In view of the succession observed in our study area, the assignments of *L. scotti* and *C. silvestrii* by Jorissen *et al.* (2018) apparently need to be modified. In our study area, *C. silvestrii* is the species which is most resistant to organic enrichment, whereas *L. scotti* is behaving as a species which is rather sensitive to strong organic enrichment. However, the very high densities of *L. scotti* nevertheless suggest an opportunistic nature. Our sampling took place in May. It appears that at this season, the conditions at the stations farther away from the sewage outlet (PL26 to PL64) were ideal for *L. scotti*. Its very high relative frequencies at these sites could very well be a response to the combination of organic enrichment resulting from spring algal blooms and a well oxygenated sediment surface after reoxygenation in winter, reinforced by intensive polychaete bioturbation (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009; Kress *et al.*, 2016). In view of these new data, it seems judicious to classify *C. silvestrii* in EGV and *L. scotti* in EGIII.

Such a modification of ecological assignments is not surprising. Jorissen *et al.* (2018) have already foreseen that this would happen, when more data sets would become available. In fact, the present dataset is the first one for the Mediterranean, where the faunal succession can be compared with a well quantified organic matter gradient.

6.4.3. Biotic indices

For TSI-Med, the proportion of stress-tolerant species corresponds to the sum of the three groups of indicator species EGIII, EGIV, and EGV defined in Foram-AMBI, which corresponds to all opportunistic and/or stress-tolerant species. Ideally, both foraminiferal indices should show a gradient of decreasing values from the most impacted sites close to the sewage outlet to the unimpacted or very moderately impacted sites farther away. However, we saw that when the original species assignments are used (Figure 6.9), no gradient is found for TSI-Med, whereas an inversed gradient is found for Foram-AMBI, with increased values at the least impacted stations. In figure 6.11a, Foram-AMBI has been calculated with the corrected assignments for *Caronia silvestrii* (EGV) and *Leptohalysis scotti* (EGIII). Now, there is a clear tendency towards lower values at a greater distance from the sewage outlet. Values vary from about 4.1 ± 0.4 at the most impacted sites to 2.8 ± 0.5 at the least impacted sites. The environmental quality now improves along the main transect, from “poor” to “good” at the least impacted stations.

In figure 6.11b, TSI-Med has been recalculated, without including *Leptohalysis scotti* in the group of stress-tolerant taxa. Again, a much stronger decrease shows up, from about 57 ± 13 (bad quality) at the most impacted stations, to values around 24 ± 14 (good to moderate) at the least impacted stations. However, not counting *L. scotti* as a stress-tolerant and/or opportunistic taxon seems to be in contradiction with all observations concerning the ecology of this taxa, including the ones made in this study, which confirm its opportunistic character.

A comparison of figures 6.11a and 6.11b shows that the SSW-NNE decrease is much stronger for TSI-Med than for Foram-AMBI. This suggests that when *L. scotti* is excluded from the opportunistic/stress-tolerant taxa, TSI-Med is the more sensitive index. The EQS classes assigned on the basis of these faunal indices are very different. Whereas all stations are classified as “moderate” to “good” by Foram-AMBI (Figure 6.11a), TSI-Med shows a much wider range, from “bad” to

“good” (Figure 6.9b). These differences underline the need to reconsider the EQS boundaries.

For Foram-AMBI, the percentage of assigned species is very high: $91 \pm 4\%$ for replicates b and c, showing that almost all species have been assigned to an ecological group.

In figure 6.12, the enrichment factors for each station, determined in section 6.4.1, are plotted against both indices, Foram-AMBI (Figure 6.12a) and TSI-Med (Figure 6.12b). Both plots show significant correlations, which confirm a direct relation between the pressure gradient due to the sewage outlet and the composition of the foraminiferal faunas. In figure 6.12, the two transects are considered together. We can see that for low values of the enrichment factor the TSI-Med values have a wide distribution. This suggests that at some stations, where the sediment composition did not indicate an organic enrichment during our sampling, the faunas were still affected, possibly showing a delayed response to an earlier enrichment phase.

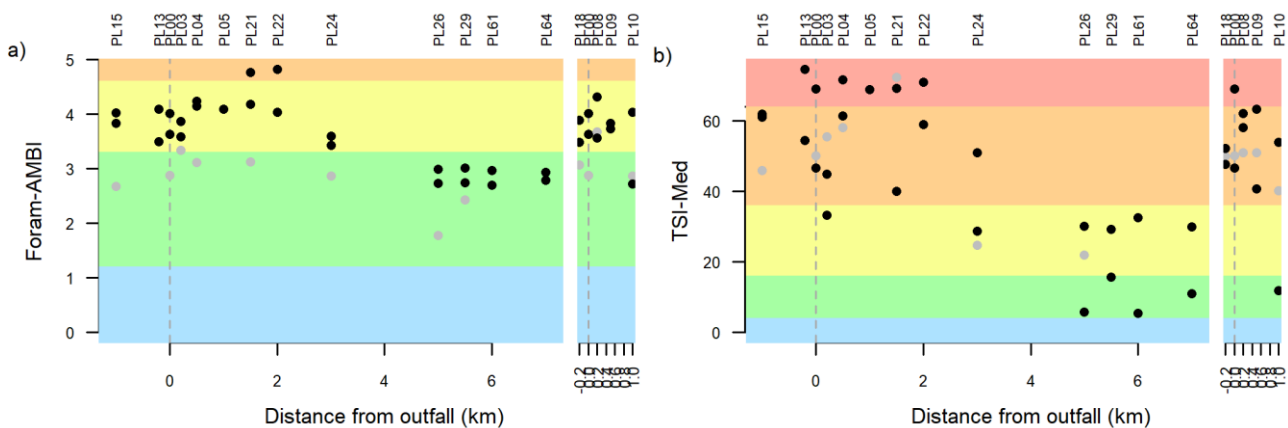


Figure 6.11: Biotic indices along the SSW-NNE and the W-E transects a) Foram-AMBI with *Leptohalysis scotti* assigned as EGIII (3rd order opportunist) and *Caronia silvestrii* assign as EGV (1st order opportunist), b) TSI-Med with *Leptohalysis scotti* not included in the category of stress-tolerant taxa. Coloured areas represent the EQS: blue: very good; green: good; yellow: moderate; orange: poor; red: bad. Grey dots represent replicate a, black dots represent replicates b and c. The vertical dashed lines represent the sewage outlet. Station names are indicated above. Only samples with more than 20 individuals are displayed.

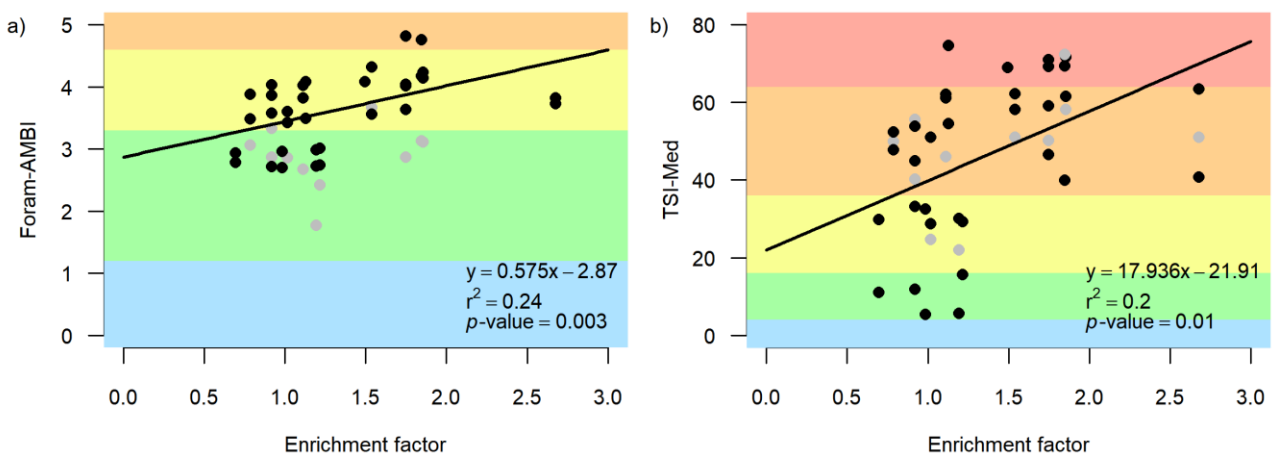


Figure 6.12: Enrichment factors plotted against a) Foram-AMBI with *Leptohalysis scotti* assigned as EGIII (3rd order opportunist) and *Caronia silvestrii* assign as EGV (1st order opportunist), b) TSI-Med with *Leptohalysis scotti* not included in the category of stress-tolerant taxa. Coloured areas represent the EQS: blue: very good; green: good; yellow: moderate; orange: poor; red: bad. Grey

dots represent replicate a, black dots represent replicates b and c. Only replicates b and are included in the calculation of the regression line (black line). Only samples with more than 20 individuals are displayed.

6.4.4. Correction for natural eutrophic conditions

TSI-Med includes a grain size parameter that aims to correct for the natural trophic state. Sediments with finer grain size will naturally contain higher abundances of stress-tolerant species. Therefore, without such a correction, the environmental quality of muddy sediments will be considered as bad and that of sandy sediments as good. In our study area, the sediment is mainly composed of very fine to fine sand (except at station PL03), and for this reason the correction for natural trophic conditions, which is based on the percentage of grains $< 63 \mu\text{m}$, is rather weak. However, at station PL03, immediately NNE of the sewage outlet, the sediment is much richer in silt grains, which evidently are of anthropogenic origin. Because of this higher proportion of fine sediment grains, the TSI-Med value of this station is corrected so that it is slightly lower than at the nearby stations (Figure 6.11b). We see here the limit of the correction for natural trophic state applied by the TSI-Med method. In this case, where fine-grained sediment is added together with organic waste material, the correction appears to be unjustified. This indicates also that whenever this correction is applied, it has to be checked whether the sediment grain size reflects natural conditions, or has been modified by anthropogenic activities.

6.5. Conclusion

A clear succession of foraminiferal faunas is found along a well-defined organic enrichment gradient around a sewage outlet at 36 m depth. From the most impacted to the least impacted sites, the faunas are successively dominated by *Caronia silvestrii*, *Ammonia tepida*, and *Leptohalysis scotti*.

The previous ecological assignments of *Leptohalysis scotti* and *Caronia silvestrii* are not in accordance with these observations. In our opinion, *Leptohalysis scotti* should be classified in EGIII whereas *Caronia silvestrii* should be place in EGV. Additionally, *L. scotti* should not be considered as a stress-sensitive species in TSI-Med. When these modifications are tested, it appears that both biotic indices are significantly correlated with the degree of impact of the successive stations. The two biotic indices adequately assess the anthropogenic effect of the sewage outlet and a clear trend can be identified. However, it appears urgent to redefine the EQS limits for Foram-AMBI, which appear to be inadequate.

The two biotic indices (TSI-Med and Foram-AMBI) have been applied on an independent data set and in a different area from where they were developed. The obtained results are promising, but also stress the need for more data sets, which will allow a reclassification of some of the taxa, which is essential for the correct application of these faunal indices.

In view of the earlier studies performed in the study area, it appears that the foraminiferal faunas show a strong seasonal variability (Hyams-Kaphzan *et al.*, 2009; Kress *et al.*, 2016; Tadir *et al.*, 2017), which will certainly have consequences for the biotic index values as well. The results of the environmental quality are dependent of the sampling period. It would be highly interesting to distinguish between the anthropogenic impact and faunal changes due to natural seasonal

variability. Finally, the future reduction of sewage input offers the opportunity to monitor the recovery potential of the area (Kress *et al.*, 2016).

References

- Alve, E. 1995. Benthic Foraminiferal responses to estuarine pollution: a review. *Journal of Foraminiferal Research*, 25: 190–2003.
- Alve, E., Lepland, A., Magnusson, J., and Backer-Owe, K. 2009. Monitoring strategies for re-establishment of ecological reference conditions: Possibilities and limitations. *Marine Pollution Bulletin*, 59: 297–310.
- Alve, E., Korsun, S., Schönfeld, J., Dijkstra, N., Golikova, E., Hess, S., Husum, K., et al. 2016. Foram-AMBI: A sensitivity index based on benthic foraminiferal faunas from North-East Atlantic and Arctic fjords, continental shelves and slopes. *Marine Micropaleontology*, 122: 1–12.
- Arieli, R. N., Almogi-Labin, A., Abramovich, S., and Herut, B. 2011. The effect of thermal pollution on benthic foraminiferal assemblages in the Mediterranean shoreface adjacent to Hadera power plant (Israel). *Marine Pollution Bulletin*, 62: 1002–1012.
- Avnaim-Katav, S., Hyams-Kaphzan, O., Milker, Y., and Almogi-Labin, A. 2015. Bathymetric zonation of modern shelf benthic foraminifera in the Levantine Basin, eastern Mediterranean Sea. *Journal of Sea Research*, 99: 97–106.
- Azov, Y. 1991. Eastern Mediterranean—a marine desert? *Marine Pollution Bulletin*, 23: 225–232.
- Barmawidjaja, D. M., van der Zwaan, G. J., Jorissen, F. J., and Puskaric, S. 1995. 150 years of eutrophication in the northern Adriatic Sea: Evidence from a benthic foraminiferal record. *Marine Geology*, 122: 367–384.
- Barras, C., and Jorissen, F. J. 2011. Étude des faunes de foraminifères benthiques de la côte méditerranéenne française: mise en place d'un nouvel indice biotique dans le cadre de Directive Cadre Eau - Campagne DCE 2009. Laboratoire des Bio-Indicateurs Actuels et Fossiles (BIAF) Université d'Angers, Angers, France.
- Barras, C., Jorissen, F. J., Labrunne, C., Andral, B., and Boissery, P. 2014. Live benthic foraminiferal faunas from the French Mediterranean Coast: Towards a new biotic index of environmental quality. *Ecological Indicators*, 36: 719–743.
- Birk, S., Bonne, W., Borja, A., Brucet, S., Courrat, A., Poikane, S., Solimini, A., et al. 2012. Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecological Indicators*, 18: 31–41.
- Borja, Á., Franco, J., and Pérez, V. 2000. A Marine Biotic Index to Establish the Ecological Quality of Soft-Bottom Benthos Within European Estuarine and Coastal Environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 1100–1114.
- Borja, A., Muxika, I., and Franco, J. 2003. The application of a Marine Biotic Index to different impact sources affecting soft-bottom benthic communities along European coasts. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 835–845.
- Borja, Á., Dauer, D. M., and Grémare, A. 2012. The importance of setting targets and reference conditions in assessing marine ecosystem quality. *Ecological Indicators*, 12: 1–7.

- Bouchet, V. M. P., Alve, E., Rygg, B., and Telford, R. J. 2012. Benthic foraminifera provide a promising tool for ecological quality assessment of marine waters. *Ecological Indicators*, 23: 66–75.
- Dauvin, J.-C., Bellan, G., and Bellan-Santini, D. 2010. Benthic indicators: From subjectivity to objectivity – Where is the line? *Marine Pollution Bulletin*, 60: 947–953.
- Dimiza, M. D., Triantaphyllou, M. V., Koukousioura, O., Hallock, P., Simboura, N., Karageorgis, A. P., and Papatheanasiou, E. 2016. The Foram Stress Index: A new tool for environmental assessment of soft-bottom environments using benthic foraminifera. A case study from the Saronikos Gulf, Greece, Eastern Mediterranean. *Ecological Indicators*, 60: 611–621.
- Diz, P., Francés, G., and Rosón, G. 2006. Effects of contrasting upwelling–downwelling on benthic foraminiferal distribution in the Ría de Vigo (NW Spain). *Journal of Marine Systems*, 60: 1–18.
- Diz, P., and Francés, G. 2008. Distribution of live benthic foraminifera in the Ría de Vigo (NW Spain). *Marine Micropaleontology*, 66: 165–191.
- Dolven, J. K., Alve, E., Rygg, B., and Magnusson, J. 2013. Defining past ecological status and in situ reference conditions using benthic foraminifera: A case study from the Oslofjord, Norway. *Ecological Indicators*, 29: 219–233.
- Duijnste, I., de Lugt, I., Vonk Noordegraaf, H., and van der Zwaan, B. 2004. Temporal variability of foraminiferal densities in the northern Adriatic Sea. *Marine Micropaleontology*, 50: 125–148.
- Duijnste, I. A. P., Ernst, S. R., and van der Zwaan, G. J. 2003. Effect of anoxia on the vertical migration of benthic foraminifera. *Marine Ecology Progress Series*, 246: 85–94.
- Ernst, S., Duijnste, I., and van der Zwaan, B. 2002. The dynamics of the benthic foraminiferal microhabitat: recovery after experimental disturbance. *Marine Micropaleontology*, 46: 343–361.
- Ernst, S. 2005. Experimental effects of an organic matter pulse and oxygen depletion on a benthic foraminiferal shelf community. *The Journal of Foraminiferal Research*, 35: 177–197.
- Ferreira, J. G., Andersen, J. H., Borja, A., Bricker, S. B., Camp, J., Cardoso da Silva, M., Garcés, E., et al. 2011. Overview of eutrophication indicators to assess environmental status within the European Marine Strategy Framework Directive. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 93: 117–131.
- Frontalini, F., and Coccioni, R. 2011. Benthic foraminifera as bioindicators of pollution: A review of Italian research over the last three decades. *Revue de Micropaléontologie*, 54: 115–127.
- Garzanti, E., Andò, S., Padoan, M., Vezzoli, G., and El Kammar, A. 2015. The modern Nile sediment system: Processes and products. *Quaternary Science Reviews*, 130: 9–56.
- Gelman, F., Binstock, R., and Halicz, L. 2012. Application of the Walkley–Black titration for the organic carbon quantification in organic rich sedimentary rocks. *Fuel*, 96: 608–610.
- Glémarec, M., and Hily, C. 1981. Perturbations apportées à la macrofaune benthique de la baie de Concarneau par les effluents urbains et portuaires. *Acta Oecologica Oecologia Applicata*, 2: 139–150.
- Goineau, A., Fontanier, C., Jorissen, F. J., Lansard, B., Buscail, R., Mouret, A., Kerhervé, P., et al. 2011. 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: 58–75.
- Grall, J., and Glémarec, M. 1997. Using biotic indices to estimate macrobenthic community perturbations in the Bay of Brest. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 44: 43–53.
- Gray, J. S., and Pearson, T. H. 1982. Objective Selection of Sensitive Species Indicative of Pollution-Induced Change in Benthic Communities. I. Comparative Methodology. *Marine Ecology Progress Series*, 9: 111–119.
- Grémare, A., Labrune, C., Vanden Berghe, E., Amouroux, J., Bachelet, G., Zettler, M., Vanaverbeke, J., et al. 2009. Comparison of the performances of two biotic indices based on the MacroBen database. *Marine Ecology Progress Series*, 382: 297–311.
- Hallock, P., Lidz, B. H., Cockey-Burkhard, E. M., and Donnelly, K. B. 2003. Foraminifera as bioindicators in coral reef assessment and monitoring the FORAM index. In *Coastal Monitoring through Partnerships*, pp. 221–238. Springer Netherlands, Pensacola Beach, FL, U.S.A.
- Hyams-Kaphzan, O., Almogi-Labin, A., Sivan, D., and Benjamini, C. 2008. Benthic foraminifera assemblage change along the southeastern Mediterranean inner shelf due to fall-off of Nile-derived siliciclastics. *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie - Abhandlungen*, 248: 315–344.
- Hyams-Kaphzan, O., Almogi-Labin, A., Benjamini, C., and Herut, B. 2009. Natural oligotrophy vs. pollution-induced eutrophy on the SE Mediterranean shallow shelf (Israel): Environmental parameters and benthic foraminifera. *Marine Pollution Bulletin*, 58: 1888–1902.
- Jorissen, F. J., Barmawidjaja, D. M., Puskaric, S., and van der Zwaan, G. J. 1992. Vertical distribution of benthic foraminifera in the northern Adriatic Sea: The relation with the organic flux. *Marine Micropaleontology*, 19: 131–146.
- Jorissen, F. J., De Stigter, H., and Widmark, J. G. V. 1995. A conceptual model explaining benthic foraminiferal microhabitats. *Marine Micropaleontology*, 26: 3–15.
- Jorissen, F. J. 1999. Benthic foraminiferal microhabitats below the sediment-water interface. In *Modern Foraminifera*, pp. 161–179. Springer, Dordrecht, The Netherlands. https://doi.org/10.1007/0-306-48104-9_10.
- Jorissen, F. J., Bicchi, E., Duchemin, G., Durrieu, J., Galgani, F., Cazes, L., Gaultier, M., et al. 2009. Impact of oil-based drill mud disposal on benthic foraminiferal assemblages on the continental margin off Angola. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 56: 2270–2291.
- Jorissen, F. J., Nardelli, M. P., Almogi-Labin, A., Barras, C., Bergamin, L., Bicchi, E., El Kateb, A., et al. 2018. Developing Foram-AMBI for biomonitoring in the Mediterranean: Species assignments to ecological categories. *Marine Micropaleontology*, 140: 33–45.
- Kress, N., Herut, B., and Galil, B. S. 2004. Sewage sludge impact on sediment quality and benthic assemblages off the Mediterranean coast of Israel—a long-term study. *Marine Environmental Research*, 57: 213–233.
- Kress, N., Shoham-Frider, E., and Galil, B. S. 2016. Twenty two years of sewage sludge marine disposal monitoring in the Eastern Mediterranean Sea: Impact on sediment quality and infauna and the response to load reduction. *Marine Pollution Bulletin*, 110: 99–111.

- Lazzari, P., Solidoro, C., Ibello, V., Salon, S., Teruzzi, A., Béranger, K., Colella, S., et al. 2012. Seasonal and inter-annual variability of plankton chlorophyll and primary production in the Mediterranean Sea: a modelling approach. *Biogeosciences*, 9: 217–233.
- Lê, S., Josse, J., and Husson, F. 2008. FactoMineR: A Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, 25: 1–18.
- Leonardsson, K., Blomqvist, M., Magnusson, M., Wikström, A., and Rosenberg, R. 2015. Calculation of species sensitivity values and their precision in marine benthic faunal quality indices. *Marine Pollution Bulletin*, 93: 94–102.
- Martínez-Crego, B., Alcoverro, T., and Romero, J. 2010. Biotic indices for assessing the status of coastal waters: a review of strengths and weaknesses. *Journal of Environmental Monitoring*, 12: 1013.
- Mojtahid, M., Jorissen, F. J., Durrieu, J., Galgani, F., Howa, H., Redois, F., and Camps, R. 2006. Benthic foraminifera as bio-indicators of drill cutting disposal in tropical east Atlantic outer shelf environments. *Marine Micropaleontology*, 61: 58–75.
- Mojtahid, M., Jorissen, F. J., and Pearson, T. H. 2008. Comparison of benthic foraminiferal and macrofaunal responses to organic pollution in the Firth of Clyde (Scotland). *Marine Pollution Bulletin*, 56: 42–76.
- Mojtahid, M., Jorissen, F. J., Lansard, B., Fontanier, C., Bombled, B., and Rabouille, C. 2009. Spatial distribution of live benthic foraminifera in the Rhône prodelta: Faunal response to a continental–marine organic matter gradient. *Marine Micropaleontology*, 70: 177–200.
- Mojtahid, M., Jorissen, F., Lansard, B., and Fontanier, C. 2010. Microhabitat selection of benthic foraminifera in sediments off the Rhône river mouth (NW Mediterranean). *Journal of Foraminiferal Research*, 40: 231–246.
- Muxika, I., Borja, Á., and Bonne, W. 2005. The suitability of the marine biotic index (AMBI) to new impact sources along European coasts. *Ecological Indicators*, 5: 19–31.
- Muxika, I., Borja, Á., and Bald, J. 2007. Using historical data, expert judgement and multivariate analysis in assessing reference conditions and benthic ecological status, according to the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 55: 16–29.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlenn, D., Minchin, P. R., et al. 2017. *vegan: Community Ecology Package*. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Parent, B., Barras, C., and Jorissen, F. 2018. An optimised method to concentrate living (Rose Bengal-stained) benthic foraminifera from sandy sediments by high density liquids. *Marine Micropaleontology*, 144: 1–13.
- Pearson, T. H., and Rosenberg, R. 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and Marine Biology - An Annual Review*, 16: 229–311.
- Pinedo, S., Jordana, E., and Ballesteros, E. 2015. A critical analysis on the response of macroinvertebrate communities along disturbance gradients: description of MEDOCC (MEDiterranean OCCidental) index. *Marine Ecology*, 36: 141–154.
- Pinto, R., Patrício, J., Baeta, A., Fath, B. D., Neto, J. M., and Marques, J. C. 2009. Review and evaluation of estuarine biotic indices to assess benthic condition. *Ecological Indicators*, 9: 1–25.

- Puente, A., and Diaz, R. J. 2015. Response of benthos to ocean outfall discharges: does a general pattern exist? *Marine Pollution Bulletin*, 101: 174–181.
- R Core Team. 2017. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Rosenberg, R. 2001. Marine benthic faunal successional stages and related sedimentary activity. *Scientia Marina*, 65: 107–119.
- Sabbatini, A., Bonatto, S., Bianchelli, S., Pusceddu, A., Danovaro, R., and Negri, A. 2012. Foraminiferal assemblages and trophic state in coastal sediments of the Adriatic Sea. *Journal of Marine Systems*, 105–108: 163–174.
- Scott, D. B., Tobin, R., Williamson, M., Medioli, F. S., Latimer, J. S., Boothman, W. A., Asioli, A., et al. 2005. Pollution monitoring in two North American estuaries: historical reconstructions using benthic foraminifera. *Journal of Foraminiferal Research*, 35: 65–82.
- Shannon, C. E. 1948. A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal*, 27: 379–423.
- Simboura, N., and Zenetos, A. 2002. Benthic indicators to use in Ecological Quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new Biotic Index. *Mediterranean Marine Science*, 3: 77.
- Tadir, R., Benjamini, C., Almogi-Labin, A., and Hyams-Kaphzan, O. 2017. Temporal trends in live foraminiferal assemblages near a pollution outfall on the Levant shelf. *Marine Pollution Bulletin*, 117: 50–60.
- van der Zwaan, G. J., and Jorissen, F. J. 1991. Biofacial patterns in river-induced shelf anoxia. Geological Society, London, Special Publications, 58: 65–82.
- Yanko, V., Kronfeld, J., and Flexer, A. 1994. Response of benthic Foraminifera to various pollution sources; implications for pollution monitoring. *The Journal of Foraminiferal Research*, 24: 1–17.

Appendix

Appendix 6.A: Information on the sampled stations

Station	Replicate	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Depth (m)	Absolute distance from the outfall (km)	Use of flotation method	% TOC	% grains < 63 µm	Number of individuals for 50 cm ³	Number of species	Shannon index (H')	TSI-Med	TSI-Med2012 modified assignment	Foram-AMBI	Foram-AMBI modified assignment
PL00	a	31° 55' 45.014"	34° 38' 49.263"	36.8	0	no	0.8	49.6	55	15	2.54	54.3	50.1	3.0	2.87
PL00	b	31° 55' 45.014"	34° 38' 49.263"	36.8	0	SPT2.3	0.8	49.6	71	21	2.30	85.7	69.2	3.4	4.01
PL00	c	31° 55' 45.014"	34° 38' 49.263"	36.8	0	no	0.8	49.6	46	14	2.39	84.4	46.6	3.9	3.63
PL03	a	31° 56' 2.342"	34° 39' 0.662"	36.1	0.2	no	0.8	80.7	77	24	2.61	73.9	55.5	3.1	3.33
PL03	b	31° 56' 2.342"	34° 39' 0.662"	36.1	0.2	no	0.8	80.7	124	24	2.55	58.3	44.9	3.3	3.86
PL03	c	31° 56' 2.342"	34° 39' 0.662"	36.1	0.2	no	0.8	80.7	58	17	2.27	80.4	33.2	4.0	3.58
PL04	a	31° 56' 15.002"	34° 39' 7.037"	36	0.5	no	0.67	42.4	59	26	2.89	58.0	58.2	2.6	3.12
PL04	b	31° 56' 15.002"	34° 39' 7.037"	36	0.5	SPT2.35	0.67	42.4	77	17	2.27	90.4	61.5	3.4	4.14
PL04	c	31° 56' 15.002"	34° 39' 7.037"	36	0.5	SPT2.29	0.67	42.4	57	14	2.07	86.4	71.7	3.2	4.23
PL05	a	31° 56' 15.002"	34° 39' 7.037"	36.5	1	no	0.59	44.9	16	9	1.96	62.6	25.2	3.7	3.47
PL05	b	31° 56' 15.002"	34° 39' 7.037"	36.5	1	SPT2.34	0.59	44.9	38	15	2.23	94.2	69.0	3.4	4.09
PL05	c	31° 56' 15.002"	34° 39' 7.037"	36.5	1	no	0.59	44.9	4	2	0.56	100.0	100.0	3.0	5.25
PL08	a	31° 55' 43.435"	34° 38' 54.015"	35.8	0.2	no	0.94	61.2	33	17	2.61	73.5	51.0	3.7	3.67
PL08	b	31° 55' 43.435"	34° 38' 54.015"	35.8	0.2	no	0.94	61.2	30	10	1.96	65.2	58.2	2.4	3.56
PL08	c	31° 55' 43.435"	34° 38' 54.015"	35.8	0.2	SPT2.35	0.94	61.2	36	14	1.99	88.9	62.2	3.4	4.32
PL09	a	31° 55' 44.631"	34° 39' 5.171"	35.4	0.5	no	0.9	40.5	60	20	2.51	85.2	51.0	3.8	3.73
PL09	b	31° 55' 44.631"	34° 39' 5.171"	35.4	0.5	no	0.9	40.5	96	22	2.42	79.9	40.7	3.5	3.73
PL09	c	31° 55' 44.631"	34° 39' 5.171"	35.4	0.5	SPT2.34	0.9	40.5	132	29	2.60	84.2	63.4	3.5	3.82
PL10	a	31° 55' 45.242"	34° 39' 30.075"	33.8	1	no	0.38	46.3	338	30	3.02	43.6	40.2	3.4	2.86
PL10	b	31° 55' 45.242"	34° 39' 30.075"	33.8	1	SPT2.34	0.38	46.3	138	26	2.35	70.9	11.9	3.8	2.71
PL10	c	31° 55' 45.242"	34° 39' 30.075"	33.8	1	SPT2.41	0.38	46.3	57	18	2.17	87.7	53.9	3.8	4.03
PL13	b	31° 55' 35.86"	34° 38' 41.157"	36.3	0.2	SPT2.4	0.69	61.2	159	33	2.79	80.1	54.6	3.1	3.49
PL13	c	31° 55' 35.86"	34° 38' 41.157"	36.3	0.2	SPT2.35	0.69	61.2	246	31	2.24	91.5	74.6	3.5	4.09
PL15	a	31° 55' 14.112"	34° 38' 30.011"	36.3	1	no	0.58	54.5	67	24	2.82	63.9	46.0	2.7	2.67
PL15	b	31° 55' 14.112"	34° 38' 30.011"	36.3	1	SPT2.41	0.58	54.5	178	33	2.71	73.6	62.0	3.1	3.82

Station	Replicate	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Depth (m)	Absolute distance from the outfall (km)	Use of flotation method	% TOC	% grains < 63 µm	Number of individuals for 50 cm ³	Number of species	Shannon index (H')	TSI-Med	TSI-Med2012 modified assignment	Foram-AMBI	Foram-AMBI modified assignment
PL15	c	31° 55' 14.112"	34° 38' 30.011"	36.3	1	SPT2.34	0.58	54.5	137	33	2.64	89.2	61.1	3.4	4.02
PL18	a	31° 55' 44.999"	34° 38' 35.15"	37.2	0.2	no	0.43	56.4	69	27	2.66	80.1	50.0	3.4	3.06
PL18	b	31° 55' 44.999"	34° 38' 35.15"	37.2	0.2	SPT2.31	0.43	56.4	182	25	2.12	93.6	52.3	4.1	3.88
PL18	c	31° 55' 44.999"	34° 38' 35.15"	37.2	0.2	no	0.43	56.4	212	30	2.44	87.3	47.7	3.8	3.48
PL21	a	31° 56' 31.2"	34° 39' 14.4"	-	1.5	no	1	56.0	42	13	2.27	77.3	72.3	2.7	3.13
PL21	b	31° 56' 31.2"	34° 39' 14.4"	-	1.5	no	1	56.0	64	11	1.87	91.6	39.9	3.9	4.18
PL21	c	31° 56' 31.2"	34° 39' 14.4"	-	1.5	SPT2.34	1	56.0	51	16	1.86	94.5	69.4	3.4	4.76
PL22	a	31° 56' 52.502"	34° 39' 23.188"	-	2	no	1.02	59.1	6	5	1.48	40.8	25.9	2.8	2.75
PL22	b	31° 56' 52.502"	34° 39' 23.188"	-	2	SPT2.37	1.02	59.1	69	13	1.82	95.0	71.0	3.4	4.81
PL22	c	31° 56' 52.502"	34° 39' 23.188"	-	2	no	1.02	59.1	49	15	2.08	87.5	59.1	3.5	4.04
PL24	a	31° 57' 26.285"	34° 39' 53.258"	-	3	no	0.42	46.3	154	29	2.55	78.8	24.7	3.6	2.86
PL24	b	31° 57' 26.285"	34° 39' 53.258"	-	3	SPT2.34	0.42	46.3	153	32	2.62	79.1	51.1	3.3	3.60
PL24	c	31° 57' 26.285"	34° 39' 53.258"	-	3	SPT2.31	0.42	46.3	267	31	2.17	82.6	28.7	4.0	3.43
PL26	a	31° 58' 8.351"	34° 40' 24.499"	-	5	no	0.29	33.5	61	17	2.69	31.4	22.0	1.8	1.77
PL26	b	31° 58' 8.351"	34° 40' 24.499"	-	5	SPT2.4	0.29	33.5	140	33	2.67	83.9	30.1	4.0	2.99
PL26	c	31° 58' 8.351"	34° 40' 24.499"	-	5	SPT2.29	0.29	33.5	117	28	1.92	82.4	5.7	4.6	2.73
PL29	a	31° 58' 26.469"	34° 40' 37.125"	36	5.5	no	0.3	33.7	35	28	2.93	61.7	29.2	2.5	2.42
PL29	b	31° 58' 26.469"	34° 40' 37.125"	36	5.5	SPT2.31	0.3	33.7	111	35	2.78	72.3	29.3	3.6	2.74
PL29	c	31° 58' 26.469"	34° 40' 37.125"	36	5.5	SPT2.31	0.3	33.7	149	36	2.11	87.4	15.6	4.6	3.01
PL61	a	31° 58' 48.252"	34° 40' 47.065"	-	6	no	0.46	50.4	44	11	2.30	31.3	0.0	2.0	1.65
PL61	b	31° 58' 48.252"	34° 40' 47.065"	-	6	SPT2.39	0.46	50.4	103	48	3.22	76.9	32.6	3.3	2.70
PL61	c	31° 58' 48.252"	34° 40' 47.065"	-	6	SPT2.35	0.46	50.4	128	37	2.16	86.2	5.3	4.7	2.96
PL64	a	31° 59' 18.511"	34° 41' 5.838"	36	7	no	0.2	36.8	47	8	1.91	18.2	5.2	1.0	1.00
PL64	b	31° 59' 18.511"	34° 41' 5.838"	36	7	SPT2.34	0.2	36.8	160	37	2.37	83.5	11.0	4.4	2.78
PL64	c	31° 59' 18.511"	34° 41' 5.838"	36	7	SPT2.4	0.2	36.8	133	23	2.46	71.8	29.9	3.7	2.93

Chapitre 7 : Synthèse

Le lancement de politique de gestion environnementale à large échelle, telle que la Directive Cadre sur l'Eau (DCE, Commission Européenne, 2000) au niveau européen, a amené le développement de nombreux indices biotiques. Ces indices ont pour but d'évaluer la qualité écologique des écosystèmes sur lesquelles ils sont appliqués. Ils donnent une valeur qui synthétise les impacts sur les faunes vivantes. L'évaluation de cette qualité est indispensable pour toute politique de gestion. Les faunes de foraminifères benthiques sont utilisés dans la mesure de l'impact des pressions anthropiques sur les écosystèmes (p. ex., Debenay *et al.*, 2001; Mojtahid *et al.*, 2006; Armynot du Châtelet and Debenay, 2010; Frontalini and Coccioni, 2011). Récemment, le développement d'indices biotiques basés sur ces faunes s'est accéléré (p. ex., Barras *et al.*, 2014; Dimiza *et al.*, 2016; Bouchet *et al.*, 2018; Jorissen *et al.*, 2018). Parmi ces indices, le TSI-Med (Barras *et al.*, 2014) en premier lieu, le Foram-AMBI (Jorissen *et al.*, 2018) issu d'une réflexion du groupe d'experts FOBIMO, et le FSI (Dimiza *et al.*, 2016) ont fait le focus de cette thèse. Les indices comme le Foram-AMBI ou le FSI mesurent l'état actuel de l'écosystème et doivent être comparés à un état de référence pour mesurer la qualité réelle de l'écosystème. Le TSI-Med diffère de ces indices, puisqu'il tente de mesurer la différence entre l'état actuel de l'écosystème et l'état attendu naturellement, en l'absence de pressions d'origine anthropique.

7.1. Amélioration des méthodes

7.1.1. Traitement des échantillons : séparation par densité

Les études de bio-monitoring sont destinées à être applicables à l'échelle de bassins maritimes par de nombreuses personnes. Cela implique l'utilisation de méthodes relativement simples et rapides dans leur mise en œuvre avec un coût abordable. Ces trois critères ne doivent pas pour autant diminuer la qualité des résultats obtenus, des résultats qui doivent rester fiables et comparables.

Les méthodes applicables pour les études de bio-monitoring basées sur les communautés de foraminifères benthiques ont été élaborées par le groupe d'experts FOBIMO (FORaminiferal BIo-MONitoring) (Schönfeld *et al.*, 2012). Le but de cet exercice était d'obtenir une standardisation des méthodes afin de limiter au maximum les biais liés à la méthodologie et de garantir une meilleure comparabilité des résultats obtenus dans différentes études. Chaque étape des protocoles mis en place lors d'une étude de bio-monitoring basée sur les faunes de foraminifères benthiques a été examinée afin de définir les meilleures pratiques. Cela inclut le type de carottier à utiliser, le volume de sédiment à prélever, la conservation des échantillons, la fraction granulométrique du sédiment à examiner, le nombre de réplicats, la conservation des données, etc. Parmi les méthodes traitées figure également la concentration des foraminifères par l'utilisation de liquides de haute densité (aussi appelée flottaison) qui n'est pas recommandée.

Les techniques de flottaison consistent à concentrer les foraminifères présents dans un échantillon par l'utilisation d'un liquide de haute densité. Un échantillon plongé dans l'un de ces liquides va par différence de densité entre les foraminifères et le

reste des particules de sédiments, permettre de séparer les foraminifères du reste du sédiment, facilitant ainsi leur extraction. Cependant, ces techniques de flottaison ont la réputation d'être peu fiables, essentiellement du fait des espèces à test agglutiné qui sont difficiles à concentrer en utilisant cette méthode. Leur densité plus importante va les empêcher de flotter et ces espèces resteront dans le résidu. Il s'opère alors un tri des espèces suivant leur densité ce qui biaise les résultats. Sans ce biais, son application dans les études de bio-monitoring permettrait un tri plus rapide et précis des échantillons de sédiment et devrait grandement améliorer l'efficacité des indices basés sur les foraminifères. *A fortiori*, pour les échantillons sableux, où les particules inorganiques ont la même taille que les foraminifères, qui sont donc fortement dilués dans ce type d'échantillon. Dans ce cas, une concentration/séparation des foraminifères par tamisage n'est donc pas possible, et le tri de l'échantillon complet prend énormément de temps.

Dans le chapitre 2, nous avons donc testé un moyen d'améliorer la technique de flottaison afin de supprimer les biais qu'elle occasionne. Nous avons testé trois liquides ainsi qu'une échelle de différentes densités. Nous avons montré que l'utilisation du trichloréthylène et du chlorure de zinc n'est pas recommandée à cause d'une densité trop faible pour le premier et d'une réaction violente avec les particules calciques du sédiment pour le second. En revanche, l'utilisation d'une solution de Polytungstate de Sodium (SPT) à une densité de 2,3 est très efficace pour concentrer les foraminifères benthiques des échantillons sableux. L'utilisation de ce liquide de haute densité permet d'extraire la quasi-totalité des foraminifères sans distinction des espèces, tout en minimisant la quantité des autres particules du sédiment dans le résidu. De plus, les indices de diversité ou l'indice biotique TSI-Med, qui permet de mesurer la qualité écologique, donne des résultats identiques à ceux trouvés pour un échantillon sans l'utilisation de technique de flottaison. Les biais liés au tri des espèces sont donc limités au maximum. Il est ainsi possible de concentrer les espèces à test agglutiné, telle qu'*Eggerelloides scaber*, qui est une espèce dominante dans beaucoup d'échantillons en Méditerranée (Chapitre 2). Sur les échantillons du site de Palmachim, les répliqués traités par cette méthode de flottaison contenaient des abondances relatives beaucoup plus importantes de deux espèces agglutinées : *Leptohalysis scotti* ($22 \pm 16\%$) et *Caronia silvestrii* ($22 \pm 14\%$), que les échantillons non traités (Chapitre 6), ce qui s'explique par la difficulté à trouver ces espèces dans un sédiment sableux. Cela confirme l'efficacité de cette méthode. Son utilisation dans les études de bio-monitoring est donc justifiée malgré le prix élevé du SPT. En effet, ce prix élevé est largement compensé par le gain de temps en piquage, jusqu'à plusieurs jours par échantillon. Également, la précision du piquage est largement accrue par le volume fortement diminué des résidus traités et la plus grande concentration des foraminifères dans ces résidus.

La concentration des foraminifères par liquide de haute densité permet donc d'améliorer le tri des foraminifères de façon importante. Cependant, la construction d'un inventaire quantitatif de foraminifères, qui inclut un tri manuel d'environ 300 exemplaires, une détermination basée sur la morphologie et un comptage des différentes espèces, demande toujours un temps considérable. C'est une des raisons

qui expliquent le développement d'approches alternatives, telles que l'eDNA metabarcoding.

7.1.2. Perspectives : eDNA metabarcoding

Les études écologiques « traditionnelles » impliquant un travail de tri et d'identification des faunes se heurtent souvent à la critique des durées et de l'expertise trop importantes nécessaires au traitement d'un échantillon. C'est pourquoi, d'autres méthodes sont mises en place afin d'améliorer ces aspects. Outre l'utilisation de la séparation par densité qui a fait partie de ce travail de thèse, nous pouvons citer les méthodes comme le ZOOSCAN (Grosjean *et al.*, 2004) qui permettent la reconnaissance automatisée d'espèces de zooplancton ou les développements récents similaires sur les foraminifères planctoniques (p. ex., Zhong *et al.*, 2017; Mitra *et al.*, 2019), les splitters qui permettent de diviser les échantillons de manière homogène afin de ne trier qu'une fraction de la totalité de l'échantillon, ou encore le développement d'indices ne nécessitant l'identification que d'un nombre restreint d'espèces nécessitant un effort taxonomique plus faible (p. ex., Dauvin and Ruellet, 2007). Il existe désormais également de nouvelles méthodes pour mesurer la qualité écologique des environnements marins. Parmi celles-ci, l'eDNA metabarcoding, en utilisant l'ensemble de la faune benthique, ou uniquement les foraminifères, nous paraît être une approche innovante prometteuse mais nécessitant encore du développement.

Cette technique consiste à reconstituer la faune en se basant sur l'étude de l'ADN dans un échantillon sédimentaire (ADN environnemental) plutôt que sur les individus eux-mêmes. L'eDNA metabarcoding permettrait d'être plus rapide et précis que l'identification morphologique « traditionnelle » sous loupe binoculaire (Pawłowski *et al.*, 2016). Mais l'objet d'étude de l'eDNA sont les Operational Taxonomic Unit (OTU) et non les espèces. Ces OTU pourraient être assimilés à des espèces mais ils ne sont pas nécessairement identiques aux vraies espèces. Il est donc avant tout nécessaire de calibrer les faunes issues du metabarcoding avec la détermination « classique » des faunes de foraminifères, ce qui commence à être fait pour quelques groupes de foraminifères (p. ex., Schweizer *et al.*, 2011; Darling *et al.*, 2016; Bird *et al.*, 2019).

Les études historiques pourraient également bénéficier de cette technique. Dans certaines conditions d'anoxie ou de forts taux de sédimentation, il est possible que l'ADN se conserve dans les sédiments. Il est donc possible d'utiliser le metabarcoding pour reconstituer des assemblages d'OTU dans les carottes sédimentaires (Lejzerowicz *et al.*, 2013; Pawłowska *et al.*, 2014, 2016). Cela permettrait de mieux estimer l'état de référence de l'écosystème pré impact anthropique, c'est-à-dire tel que l'on pourrait s'attendre à trouver dans le milieu s'il n'avait pas subi de pollution d'origine anthropique.

Cependant, l'eDNA metabarcoding ne répond pas à toutes les questions et l'élaboration de cette méthode nécessite de résoudre plusieurs difficultés. Outre un

coût encore élevé, le lien entre les OTU et les espèces n'est pas évident. Un OTU peut correspondre à plusieurs espèces et inversement (Pawlowski *et al.*, 2018).

De plus, l'eDNA metabarcoding va détecter beaucoup plus de matériel qu'une analyse classique sous loupe binoculaire, notamment tout ce qui se trouve sous la fraction inférieure à 125 µm. La comptabilisation et l'identification de la faune présente dans cette fraction < 125 µm, non prise en compte par la méthode traditionnelle, peut être considéré comme un avantage. Cependant, il n'est pour le moment pas possible de faire la différence entre les OTU représentant des espèces vivant dans leur milieu naturel et des propagules d'espèces de foraminifères présentes dans le milieu échantillonné mais dont les conditions ne sont pas nécessairement favorables au développement de ces espèces (Alve and Goldstein, 2002). D'autre part, le volume de sédiment prélevé pour les analyses d'eDNA est généralement plus petit que pour une analyse sous loupe binoculaire. Cela apporte un autre facteur de biais sur l'estimation de la faune présente. De cette manière, les analyses d'eDNA peuvent éventuellement ne pas prendre en compte certaines espèces de grande taille (Lejzerowicz *et al.*, 2015; Pawlowski *et al.*, 2018).

Pour le moment, seule la présence/absence des espèces issues des techniques d'eDNA metabarcoding est fiable pour une utilisation dans les études de bio-monitoring. La quantification des brins d'ADN reste problématique car la quantité d'ADN mesurée n'est pas nécessairement liée à un nombre d'individus, mais peut varier en fonction du cycle de reproduction des individus, de la spécificité des primers utilisés, des amplifications, etc. (Pawlowski *et al.*, 2018).

La mesure de la diversité spécifique des foraminifères mise en évidence par l'observation sous loupe binoculaire et les résultats d'une analyse d'eDNA ne vont donc pas montrer exactement la même image. Ainsi, il est nécessaire de caractériser les différences entre les deux approches pour mieux appréhender les apports de chacune dans les études de bio-monitoring (Deiner *et al.*, 2017; Hering *et al.*, 2018). Une bonne connaissance « traditionnelle » de la zone d'étude est un plus important pour commencer l'évaluation de la qualité à travers ce nouvel outil.

7.2. Comparaison des indices biotiques

Parmi les indices basés sur les faunes de foraminifères, nous avons étudié le TSI-Med (Barras *et al.*, 2014), le Foram-AMBI (Alve *et al.*, 2016; Jorissen *et al.*, 2018) et le FSI (Dimiza *et al.*, 2016) (Chapitre 4). Ces trois indices sont basés sur le principe de groupe écologique (EG). Un quatrième indice basé sur la diversité, le nombre d'espèces équivalent ($\exp(H'_{bc})$, Bouchet *et al.*, 2018), a également été étudié. Ces quatre indices ont été développés dans l'optique de mesurer l'impact des enrichissements en matière organique. Ils doivent donc répondre de manière similaire à une même pression dans un même environnement.

Plusieurs facteurs expliquent la variation dans la réponse entre les indices : l'application d'une correction pour l'état trophique naturel (voir section 7.4), l'objet considéré par l'indice (c.-à-d. diversité ou groupes d'espèces indicatrices), le calcul

de l'indice lui-même (notamment la façon de prendre en compte des différents EG) et le mode d'assignation des espèces utilisé.

7.2.1. Indice biotique basé sur la diversité

L'indice $\exp(H'_{bc})$ se base sur la diversité spécifique des faunes de foraminifères pour évaluer la qualité écologique du milieu. Malgré le fait qu'il soit apparemment bien adapté à certains milieux naturellement mésotrophes à eutrophes, tels que les fjords de Norvège (foraminifères vivants, Bouchet *et al.*, 2012 et morts, Dolven *et al.*, 2013) ou les lagunes méditerranéennes (Bouchet *et al.*, 2018), cet indice ne semble pas adapté pour notre zone d'étude. En effet, dans les milieux mésotrophes à eutrophes une augmentation de la charge en matière organique va induire une diminution de la diversité. Cependant, notre zone d'étude (côtes méditerranéennes) comprend surtout des milieux oligotrophes et mésotrophes. Or, il apparaît que lorsqu'un milieu est oligotrophe, un léger apport de matière organique va résulter en une augmentation de la diversité spécifique du milieu. C'est pourquoi l' $\exp(H'_{bc})$ ne montre pas de relation monotone avec les pressions environnementales dans notre zone d'étude, ce qui nous amène à la conclusion que cet indice ou tout autre indice de diversité ne devrait pas être utilisé pour évaluer la qualité écologique de l'écosystème dans de tels environnements oligotrophes à mésotrophes (Chapitre 4).

7.2.2. Indices biotiques basés sur les groupes écologiques : mode de prise en compte de ces groupes écologiques

Les indices basés sur les EG sont basés sur le principe de succession des communautés benthiques le long d'un gradient de pression, notamment l'enrichissement en matière organique (Pearson and Rosenberg, 1978; Jorissen, 1988, 1999; Jorissen *et al.*, 1995; Nilsson and Rosenberg, 2000; Rosenberg, 2001). Les changements de faunes permettent de déterminer différents groupes d'espèces et de les classer en fonction de leur sensibilité ou tolérance à une pression. La constitution de ces groupes écologiques (c.-à-d. nombre d'EG, type d'espèces à y inclure) est différente entre les indices et la méthode d'assignation des espèces à ces groupes aussi. Ces deux paramètres ont une grande importance car ils sont déterminants dans la valeur de chaque indice.

7.2.2.1. Constitution des EG pour chaque indice

Pour le TSI-Med, un seul groupe d'espèces tolérantes est considéré et seule la reconnaissance et l'assignation correcte des espèces appartenant à ce groupe a une importance dans le calcul du TSI-Med (Barras *et al.*, 2014). L'assignation des espèces se base sur une revue de la littérature, afin de sélectionner les espèces qui sont tolérantes aux enrichissements en matière organique. Cette liste d'espèces tolérantes a été développée sur les côtes méditerranéennes françaises par Barras *et al.* (2014). Toutes les espèces appartenant à ce groupe d'espèces tolérantes doivent cependant être bien identifiées pour que la valeur de l'indice soit fiable (c.-à-d. qu'aucune espèce tolérante ne doit rester dans le groupe des espèces non-assignées). Néanmoins, la nécessité de ne reconnaître qu'un seul groupe limité d'espèce simplifie beaucoup l'effort de taxonomie et facilite la mise en œuvre de l'indice (Figure 7.1).

Le Foram-AMBI reprend le principe de l'AMBI développé pour la macrofaune benthique (Borja *et al.*, 2000; Borja and Muxika, 2005), et se base sur des listes d'assignation des espèces à cinq EG (sensible, indifférent, opportuniste de 3^e ordre, 2^e ordre et 1^{er} ordre). Deux listes existent pour le Foram-AMBI, l'une pour l'Atlantique nord-est (Alve *et al.*, 2016) et l'autre pour la Méditerranée (Jorissen *et al.*, 2018). Les différences dans l'autoécologie d'une même espèce pour une même pression mais dans des régions différentes (Zettler *et al.*, 2013; Gillett *et al.*, 2015) explique la nécessité de plusieurs listes en fonction des bassins maritimes. Nous avons uniquement pris en compte la liste d'assignation basée sur la Méditerranée de Jorissen *et al.* (2018). Cette liste se base sur la relation entre les abondances relatives des espèces et la concentration en TOC pour assigner les espèces aux cinq EG. La nécessité d'assigner toute la faune augmente l'effort de taxonomie et requiert une meilleure expertise pour être mis en œuvre.

Le FSI assigne toutes les espèces dans deux EG, sensibles et tolérantes, et cette assignation est basée sur la littérature (Dimiza *et al.*, 2016). Pour certaines espèces les données dans la littérature ne sont pas explicites (p. ex., *Ammoscalaria pseudospiralis*, *Nouria cf. polymorphinoides*, *Recurvoides* sp. 1), dans ce cas une analyse multivariée basée sur les faunes peut permettre de classer ces espèces (Triantafillou, Hallock pers. com.). À notre avis, le fait d'assigner la totalité de la faune à seulement deux catégories, sensible ou tolérantes, ne semble pas suffisamment prendre en compte la grande variabilité des stratégies écologiques des espèces. Par exemple, certaines espèces qualifiées d'indifférent (EGII), ne vont pas avoir de changements d'abondance marqués le long du gradient de pression, et ne peuvent pas rentrer dans l'une ou l'autre des deux catégories d'espèces sensible ou tolérante. De plus, l'absence de réponse claire de ces espèces sur un gradient de pression fait qu'elles participent très peu à la variabilité des premières dimensions d'une analyse multivariée. Les espèces indifférentes sont donc les plus difficiles à classer par ce biais. Cette faible participation de ces espèces indifférentes à la variabilité globale va augmenter les biais liés à l'utilisation d'une analyse multivariée pour classer ces espèces en sensible ou tolérante. Plusieurs paramètres peuvent faire varier la position des espèces sur les premières dimensions de l'analyse multivariée et modifier l'attribution de ces espèces aux EG : la base de données initiale, la métrique utilisée pour calculer la matrice des distances et le type d'analyse multivariée utilisée. Ces paramètres augmentent les possibilités d'une mauvaise attribution des espèces indifférentes en sensible ou tolérante. Cela rend l'application du FSI fragile dans ce cas.

Nous venons de voir que pour ces trois indices basés sur les EG (TSI-Med, le Foram-AMBI et le FSI), ces EG sont différents et les espèces de foraminifère sont assignées différemment suivant l'indice. Les différences entre les listes d'assignation de chaque indice sont directement responsables d'une large part des résultats différents entre les indices, même si les valeurs des indices restent corrélées entre elles (Chapitre 4). Nous avons donc établi un tableau de correspondance entre les EG utilisés par chacun de ces indices biotiques (Table 4.2). Également, nous avons utilisé une liste unique d'assignation des espèces, celle

de Jorissen *et al.* (2018). Ces deux modifications ont grandement amélioré la corrélation entre les indices, mais aussi nous ont permis de mettre en évidence que les variations entre les indices liées au calcul lui-même sont relativement faibles.

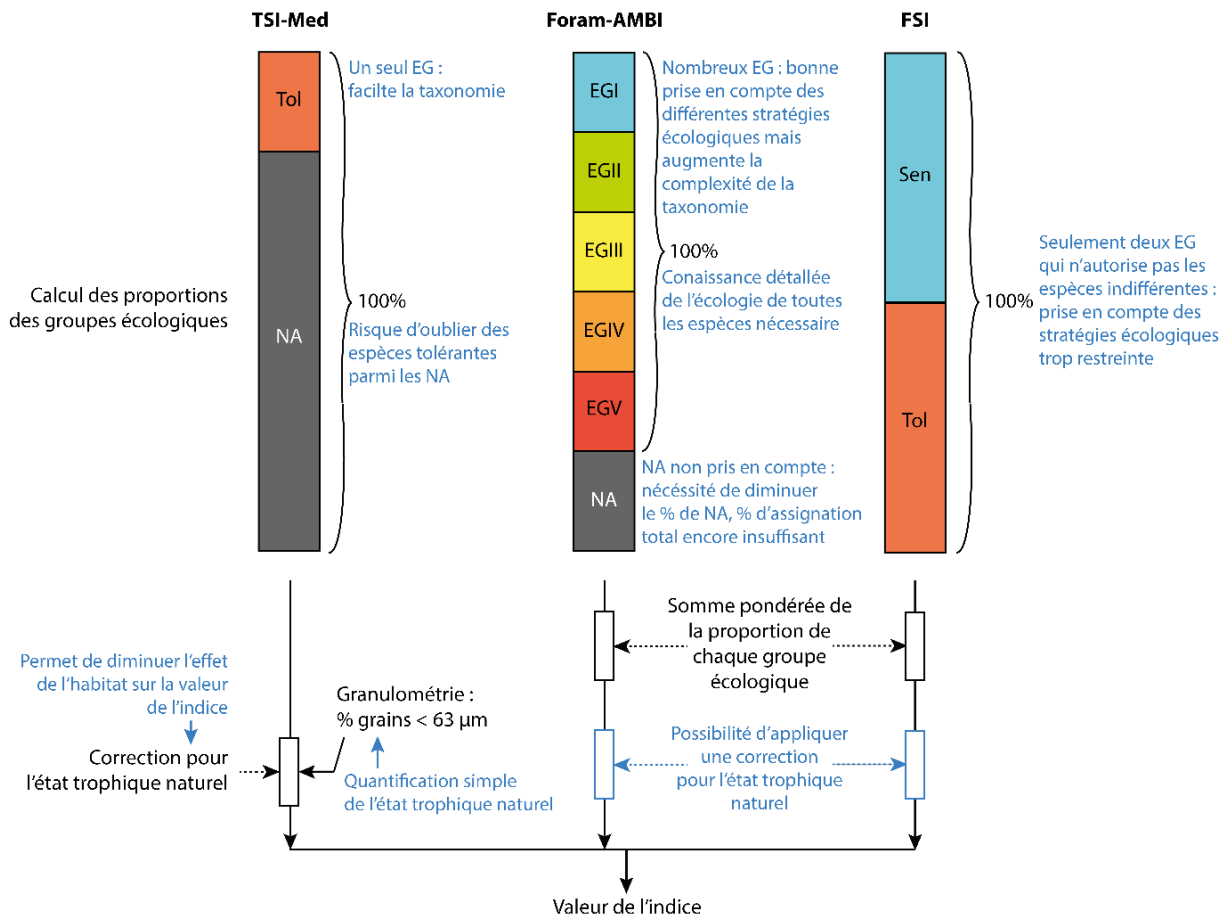


Figure 7.1 : Mode de calcul des trois indices biotiques basés sur les groupes écologiques (EG) : TSI-Med, Foram-AMBI et FSI. En bleu : conclusions détaillées dans cette synthèse. 100% représente la part de la faune incluse dans le calcul des proportions des groupes écologiques. NA, espèces non assignées ; Sen, espèces sensibles et Tol, espèces tolérantes. Voir section 7.4 pour la correction pour l'état trophique naturel.

7.2.2.2. Le groupe des espèces non-assignées

Les indices basés sur des groupes d'espèces indicatrices présentent un problème majeur : la manière de prendre en compte les espèces non-assignées (NA). Puisque dans notre base de données, le pourcentage cumulatif des espèces NA est élevé (22±13%), ce paramètre influence beaucoup le résultat de chaque indice et est donc une source de biais pour l'évaluation de la qualité écologique du milieu (Chapitre 4). De plus, ces espèces peuvent en réalité avoir des stratégies écologiques très différentes (sensibles, indifférentes, tolérantes ou opportunistes). Certaines de ces espèces sont aussi des espèces majeures de la faune (c.-à-d. représentant plus de 10% dans au moins un échantillon). Le TSI-Med utilise uniquement un pourcentage d'espèces tolérantes et se base donc sur la proportion de ces espèces dans la faune totale (Figure 7.1). Il faut donc être sûr que chacune de ces espèces tolérantes a été reconnue en tant que telle. En revanche, le Foram-AMBI est originellement calculé

en excluant les espèces non-assignées avant le calcul des pourcentages des groupes d'espèces indicatrices (EG). Un fort pourcentage d'espèces non-assignées aura des conséquences variables sur les valeurs de l'indice, suivant la composition de ce groupe d'espèces NA et l'écologie de ses espèces. Si de nombreuses espèces NA sont en réalité sensibles cela va artificiellement augmenter la part des espèces tolérantes et donc les valeurs de l'indice et ainsi donner une moins bonne qualité. Inversement, si la majeure partie des espèces NA sont tolérantes, les valeurs du Foram-AMBI seront artificiellement plus faibles et indiqueront une meilleure qualité du milieu que ce qu'elle est en réalité. Le FSI ne comprend que deux groupes d'espèces indicatrices, sensibles et tolérantes. Comme nous avons vu dans la section précédente, il ne peut pas y avoir d'espèces non assignées pour le FSI. La présence des NA vient du fait que nous avons utilisé une liste d'assignation commune pour les trois indices. Un fort pourcentage d'espèces non-assignées va avoir les mêmes effets que pour le Foram-AMBI. Dans tous les cas, plus le pourcentage cumulatif de ce groupe d'espèces non-assignées augmente, plus les résultats de chaque indice biotique deviennent incohérents.

La forte proportion d'espèces NA dans notre étude montre que malgré un large effort (Jorissen *et al.*, 2018), beaucoup d'espèces n'ont pas encore été assignées. Réduire le pourcentage de NA au maximum est une nécessité pour augmenter la fiabilité des indices biotiques. Il est donc essentiel d'assigner au moins toutes les espèces majeures à un groupe d'espèces indicatrices. Pour cela, il faut poursuivre les efforts entamés par Jorissen *et al.* (2018), pour la Méditerranée ou Alve *et al.* (2016) pour l'Atlantique nord-est d'établir des listes d'espèces cohérentes et les plus complètes possible par bassin maritime. Ces listes devraient ensuite servir de référence à chaque indice afin d'améliorer la comparabilité entre les études de bio-monitoring.

Nous avons jusqu'à présent simplifié la comparaison entre ces indices en nous basant sur la même liste d'assignation des espèces pour chaque indice. Sur cette base, les différents indices donnent des résultats comparables entre eux (Chapitre 4). Cependant, des assignations différentes de chaque espèce peuvent être une source majeure de différences entre les indices. Les différences entre les valeurs des indices TSI-Med et Foram-AMBI nous ont permis de détecter des différences d'assignation problématiques pour quatre espèces majeures (Chapitre 5 et 6). Les assignations individuelles de ces espèces sont discutées section 7.3.

7.2.3. Perspectives : définition des limites entre les EQS

La définition des Statuts de Qualité Écologique (EQS) est l'étape nécessaire pour traduire les valeurs des indices en mesure quantitative de la qualité écologique d'un environnement (Borja *et al.*, 2012a). La définition des EQS reste souvent problématique, car les limites entre les EQS dépendent de la bonne définition de l'état de référence et cet état de référence est difficile à évaluer. Borja *et al.* (2013) listent plusieurs raisons à cela, suivant la manière dont les conditions de référence sont déterminées : 1) le manque de sites réellement non-impactés, 2) la difficulté à retrouver les conditions de référence d'un site déjà impacté, 3) dans le cas d'un état

de référence déterminé par une approche de modélisation, l'incertitude de ce modèle peut être importante, 4) de grands changements environnementaux peuvent avoir modifié l'état de référence au cours du temps (p. ex., changements climatiques) et 5) dans le cas où l'état de référence est déterminé par un jugement d'experts, il serait difficile de porter des sanctions légales en cas de dépassement de seuil. Ces difficultés doivent être adressées pour évaluer un état de référence. Dans ce contexte, des études historiques des faunes de foraminifères peuvent être très utiles, parce qu'elles permettent d'avoir une vision de l'état passé de l'écosystème. La correction pour l'état trophique est une autre solution qui permet de niveler l'effet de l'état trophique naturel.

Dans le chapitre 4, nous avons tenté de redéfinir les limites des EQS pour les indices TSI-Med, Foram-AMBI et FSI par comparaison aux valeurs de l'AMBI basées sur la macrofaune, prélevée aux mêmes stations, échantillonnées à la même date. Cette tentative n'a pas abouti, principalement dû à un manque de données, surtout pour des stations avec une mauvaise qualité écologique. Ainsi, le spectre complet de la qualité écologique n'a pas été couvert (Borja *et al.*, 2009). À notre avis, la définition des limites d'EQS devrait être réessayée sur une base de données plus importante. Pour déterminer les limites des EQS, il est possible de se baser sur un algorithme d'optimisation pour comparer les indices entre eux. Cette méthode permet d'obtenir l'optimum des valeurs des limites entre les EQS qui diminue au maximum la variabilité entre les EQS de deux indices. Cependant, l'application de cette méthode nécessite de nombreuses données quantitatives, non seulement sur les faunes de foraminifères, mais aussi pour un autre compartiment biologique prélevé conjointement, tel que la macrofaune.

Malgré cela, nous proposons de nouvelles limites d'EQS pour l'indice Foram-AMBI. En effet, les limites utilisées dans le chapitre 4 sont celles de la macrofaune. Vu le fait que les nombres d'espèces classées en particulier dans les EGIII, EGIV et EGV sont très différents entre macrofaune et foraminifères, les limites déterminées pour la macrofaune ne semblent pas du tout adaptées pour les foraminifères (en effet, nos stations ressortent presque exclusivement en bon, 78,2%, table 4.5). Il est donc nécessaire de donner une réévaluation provisoire des limites entre les EQS pour le Foram-AMBI (Tableau 7.1 et figure 7.2) en tenant compte des espèces réassignées en section 7.3 (voir tableau 7.2 pour la liste des espèces concernées). Ces nouvelles limites d'EQS sont estimées qualitativement afin d'obtenir une plus grande similitude entre la qualité écologique mesurée à partir du TSI-Med et celle à partir du Foram-AMBI (Figures 7.2a et 7.2b).

Tableau 7.1 : Limites entre les EQS de l'AMBI utilisées pour la macrofaune et proposition d'adaptation de ces limites pour le Foram-AMBI, estimées qualitativement basée sur les classes écologiques du TSI-Med.

EQS	Très bon	Bon	Moyen	Médiocre	Mauvais	Références
AMBI	$\leq 1,2$	$1,2 \leq x < 3,3$	$3,3 \leq x < 4,3$	$4,3 \leq x < 5,5$	$\geq 5,5$	Bojra <i>et al.</i> (2003)
Foram-AMBI	$\leq 0,9$	$0,9 \leq x < 1,8$	$1,8 \leq x < 3,2$	$3,2 \leq x < 5$	≥ 5	Proposition de nouvelles limites d'EQS

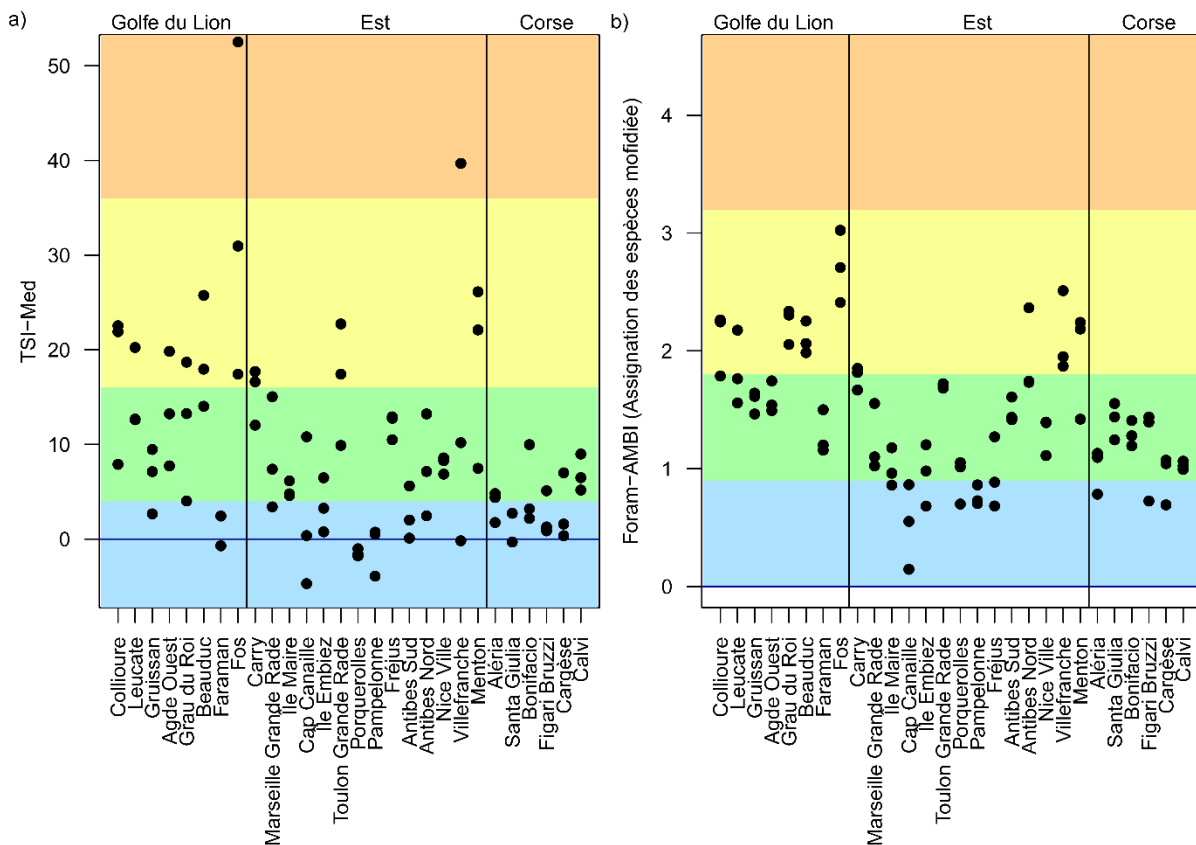


Figure 7.2 : Valeurs du a) TSI-Med et du b) Foram-AMBI le long des côtes méditerranéennes françaises. La liste des espèces du Foram-AMBI tient compte des réassignations de la section 7.3 et les limites entre les EQS correspondent à la proposition tableau 7.1. Les couleurs correspondent au EQS : bleu, très bon ; vert, bon ; jaune, moyen et orange, médiocre.

7.3. Assignations écologiques d'espèces

7.3.1. Cas litigieux d'assignation d'espèces

Nous avons appliqué le TSI-Med et le Foram-AMBI sur deux zones d'études très distinctes. Les côtes méditerranéennes françaises (Chapitre 5), où l'enrichissement en matière organique, qu'il soit d'origine naturelle ou anthropique, est diffus, et un site de rejet ponctuel d'une station d'épuration sur les côtes israéliennes (Chapitre 6). Ces deux zones nous ont permis de révéler que l'assignation de quatre espèces en particulier est problématique (Chapitres 5 et 6).

Eggerelloides scaber et *Reophax fusiformis* (Chapitre 5) sont classées en tant qu'espèces opportunistes de 3^e ordre par Jorissen *et al.* (2018) tandis que Barras *et al.* (2014) ne les avait pas considérées dans leur groupe d'espèces tolérantes. Ces deux espèces sont souvent des espèces majeures dans les faunes, *E. scaber* dans les sédiments peu profonds du Golfe du Lion (autour de 35% de la faune totale) et *R. fusiformis* dans des sédiments plus profonds des régions Est et Corse (autour de 15%). Cette différence d'assignement pour les deux espèces se voit très clairement dans les valeurs du Foram-AMBI, utilisant la liste de Jorissen *et al.* (2018), qui se trouvent être plutôt élevées en comparaison aux valeurs du TSI-Med. Ces valeurs élevées reflètent donc essentiellement les forts pourcentages d'*E. scaber* et *R. fusiformis* à certaines stations.

Pour *Eggerelloides scaber*, les trois études qui ont permis à Jorissen *et al.* (2018) d'assigner cette espèce en tant qu'espèce tolérante sont situées dans des zones sous fortes influences fluviales (Ernst, 2005; Mojtahid *et al.*, 2009; Goineau *et al.*, 2011). La revue de littérature faite par Barras *et al.* (2014) et complétée Chapitre 5, indique qu'*E. scaber* est toujours présente en fortes abondances dans les environnements sous l'influence de fleuves. La distribution d'*E. scaber* dans notre zone d'étude le long des côtes françaises confirme cette distribution dans les zones aux plus fortes influences fluviales. Néanmoins, dans notre zone d'étude, ces zones avec de plus fortes abondances d'*E. scaber* correspondent plutôt aux stations avec un taux de matière organique faible. Il semble donc que les fortes abondances d'*E. scaber* ne soient pas systématiquement le résultat d'un enrichissement en matière organique (Chapitre 5). Le long du gradient de pression du site de Palmachim, la distribution d'*E. scaber* ne montre pas de tendance claire (Chapitre 6). Ces observations suggèrent qu'*E. scaber* n'a pas réellement un comportement opportuniste dans des milieux riches en matière organique et qu'une classification en tant qu'espèce indifférente pourrait être plus justifiée.

Pour *Reophax fusiformis*, la classification en tant qu'espèce opportuniste de 3^e ordre (EGIII) par Jorissen *et al.* (2018) se base uniquement sur l'étude de Basso et Spezzaferrri (2000). Néanmoins, dans cette étude les abondances absolues de *R. fusiformis* sont faibles et ne permettent donc pas d'affirmer définitivement que cette espèce a un comportement opportuniste. La littérature indique une distribution de *R. fusiformis* à des profondeurs à partir de 30–40 m, avec une présence sur la pente du plateau continentale (Murray and Alve, 2011; Phipps *et al.*, 2012; Hyams-Kaphzan *et al.*, 2018). Dans notre zone d'étude, les abondances de *Reophax fusiformis* sont élevées dans les stations à partir de 40 m, et l'espèce ne présente pas de préférence pour les stations avec un fort taux de matière organique ; son abondance diminue plutôt dans les sédiments plus fins. Ainsi, il apparaît qu'il serait plus judicieux de classer *Reophax fusiformis* comme espèce indifférente (EGII) (Chapitre 5). Cependant, il faut noter que *Reophax fusiformis* est une espèce dont la taxonomie est difficile et de nombreuses formes existent. La distinction génétique de ces formes n'est pas encore aboutie et il est possible que plusieurs espèces soient identifiées par les analyses moléculaires dans le futur, potentiellement chacune ayant un classement différent.

Le site de Palmachim présente un transect bien identifié de pression anthropique lié à un rejet de station d'épuration. L'identification de la succession des faunes de foraminifères le long du gradient de pression a mis en évidence que la distribution de *Leptohalysis scotti* et *Caronia silvestrii* ne reflète pas leurs assignations aux groupes écologiques de la liste de Jorissen *et al.* (2018). *Leptohalysis scotti* est classée comme opportuniste de 1^{er} ordre (EGV) et *Caronia silvestrii* comme opportuniste de 3^e ordre (EGIII) par Jorissen *et al.* (2018).

Pour *Leptohalysis scotti*, la classification en tant qu'espèce opportuniste de 1^{er} ordre par Jorissen *et al.* (2018) se base sur les études de Mojtahid *et al.* (2009), Goineau *et al.* (2011) et Sabbatini *et al.* (2012). En effet, cette espèce peut présenter des densités absolues et relatives très importantes (> 50%). Ainsi, le groupe d'experts FOBIMO pour la Méditerranée avait dans un premier temps noté le caractère opportuniste de *Leptohalysis scotti* sans pouvoir définir l'ordre (1^{er}, 2^e ou 3^e ordre). Par contre, dans l'étude de Hyams-Kaphzan *et al.* (2009) dans la même zone de Palmachim étudiée dans cette thèse, cette espèce se comportait même comme espèce sensible, en étant la plus abondante à la station la moins polluée. Aussi dans notre étude du transect de Palmachim, *L. scotti* montre des abondances les plus fortes aux stations les plus éloignées du rejet de la station d'épuration, et les moins impactées. D'après ces observations, il semble plus juste de classer *Leptohalysis scotti* comme opportuniste de 3^e ordre (EGIII) (Chapitre 6).

Pour l'espèce *Caronia silvestrii*, Jorissen *et al.* (2018) se sont uniquement basés sur l'étude de Ernst (2005) pour la classer en tant qu'espèce opportuniste. Néanmoins, de nombreuses études non considérées par Jorissen *et al.* (2018) ont montré le caractère opportuniste de *C. silvestrii* (Chapitre 6). De plus, cette espèce est abondante en profondeur dans le sédiment (Jorissen *et al.*, 1992; Barmawidjaja *et al.*, 1995) et supporte des conditions hypoxiques (Ernst *et al.*, 2002; Duijnsteet *et al.*, 2004; Ernst, 2005). Dans notre zone d'étude, le long du gradient d'enrichissement en matière organique, *Caronia silvestrii* montre les plus fortes abondances aux stations les plus impactées par cet enrichissement. Assigner *Caronia silvestrii* comme opportuniste de 1^{er} ordre (EGV) reflète beaucoup mieux la réponse de cette espèce au gradient de pollution (Chapitre 6).

Le développement d'une liste d'assignation d'espèces pour les indices basés sur les faunes de foraminifères benthiques est encore très récent. Au niveau de la Méditerranée, la liste d'assignation des espèces de Jorissen *et al.* (2018) est la première tentative de classification de ce genre. Il est donc normal que de nouvelles espèces puissent être assignées ou que des changements d'assignation soient envisagés. Les auteurs prévoyaient en effet de pouvoir bénéficier de futures études réalisées selon le protocole recommandé par FOBIMO et suivant des gradients de pollution bien définis pour améliorer et compléter ces assignations. Nous proposons ici de réassigner quatre espèces de cette liste présentées tableau 7.2. Il est cependant nécessaire de continuer ce travail d'assignation d'espèces pour aboutir au maximum d'espèces assignées et augmenter la fiabilité des indices biotiques.

Tableau 7.2 : Synthèse des propositions d'assignements pour les espèces problématiques rencontrées.

Espèce	Nouvelles propositions d'assignation		Assignations proposées par Barras <i>et al.</i> (2014) pour le TSI-Med	Assignations proposées par Jorissen <i>et al.</i> (2018) pour les EG du Foram-AMBI
	TSI-Med	EG du Foram-AMBI		
<i>Caronia silvestrii</i>	tolérante	5	NA	3
<i>Eggerelloides scaber</i>	NA	2	NA	3
<i>Leptohalysis scotti</i>	tolérante	3	tolérante	5
<i>Reophax fusiformis</i>	NA	2	NA	3

7.3.2. Perspectives : apport des traits fonctionnels

Les traits fonctionnels sont les caractéristiques des individus d'une espèce qui vont influencer leur performance dans l'écosystème (leur « fitness »). Ces traits fonctionnels peuvent être le micro-habitat, le régime alimentaire, l'étendue de tolérance au taux d'oxygène, etc. Ces caractères peuvent être liés à une pression ou non. Le gain, la perte ou les modifications de ces fonctions sont indicateurs de changements subis par l'écosystème. Plusieurs espèces peuvent partager un même trait dans le même environnement. L'évolution de la redondance des traits est aussi une mesure de changement de l'écosystème. L'avantage de s'intéresser aux fonctions écosystémiques est de ne pas se baser sur les espèces en tant que telles mais sur leurs rôles. Cela rend cette approche moins sensible à la géographie par rapport à considérer la structure de la communauté seule (Poff *et al.*, 2006; Menezes *et al.*, 2010).

Dans une optique de simplification, l'assignation des espèces aux EG se fait sur un trait fonctionnel particulier, la tolérance aux enrichissements en matière organique. Cependant, on s'aperçoit par exemple, que *Leptohalysis scotti* et *Caronia silvestrii* réagissent fortement et positivement aux enrichissements en matière organique, correspondant à un fort opportunisme. Cependant, *Caronia silvestrii* semble beaucoup plus tolérante à de faibles concentrations en oxygène que *Leptohalysis scotti*. Si l'on se réfère au modèle TROX, les deux paramètres principaux qui expliquent la micro-distribution des foraminifères dans le sédiment sont la matière organique et l'oxygène (Jorissen *et al.*, 1995; Jorissen, 1999). Utiliser ces deux traits fonctionnels dans l'assignation des espèces aux EG semble donc nécessaire.

D'autre part, ces dernières années, des études se focalisant sur le métabolisme des foraminifères ont permis de mettre en évidence des capacités spécifiques à certaines espèces de foraminifères. Par exemple, plusieurs espèces sont capables de dénitrifier afin de vivre dans des conditions anoxiques (Risgaard-Petersen *et al.*, 2006; Piña-Ochoa *et al.*, 2010), leur permettant ainsi d'être un acteur majeur dans les cycles biogéochimiques en conditions anoxiques. Néanmoins, d'autres espèces, non-dénitrifiantes, ont également été observées vivantes dans des environnements anoxiques, laissant la porte ouverte à d'autres adaptations métaboliques, comme par

exemple une baisse du taux métabolique (dormance) (LeKieffre *et al.*, 2017). Enfin, certaines espèces sont capables de séquestrer des chloroplastes de diatomées et de les maintenir fonctionnels (Jauffrais *et al.*, 2017; LeKieffre *et al.*, 2018b). Cette spécificité pourrait leur permettre de produire de l'énergie en absence de nourriture. Certains de ces traits fonctionnels spécifiques, pourraient avoir une certaine importance dans la résistance des espèces aux pressions anthropiques. Une meilleure considération de certains traits particuliers permettrait d'améliorer l'assignation des espèces aux EG, mais aussi de renforcer l'interprétation que l'on peut avoir des valeurs des indices en terme de qualité écologique (Birk *et al.*, 2012). De plus, cela permettrait de mieux discerner entre opportunisme face à un enrichissement en matière organique et tolérance des espèces aux paramètres environnementaux (p. ex., taux d'oxygène) et d'éventuellement considérer ces deux aspects séparément.

7.4. Correction pour l'état trophique naturel du milieu

7.4.1. Estimation de l'état trophique naturel par l'analyse de la granulométrie du sédiment

Pour décrire quantitativement la qualité écologique des écosystèmes il est nécessaire de comparer les résultats des indices biotiques à un état de référence (Borja *et al.*, 2012a). Le TSI-Med utilise une correction pour prendre en compte l'état trophique naturel, c'est-à-dire que l'état actuel de l'écosystème est comparé à l'état attendu si les conditions étaient entièrement naturelles. En effet, l'indice TSI-Med ne décrit pas l'état actuel du milieu, mais quantifie plutôt la déviation du milieu actuel des conditions naturelles originelles, sans impact anthropique.

La matière organique est préférentiellement liée à la fraction fine du sédiment (Premuzic *et al.*, 1982; Hedges *et al.*, 1993; Bianchi *et al.*, 2018). Nous pensons donc qu'il est possible de décrire quantitativement l'état trophique naturel à la station à partir de la granulométrie du sédiment. Ainsi, la reconstitution de l'état trophique naturel (avec lequel la situation actuelle est comparée) se base sur le pourcentage de grains < 63 µm. Cela permet de s'affranchir de l'état trophique naturel et de ne considérer que les apports supplémentaires en matière organique, d'origine anthropique.

Plus la fraction détritique du sédiment considérée est fine plus celle-ci contiendra un pourcentage élevé de matière organique (Keil *et al.*, 1994; Mayer, 1994). Donc plus cette fraction fine est abondante dans le sédiment plus l'état trophique naturel est élevé. Afin de mieux prendre en compte la fraction du sédiment qui est responsable de l'état trophique, nous avons choisi une nouvelle limite à 8 µm (Chapitre 3). Cette limite correspond à la limite supérieure en taille de la majorité des phyllosilicates qui lie la matière organique. Ces phyllosilicates font partie de la partie détritique du sédiment. Nous avons donc également appliqué une décalcification et une décarbonatation du sédiment pour isoler la distribution granulométrique de cette fraction détritique. Ce sont donc quatre paramètres granulométriques que nous avons pu tester pour corriger le TSI-Med : le

pourcentage de grains $< 62.5 \mu\text{m}$ et $< 8 \mu\text{m}$ et le pourcentage de populations détritiques ayant un mode $< 62.5 \mu\text{m}$ et $< 8 \mu\text{m}$. Il se trouve que les valeurs de TSI-Med obtenues par les quatre paramètres ne diffèrent que très peu les unes des autres. Pour cette raison nous concluons que la correction proposée par Barras *et al.* (2014) (c.-à-d. le pourcentage de grains $< 63 \mu\text{m}$) permet de décrire quantitativement l'état trophique naturel du milieu (Chapitre 3). De plus, l'application de cette méthode dans des études de bio-monitoring en routine est très facile à mettre en place.

7.4.2. Application de la correction de l'état trophique naturel à d'autres indices.

La but de la correction pour l'état trophique naturel utilisé dans le calcul du TSI-Med est de mesurer la déviation entre l'état actuel de l'écosystème et l'état naturel de l'écosystème sans perturbations anthropogéniques. Cette correction peut aussi être appliquée pour d'autres indices basés sur les groupes d'espèces tolérantes (Foram-AMBI et FSI) (Chapitre 4). L'utilisation d'une telle correction dans les indices Foram-AMBI et FSI devrait être explorée dans une étude de bio-monitoring dont la zone d'étude est large avec des stations aux caractéristiques sédimentaires très différentes.

Le long des côtes françaises, les communautés de foraminifères sont plus ou moins différentes selon les zones géographiques (Golfe du Lion, Est et Corse), caractérisées par des caractéristiques environnementales très différentes (Chapitre 5). Par ailleurs, deux autres groupes, plus transversaux, consistent en des stations de différentes régions aux caractéristiques plus comparables. Les stations de la région du Golfe du Lion (groupe 5) sont moins profondes avec un sédiment en moyenne plus fin. Les stations des régions Est (groupe 3) et Corse (groupe 1) sont plus profondes et ont un sédiment plus grossier. Parmi les stations de la région du Golfe du Lion certaines stations présentent un sédiment plus grossier et une profondeur plus faible (groupe 4) et parmi les stations de la région Est, certaines sont plus profondes et présentent un sédiment particulièrement riche en particules calciques (groupe 2).

Les valeurs du TSI-Med semblent montrer moins de différences systématiques entre les stations de ces cinq groupes, comparé aux valeurs du Foram-AMBI et du FSI (Figures 7.3a, 7.3b et 7.3c). À notre avis, le fait de ne pas trouver un décalage systématique entre les régions pour le TSI-Med est en partie dû à l'application de la correction pour l'état trophique naturel. Cependant, la plus grande variabilité des données pour les groupes 3, 4 et 5 temporelise cet avis. Dans les figures 7.3d et 7.3e, une correction pour l'état trophique naturel a été appliquée aux valeurs du Foram-AMBI et du FSI en appliquant les équations de référence déterminées au chapitre 4 en utilisant les listes originales de chacun des deux indices. Il semble que cette correction nous permet de s'affranchir partiellement des différences environnementales majeures entre ces cinq zones pour le Foram-AMBI mais semble augmenter un clivage entre les groupes 1, 2 et 3 d'un côté et 4 et 5 de l'autre (Figure 7.3d). Pour le FSI, la correction semble sans effet (Figure 7.3e). Cela indique que cette correction n'est pas suffisante pour réduire les différences

systematiques entre les groupes de stations. Ainsi, le mode de sélection des stations de référence et de calcul de la courbe de référence doit être revu afin de mieux prendre en compte les différents types de substrats.

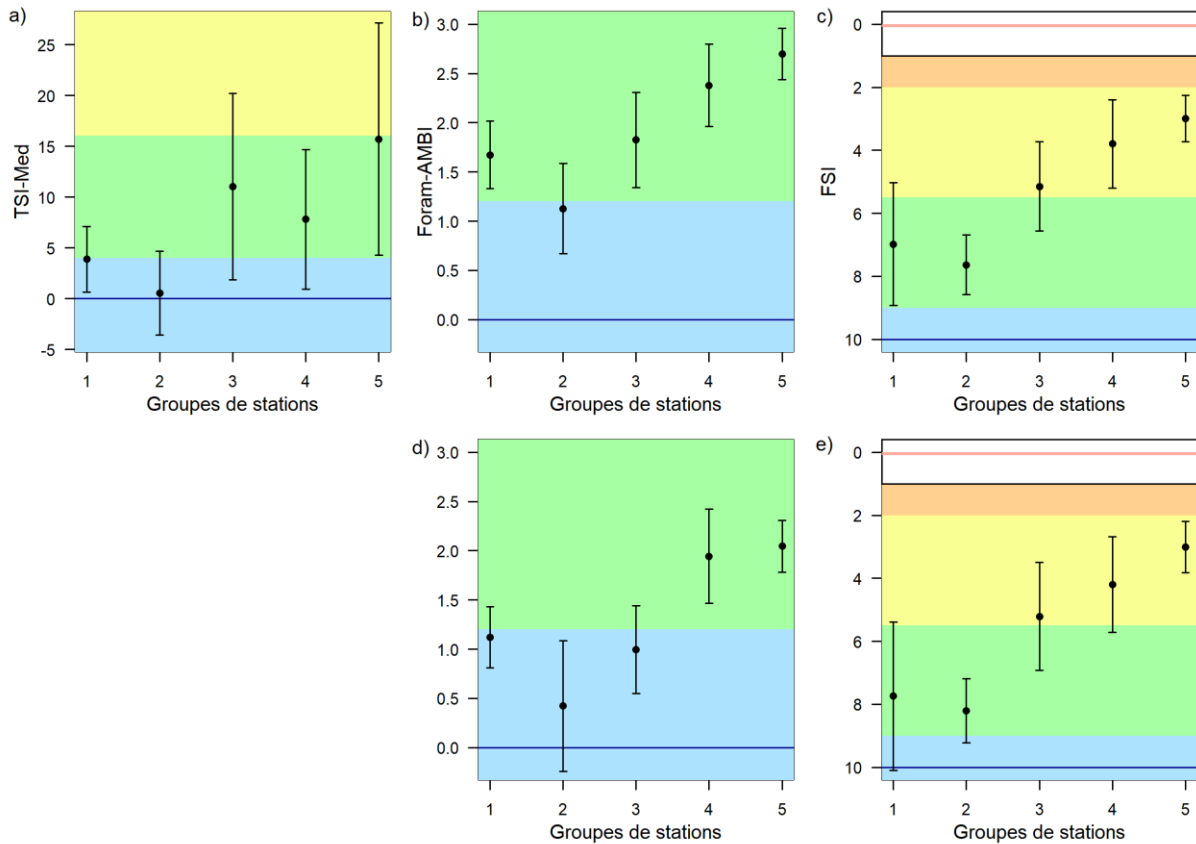


Figure 7.3 : Valeurs moyennes (\pm écart-type) du a) TSI-Med, b) Foram-AMBI, c) FSI par groupe de stations issu de l'analyse de cluster (Figures 5.8 et 5.9, tableau 5.3). d) Foram-AMBI corrigé pour l'état trophique naturel suivant l'équation de référence déterminée au chapitre 4, e) idem que d) mais pour le FSI. Les couleurs représentent les EQS : bleu, « très bon » ; vert, « bon » ; jaune, « moyen » ; orange, « médiocre ». Les listes d'espèces utilisées et les limites entre les EQS utilisées sont les limites originales de chaque indice. Groupe 1 : stations majoritairement de la région Corse ; groupe 2 : stations profondes à sédiment calcique ; groupe 3 : stations majoritairement de la région Est ; groupe 4 : stations peu profondes à sédiment grossier ; groupe 5 : stations majoritairement du Golfe du Lion.

Dans le cadre de la DCE, des masses d'eau ont été définies ; ce sont des zones séparant les eaux du littoral de manière homogène. La mesure de la qualité écologique de chaque masse d'eau dépend de la mesure faite à une seule station. Les caractéristiques des faunes benthiques (densité, diversité, composition spécifique, etc.) dépendent fortement de la nature du fond (substrat, apports organiques, oxygénation, etc.), et il est essentiel de la prendre en compte quand on applique un indice biotique (Van Hoey *et al.*, 2004). La diminution progressive des apports en lumière, de l'impact des vagues et la sédimentation des particules en suspension va créer une succession spatiale en étages des écosystèmes qui est un paramètre très important en milieu marin. Le fond de chaque masse d'eau n'est donc pas parfaitement homogène. Un changement dans l'échantillonnage peut avoir

un grand impact sur le résultat de l'indice biotique. La correction apportée à l'indice TSI-Med devrait permettre de tenir compte, dans une certaine mesure, de ces changements de nature du fond marin liés aux biais d'échantillonnage. Cependant, nous avons identifié des changements de valeurs du TSI-Med parfois importants, au sein d'une même masse d'eau mais à des profondeurs différentes en Méditerranée (Chapitre 5), qui suggèrent fortement que notre correction n'est pas suffisante. Une façon d'apporter une correction plus forte serait d'utiliser la valeur moyenne des trois réplicats des stations les moins impactées pour définir la courbe de référence, au lieu d'utiliser le réplicat avec la meilleure valeur d'indice biotique, comme nous avons fait dans cette étude.

Ces différences entre sites d'échantillonnage au sein d'une même masse d'eau mettent aussi en avant la difficulté d'évaluer la qualité d'une masse d'eau entière à partir d'une unique station.

Les études de bio-monitoring font face à deux grands types de sources de pollution. Ou la pollution étudiée est diffuse, ce qui est le cas pour notre zone le long des côtes françaises, ou la pollution provient d'un point source, tel que la zone de Palmachim en Israël. La zone d'étude de Palmachim, avec un point source de pollution, permet d'étudier la succession des faunes, et le comportement des indices biotiques, le long d'un gradient d'impact. Pour un tel site, les pressions sont très bien connues pour chaque station, et peuvent être quantifiées. Nous avons montré qu'il existe dans la zone de Palmachim une forte corrélation naturelle entre la fraction fine du sédiment et la teneur en matière organique (Chapitre 6). Pour les stations qui dévient de cette relation à cause d'un impact anthropique, le degré de déviation nous permet de quantifier les pressions anthropiques. L'étude de ce genre de site est donc très pertinente pour l'attribution des différentes espèces aux groupes écologiques.

De manière générale, les activités anthropiques impactent les régimes sédimentaires des zones côtières (Syvitski *et al.*, 2005; Regnier *et al.*, 2013). Cela inclut de potentiels changements du ratio entre les proportions de matière organique et la fraction fine du sédiment. Si un excès de fraction fine du sédiment est apporté en même temps qu'une surcharge de matières organiques la correction pour l'état trophique naturel se trouve biaisée. À la station PL03 du site de Palmachim, nous avons observé un enrichissement conjoint de sédiment fin et de matière organique d'origine anthropique. Il faut donc prendre en compte les modifications des régimes sédimentaires par des activités anthropiques.

7.4.3. Perspectives : les sources de pressions

Les indices biotiques, tel que le TSI-Med, ont été conçus pour réagir à des phénomènes d'enrichissement en matière organique. Bien que la matière organique soit présente sous une grande variété de formes et de natures dans l'environnement (p. ex., macro-débris végétaux, particules dissoutes) et qu'il soit plus ou moins difficile de quantifier chacune d'entre elles séparément, les enrichissements en matière organique sont souvent relativement faciles à suivre dans le milieu marin. Parfois, on peut trouver leurs sources anthropiques assez facilement, avec des

gradients bien définis. De plus, les effets des enrichissements en matière organique sur les écosystèmes sont relativement bien connus. Il est donc envisageable d'étudier de façon détaillée l'impact de la matière organique.

Cependant, de nombreux autres types de polluants existent. Ils sont parfois liés à la matière organique. Dans ce cas, matière organique et autres polluants peuvent avoir des effets différents sur les faunes, et peuvent exiger différentes stratégies écologiques, favorisant différentes espèces. Certaines espèces vont avoir un développement opportuniste en cas d'enrichissement en matière organique, d'autres vont plutôt être tolérantes à d'autres polluants, ou encore être capables de recoloniser rapidement des milieux dont la faune initiale a totalement été détruite. Ainsi, dans beaucoup de cas, les faunes sont confrontées à un mélange de polluants, pour lequel le taux en C_{org} sert de mesure intégratrice des pressions subies par l'écosystème. Les espèces tolérantes et/ou opportunistes sont donc implicitement censées répondre à un complexe de facteurs de stress.

Les indices biotiques ne prennent donc pas en compte les effets de polluants individuels, mais plutôt d'un mélange de polluants. La présence diffuse dans les milieux marins de ces autres types de polluants les rend difficile à étudier en milieu naturel. Néanmoins, dans certains cas ces polluants deviennent dominants, et leur impact sur les faunes de foraminifères a pu être étudié. C'est le cas, par exemple, des pollutions aux hydrocarbures (Mojtahid *et al.*, 2006; Jorissen *et al.*, 2009), aux métaux lourds (Ferraro *et al.*, 2006; Frontalini and Coccioni, 2008), des pollutions thermiques (Arieli *et al.*, 2011; Titelboim *et al.*, 2016), ou encore de l'acidification (Charrieau *et al.*, 2018).

Dans la majorité des cas l'on ne connaît pas la relation dose/réponse de ces pressions précises. De plus, le mélange des pressions exercées par des pollutions variées crée des interactions entre ces pollutions aux effets très variables et souvent imprédictibles sur le milieu marin. Dans les cas particuliers de pollutions locales, telles que mentionnées ci-dessus, il est possible que des indices biotiques « généralistes » ne soient pas suffisants pour correctement détecter les impacts de telles pressions. Dans ces cas, des indices plus spécifiques pourraient être nécessaires.

Pour mesurer les effets de ces polluants spécifiques sur les faunes de foraminifères benthiques, il est possible de passer par des tests en laboratoire et d'exposer en aquarium différentes espèces à des concentrations croissantes de différents polluants. Ces conditions sont loin de refléter les conditions naturelles mais peuvent permettre d'avoir une meilleure idée des relations dose/réponse de certains polluants. Il est aussi possible de recréer des mésocosmes à partir de sédiment prélevé *in situ* pour étudier la réponse de communautés entières, ce qui se rapproche un peu plus des conditions naturelles (p. ex., les hydrocarbures, Ernst *et al.*, 2006; Denoyelle *et al.*, 2012 ou les métaux lourds, Frontalini *et al.*, 2018b, 2018a). Ces expériences en laboratoire permettent d'isoler des réponses plus spécifiques des communautés de foraminifères benthiques qui peuvent avoir lieu dans le milieu naturel. Par contre, les résultats de telles expériences ne sont pas toujours très

convaincants ; les conditions naturelles sont très difficiles à recréer en laboratoire, et dans les conditions naturelles les faunes ne sont que très rarement exposées à un seul type (ou à très peu de types) de polluants.

7.5. Perspectives : diffusion des indices : TSI-Med, Foram-AMBI

Le processus d'élaboration d'un indice biotique peut être long. L'application de l'indice dans de nombreuses études est un moyen d'accélérer ce développement. Pour cela, un accès facilité de toutes les mises à jour concernant l'indice est une grande aide. Le TSI-Med et le Foram-AMBI paraissent être de bons candidats pour une telle diffusion. L'application du TSI-Med demande : l'identification d'un seul groupe d'espèces tolérantes ce qui requiert moins d'expertise taxonomique ; il inclut une correction pour l'état trophique naturel et cette correction est simple à mettre en œuvre. La liste d'espèce du Foram-AMBI inclut de nombreuses espèces avec plus de détails sur leurs stratégies écologiques.

Une solution pour obtenir une plus grande accessibilité serait la mise en place d'un site internet. Ce site pourrait être géré par un groupement d'experts tel que FOBIMO, ce groupe ayant déjà standardisé les méthodes applicables dans le cadre d'études de bio-monitoring basées sur les faunes de foraminifères (Schönfeld, 2012). Le développement d'un site internet demande du temps et une maintenance pour toujours être à jour et peut donc demander une gestion par plusieurs personnes expertes du domaine.

Le site devrait pouvoir regrouper en un même endroit une description complète de la méthode avec les conditions d'application, la courbe de référence et les listes d'assignations des espèces tolérantes, ainsi que chaque publication sur le développement méthodologique ou l'application des indices. Cet espace représenterait la synthèse à jour des indices. Cela offrirait une plus grande visibilité et faciliterait la mise en œuvre de ces indices par des personnes extérieures. Un espace de commentaire permettrait également de recevoir des retours plus nombreux et rapides de la part d'un public à la fois intéressé par l'application des indices ou par d'éventuelles adaptations. Cela faciliterait aussi le suivi des évolutions des indices.

7.6. Changements temporels de l'environnement

7.6.1. Suivi temporel de l'état écologique

Le bio-monitoring implique un suivi temporel ; un échantillonnage régulier qui permet de suivre la qualité écologique d'une station au cours du temps. Le suivi temporel des stations le long de la côte méditerranéenne française, entre 2009, 2012 et 2015, a montré des variations dans les valeurs du TSI-Med au cours du temps pour plusieurs stations. Cependant, il est d'abord nécessaire d'évaluer si ces variations correspondent à de réels changements, c'est-à-dire, si les conditions d'échantillonnage ont été rigoureusement les mêmes pour les différentes années (Chapitre 5).

En effet, pour nos campagnes DCE, plusieurs stations furent échantillonnées avec un écart important dans le site d'échantillonnage entre les années. Cependant, ce changement de site n'a pas entraîné de variations importantes des valeurs de TSI-Med pour toutes les stations concernées. Ce qui est logique si on considère que l'état d'une masse d'eau peut être décrite sur la base d'une seule station, et que notre indice prend en compte la variabilité naturelle des sites au sein d'une seule masse d'eau.

Le fait que nous ayons néanmoins trouvé des différences assez importantes pour certains sites, auxquels les profondeurs d'échantillonnage avaient changé considérablement, suggère que notre correction pour l'état trophique naturel de ces sites est encore insuffisante.

De la même façon, un écart important des valeurs du TSI-Med entre les répliqués, suggérant une hétérogénéité spatiale importante, est un autre facteur qui complique le suivi temporel de la qualité écologique. Dans ce cas précis, le fait de faire des analyses granulométriques pour chaque répliqué, permettrait de prendre en compte cette hétérogénéité spatiale, et d'y apporter une correction.

Une (autre) façon pour mieux appréhender cet aspect serait de passer à un plus grand nombre de répliqués, par exemple de trois à cinq, dans les zones avec une hétérogénéité spatiale importante. Cependant, le coût d'une telle augmentation du nombre de répliqués fait que cette solution ne sera en pratique que très rarement réalisable.

7.6.2. Perspectives : les conditions naturelles du milieu : l'apport potentiel de l'étude des faunes préservées dans les archives sédimentaires

La préservation des coquilles de foraminifères dans la colonne sédimentaire permet de remonter le temps de quelques dizaines, voire centaines, d'années et de pouvoir estimer ainsi la composition des faunes dans un temps pré-impact, c'est-à-dire l'état de référence (p. ex., Dolven *et al.*, 2013; Francescangeli *et al.*, 2016). Ensuite, un suivi des faunes préservées dans des niveaux successifs permet d'étudier l'évolution historique de la qualité écologique. Cependant, l'étude des faunes mortes pose le problème des transformations taphonomiques. Les espèces de foraminifères ne vont pas tous se conserver dans les faunes mortes et chacune possède un degré de préservation plus ou moins important. Certaines espèces de foraminifères à test agglutiné sont particulièrement fragiles et ne sont que rarement préservées après la mort de l'individu. Il faut également prendre en compte les exportations et importations d'individus par les courants qui peuvent biaiser les assemblages des faunes mortes. De plus, les faunes mortes s'accumulent plus ou moins vite au cours du temps en fonction du taux de sédimentation. En cas de changements du taux de sédimentation au cours du temps, les faunes mortes à différentes profondeurs dans le sédiment vont intégrer les changements environnementaux sur des durées différentes. En général, les faunes mortes sont

intégratrices de durées plus longues que les faunes vivantes. Tous ces aspects rendent difficile le lien entre les faunes mortes et vivantes.

Du fait de ces transformations taphonomiques, et du manque de lien direct entre les faunes mortes et vivantes, il n'est pas possible d'appliquer directement des indices biotiques calculés sur la base des faunes mortes pour les comparer avec ceux calculés sur les faunes vivantes. Il faut passer par une étude approfondie des transformations qu'a pu subir la faune avant de mesurer la qualité écologique sur la base des faunes mortes. Avec l'allongement progressif, depuis 2009, de notre série d'observations temporelles, une comparaison quantitative de faunes vivantes et faunes mortes devient envisageable. En effet, dans le cas d'un cadre chronologique fiable pour la succession sédimentaire, nous sommes maintenant capables de comparer la faune morte avec la faune vivante pour trois bornes temporelles, les années 2009, 2012 et 2015. Cela devait nous permettre de mieux décrire de façon quantitative les transformations taphonomiques, et de reconstituer les faunes vivantes du passé sur la base de la faune morte préservée.

L'étude des faunes préservées dans les archives sédimentaires soulève un autre aspect important. Des séries temporelles plus longues permettent d'obtenir des données sur les adaptations faunistiques aux changements climatiques actuels.

7.6.3. Perspectives : changements climatiques

Les changements climatiques induisent des modifications des faunes à large échelle et sur le long terme. Toutes les espèces ne répondent pas aux changements climatiques de la même manière. Les modifications des faunes à venir sont donc potentiellement complexes. Les courants, la température des eaux, les taux d'oxygénation, les apports en matières organiques, tous ces paramètres vont être affectés par les changements climatiques. Les faunes de foraminifères vont donc potentiellement subir des modifications de grande ampleur, les assemblages faunistiques vont être modifiés, de nouvelles espèces seront introduites et d'autres vont disparaître. Dans ces conditions, il est possible que l'autoécologie des espèces soit modifiée. Tous ces paramètres vont impacter la mesure de la qualité écologique.

Les foraminifères sont des êtres vivants unicellulaires au cycle de vie court et à la reproduction importante, ce qui leur a permis d'occuper de nombreuses niches écologiques dans le sédiment, donc d'avoir un potentiel d'adaptation élevé. Mesurer la qualité écologique des écosystèmes benthiques à travers cet équilibre dynamique des faunes de foraminifères va impliquer de potentiels changements d'assignation d'espèces. Cependant, les impacts liés aux changements climatiques devraient avoir une certaine homogénéité à l'échelle régionale d'un bassin maritime. Il est donc possible de distinguer des impacts de pollutions anthropiques locales par comparaison avec des zones de la même région qui ne sont pas, ou peu impactées. Les études des faunes mortes dans les archives sédimentaires rendront compte des changements généraux des faunes de foraminifères liés aux changements climatiques à cette échelle régionale.

7.7. Conclusion

Le développement des indices biotiques basés sur les faunes de foraminifères benthiques est en plein essor. Nous avons passé en revue plusieurs aspects de la mesure de qualité écologique en utilisant ces indices biotiques basés sur les faunes de foraminifères benthiques dans les études de bio-monitoring.

Tout d'abord, nous recommandons d'utiliser le SPT à une densité de 2.3 pour concentrer les foraminifères benthiques et grandement optimiser l'extraction des foraminifères. Ensuite, l'utilisation d'indices basés sur la diversité n'est pas conseillée pour les milieux oligo- à méso-trophes de la Méditerranée et d'ailleurs. Parmi les trois indices basés sur les groupes écologiques (EG) testés, le FSI ne prend pas suffisamment en compte la diversité des stratégies écologiques des espèces de foraminifères. Le Foram-AMBI prend bien en compte les différentes stratégies écologiques des foraminifères mais la détermination taxonomique de la totalité de la faune, ainsi qu'une connaissance de l'écologie de toutes les espèces sont nécessaires. Le TSI-Med nécessite moins d'efforts de taxonomie et incorpore une comparaison de l'état actuel avec l'état trophique naturel estimé pour ce même milieu, qui le rend moins sensible aux variations des conditions du substrat lorsqu'il est appliqué sur de grandes régions.

L'estimation de cet état trophique naturel peut être réalisée très simplement en mesurant le taux de grains $< 63 \mu\text{m}$. Dans le futur, une correction plus importante pourrait être envisagée.

Le TSI-Med et le Foram-AMBI réagissent aussi bien à un gradient d'enrichissement en matière organique provenant d'une source ponctuelle (site de Palmachim) qu'à une mosaïque de qualités environnementales issues d'une pollution diffuse (côtes françaises de la Méditerranée). Dans l'ensemble, les valeurs des indices biotiques basés sur les groupes écologiques sont bien corrélées, même si des différences apparaissent en regardant le détail des stations.

L'assignation des espèces aux différents EG est un point important, nous avons proposé de réassigner quatre espèces à d'autres groupes écologiques. En général, encore trop peu d'espèces sont assignées aux EG et les efforts de classification doivent être poursuivis. Ces assignations devraient être mise à jour régulièrement et mise à disposition de la communauté pour faciliter la mise en œuvre des indices biotiques.

La réévaluation des limites entre les EQS n'a pas entièrement abouti dans cette thèse, à cause d'un manque de données pour les stations avec la plus mauvaise qualité écologique. Il faut chercher à comparer les indices basés sur les foraminifères benthiques avec des indices basés sur d'autres compartiments biologiques. Ces comparaisons permettraient d'améliorer la mesure de qualité issue des indices basés sur les foraminifères mais aussi de tester leur applicabilité à plus grande échelle. C'est par cette voie que les avantages apportés par les indices basés sur les faunes de foraminifères benthiques (faible taille, enregistrement des faunes

mortes, etc.) pourront être intégré dans les programmes de bio-monitoring nationaux ou internationaux.

L'apparition de nouveaux outils, comme l'eDNA metabarcoding, apporte une vision complémentaire de la diversité des foraminifères présents dans le sédiment et une autre approche de la qualité écologique. Les études sur la biologie et la physiologie des foraminifères aideront à mieux déterminer la stratégie écologique des foraminifères et ainsi mieux le prendre en compte dans les indices biotiques.

Les changements climatiques vont potentiellement apporter de grands changements des faunes de foraminifères qu'il va falloir quantifier et intégrer dans la mesure de la qualité écologique. Les successions de faunes mortes dans le sédiment sont le meilleur témoin de ces changements mais un effort supplémentaire est nécessaire pour améliorer la comparaison des informations fournies par les faunes mortes et les faunes vivantes.

Références

- Alve, E., and Goldstein, S. T. 2002. Resting stage in benthic foraminiferal propagules: a key feature for dispersal? Evidence from two shallow-water species. *Journal of Micropalaeontology*, 21: 95–96.
- Alve, E., Korsun, S., Schönfeld, J., Dijkstra, N., Golikova, E., Hess, S., Husum, K., et al. 2016. Foram-AMBI: A sensitivity index based on benthic foraminiferal faunas from North-East Atlantic and Arctic fjords, continental shelves and slopes. *Marine Micropaleontology*, 122: 1–12.
- Arieli, R. N., Almogi-Labin, A., Abramovich, S., and Herut, B. 2011. The effect of thermal pollution on benthic foraminiferal assemblages in the Mediterranean shoreface adjacent to Hadera power plant (Israel). *Marine Pollution Bulletin*, 62: 1002–1012.
- Armynot du Châtelet, É., and Debenay, J.-P. 2010. The anthropogenic impact on the western French coasts as revealed by foraminifera: A review. *Revue de Micropaléontologie*, 53: 129–137.
- Barmawidjaja, D. M., van der Zwaan, G. J., Jorissen, F. J., and Puskaric, S. 1995. 150 years of eutrophication in the northern Adriatic Sea: Evidence from a benthic foraminiferal record. *Marine Geology*, 122: 367–384.
- Barras, C., Jorissen, F. J., Labrune, C., Andral, B., and Boissery, P. 2014. Live benthic foraminiferal faunas from the French Mediterranean Coast: Towards a new biotic index of environmental quality. *Ecological Indicators*, 36: 719–743.
- Basso, D., and Spezzaferrì, S. 2000. The distribution of living (stained) benthic foraminifera in Iskenderum Bay (Eastern Turkey): a statistical approach. *Bulletino della Società Paleontologica Italiana*, 39: 359–379.
- Bianchi, T. S., Cui, X., Blair, N. E., Burdige, D. J., Eglinton, T. I., and Galy, V. 2018. Centers of organic carbon burial and oxidation at the land-ocean interface. *Organic Geochemistry*, 115: 138–155.
- Bird, C., Schweizer, M., Roberts, A., Austin, W. E. N., Knudsen, K. L., Evans, K. M., Filipsson, H. L., et al. 2019. The genetic diversity, morphology,

- biogeography, and taxonomic designations of *Ammonia* (Foraminifera) in the Northeast Atlantic. *Marine Micropaleontology*: S0377839818300860.
- Birk, S., Bonne, W., Borja, A., Brucet, S., Courrat, A., Poikane, S., Solimini, A., et al. 2012. Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecological Indicators*, 18: 31–41.
- Borja, Á., Franco, J., and Pérez, V. 2000. A Marine Biotic Index to Establish the Ecological Quality of Soft-Bottom Benthos Within European Estuarine and Coastal Environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 1100–1114.
- Borja, A., Muxika, I., and Franco, J. 2003. The application of a Marine Biotic Index to different impact sources affecting soft-bottom benthic communities along European coasts. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 835–845.
- Borja, Á., and Muxika, I. 2005. Guidelines for the use of AMBI (AZTI's Marine Biotic Index) in the assessment of the benthic ecological quality. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 787–789.
- Borja, Á., Ranasinghe, A., and Weisberg, S. B. 2009. Assessing ecological integrity in marine waters, using multiple indices and ecosystem components: Challenges for the future. *Marine Pollution Bulletin*, 59: 1–4.
- Borja, Á., Dauer, D. M., and Grémare, A. 2012. The importance of setting targets and reference conditions in assessing marine ecosystem quality. *Ecological Indicators*, 12: 1–7.
- Borja, Á., Elliott, M., Andersen, J. H., Cardoso, A. C., Carstensen, J., Ferreira, J. G., Heiskanen, A.-S., et al. 2013. Good Environmental Status of marine ecosystems: What is it and how do we know when we have attained it? *Marine Pollution Bulletin*, 76: 16–27.
- Bouchet, V. M. P., Alve, E., Rygg, B., and Telford, R. J. 2012. Benthic foraminifera provide a promising tool for ecological quality assessment of marine waters. *Ecological Indicators*, 23: 66–75.
- Bouchet, V. M. P., Goberville, E., and Frontalini, F. 2018. Benthic foraminifera to assess Ecological Quality Statuses in Italian transitional waters. *Ecological Indicators*, 84: 130–139.
- Carvalho, L., Mackay, E. B., Cardoso, A. C., Baattrup-Pedersen, A., Birk, S., Blackstock, K. L., Borics, G., et al. 2019. Protecting and restoring Europe's waters: An analysis of the future development needs of the Water Framework Directive. *Science of The Total Environment*, 658: 1228–1238.
- Charrieau, L. M., Filipsson, H. L., Ljung, K., Chierici, M., Knudsen, K. L., and Kritzberg, E. 2018. The effects of multiple stressors on the distribution of coastal benthic foraminifera: A case study from the Skagerrak-Baltic Sea region. *Marine Micropaleontology*, 139: 42–56.
- Commission Européenne. 2000. Directive 2000/60/CE du Parlement Européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. *Journal officiel des Communautés européennes*: 1–72.
- Darling, K. F., Schweizer, M., Knudsen, K. L., Evans, K. M., Bird, C., Roberts, A., Filipsson, H. L., et al. 2016. The genetic diversity, phylogeography and

- morphology of Elphidiidae (Foraminifera) in the Northeast Atlantic. *Marine Micropaleontology*, 129: 1–23.
- Dauvin, J. C., and Ruellet, T. 2007. Polychaete/amphipod ratio revisited. *Marine Pollution Bulletin*, 55: 215–224.
- Debenay, J.-P., Tsakiridis, E., Soulard, R., and Grossel, H. 2001. Factors determining the distribution of foraminiferal assemblages in Port Joinville Harbor (Île d'Yeu, France): the influence of pollution. *Marine Micropaleontology*, 43: 75–118.
- Deiner, K., Bik, H. M., Mächler, E., Seymour, M., Lacoursière-Roussel, A., Altermatt, F., Creer, S., et al. 2017. Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities. *Molecular Ecology*, 26: 5872–5895.
- Denoyelle, M., Geslin, E., Jorissen, F. J., Cazes, L., and Galgani, F. 2012. Innovative use of foraminifera in ecotoxicology: A marine chronic bioassay for testing potential toxicity of drilling muds. *Ecological Indicators*, 12: 17–25.
- Dimiza, M. D., Triantaphyllou, M. V., Koukousioura, O., Hallock, P., Simboura, N., Karageorgis, A. P., and Papathanasiou, E. 2016. The Foram Stress Index: A new tool for environmental assessment of soft-bottom environments using benthic foraminifera. A case study from the Saronikos Gulf, Greece, Eastern Mediterranean. *Ecological Indicators*, 60: 611–621.
- Dolven, J. K., Alve, E., Rygg, B., and Magnusson, J. 2013. Defining past ecological status and in situ reference conditions using benthic foraminifera: A case study from the Oslofjord, Norway. *Ecological Indicators*, 29: 219–233.
- Duijnste, I., de Lugt, I., Vonk Noordegraaf, H., and van der Zwaan, B. 2004. Temporal variability of foraminiferal densities in the northern Adriatic Sea. *Marine Micropaleontology*, 50: 125–148.
- Ernst, S., Duijnste, I., and van der Zwaan, B. 2002. The dynamics of the benthic foraminiferal microhabitat: recovery after experimental disturbance. *Marine Micropaleontology*, 46: 343–361.
- Ernst, S. 2005. Experimental effects of an organic matter pulse and oxygen depletion on a benthic foraminiferal shelf community. *The Journal of Foraminiferal Research*, 35: 177–197.
- Ernst, S. R., Morvan, J., Geslin, E., Le Bihan, A., and Jorissen, F. J. 2006. Benthic foraminiferal response to experimentally induced Erika oil pollution. *Marine Micropaleontology*, 61: 76–93.
- Ferraro, L., Sprovieri, M., Alberico, I., Lirer, F., Prevedello, L., and Marsella, E. 2006. Benthic foraminifera and heavy metals distribution: A case study from the Naples Harbour (Tyrrhenian Sea, Southern Italy). *Environmental Pollution*, 142: 274–287.
- Francescangeli, F., Armynot du Chatelet, E., Billon, G., Trentesaux, A., and Bouchet, V. M. P. 2016. Palaeo-ecological quality status based on foraminifera of Boulogne-sur-Mer harbour (Pas-de-Calais, Northeastern France) over the last 200 years. *Marine Environmental Research*, 117: 32–43.

- Frontalini, F., and Coccioni, R. 2008. Benthic foraminifera for heavy metal pollution monitoring: A case study from the central Adriatic Sea coast of Italy. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 76: 404–417.
- Frontalini, F., and Coccioni, R. 2011. Benthic foraminifera as bioindicators of pollution: A review of Italian research over the last three decades. *Revue de Micropaléontologie*, 54: 115–127.
- Frontalini, F., Nardelli, M. P., Curzi, D., Martín-González, A., Sabbatini, A., Negri, A., Losada, M. T., et al. 2018a. Benthic foraminiferal ultrastructural alteration induced by heavy metals. *Marine Micropaleontology*, 138: 83–89.
- Frontalini, F., Greco, M., Di Bella, L., Lejzerowicz, F., Reo, E., Caruso, A., Cosentino, C., et al. 2018b. Assessing the effect of mercury pollution on cultured benthic foraminifera community using morphological and eDNA metabarcoding approaches. *Marine Pollution Bulletin*, 129: 512–524.
- Gillett, D. J., Weisberg, S. B., Grayson, T., Hamilton, A., Hansen, V., Leppo, E. W., Pelletier, M. C., et al. 2015. Effect of ecological group classification schemes on performance of the AMBI benthic index in US coastal waters. *Ecological Indicators*, 50: 99–107.
- Goineau, A., Fontanier, C., Jorissen, F. J., Lansard, B., Buscail, R., Mouret, A., Kerhervé, P., et al. 2011. 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: 58–75.
- Grosjean, P., Picheral, M., Warembourg, C., and Gorsky, G. 2004. Enumeration, measurement, and identification of net zooplankton samples using the ZOOSCAN digital imaging system. *ICES Journal of Marine Science*, 61: 518–525.
- Hedges, J. I., Keil, R. G., and Cowie, G. L. 1993. Sedimentary diagenesis: organic perspectives with inorganic overlays. *Chemical Geology*, 107: 487–492.
- Hering, D., Borja, A., Jones, J. I., Pont, D., Boets, P., Bouchez, A., Bruce, K., et al. 2018. Implementation options for DNA-based identification into ecological status assessment under the European Water Framework Directive. *Water Research*, 138: 192–205.
- Hyams-Kaphzan, O., Almogi-Labin, A., Benjamini, C., and Herut, B. 2009. Natural oligotrophy vs. pollution-induced eutrophy on the SE Mediterranean shallow shelf (Israel): Environmental parameters and benthic foraminifera. *Marine Pollution Bulletin*, 58: 1888–1902.
- Hyams-Kaphzan, O., Lubinevsky, H., Crouvi, O., Harlavan, Y., Herut, B., Kanari, M., Tom, M., et al. 2018. Live and dead deep-sea benthic foraminiferal macrofauna of the Levantine basin (SE Mediterranean) and their ecological characteristics. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 136: 72–83.
- Jauffrais, T., Jesus, B., Méléder, V., and Geslin, E. 2017. Functional xanthophyll cycle and pigment content of a kleptoplastic benthic foraminifer: *Haynesina germanica*. *PLOS ONE*, 12: e0172678.

- Jorissen, F. J. 1988. Benthic foraminifera from the Adriatic Sea: principles of phenotypic variation. Utrecht University, Utrecht, The Netherlands. 174 pp. <https://dspace.library.uu.nl/handle/1874/205896> (Accessed 23 July 2017).
- Jorissen, F. J., Barmawidjaja, D. M., Puskaric, S., and van der Zwaan, G. J. 1992. Vertical distribution of benthic foraminifera in the northern Adriatic Sea: The relation with the organic flux. *Marine Micropaleontology*, 19: 131–146.
- Jorissen, F. J., De Stigter, H., and Widmark, J. G. V. 1995. A conceptual model explaining benthic foraminiferal microhabitats. *Marine Micropaleontology*, 26: 3–15.
- Jorissen, F. J. 1999. Benthic foraminiferal microhabitats below the sediment-water interface. In *Modern Foraminifera*, pp. 161–179. Springer, Dordrecht, The Netherlands. https://doi.org/10.1007/0-306-48104-9_10.
- Jorissen, F. J., Bicchi, E., Duchemin, G., Durrieu, J., Galgani, F., Cazes, L., Gaultier, M., et al. 2009. Impact of oil-based drill mud disposal on benthic foraminiferal assemblages on the continental margin off Angola. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 56: 2270–2291.
- Jorissen, F. J., Nardelli, M. P., Almogi-Labin, A., Barras, C., Bergamin, L., Bicchi, E., El Kateb, A., et al. 2018. Developing Foram-AMBI for biomonitoring in the Mediterranean: Species assignments to ecological categories. *Marine Micropaleontology*, 140: 33–45.
- Keil, R. G., Tsamakis, E., Fuh, C. B., Giddings, J. C., and Hedges, J. I. 1994. Mineralogical and textural controls on the organic composition of coastal marine sediments: Hydrodynamic separation using SPLITT-fractionation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58: 879–893.
- Lejzerowicz, F., Esling, P., Majewski, W., Szczucinski, W., Decelle, J., Obadia, C., Arbizu, P. M., et al. 2013. Ancient DNA complements microfossil record in deep-sea subsurface sediments. *Biology Letters*, 9: 20130283–20130283.
- Lejzerowicz, F., Esling, P., Pillet, L., Wilding, T. A., Black, K. D., and Pawlowski, J. 2015. High-throughput sequencing and morphology perform equally well for benthic monitoring of marine ecosystems. *Scientific Reports*, 5. <http://www.nature.com/articles/srep13932> (Accessed 20 November 2018).
- LeKieffre, C., Spangenberg, J. E., Mabilieu, G., Escrig, S., Meibom, A., and Geslin, E. 2017. Surviving anoxia in marine sediments: The metabolic response of ubiquitous benthic foraminifera (*Ammonia tepida*). *PLOS ONE*, 12: e0177604.
- LeKieffre, C., Jauffrais, T., Geslin, E., Jesus, B., Bernhard, J. M., Giovani, M.-E., and Meibom, A. 2018. Inorganic carbon and nitrogen assimilation in cellular compartments of a benthic kleptoplastic foraminifer. *Scientific Reports*, 8. <http://www.nature.com/articles/s41598-018-28455-1> (Accessed 4 July 2018).
- Mayer, L. M. 1994. Relationships between mineral surfaces and organic carbon concentrations in soils and sediments. *Chemical Geology*, 114: 347–363.
- Menezes, S., Baird, D. J., and Soares, A. M. V. M. 2010. Beyond taxonomy: a review of macroinvertebrate trait-based community descriptors as tools for

- freshwater biomonitoring: Trait-based community descriptors. *Journal of Applied Ecology*, 47: 711–719.
- Mitra, R., Marchitto, T. M., Ge, Q., Zhong, B., Kanakiya, B., Cook, M. S., Fehrenbacher, J. S., et al. 2019. Automated species-level identification of planktic foraminifera using convolutional neural networks, with comparison to human performance. *Marine Micropaleontology*, 147: 16–24.
- Mojtahid, M., Jorissen, F. J., Durrieu, J., Galgani, F., Howa, H., Redois, F., and Camps, R. 2006. Benthic foraminifera as bio-indicators of drill cutting disposal in tropical east Atlantic outer shelf environments. *Marine Micropaleontology*, 61: 58–75.
- Mojtahid, M., Jorissen, F. J., Lansard, B., Fontanier, C., Bombled, B., and Rabouille, C. 2009. Spatial distribution of live benthic foraminifera in the Rhône prodelta: Faunal response to a continental–marine organic matter gradient. *Marine Micropaleontology*, 70: 177–200.
- Murray, J. W., and Alve, E. 2011. The distribution of agglutinated foraminifera in NW European seas: Baseline data for the interpretation of fossil assemblages. *Palaeontologia Electronica*, 14: 41.
- Nilsson, H. C., and Rosenberg, R. 2000. Succession in marine benthic habitats and fauna in response to oxygen deficiency: analysed by sediment profile-imaging and by grab samples. *Marine Ecology Progress Series*, 197: 139–149.
- Pawłowska, J., Lejzerowicz, F., Esling, P., Szczuciński, W., Zajączkowski, M., and Pawłowski, J. 2014. Ancient DNA sheds new light on the Svalbard foraminiferal fossil record of the last millennium. *Geobiology*, 12: 277–288.
- Pawłowska, J., Zajączkowski, M., Łacka, M., Lejzerowicz, F., Esling, P., and Pawłowski, J. 2016. Palaeoceanographic changes in Hornsund Fjord (Spitsbergen, Svalbard) over the last millennium: new insights from ancient DNA. *Climate of the Past*, 12: 1459–1472.
- Pawłowski, J., Lejzerowicz, F., Apotheloz-Perret-Gentil, L., Visco, J., and Esling, P. 2016. Protist metabarcoding and environmental biomonitoring: Time for change. *European Journal of Protistology*, 55: 12–25.
- Pawłowski, J., Kelly-Quinn, M., Altermatt, F., Apothéloz-Perret-Gentil, L., Beja, P., Boggero, A., Borja, A., et al. 2018. The future of biotic indices in the ecogenomic era: Integrating (e)DNA metabarcoding in biological assessment of aquatic ecosystems. *Science of The Total Environment*, 637–638: 1295–1310.
- Pearson, T. H., and Rosenberg, R. 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and Marine Biology - An Annual Review*, 16: 229–311.
- Phipps, M., Jorissen, F., Pusceddu, A., Bianchelli, S., and De Stigter, H. 2012. Live Benthic Foraminiferal Faunas Along a Bathymetrical Transect (282–4987 m) on the Portuguese Margin (NE Atlantic). *The Journal of Foraminiferal Research*, 42: 66–81.
- Piña-Ochoa, E., Høgslund, S., Geslin, E., Cedhagen, T., Revsbech, N. P., Nielsen, L. P., Schweizer, M., et al. 2010. Widespread occurrence of nitrate storage

- and denitrification among Foraminifera and Gromiida. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107: 1148–1153.
- Poff, N. L., Olden, J. D., Vieira, N. K. M., Finn, D. S., Simmons, M. P., and Kondratieff, B. C. 2006. Functional trait niches of North American lotic insects: traits-based ecological applications in light of phylogenetic relationships. *Journal of the North American Benthological Society*, 25: 730–755.
- Premuzic, E. T., Benkovitz, C. M., Gaffney, J. S., and Walsh, J. J. 1982. The nature and distribution of organic matter in the surface sediments of world oceans and seas. *Organic Geochemistry*, 4: 63–77.
- Regnier, P., Friedlingstein, P., Ciais, P., Mackenzie, F. T., Gruber, N., Janssens, I. A., Laruelle, G. G., et al. 2013. Anthropogenic perturbation of the carbon fluxes from land to ocean. *Nature Geoscience*, 6: 597–607.
- Risgaard-Petersen, N., Langezaal, A. M., Ingvarsen, S., Schmid, M. C., Jetten, M. S. M., Op den Camp, H. J. M., Derksen, J. W. M., et al. 2006. Evidence for complete denitrification in a benthic foraminifer. *Nature*, 443: 93–96.
- Rosenberg, R. 2001. Marine benthic faunal successional stages and related sedimentary activity. *Scientia Marina*, 65: 107–119.
- Sabbatini, A., Bonatto, S., Bianchelli, S., Pusceddu, A., Danovaro, R., and Negri, A. 2012. Foraminiferal assemblages and trophic state in coastal sediments of the Adriatic Sea. *Journal of Marine Systems*, 105–108: 163–174.
- Schönfeld, J. 2012. History and development of methods in Recent benthic foraminiferal studies. *Journal of Micropalaeontology*, 31: 53–72.
- Schönfeld, J., Alve, E., Geslin, E., Jorissen, F., Korsun, S., and Spezzaferri, S. 2012. The FOBIMO (FORaminiferal BIo-MONitoring) initiative—Towards a standardised protocol for soft-bottom benthic foraminiferal monitoring studies. *Marine Micropaleontology*, 94–95: 1–13.
- Schweizer, M., Polovodova, I., Nikulina, A., and Schönfeld, J. 2011. Molecular identification of *Ammonia* and *Elphidium* species (Foraminifera, Rotaliida) from the Kiel Fjord (SW Baltic Sea) with rDNA sequences. *Helgoland Marine Research*, 65: 1–10.
- Syvitski, J. P. M., Vörösmarty, C. J., Kettner, A. J., and Green, P. 2005. Impact of Humans on the Flux of Terrestrial Sediment to the Global Coastal Ocean. *Science*, 308: 376–380.
- Titelboim, D., Almogi-Labin, A., Herut, B., Kucera, M., Schmidt, C., Hyams-Kaphzan, O., Ovadia, O., et al. 2016. Selective responses of benthic foraminifera to thermal pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 105: 324–336.
- Van Hoey, G., Degraer, S., and Vincx, M. 2004. Macrobenthic community structure of soft-bottom sediments at the Belgian Continental Shelf. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 59: 599–613.
- Zettler, M. L., Proffitt, C. E., Darr, A., Degraer, S., Devriese, L., Greathead, C., Kotta, J., et al. 2013. On the Myths of Indicator Species: Issues and Further Consideration in the Use of Static Concepts for Ecological Applications. *PLoS ONE*, 8: e78219.

Zhong, B., Ge, Q., Kanakiya, B., Mitra, R., Marchitto, T., and Lobaton, E. 2017. A Comparative Study of Image Classification Algorithms for Foraminifera Identification. In 2017 IEEE Symposium Series on Computational Intelligence (SSCI), p. 8. IEEE, Honolulu, HI, USA.

Planches taxonomiques

Dans les planches suivantes sont présentées certaines des espèces de foraminifère benthique des côtes méditerranéennes françaises. Les images ont été prise au microscope électronique à balayage au SCIAM, le service d'imagerie de l'Université d'Angers.

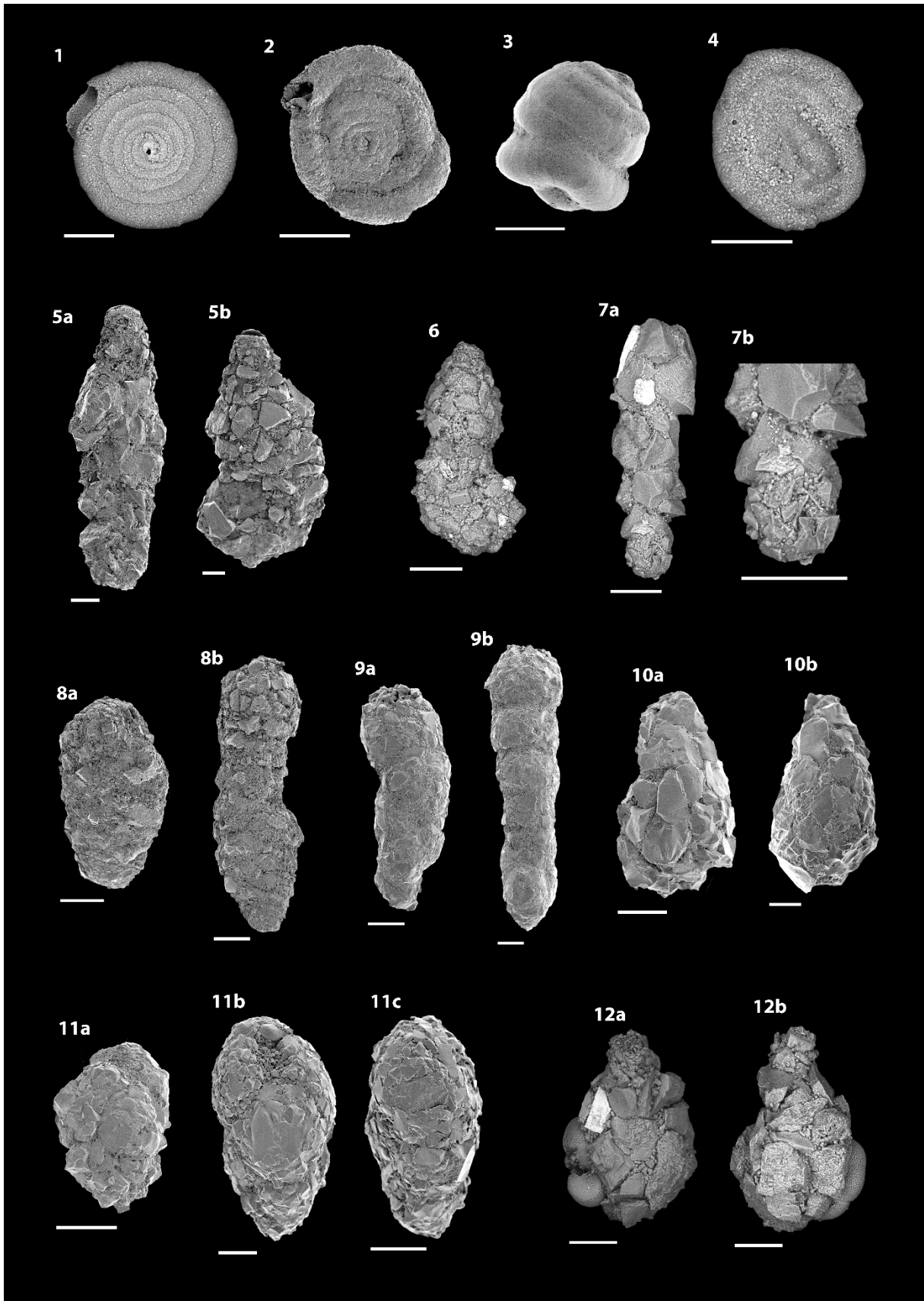


Planche 1 : 1) *Ammodiscus planus*, 2) *Glomospira charoides*, 3) *Glomospira gordialis*, 4) *Glomospira* sp. 1, 5) *Ammoscalaria pseudospiralis*, 6) *Ammoscalaria* sp. 1, 7) *Ammoscalaria* sp. 2, 8) *Bigenerina nodosaria*, 9) *Clavulina cylindrica*, 10) *Lagenammina atlantica*, 11) *Eggerelloides scaber*, 12) *Lagenammina difflugiformis*, échelle = 100 μ m

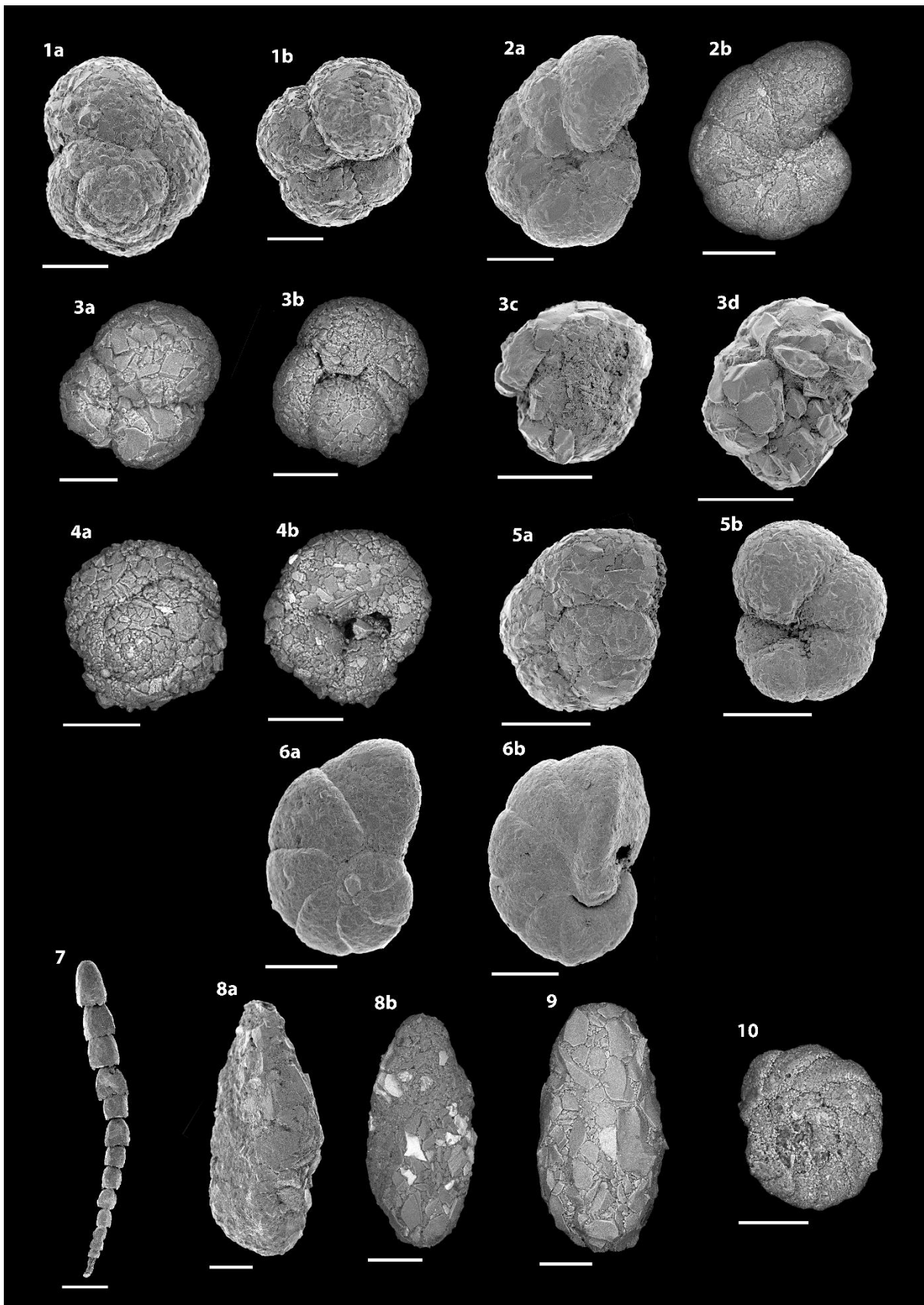


Planche 2 : 1) *Ammoglobigerina globigeriniformis*, 2) *Haplophragmoides canariensis*, 3) *Recurvoides* sp. 1, 4) *Tritaxis* sp., 5) *Trochammina* sp., 6) *Trochamminula* sp., 7) *Leptohalysis scotti*, 8) *Nouria* cf. *polymorphinoides*, 9) *Nouria polymorphinoides*, 10) *Deuterammina* sp. , échelle = 100 μ m

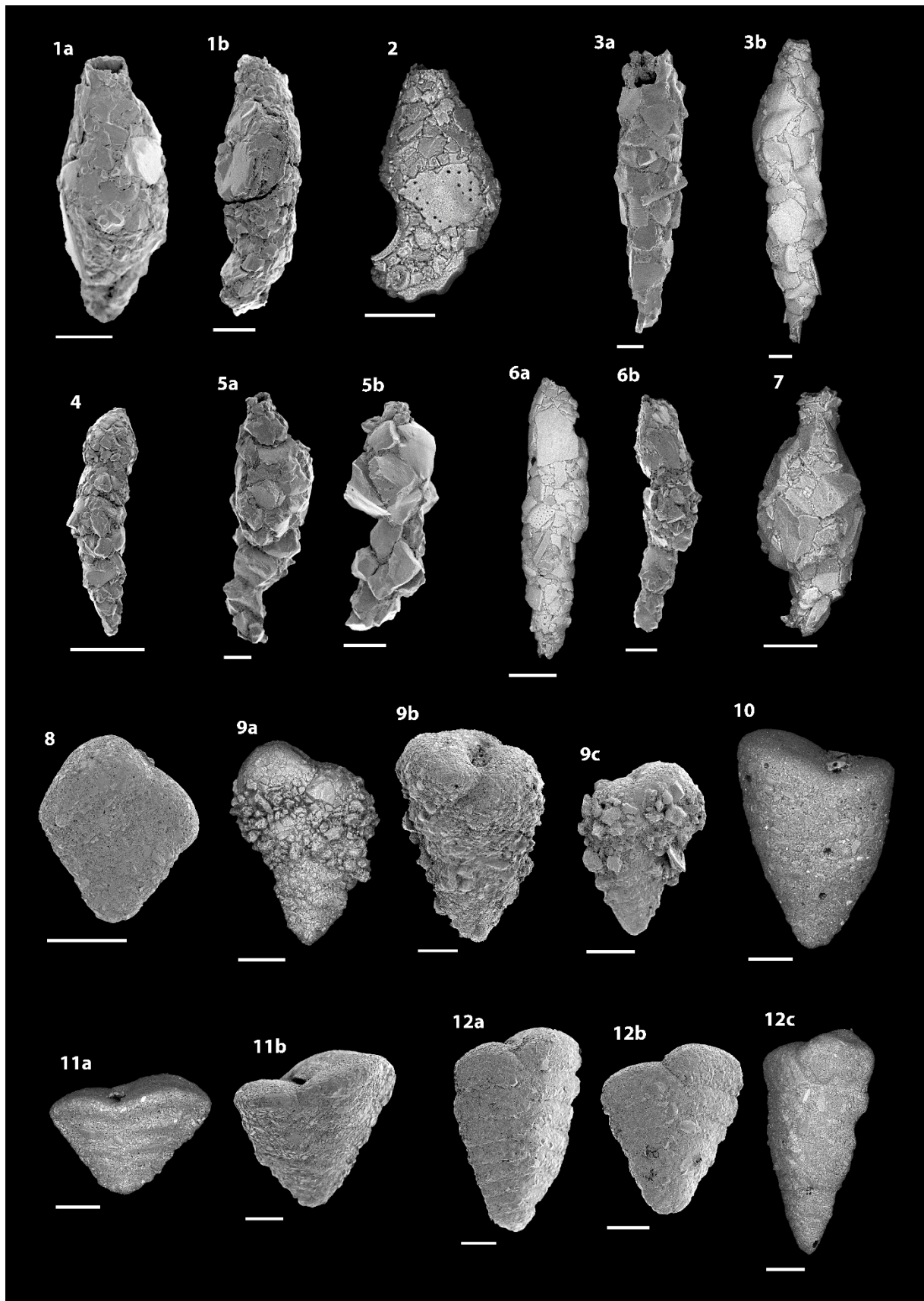


Planche 3 : 1) *Reophax fusiformis* f. a, 2) *Reophax fusiformis* f. b, 3) *Reophax fusiformis* f. calcareus, 4) *Reophax micaceus*, 5) *Reophax scorpiurus*, 6) *Reophax* sp. 1, 7) *Reophax subfusiformis*, 8) *Siphotextularia concava*, 9) *Textularia agglutinans*, 10) *Textularia truncata*, 11) *Textularia conica*, 12) *Textularia sagittula*, échelle = 100 μ m

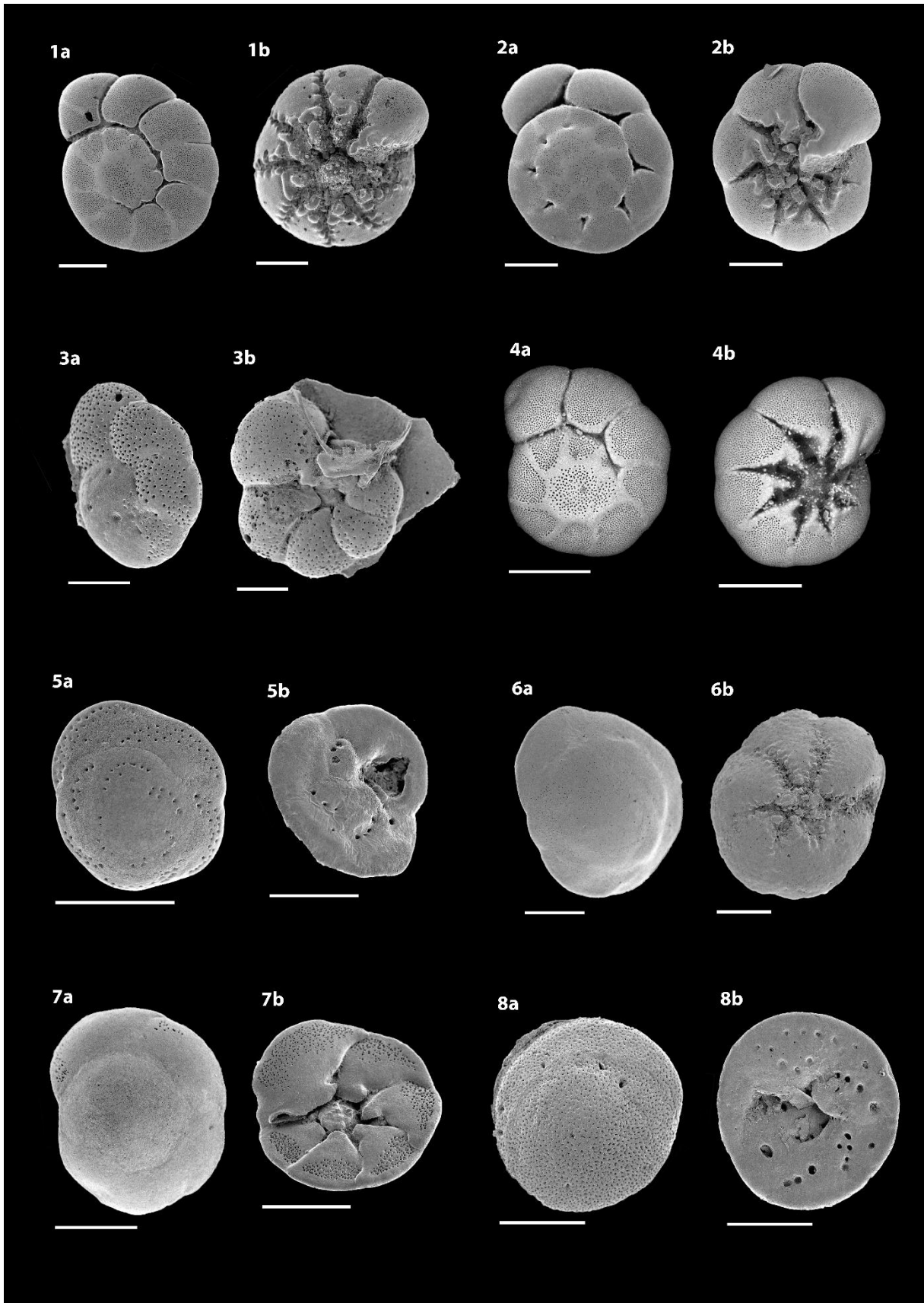


Planche 4 : 1) *Ammonia beccarii*, 2) *Pseudoepionides falsobeccarii*, 3) *Ammonia perlucida*, 4) *Ammonia tepida*, 5) *Asterigerinata mamilla*, 6) *Buccella granulata*, 7) *Gavelinopsis praegeri*, 8) *Neoconorbina terquemi*, échelle = 100 μ m

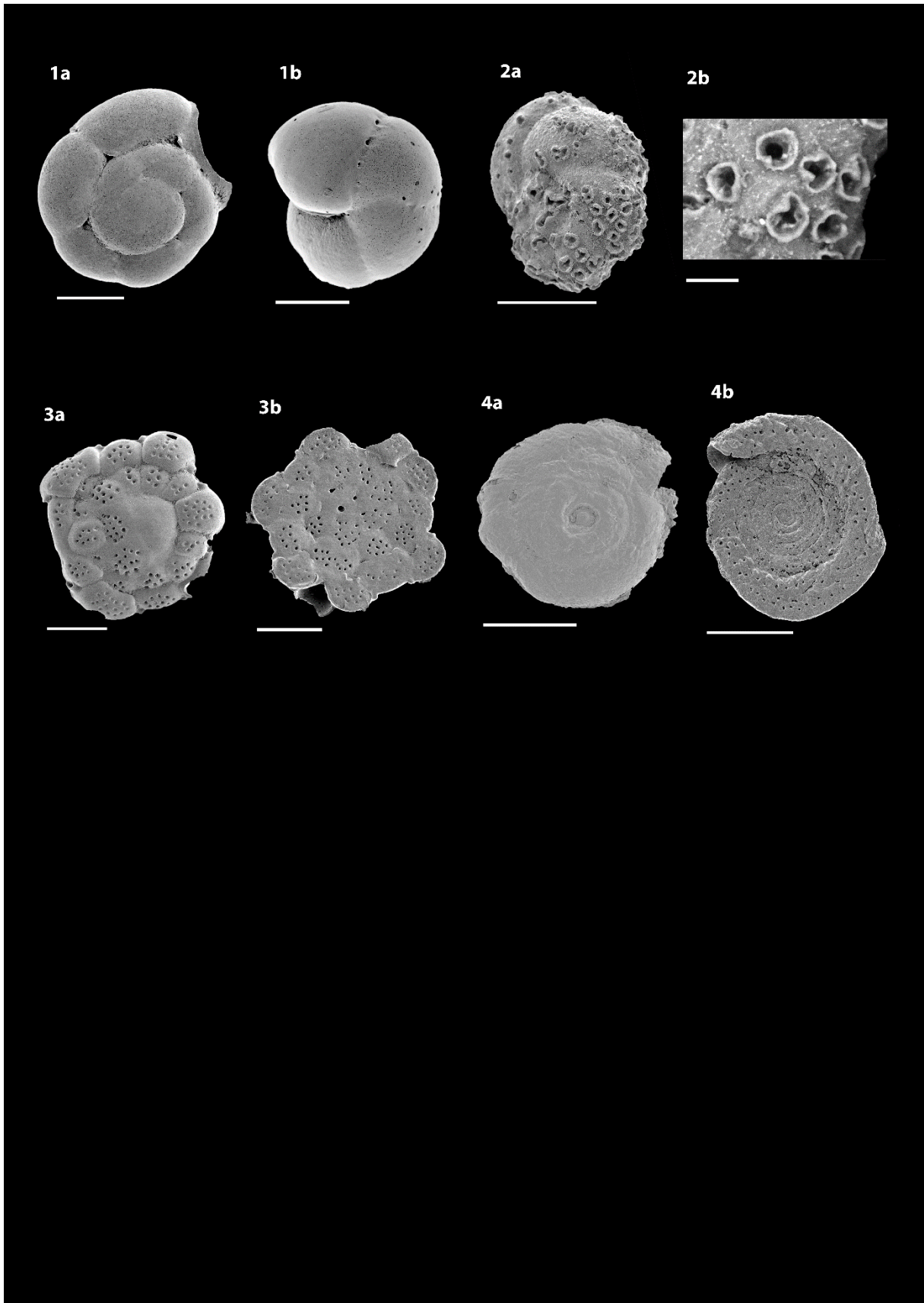


Planche 5 : 1) *Gyroidina umbonata*, 2) *Gyroidina* sp. 1, 3) *Planorbulina mediterranensis*, 4) *Spirillina vivipara*, échelle = 100 μ m, sauf 2b = 20 μ m



Planche 6 : 1) *Cancris auriculus*, 2) *Valvulineria bradyana*, 3) *Cibicides lobatulus*, 4) *Cibicides refulgens*, 5) *Hanzawaia boueana*, 6) *Rosalina vilardebouana*, 7) *Rosalina bradyi*, 8) *Rosalina globularis*, 9) *Stomatorbina concentrica*, échelle = 100 μ m

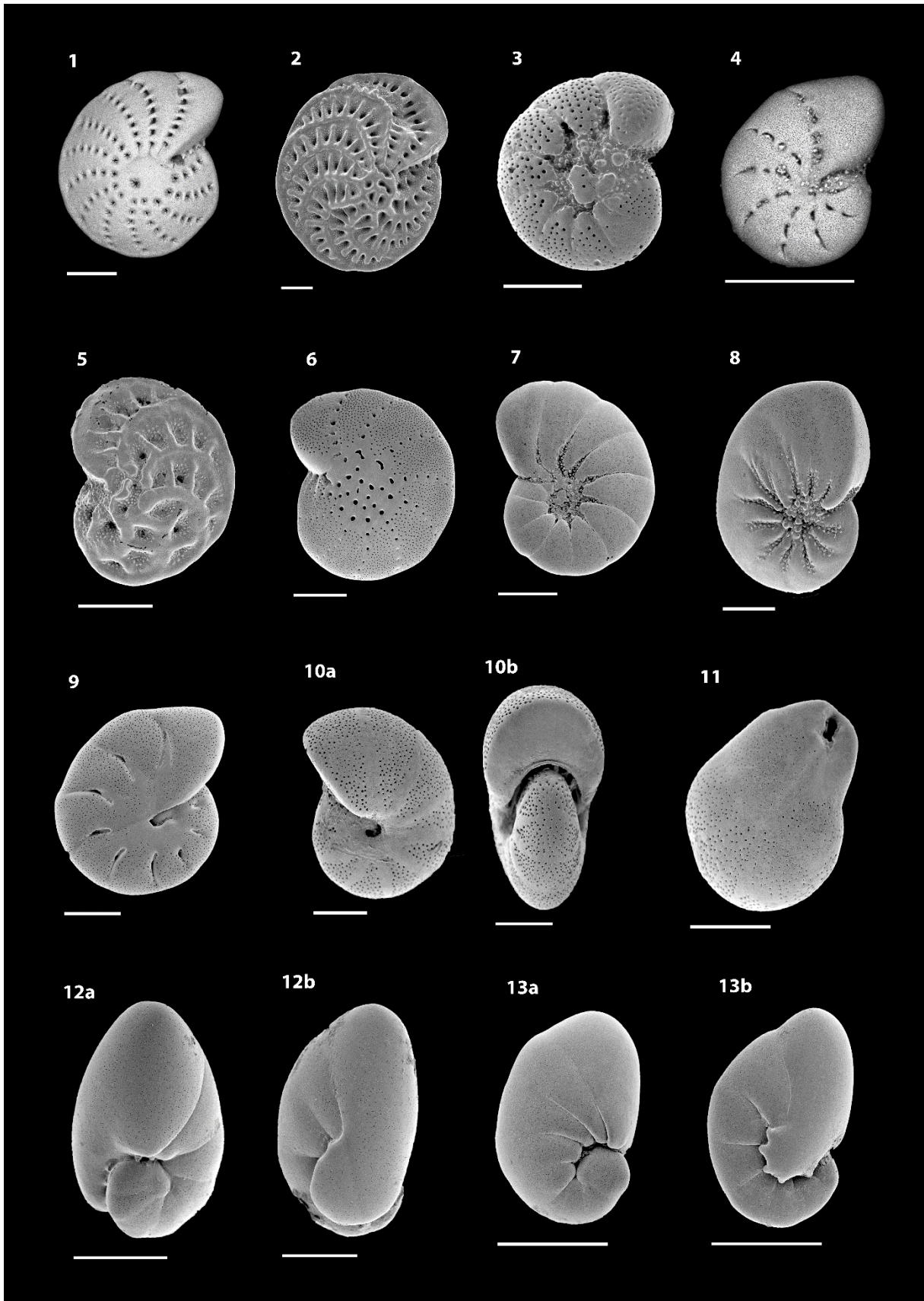


Planche 7 : 1) *Elphidium advenum*, 2) *Elphidium crispum*, 3) *Elphidium granosum*, 4) *Elphidium incertum*, 5) *Elphidium macellum*, 6) *Elphidium poeyanum*, 7) *Nonion depressulum*, 8) *Nonion scaphum*, 9) *Astrononion stelligerum*, 10) *Melonis barleeanus*, 11) *Cassidulina oblonga*, 12) *Nonionella turgida*, 13) *Nonionella stella*, échelle = 100 μ m

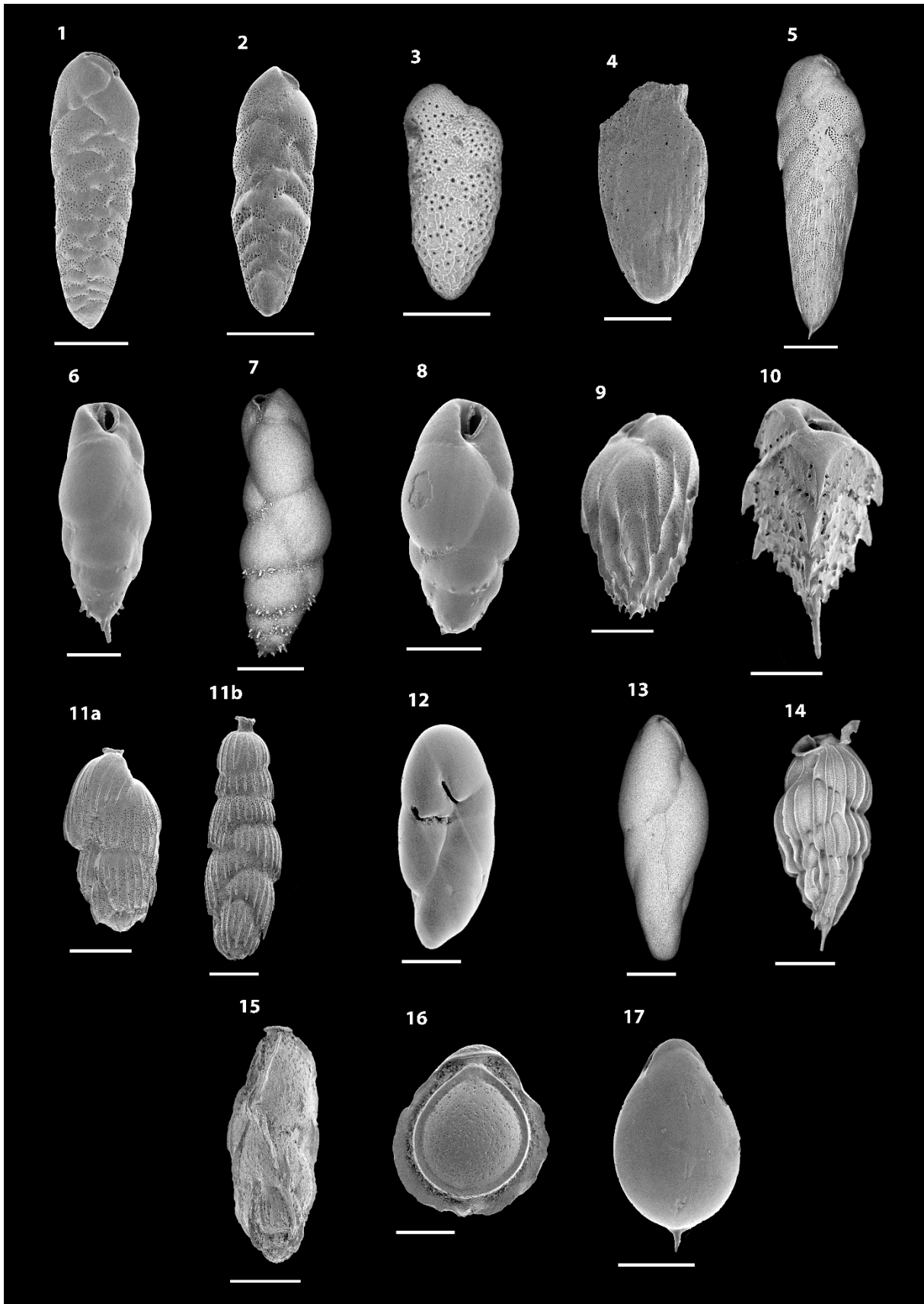


Planche 8 : 1) *Bolivina dilatata*, 2) *Bolivina pseudoplicata*, 3) *Bolivina pygmaea*, 4) *Bolivina spathulata*, 5) *Bolivina subaenariensis*, 6) *Bulimina aculeata*, 7) *Bulimina elongata*, 8) *Bulimina gibba*, 9) *Bulimina costata*, 10) *Reussella spinulosa*, 11) *Rectuvigerina phlegeri*, 12) *Robertinoides bradyi*, 13) *Stainforthia fusiformis*, 14) *Saidovina karreriana*, 15) *Trifarina angulosa*, 16) *Fissurina orbignyana*, 17) *Fissurina sp. 1*, échelle = 100 μ m

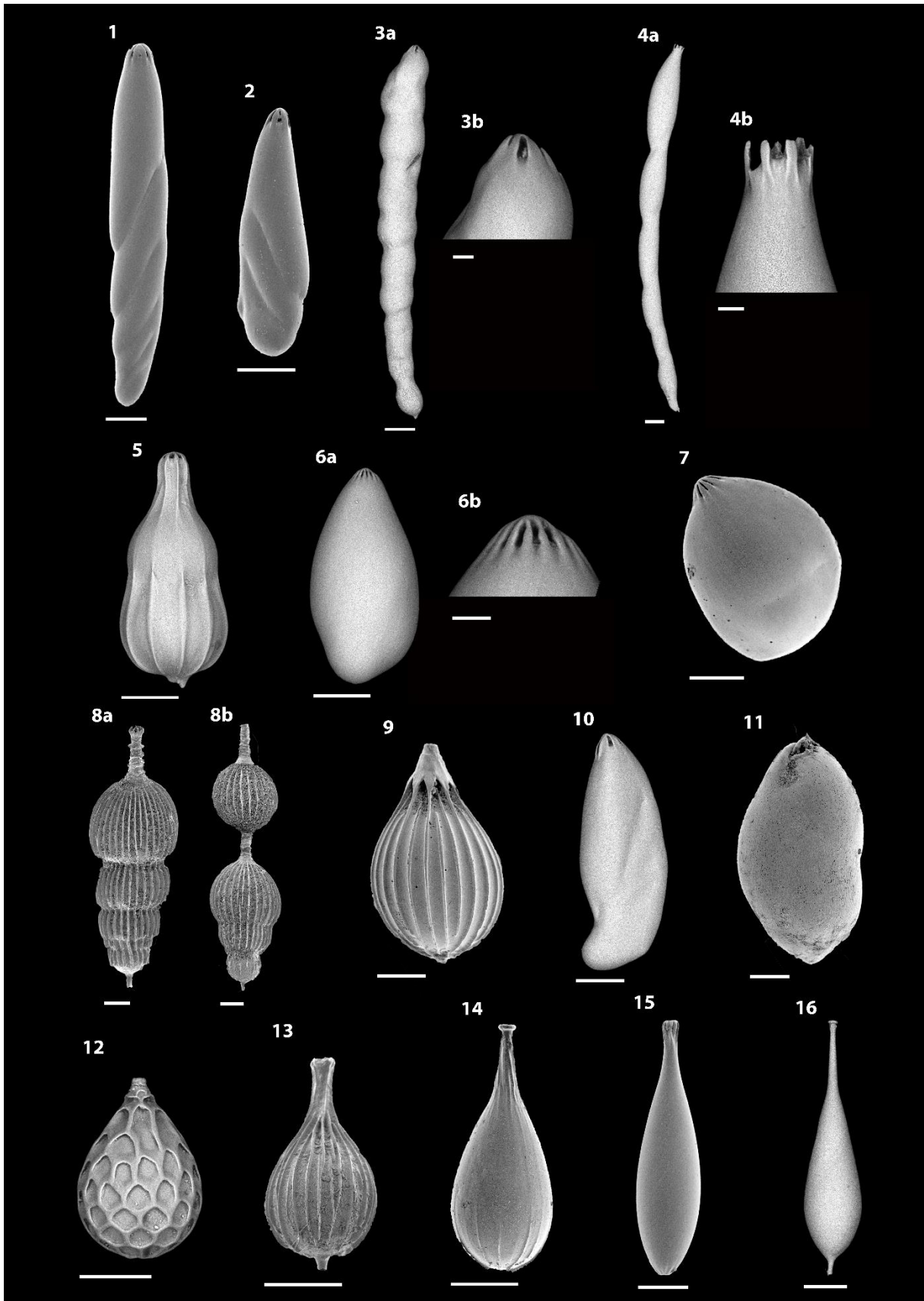


Planche 9 : 1) *Dentalina bradyensis*, 2) *Dentalina subsoluta*, 3) *Dentalina* sp., 4) *Nodosaria* sp., 5) *Pyramidulina catesbyi*, 6) *Glandulina* sp., 7) *Lenticulina peregrina*, 8) *Amphicoryna scalaris*, 9) *Oolina acuticosta*, 10) *Astacolus insolitus* ; 11) *Globobulimina affinis*, 12) *Lagena hexagona*, 13) *Lagena striata*, 14) *Lagena semistriata*, 15) *Lagena elongata*, 16) *Hyalinonetrion gracillimum*, échelle = 100 μ m, sauf 3b, 4b et 6b = 20 μ m

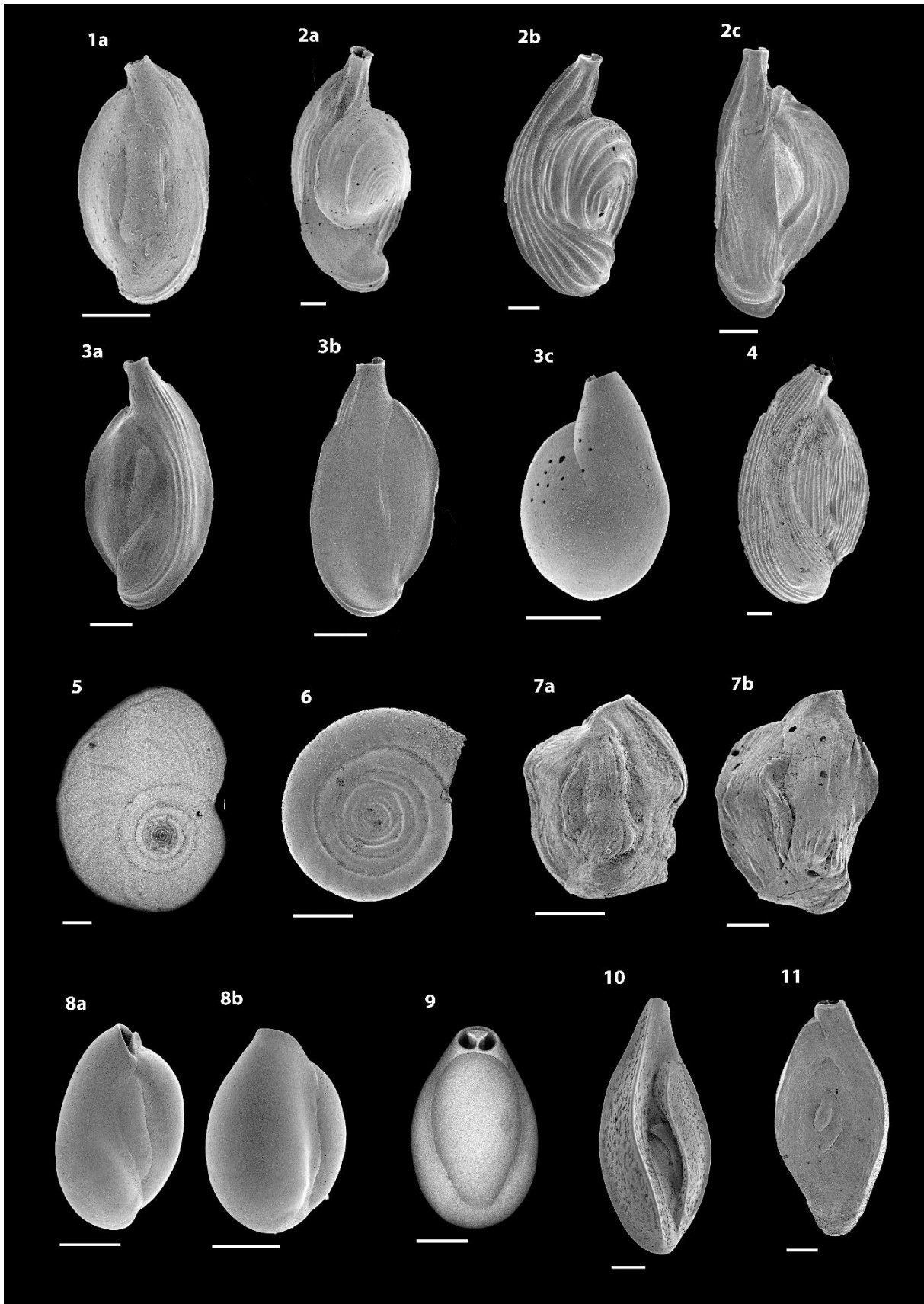


Planche 10 : 1) *Adelosina elegans*, 2) *Adelosina ferussaci*, 3) *Adelosina longirostra*, 4) *Adelosina* sp. 1, 5) *Cornuspira foliacea*, 6) *Cornuspira involvens*, 7) *Lachlanella undulata*, 8) *Miliolinella subrotunda*, 9) *Pyrgo elongata*, 10) *Spiroloculina elevata*, 11) *Spiroloculina excavata*, échelle = 100 μ m

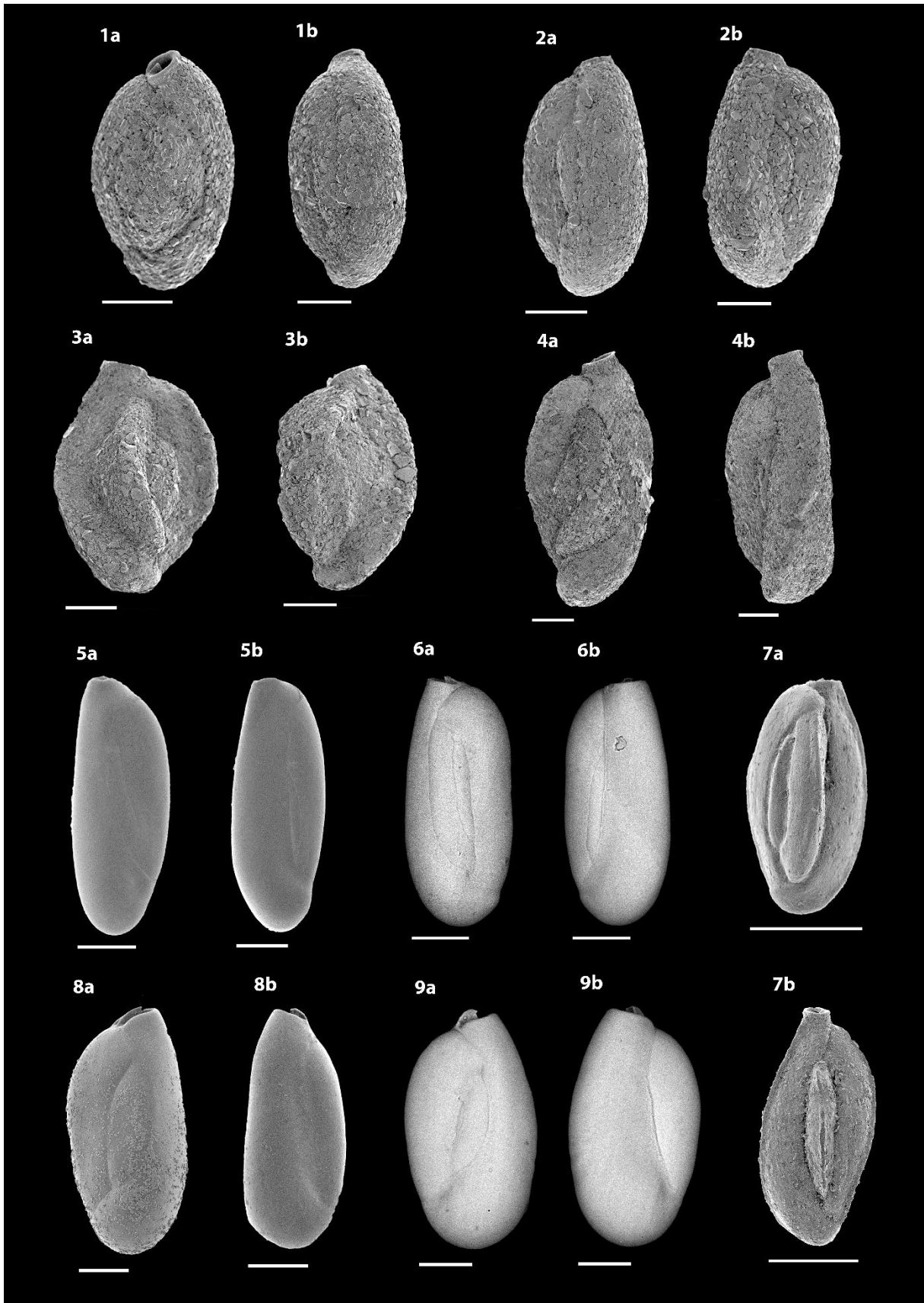


Planche 11 : 1) *Quinqueloculina aspera* f. *aspera*, 2) *Quinqueloculina aspera* f. *quadrata*, 3) *Quinqueloculina aspera* f. *rugosa*, 4) *Quinqueloculina aspera* f. *berthelotiana*, 5) *Quinqueloculina bosciana*, 6) *Quinqueloculina* cf. *bosciana*, 7) *Quinqueloculina stelligera*, 8) *Quinqueloculina laevigata*, 9) *Quinqueloculina* cf. *laevigata*, échelle = 100 μ m

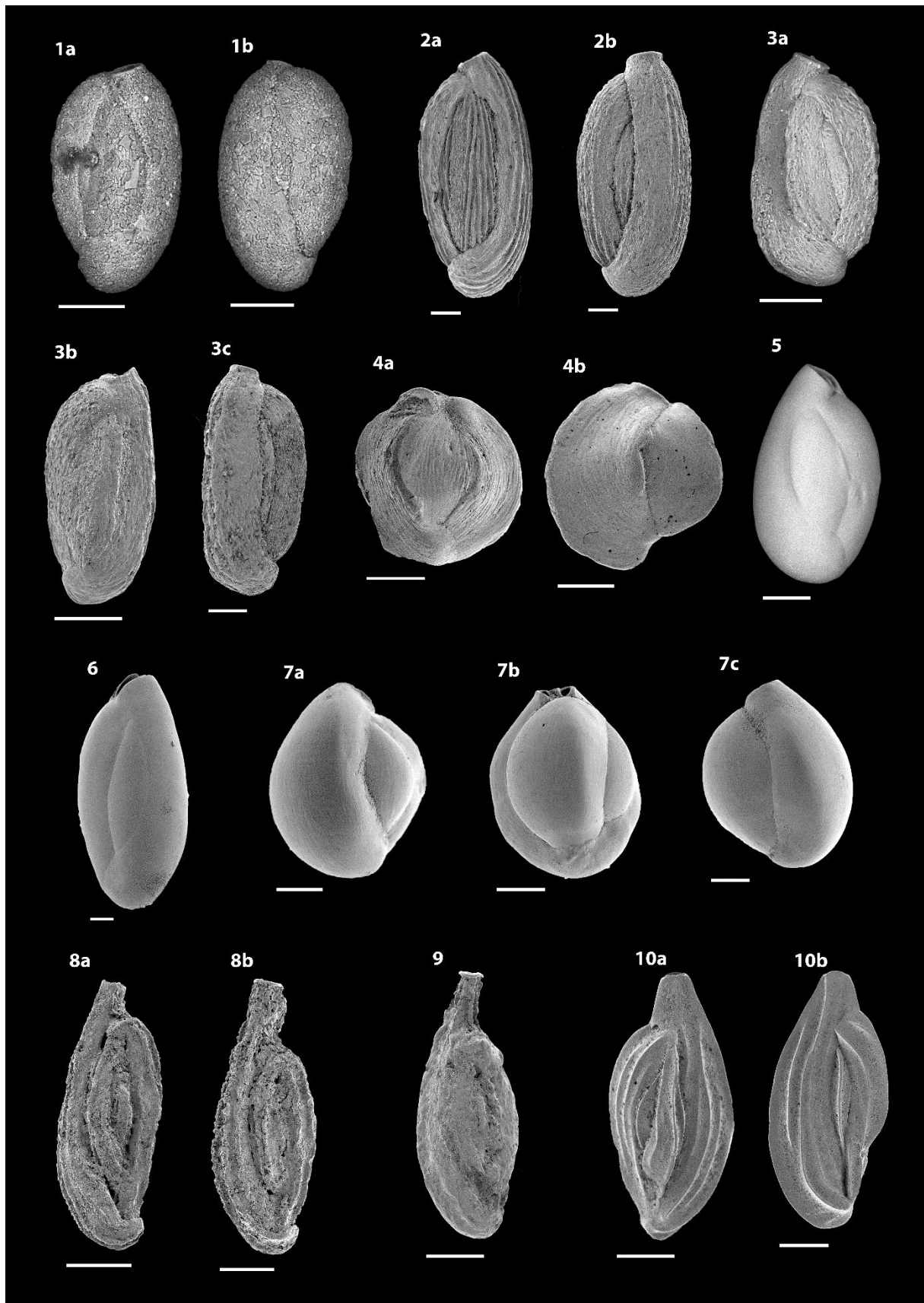


Planche 12 : 1) *Quinqueloculina costata* f. *lucida*, 2) *Quinqueloculina costata* f. *costata*, 3) *Quinqueloculina costata* f. *limbata*, 4) *Quinqueloculina lamarckiana*, 5) *Quinqueloculina seminula*, 6) *Triloculina oblonga*, 7) *Triloculina trigonula*, 8) *Sigmoilina grata*, 9) *Sigmoilina* sp. 2, 10) *Sigmoilinita* sp. 1, échelle = 100 μ m

Table des matières

Creative Commons	i
Remerciements	ii
Formations suivies, enseignement et communication.....	iv
Sommaire.....	vii
Chapitre 1 : Introduction	1
1.1. Foraminifères benthiques	3
1.2. Bio-monitoring	4
1.2.1. Eutrophisation.....	4
1.2.2. Qualité environnementale.....	5
1.2.3. Indices biotiques	5
1.2.4. Utilisation des foraminifères benthiques en bio-monitoring	7
1.3. Directive Cadre sur l'Eau	8
1.4. Mer Méditerranée	9
1.5. Objectifs	12
Références	13
Chapitre 2 : An optimised method to concentrate living (Rose Bengal-stained) benthic foraminifera from sandy sediments by high density liquids.....	21
Abstract	23
2.1. Introduction	23
2.2. Material and methods	26
2.2.1. Sampling procedure	26
2.2.2. Sediment characteristics	27
2.2.3. Foraminiferal assemblages	28
2.2.4. Flotation experiments	28
2.2.5. Foraminiferal faunal parameters.....	29
2.3. Results	31
2.3.1. Flotation procedure.....	31
2.3.2. Sediment particle recovery	32
2.3.3. Total foraminiferal recovery.....	33
2.3.4. Recovery of specific groups of foraminifera	33
2.3.5. Faunal composition.....	34
2.3.6. Impact of the flotation procedure on faunal indices	36
2.4. Discussion	38

2.4.1. Density separation methods – practical considerations	39
2.4.1.1. Number of flotations	39
2.4.1.2. Potential impact of drying of the samples	39
2.4.1.3. Sediment size fraction	39
2.4.1.4. Impact of the type of sediment particles	40
2.4.1.5. Density separation liquids	40
2.4.2. Optimal density to concentrate living (RB-stained) foraminifera	41
2.4.3. Impact of density separation on the composition of the foraminiferal faunas and on biotic indices	43
2.5. Conclusion	45
Acknowledgements	45
References	46
Appendices	50
Appendix 2.A: State of the art of density separation methods	50
Appendix 2.B: Sediment particle characteristics	53
Appendix 2.C: Recovery rates (%) in the floated fraction for specific groups of foraminiferal species and sediment according to the separation solution and its density.	55
Appendix 2.D: Complete census of foraminifera.	58
Appendix 2.E: Type of samples and separation solutions used in the literature for density separation on foraminifera.	59
Appendix 2.F: Literature data: recovery rates (%) in the floated fraction for foraminifera in the total samples according to the separation solution and its density.	60

Chapitre 3 : New insights in environmental quality assessment by combining benthic foraminiferal community studies and grain size analysis.....61

Abstract	63
3.1. Introduction	63
3.2. Material and methods	68
3.2.1. Sampling	68
3.2.2. Foraminiferal faunas	69
3.2.3. Environmental quality assessment: TSI-Med	69
3.2.4. Grain size analyses	69
3.2.4.1. Treatment of the different sediment fractions	69
3.2.4.2. Size distribution of the different grain populations.....	70
3.2.5. Deconvolution of the grain size distribution	71
3.3. Results and discussion.....	72
3.3.1. Sediment composition	72
3.3.2. Grain size distribution of the different sediment components.....	75
3.3.2.1. Organic matter content: correction for production of ash during the loss on ignition	75

3.3.2.2. Individual grain size distribution of the three sediment components.....	77
3.3.3. Deconvolution of the grain size distribution of the detrital content	79
3.3.4. Utilisation of GSA data in biotic indices: how to correct for the natural trophic status?	82
3.4. Conclusion.....	86
References	86
Chapitre 4 : Comparison of four foraminiferal indices assessing the environmental quality of coastal Mediterranean soft bottom environments.....	93
Abstract	95
4.1. Introduction	95
4.2. Material and methods	97
4.2.1. Study area and sampling.....	97
4.2.2. Biotic indices based on diversity	98
4.2.3. Biotic indices based on group of indicator species.....	99
4.2.3.1. Index calculations.....	99
4.2.3.2. Homogenised list of indicator species.....	101
4.2.3.3. Reassessing the TSI-Med reference curve	102
4.3. Results and discussion.....	103
4.3.1. Effective number of species	103
4.3.2. Comparing the three indices based on species composition.....	105
4.3.2.1. Philosophy of the different indices	105
4.3.2.2. Comparing the indices using original species assignments	105
4.3.2.3. Testing the indices with the same list of indicator species for all indices	107
4.3.2.4. Treatment of unassigned species.....	108
4.3.3. Corrections for the natural trophic state	110
4.3.4. Attempt to define the EQS class limits.....	113
4.4. Recommendations	114
References	115
Appendices	119
Appendix 4.A: details on sampled stations	119
Appendix 4.B: Species assignment for the biotic indices based on groups of indicator species (TSI-Med, Foram-AMBI, and FSI)	121
Chapitre 5 : Évaluation de la qualité environnementale des substrats meubles de la côte méditerranéenne française par les faunes de foraminifères benthiques : campagne DCE 2015	129
Résumé.....	131

5.1. Introduction	131
5.2. Matériels et méthodes.....	133
5.2.1. Zone d'étude et échantillonnage.....	133
5.2.2. Traitements des échantillons	134
5.2.3. Paramètres faunistiques	135
5.2.4. Indices biotiques	136
5.2.5. CAH et analyse multivariée.....	137
5.3. Résultats	137
5.3.1. Paramètres environnementaux.....	137
5.3.2. Les communautés de foraminifères	139
5.3.3. Répartition des espèces sensibles et tolérantes à l'enrichissement en matière organique	143
5.3.4. TSI-Med et campagne de mesure DCE 2015	144
5.3.5. Analyse de cluster.....	147
5.3.6. Analyse multivariée.....	151
5.4. Discussion	154
5.4.1. Communautés des foraminifères benthiques et leurs milieux de vie	154
5.4.2. Qualité environnementale lors de la campagne DCE 2015 et évolution temporelle	157
5.4.2.1. Stations montrant une augmentation des valeurs de TSI- Med au cours du temps.....	162
5.4.2.2. Stations montrant une diminution des valeurs de TSI-Med au cours du temps	167
5.4.2.1. Variations des valeurs de TSI-Med variables sans tendance temporelle claire	170
5.4.2.1. Hétérogénéité spatiale	175
5.4.3. Efficacité de la correction pour l'état tropique du milieu dans l'indice TSI-Med.....	180
5.4.4. TSI-Med : comparaison avec le Foram-AMBI.....	181
5.4.4.1. Assignment d'espèces particulières	182
5.5. Conclusion.....	187
Références	188
Appendices	195
Appendice 5.A : Paramètres environnementaux principaux pour chaque station.....	195
Appendice 5.B : Paramètres faunistiques des stations échantillonnées en 2015	196
Appendice 5.C : Informations complémentaires sur l'évolution de la qualité écologique de certaines stations.....	200
Appendice 5.D : Pour chaque station sont indiqués les changements maximums de position géographique et de profondeur entre les années, l'hétérogénéité spatiale, les tendances suivies par le	

changement d'EQS entre les années et les causes des variations de la qualité écologique pour chaque station.....	208
Appendice 5.E : Abondances relatives d' <i>Eggerelloides scaber</i> et <i>Reophax fusiformis</i> pour chaque station.....	210
Chapitre 6 : Testing two biotic indices based on living (Rose Bengal-stained) benthic foraminiferal communities along a well-defined organic matter gradient in the eastern Mediterranean.....	213
Abstract	215
6.1. Introduction	215
6.2. Material and methods	218
6.2.1. Study area	218
6.2.2. Sampling and treatment of the foraminiferal faunas	219
6.2.3. Sediment analyses.....	220
6.2.4. Analysis of the foraminiferal faunas	220
6.2.4.1. Diversity indices and multivariate analysis.....	220
6.2.4.2. Quality indices	221
6.3. Results	222
6.3.1. Sediment properties	222
6.3.2. Foraminiferal community characteristics	224
6.3.2.1. Foraminiferal density and diversity	224
6.3.2.2. Species composition.....	225
6.3.3. Multivariate analyses	229
6.3.4. Biotic indices	231
6.4. Discussion	233
6.4.1. Natural conditions versus anthropogenic pressure gradient	233
6.4.2. Response of foraminiferal faunas to anthropogenic enrichment	236
6.4.2.1. Replicates	236
6.4.2.2. Previous studies on foraminifera and on macrofauna in the study area.....	237
6.4.2.3. Foraminiferal successions along the organic enrichment gradient.....	238
6.4.2.4. Autecology of <i>Leptohalysis scotti</i> and <i>Caronia silvestrii</i>	239
6.4.3. Biotic indices	241
6.4.4. Correction for natural eutrophic conditions.....	243
6.5. Conclusion.....	243
References	244
Appendix	249
Appendix 6.A: Information on the sampled stations	249
Chapitre 7 : Synthèse.....	251

7.1. Amélioration des méthodes	253
7.1.1. Traitement des échantillons : séparation par densité	253
7.1.2. Perspectives : eDNA metabarcoding	255
7.2. Comparaison des indices biotiques	256
7.2.1. Indice biotique basé sur la diversité	257
7.2.2. Indices biotiques basés sur les groupes écologiques : mode de prise en compte de ces groupes écologiques	257
7.2.2.1. Constitution des EG pour chaque indice	257
7.2.2.2. Le groupe des espèces non-assignées	259
7.2.3. Perspectives : définition des limites entre les EQS	260
7.3. Assignations écologiques d'espèces	262
7.3.1. Cas litigieux d'assignation d'espèces	262
7.3.2. Perspectives : apport des traits fonctionnels	265
7.4. Correction pour l'état trophique naturel du milieu	266
7.4.1. Estimation de l'état trophique naturel par l'analyse de la granulométrie du sédiment	266
7.4.2. Application de la correction de l'état trophique naturel à d'autres indices.	267
7.4.3. Perspectives : les sources de pressions	269
7.5. Perspectives : diffusion des indices : TSI-Med, Foram-AMBI	271
7.6. Changements temporels de l'environnement	271
7.6.1. Suivi temporel de l'état écologique	271
7.6.2. Perspectives : les conditions naturelles du milieu : l'apport potentiel de l'étude des faunes préservées dans les archives sédimentaires	272
7.6.3. Perspectives : changements climatiques	273
7.7. Conclusion	274
Références	275

Planches taxonomiques.....	283
-----------------------------------	------------

Table des matières	296
---------------------------------	------------

Titre : Développement d'un indice biotique basé sur les foraminifères benthiques ; application sur la façade méditerranéenne française

Mots clés : bio-monitoring, bon état écologique, Mer Méditerranée, TSI-Med, DCE, granulométrie

Résumé : Les milieux côtiers subissent de fortes pressions dues aux activités anthropiques. Ces pressions vont parfois impacter les écosystèmes benthiques. En Europe, des réglementations internationales, telle que la Directive Cadre sur l'Eau (DCE), ont vu le jour. La DCE a fixé un cadre pour obtenir le retour et le maintien d'un bon état écologique pour les masses d'eau côtières, jusqu'à un mile de la côte. Pour vérifier si ce bon état écologique est atteint, des outils de mesure adaptés et performants sont nécessaires. L'utilisation d'indices biotiques basés sur les faunes de foraminifères benthiques est un des moyens pour mesurer l'état des écosystèmes. Ces indices basés sur les faunes de foraminifères sont en pleine expansion, notamment en Méditerranée. En termes de méthodologie, nous avons pu améliorer une technique de concentration des foraminifères benthiques par séparation par densité, qui accélère le traitement des échantillons. L'indice TSI-Med a la particularité d'apporter une correction pour l'état trophique naturel, c'est-à-dire le taux d'enrichissement naturel en matière

organique, sur la base de la granulométrie du sédiment. Nos données suggèrent néanmoins que cette correction est encore insuffisante. Nous avons également comparé plusieurs indices biotiques basés sur les faunes de foraminifères benthiques le long des côtes méditerranéennes françaises. Les indices basés sur la diversité, notamment l' $\exp(H'_{bc})$, ne sont pas adaptés à notre zone d'étude oligotrophe. Les indices basés sur les groupes écologiques d'espèces que nous avons testés (TSI-Med, Foram-AMBI et FSI) sont plutôt bien corrélés. Le principal facteur qui va induire des différences entre ces indices est la liste d'assignation écologique des espèces. Trop d'espèces n'ont pas encore été assignées et l'assignation de plusieurs espèces majeures est problématique. Néanmoins, nous avons montré que ces indices sont efficaces à détecter l'impact d'un enrichissement en matière organique diffus et/ou provenant de source ponctuelle, telle que les rejets de stations d'épuration (côte israélienne). Pour perfectionner ces indices, des efforts de caractérisation écologique des espèces doivent être poursuivis.

Title: Development of a biotic index based on benthic foraminifera; application in the French Mediterranean coastal waters

Keywords: biomonitoring, good ecological status, Mediterranean Sea, TSI-Med, WFD, grain size

Abstract: Coastal environments suffer from anthropogenic activities. Various types of pressure can have large impacts on benthic ecosystems. In Europe, international regulations, such as the Water Framework Directive (WFD), have been implemented. The WFD aims to attain and sustain a good ecological status for all coastal waters, up to one mile from the coast. To verify whether this good status has been reached, adapted and efficient measuring tools are needed. The use of biotic indices based on foraminiferal faunas are a mean to assess the ecosystem status. The use of indices based on foraminiferal faunas rapidly increases, especially in the Mediterranean. In terms of methodology, we were able to improve a method to concentrate benthic foraminifera by density separation, which accelerates the sample treatment. The TSI-Med index includes a correction to take into account the natural trophic state, i.e., the natural enrichment rate in organic matter, on the basis of sediment grain size. However, our data suggest

that the applied correction is still insufficient. We also compared several biotic indices based on benthic foraminiferal faunas along the French Mediterranean coast. Indices based on diversity, such as the $\exp(H'_{bc})$, are not suited for our oligotrophic study area. The results of three tested indices based on ecological groups (TSI-Med, Foram-AMBI, FSI) are well correlated. The main factor inducing differences between the indices is the list of ecological assignments for the various species. In general, too many species have not yet been assigned to ecological categories and the assignment of several major species is problematic. Nevertheless, we show that the indices are already efficient in detecting the impact of diffusive organic matter enrichment or enrichment from point sources, such as sewage outlets (Israeli coast). To further perfection the foraminiferal indices, the efforts of ecological assignments of species have to be continued.