



**HAL**  
open science

# Dynamique des interactions biofilm/macro-organismes : conséquences sur les organismes et les propriétés hydrauliques et écologiques de l'interface eau/sédiment

Valerian Estragnat

## ► To cite this version:

Valerian Estragnat. Dynamique des interactions biofilm/macro-organismes : conséquences sur les organismes et les propriétés hydrauliques et écologiques de l'interface eau/sédiment. *Ecologie, Environnement*. Université de Lyon, 2019. Français. NNT : 2019LYSE1084 . tel-02527169

**HAL Id: tel-02527169**

**<https://theses.hal.science/tel-02527169>**

Submitted on 1 Apr 2020

**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.



N°d'ordre NNT : 2019LYSE1084

## **THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON**

opérée au sein de  
**l'Université Claude Bernard Lyon 1**

**Ecole Doctorale ED341**  
**Evolution Ecosystèmes Microbiologie Modélisation**

**Spécialité de doctorat** : Ecologie des communautés,  
fonctionnement des écosystèmes, écotoxicologie

**Discipline** : Biologie

Soutenue publiquement le 01/07/2019, par :

**Valerian ESTRAGNAT**

---

# **Dynamique des interactions biofilm/macro-organismes : conséquences sur les organismes et les propriétés hydrauliques et écologiques de l'interface eau/sédiment**

---

Devant le jury composé de :

DOLÉDEC, Sylvain	Professeur, Lyon 1	Président
BOUCHEZ, Agnès	Directrice de recherche, INRA Thonon	Rapporteuse
FRANQUET, Evelyne	Professeure, Aix-Marseille 3	Rapporteuse
CASTELLA, Emmanuel	Maître d'enseignement et de recherche, UNIGE	Examineur
ORVAIN, Francis	Maître de conférences, UNICAEN	Examineur
MARMONIER, Pierre	Professeur, Lyon 1	Directeur de thèse
VOLATIER, Laurence	Chargée de recherche, ENTPE	Co-directrice
MERMILLOD-BLONDIN, Florian	Chargé de recherche, Lyon 1	Co-directeur
PERRISSIN, Anne	Responsable unité production eau potable, Grand Lyon	Invitée
MORAND, Frédéric	Responsable production, Eau du Grand Lyon	Invité



## Résumé

Dans un contexte global d'augmentation de la population, les réserves en eau des nappes phréatiques sont de plus en plus sollicitées. Pour pallier à cette exploitation, des systèmes d'infiltration artificiels ont été mis en place pour recharger les nappes avec de l'eau de surface. Néanmoins, ces systèmes subissent des pertes d'efficacité liées au colmatage du support d'infiltration par des processus physiques, chimiques ou biologiques. Face à ce phénomène, le travail de thèse a pour but de tester la faisabilité d'une technique d'ingénierie écologique par introduction d'un gastéropode, *V. viviparus*, pour limiter le colmatage de l'interface eau/sédiment de bassins d'infiltration utilisés pour recharger artificiellement l'aquifère sous-jacent au Rhône. Par des approches expérimentales, deux volets ont été abordés, (1) la dynamique des interactions biofilm/brouleur et les conséquences sur l'état physiologique du gastéropode et (2) la dynamique des interactions biofilm/gastéropode et les conséquences sur les propriétés hydrauliques et écologiques de l'interface eau/sédiment. Les résultats ont mis en évidence que (1) *V. viviparus* pouvait se maintenir dans les bassins d'infiltration aux différentes saisons, (2) *V. viviparus* pouvait limiter le colmatage biologique de l'interface eau/sédiment soit par ses actions trophiques (broulage), soit par des actions physiques (déplacement, pelletisation) et (3) *V. viviparus* n'a pas eu d'effet positif sur l'infiltration lorsque le colmatage était chimique. Pour conclure, *V. viviparus* apparaît comme un bon candidat pour des solutions d'ingénierie écologique visant à restaurer des interfaces eau/sédiment, colmatées par un biofilm phototrophe. Ce travail ouvre des perspectives sur l'utilisation de solutions basées sur la nature à plus large échelle spatiale (e.g. pilote) et à des milieux naturels comme les zones humides.

## Mots-clés

Ingénierie écologique, biomanipulation, interface eau/sédiment, recharge artificielle des aquifères, colmatage, biofilm phototrophe, gastéropodes, remaniement sédimentaire

## **Abstract**

With the global increase of the population, groundwater reserves are increasingly exploited. To circumvent this problem, managed aquifer recharge systems using surface water are used worldwide. Nevertheless, the hydraulic performance of these systems is often altered by physical, chemical or biological clogging. This work aim to test the sustainability of ecological engineering solution based on the introduction of the gastropod, *V. viviparus*, to attenuate the clogging of the water/sediment interface of infiltration basins use for the recharge of the Rhône river aquifer. Two sections have been addressed with experimental approaches, (1) dynamic of biofilm/grazer interaction and its consequences on the physiological state of the gastropod and (2) dynamic of biofilm/grazer interaction and its consequences on the hydraulic and ecological properties of the water/sediment interface. Results show that (1) *V. viviparus* is able to survive in the infiltration basins at contrasted seasons, (2) *V. viviparus* can attenuate the biological clogging of the water/sediment interface, ether by trophic interaction (grazing) or physical actions (crawling activity, pelletization), and (3) *V. viviparus* has no positive effect on infiltration in case of chemical clogging. To conclude, *V. viviparus* appears to be a good candidate for ecological engineering solutions aiming to preserve and restore water/sediment interface impacted by biological clogging. This work provides useful information for the study of natured based solutions at larger scale (experimental pilot) and in natural ecosystems as wetlands.

## **Keywords**

Ecological engineering, biomanipulation, water/sediment interface, managed aquifer recharge, clogging, phototrophic biofilm, gastropods, sediment reworking

## Remerciements

Je remercie les membres de mon jury de thèse pour l'intérêt porté à mon travail et leurs remarques constructives dans les rapports et le jour de la soutenance. Je tiens à remercier également les membres de mon comité de pilotage ainsi que les membres de la plateforme de recherche de Crépieux-Charmy pour leurs conseils et leurs encouragements.

Je tiens à remercier profondément mes directeur·trice·s de thèse Laurence Volatier, Florian Memillod Blondin et Pierre Marmonier qui ont été d'une grande aide tout au long de cette thèse sur le terrain, au laboratoire et lors de la rédaction et sans qui ce projet n'aurait pas pu se réaliser. J'ai une pensée particulière pour Pierre dont les cours passionnants de L3 m'avait mis sur les rails de la recherche en écologie.

Je remercie les membres du laboratoire LEHNA (Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés) de m'avoir accueilli et notamment mes deux équipes E3S (Ecologie, Evolution et Ecosystèmes Souterrains) et IPE (Impact des Polluants sur les Ecosystèmes). Je remercie également les personnels techniques et administratifs du laboratoire qui m'ont aidé et ont facilité mes démarches au quotidien.

Je remercie les personnes venu prêter main forte sur le terrain contre vents et marées, tout particulièrement Pauline Barbe, Damien Lemoine et Laurent Simon. J'en profite pour remercier les stagiaires qui ont travaillé sur mes échantillons ou avec moi Jean-Bastien Gambonnet et Mélissa Tenaille.

Je remercie La Métropole de Lyon et Eau du Grand Lyon pour le financement de ce projet.

Je remercie ma famille pour leur soutien durant ses longues études.

Je remercie tout mes ami·e·s du laboratoire et de l'extérieur pour les très bons moments en leur compagnie et qui ont rendu ce parcours plus facile tous les jours. Ne vous fâchez pas de ne pas voir tous vos noms écrits, vous le savez bien, j'aime faire court ;)

Enfin, je remercie Marine pour son soutien indéfectible et sa présence si importante à mes yeux lors de cette thèse.

## Table des matières

Introduction.....	1
Objectifs généraux de la thèse : .....	10
Organisation du document.....	12
Partie I : Synthèse bibliographique .....	13
I.1 L'interface benthique .....	13
I.1.1 La granulométrie et la structure du sédiment .....	13
I.1.2 L'hydrodynamisme .....	14
I.1.3 La disponibilité en lumière .....	16
I.1.4 Une cascade de processus à l'interface benthique .....	16
I.1.5 Liens entre caractéristiques physiques et processus écologiques .....	18
I.2 Le colmatage physique, chimique et biologique .....	18
I.2.1 Colmatage physique .....	18
I.2.2 Colmatage chimique.....	19
I.2.3 Colmatage biologique.....	20
I.2.4 Interaction entre les trois types de colmatage .....	22
I.3 Les organismes qui peuvent favoriser les échanges .....	23
I.3.1 La bioturbation des sédiments.....	25
I.3.2 Les interactions trophiques .....	26
I.4 Ingénierie écologique .....	27
I.5 Conclusion .....	30
Partie II : Présentation du site d'étude, de l'espèce étudiée et de la démarche expérimentale.....	32
II.1 Présentation du site d'étude : le champ captant de Crépieux-Charmy .....	32
II.2 <i>Viviparus viviparus</i> : une espèce locale .....	36
II.3/ Objectifs spécifiques et stratégie d'étude .....	38
II.3.1 Volet 1 .....	38
II.3.2 Volet 2 .....	40

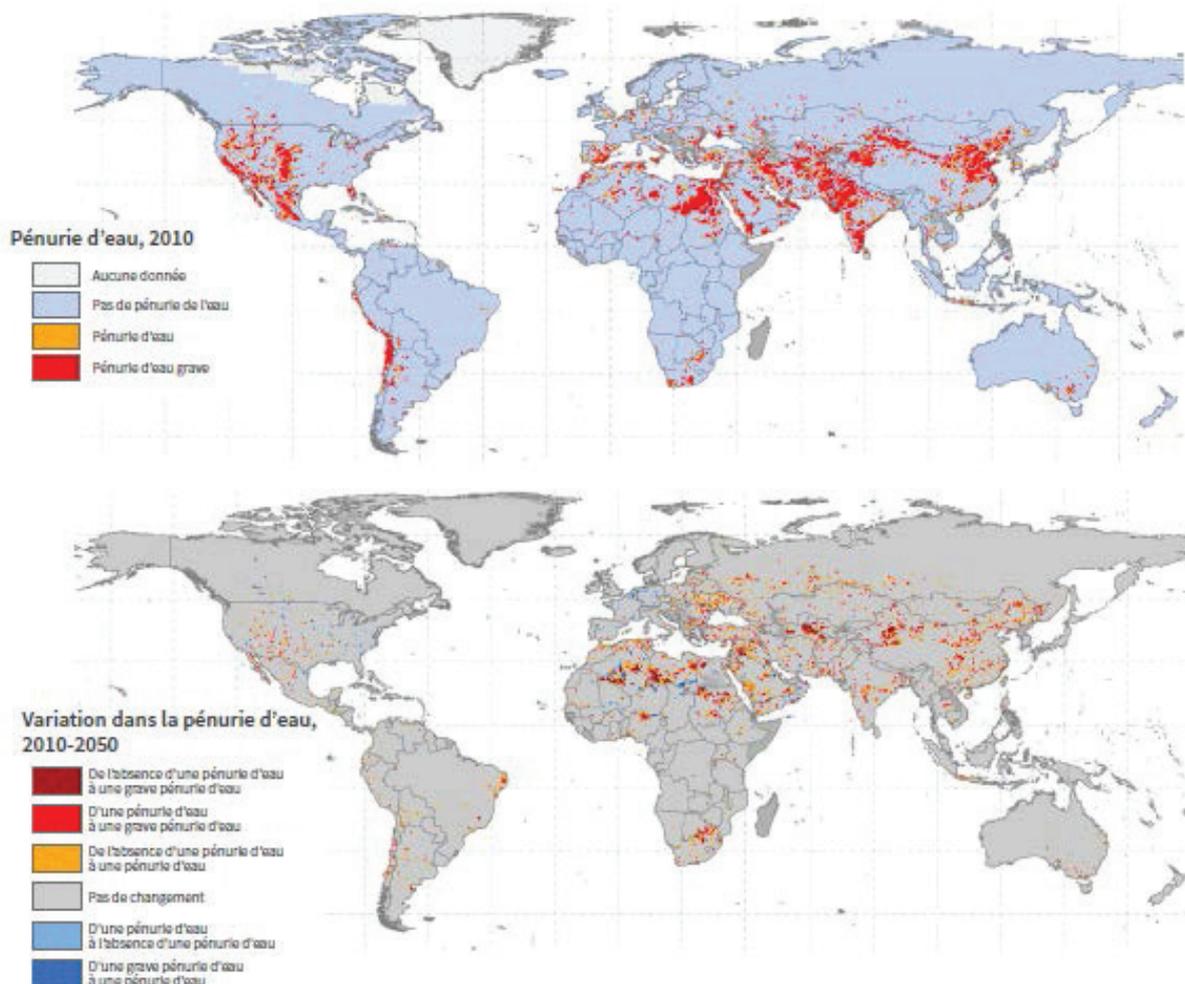
Partie III : Résultats.....	44
III.1 Volet 1-Dynamique des interactions biofilm/brouteur : conséquences sur l'état physiologique du brouteur .....	45
III.1.1 Sustainability of gastropod introduction for ecological engineering solution in infiltration basins: feeding strategy of <i>V. viviparus</i> (Article 1 soumis dans <i>Hydrobiologia</i> ).....	46
III.2 Volet 2-Dynamique des interactions biofilm/brouteur : conséquences sur les propriétés hydrauliques et écologiques de l'interface eau/sédiment.....	62
III.2.1 Does the efficiency of grazer introduction to restore and preserve the hydraulic performance of infiltration basins depend on the sediment and biofilm characteristics of the infiltration media? (Article 2 publié dans <i>Ecological Engineering</i> en 2018).....	63
III.2.2 Effets de la variabilité temporelle sur les interactions biofilm/brouteur et leurs conséquences sur les propriétés de l'interface eau/sédiment .....	75
Partie IV : Synthèse et Perspectives .....	97
Bibliographie .....	105



## Introduction

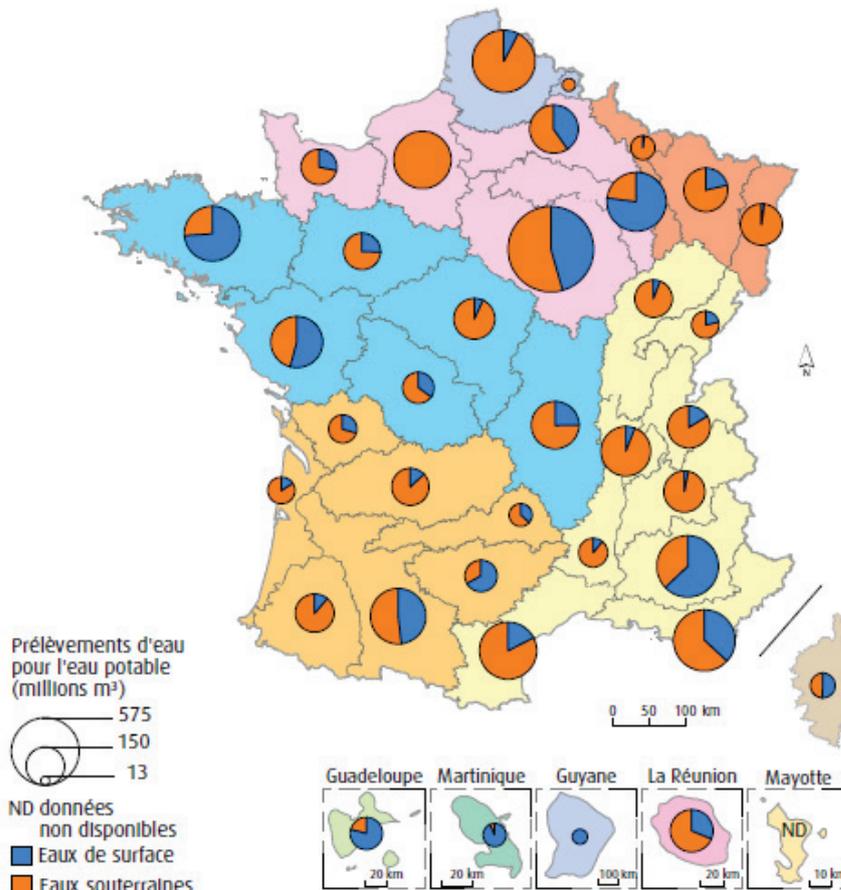
### *Une population mondiale en hausse, tout comme l'eau qu'elle consomme*

Nous sommes aujourd'hui 7,7 milliards et nous serons environ 10 milliards d'ici 2050 (WWAP/ONU-Eau, 2018). Les estimations faites par Burek et al. (2016) indiquent une augmentation de la demande mondiale en eau de 20% à 30% par rapport à celle de 2010 à l'horizon 2050. Celle-ci devrait atteindre environ 5750 km<sup>3</sup> d'eau par an. La demande en eau n'est pas homogène selon les territoires, par exemple en France, la consommation d'eau potable a diminué de 13% entre 2003 et 2013 notamment grâce à l'amélioration de l'état des réseaux (Ministère de l'environnement, 2016) et devrait rester stable. *A contrario*, elle devrait tripler dans les sous-régions africaines entre 2010 et 2050 (Burek et al., 2016). De plus, cette hétérogénéité spatiale est accrue par le réchauffement climatique, les zones humides devenant de plus en plus humides et les zones arides de plus en plus sèches limitant localement la disponibilité en eau (fig. 1 ; GIEC, 2014).



**Figure 1 :** Pénurie physique d'eau en 2010 (en haut) et variations prévisionnelles de la pénurie d'eau en 2050 (en bas) d'après Burek et al. (2016)

L'usage de l'eau au niveau mondial peut se répartir en trois principaux secteurs : l'utilisation pour l'agriculture (70%), pour l'industrie (20%) et l'utilisation domestique (10%). En France, la demande en eau se répartit bien différemment : en effet, l'utilisation domestique représente 48,7% des 11 milliards de m<sup>3</sup> consommés en 2013 (hors refroidissement des centrales électriques et alimentation des canaux qui représentent à eux seuls les deux tiers des prélèvements totaux) (Ministère de l'environnement, 2017). Cette eau provient à 68% des eaux souterraines mais ce pourcentage varie selon les sous-bassins hydrographiques (fig. 2).

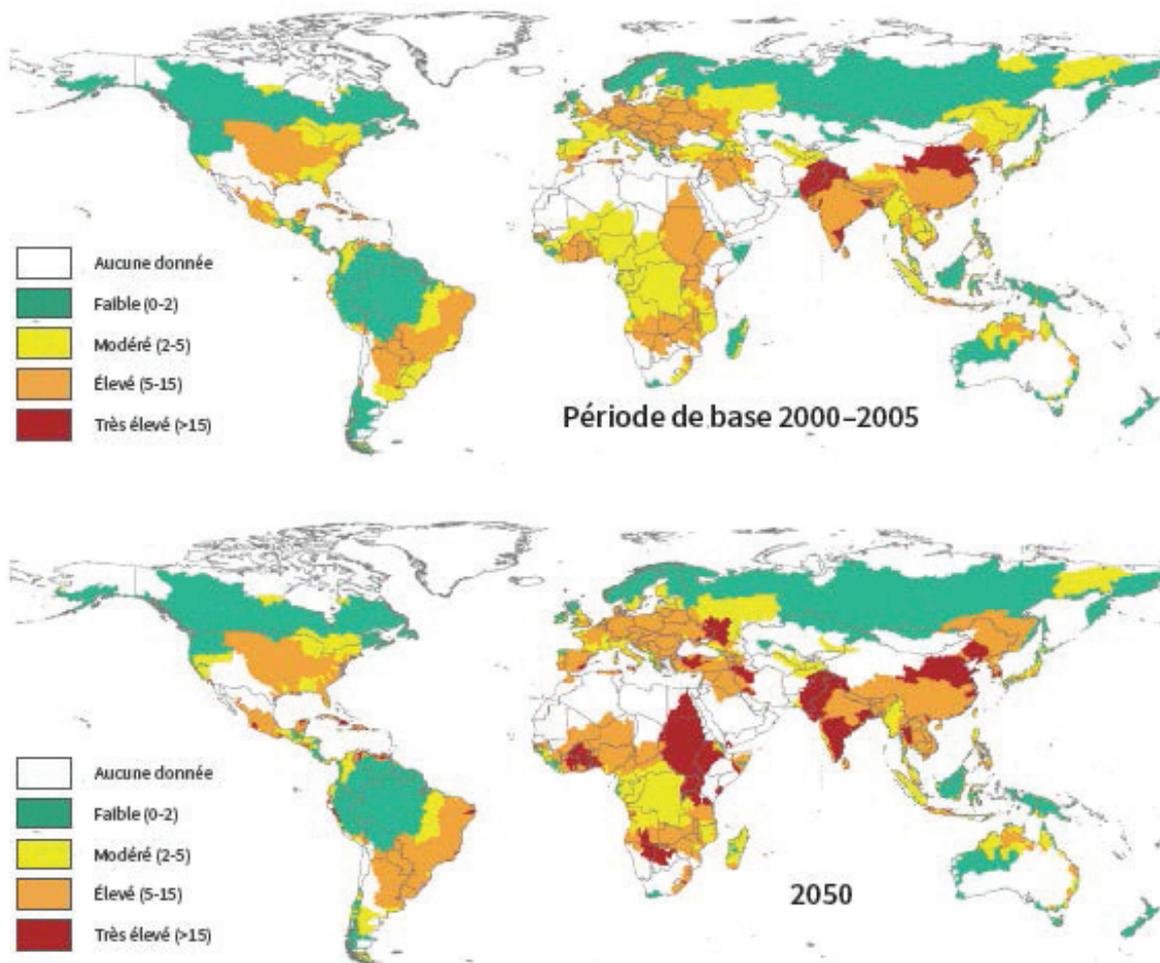


**Figure 2** : Prélèvements d'eau douce pour l'alimentation en eau potable par sous-bassins hydrographiques en 2013 en France. Source : Onema, Banque nationale des prélèvements quantitatifs en eau (BNPE). Traitements : SOÉS, 2016

En plus de la pression quantitative sur la ressource en eau, sa qualité est également menacée. A l'échelle mondiale, aujourd'hui encore, 80% des eaux industrielles ou municipales sont rejetées dans l'environnement sans traitement, entraînant ainsi une détérioration croissante de la qualité de l'eau (WWAP, 2017). De plus, les pressions qualitatives exercées sur l'eau sont également corrélées à la densité de la population et à la croissance économique dans une zone donnée (Veolia/IFPRI, 2015).

La charge en nutriments est l'une des principales préoccupations pour le maintien de la qualité de l'eau (PNUE, 2016). Au niveau mondial, les risques qui pèsent sur la qualité de l'eau sont déjà très élevés dans certaines zones (Pakistan, Chine) et d'autres régions seront

concernées d'ici 2050 (fig. 3). En Europe, alors que 75% de la ressource en eau potable provient des eaux souterraines (Gibert, 2001), 15% des stations de mesure des réseaux de surveillance ont signalé un dépassement de la concentration limite en nitrates établie par l'Organisation Mondiale de la Santé (CE, 2013). En France, la qualité générale des eaux souterraines semble s'améliorer depuis 2010, mais des disparités régionales perdurent : certaines nappes sont de meilleure qualité alors que d'autres se dégradent (Ministère environnement, 2016).



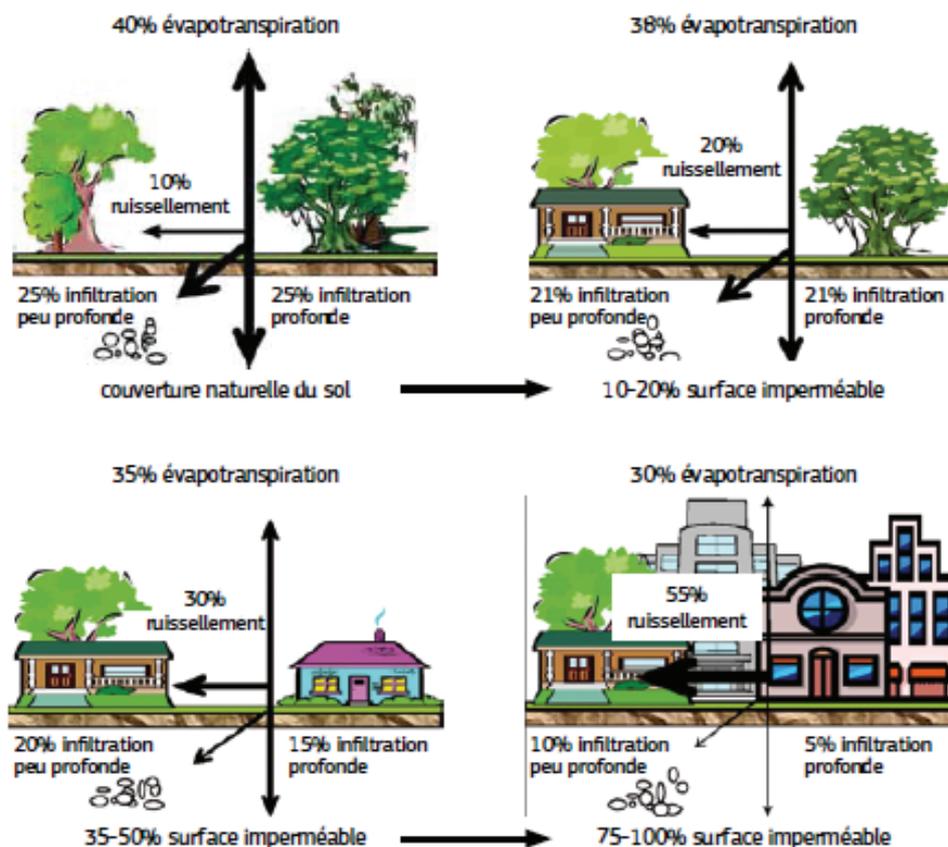
\*Organisation de recherche scientifique et Industrielle du Commonwealth

**Figure 3 :** Indices de risque de la qualité de l'eau des principaux bassins hydrographiques pour la période de référence (2000-2005) par rapport à 2050 (indice de l'azote publié par CSIRO\*). Source : Veolia/IFPRI (2015, fig. 3, p. 9)

#### *Une artificialisation des sols due à l'urbanisation*

Sur les 10 milliards de personnes que nous serons en 2050, les deux tiers vivront en ville. A l'échelle européenne, c'est 80% de la population qui vivra en zone urbaine d'ici 2020 (AEE, 2010). De plus, en Europe les zones périurbaines contiennent autant de terrains bâtis que les zones urbaines avec une densité démographique deux fois moins élevée. En France, la consommation d'espace pour l'habitat et les réseaux de transport terrestre a augmenté de

11% entre 2006 et 2014, alors que la population a augmenté de seulement 4% (Ministère environnement, 2016). Cette artificialisation des sols avec l'utilisation d'asphalte ou de béton les rend imperméables. Les eaux ne peuvent plus s'infiltrer dans les sols localement, limitant ainsi la recharge naturelle de l'aquifère sous-jacent, et vont ruisseler sur les sols imperméables (fig 4).

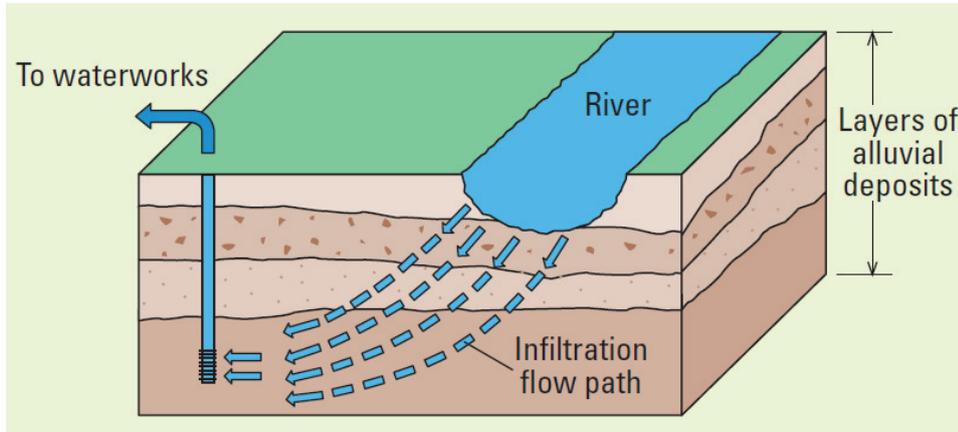


**Figure 4 :** Illustration de l'influence de l'occupation des sols sur le cycle hydrologique. Source : <http://coastal.ca.gov/nps/watercyclefacts.pdf>

#### *Gérer l'eau souterraine pour pérenniser la ressource*

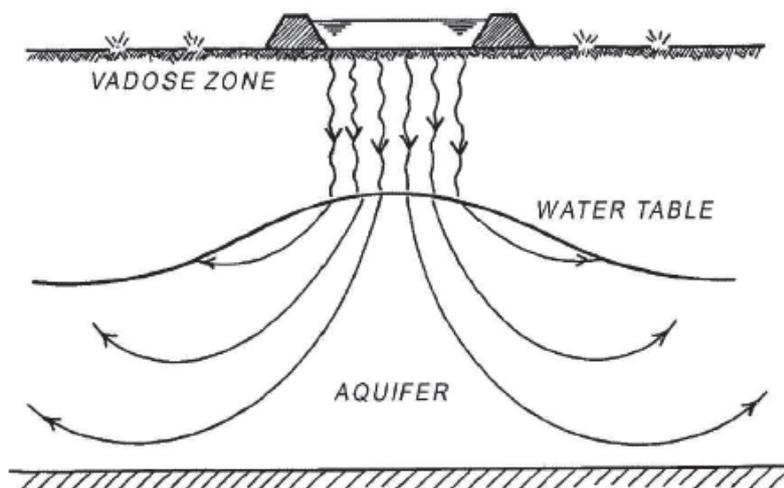
La diminution des apports naturels d'eau météorique aux nappes souterraines, tout comme la surexploitation de certains aquifères, induisent des déficits en eau souterraine parfois drastiques (Aeschbach-Hertig & Gleeson, 2012). Dans ce cas, il convient de favoriser la réalimentation de cette ressource par de l'eau de surface. Cette recharge peut se faire naturellement via les échanges nappe/rivière au niveau des berges. La localisation du point de pompage d'eau souterraine par rapport au cours d'eau doit répondre à deux contraintes (fig. 5). Les puits doivent être localisés dans des sédiments suffisamment grossiers pour avoir une forte perméabilité et autoriser des apports quantitativement importants d'eau de la rivière (Brunke & Gonser, 1997). Les sédiments de l'aquifère doivent néanmoins comporter une fraction fine pour assurer une filtration physique de l'eau (Brunke, 1999) et soutenir une activité bactérienne suffisante (Nogaro & al., 2010) pour assurer la biodégradation de la matière organique dissoute (Marmonier & al, 1995) ou de certains polluants (Grünheid & al.,

2005). On parle de « bank filtration » dans le cas de ces zones de pompage proches de rivières et de fleuves tirant bénéfice des fonctions écologiques des sédiments des rives pour garantir la qualité des eaux produites (Hiscock & Grischek, 2002 ; Tufenkji & al., 2002).



**Figure 5 :** Illustration de la « riverbank filtration » d'après Tufenkji et al. (2002)

La recharge des aquifères peut aussi être réalisée artificiellement. En effet, pour pérenniser la ressource en eau, il est parfois nécessaire d'infiltrer des eaux superficielles pour compenser les pressions de prélèvements d'eau souterraine. Dans l'introduction du livre « Artificial Groundwater Recharge », Takashi Asano (1985) définit cette pratique comme « une augmentation du mouvement naturel de l'eau de surface en direction de formations géologiques souterraines, contrôlée par toute méthode de construction ou toute modification artificielle ».



**Figure 6 :** Illustration du fonctionnement d'un bassin d'infiltration et la création d'un dôme hydraulique d'après Bouwer (2002)

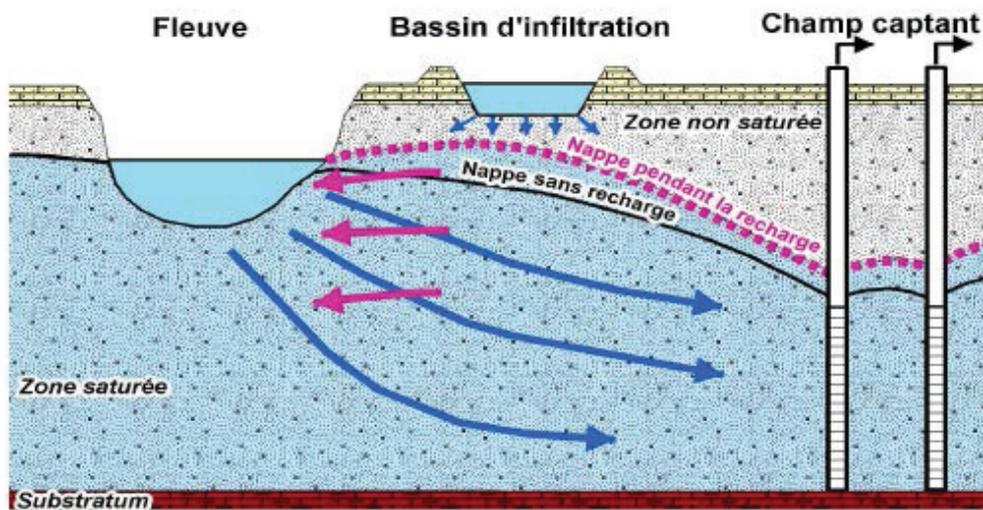
#### *Des contraintes à la recharge artificielle des nappes*

La pratique de recharge artificielle des nappes, bien qu'utilisée de longue date, n'est pas sans danger pour la ressource en eau. Ainsi, lorsque la recharge est effectuée en direction d'une nappe utilisée pour la production d'eau destinée à la consommation humaine, de très

nombreuses contraintes doivent être prises en compte pour gérer cette recharge artificielle de façon durable :

- La première concerne la provenance de l'eau qui servira à recharger l'aquifère : les eaux issues de petits bassins versants où est pratiquée une agriculture extensive seront privilégiées. En effet, elles sont le plus souvent exemptes de pollutions organiques ou de contaminants comme les pesticides. Il convient en revanche de considérer avec prudence l'utilisation des eaux de ruissellement issues de l'imperméabilisation des surfaces urbaines car elles sont chargées en polluants du fait du lessivage des sols (particulièrement en carbone organique dissous, Foulquier, 2009). Ces eaux de ruissellement doivent être prétraitées avant de rejoindre les milieux naturels.
- La seconde concerne la localisation du point de recharge. Lorsque l'eau est de qualité médiocre ou faible, elle doit être infiltrée loin des zones de captage d'eau destinée à la production d'eau potable pour préserver le Périmètre de Protection Rapproché (Ministère de la santé et des sports, 2008).
- La troisième concerne l'altitude de cette recharge par rapport au toit de la nappe. Pour les mêmes raisons de protection de la nappe, il convient de réaliser ces recharges au-dessus d'une zone non saturée ou zone vadose (CEREMA, 2003). C'est en effet lors de son trajet dans la zone insaturée que l'eau infiltrée peut être tamponnée thermiquement (Foulquier 2009b) et/ou épurée par les processus microbiens naturels (Foulquier, 2010).

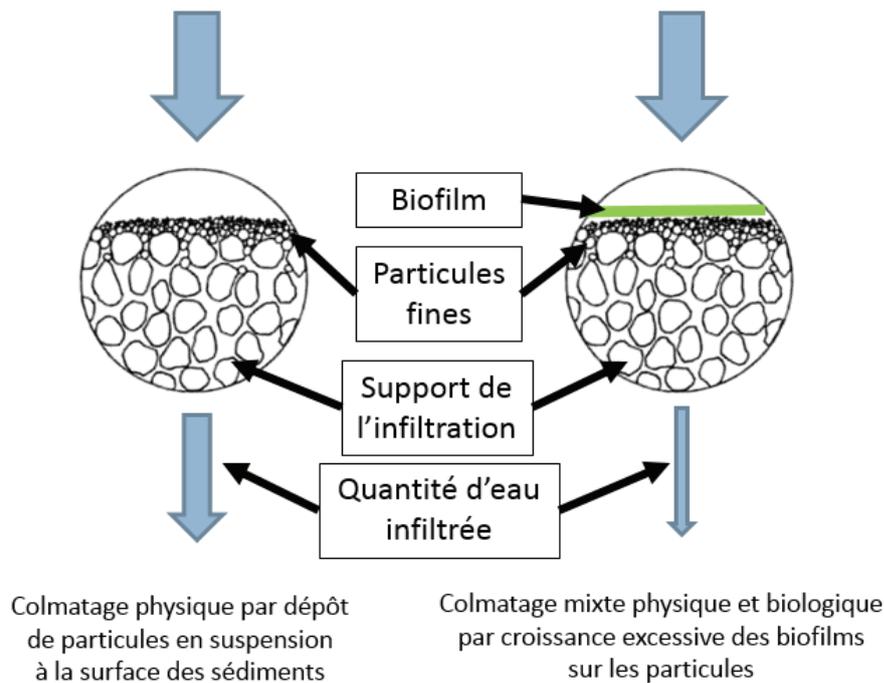
La pratique de recharge artificielle de la nappe a un double objectif : soutenir les niveaux de celle-ci et limiter les apports d'eau souterraine de mauvaise qualité (Asano, 1985). Ainsi en zone côtière, la recharge artificielle permet de créer une barrière hydraulique interdisant l'arrivée d'eau salée marine (Pool & Carrera, 2010). En zone continentale, par exemple dans le champ captant de Crépieux-Charmy situé au Nord-Est de Lyon, les bassins d'infiltration d'eau du Vieux Rhône soutiennent le niveau de nappe exploitée pour la production d'eau potable (voir partie « description du site d'étude ») tout en créant un dôme hydraulique (fig. 6) repoussant les intrusions d'eau de mauvaise qualité (venant directement du Rhône ou de la nappe de l'Est lyonnais). Ces bassins d'infiltration ont donc un rôle stratégique pour l'alimentation en eau potable de l'agglomération lyonnaise (fig. 7).



**Figure 7 :** Illustration des effets combinés des apports des berges et des bassins d'infiltration dans le champ captant d'eau potable de Crépieux-Charmy, d'après BURGEAP (1989)

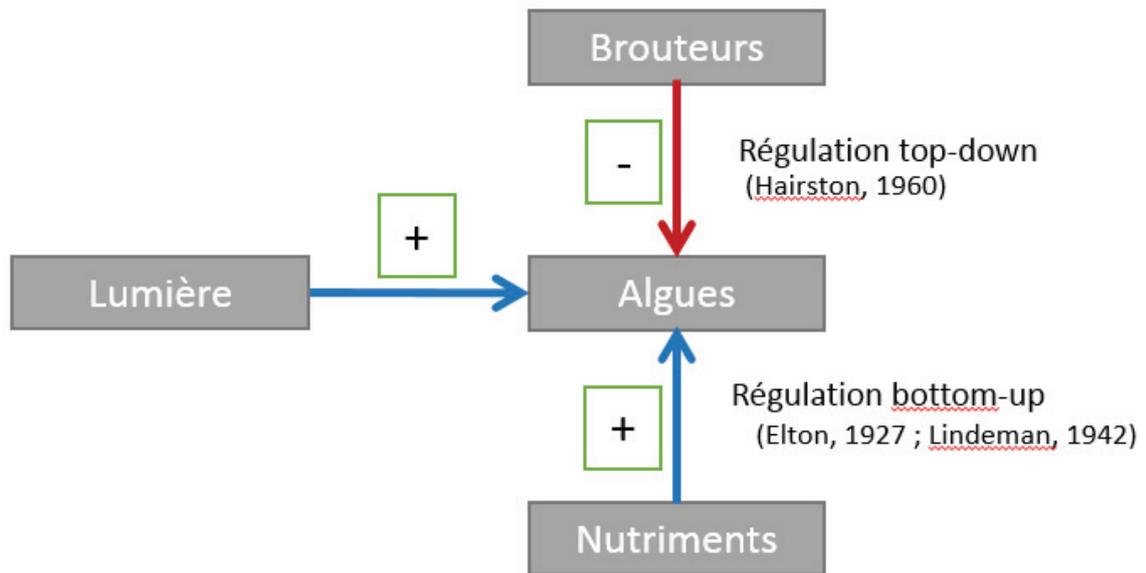
*Les systèmes infiltrants, des systèmes vivants.*

Bien que les ouvrages d'infiltration d'eaux superficielles soient artificiels, ils sont progressivement colonisés par des organismes (bactéries, algues et invertébrés) et la mise en place assez rapide de processus écologiques complexes interfère avec le fonctionnement hydrologique à long terme de ces systèmes. L'association, à l'interface eau-sédiment, de la croissance des biofilms phototrophes, des processus chimiques (dissolution/précipitation) et de l'accumulation de particules fines entraîne le colmatage progressif du milieu d'infiltration (fig. 8 ; Knowles et al., 2011). L'enjeu principal de la gestion des systèmes infiltrants est d'éviter le colmatage qui entraîne une perte d'efficacité du bassin et un coût d'entretien élevé. Par exemple, le raclage et changement d'une couche de 30 à 40 cm de sable implique l'utilisation de technologies coûteuses : environ 175 000 euros par bassin (Gette-Bouvarot et al., 2015).



**Figure 8 :** Illustration des colmatages physique et biologique

L'emploi de certains concepts d'écologie appliquée (i.e. ingénierie écologique) peut permettre de développer des modes alternatifs de gestion des systèmes infiltrants. Les processus écologiques entraînant le colmatage des sédiments et ainsi affectant l'alimentation de la nappe sous-jacente peuvent être contrôlés par manipulation des composantes biologiques du milieu. De plus, ces solutions bio-écologiques fonctionnent à long terme tout en étant respectueuses de l'environnement. Différents processus ayant lieu à l'interface eau/sédiment peuvent être exploités comme la bioturbation (remaniement sédimentaire et bioirrigation), les interactions trophiques (e.g. broutage) ou encore les conséquences de ces interactions sur le milieu physique (e.g. pelletisation). Par exemple, face à un colmatage de l'interface eau-sédiment lié à un dépôt de particules fines, des vers tubificidés peuvent être utilisés pour leur activité de bioturbation capable de restaurer les échanges hydriques via la création de galeries dans la couche colmatée (Nogaro et al., 2006 ; Navel et al., 2012). Dans le cas où le colmatage est biologique, lié par exemple à un développement excessif d'un biofilm phototrophe (Gette-Bouvarot et al., 2014), l'utilisation des interactions trophiques de broutage des algues par un herbivore peut permettre de limiter le développement algal (fig. 9 ; Steinman, 1996 ; Hillebrand et al., 2007) et, par conséquent, limiter le colmatage (Gette-Bouvarot et al., 2015). Cependant, la compréhension des interactions entre les différents compartiments biologiques et le milieu abiotique est indispensable à la pérennisation et à l'efficacité de l'utilisation de telles solutions (Bulleri et al., 2012).



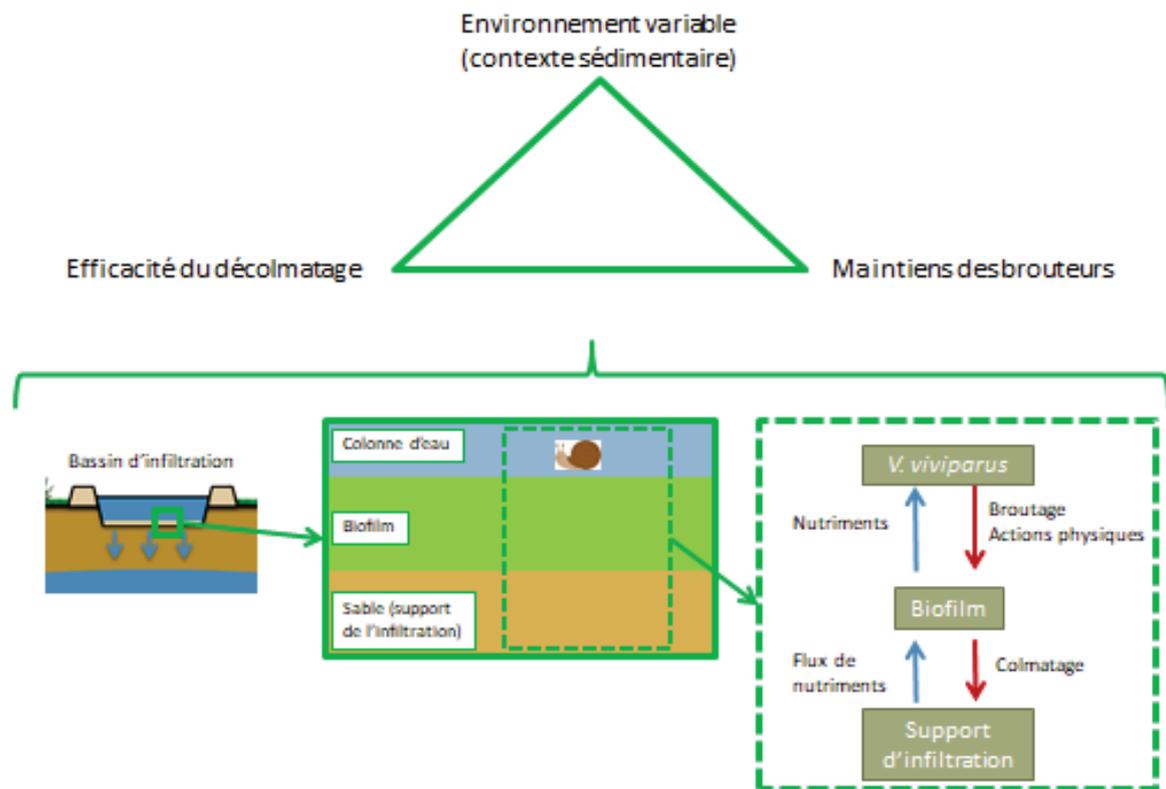
**Figure 9** : Schéma des interactions trophiques étudiées

## Objectifs généraux de la thèse :

Ce travail de thèse s'inscrit dans la démarche globale des « Nature Based Solutions » (Nations Unies, 2018). Il porte, en particulier, sur l'utilisation d'organismes comme solution d'ingénierie écologique pour améliorer les performances de systèmes infiltrants, colmatés par des biofilms phototrophes. L'objectif est de connaître les effets des variations des conditions environnementales, et notamment du contexte sédimentaire, sur l'efficacité du décolmatage par des brouteurs et sur la capacité de ces brouteurs à se maintenir dans des systèmes infiltrants. Cet objectif général sera décliné en plusieurs expériences tournant autour de deux principales questions :

- (1) L'organisme utilisé dans cette expérimentation va-t-il survivre sur une période suffisamment longue pour être réaliste (i.e. échelle annuelle) et conservera-t-il un état physiologique compatible avec son activité, y compris lors des périodes difficiles (i.e. manque de ressources trophiques et températures basses) ?
- (2) Quel est l'impact de la variabilité spatio-temporelle de l'environnement sur les actions de l'organisme introduit à l'interface eau/sédiment ? Cette question sera abordée selon deux modalités complémentaires :
  - a. Quel est l'impact de la variabilité spatiale sur les actions de l'organisme à une période propice au développement du biofilm ?
  - b. Quel est l'impact de la variabilité saisonnière sur les actions de l'organisme ?

Ce travail se positionne à l'interface de préoccupations d'écologie théorique d'une part, et de la volonté d'exploiter certains concepts en écologie pour la préservation et la restauration des écosystèmes d'autre part (fig. 10). Ce dernier point ayant pour objectif d'optimiser la gestion des milieux afin de garantir la pérennité des services qu'ils nous rendent (ex. production d'eau potable). Le système aquatique considéré dans ce travail est un bassin d'infiltration d'eau de surface vers la nappe souterraine (bassins d'infiltration localisés dans le champ captant de Crépieux-Charmy). Le brouteur utilisé comme modèle biologique est un Mollusque gastéropode *Viviparus viviparus* (Linnaeus).



**Figure 10** : Schéma de synthèse général

## Organisation du document

Le manuscrit de cette thèse est structuré en quatre parties. La première partie fait le bilan des **connaissances actuelles** sur l'interface benthique, ses propriétés écologiques, le colmatage de son sédiment et l'apport de l'ingénierie écologique à sa gestion. La **démarche expérimentale** développée dans ce travail fait l'objet de la deuxième partie de ce manuscrit. Les **résultats** seront présentés dans une troisième partie, structurée autour de deux volets :

Volet 1-Dynamique des interactions biofilm/brouteur : conséquences sur l'état physiologique du brouteur

Volet 2-Dynamique des interactions biofilm/brouteur : conséquences sur les propriétés hydrauliques et écologiques de l'interface eau/sédiment

Sous-volet 2.1- Effets de la variabilité spatiale sur les interactions biofilm/brouteur et leurs conséquences sur les propriétés de l'interface eau/sédiment

Sous-volet 2.2- Effets de la variabilité temporelle sur les interactions biofilm/brouteur et leurs conséquences sur les propriétés de l'interface eau/sédiment

Enfin ce manuscrit se terminera par la **synthèse** des résultats obtenus lors de ce travail, ainsi que des **perspectives** qui s'ouvrent pour sa continuation.

## Partie I : Synthèse bibliographique

Le paysage est composé d'un ensemble d'écosystèmes liés par de nombreuses zones de contact nommées des écotones (DiCastrì et al., 1988). Les écotones sont d'une grande importance écologique car ils assurent différentes fonctions permettant des échanges entre les écosystèmes (Kolasa & Zalewski, 1995). Un cas particulièrement étudié, en raison d'enjeux anthropiques importants, est l'interface entre l'eau et les sédiments, i.e. l'interface benthique. Les caractéristiques de cette interface seront présentées dans une première partie. L'interface benthique est le lieu de nombreux processus biogéochimiques (McCave, 1976a). Elle est également sujette au colmatage et, de ce fait, à la diminution de sa perméabilité physique, chimique et biologique, ce qui limite les échanges verticaux entre l'eau et les sédiments (Vervier et al., 1992). Les caractéristiques de ce colmatage seront présentées dans une deuxième partie. Les organismes présents au niveau de l'interface benthique peuvent, par leur comportement, modifier physiquement et chimiquement le milieu et ainsi avoir un rôle sur les échanges (McCave, 1976b). Ces organismes et leurs actions seront présentés dans une troisième partie. Enfin, le dernier point développé portera sur l'exploitation des spécificités de ces organismes comme solution d'ingénierie écologique pour lutter contre le colmatage des interfaces benthiques (Gette-Bouvarot et al., 2015).

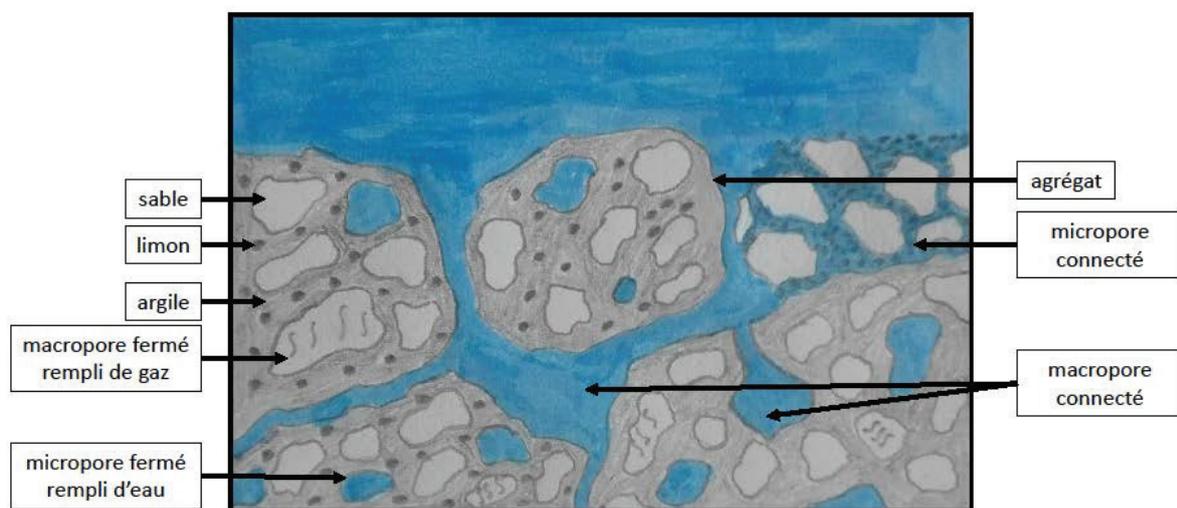
### I.1 L'interface benthique

L'interface benthique est définie comme une zone de contact entre l'eau et les sédiments du fond des systèmes aquatiques. La granulométrie, la nature du sédiment, la présence de lumière au niveau de l'interface ou encore l'hydrodynamisme du milieu vont avoir un impact sur les échanges à l'interface et les communautés d'organismes benthiques associées. Plus généralement, le fonctionnement de cette interface est fonction des caractéristiques du milieu.

#### I.1.1 La granulométrie et la structure du sédiment

La taille des grains composant l'interface benthique mais également la nature, la composition physico-chimique et l'organisation des minéraux vont avoir un impact sur la structure du sédiment (fig. I.1) (Hillel, 1998). Ainsi, la distribution granulométrique du sédiment (i.e. distribution par classe de taille (Duchaufour, 1995)) associée à sa composition minéralogique et/ou organique vont avoir un impact sur la porosité (i.e. les espaces lacunaires remplis par de l'air et/ou de l'eau (Baver, 1963)) du sédiment (Kay & Angers, 2000). En effet, la présence de particules fines, i.e. les limons et argiles, va réduire la taille des pores et diminuer leur connectivité (Kay & Angers, 2000). On peut distinguer 3 classes de taille de porosité (White, 1985 ; Soil Society of America, 1997) : (1) les macro- et mésopores dans lesquels l'eau s'écoule, (2) les micro- et ultramicropores dans lesquels l'eau est retenue par capillarité et (3) les cryptopores dans lesquels l'eau est piégée. La connectivité entre les pores va quant à elle dépendre du degré de leur ouverture (fermé, ouvert en cul de sac ou à double ouverture), assurant ou non une continuité entre les pores dans le sédiment (de

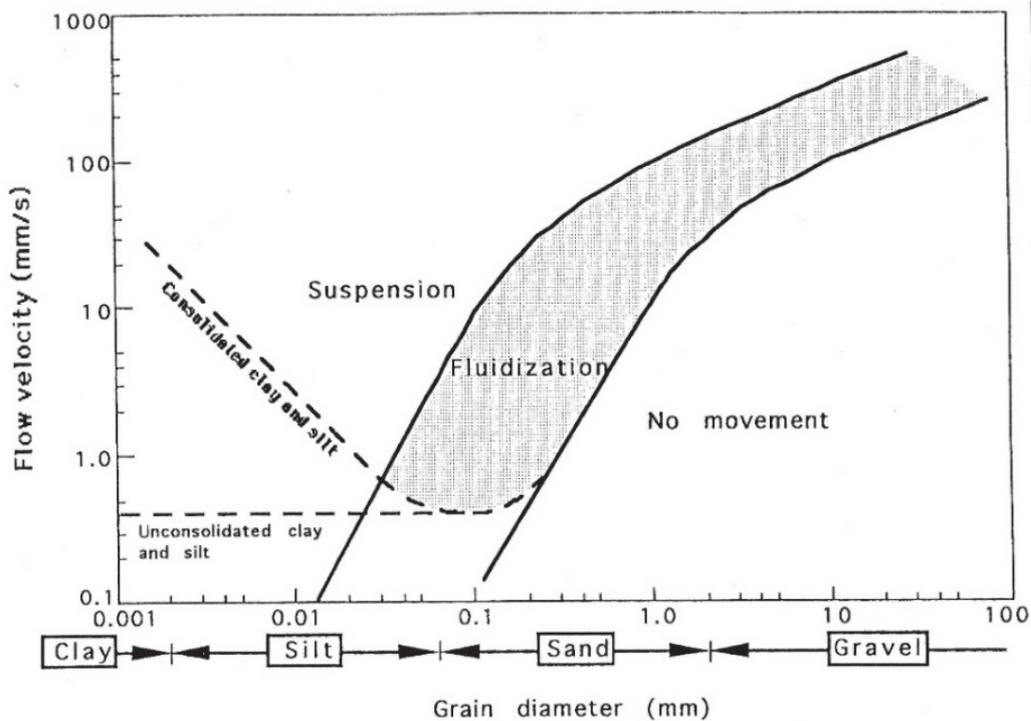
Marsily, 1986). Ainsi, la taille des pores et leur connectivité influencent les propriétés hydrauliques du sédiment (Thomasson, 1978). Un autre paramètre important de la structure d'un sédiment est son degré d'agrégation (i.e. ensemble de particules qui forment une unité structurale stable (Kay & Angers, 2000). Différentes propriétés du sédiment peuvent avoir un effet sur l'agrégation d'après Six et al. (2004). D'une part, les argiles peuvent s'agréger entre elles et avec d'autres particules, leur proportion dans le sédiment va donc fortement modifier sa structure. D'autre part, les organismes présents vont également contribuer à l'agrégation des particules entre elles, soit directement par la création de liaisons, soit indirectement par la création d'une matrice cohésive (e.g. mucilage des biofilms). Des phénomènes anthropiques comme la compaction mécanique du sédiment vont également influencer sa structure.



**Figure I.1** : Représentation schématique de la structure du sédiment de l'interface benthique

### I.1.2 L'hydrodynamisme

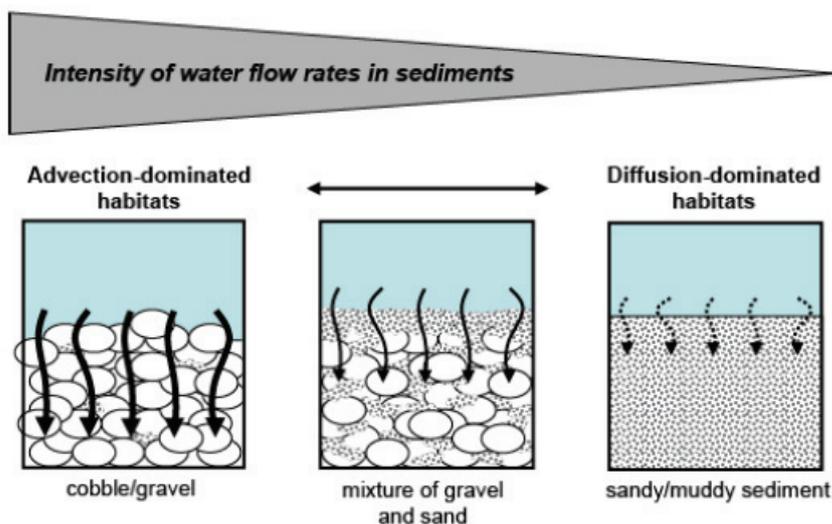
Dans les systèmes limniques (i.e. eaux continentales), on distingue les systèmes lentiques (i.e. eaux calmes à renouvellement lent) des systèmes lotiques (i.e. eaux courantes). Dans les milieux lentiques, les matières en suspension vont sédimenter et s'accumuler sur le fond. Au contraire, dans les milieux lotiques, l'érosion du sédiment par le courant va entraîner une exportation des particules fines (fig. I.2) ; la distribution granulométrique du sédiment est alors dominée par la fraction grossière et les pores sont de plus grande taille (Shepherd, 1989, Kamann et al., 2007, Odong, 2008).



**Figure I.11 :** Mobilité du sédiment en fonction de la vitesse du courant et de la taille des grains, d'après Vanek et al. (1997). On peut noter aussi l'influence de la consolidation des argiles et limons sur leur mobilité en fonction du courant

Ces caractéristiques physiques du milieu vont avoir une influence sur les mécanismes de transfert hydrique à travers l'interface. En effet, dans les milieux où les courants sont faibles, le sédiment est fin et les pores de petite taille : la diffusion liée aux différences de concentration en solutés sera le processus de transfert majoritaire. Au contraire, en milieu plus courant, où le sédiment est plus grossier et les pores de grande taille, les échanges se feront alors majoritairement par advection (fig. I.3).

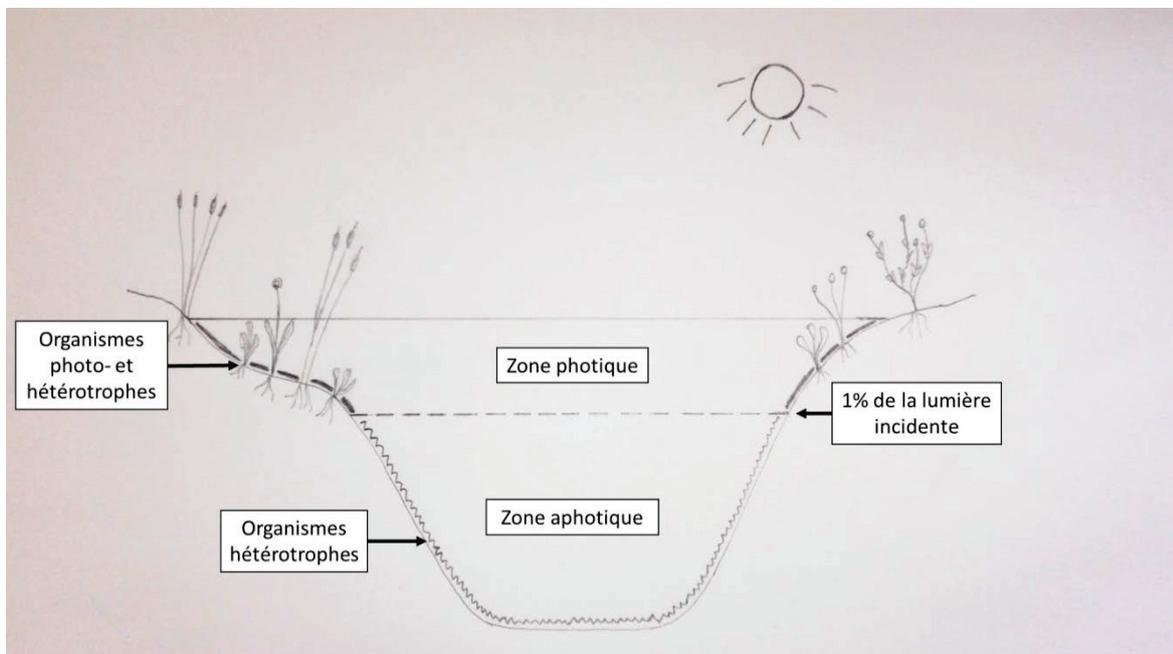
### Hydrological properties of water-sediment interfaces



**Figure I.3 :** Les modes d'échanges (advection/diffusion) en fonction des propriétés hydrologiques de l'interface eau/sédiment, d'après Mermillod-Blondin (2011)

### I.1.3 La disponibilité en lumière

La disponibilité en lumière au niveau de l'interface va modifier les caractéristiques des communautés benthiques, et plus particulièrement, celles des organismes photosynthétiques dont le développement est fonction de l'intensité et de la qualité de la lumière. Dans la lame d'eau, on distingue la zone photique ou trophogène, dans laquelle l'énergie lumineuse est suffisante pour assurer la photosynthèse, de la zone aphotique (fig. I.4). La présence et l'épaisseur de ces deux zones sont non seulement liées à la profondeur du milieu mais aussi à la turbidité de l'eau (i.e. la charge en matières en suspension) qui influe sur profondeur à laquelle la lumière disparaît (Dussart, 1992). Dans la zone d'interface benthique, la présence de lumière va contrôler la possibilité d'une production primaire locale, ainsi que la disponibilité en matière organique et en oxygène.



**Figure I.4 :** Représentation schématique des zones photique et aphotique d'une masse d'eau

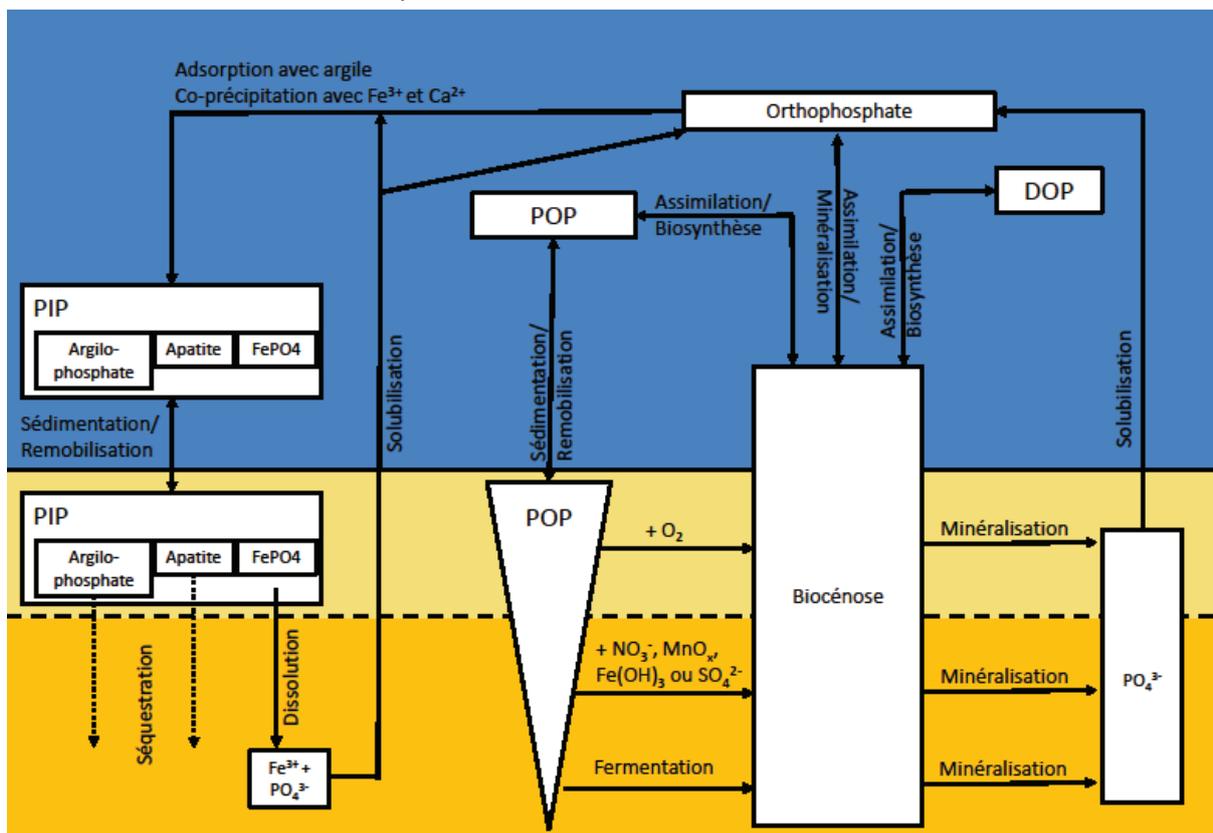
### I.1.4 Une cascade de processus à l'interface benthique

L'interface benthique est une zone d'échanges d'eau, de particules minérales, de nutriments et de matières organiques entre la colonne d'eau et le milieu sédimentaire, les processus qui s'y déroulent sont complexes et étroitement liés (Freckman et al., 1997 ; Covich et al., 2004). Les caractéristiques de l'interface vont avoir une influence à la fois sur les phénomènes physiques, chimiques ou biologiques contrôlant ces échanges. Ainsi, les matières en suspension peuvent sédimenter sur le fond des systèmes aquatiques lorsque les eaux sont calmes ou être remises en suspension par la force du courant dans des eaux agitées. Des phénomènes d'adsorption par lesquels des atomes, ions, molécules ou particules solides vont se fixer à une autre particule solide vont influencer l'agrégation et contrôler une partie du fonctionnement du système (Lurling et al., 2016). Inversement, on observe aussi des

phénomènes de désorption qui peuvent avoir lieu lors d'une augmentation de la température accompagnée de changements d'oxygénation et de pH (Gunatilaca, 1982, Simon, 1989, Hupfer & Lewandowski, 2008). Des composés dissous peuvent également précipiter quand ils sont en sursaturation dans l'eau et, à l'inverse, des composés solides peuvent se dissoudre dans l'eau (Dupraz et al., 2004).

Conjointement à ces processus physico-chimiques, l'activité des micro-organismes présents au niveau de l'interface va permettre la dégradation de la matière organique et le recyclage des nutriments par des processus de minéralisation et de biosynthèse (Cole et al., 2006). En effet, les micro-organismes hétérotrophes vont assimiler les nutriments organiques et inorganiques, assurant ainsi la dégradation partielle ou complète de la matière organique. Dans ce dernier cas, la minéralisation de la MO s'accompagne d'une production de CO<sub>2</sub>.

Le rôle de ces micro-organismes au sein du sédiment est donc prépondérant pour de nombreux processus (Sundbäck et al. 2004, Battin et al. 2008). Le rôle de l'interface benthique est présenté, à titre d'exemple, pour le cycle du phosphore (fig. I.5). Ce schéma met bien en évidence la complexité des processus en jeu, leur localisation à l'interface et le rôle essentiel de la biocénose présente.



**Figure I.5 :** Représentation schématique non exhaustive du cycle du phosphore à l'interface benthique en milieu d'eau douce, d'après Dodds & Whiles (2010) et Kristensen (2000). En bleu : la colonne d'eau ; en jaune clair : le sédiment oxisé ; et en jaune foncé le sédiment anoxique. Abréviations : PIP= Phosphore Inorganique Particulaire ; POP= Phosphore organique particulaire ; DOP= Phosphore Organique Dissous

### 1.1.5 Liens entre caractéristiques physiques et processus écologiques

L'exemple précédent illustrant les processus en jeu dans le recyclage du phosphore met aussi en évidence le rôle crucial des caractéristiques physiques et chimiques (ici la présence ou l'absence d'oxygène) au niveau de l'interface benthique (fig. 1.5). Ainsi, suivant le mode d'échange d'eau (diffusion, advection), et la disponibilité en oxygène, liée aux types d'activités biologiques à la surface du sédiment (production primaire, biodégradation de la matière organique), les processus dominant les cycles de l'azote, du phosphore et du carbone seront différents (Mermillod-Blondin et al., 2000).

La taille des sédiments, les modes d'échange d'eau et la disponibilité en oxygène influent sur la structure et l'activité des communautés de macro-invertébrés benthiques. Par exemple, sur des galets régulièrement lessivés par le courant et suffisamment éclairés pour qu'une importante production primaire ait lieu, les invertébrés herbivores seront principalement des racleurs (Rempel et al., 2000). On peut citer par exemple les Epheméroptères Heptageniidae (Tachet et al., 2003). Inversement, en présence de sédiment fin peu mobilisé par les mouvements de l'eau, on trouvera selon le degré d'éclairement des organismes très différents : en zone aphotique, les mangeurs de sédiments fins domineront la communauté (e.g. Oligochètes Lombriculidae, larves de Diptères Othoclaadiinae, Tachet et al., 2003) alors qu'en zone bien éclairée les brouteurs de micro-algues (e.g. Oligochètes Naïdidae, larves de Diptère Tanytarsini ; Tachet et al., 2003) peuvent être plus abondants.

Ces caractéristiques granulométriques et hydrodynamiques ne contrôlent pas seulement les organismes en place et les processus de recyclage de la matière organique, elles vont aussi gouverner les flux hydriques reliant les cours d'eau à leur nappe (Lefebvre et al., 2005). Dans les zones d'infiltration d'eau de la rivière vers la nappe, un grand nombre de phénomènes physiques, chimiques et biologiques peuvent réduire la taille des pores et la circulation des eaux et peuvent mener au colmatage de l'interface benthique (Knowles et al., 2011). Ce colmatage entraîne une diminution des capacités d'infiltration et menace ainsi les échanges entre la colonne d'eau et le milieu sédimentaire, diminuant par la même le rechargement des nappes phréatiques (Brunke, 1999).

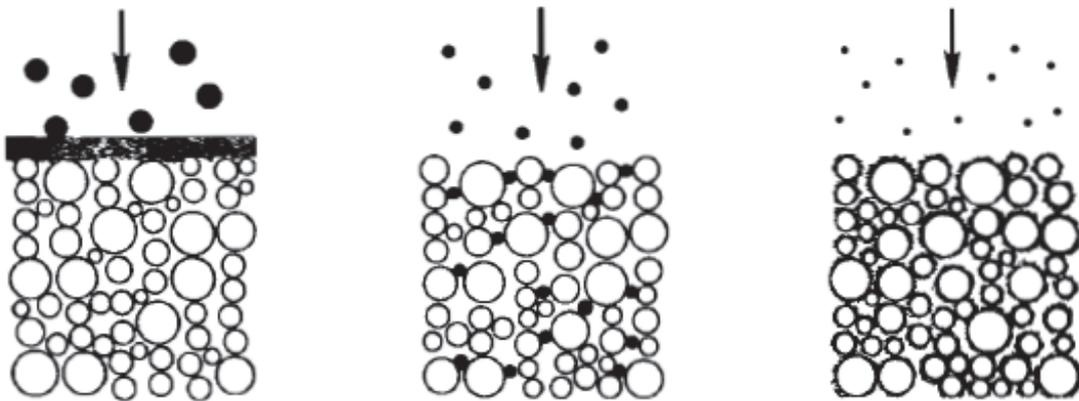
## 1.2 Le colmatage physique, chimique et biologique

Le colmatage est un problème environnemental grandissant (Descloux et al., 2010). Il peut être défini comme la diminution de la taille des pores et de leur connectivité (Water, 1995). On peut distinguer trois types de processus impliqués dans le colmatage du milieu sédimentaire : physique, chimique et biologique. Bien qu'ils soient présentés séparément dans cette partie, ces phénomènes sont en interactions et participent conjointement au colmatage général du milieu sédimentaire des systèmes aquatiques.

### 1.2.1 Colmatage physique

Le colmatage physique est la résultante de l'accumulation de particules fines à la surface du sédiment ou à l'intérieur de celui-ci (fig. 1.6). Celle-ci est induite par des processus mécaniques de sédimentation et de filtration (Lu et al., 2011). La rétention de ces particules

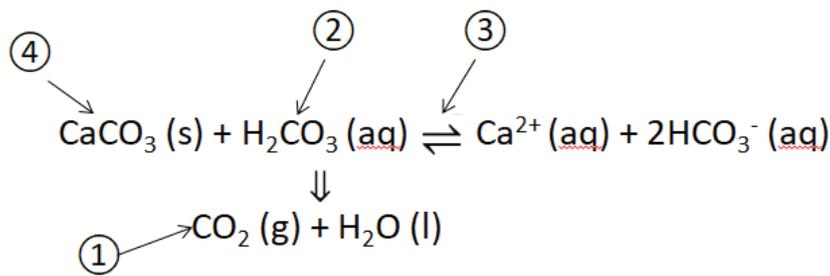
sera d'autant plus importante que la porosité du sédiment est petite (Rehg et al., 2005). Ces particules fines proviennent des matières en suspension présentes au sein de la colonne d'eau (organiques ou inorganiques). Celles-ci vont se déposer à la surface du sédiment par sédimentation ou intégrer les premiers centimètres du sédiment en fonction des caractéristiques hydrodynamiques de la colonne d'eau. Les variables qui influencent le colmatage physique sont donc les caractéristiques hydrodynamiques de la colonne d'eau, la charge en matières en suspension, la distribution granulométrique et la forme des matières en suspension et, s'il y a infiltration vers une nappe souterraine, sa conductivité hydraulique et sa direction (Schälchli, 1992).



**Figure 1.6** : Colmatage physique de surface (à gauche), colmatage physique interstitiel (au centre) et colmatage chimique (à droite), d'après McDowell-Boyer et al. (1986)

### 1.2.2 Colmatage chimique

Le colmatage chimique est causé par des processus de précipitation et d'adsorption. L'adsorption peut se faire avec une grande variété de composés (atomes, ions, molécules ou particules solides) mais elle est dépendante du potentiel de sorption du sédiment, limitant ainsi son action sur le colmatage (Knowles et al., 2011). Au contraire, la précipitation peut quant à elle former une épaisse couche autour des grains du sédiment, entraînant un colmatage plus efficace (fig. 1.6). De nombreuses substances chimiques peuvent précipiter au sein des sédiments (e.g. sulfures métalliques, gypse, calcite ; Wang et al., 2007). Si on s'intéresse à la précipitation de calcite, elle a lieu dans des conditions de sursaturation en  $\text{CaCO}_3$  et elle est favorisée par une augmentation du pH, de la température et de la concentration en  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{CO}_3^{2-}$  (fig. 1.7).

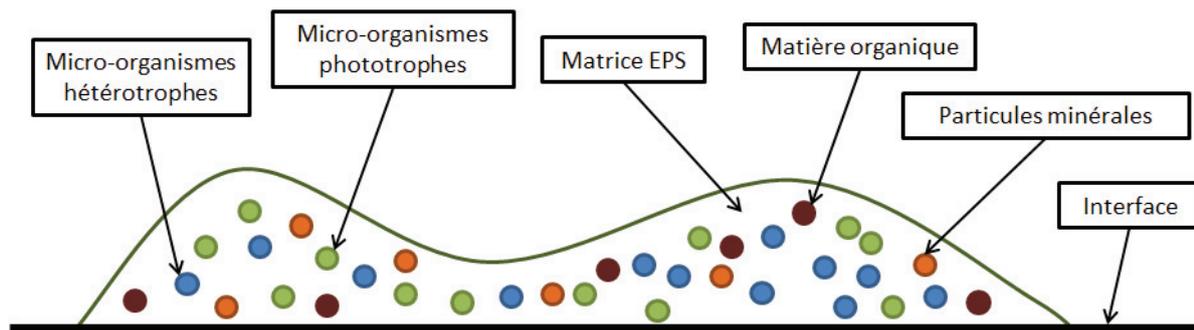


- |   |
|---|
| <p> <math>\textcircled{1}</math> → Augmentation de la température entraîne une perte de <math>\text{CO}_2</math> vers l'atmosphère<br/> <math>\textcircled{2}</math> → <math>\text{H}_2\text{CO}_3</math> se dissocie pour libérer du <math>\text{CO}_2</math><br/> <math>\textcircled{3}</math> → La réaction change de sens pour compenser la perte en <math>\text{H}_2\text{CO}_3</math><br/> <math>\textcircled{4}</math> → Précipitation de calcite         </p> |
|---|

**Figure I.7 :** Effet de l'augmentation de la température sur la précipitation de calcite

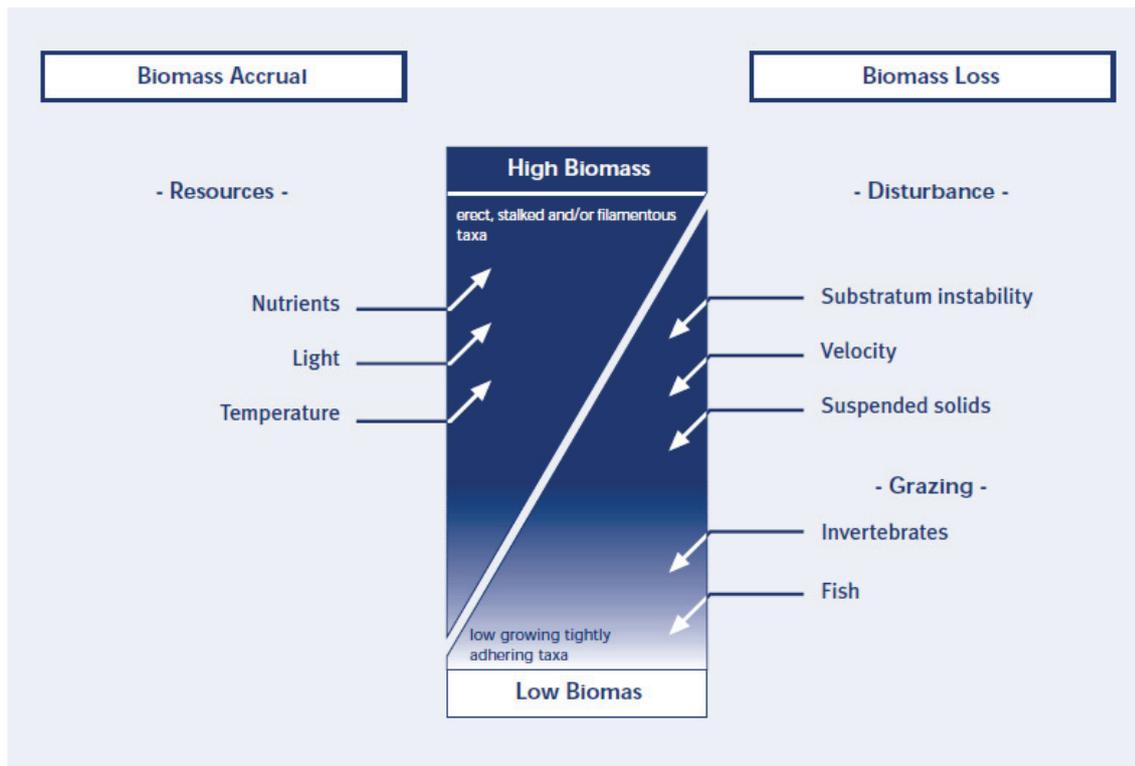
### I.2.3 Colmatage biologique

Le colmatage biologique est la conséquence du développement et de l'activité de micro-organismes à la surface ou au sein du sédiment. En effet, les micro-organismes peuvent se développer dans le réseau poral sous la forme d'un biofilm. Un biofilm est assemblage de micro-organismes vivant enchevêtrés dans une matrice extracellulaire composée de substances polymériques (EPS pour Extracellular Polymeric Substance en anglais) (fig. I.8). La communauté microbienne des biofilms comprend des organismes hétérotrophes (des décomposeurs, des bactéries et des champignons) et en présence de lumière des organismes phototrophes eucaryotes (algues) ou procaryotes (cyanobactéries) (Sigeo, 2005). La matrice extracellulaire est composée d'eau, de polysaccharides, de protéines, d'acides nucléiques, de matières détritiques (générées par le biofilm ou apportées par le milieu) et de particules minérales (Flemming, 2011). Pour les organismes vivants dans les biofilms, la matrice extracellulaire est d'une grande importance. Tout d'abord, elle peut représenter jusqu'à 90% de la masse totale du biofilm (Flemming et Wingender, 2010). Ensuite, elle peut permettre une résistance aux stress du milieu comme la dessiccation (Donlan et Costerton, 2002) ou les forces hydrauliques (Zhang et Bishop, 2003). Enfin, elle permet de favoriser les interactions entre les organismes et de conserver les ressources à proximité de ceux-ci (Flemming et Wingender, 2010).



**Figure I.8 :** Représentation schématique d'un biofilm phototrophe

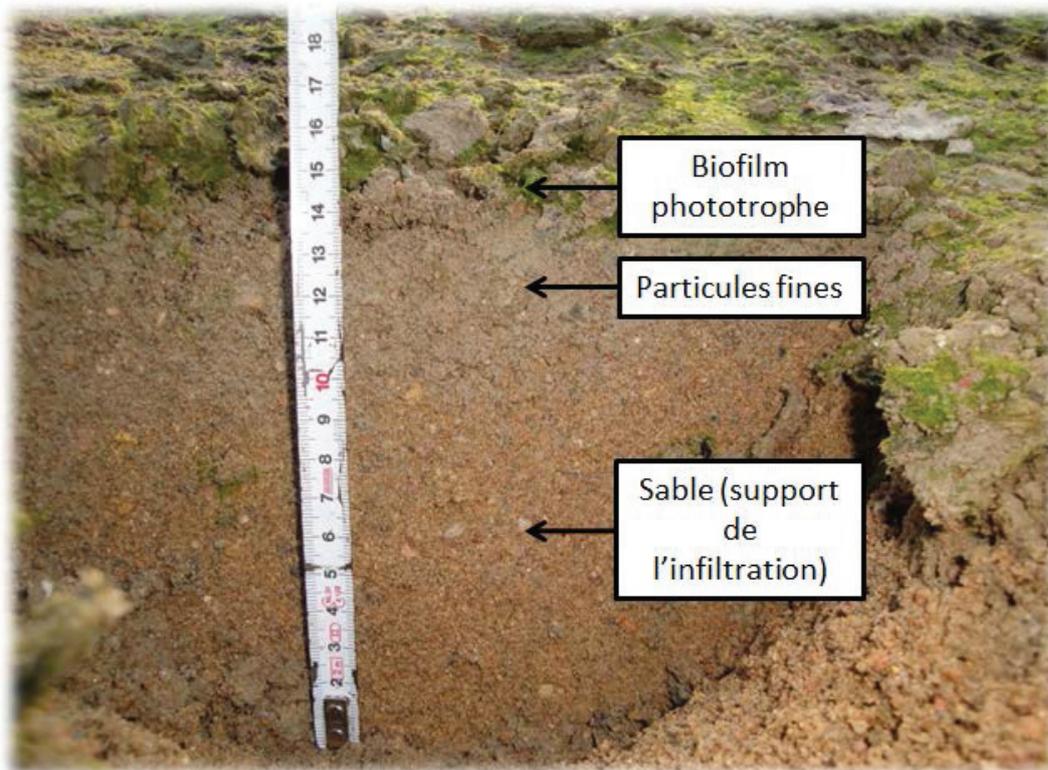
Le développement des biofilms est fonction de paramètres environnementaux. Ainsi, la lumière, la température et les nutriments vont favoriser sa croissance. Au contraire, l'hydrodynamisme du milieu ou les interactions trophiques vont entraîner la diminution de la biomasse du biofilm. Le développement du biofilm est également fonction de la nature et de la forme de la surface disponible colonisable : plus le support de colonisation est stable et plus le développement du biofilm pourra être conséquent. Ces différents paramètres environnementaux vont avoir une influence sur la communauté algale en favorisant certaines espèces au détriment d'autres espèces et en modifiant les formes de croissance de certaines espèces (fig. I.9). Par exemple, les cycles saisonniers de température et de lumière entraînent la succession de grandes composantes algales au cours de l'année (Stevenson et al., 1996). En effet, les algues peuvent être séparés en grands groupes ayant des caractéristiques (e.g. pigments) leur permettant un développement optimal dans des conditions environnementales différentes. De plus, la présence d'un organisme brouteur va favoriser les espèces d'algues vivant sous une forme prostrée ou adnée, les espèces érigées étant consommées plus facilement (Steinman, 1996).



**Figure I.9 :** Les facteurs influençant la biomasse et les formes de développements du biofilm dans un cours d'eau, d'après Biggs (2000)

#### 1.2.4 Interaction entre les trois types de colmatage

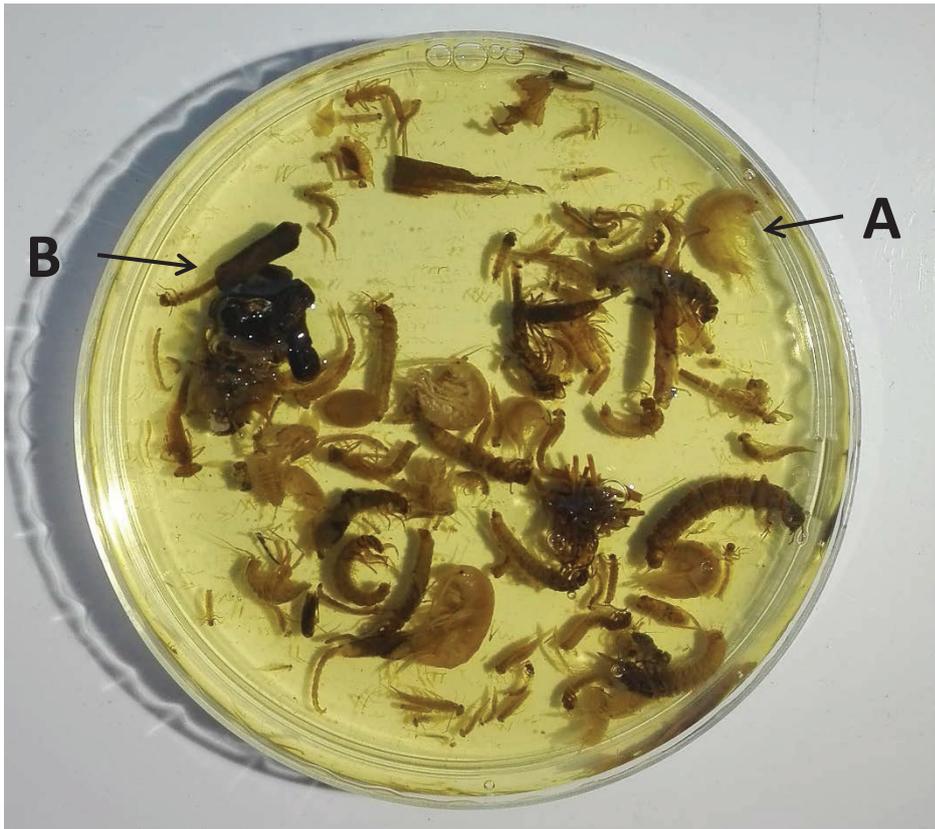
Ces trois types de colmatage et les processus qui y sont liés sont en interaction constante et sont difficilement dissociables. En effet, le colmatage biologique d'un sédiment est favorisé par l'accumulation de particules fines à l'interface eau/sédiment (Gette-Bouvarot et al., 2014). De plus, les activités biologiques peuvent également favoriser un colmatage chimique (Wang et al., 2007). Par exemple, l'activité photosynthétique des algues et cyanobactéries peut conduire à une augmentation du pH et favoriser ainsi la précipitation de calcite (Schuh, 1990). De plus, des bactéries peuvent induire la précipitation de calcite via des uréases qui vont augmenter la concentration en  $\text{CO}_3^{2-}$  par dégradation de l'urée (Glunk et al., 2011). Dans le cas des zones humides artificielles utilisées comme bassin d'infiltration d'eau du fleuve dans la zone de captage de Crépieux-Charmy, un profil pédologique réalisé en période d'assez (fig. I.10) met clairement en évidence le colmatage biologique par le biofilm phototrophe en surface suivi d'un colmatage physique lié à l'introduction de particules fines dans les pores du support sableux (Gette-Bouvarot et al., 2014).



**Figure I.10 :** Photo de coupe du support de l'infiltration dans un bassin du champ captant de Crépieux-Charmy. On peut observer un biofilm phototrophe à la surface qui s'est développé sur les particules fines accumulées à l'interface

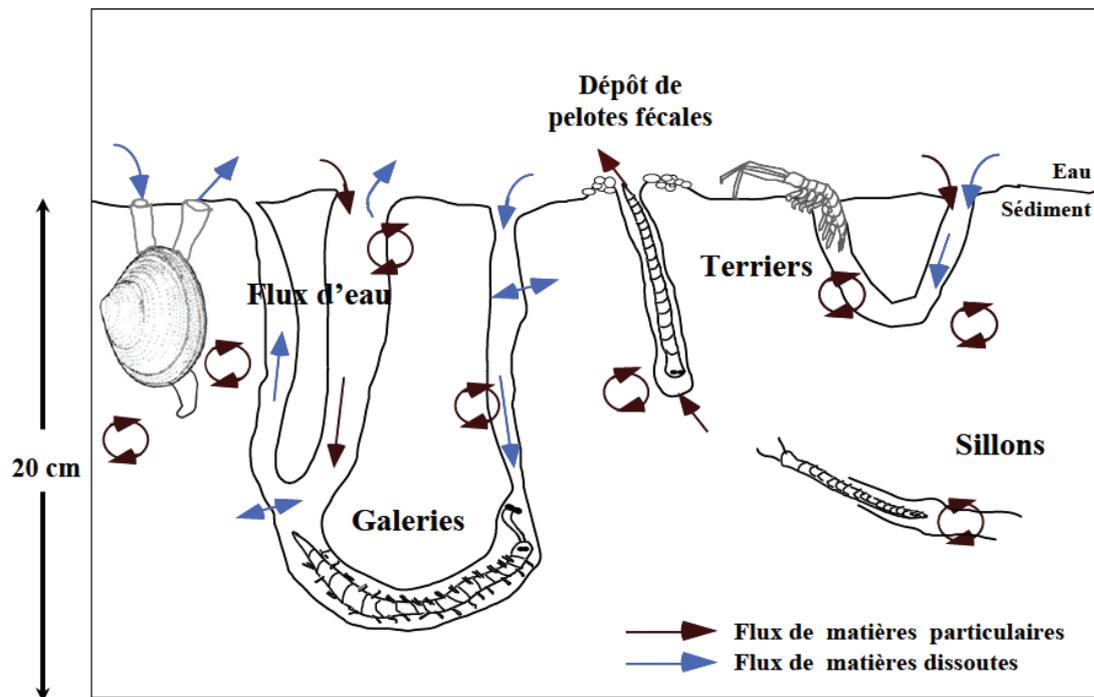
### I.3 Les organismes qui peuvent favoriser les échanges

Les organismes qui vivent dans l'habitat benthique sont appelés benthos. On peut aller plus loin et distinguer les épibenthiques qui vivent à la surface du sédiment, des endobenthiques qui vivent à l'intérieur du sédiment. Le benthos comprend des organismes de tailles variables, allant des micro-organismes aux poissons. Nous allons ici nous intéresser aux macro-invertébrés benthiques d'eau douce, représentés par des nématodes, des oligochètes, des mollusques (bivalves et gastéropodes), des crustacés et des hexapodes principalement au stade larvaire (e.g. les larves de chironomes) (fig. I.11).



**Figure I.11 :** Macro-invertébrés benthiques d'une zone humide de la rivière Ain. Cette communauté est largement dominée par les Crustacés Amphipodes du genre *Gammarus* (A) et les Trichoptères Limnephilidae (B)

Ces organismes ont des actions très diverses sur le sédiment, liées à leur mode de vie et/ou à leur mode d'alimentation. Ces activités peuvent directement ou indirectement avoir un impact sur les échanges au niveau de l'interface (fig. I.12) :



**Figure I.12 :** Représentation graphique de différentes manières dont les organismes vont affecter l'interface benthique d'après Nogaro (2007). Les différentes actions des organismes peuvent être : (1) l'enfouissement, la création de terriers ou de galeries, (2) la ventilation et bioirrigation des terriers et galeries (3) l'alimentation et les conséquences sur la biocénose (diminution de biomasse d'un niveau trophique) et le biotope (production de pelotes fécales et biodéposition), (4) la création de sillons lors du déplacement à la surface ou dans le sédiment

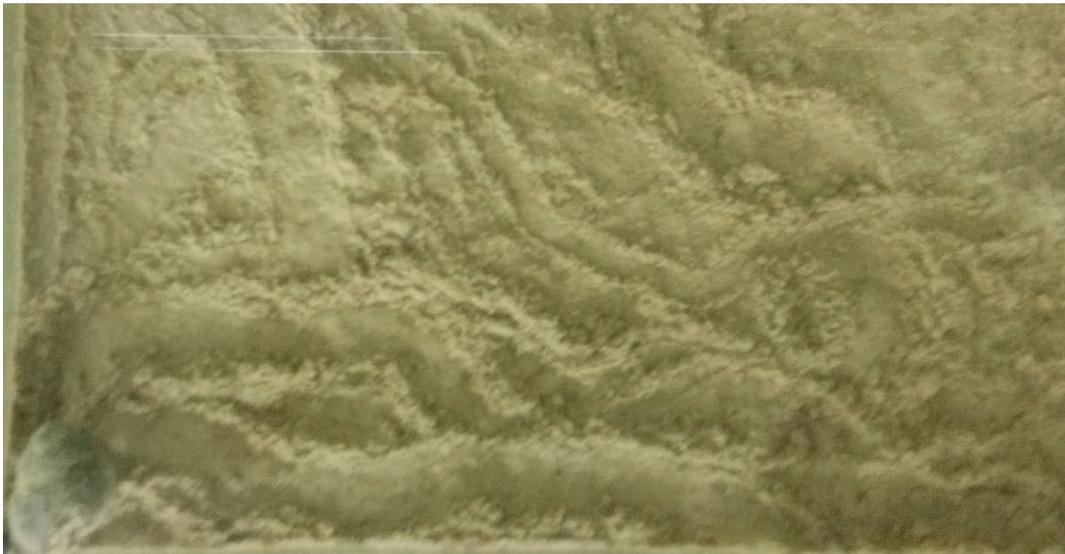
### I.3.1 La bioturbation des sédiments

La bioturbation en milieu aquatique est définie par Kristensen (2012) comme « *all transport processes carried out by animals that directly or indirectly affect sediment matrices. These processes include both particle reworking and burrow ventilation* ». Dans les sédiments meubles, on peut distinguer cinq groupes fonctionnels (i.e. groupes d'espèces ayant un effet similaire sur les processus des écosystèmes (Chapin et al., 1992)) de bioturbation : (1) les biodiffuseurs dont l'activité à la surface entraîne un mélange aléatoire du sédiment, (2) les convoyeurs vers le haut et (3) les convoyeurs vers le bas dont les activités trophiques déplacent verticalement le sédiment, (4) les régénérateurs dont l'action d'excavation relocalise le sédiment vers la surface et crée des terriers qui seront remplis par des particules de surface à l'abandon de ceux-ci et (5) les diffuseurs à galeries qui vont créer de vastes réseaux de galeries, irriguées par les activités biotiques (François et al., 1997 ; François et al., 2002). L'activité de bioturbation favorise les échanges au niveau de l'interface et peut donc modifier les propriétés physiques, chimiques ou biologiques du sédiment (Krantzberg, 1985 ; Meysman et al., 2006).

L'existence de ces cinq groupes fonctionnels s'explique par une grande variabilité d'au moins quatre traits écologiques des organismes : (1) le taux de mélange du sédiment par les organismes, (2) la profondeur des terriers et galeries creusés, (3) les structures biogènes

produites et (4) le taux de bioirrigation des terriers et galeries (Mermillod-Blondin et al., 2011). Ces organismes peuvent également tracer des sillons dans le sédiment lors de leur déplacement (« crawling activity », fig. I.13) et dans le cas des gastéropodes, agréger des particules via le mucus utilisé pour la locomotion et augmenter ainsi leur taille (McCave, 1976 ; Orvain & Sauriau, 2002 ; Orvain et al., 2004 ; Sommer, 2000).

Enfin, parmi ces activités de bioturbation du macro-benthos, certaines sont liées à la nutrition et aux interactions trophiques. En effet, les organismes qui consomment la matière organique et les micro-organismes de l'interface vont produire des pelotes fécales. Là encore il y a augmentation de la taille des particules du sédiment, c'est la pelletisation (Andersen, 2001 ; McCall & Fisher, 1980).



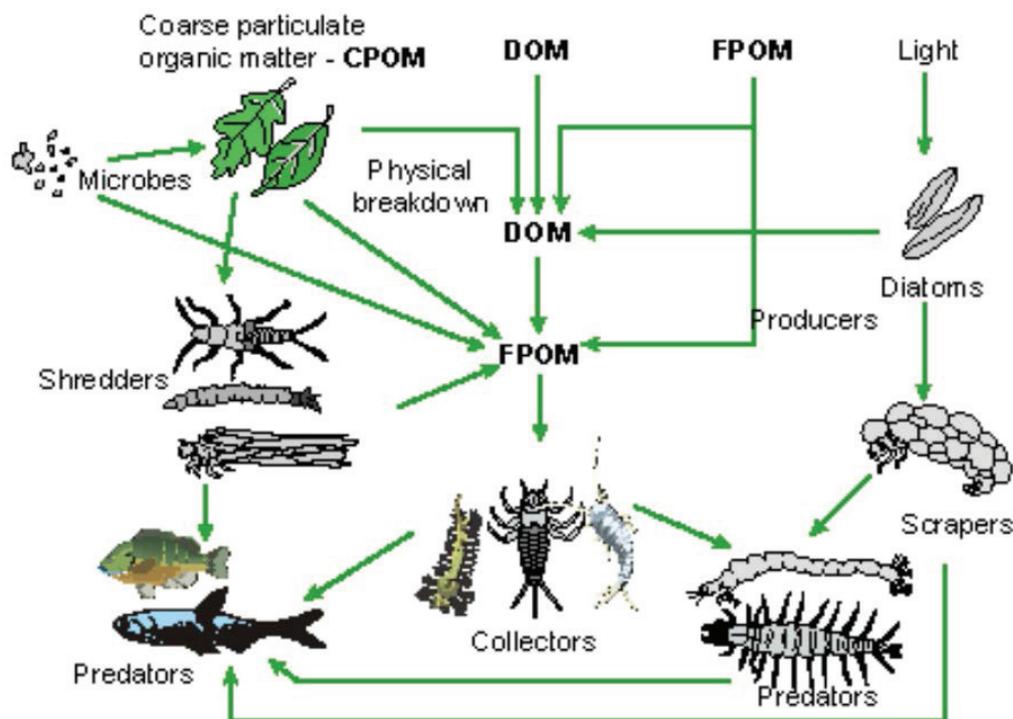
**Figure I.13 :** Sillons créés par le déplacement du gastéropode *Viviparus viviparus* à la surface du sédiment

### I.3.2 Les interactions trophiques

L'activité trophique des organismes ne génère pas seulement de la bioturbation des sédiments, elle peut avoir un rôle en soi. Les organismes d'un écosystème interagissent entre eux et/ou prélèvent de la matière organique pour obtenir les ressources nécessaires à leur développement, leur maintenance (survie) et leur reproduction. Ces organismes peuvent être différenciés par le type de ressources dont ils dépendent, ce sont les niveaux trophiques (e.g. les herbivores dépendent des producteurs primaires). Ainsi, les ressources basales d'un écosystème vont influencer la communauté et notamment le nombre de niveaux trophiques, c'est le contrôle ascendant (« bottom-up control ») (Elton, 1927 ; Lindeman, 1942). Les organismes d'un même niveau trophique vont être en compétition pour les ressources ou avoir des niches écologiques réalisées différentes, permettant d'éviter les effets néfastes des interactions compétitrices (Leibold, 1995). Les interactions entre différents niveaux trophiques entraînent la diminution de la ressource consommée et l'augmentation de la biomasse du consommateur, c'est le contrôle descendant (« top-down control ») ( Hairston et al., 1960). Par exemple, la présence d'un herbivore peut diminuer la

biomasse des biofilms qui colonisent une interface eau-sédiment (Steinman, 1996) et, par conséquent, augmenter la porosité et favoriser les échanges verticaux.

Au sein d'un même niveau trophique, les organismes peuvent être classés par guildes ou groupes fonctionnels trophiques (i.e. un groupe d'espèces qui exploitent la même ressource de la même manière (Root, 1967)). Chez les macro-invertébrés benthiques, on distingue plusieurs groupes selon l'origine et la nature de la matière organique consommée (Cummins & Klug, 1979) : (1) les organismes qui broutent ou raclent les biofilms se développant à la surface du sédiment (« scrapers »), (2) les organismes qui collectent les matières particulaires accumulées à la surface du sédiment (« detritus collectors »), (3) les organismes qui fragmentent les débris végétaux de grandes tailles (« shredders »), (4) les organismes qui filtrent les matières en suspension (« filtering collectors »), et enfin (5) les organismes qui consomment d'autres animaux (« predators ») (fig. I.14).



**Figure I.14 :** Interactions trophiques entre les groupes fonctionnels trophiques de macro-invertébrés benthiques et l'écosystème, d'après Hatfield Consultants (2007)

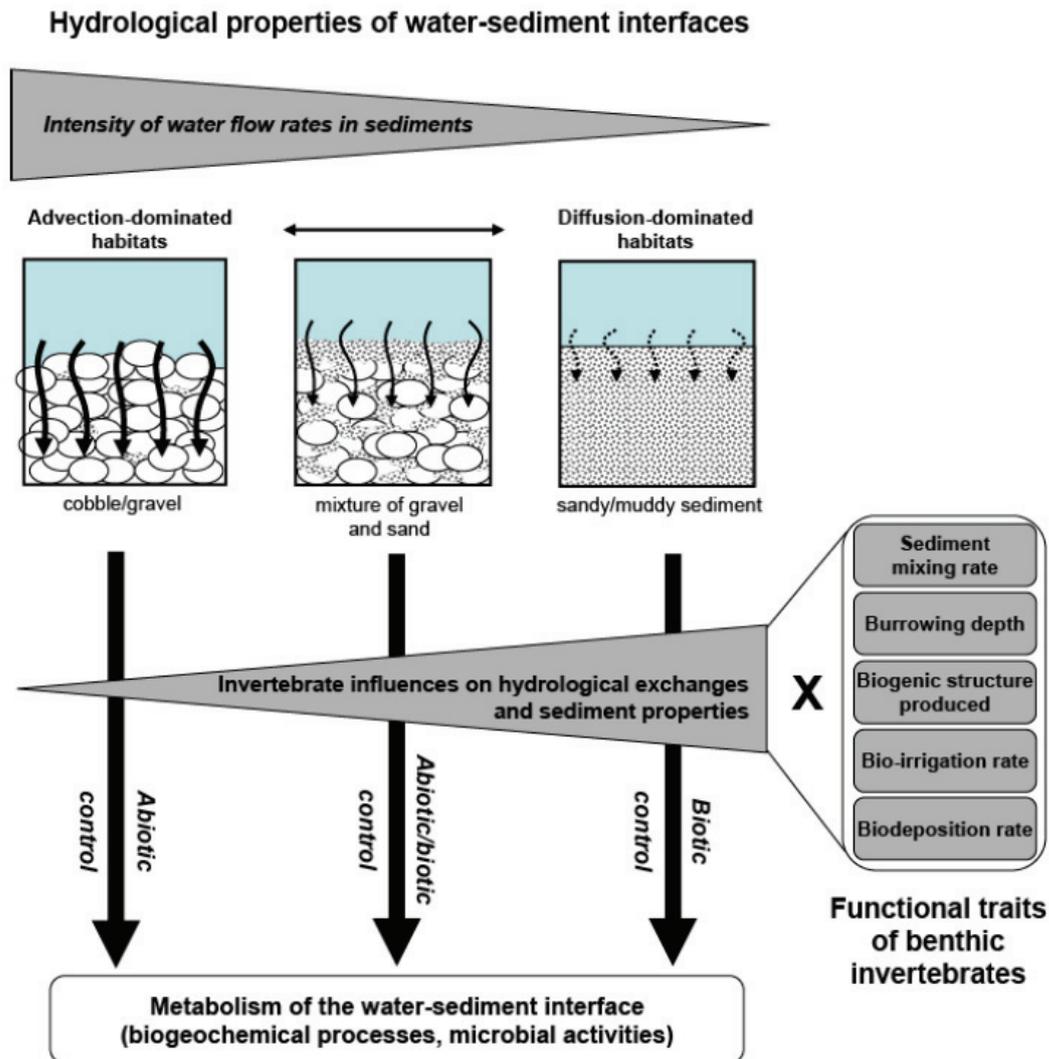
Les différentes fonctions de ces organismes et leurs effets sur l'habitat benthique peuvent être utilisées pour restaurer des écosystèmes dégradés et le domaine de recherche qui s'y intéresse s'appelle l'ingénierie écologique.

#### I.4 Ingénierie écologique

L'ingénierie écologique est définie par « *the design of sustainable ecosystems that integrate human society with its natural environment for the benefit of both* » (Mitsch, 1996), ou plus simplement « *to use ecological processes within natural or constructed imitations of natural systems to achieve engineering goals* » (Teal, 1991). Ainsi, l'ingénierie écologique est intimement associée à la notion d'écosystème (Mitsch, 2012). Mitsch & Jørgensen (2004)

ont différencié cinq catégories d'ingénierie écologique : (1) les écosystèmes sont utilisés pour réduire ou résoudre un problème de pollution, (2) les écosystèmes sont imités ou copiés pour réduire un problème de ressources, (3) l'aide à la résilience des écosystèmes après des perturbations majeures, (4) les écosystèmes existants sont modifiés avec des pratiques saines d'un point de vue écologique et (5) les écosystèmes sont utilisés de manière bénéfique pour le genre humain sans affecter l'équilibre écologique. Ces cinq catégories recouvrent des démarches et des solutions fondées sur la nature souvent multiples et qui peuvent être utilisées dans un grand nombre de milieux, y compris des systèmes artificiels comme des zones humides servant au traitement des eaux usées ou bien plus naturels comme des prairies dégradées par les activités humaines (Kangas, 2004). Le but clairement affiché est d'améliorer ou de maintenir les services écosystémiques rendus par la nature.

Dans les milieux aquatiques, les solutions fondées sur la nature font souvent appel à la biomanipulation (i.e. manipulation des organismes, voire de la chaîne trophique et contrôle des nutriments pour améliorer la qualité de l'eau ; Shapiro et al., 1975) pour restaurer les services écosystémiques rendus par ces milieux (Carpenter et al., 1985 ; Hansson & Brönmark, 2010 ; Triest et al., 2016). La biomanipulation par ajout de macro-invertébrés au niveau de l'interface benthique fait appel soit à leur capacité d'ingénieurs de l'écosystème (i.e. organismes qui modifient le milieu physique et régulent la disponibilité des ressources pour les autres espèces ; Jones et al., 1994) comme par exemple pour leur capacité de bioturbation, soit à leur rôle trophique, comme par exemple leur herbivorie.

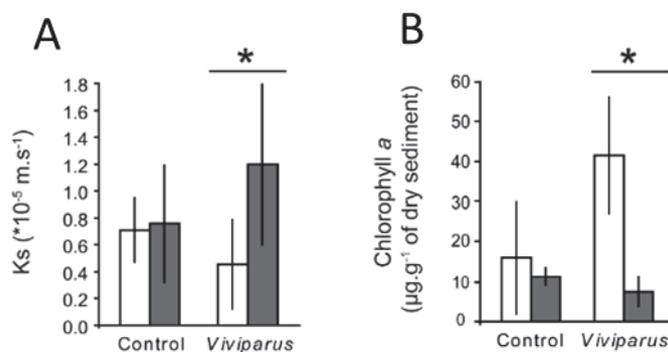


**Figure I.15 :** Modèle conceptuel présentant la signification fonctionnelle de la bioturbation en fonction des propriétés hydrologiques à l'interface eau-sédiment, d'après Mermillod-Blondin (2011)

Un des résultats originaux apportés par les études des organismes bioturbateurs (Mermillod-Blondin, 2011) a été de montrer que les effets potentiels de ces organismes sont très variables en fonction du contexte dans lequel ces animaux sont placés (fig. I.15). Les organismes bioturbateurs, comme par exemple les vers tubificidés, améliorent les propriétés hydrauliques de l'interface eau-sédiment en lien avec la création de galeries. Mais cet effet hydraulique n'est observé que dans certains contextes très précis, comme par exemple, si les vers sont placés dans des sédiments colmatés en surface par des particules fines (Navel et al., 2011, 2012 ; Nogaro et al., 2006). Ainsi, Nogaro et al. (2009) et Nogaro & Mermillod-Blondin (2009) ont montré que l'effet des vers tubificidés sur la conductivité hydraulique était lié aux caractéristiques des sédiments et, plus particulièrement, à leur cohésion et leur stabilité dans l'architecture des galeries. Enfin, Nogaro et al. (2007) ont montré que ces vers

tubificidés avaient aussi un effet important sur la dynamique des communautés microbiennes et que cet effet était plus ou moins fort en fonction des caractéristiques de la matière organique sur laquelle se développaient ces communautés. On voit ici une possible interaction à trois composantes : les vers bioturbateurs, les caractéristiques physiques des particules de sédiment et les biofilms.

Dans le cas d'un colmatage où le compartiment biologique domine, par exemple en cas de croissance excessive d'un biofilm phototrophe, on peut utiliser un herbivore pour réduire la biomasse du biofilm en lien avec son activité trophique (Steinman, 1996 ; Hillebrand, 2010). On peut ainsi améliorer ou maintenir la conductivité hydraulique d'un système infiltrant lors de périodes où le développement des biofilms devient excessif (Gette-Bouvarot et al., 2015) (fig. I.16). D'après cette étude, l'apport de Mollusques *Viviparus viviparus* dans des encagements *in situ* entraîne une augmentation des capacités d'échanges eau-sédiments et une réduction de la biomasse algale.



**Figure I.16 :** Effets du gastéropode *Viviparus viviparus* sur la conductivité hydraulique (A) et la biomasse algale (B), modifié d'après Gette-Bouvarot et al. (2015)

### I.5 Conclusion

Dans cette première partie de thèse, j'ai présenté les caractéristiques de l'interface benthique (situées entre l'eau libre et les sédiments) et, plus particulièrement, ses propriétés physiques et biologiques. Un des problèmes écologiques majeurs posé par cette interface est son possible colmatage, une perturbation de ses propriétés qui peut associer des processus physiques, chimiques et biologiques. J'ai aussi insisté sur les macro-organismes vivant dans cet habitat et la possibilité de les utiliser comme outils de restauration des services écosystémiques offerts par l'interface benthique. Toutefois, l'action de ces organismes est fortement liée au contexte biotique (e.g. colonisation microbienne) et abiotique (e.g. distribution granulométrique du sédiment) qui doivent être pris en compte pour assurer aussi bien l'efficacité que la faisabilité de ces biomanipulations. Pour ce faire, il est essentiel de quantifier non seulement l'impact des organismes introduits sur les processus d'intérêt liés au bon fonctionnement de l'écosystème, mais aussi de l'impact du système en cours de restauration sur les organismes ingénieurs. En effet, une biomanipulation réussie et durable implique la survie de l'organisme utilisé afin de maintenir

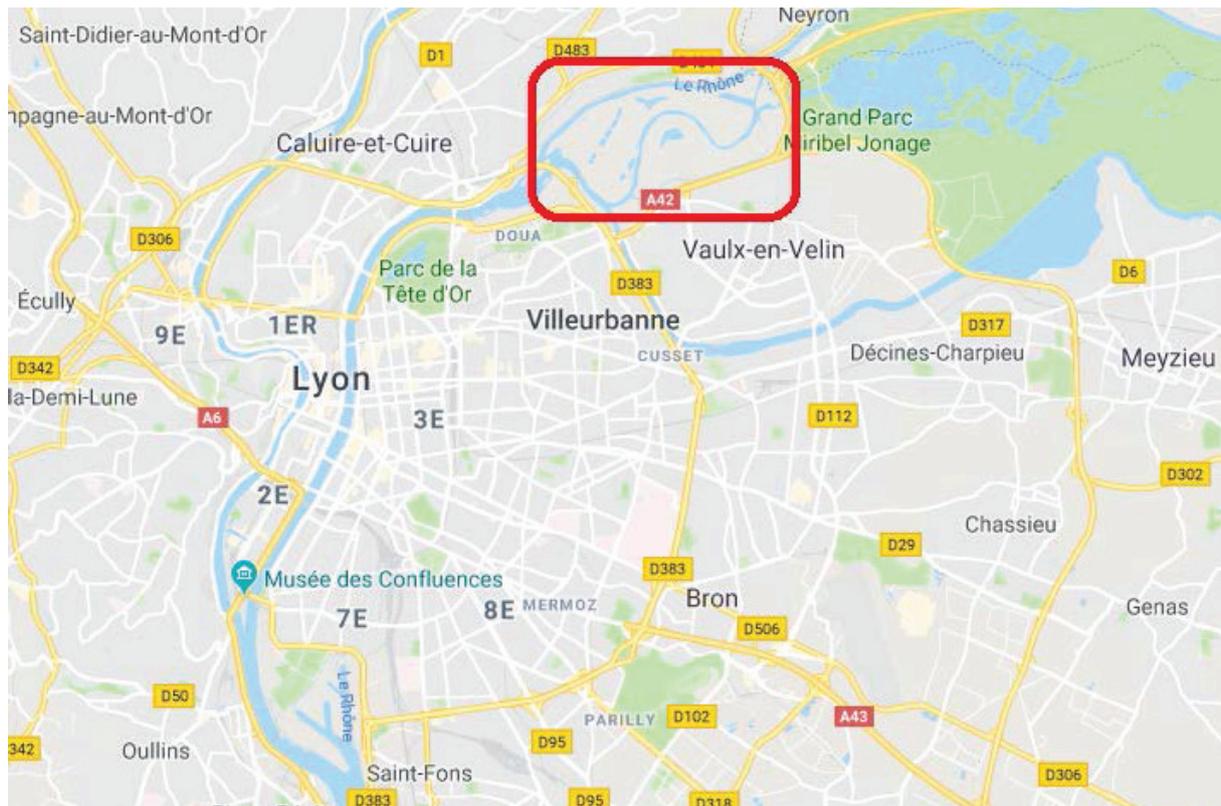
son action à moyen terme. Les caractéristiques de l'écosystème doivent donc correspondre à ses besoins.

## Partie II : Présentation du site d'étude, de l'espèce étudiée et de la démarche expérimentale

### II.1 Présentation du site d'étude : le champ captant de Crépieux-Charmy

Les travaux réunis dans cette thèse relèvent pour la plupart d'une approche expérimentale de terrain permettant de manipuler des interactions biotiques susceptibles d'être exploitées dans des techniques d'ingénierie écologique. Ils ont été menés sur un site de pompage d'eau souterraine destinée à la production d'eau potable, le champ captant de Crépieux-Charmy (ARS, 2017), où les exigences en termes de quantité (niveau de la nappe) et de qualité d'eau (chimique et microbiologique) sont donc maximales. Ce champ captant fournit 95% de la ressource en eau de la Métropole de Lyon, soit  $210\,000\text{ m}^3\cdot\text{jour}^{-1}$  pour 1,25 million de personnes dans l'agglomération lyonnaise (Loizeau, 2013). Le maintien du niveau de la nappe et de sa qualité est donc une problématique essentielle. Avec ce double objectif, une stratégie de ré-infiltration d'eau superficielle à partir de bassins a été mise en place (1) pour compenser les volumes pompés et maintenir le niveau de la nappe et (2) pour constituer un dôme hydraulique protégeant la nappe exploitée d'intrusions d'eau polluée pouvant venir du Rhône ou de la nappe de l'Est lyonnais. Ces bassins d'infiltration constituent mon site expérimental que je vais rapidement décrire.

Le champ captant d'eau potable de Crépieux-Charmy se situe au Nord-Est de Lyon (fig. II.1). Il est géré par la Métropole de Lyon et exploité par Eau du Grand Lyon (Veolia). Le champ-captant dispose de puits qui pompent de l'eau de la nappe sous-jacente s'écoulant dans l'aquifère associé au Rhône. Cet aquifère s'enfonce sur une profondeur comprise entre 15 et 25 m ; il est composé d'alluvions fluviales modernes et s'écoule d'est en ouest (Loizeau, 2013).



**Figure II.1 :** Carte de l'agglomération lyonnaise (source Google Maps). Le champ captant (entouré en rouge sur la carte) est situé au nord-est de la ville, dans la plaine alluviale du Rhône

Douze bassins d'infiltration ont été creusés pour permettre de recharger artificiellement cet aquifère avec de l'eau du fleuve (fig. II.2). L'eau du Vieux Rhône est tout d'abord pompée dans 3 pré-bassins de décantation (en violet sur la carte), puis distribuée dans les 12 bassins (notés en bleu et numérotés de 1.1 à 6.2, fig. II.2). Ces prélèvements d'eau du Vieux Rhône n'ont lieu que si la charge en matière en suspension n'est pas supérieure à 50 NTU pour éviter un colmatage physique des bassins et qu'aucun polluant n'est détecté au niveau de la station de surveillance automatisée localisée en amont du champ captant (Gette-Bouvarot, 2014).

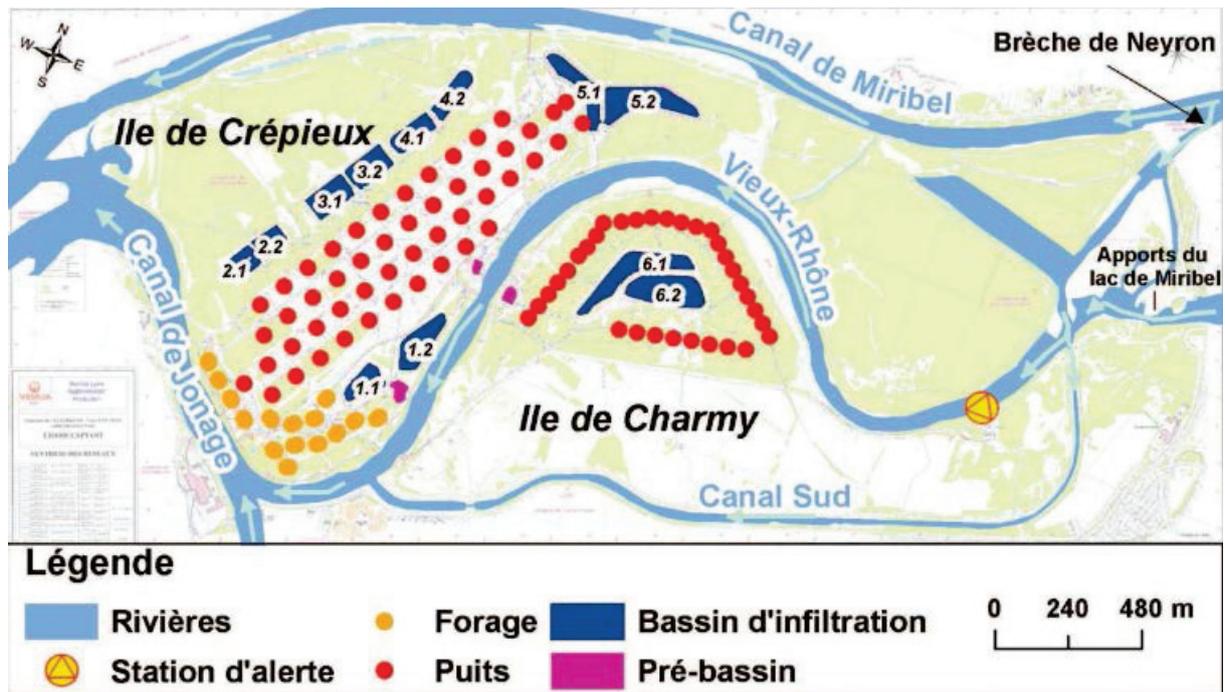


Figure II.2 : Vue schématique du champ captant entouré par deux bras du fleuve, le canal de Miribel au nord et le Vieux Rhône au sud, d'après Loizeau (2013)

Les bassins d'infiltration sont des systèmes complexes. De taille moyenne (en moyenne 10 000 m<sup>2</sup>) et de faible profondeur (en moyenne 1,8 m), leur fond est composé d'une couche de 30 cm minimum de sable grossier (100 à 1000 µm de diamètre) permettant, lorsqu'il est propre, une infiltration aisée (environ 10<sup>-4</sup> m.s<sup>-1</sup>) de l'eau superficielle vers la nappe (BURGEAP, 1997 ; Refloch, 2018). Le maintien d'une forte perméabilité du support d'infiltration de ces 12 bassins est donc essentiel au fonctionnement du champ captant. Les processus de colmatage aux interfaces sédiment/eau de certains bassins d'infiltration du champ captant ont été décrits par Gette-Bouvarot et al. (2014) qui montrent une influence non significative des particules fines accumulées mais une influence positive et significative des biofilms et, plus particulièrement, de leur composante phototrophe. Le colmatage conduit à une réduction des propriétés hydrauliques de ces ouvrages. Ce colmatage a aussi un coût économique direct : sa gestion nécessite de manière régulière le changement total ou partiel du support de l'infiltration (sable).

Ce site de production d'eau potable est aussi un site d'étude exceptionnel : il présente de nombreux avantages pour développer des approches expérimentales sur les bassins d'infiltration. Premièrement, les 12 bassins ont des durées d'exploitations différentes, ainsi que des interfaces eau/sédiments présentant des caractéristiques biotiques (biomasse algale) et abiotiques (proportion de particules fines) contrastées. Deuxièmement, le fait de travailler sur ce champ captant permet de s'affranchir de la présence de polluants, limitant des facteurs confondant comme par exemple la présence d'un polluant qui modifierait le comportement des organismes. Troisièmement, les interactions avec les exploitants du site sont facilitées par leur intérêt pour les travaux d'ingénierie écologique effectués sur le site.

Ainsi, nous avons pu bénéficier d'un contrôle de la hauteur d'eau dans les bassins au cours des expériences.

En effet, des événements naturels (cruue du Rhône) ou liés à l'activité humaine (vidange de barrage en amont) peuvent contraindre les gestionnaires à arrêter l'alimentation en eau des bassins. Par exemple, les bassins peuvent être mis à l'arrêt lors d'une crue du Rhône qui peut entraîner à la fois une augmentation de la turbidité, ce qui ne permet pas de respecter les critères d'infiltration et une hausse du niveau de la nappe sous-jacente ayant pour conséquence une disparition de la zone insaturée protectrice de la nappe (Datry et al., 2005). Ainsi, pour permettre une partie de mes expérimentations, Eau du Grand Lyon a construit au centre du bassin 2.2 (fig. II.2) un enclos métallique permettant de garder une zone d'eau pérenne, alimentée en eau souterraine par pompage (fig. II.3). Cette construction, a permis de s'affranchir des conditions d'exploitation.



**Figure II.3** : Photo de la zone pérenne en eau du bassin 2.2

Bien que ce site d'étude soit idéal pour des expérimentations *in situ*, il présente néanmoins une contrainte : le champ captant de Crépieux-Charmy est une zone Natura 2000, également identifiée comme ZNIEFF (Zone Naturelle d'Intérêt Ecologique, Floristique et Faunistique), et faisant l'objet d'un arrêté de protection de biotope (APB). Un document portant les objectifs pour cette zone a été rédigé et définit notamment les orientations pour protéger les habitats. Le contrôle des espèces invasives est l'une de ces orientations. C'est pourquoi, les espèces utilisées lors d'expérimentations *in situ* doivent être autochtones.

## II.2 *Viviparus viviparus* : une espèce locale

Les expérimentations menées dans cette thèse ont fait appel à un organisme ayant une action sur le biofilm autotrophe, le Gastéropode Prosobranch *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758). Ce gastéropode d'eau douce de la famille des Viviparidae possède une coquille de couleur brun-verdâtre avec trois lignes brunes foncées (fig. II.4). La présence d'un opercule fixé au pied du gastéropode assure la fermeture de cette coquille. Ses caractéristiques de reproduction, de nutrition et son comportement en font un modèle biologique pertinent pour l'étude des relations brouteur/biofilm.

C'est tout d'abord une espèce ovovivipare : l'éclosion des œufs à lieu dans une poche interne servant à leur incubation. Les œufs sont donc protégés et les juvéniles sont d'une taille suffisante pour être visible dès la naissance. La période de reproduction se déroule de mars à novembre (Jakubik, 2006). Les juvéniles mesurent à la naissance une taille de 3 mm et les individus adultes entre 2,5 et 3,5 cm. La différenciation sexuelle des juvéniles intervient lors de la deuxième année de vie (Jakubik & Lewandowski, 2007 ; Frömming, 1956). Cette espèce vit entre 5 et 10 ans (Piechocki, 1979), elle est également itéropare, dioïque et présente un dimorphisme sexuel. En effet, le tentacule droit du mâle qui sert d'organe copulatoire est court et arrondi en son bout, contrairement à la femelle qui possède deux tentacules longs et fins.

Ensuite, cette espèce dispose de deux voies de nutrition : le broutage de débris et de biofilm avec sa radula et la filtration de l'eau avec ses branchies. Le broutage est largement majoritaire dans les systèmes oligotrophes comme ceux utilisés dans cette thèse. Toutefois, lorsque la charge en seston dans la colonne d'eau devient plus importante, cet animal aspire et filtre l'eau de surface (Höckelmann & Pusch, 2000).

Enfin, son comportement est lui aussi intéressant pour la problématique de décolmatage abordée dans cette thèse. En effet, cet animal peut s'enfouir dans des sédiments allant du limon au sable (Cook, 1949). Ce comportement a été observé au laboratoire mais également sur le lieu de capture des individus dans un dépôt limoneux.



**Figure II.4** : Photo d'un *V. viviparus* mâle

Les individus utilisés dans les expérimentations ont été collectés dans une zone humide (classée Natura 2000) du parc de Miribel-Jonage à quelques centaines de mètres des bassins d'infiltration. Ils sont maintenus au laboratoire dans des conditions contrôlées afin de disposer d'individus ayant passé au moins six mois en élevage avant les expériences. Au total, 280 individus ont été utilisés pour l'ensemble des manipulations de terrain et de laboratoire.

### II.3/ Objectifs spécifiques et stratégie d'étude

Ce travail de thèse se divise en deux volets : (1) l'étude de la pertinence de l'introduction de *V. viviparus* dans les bassins d'infiltration comme solution d'ingénierie écologique, au vue de sa stratégie trophique et (2) l'étude de l'effet de la variabilité spatiale et temporelle sur l'efficacité du décolmatage par *V. viviparus*.

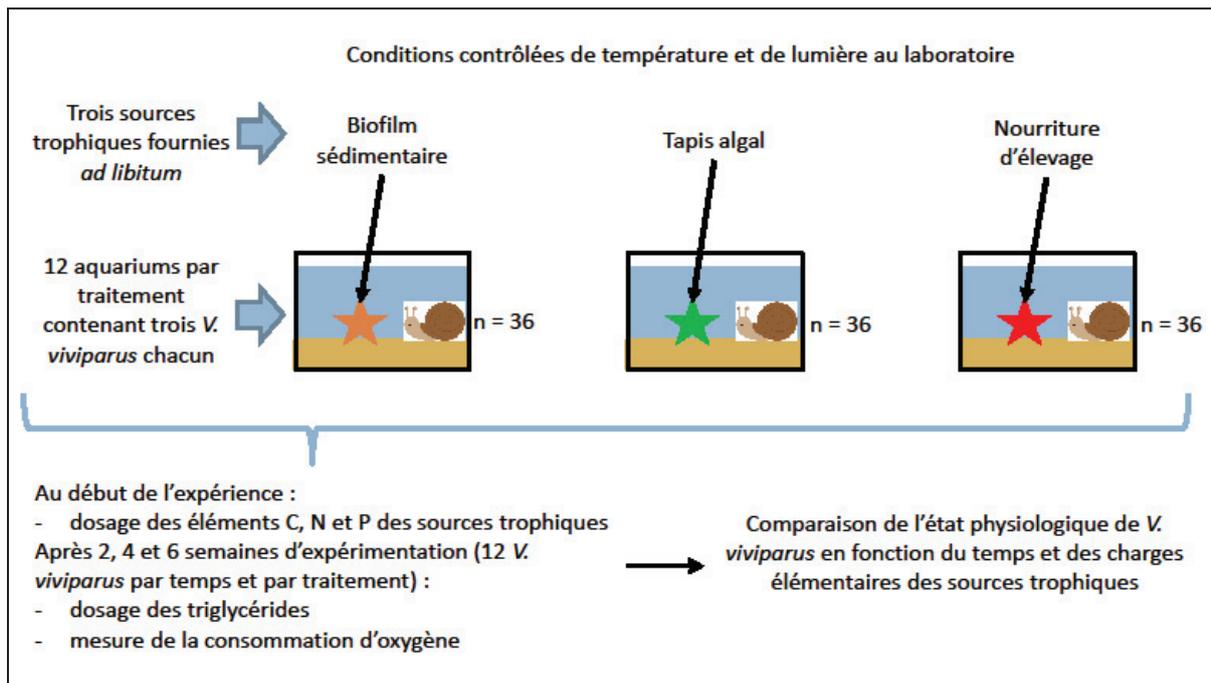
#### II.3.1 Volet 1

Le premier volet de ma thèse est centré autour de l'état physiologique du gastéropode *V. viviparus* en lien avec la dynamique temporelle des biofilms. Pour cela il a été nécessaire d'identifier tout d'abord (1) la stratégie trophique de *V. viviparus* et ensuite (2) de quantifier l'impact des caractéristiques des biofilms sur son état physiologique et sa survie. L'objectif final de ce premier volet de recherche est d'évaluer si ce gastéropode peut être utilisé comme solution écologique au décolmatage ou à la réduction de la biomasse algale en système infiltrant. Ce premier volet est constitué de deux expériences utilisant un couplage d'approches expérimentales de terrain et de laboratoire.

- Expérience 1 : Stratégie trophique de *V. viviparus* - Une approche expérimentale de laboratoire en microcosmes.

Cette expérimentation effectuée en microcosmes s'est déroulée au laboratoire dans des conditions contrôlées de lumière et de température. Elle consiste à identifier la stratégie trophique du gastéropode modèle en estimant son état physiologique (dosage des triglycérides et mesure de l'activité respiratoire) lorsque les individus sont nourrit avec différentes sources de nourriture. Trois lots d'organismes sont suivis toutes les 2 semaines pendant 6 semaines. Chaque lot a reçu une ressource trophique différente : (1) une matière organique d'origine phototrophe (algale), (2) une d'origine hétérotrophe (biofilm sédimentaire de sub-surface) et (3) une nourriture d'élevage très riche en nutriments (fig. II.5).

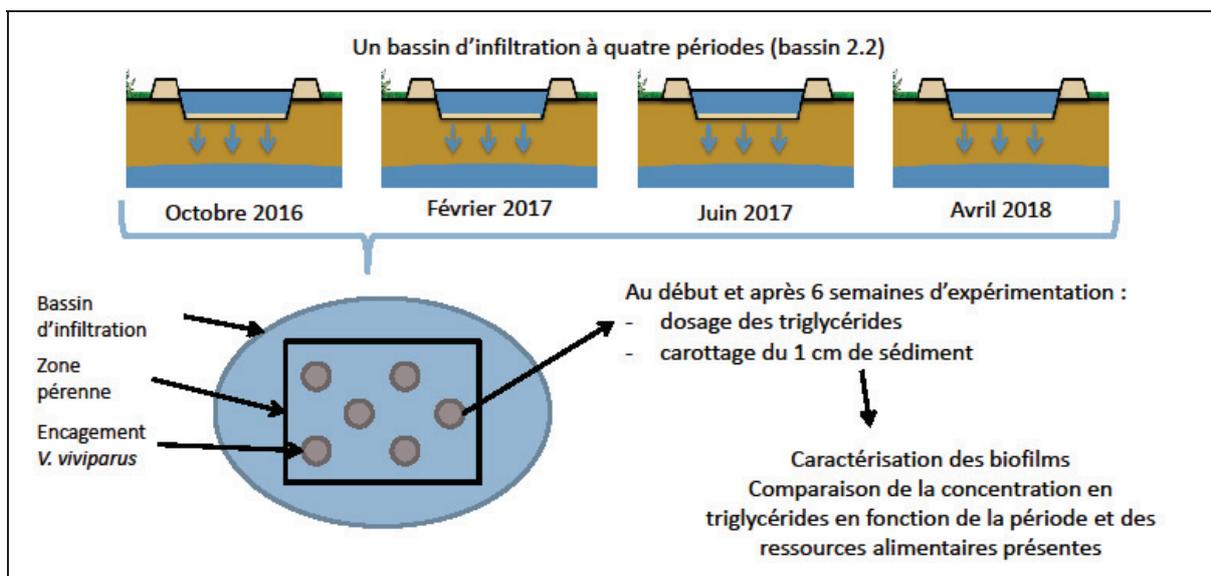
Ces sources trophiques « naturelles » ont été prélevées sur un bassin d'infiltration du champ captant. Toutes les sources sont caractérisées par leur composition élémentaire en carbone organique, en azote et en phosphore. L'oxygène dissous, la conductivité électrique, le pH et les nutriments sont également suivis hebdomadairement.



**Figure II.5 :** Schéma de la démarche expérimentale de la partie laboratoire du volet 1

- Expérience 2 : Effet du contexte sédimentaire sur l'état physiologique du *V. viviparus* – Une approche expérimentale *in situ*.

Les gastéropodes utilisés pour cette expérimentation sont les même que ceux issus de l'expérience 2 du volet 2. Ils sont récupérés à la fin des quatre périodes d'encagement pour estimation de l'état de leurs réserves énergétiques (i.e. dosage de la concentration en triglycérides). Les ressources nutritives présentes dans le bassin pendant la période d'encagement ont été évaluées via la mesure du carbone organique total (estimateur de la biomasse totale de biofilm dans le 1<sup>er</sup> cm) et de la concentration en chlorophylle-*a* (estimateur de la biomasse algale) (fig. II.6).



**Figure II.6** : Schéma de la démarche expérimentale de la partie terrain du volet 1

II.3.2 Volet 2

Le deuxième volet de cette thèse est centré autour de la dynamique des interactions biofilm/gastéropode et des conséquences de ces interactions sur les propriétés hydrauliques et écologiques de l'interface eau-sédiment. Ce volet est constitué de deux expériences d'encagement (ci-dessous notées expérience 3 et expérience 4) de gastéropodes in-situ, de manière à mieux cerner l'effet de la variabilité (1) spatiale et (2) temporelle des caractéristiques de cette interface sur l'efficacité de décolmatage des sédiments par le gastéropode.

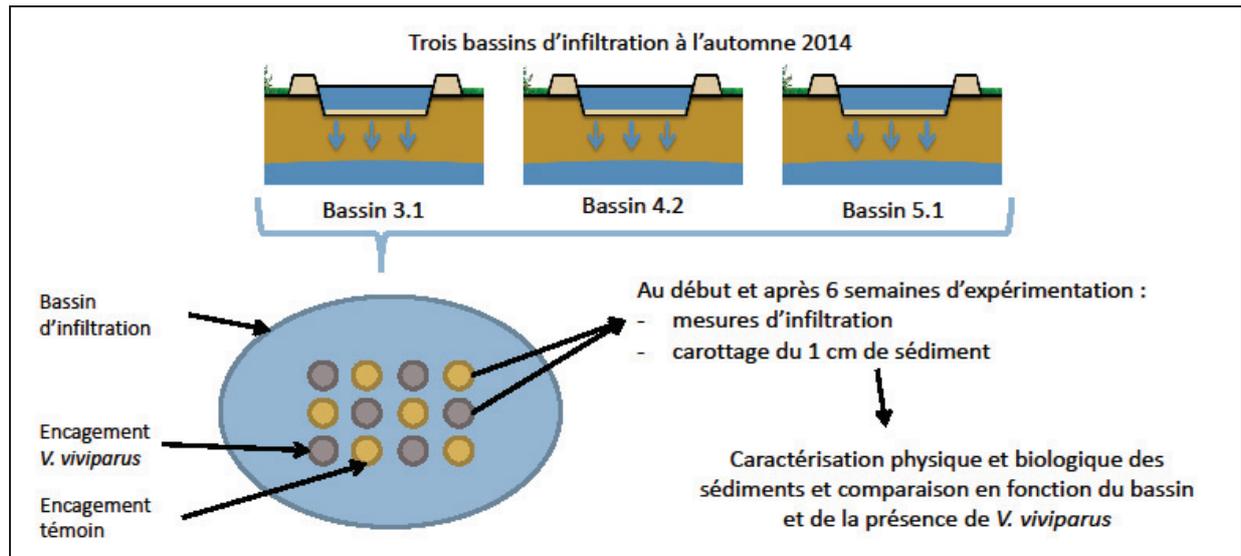
- Expérience 3 : Effet de la variabilité spatiale de l'interface

Cette expérience s'intéresse à la variabilité spatiale des caractéristiques de l'interface sur l'effet de *V. viviparus* (travail ayant mené à une publication dans *Ecological Engineering*, Estragnat et al., 2018). Cette étude s'est déroulée dans trois bassins (3.1, 4.2 et 5.1, fig. II.2) présentant des caractéristiques benthiques contrastées du point de vue de la distribution granulométrique, de la conductivité hydraulique, de la biomasse totale et de la biomasse algale. Cette expérimentation a pour but de vérifier ou réfuter les résultats prometteurs obtenus dans un bassin unique (Gette-Bouvarot et al., 2015) afin de s'assurer qu'ils sont généralisables à des contextes sédimentaires différents. Pour cela, les gastéropodes sont placés dans des cages *in situ* (fig. II.7) pendant 6 semaines. Ces cages sont des cylindres en acier inoxydable de 30 cm de diamètre permettant de mesurer des vitesses d'infiltration tout en évitant les effets de bord. Les cages sont enfoncées dans le sédiment et recouvertes d'un filet d'une maille de 0.5 cm pour éviter la fuite des organismes. Chacun des 3 bassins est équipé de 12 cages, 6 avec *V. viviparus* et 6 sans servant de témoin sans (fig. II.8).



**Figure II.7** : Photo d'une des cages utilisées sur le terrain pour quantifier l'effet des gastéropodes (visibles à l'intérieur sous le filet) sur le développement des biofilms (visible à la surface du sédiment)

Durant les 6 semaines d'expérimentation, les caractéristiques physico-chimiques de la colonne d'eau sont déterminées hebdomadairement pour un suivi de la température, de la conductivité électrique, de l'oxygène dissous, du pH et des nutriments. Le contexte sédimentaire des trois bassins est caractérisé au début et à la fin de l'expérimentation par la mesure de propriétés physiques et biologiques du 1<sup>er</sup> cm de sédiment. Les variables utilisées pour caractériser les propriétés physiques des sédiments sont la conductivité hydraulique et la proportion de particules fines, avant et après retrait de la matière organique. Quant aux propriétés biologiques des sédiments, elles sont caractérisées vis-à-vis de leur structure et de leurs fonctions : la biomasse totale (carbone organique total), la biomasse algale (concentration en chlorophylle-*a*) et l'abondance bactérienne informent sur la structure globale du sédiment. L'activité photosynthétique et l'activité estérase (hydrolyse de la FDA) renseignent sur les fonctions, notamment auto-épurations, du sédiment et du biofilm associé.

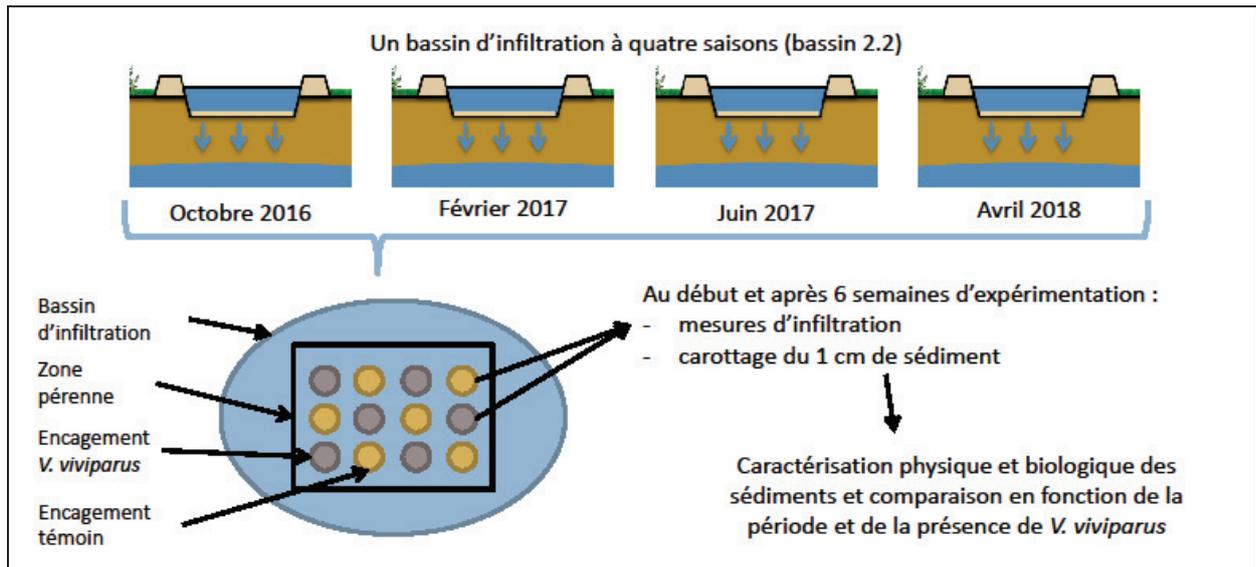


**Figure II.8 :** Schéma de la démarche expérimentale de l'expérience 3

- Expérience 4 : Effet de la variabilité temporelle de l'interface

La dernière expérience s'intéresse à la variabilité temporelle des caractéristiques de l'interface eau-sédiment sur l'effet de *V. viviparus* dans un bassin à quatre périodes de l'année. Comme pour l'expérience 1, l'objectif est de généraliser les résultats précédemment obtenus durant l'automne (Gette-Bouvarot et al., 2015 ; Estragnat et al., 2018) à d'autres périodes de l'année. Pour cela, les gastéropodes sont placés dans des cages *in situ* pendant 6 semaines à quatre saisons différentes. Ces encagements sont installés dans la zone pérenne en eau du bassin 2.2 (fig. II.3). A chaque période, 12 encagements, 6 avec *V. viviparus* et 6 témoins sans *V. viviparus* sont utilisés (fig. II.9).

Les conditions environnementales aux différentes périodes sont caractérisées par des mesures en continu et des mesures ponctuelles. La température et la hauteur d'eau sont mesurées toutes les 15 minutes à l'aide d'une sonde automatique. L'insolation et le rayonnement global sont fournis par Météo-France avec un pas de temps horaire. Des mesures physico-chimiques ponctuelles sont effectuées de manière hebdomadaire pour caractériser la colonne d'eau (nutriments, pH, conductivité et oxygène dissous). Le contexte sédimentaire à chaque saison est caractérisé en début et en fin d'expérimentation par les propriétés physiques et biologiques du 1<sup>er</sup> cm de sédiment. Les propriétés physiques sont la conductivité hydraulique, la proportion de particules fines avec et sans matière organique. Les propriétés biologiques des sédiments sont caractérisées par la biomasse totale (carbone organique total), la biomasse algale (concentration en chlorophylle-*a* de surface et dans le 1<sup>er</sup> cm de sédiment). Quant à l'activité photosynthétique et l'activité estérase (hydrolyse de la FDA), elles renseignent sur les fonctions et l'état physiologique du biofilm associé au sédiment.



**Figure II.9** : Schéma de la démarche expérimentale de l'expérience 4

## Partie III : Résultats

### III.1 Volet 1-Dynamique des interactions biofilm/brouteur : conséquences sur l'état physiologique du brouteur

Cette section présente les résultats des deux premières expériences dont le but était de répondre aux questions suivantes :

- L'organisme utilisé dans cette expérimentation va-t-il survivre sur une période suffisamment longue pour être réaliste (i.e. échelle annuelle) ?
- Conservera-t-il un état physiologique compatible avec son activité, y compris lors des périodes difficiles (i.e. manque de ressources trophiques et températures basses) ?

III.1.1 Sustainability of gastropod introduction for ecological engineering solution in infiltration basins: feeding strategy of *V. viviparus* (Article 1 soumis dans Hydrobiologia)

### **Authors**

Valerian Estragnat, Laurence Volatier, Jean-Bastien Gambonnet, Frédéric Hervant, Pierre Marmonier, Florian Mermillod-Blondin

### **Abstract**

The aim of this study was to test the sustainability of ecological engineering solutions based on the introduction of the gastropod *V. viviparus* in infiltration basins designed for groundwater recharge and clogged by benthic biofilms. This sustainability depends on the ability of gastropods to deal with variations in trophic resources throughout seasonal changes and so their feeding strategy. It is expected from literature that *V. viviparus* is a generalist species, well-adapted for ecological engineering approaches. With this objective, laboratory and field experiments were developed to measure the ability of gastropods to maintain energy body stores under several food sources and seasons, in relation with their physiological state. Our results showed that *V. viviparus* was not a strict generalist: it tended to be more efficient to constitute energy reserves when feeding on algae under laboratory conditions and its energy stores were positively correlated with primary productivity of the benthic biofilm in the field. Despite this higher efficiency of *V. viviparus* to produce energy reserves from algal resources, the survival and the levels of energy reserves measured on the field, even when trophic conditions were the harshest (low algal development), make this species a good candidate for ecological engineering approaches.

### **Key words**

Trophic strategy, ecological engineering, biofilm, physiological state, gastropod, algae

## 1. Introduction

Ecological engineering is a discipline aiming to use ecological theories to treat/ameliorate environmental issues. Ecological engineering approaches are often based on the introduction/manipulation of species diversity to modify environmental systems. For example, introduction of piscivorous species has been proposed to reduce eutrophication problems in lakes by trophic cascade effects (Carpenter et al., 1985). However, the maintenance of ecological engineering solutions on the long-term needs to evaluate the ability of introduced species to deal with environmental changes. Then, knowing the ecological strategies of introduced species is crucial to evaluate the sustainability of ecological engineering solutions.

The identification of feeding strategies is fundamental to the understanding of many ecological processes such as the flow of energy within food webs, the spatial distribution of species and the evolution of competitive interactions in communities (Bolnick et al., 2003; Holt, 2009; Poisot et al., 2011). Theory distinguishes generalist and specialist strategies, even though organisms employ a range of feeding strategies these two extremes (Devictor et al., 2010; Futuyma and Moreno, 1988; Levins, 1968). Species with generalist strategies have a higher ability to endure environmental changes than organisms with specialist strategies (Clavel et al., 2011). For example, Devictor et al. (2008) showed that landscape disturbance would lead to a dominance of generalist individuals in bird populations.

Recently, we measured a positive influence of freshwater gastropod introduction to limit excessive development of benthic biofilm and its impact on the hydraulic performance of infiltration basins designed for groundwater recharge (Estragnat et al., 2018; Gette-Bouvarot et al., 2015). Experimentations were performed on biofilms developed under various environmental conditions (hydrological regime, nutrients fluxes, light availability) resulting in the formation of biofilms exhibiting contrasted structural and functional characteristics. However, all these experimentations were conducted during autumn season when chlorophyll-*a* concentrations are the highest (more than 10 µg of chlorophyll-*a* per g of dry sediment in Gette-Bouvarot et al. 2015).

With seasonal changes and their effects on biofilm abundance, composition, primary production and metabolic balance (heterotrophs/phototrophs), the long-term sustainability of the introduction of the gastropod *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758) needs to consider the feeding strategy of this organism under contrasting food sources availability. Recent findings demonstrated that *V. viviparus* was efficient to reduce clogging in infiltration basins characterized by variable quantities of food sources (bacterial-algal mat occurring on surface sediment, sedimentary biofilm and organic matter from surrounding vegetation) and suggested a low influence of food sources availability on gastropod feeding behaviour (Estragnat et al. 2018). This supposition was consistent with the study of Jakubik (2009) which reported that the mass and composition of foods ingested by *V. viviparus* mainly depended on the availability and abundance of food sources in the environment. This study, performed in lotic and lentic freshwater environments between 1995 and 2006, also indicated that *V. viviparus* could significantly feed on low-energetic food sources such as

detritus. Indeed, detritus could represent 70 to 90% of the food mass ingested by the gastropod whatever the season or the habitat (river, reservoir, lake). All these informations suggest that *V. viviparus* has a generalist feeding behaviour favouring the development of this species in contrasted trophic environments and thus making *V. viviparus* a good candidate for ecological engineering approaches. However, this hypothesis has to be tested by evaluating the ability of *V. viviparus* to maintain its physiological state under different food sources. Among the parameters that can be measured to assess physiological state, the reserve in triglycerides of an organism can be considered as a good proxy, because its consist in the major form of energy storage in gastropods (Gust et al. 2011) and free lipids (mainly triglycerides) have been shown to be correlated with the growth rate of aquatic snails (Hill et al. 1992).

To test the hypothesis that *V. viviparus* is a generalist species, we used a combination of laboratory and *in situ* experiments. First, laboratory microcosms were used to quantify to what extent different food sources affect reserve in triglycerides of gastropods. To this end, gastropods were fed *ad libitum* on three food sources: two sources found in natural environments (algal mat and sedimentary biofilm) and one control food used for gastropod breeding (Tetramin® goldfish flakes). We also measured the oxygen consumption rate to determine whether gastropod metabolism has been impacted by food source. Then, we used *in situ* enclosures within infiltration basin to track seasonal changes in triglyceride reserve of gastropods depending on various quality and quantity of available food resource. Under the hypothesis that *V. viviparus* is a generalist species, gastropods would have the same triglyceride concentrations whatever the season, *i.e.* the proportion of heterotrophic (sedimentary biofilm) and phototrophic (algal mat) benthic food sources.

## **2. Materials and Methods**

### **2.1 Study site**

The experiment was set up in the pumping well field of “Crépieux-Charmy” which provides drinking water for the metropolitan area of Lyon. Infiltration basins have been excavated to recharge the aquifer with surface water from the “Vieux Rhône” channel of the Rhône River. The field experiment was performed in a basin, in which the water column was maintained independently of the usual site management, during the entire course of the experiment. Sedimentary biofilm and algal mat used in laboratory experiment were also collected from this basin.

### **2.2 Model species**

The studied species was *V. viviparus*, a prosobranch gastropod. Literature shows that *V. viviparus* are filter-feeders in phytoplankton-rich environments but they clearly switch to grazing behavior in environments characterized by low phytoplankton concentrations (Cook, 1949 ; Höckelmann and Pusch, 2000) as observed in our study site. Indeed, the chlorophyll-*a* concentrations in the water column of the studied basin never exceeded 7 µg.L<sup>-1</sup> whatever the season in 2016, 2017 and 2018 (data from Eau du Grand Lyon). Specimens were

collected in a cut off channel of the Rhône River. Before laboratory and field experiments, gastropods were kept during six months in 20 litre glass aquariums (15 specimens per aquarium) under controlled laboratory conditions following the studies of Cook (1949) and Tsvetkov et al. (2003): water temperature (18°C), lightening condition (12:12 h light:dark regime), aerated water (ambient air bubbling) and regular water replacement (50% of the volume once a week). Animals were fed each week with Tetramin® goldfish flakes. These laboratory conditions were favourable as the survival of *V. viviparus* was more than 99 % after 3 months of acclimation. The gastropods used in this experimentation were mature and had total shell height comprised between 20 and 30 mm. We used a sex ratio of 2 males for 1 female in the experiments to fit with the sex ratio observed during animal collection. Although triglyceride concentrations often varied between males and females in aquatic invertebrate species, preliminary experiments showed that no difference in triglyceride concentrations was observed between males and females of *V. viviparus* (Online Resource 1).

## **2.3 Laboratory experiment**

### **2.3.1 Experimental design**

The laboratory experiment was conducted in 36 glass aquariums (21 cm in length x 10 cm in depth x 20 cm in height). The experiment lasted six weeks under the same laboratory conditions than those used for animal maintenance before the experiments (see paragraph 2.2). We selected an experimental duration of 6 weeks to fit with the feeding experiments performed by Hill et al. (1992) on aquatic snails. The aquariums were filled with tap water previously dechlorinated by air bubbling during two days. One centimetre of sand collected from the Rhône River having a grain size distribution comparable to those of sand in the field (Gette-Bouvarot et al., 2014) and presenting low organic matter concentrations (Table 1) was placed in the bottom of each aquarium. Three gastropods previously maintained in dechlorinated water to clean their gut content were introduced in each aquarium. Then, a density of 142 individuals.m<sup>-2</sup> was tested to be in the range of *V. viviparus* densities observed in the field (Jakubik, 2012).

Three food treatments were applied and randomly distributed among the aquariums (12 replicated aquariums per food treatment):

- (i) Breeding food: Tetramin® goldfish flakes (the positive control)
- (ii) Algal mat (predominantly phototrophic) collected within the studied basin by scraping the upper 5 mm layer of illuminated sediments
- (iii) Sedimentary biofilm (predominantly heterotrophic) collected in the studied basin by sampling a 5 mm layer of non-illuminated sediments (1 cm above the surface)

Natural food sources (algal mat and sedimentary biofilm) were freshly collected in the field at the start of the experiment and introduced in aquariums to cover the bottom sand layer. Additional samples of food sources were stored at 4°C to constitute a fresh stock for food replacement during the experiment. Food was added (flakes) or replaced (algal mat and

sedimentary biofilms) *ad libitum* once a week (i.e., we observed that animals never consumed the totality of each food source during a week).

These different foods were characterized by their elemental composition in C, N and P (Table 1). Total organic carbon (TOC) and total nitrogen were measured with an elemental analyzer (FlashEA, Thermo Electron Corporation). Total phosphorus concentrations of foods were determined following the method of Murphy and Riley (1958). We measured the following decreasing gradient of nitrogen, organic carbon and phosphorus contents among the 3 food sources: breeding food > algal mat > sedimentary biofilm (Table 1). It is worth noting that the sand at the bottom of the aquariums was very poor in these elements (more than 15 fold lower in N, organic C and P than sedimentary biofilm) and cannot be considered as a valuable food source for gastropods.

Controls of physical and chemical conditions were performed in each aquarium every week. Temperature, pH, dissolved oxygen and electric conductivity were measured with a HQ40 multiparametric probe (HACH) and nutrient concentrations (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) with a sequential analyser (SmartChem 200, AMS Alliance, Frépillon, France) using colorimetric methods (Grasshoff et al., 1983). Comparable physical and chemical conditions were measured in the aquariums during the course of the experiment with mean values of 18.6 ± 0.1 °C, 8.4 ± 0.1, 9.4 ± 0.1 mg.L<sup>-1</sup>, 340 ± 20 µS.cm<sup>-1</sup>, 0.14 ± 0.08 mg.L<sup>-1</sup>, 2.67 ± 0.70 mg.L<sup>-1</sup>, 0.11 ± 0.07 mg.L<sup>-1</sup> and 0.06 ± 0.03 mg.L<sup>-1</sup> (mean ± standard deviation) for temperature, pH, dissolved oxygen, electric conductivity, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, respectively.

**Table 1 :** Elemental composition (total nitrogen, total organic carbon and total phosphorus contents) of the three food sources and the sand used in the aquariums (mean ± standard deviation)

	%N	% organic C	%P
Breeding food	6.5 ± 0.1	45.1 ± 0.85	0.74 ± 0.03
Algal mat	1.5 ± 0.15	19.1 ± 0.19	0.3 ± 0.05
Sedimentary biofilm	0.25 ± 0.025	2.13 ± 0.24	0.037 ± 0.005
Sand	0.013 ± 0.005	0.036 ± 0.004	0.0003 ± 0.000015

### 2.3.2 Sampling

For each measured variable (triglyceride concentrations and oxygen consumption rates) and time of experiment (start, 2, 4 and 6 weeks), twelve individuals were used. Gastropods were analysed individually to obtain 12 replicates per date and treatment for each variable. Then, a total of 120 individuals were used for the laboratory experiment.

### 2.3.3 Measurements performed on *V. viviparus*

For oxygen consumption rates, the shells of the snails were gently cleaned before the measurements to remove biofilm development, to ensure that an overshoot in oxygen uptake due to biofilm metabolism did not affect the results. Then, each individual was placed in 250 mL watertight container filled with aerated dechlorinated water (about 9 mg.L<sup>-1</sup> of dissolved oxygen) for 4 hours under dark conditions. Dissolved oxygen measurements were made with an inoLab Oxi 7310 (WTW, Xylem Analytics) at the start and the end of the incubation to determine the consumption of oxygen during the 4 hours. Oxygen consumption was expressed as consumption of dissolved oxygen per hour and per gram of dried mass.

Before triglyceride measurements, each individual was placed in a beaker filled with dechlorinated tap water to empty its digestive tract. Then, animals were frozen, lyophilised and homogenized with a ball mill. Triglycerides were extracted from 30 mg of homogenized tissues (from the whole organism) according to the methods of Barclay *et al.* (1983) and Elendt (1989), and then evaluated using specific test-combinations (Boehringer–Mannheim) (triglyceride levels were measured by determining glycerol released from triglycerides hydrolysis). All assays were performed in a recording spectrophotometer (Beckman DU-6) at 25°C. Enzymes, coenzymes and substrates used for enzymatic essays were purchased from Boehringer (Mannheim, Germany) and Sigma Co. (St Louis, USA). Triglyceride concentrations were expressed as mg of glycerol per g of dried mass.

## **2.4 Field experiment**

### **2.4.1 Experimental design and sampling**

Experimentations were performed at different periods to test the trophic response of gastropods to contrasted biofilm characteristics at the water-sediment interface. The experiment consisted of four periods of 6 weeks in October 2016, February 2017, June 2017 and April 2018. Two periods were characterized by elevated photoperiods and global hourly radiations which were favourable to the development of phototrophic organisms (June 2017 and April 2018), compared to the other periods (October 2016 and February 2017). Physical and chemical variables were measured to characterize each period. The photoperiod and the global hourly radiation have been obtained from Météo-France. Temperature and the water level were measured every 15 minutes with a water level logger Diver (Schlumberger Water Sciences, The Netherlands). Nutrient concentrations were weekly measured and obtained from filtered water (0.7 µm) conserved at 4°C before analysis within 24 h with sequential analyser (SmartChem 200, AMS Alliance, Frépillon, France) using colorimetric methods (Grasshoff *et al.*, 1983). Conductivity, dissolved oxygen and pH were also weekly measured with a Ponsel Odeon data logger and the associated probes (Aqualabo Contrôle, France).

Photoperiods were 10.6, 11.4, 15.8, and 14.4h for October 2016, February 2017, June 2017 and April 2018, respectively. Global hourly radiations were 33.0, 46.9, 96.0, and 77.5 joules.cm<sup>-2</sup> for October 2016, February 2017, June 2017 and April 2018, respectively. Temperatures were 16, 11, 20, and 16°C for October 2016, February 2017, June 2017 and April 2018, respectively. The mean water levels varied among the periods between 90 and

120 cm. Respectively, nutrient concentrations were inferior to  $1.1 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $24.9 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$  and  $13.5 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$  for N-NO<sub>x</sub>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>. pH, electric conductivity and dissolved oxygen ranged between 7.3 and 8.4, 298.7 and 351.7  $\mu\text{S.cm}^{-1}$ , and 8.2 and 12.7  $\text{mg.L}^{-1}$ , respectively. For each period, six *in situ* enclosures with 5 *V. viviparus* were used in the infiltration basin. Ten individuals were used to assess the triglyceride concentrations at the beginning of each period. A total of 160 individuals were used for the field experiment. A density of 71 individuals.m<sup>-2</sup> was introduced per enclosure to mimic natural densities observed in freshwater habitats. Measurements were performed at the start and at the end (6 weeks) of the experiment to determine biological structural characteristics (algal biomass and total organic carbon) and functional characteristics (net photosynthetic activity, respiration) of the sedimentary interface for each enclosure. The top layer (0–1 cm) of sediments was randomly sampled in each enclosure at the start of the experiment and after 6 weeks of experimentation by coring using cut syringes (internal diameter = 15 mm for structural characteristics and internal diameter = 20 mm for functional characteristics). Fifteen samples were collected, mixed and homogenized per enclosure to obtain representative one sediment sample for each enclosure and date (start and 6 weeks), for the structural characteristics of the sedimentary interface. In addition, two intact cores were collected for the functional characteristics of the sedimentary interface. Sampling was conducted with sufficient water level in the basin, to prevent any drying and disturbance of sediment and biofilm. All samples were then stored in a cool box during transport to the laboratory within 4 h.

#### 2.4.2 Biological characteristics

The phototrophic biomass of the sediment biofilm was assessed by measuring chlorophyll-*a* content on frozen sediment by spectrophotometry using the SCOR-UNESCO method (UNESCO, 1966). The phototrophic biomasses were expressed as  $\mu\text{g}$  of chlorophyll-*a* per gram of dried sediment.

Total organic carbon (TOC) was measured on lyophilised sediment as an estimator of the sedimentary biofilm biomass. According to Mermillod-Blondin et al. (2015), TOC was determined by high-temperature combustion of *in situ* pre-acidified dry samples (60°C, 48h) and subsequent measurement of CO<sub>2</sub> by thermal conductometry using an elemental analyser (FlashEA, Thermo Electron Corporation). The TOC was expressed as the percentage of organic carbon in each sample.

The Benthic Trophic State Index (BTSI) was assessed using comparison between net photosynthetic activity (NPA) and respiration (RES). This index is a metabolism-based trophic index for comparing the ecological values of shallow-water sediment habitats (Rizzo et al., 1996) and is divided in four classes: 0 = totally heterotrophic ( $\text{NPA} \leq \text{RES}$ ), 1 = net heterotrophic ( $\text{RES} < \text{NPA} \leq 0$ ), 2 = net phototrophic ( $0 < \text{NPA} \leq |\text{RES}|$ ) and 3 = highly autotrophic ( $|\text{RES}| < \text{NPA}$ ). The net photosynthesis rates were obtained by measuring the oxygen production on fresh sediment under illumination (irradiance of  $150 \text{ }\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) and the respiration was obtained by measuring the oxygen uptake in the dark. For each sample,

oxygen production and uptake were obtained at 15°C using 150 mL airtight glass bottle filled with filtrated water (0.22µm) from the infiltration basin. Oxygen production and uptake were measured with an inoLab Oxi 7310 (WTW, Xylem Analytics) at the start and the end of the incubation. Oxygen production and uptake were expressed as consumption of dissolved oxygen per hour and per gram of dried organic matter.

#### **2.4.3 Triglyceride analyses performed on gastropods**

Triglyceride concentrations were measured at the start and the end of the experiment according to the method presented for the laboratory experiment (see section 2.3.4). At the start of the experiment, triglyceride concentrations of gastropods previously maintained in laboratory were  $0.0038 \pm 0.0016$  (mean  $\pm$  standard deviation) mg of glycerol per mg of dried mass.

### **2.5 Statistical analyses**

For the laboratory experiment, the influence of the food treatment on triglyceride concentrations and oxygen consumption were assessed using two-way analyses of variance (ANOVA II), with treatment (food source) and time as fixed factors. Pearson's correlation tests were performed between the triglyceride concentrations at the end of the experiment and the three food elements that were measured (total organic carbon, total nitrogen and phosphorus).

For the field experiment, the influence of the period on triglyceride concentrations, TOC, chlorophyll-*a* concentrations and the BTSI were assessed using one-way analyses of variance (ANOVA I), with period as fixed factor. To evaluate the link between food sources and triglyceride concentration in gastropods, Pearson's correlation tests were performed between triglyceride concentrations measured at the end of the experiment and the four proxy of food source availability (TOC concentrations, chlorophyll-*a* concentrations and the BTSI).

For all variables, the normality and the homoscedasticity of the residues were tested using the Shapiro-Wilk's test and the Levene's test, respectively. All statistical analyses were performed using R software (R Development Core Team, 2008). Significance for statistical tests was accepted for a first species risk set at  $\alpha < 0.05$  considering a bilateral risk.

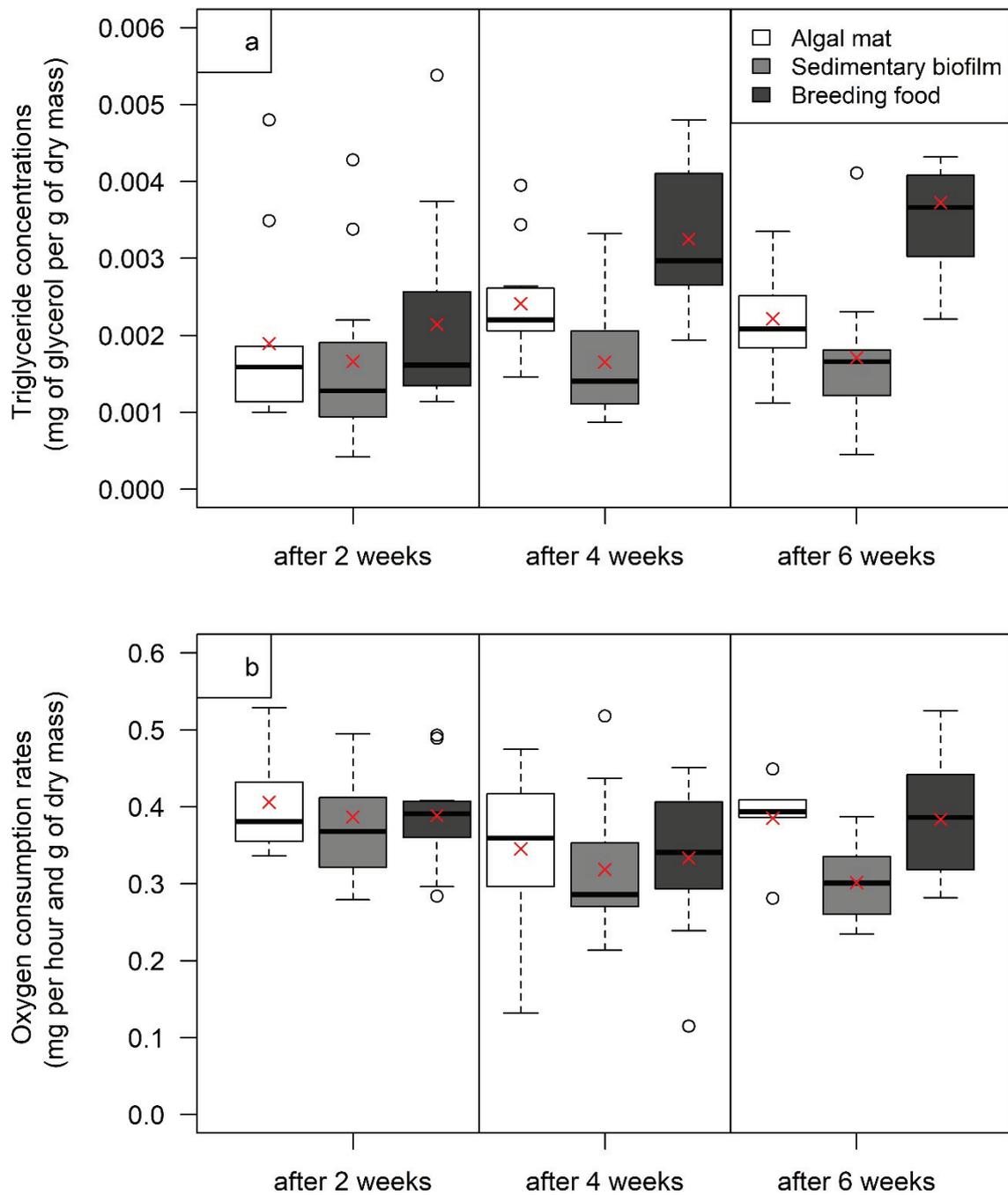
## **3. Results**

### **3.1 Laboratory experiment**

At the start of the experiment the triglyceride concentration of gastropods was  $0.0027 \pm 0.0010$  (mean  $\pm$  standard deviation) mg of glycerol per g of dry mass. Triglyceride concentrations increased from week 2 to week 6 in all food treatments (Figure 1.A, ANOVA II, "time" effect,  $F_{2,99} = 4.57$ ,  $p = 0.013$ ). A significant difference in triglyceride concentrations was measured among food treatments (ANOVA II, "treatment" effect,  $F_{2,99} = 17.98$ ,  $p < 0.0001$ ): triglyceride concentrations in gastropods were the highest with the breeding food and the lowest with sedimentary biofilm. Gastropods fed with algal mat gave intermediate

values that were not significantly higher than those from sedimentary biofilm, but significantly lower than those from breeding food, on weeks 4 and 6. No significant interaction between “time” and “treatment” effects on triglyceride concentrations was measured (ANOVA II, “treatment\*time” effect,  $F_{4,99} = 2.28$ ,  $p = 0.065$ ).

At the start of the experiment, the oxygen consumption rate of gastropods was  $0.35 \pm 0.09$  (mean  $\pm$  standard deviation) mg of dissolved oxygen per hour and per gram of dry mass. Oxygen consumption rates significantly decreased from week 2 to week 6 (ANOVA II, “time” effect,  $F_{2,86} = 5.01$ ,  $p = 0.009$ ) but this decrease seemed more pronounced in the treatment with sedimentary biofilm than in other treatments (Figure 1.B). Despite no statistically significant differences among food treatments (ANOVA II, “treatment” effect,  $F_{2,86} = 2.23$ ,  $p = 0.11$ ), the oxygen consumption rates of gastropods fed on sedimentary biofilm tended to be lower than those measured in the two other treatments after 6 weeks of experiment (Figure 1.B). No significant interaction between “time” and “treatment” effects on oxygen consumption rates was measured (ANOVA II, “treatment\*time” effect,  $F_{4,86} = 0.86$ ,  $p = 0.49$ ). The link between energy reserves of gastropods and the elemental compositions of food sources was clearly shown by the positive correlations obtained between triglyceride concentrations in gastropods measured after 6 weeks of experimentation and the concentrations of TOC (Pearson’s correlation,  $R = 0.69$ ,  $t = 5.61$ ,  $df = 34$ ,  $p < 0.0001$ ), total nitrogen (Pearson’s correlation,  $R = 0.70$ ,  $t = 5.73$ ,  $df = 34$ ,  $p < 0.0001$ ) and total phosphorus (Pearson’s correlation,  $R = 0.70$ ,  $t = 5.65$ ,  $df = 34$ ,  $p < 0.0001$ ) in food sources.

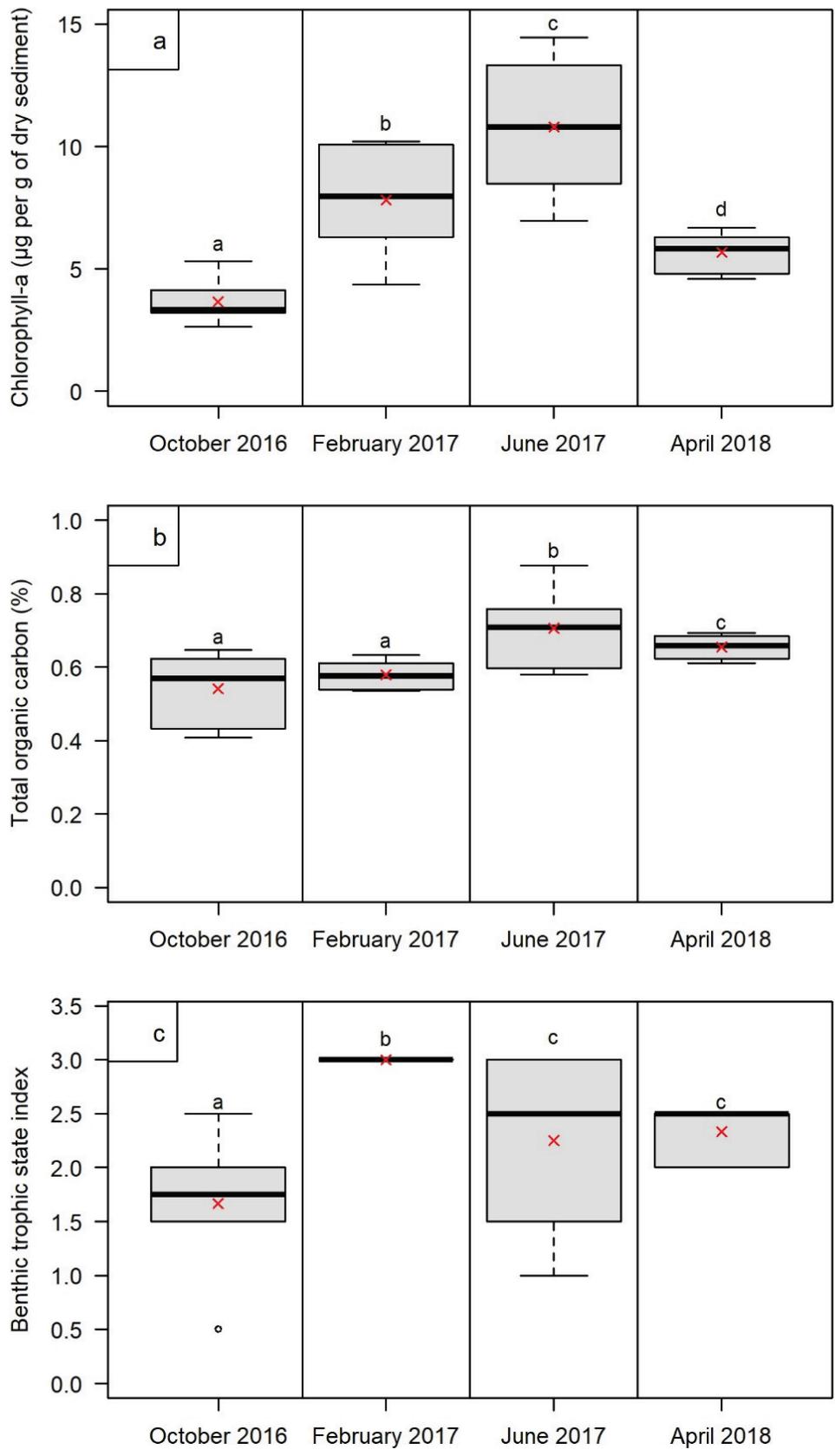


**Figure 1:** Box-plots of the triglyceride concentrations in gastropods (a) and the oxygen consumption rates of gastropods (b) depending on food sources and time. Red crosses represent the means

### 3.2 Field experiment

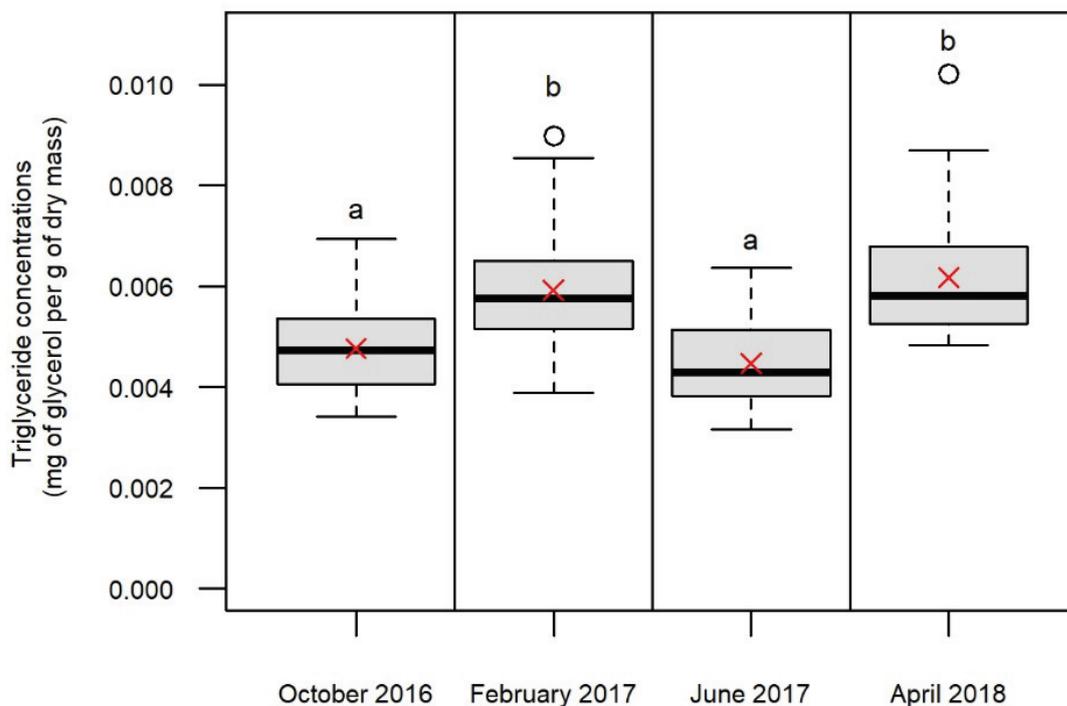
Chlorophyll-*a* and TOC concentrations of the sedimentary interface were significantly different among periods (Figure 2.A&B ANOVA I, “period” effect,  $F_{3,116} = 82.85$  for the chlorophyll-*a* concentration and  $F_{3,116} = 30.10$  for TOC concentration,  $p < 0.0001$  for the two variables) with highest values measured in June 2017, which was the most favourable period for the development of phototrophic organisms.

The BTSI values were comprised between 2 and 3 (i.e. net phototrophic to highly phototrophic states) for all seasons at the exception of October 2016 during which BTSI values were lower (between 1 and 2) indicating variations between net heterotrophic to net phototrophic states (Figure 2.C ANOVA I, “period” effect,  $F_{3,116} = 34.33$ ,  $p < 0.0001$ ).



**Figure 2:** Box-plots of chlorophyll-a concentrations (a), TOC (b) and BTISI (c) for each period. Red crosses represent the mean. Different letters represent significant differences among periods obtained with post hoc Tuckey’s HSD tests

Significant differences were observed among the periods for triglyceride concentrations in gastropods (Figure 3, ANOVA I, “period” effect,  $F_{3,116} = 17.83$ ,  $p < 0.0001$ ). Surprisingly, triglyceride concentrations were the lowest in October 2016 and June 2017, which were the most contrasted periods for chlorophyll-*a* concentrations at the sedimentary interface (Figure 2.A). Indeed, no positive correlation was observed between triglyceride concentrations in gastropods after 6 weeks of experimentation and chlorophyll-*a* concentrations at the interface (Pearson’s correlation,  $R = -0.2$ ,  $t = -2.22$ ,  $df = 118$ ,  $p = 0.03$ ). We also did not detect a positive correlation between triglycerides concentrations in gastropods after 6 weeks of experimentation and TOC concentrations at the interface (Pearson’s correlation,  $R = -0.11$ ,  $t = -1.19$ ,  $df = 118$ ,  $p > 0.05$ ). In contrast, the metabolic-based trophic status (BTSI) was positively correlated to triglyceride concentrations in gastropods after 6 weeks of experimentation (Pearson’s correlation,  $R = 0.33$ ,  $t = 3.87$ ,  $df = 118$ ,  $p < 0.001$ ), suggesting a positive influence of the phototrophic primary production on the ability of gastropods to constitute energy reserves. From the comparison between field and laboratory experiments, it is also worth noting that triglyceride concentrations measured on gastropods enclosed in the field were around 2-fold higher than concentrations measured for gastropods feeding on algal mat and sedimentary biofilm in the laboratory experiment (see Figure 1.A).



**Figure 3:** Box-plots of triglyceride concentrations in gastropods at the end of the field experiment (after 6 weeks of experimentation) for each period. Red crosses represent means. Different letters represent significant differences among periods, obtained with post hoc Tuckey’s HSD tests

#### 4. Discussion

Our results provided evidences that *V. viviparus* could not be considered as a strict generalist in our experiments. Indeed, *V. viviparus* tended to be more efficient to constitute energy reserves on algal mat than on sedimentary biofilm in laboratory. In parallel, oxygen consumption rates of gastropods tended to be lower after feeding on sedimentary biofilms than on algal mats, indicating an effect of food type on the metabolism of *V. viviparus*. These results suggest a lower food consumption rate for *V. viviparus* feeding on sedimentary biofilm than on algal mat. Moreover, the fact that triglyceride concentrations in gastropods measured in the field were positively correlated with BTSI suggested a positive influence of phototrophic primary production on the constitution of energy reserves in *V. viviparus*. Thus, both laboratory and field experiments showed that phototrophic food sources (algal mat), and most particularly active algal mat, were energetically more favourable for gastropods than heterotrophic food sources (sedimentary biofilm).

The laboratory experiment specifically highlighted that the efficiency of gastropods to constitute energy stores among food sources was positively correlated to food nutrient (C, N, P) concentrations. This relationship was most likely due to the equilibrium between the nutrient supplied by the food sources and the energy demand needed to acquire these nutrients: gastropods feeding on sedimentary biofilm had to ingest more food (in terms of mass) to acquire the same amount of nutrients compared to those feeding on algal mat. Previous studies reported an increase in the rate of food ingestion by aquatic grazers as a behavioral response to acquire energy from low-nutrient food sources (Fink and Von Elert, 2006; Flores et al., 2014). For example, Calow (1975) reported an inverse relationship between the ingestion rate of freshwater benthic organisms and food quality: animals compensated for less nutritive food by increasing their feeding rates. Cruz-Rivera and Hay (2001) also observed that the marine amphipod *Ampithoe longimana* increased its food consumption as the total organic matter content in algae declined. However, in the present laboratory experiment, the decrease in oxygen consumption measured on *V. viviparus* fed with sedimentary biofilms more likely suggests a physiological response rather than a behavioral feeding response of gastropods to a low-nutritive food source. More precisely, gastropods tended to reduce their metabolic rates (i.e. to enter in a prolonged state of torpor) rather than increase their food acquisition to maintain their energy budget. The present study is the first to report this metabolic response of *V. viviparus* to low-nutrient food sources, although such response has already been reported for other aquatic invertebrates such as gammarids which can adjust their respiration rates to food quality (Graça et al. 1993). Moreover, our interpretation is consistent with the laboratory observations of Cook (1949) who reported that *V. viviparus* can be inactive and partially buried within sediments during several days.

Field measurements showed that the triglyceride concentrations of gastropods were positively correlated with BTSI whereas it was not the case with chlorophyll-*a* concentrations. This result indicates that the photosynthetic activity of the algal biofilm (associated with BTSI) had more impact on the production of energy reserves in gastropods

than the algal biomass of the biofilm. This interpretation is consistent with the fact that the photosynthetic activity of the biofilm positively influences the production of extracellular polymeric substances (EPS) which can be high nutritional compounds for invertebrates (e.g., Decho, 1990; Decho and Moriarty, 1990). Indeed, photosynthetic activities and algal growth have been particularly related to the secretion of EPS (Staats et al., 2000; Barranguet et al., 2005). In active biofilms, microbial cells secrete EPS which mainly consists of carbohydrates and proteins (Stewart et al., 2013, Costa et al. 2018). For example, Fang et al. (2014) measured a total content in EPS close to 13 mg/g of dried weight containing 67% of carbohydrates and 25% of protein (w:w) in a lake phototrophic biofilm. Depending on environmental conditions (light, nutrient concentrations), Bellinger et al. (2010) also reported that carbohydrate concentrations in EPS varied between 20 and 60% (w:w) in phototrophic biofilms from freshwater wetlands. Therefore, under the varying environmental conditions observed in our field study, BTSI was likely associated with the production of EPS which contributed to the nutritional quality of biofilms for algal grazers. As a consequence, we measured a positive correlation between the energy reserves of *V. viviparus* and the BTSI index.

The comparison of triglyceride concentrations in gastropods between field and laboratory experiments showed that stores in animals collected in the field were comparable to those measured in animal feeding on breeding food in the laboratory. In comparison, gastropods feeding on algal mat and sedimentary biofilm during the laboratory experiment exhibited 2-fold lower triglyceride concentrations. We suggest that these differences in gastropod triglyceride concentrations between laboratory (for algal mat and sedimentary biofilm) and field experiments were due to the possibility for animals to mix trophic resources in the field. *V. viviparus* is known to “bulldoze” the sediment surface by their crawling and feeding activities (Estragnat et al., 2018), disturbing the vertical organisation of phototrophic and heterotrophic sediment layers (Cook, 1949). Therefore, the non-selective ingestion of sediment by gastropods was associated with the ingestion of a mixture of algae, heterotrophic bacteria, fungi and detritus (Jakubik et al., 2014). As shown by Groendahl & Fink (2016) in *Limnea stagnalis*, this mixing diet could have been crucial for *V. viviparus* to achieve a more balanced diet by acquiring all essential microelements (fatty acids or vitamins) they needed for growth. Then, simplified food sources (algal mat or sedimentary biofilm) supplied to gastropods in the laboratory might have limited the acquisition of resources by *V. viviparus*, and therefore the ability to synthesize energy stores such as triglycerides. Such conclusion was consistent with the observations of Jakubik (2009) indicating that *V. viviparus* feed on varying food sources depending on their availability in the environment.

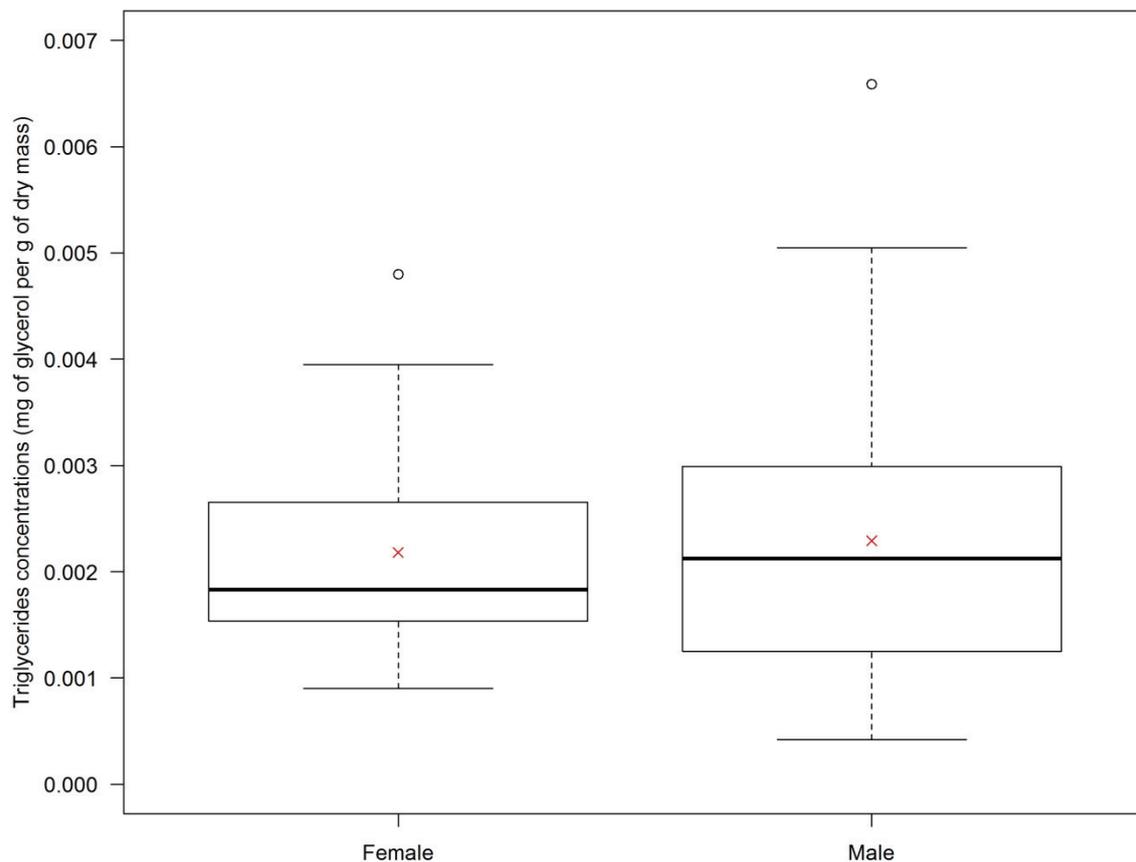
Although our results highlighted that *V. viviparus* was not a strict generalist in the laboratory, the potential use of multiple food sources and their availabilities during the year in the field allowed *V. viviparus* to maintain triglyceride reserves that were comparable to those obtained in the laboratory with breeding food (positive control). Indeed, the comparison of food sources among periods in the field showed that all foods were quite

available in infiltration basin with chlorophyll-*a* concentrations always higher than 4 µg per g of dry sediment and TOC concentrations varying between 0.5 and 0.7%. In these conditions, *V. viviparus* was able to survive and constitute energy reserves throughout the year, even when the trophic conditions were expected to be the harshest (i.e. low algal levels). In conclusion, the introduction of *V. viviparus* appears as sustainable ecological engineering solution to maintain hydraulic performance of infiltration basins.

### Acknowledgements

We express our gratitude to Pauline Barbe and Mélissa Tenaille for their help during the collection of organisms and the experimentation, and to Laurent Simon and Félix Vallier who were involved in chemical analyses. Our thanks also go to Météo-France and Eau du Grand Lyon for the data they provided. This research was done on the Research Platform of Crépieux-Charmy (Plateforme de Recherche de Crépieux-Charmy) and received financial and technical support from the Lyon Metropole and Veolia Water (Eau du Grand Lyon).

### Supplementary material



**Online Resource 1:** Box-plots of the triglyceride concentrations in gastropods depending on the sex (n=107). Red crosses represent the means. No significant differences were observed (t-test, “sex” effect,  $t = -0.51$ ,  $p\text{-value} = 0.61$ )

### III.2 Volet 2-Dynamique des interactions biofilm/brouteur : conséquences sur les propriétés hydrauliques et écologiques de l'interface eau/sédiment

Cette section présente les résultats des expériences 3 et 4 dont le but était de répondre aux questions suivantes :

- Quel est l'impact de la variabilité spatio-temporelle de l'environnement sur les actions de l'organisme introduit à l'interface eau/sédiment ?

Cette question sera abordée selon deux modalités complémentaires :

- Quel est l'impact de la variabilité spatiale sur les actions de l'organisme à une période propice au développement du biofilm ? (sous-volet III.2.1)

- Quel est l'impact de la variabilité saisonnière sur les actions de l'organisme ? (sous-volet III.2.2)

III.2.1 Does the efficiency of grazer introduction to restore and preserve the hydraulic performance of infiltration basins depend on the sediment and biofilm characteristics of the infiltration media? (Article 2 publié dans Ecological Engineering en 2018)

**Authors**

Valerian Estragnat, Florian Mermillod-Blondin, Maxime Jully, Damien Lemoine, Laurent Lassabatère and Laurence Volatier

**Abstract**

Groundwater constitutes the principal source of drinking water in Europe but the increase of urbanized impervious surfaces reduced the natural recharge of aquifers. To bypass this problem, infiltration systems have been largely developed for groundwater recharge. Nevertheless, the hydraulic performance of these systems is often altered by physical and biological clogging. The present study aimed to experimentally quantify the impact of a grazer (*Viviparus viviparus*) on hydraulic conductivity of three infiltration basins differentially clogged by benthic algal mat. The influence of the gastropod was also measured on the physical (proportion of silt and clay particles) and biological (algal biomass, bacteria abundance, total organic carbon, gross photosynthetic and hydrolytic activities) of the top layer of the infiltration media. We expected that grazers would have the highest influence on hydraulic performance of basin presenting the highest algal biomass. Our results showed that: (i) the grazers had a positive influence on hydraulic conductivity in the three basins; (ii) these positive effects were not significantly influenced by the initial conditions (algal biomass) in the three basins; and (iii) the impact of the grazers on hydraulic conductivity was not restricted to the removal of biofilm biomass by trophic action but may be also associated with bioturbation activities (pelletization and sediment reworking of the top sediment layer). *Conclusion.* While management practices developed to improve hydraulic performance of infiltration basins mainly focus on costly and non-environmentally friendly actions (e.g. mechanical sediment scraping), this study highlights the opportunity to consider alternative ecological solutions using the trophic and/or the bioturbation activities of animals.

**Key-words**

Grazing, trophic interactions, sediment clogging, algae, managed aquifer recharge, ecological restoration, ecosystem engineer, *Viviparus viviparus*, porous media

## 1. Introduction

Groundwater constitutes the principal source of drinking water for Europeans as about 75% of the inhabitants of the EU rely on groundwater for their water supply (Gibert, 2001). Nevertheless, groundwater quantity and quality are threatened by increasing pressures due to growing populations and human activities (agriculture, industrial activities). In addition, increases of impervious surfaces associated with urbanization reduced the natural recharge of aquifer by soil infiltration. To circumvent this problem, infiltration systems are used worldwide in urban areas for groundwater recharge from various sources such as stormwater or surface water (Dillon, 2005). Managed aquifer recharge (MAR) using infiltration basins has been largely developed in metropolitan areas to optimize and increase groundwater resources (Bouwer, 2002). Nevertheless, the hydraulic performance of infiltration systems is often altered by clogging (Knowles et al., 2011).

Clogging can be caused by physical (pore occlusion by fine inorganic particles), biological (excessive biofilm growth) or chemical (e.g. calcium carbonate precipitation) processes. A short-term solution to increase infiltration capacities is to mechanically remove the clogged layer of infiltration medium, but the cost of soil/sediment scraping is high (Gette-Bouvarot et al. 2015). Moreover, the top layer of the soil/sediment in these systems plays a key role in organic matter (OM) decomposition and nutrient cycling (Abel et al., 2014; Battin and Sengschmitt, 1999), and its replacement can alter the water purification capacities of the infiltration system. To prevent these negative aspects associated with the management of infiltration basins, ecological solutions have recently been explored to improve the hydraulic performance of clogged infiltration basins by manipulating ecological processes such as bioturbation or trophic interactions. For example, tubificid worms could be efficient actors in aquatic sediments impacted by clogging of the top sediment surface with fine particles (Navel et al., 2011; Nogaro et al., 2006). By their bioturbation activities (i.e. creation of galleries), worms create water pathways in the clogged sediment layer, thus increasing hydraulic conductivity. More recently, Gette-Bouvarot et al. (2015) showed that introduction of grazers could limit clogging of infiltration systems impacted by the proliferation of phototrophic biofilms at the sediment surface, forming a microbial mat (so-called algal mat) mainly composed of algae and bacteria (Geesey et al., 1978). Although literature already reported significant reduction of benthic algal development due to grazing (e.g., Steinman 1996; Hillebrand et al. 2007), the study of Gette-Bouvarot et al. (2015) was the first to demonstrate that increasing grazing pressure could be an efficient way to ameliorate hydraulic performance of infiltration systems impacted by bioclogging. Nevertheless, this positive role of grazers on hydraulic performance has been only demonstrated in one infiltration basin characterized by a particular clogging by benthic algal biofilms. We can expect that the influence of organisms on hydraulic conductivity of infiltration systems is highly dependent on soil/sediment properties. Indeed, the role of benthic organisms which act as ecosystem engineers (i.e., organisms that modify the physical environment and regulate the availability of resources for other species, Jones et al., 1994) at the water-sediment interface has been shown to be significantly modulated by the sedimentary

context (e.g., Navel et al. 2012). For example, Nogaro et al. (2009) and Nogaro & Mermillod-Blondin (2009) showed that the effects of tubificid worms on hydraulic conductivity were only positive when sediment characteristics (grain size distribution, quantity of OM) allowed worms to produce stable and vertical galleries in the clogged sediment layer. Navel et al. (2012) also demonstrated that the positive influence of ecosystem engineers on hydraulic conductivity was at its highest in the most clogged systems.

For animals acting as grazers, such context-dependent effect has never been demonstrated in infiltration systems clogged by benthic algae while understanding the interactions between herbivore pressure and biofilm characteristics is essential to provide sustainable ecological solutions (Bulleri et al., 2012). The present study therefore aimed to assess the influence of grazers on hydraulic conductivity under various physical and biological characteristics of the infiltration medium. Then, we measured the grazing effects of a gastropod on phototrophic biofilm and associated hydraulic conductivity in three contrasted infiltration basins. A field experimental approach based on *in situ* enclosures was used to measure the influence of the gastropod prosobranch *Viviparus viviparus* (L.) on hydraulic properties, sedimentary and benthic biofilm characteristics of the three basins. We coupled *in situ* measurements of hydraulic conductivity with abiotic (grain size distribution) and biotic (algal biomass, total bacterial abundance, total organic carbon, photosynthetic activity, hydrolytic activity) analyses. These analyses were performed on the top layer of sediment structure (0-1 cm), involved in the clogging of infiltration basins (Gette-Bouvarot et al., 2014; Gette-Bouvarot et al., 2015). According to context-dependent responses observed for ecosystem engineers (Gutiérrez et al., 2003; Navel et al., 2012), it is expected that the highest influence of grazers on hydraulic conductivity would be obtained in the systems the most clogged by algal biomass.

## 2. Materials and Methods

### 2.1 Study site

The experiment was set up in the pumping well field of « Crépieux-Charmy » (375 hectares) which provides drinking water for the metropolitan area of Lyon (1,280,000 inhabitants supplied). Infiltration basins have been built to recharge aquifer with river water. All basins are fed with water from the “Vieux Rhône channel” of the Rhône River. To test the context-dependent effect of grazers on infiltration capacities, we selected three infiltration basins (called A, B, C) highly contrasted in terms of hydraulic conductivity and benthic biofilm characteristics (see section 3.1 in results).

During the course of the experiment, the artificial supply of water has been maintained in the three basins to ensure a water column varying from 1.0 to 1.8 m according to usual basin management. Monitoring of *in situ* temperature showed comparable fluctuations (between 14.7 and 24.6°C) for the three basins during the experiment. We also measured weekly *in situ* conductivity, pH, and dissolved oxygen (DO) concentrations in the water column of the basins to characterize the physico-chemistry of the water column. These measurements were performed with HQ40D multiparameter probe (HACH). Mean ( $\pm$  standard deviation) of

conductivity, pH and DO were  $337 (\pm 13) \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ,  $8.3 (\pm 0.3)$ , and  $9.4 (\pm 0.5) \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively. Nutrient concentrations were also weekly measured and obtained from filtered water ( $0.7 \mu\text{m}$ ) conserved at  $4^\circ\text{C}$  before analysis within 24 h with a sequential analyzer (SmartChem 200, AMS Alliance, Frépillon, France) using colorimetric methods (Grasshoff et al., 1983) Comparable oligotrophic conditions were found in the three basins with concentrations of  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{PO}_4^{3-}$  of  $4.4 (\pm 0.9) \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $42.1 (\pm 25.9) \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $37.7 (\pm 28.4) \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively.

## 2.2 Experimental design

The experiment lasted for 6 weeks, from the 17<sup>th</sup> of September to the 22<sup>nd</sup> of October 2014. Each of the three selected basins were equipped with 12 *in situ* enclosures (see the description in Gette-Bouvarot et al. 2015), allowing to test two treatments (presence/absence of *Viviparus viviparus*) with six replicates per treatment. Briefly, enclosures consisted of stainless steel cylinders (internal diameter of 30 cm, height of 14 cm) firmly buried in the sediment at a depth of 11 cm and covered with nylon nets (0.5 cm mesh size). They were disposed in the center of the basins to prevent from bank effects. The enclosures receiving *V. viviparus* (6 enclosures per basin) were randomly selected at the start of the experiment. Introduced specimens of *V. viviparus* were collected in a cut off channel of the Rhône River located at less than 1 km from infiltration basins. They were acclimated in aquariums filled with sediment and water from the basins for 15 days before the start of the experiment. A density of  $100 \text{individuals}\cdot\text{m}^{-2}$  was introduced per enclosure to mimic natural densities observed in freshwater habitats (Jakubik, 2012).

Measurements were performed at the start ( $t_0$ ) and at the end ( $t_f$ ) of the experiment to determine mean hydraulic conductivity, grain size distribution (percentages of fine particles  $<63 \mu\text{m}$  that could be responsible for hydraulic conductivity reduction) and biological characteristics (algal biomass, bacterial abundance, total organic carbon, microbial enzymatic activity and photosynthetic activity) of the sedimentary interface for each enclosure. For grain size distributions and biological analyses, the top layer (0–1 cm) of sediments was randomly cored in each enclosure at  $t_0$  and  $t_f$  using cut syringes (internal diameter = 15 mm). Fifteen samples were collected, mixed and homogenized per enclosure to obtain representative sediment sample for each enclosure and date ( $t_0$  and  $t_f$ ). In addition, one intact core was collected for evaluating the physiological state of the algal biofilm (gross photosynthetic activity). Sampling was conducted just after the hydraulic measurements, with water in the basin, to prevent any drying and disturbance of sediment and biofilm. All samples were then stored in a cool box during transport to the laboratory within 4 h.

## 2.3 Hydraulic conductivity measured in enclosures

*In situ* infiltration measurements were performed in each enclosure under saturated conditions at the start and the end of the experiment before sediment and biofilm samplings. Measurements were done according to the “falling head method” (Pedescoll et al., 2011, 2009; Rodgers and Mulqueen, 2006). The method consists in inserting a tube into

the ground, applying an initial water head into the tube and following the drop of water head with time. The diameter of the Plexiglas standpipe was 5 cm, the initial water heads were about 70–80 cm and five tests were performed per enclosure. During a test, the time required for the water in the standpipe to drop from the upper to the lower levels was recorded every centimeter. From each test, we obtained an infiltration curve representing the temporal evolution of water head with time. As initial water head conditions have an influence on the temporal evolution of water head ( $h$ ), we used the following normalization calculation:

$$h' = \frac{h - h_0}{h_{ini} - h_0}$$

Where  $h_{ini}$  is the water head in the standpipe at the start of the test and  $h_0$  is the water head in the basin during the test. Then, we could obtain the saturated hydraulic conductivity  $K_s$  (in  $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ ) from the evolution of  $h'(t)$  with time with the following formula:

$$K_s = -F \frac{\ln(h'(t))}{t}$$

Where  $F$  is a factor depending uniquely on the geometry of the experimental system. The value for the factor  $F$  was deduced from numerically generated data for the specific case corresponding to the geometry of our field tests.  $F$  was calculated to score  $7.85 \times 10^{-3} \text{ m}$ . Under these conditions, the slope of the linear regression between  $\ln(h')$  and time was used to assess  $K_s$  for each test. Fives  $K_s$  values were obtained per enclosure and the arithmetic means were computed for both initial and final times.

#### 2.4 Physico-chemical and biological analyses on sediments

The volumetric grain size proportions in each sediment sample were obtained by laser diffractometry (Malvern Mastersizer 2000G) on particles ranging between 0.02 and 1600  $\mu\text{m}$  to evaluate the potential influence of fine particles ( $<63 \mu\text{m}$ ) on saturated hydraulic conductivity. OM was removed, to eliminate any organic contribution to the particle size distribution curves, by treatment with sodium hypochlorite (see Gette-Bouvarot et al. 2014 for more details). Three analyses per sample were performed with and without OM. These data were analyzed using GRADISTAT version 8.042 to determine the volumetric proportions of silt and clay (particles  $<63 \mu\text{m}$ ).

The algal biomass at the water-sediment interface was estimated by *in situ* measurements of chlorophyll- $a$  concentration per unit area. These measurements were performed with a benthic fluorimetric probe (BenthosTorch, bbe Moldaenke GmbH) (see Harris & Graham 2015 for principle).

The bacterial cell numbers were evaluated on sediment previously fixed with formaldehyde (final concentration 2% v/v) by direct microscopy counts after incubation of the sediment with the Syto9 green fluorescent nucleic acid stain (Invitrogen). Details of the protocol were given in Gette-Bouvarot et al. (2014). The total bacterial abundances were determined and expressed in  $\text{cells} \cdot \text{g}^{-1}$  of dry sediment.

Total organic carbon was measured as an estimator of the sedimentary biofilm biomass. According to Mermillod-Blondin et al. (2015), total organic carbon was determined by high-

temperature combustion of *in situ* pre-acidified (HCl 2N) dry samples (60°C, 48h) and subsequent measurement of CO<sub>2</sub> by thermal conductometry using an elemental analyzer (FlashEA 1112, Thermo Electron Corporation).

The functional state of the biofilm was assessed by measuring hydrolytic activity and photosynthetic activity on sediment samples. The hydrolytic activity of the biofilm was assessed by the fluorescein diacetate (FDA) hydrolysis method following Mermillod-Blondin et al. (2004). Hydrolytic activity was expressed as  $\mu\text{mol}$  of hydrolyzed FDA. $\text{h}^{-1}.\text{g}^{-1}$  of dry sediment.

Gross photosynthetic activity was obtained by measuring the oxygen production under illumination (net photosynthesis rate; irradiance of  $150 \mu\text{mol}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) corrected from oxygen uptake in the dark (aerobic respiration rate) by intact biofilm ( $4 \text{ cm}^2$  collected with a cut syringe, see above). For each biofilm sample, oxygen production and oxygen uptake were obtained at  $15 \text{ }^\circ\text{C}$  using  $4 \text{ mL}$  respiration chambers fitted with micro-probes (Microrespiration system, Unisense, see Navel et al. 2011 for details). For measurements, total dissolved inorganic carbon concentration was adjusted to  $10 \text{ mM}$  with KHCO<sub>3</sub> to ensure sufficient supply of inorganic carbon during the incubation and pH was maintained at 6.5 by addition of  $1\text{N HCl}$ . Gross photosynthesis rate was expressed as  $\text{nmol}$  of O<sub>2</sub>. $\text{min}^{-1}.\text{cm}^{-2}$ .

## 2.5 Statistical analyses

For all variables, the ratios between values measured at the start and the end of the experiment were calculated for each enclosure, to illustrate temporal changes in hydraulic conductivity and sediment characteristics which occurred during the experiment for control and *V. viviparus* treatments. Then, the influence of *V. viviparus* on all variables were assessed using two-way analyses of variance (ANOVA II) on these ratios, with treatment (control and *V. viviparus*) and basin as fixed factors. In the case of context-dependency in grazer influence, a significant statistical interaction between basin and treatment factors would be measured. For all variables, the normality and the homoscedasticity of the residues were tested using the Shapiro-Wilk's test and the Levene's test, respectively. All statistical analyses were performed using R software (R Development Core Team, 2008). Significance for statistical tests was accepted for a first species risk set at  $\alpha < 0.05$  considering a bilateral risk.

## 3. Results

### 3.1 Initial characteristics of the three basins

The three infiltration basins (A, B and C) were characterized by contrasted hydraulic conductivity and top sediment characteristics (Table 1). Indeed, hydraulic conductivity was 2-fold higher in basin C than in the two others infiltration basins. Measurements of algal biomass, total organic carbon, total bacterial abundance and gross photosynthetic activity were significantly lower in basin C than in basins A and B. It is also worth to note that the proportion of fine mineral particles (without OM) was not significantly different among basins.

**Table 2:** Mean +/- standard deviation of the initial structural and functional characteristics of the top sediment layer (0-1 cm) for the three basins. Results of one-way ANOVAs are displayed to indicate significant differences among basins for each variable. Different alphabetic characters represent significant differences between basins, obtained with post hoc Tuckey's HSD tests

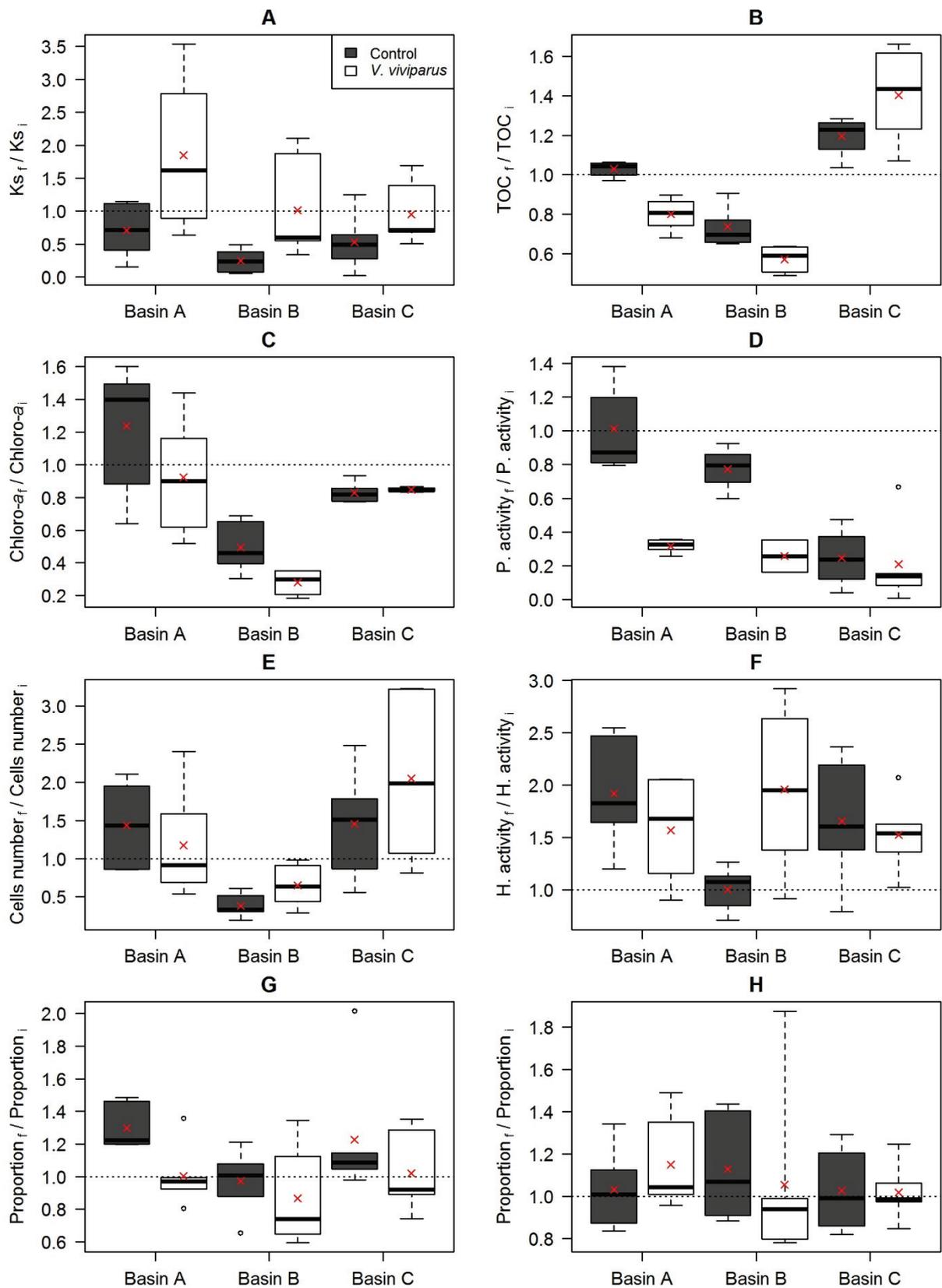
	Mean +/- standard deviation			Anova I	
	Basin A	Basin B	Basin C	F (d.f.=2,33)	p
Hydraulic conductivity Ks (10 <sup>-5</sup> m.s <sup>-1</sup> )	1.9 ± 1.26 (a)	1.99 ± 0.95 (a)	4.17 ± 1.43 (b)	12.14	< 0.001
Algal biomass (chloro-a µg.cm <sup>-2</sup> )	2.74 ± 0.59(a)	2.53 ± 0.5 (a)	1.61 ± 0.13 (b)	20.79	< 0.001
Total organic carbon (% mass)	3.03 ± 0.48 (a)	2.77 ± 0.66 (a)	2.213 ± 0.26 (b)	8.52	< 0.01
Total bacterial abundance (10 <sup>9</sup> cells.g <sup>-1</sup> of dry matter)	27.64 ± 11.67 (a)	70.1 ± 22.82 (b)	10.28 ± 3.57 (c)	50.9	< 0.001
Hydrolytic activity ( FDA µmol.g <sup>-1</sup> of dry matter.h <sup>-1</sup> )	0.39 ± 0.06 (a,b)	0.42 ± 0.1 (a)	0.35 ± 0.05 (b)	2.84	< 0.1
Gross photosynthetic activity (nmol of O <sub>2</sub> .min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	10.85 ± 3.2 (a)	7.36 ± 1.76 (b)	2.22 ± 1.41 (c)	41.55	< 0.001
Proportion of fine particles with OM (smaller than 63 µm)	0.41 ± 0.06 (a)	0.42 ± 0.08 (a)	0.31 ± 0.06 (b)	10.88	< 0.001
Proportion of fine particles without OM (smaller than 63 µm)	0.81 ± 0.13 (a)	0.82 ± 0.18 (a)	0.85 ± 0.14 (a)	0.28	> 0.05

### 3.2 Influence of the addition of *V. viviparus* in the three basins

The ratios of final hydraulic conductivity to initial hydraulic conductivity ( $K_{sf}/K_{si}$ ) were higher in enclosures with gastropod *V. viviparus* than in control enclosures for all basins (Fig. 1A, ANOVA II, "treatment" effect,  $F_{1,30}=13.09$ ,  $p=0.001$ ), indicating a positive influence of the grazing treatment on hydraulic conductivity. Although this positive effect tended to be the highest in the basin characterized by the lowest hydraulic conductivity at the start of the experiment (basin A; Table 1), the effect of the grazing treatment was not significantly different among infiltration basins (ANOVA II, "basin x treatment" effect,  $F_{2,30}=0.93$ ,  $p>0.05$ ). The presence of grazers had significant and negative influences on algal biomass and gross photosynthetic activity (Figs 1C & 1D; ANOVA II, "treatment" effect,  $F_{1,30}=5.24$ ,  $p=0.029$  and  $F_{1,30}=24.74$ ,  $p<0.0001$ , respectively). In addition, the influence of *V. viviparus* on these variables were higher in basins A and B than in basin C (Figs 1C & 1D) which was

characterized by the lowest algal biomass and photosynthetic activity at the start of the experiment (Table 1). The total organic carbon was also negatively influenced by the presence of gastropods in basins A and B but the opposite effect was measured in basin C (Fig 1B). Then, we detected significant differences in grazing effect among basins for total organic carbon and gross photosynthetic activity (ANOVA II, “basin x treatment” effect,  $F_{2,30}=9.06$ ,  $p=0.001$  and  $F_{2,30}=6.47$ ,  $p=0.007$ , respectively).

Hydrolytic activity was significantly influenced by *V. Viviparus* depending on the studied basins (ANOVA II, “basin x treatment” effect,  $F_{2,30}=4.89$ ,  $p=0.015$ ): grazing had no influence on this activity in basins A and C while grazing stimulated this activity in basin B (Fig. 1F). In contrast, we detected no significant effect of grazing on total bacterial abundance (Fig. 1E; ANOVA II, “treatment” effect,  $F_{1,30}=0.34$ ,  $p>0.05$ ) whatever the studied basin (ANOVA II, “basin x treatment” effect,  $F_{2,30}=1.52$ ,  $p>0.05$ ). In association with the negative effect of *V. viviparus* on algal biomass, total organic carbon and photosynthetic activity, grazers also significantly reduced the proportion of fine particles (including organic particles) in all enclosures (Fig. 1G; ANOVA II, “treatment” effect,  $F_{1,30}=5.59$ ,  $p=0.025$ ; ANOVA II, “basin x treatment” effect,  $F_{2,30}=0.4$ ,  $p>0.05$ ). Nevertheless, this effect was not linked with the mineral fraction of particles  $<63\mu\text{m}$  which was not influenced by the presence of grazers (Fig. 1H; ANOVA II, “treatment” effect,  $F_{1,30}=0.02$ ,  $p>0.05$ ; ANOVA II, “basin x treatment” effect,  $F_{2,30}=0.46$ ,  $p>0.05$ ).



**Figure 1:** Ratios of final value to initial value of structural and functional characteristics of the top sediment layer for the two grazing treatments and each basin. Boxplots of hydraulic conductivity (A), total organic carbon (B), chlorophyll-a (C), gross photosynthetic activity (D), total bacterial abundance (E), hydrolytic activity (F), proportion of fines particles with OM (G)

and proportion of fines particles without OM (H). Subscript: i and f indicate the values at the start and the end of the experiment, respectively. Red crosses represent the means. When the ratio of *final value to initial value* is  $> 1$ , the studied variable increased during the course of the experiment in the given basin and treatment. The opposite is observed when the ratio is  $< 1$

#### 4. Discussion

Our results clearly showed that the influence of *V. viviparus* was positive on hydraulic conductivity in the three infiltration basins whatever the initial characteristics of their infiltration media. Then, we did not validate the hypothesis that grazers would have the highest influence on hydraulic conductivity in the infiltration basins which were the most clogged by algal biomass. This study corroborates the usefulness of grazer addition to enhance infiltration capacity of basin affected by biological clogging (Gette-Bouvarot et al., 2015). This effect was mainly associated with a reduction of benthic algal biomass with grazers, a trophic mechanism largely observed in other natural (Hillebrand, 2009; Steinman, 1996) and artificial environments (Barranguet et al. 2005). Nevertheless, the comparable positive influences of grazers on hydraulic conductivity in the three basins were not only linked with a reduction of biofilm biomass. Indeed, the influences of grazing on biofilm characteristics were basin-dependent: grazers reduced biofilm total and algal biomasses in the most initially colonized basins (basins A and B), whereas the presence of grazers had a low influence on the biofilm in the basin C which was the less colonized by biofilm.

These results indicate a decoupling between the influences of gastropods on biofilm biomass and hydraulic conductivity. This decoupling was particularly observed in basin C where the presence of *V. viviparus* ameliorated hydraulic conductivity without reducing total and algal biomass of biofilms. Consequently, the effect of *V. viviparus* on hydraulic conductivity was not restricted to biofilm removal by trophic activities. We suppose that *V. viviparus* also had a physical action on the top layer of the infiltration media, improving its hydraulic performance through their movements and displacements that create physical disturbances. It has already been reported that gastropods feeding on interface material disturb the sediment surface by their crawling activities (Orvain and Sauriau, 2002). More precisely, these benthic animals produce tracks in the top sediment layer (McCave, 1976; Orvain et al., 2004; Sommer, 2000). This process was consistent with our laboratory observations demonstrating that *V. viviparus* produce tracks in the top centimeter of the sediment interface (see Figure S1 in Supporting Information).

In addition to crawling activities, we suppose that pelletization of the top sediment surface by *V. viviparus* might have also contributed to increase hydraulic conductivity of the infiltration media by reducing fine particle accumulation at the water-sediment interface. Indeed, in the present experiment, the proportion of fine particles ( $< 63\mu\text{m}$ ) measured before the removal of organic material was significantly reduced in the presence of grazers while the proportions of silt and clay were similar in all treatments (with/without gastropods) after OM removal. These results suggest that gastropods might have produced

and deposited pellet aggregates of coarser size than ingested sediment particles during ingestion-egestion process. This mechanism was consistent with previous works showing that pelletization of surface materials by gastropods like *Hydrobia ulvae* or oligochaetes like *Tubifex tubifex* modified the sediment structure by increasing particle size (Andersen, 2001; McCall and Fisher, 1980).

Despite of the reduction of total organic carbon in presence of gastropods, we did not detect a negative influence of *V. viviparus* on the hydrolytic activity of the biofilm involved in OM processing (Battin, 1997). Therefore, the presence of *V. viviparus* was efficient for the hydraulic without degradation of self-purification performances of the basins. It is also worth noting that gastropods did not influence hydrolytic activity in basins A and C whereas they enhanced this microbial activity in basin B. This context-dependent effect might have been due to the higher bacterial abundance measured in this basin in comparison with the other basins at the start of the experiment (Table 1). We can expect that initial differences in biofilm structure that reflect interactions between phototrophic and heterotrophic groups might have determined the top-down effect of grazers on the biomasses and functions of all components of the biofilm (Hillebrand et al., 2002).

*Conclusion.* The present study underlines the usefulness of incorporating food webs and trophic interactions in management practices to restore or preserve the hydraulic performance of water infiltration systems. Ecological engineering approaches may be of prime importance for the sustainability of infiltration systems by limiting energy- and resource-intensive interventions (Gette-Bouvarot et al. 2015). Moreover, these procedures successfully increase infiltration but remove the microbiologically-active top layer of the infiltration media which plays a key role in water-purification processes of MAR systems (Battin et al., 2003; Mermillod-Blondin et al., 2005).

In studied infiltration basins, the hydraulic conductivity measured without the top layer of sediment (clogging layer) was around  $10^{-4}$  m.s<sup>-1</sup> (Gette-Bouvarot et al. (2014)). Then, the positive influence of gastropod on hydraulic performance has been demonstrated for both moderately clogged basins ( $4.17 \cdot 10^{-5}$  m.s<sup>-1</sup>, basin C in the present study) to highly clogged basins ( $4 \cdot 10^{-6}$  m.s<sup>-1</sup>, basin studied in Gette-Bouvarot et al. (2015)). Thus, the addition of *V. viviparus* can solve problems of clogging in infiltration systems exhibiting a wide range of clogging by biofilms. This generalization of gastropod influence on hydraulic performance of contrasting MAR systems was probably associated with both trophic and bioturbation activities of animals at the water-sediment interface. Nevertheless, further experiments are needed to evaluate the respective contribution of these two activities on the hydraulic functioning of infiltration basins. Finally, our results are very promising and the gastropod *V. viviparus* seems an excellent actor for limiting clogging in natural or constructed wetlands. However, the field-scale development of our ecological approach needs to understand how the interactions between grazers, biofilms and hydraulic conductivity evolve seasonally. With this objective, basin-scale tests are envisaged to evaluate the efficiency and the viability of *V. viviparus* treatment on the long-term.

### **Acknowledgements**

We express our gratitude to Marc Danjean, Martin Lawniczak, Cécile Delolme, Clémentine Drapeau, Erij Ben Slimene, Aurore Refloch, Simone di Prima, Marouen Shabou and Artur Paiva Coutinho, who were involved in the measurements of  $K_s$  in the field. Our thanks also go to Laurent Simon for his help in chemical analyses and the edition of the last draft of the manuscript. This research was done on the Research Platform of Crépieux-Charmy (Plateforme de recherche de Crépieux- Charmy) and received financial and technical support from the Lyon Metropole and Veolia Water (Eau du Grand Lyon).

### **Supplementary material**



**Appendix S1:** Picture of the effect of *V. viviparus* crawling at the sediment surface

### III.2.2 Effets de la variabilité temporelle sur les interactions biofilm/brouteur et leurs conséquences sur les propriétés de l'interface eau/sédiment

#### 1. Introduction

Les effets du broutage sur les biofilms phototrophes ont été étudiés dans de nombreux types d'habitats aquatiques (Lamberti et al., 1995 ; Sommer, 2000 ; Hillebrand, 2009 ; Sturt et al., 2011). La majorité de ces travaux montrent une réduction significative de la biomasse algale en présence de brouteurs (Steinman, 1996). D'après la méta-analyse de Hillebrand (2009), réalisée sur plus de 800 études couvrant tous les types de milieux aquatiques, la présence de brouteurs peut conduire à une réduction moyenne de la biomasse algale de 59%. Cette étude suggère également que parmi les producteurs primaires, les algues benthiques sont les plus sensibles à l'activité de broutage. Cette action négative des invertébrés sur les biofilms benthiques a été récemment exploitée par Gette-Bouvarot et al. (2015) qui suggèrent que l'introduction de brouteurs dans un milieu pourrait permettre de limiter les développements excessifs d'algues benthiques parfois observés aux interfaces eau-sédiment. Ces auteurs ont démontré que dans un milieu infiltrant dégradé par des processus de colmatage biologique, l'introduction du gastéropode herbivore *Viviparus viviparus* (71 ind/m<sup>2</sup>) permet une restauration des propriétés hydrodynamiques des sédiments en seulement 36 jours. En effet, en présence du gastéropode, ils mesurent une réduction de la biomasse algale benthique (teneurs en chloro-a) de 80% associée à une augmentation de la conductivité hydraulique d'un facteur 3. Depuis, les fortes potentialités de *V. viviparus* pour la restauration de milieux infiltrants dégradés par des biofilms benthiques ont été confirmées par Estragnat et al. (2018). Ces auteurs confirment l'action négative du gastéropode sur la biomasse algale. De manière surprenante, les résultats de cette étude suggèrent également que l'action positive de *V. viviparus* sur la conductivité hydraulique des sédiments ne se limite pas à leur activité trophique. En effet, il semblerait que *V. viviparus* agisse également sur la structure des sédiments : d'une part, la production de pelotes fécales conduit à une réduction de la quantité de particules fines (< 63 µm) accumulées à la surface des sédiments *via* des processus de pelletisation et, d'autre part, le déplacement du gastéropode crée des traces destructurant la surface des sédiments. Ces études révèlent les fortes potentialités de *V. viviparus* pour la restauration de milieux infiltrants dégradés par des processus de colmatage. Concernant l'action trophique de *V. viviparus*, il est important de noter que les études de Gette-Bouvarot et al. (2015) et de Estragnat et al. (2018) ont été menées à une saison favorable au développement algal, c'est-à-dire dans des conditions environnementales ne laissant pas craindre une insuffisance des ressources alimentaires. Par conséquent, il convient à présent de quantifier si l'efficacité de *V. viviparus* reste positive et significative au cours des saisons. En effet, Cook (1949) a observé que *V. viviparus* pouvait rester enterré durant plusieurs jours et il est très probable que cette réduction d'activité soit liée à des conditions environnementales moins favorables. Parmi ces conditions, le manque de nourriture ou les faibles qualités nutritionnelles des ressources trophiques peuvent être des facteurs influant, notamment lorsque le coût

énergétique lié la production de mucus nécessaire au déplacement de *V. viviparus* devient supérieur au gain énergétique lié à l'assimilation de nourriture (Denny 1980, Calow 1974). Le premier objectif de cette étude est de quantifier la contribution respective des processus biologiques (composante algale) et physiques (accumulation de fines) dans le colmatage du support d'infiltration d'un bassin d'infiltration au cours du temps. Le second objectif est d'évaluer si l'efficacité du gastéropode *V. viviparus* pour lutter contre ce colmatage est fonction du degré de colmatage. Comme supposés dans Estragnat et al. (2018), notre hypothèse est que les effets positifs de *V. viviparus* sur la conductivité hydraulique des sédiments seront d'autant plus importants que les performances hydrauliques des sédiments seront dégradées. Comme la consommation du biofilm par les organismes peut « rajeunir » et ainsi stimuler l'activité biologique des micro-organismes, un troisième objectif vise à déterminer le rôle de *V. viviparus* sur le fonctionnement des biofilms via une mesure de l'activité photosynthétique et de l'activité hydrolytique des enzymes estérases. Dans le cas des saisons où le broutage n'entraîne pas une réduction drastique de la biomasse algale, le métabolisme du biofilm peut en effet être stimulé du fait de l'arrachage des cellules sénescents (consommées ou remises en suspension) et de la régénération des nutriments via les excréments des brouteurs ou la lyse des cellules lors du broutage. L'élimination des cellules sénescents peut également conduire à une réduction du « self shading » donc à une stimulation des activités photosynthétique (Lamberti et al., 1987). Quatre campagnes d'expérimentations *in situ* ont été réalisées entre octobre 2016 et avril 2018. Ces campagnes ont été effectuées à différentes saisons afin d'avoir des situations contrastées en matière de densité et de structure de la communauté algale. Les expérimentations ont été faites au moyen d'encagements *in situ* et chaque campagne a fait l'objet de 2 traitements d'une durée de 6 semaines : cages contenant *V. viviparus* (n=6) et cages sans introduction de *V. viviparus* (cages témoins, n=6). Afin de suivre les propriétés physiques et biologiques des sédiments, des mesures de conductivités hydrauliques ont été réalisées conjointement à une caractérisation physique (distribution granulométrique) et biologique (biomasse totale, biomasse algale, composition algale, activités photosynthétique et enzymatique) des sédiments.

## **2. Matériels et méthodes**

### **2.1 Choix du site d'étude**

Les expérimentations se sont déroulées sur le champ captant de Crépieux-Charmy décrit dans la partie II du présent document.

Les expérimentations ont été conduites dans un bassin d'infiltration raclé en mars 2015 puis remis en eau en mai 2015 et présentant de faibles capacités d'infiltration malgré sa courte durée d'exploitation (1 an et demi en octobre 2016, date de début des essais). En effet, ce bassin se caractérise par des valeurs de conductivité hydraulique (environ  $6 \times 10^{-6} \text{ m.s}^{-1}$ ) inférieures à celles (en moyenne  $2.5 \times 10^{-5} \text{ m.s}^{-1}$ ) mesurées par Estragnat et al. (2018) dans d'autres bassins. Enfin, la conductivité hydraulique est équivalente à celle mesurée par

Gette-Bouvarot et al (2015), alors que le bassin en question était exploité depuis plusieurs années.

## 2.2 Schéma expérimental

Les encagements consistent en des cylindres en inox de 30 cm de diamètre pour une hauteur de 14 cm, enfoncés d'environ 11 cm dans les sédiments. Les cages utilisées sont installées préalablement à chaque campagne (3 semaines avant) dans une zone homogène, éloignée des berges et non altérée par des précédentes expérimentations. Un total de 12 cages est systématiquement mis en place afin de tester deux conditions et de répliquer chaque condition 6 fois : 6 cages avec introduction de *V. viviparus* (5 individus par cage, soit 71 individus.m<sup>-2</sup>) et 6 cages sans introduction de *V. viviparus* (cages témoins). Pour éviter la fuite des gastéropodes, des filets blancs de maille 0.5 cm ont été installés sur les cages. Les mêmes filets ont été également placés sur les cages témoins afin d'intégrer leurs effets possibles sur le biofilm et le colmatage.

Les quatre campagnes ont débuté et se sont terminées aux dates suivantes :

Du 28/09/2016 au 09/11/2016 → Octobre 2016

Du 15/02/2017 au 29/03/2017 → Février 2017

Du 13/06/2017 au 25/07/2017 → Juin 2017

Du 18/04/2018 au 29/05/2018 → Avril 2018

Pendant l'expérience, des paramètres physico-chimiques ont été mesurés chaque semaine pour caractériser la colonne d'eau avec un enregistreur de données Ponsel Odeon et les sondes associées (Aqualabo Contrôle, France) : pH, conductivité électrique et concentration en dioxygène dissous. Les concentrations en nutriments dans la colonne d'eau ( $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{NO}_x = \text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ ) ont également été mesurées chaque semaine sur des échantillons filtrés à 0,7  $\mu\text{m}$  et conservés à 4°C jusqu'à leur analyse par colorimétrie (Grasshoff et al., 1983) à l'aide d'un analyseur séquentiel (SmartChem 200, AMS Alliance, Frépillon, France). La température et la hauteur de la colonne d'eau ont été mesurées avec un pas de temps de 15 min à l'aide d'une sonde Divers (Schlumberger Water Sciences, The Netherlands). Les données de photopériode et de radiation globale horaire ont été fournies par Météo-France.

## 2.3 Echantillonnage

Pour chaque campagne et chaque cage, des mesures sont effectuées au début et à la fin de l'expérience (après 6 semaines) pour déterminer les caractéristiques structurelles physiques (proportion de particules fines avec et sans matière organique (MO)), les caractéristiques structurelles biologiques (biomasse totale, biomasse algale et sa composition globale), et les caractéristiques fonctionnelles (activité photosynthétique brute, activité hydrolytique) de l'interface sédimentaire. Pour cela, le premier centimètre de sédiment est carotté aléatoirement au début de chaque campagne à proximité des cages et à la fin de chaque campagne au sein des cages en utilisant des seringues coupées (diamètre interne de 15 mm). Pour les caractéristiques structurelles et l'activité hydrolytique, quinze carottes sont collectées, mélangées et homogénéisées pour obtenir un échantillon représentatif de

chaque cage. Pour l'activité photosynthétique brute, deux carottes intactes (diamètre interne de 20 mm) sont collectées. L'échantillonnage a été fait avec un niveau d'eau suffisant pour éviter tout assèchement ou perturbation du sédiment et du biofilm. Les échantillons sont conservés dans une glacière et transportés au laboratoire dans les 4 heures qui suivent leur prélèvement.

## 2.4 Mesures des variables

### *Conductivité hydraulique (Ks)*

Au début et à la fin de l'expérience, les mesures d'infiltration *in situ* ont été effectuées dans chaque cage (tf) ou juste à côté (t0) dans des conditions de saturation en eau avant l'échantillonnage du sédiment et du biofilm. Ces mesures ont été effectuées conformément à la « falling head method » (Pedescoll et al., 2009, 2011 ; Rodgers & Mulqueen, 2006). Cette méthode est détaillée dans Estragnat et al. (2018). Le Ks est exprimé en  $m.s^{-1}$  et est corrigé à 20 °C pour prendre en compte le changement de viscosité de l'eau.

### *Distribution granulométrique*

La distribution granulométrique avec et sans matière organique a été obtenue par diffractométrie laser (Malvern Mastersizer 2000G) sur des particules compris entre 0,02 et 1600  $\mu m$ . Pour chaque échantillon, une fois la mesure faite sur l'échantillon brut, la matière organique est retirée par un traitement à l'hypochlorite de sodium (pour plus de détails voir Gette-Bouvarot et al., 2014). Le but est d'évaluer l'influence de la proportion de particules fines < 63 microns sur la conductivité hydraulique.

### *Biomasse totale*

Le carbone organique total (COT) a été mesuré sur des sédiments lyophilisés, conformément à la technique de Mermillod-Blondin et al. (2015). Le COT est déterminé par combustion à haute température des échantillons secs pré-acidifiés, suivit de la mesure du CO<sub>2</sub> par conductimétrie thermique à l'aide d'un analyseur élémentaire (FlashEA, Thermo Electron Corporation). Le COT est exprimé en pourcentage de carbone organique dans chaque échantillon.

### *Biomasse algale*

Deux mesures ont été effectuées pour estimer la biomasse algale :

La première est une mesure *in situ* de la concentration en chlorophylle-*a* par unité de surface qui a été effectuée à l'aide d'une sonde fluorimétrique benthique (BenthoTorch, bbe Moldaenke GmbH) (pour le principe de la méthode voir Harris & Graham, 2015). Cette sonde permet également d'évaluer la teneur des grands groupes algaux (i.e. cyanobactéries, diatomées et algues vertes). Les résultats obtenus sont exprimés en  $\mu g$  de chlorophylle-*a* par  $cm^2$ . Sachant que cette mesure se limite au biofilm superficiel (les premiers millimètres), cette variable sera nommée « biomasse algale de surface » dans la suite du document.

La deuxième est une mesure par spectrophotométrie de la concentration en chlorophylle-*a*. Cette estimation est plus globale puisqu'elle prend en compte le premier centimètre de sédiment. La méthode utilisée est SCOR-UNESCO (UNESCO, 1966) et les résultats obtenus

sont exprimés en  $\mu\text{g}$  de chlorophylle-*a* par gramme de sédiment sec. Dans la suite du document, cette variable sera nommée « biomasse algale sédimentaire ».

#### *Activité photosynthétique*

La production brute a été obtenue par la mesure de la production d'oxygène sous illumination (activité photosynthétique nette ; rayonnement de  $150 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) corrigée par la consommation d'oxygène sans lumière (respiration aérobie) sur des carottes de biofilm intactes. Pour chaque échantillon, la consommation et la production d'oxygène ont été mesurées à  $15^\circ\text{C}$  dans des bouteilles en verre hermétique de 150 mL remplies avec de l'eau du bassin d'infiltration filtrée à  $0,22 \mu\text{m}$ . La consommation et la production d'oxygène ont été mesurées avec un inoLab Oxi 7310 (WTW, Xylem Analytics) au début et à la fin de l'incubation. Les résultats sont exprimés en mg de dioxygène dissous par heure et par gramme de chlorophylle-*a*.

#### *Activité hydrolytique (FDA)*

L'activité hydrolytique du biofilm a été estimée par l'hydrolyse du di-acétate de fluorescéine (FDA) conformément à Mermillod-Blondin et al. (2005). Elle est exprimée en  $\mu\text{mol}$  de FDA hydrolysés par heure et par gramme de sédiment sec.

### **2.5 Traitement statistique**

L'influence des campagnes (saisons) sur les variables a été obtenue en utilisant des analyses de variance à un facteur (ANOVA I). Ensuite, pour tester l'influence de *V. viviparus* sur les variables, des analyses de variance à deux facteurs (ANOVA II) ont été utilisées, avec le traitement et la campagne comme facteurs fixes. Enfin, pour les variables informant sur le fonctionnement du biofilm, des modèles mixtes avec le traitement et la campagne comme facteurs fixes et le temps comme facteur aléatoire ont été utilisés. Pour toutes les variables, la normalité et l'homoscédasticité des résidus ont été testées en utilisant les tests de Shapiro-Wilk et de Levene, respectivement. Quand ces conditions n'étaient pas remplies, les données étaient transformées (le type de transformation est indiqué dans la parenthèse des résultats statistiques quand il y a lieu). Toutes les analyses ont été effectuées avec le logiciel R. La significativité a été fixée à  $\alpha < 0.05$  pour le risque de première espèce, en considérant un risque bilatéral.

## **3. Résultats**

### **3.1 Conditions environnementales**

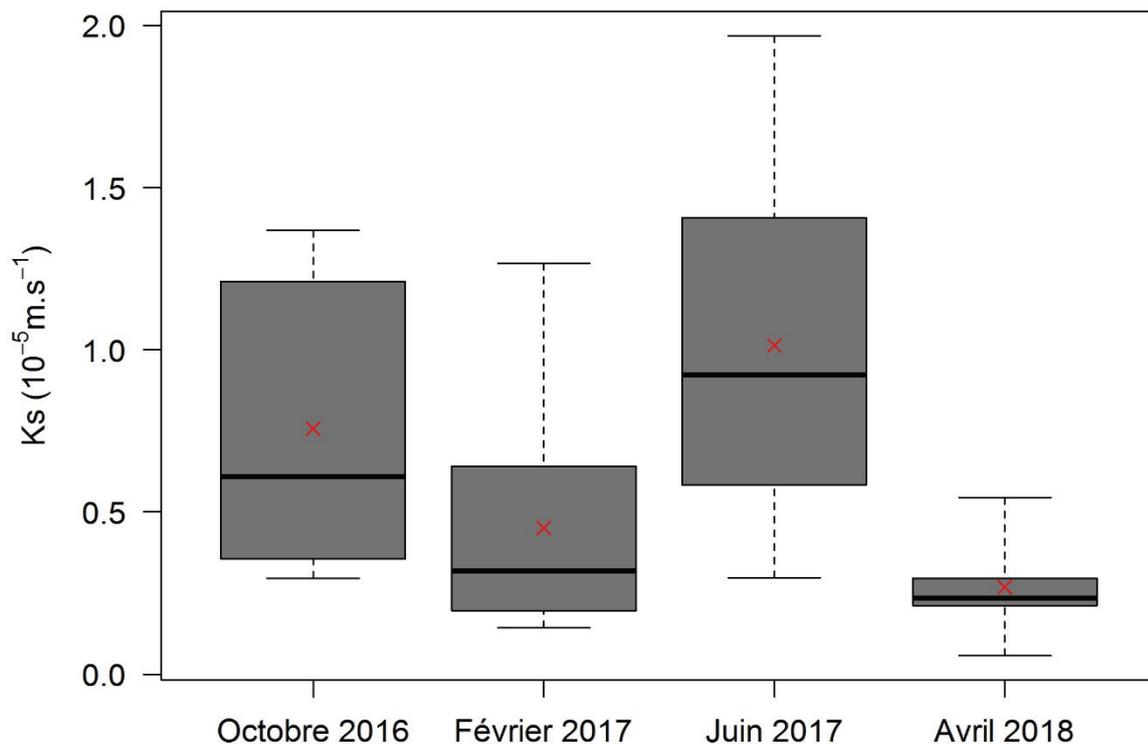
Les conditions environnementales sont caractérisées par les paramètres physico-chimiques décrits ci-après. Les photopériodes étaient de 10.6, 11.4, 15.8 et 14.4 heures pour Octobre 2016, Février 2017, Juin 2017 et Avril 2018, respectivement. Les radiations globales horaires étaient de 33.0, 46.9, 96.0 et 77.5  $\text{joules.cm}^{-2}$  pour Octobre 2016, Février 2017, Juin 2017 et Avril 2018, respectivement. Les températures moyennes mesurées étaient de 16, 11, 20 et  $16^\circ\text{C}$  pour Octobre 2016, Février 2017, Juin 2017 et Avril 2018, respectivement. Les hauteurs d'eau moyennes étaient comprises entre 90 et 120 cm. Les concentrations en nutriments étaient comparables entre les campagnes et mettaient en évidence des conditions

oligotrophes avec des valeurs ne dépassant pas  $1.1 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $24.9 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$  and  $13.5 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$  for  $\text{N-NO}_x$ ,  $\text{N-NH}_4^+$  and  $\text{P-PO}_4^{3-}$ , respectivement. Le pH, la conductivité électrique et le dioxygène dissous ont varié entre 7.3 et 8.4, entre  $298.7$  et  $351.7 \text{ }\mu\text{S.cm}^{-1}$  et entre 8.2 et  $12.7 \text{ mg.L}^{-1}$ , respectivement.

### 3.2 Quantification du colmatage et identification des facteurs influent

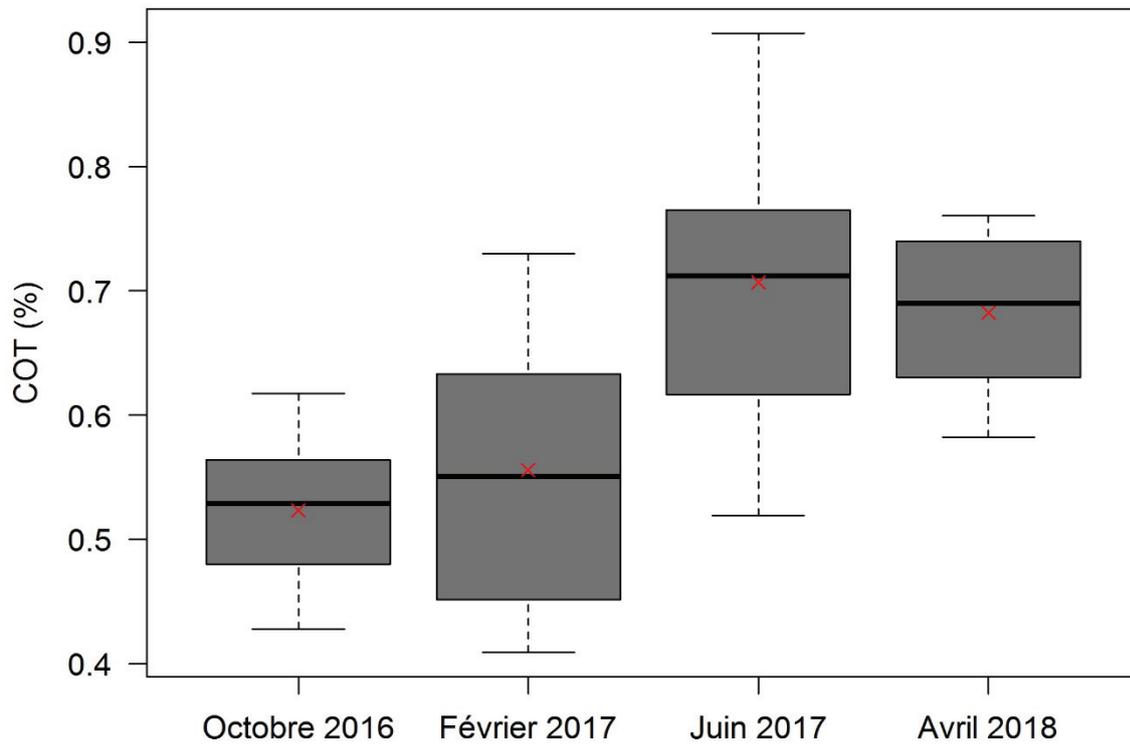
Les données présentées dans cette sous-partie correspondent aux mesures effectuées à proximité des cages au début des campagnes (conditions initiales avant l'expérience).

Bien que statistiquement différentes (ANOVA I, effet "campagne",  $F_{3,44} = 10.64$ ,  $p < 0.001$ , transformation log), les mesures moyennes de conductivité hydraulique ( $K_s$  corrigé à  $20^\circ\text{C}$ ) sont du même ordre de grandeur ( $< 10^{-5} \text{ m/s}$ ) lors des quatre campagnes. On ne note pas de réduction progressive de la conductivité hydraulique dans le temps. Des valeurs un peu plus faibles ont été mesurées en février 2017 et avril 2018 par rapport à octobre 2016 et juin 2017 (fig. 1).



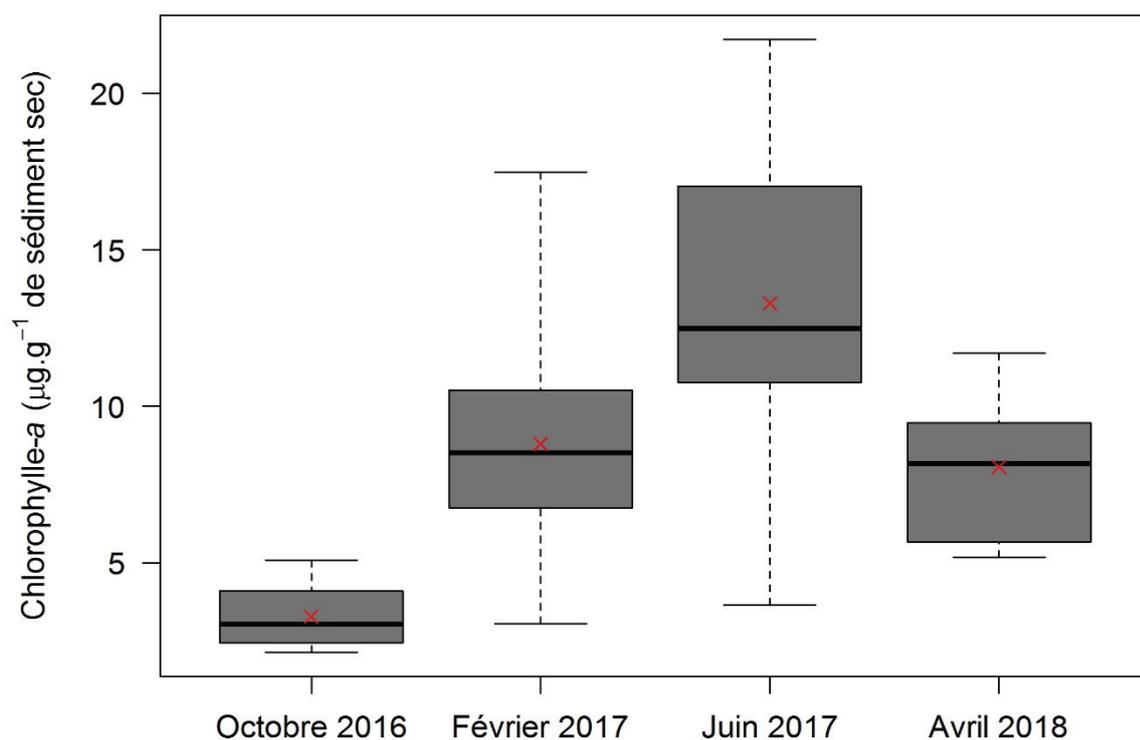
**Figure 1 :** Boite à moustache de la conductivité hydraulique initiale corrigée à  $20^\circ\text{C}$  en fonction des campagnes. Les croix rouges représentent les moyennes

Le COT augmente d'octobre 2016 à avril 2018 (fig. 2 ; ANOVA I, effet "campagne",  $F_{3,44} = 11.83$ ,  $p < 0.001$ , transformation log). Cependant, les valeurs moyennes mesurées restent toujours inférieures à 0.8 % de C organique par masse de sédiment sec, témoignant d'une faible accumulation de biofilm dans le bassin à toutes les saisons.



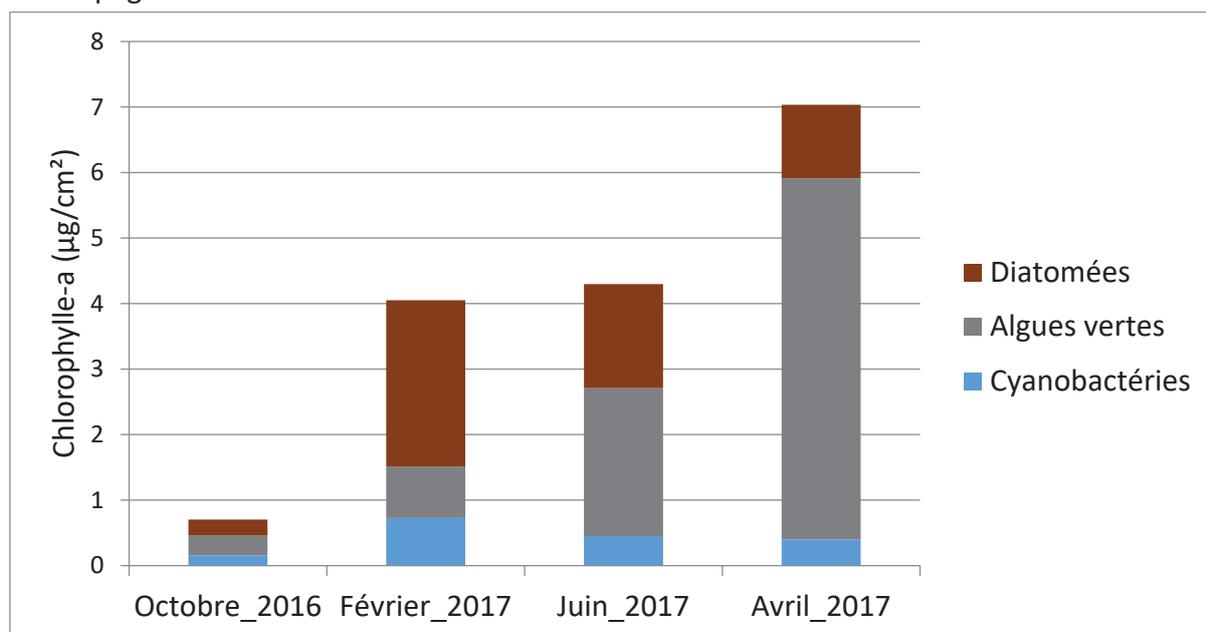
**Figure 2 :** Boite à moustache du COT en fonction des campagnes. Les croix rouges représentent les moyennes

La biomasse algale sédimentaire est significativement différente entre les campagnes (ANOVA I, effet "campagne",  $F_{3,44} = 24.81$ ,  $p < 0.001$ , transformation log). La biomasse algale la plus élevée est mesurée sur la période de juin 2017 ; à cette période, la valeur de Ks est également la plus élevée (fig. 3).



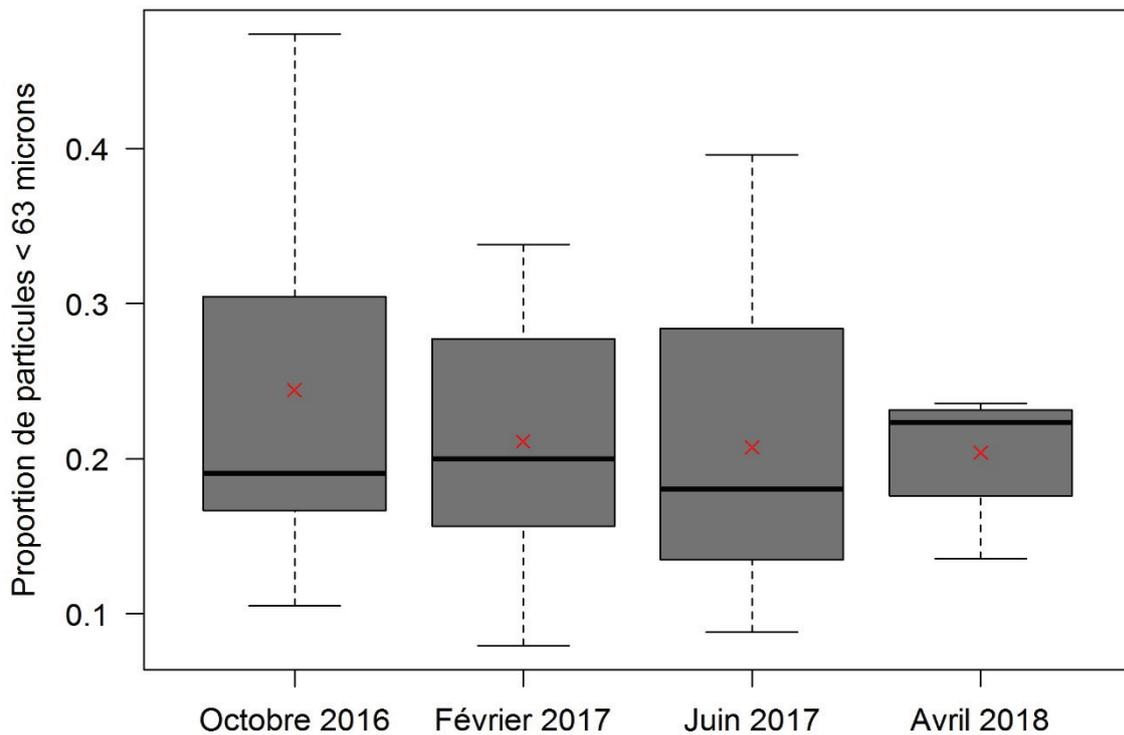
**Figure 3 :** Boite à moustaches de la biomasse algale sédimentaire en fonction des campagnes. Les croix rouges représentent les moyennes

La biomasse algale de surface augmente dans le temps (fig. 4 ; ANOVA I, effet "campagne",  $F_{3,44} = 79.46$ ,  $p < 0.001$ ). Cette augmentation est principalement portée par les densités en algues vertes car les deux autres groupes sont plus abondants en février, c'est-à-dire lors de la campagne de Février 2017.

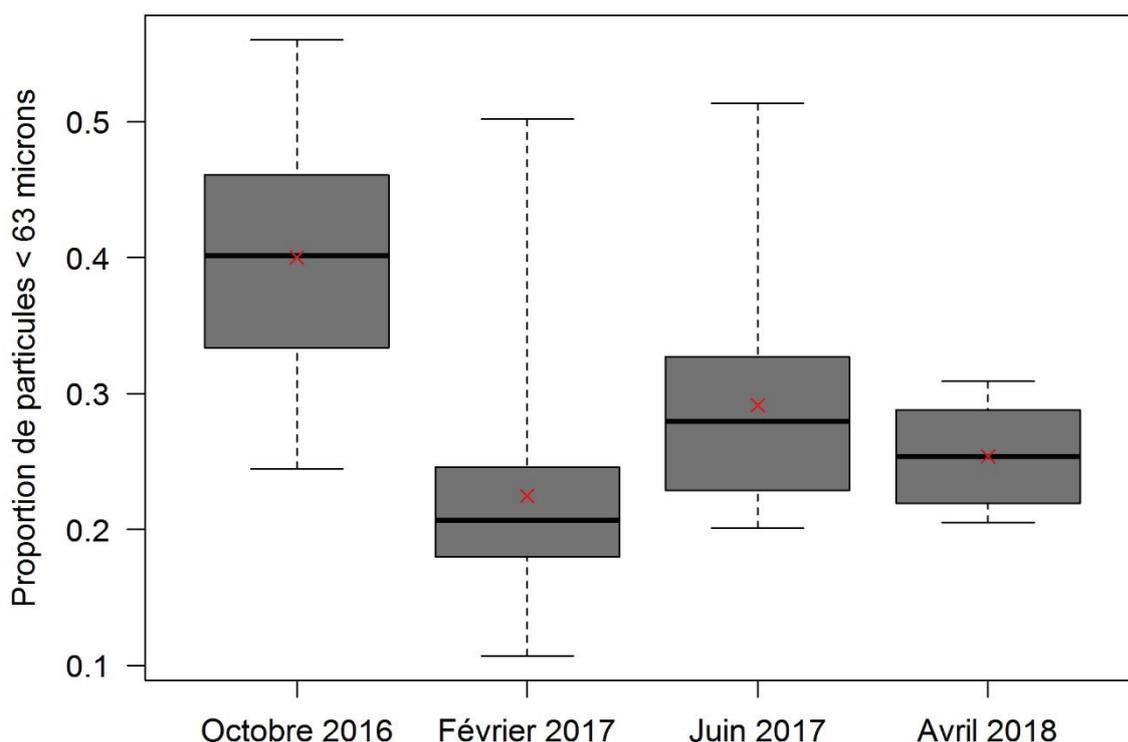


**Figure 4 :** Boite à moustache de la biomasse algale de surface et ses composantes en fonction des campagnes. Les croix rouges représentent les moyennes

Concernant les particules fines sans MO, leur pourcentage ne varie pas selon la campagne (fig. 5 ; ANOVA I, effet "campagne",  $F_{3,44} = 0.35$ ,  $p > 0.05$ , transformation log) alors que le pourcentage de particules fines avec MO est significativement plus élevé lors de la première campagne que pendant les trois autres campagnes suivantes (fig. 6 ; ANOVA I, effet "campagne",  $F_{3,44} = 9.97$ ,  $p < 0.001$ , transformation log). Il est notable que les particules fines sans MO sont toujours inférieures aux particules fines avec MO, supposant une absence d'agrégation des particules fines minérales par la matière organique.



**Figure 5 :** Boîte à moustaches de la proportion de particules fines sans MO en fonction des campagnes. Les croix rouges représentent les moyennes



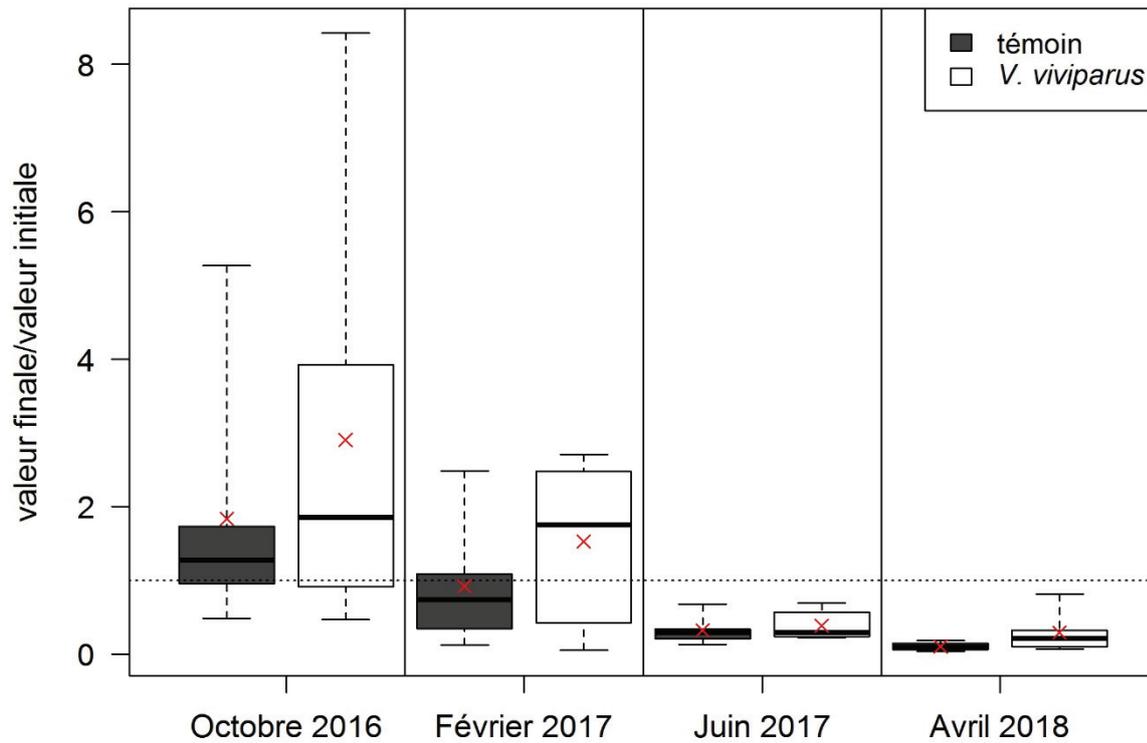
**Figure 6 :** Boite à moustache de la proportion de particules fines avec MO en fonction des campagnes. Les croix rouges représentent les moyennes

Du fait des variations différentes entre campagnes des variables discutées ci-dessus, on ne note aucune corrélation linéaire entre le Ks et les indicateurs de biomasse du biofilm (COT et chloro-a), d'une part, et entre le Ks et les particules fines d'autre part ; ceci, pour l'ensemble du jeu de données (chaque cage étant individualisée dans l'analyse).

### **3.3 Quantification du rôle de *V. viviparus* sur la perméabilité hydraulique et sur les variables physiques et biologiques de l'interface sédimentaire**

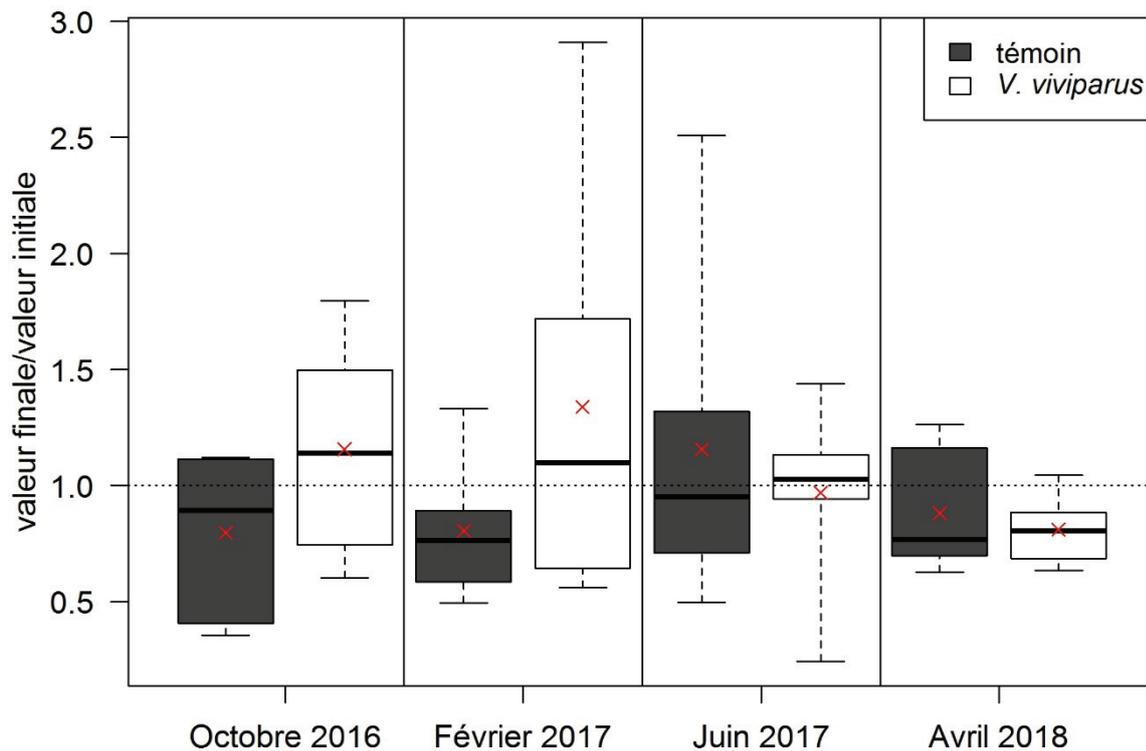
Les données présentées dans cette sous-partie correspondent aux ratios entre la valeur finale et la valeur initiale pour chaque variable et pour chaque cage. Ces ratios représentent l'évolution au cours de l'expérience de la variable considérée. Une valeur de 1 signifie qu'il n'y a pas eu d'évolution de la variable au cours du temps, une valeur inférieure à 1 indique une diminution et une valeur supérieure à 1 indique une augmentation de la variable.

La présence de *V. viviparus* n'a pas eu d'effet de sur la conductivité hydraulique (fig. 7 ; ANOVA II, effet "traitement",  $F_{1,40} = 2.60$ ,  $p > 0.05$ , transformation log).



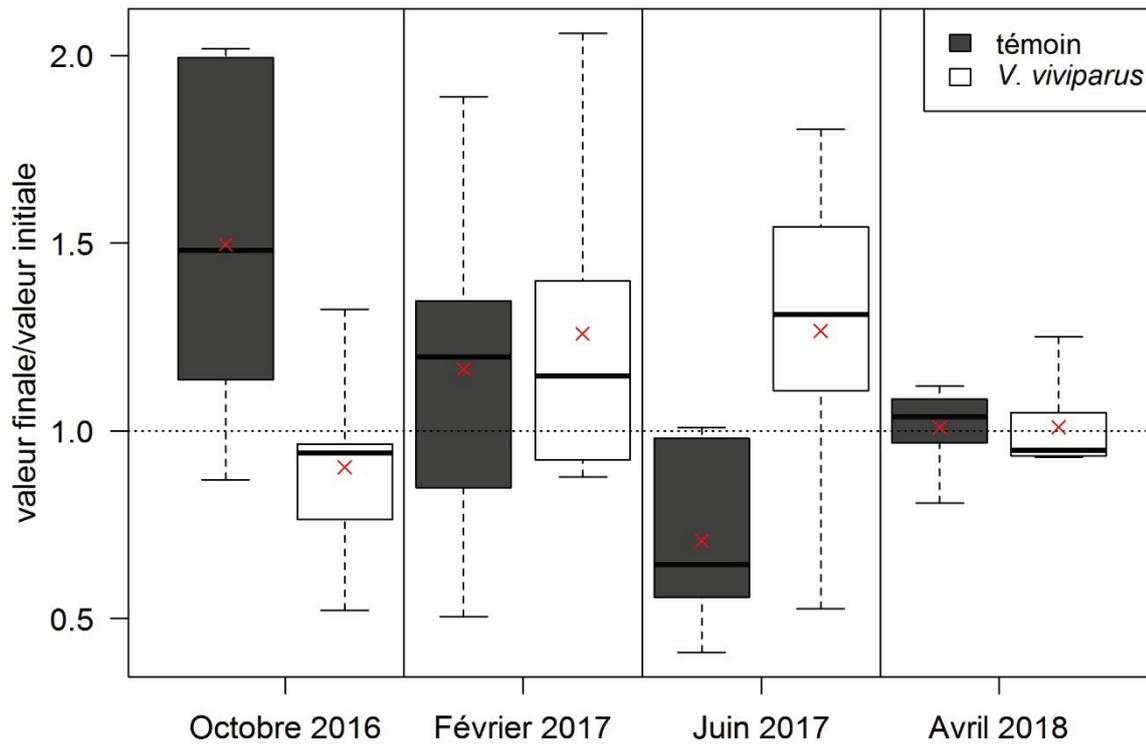
**Figure 7 :** Boite à moustache des ratios des valeurs finales sur les valeurs initiales de conductivité hydraulique en fonction du traitement et de la campagne. Les croix rouges représentent les moyennes

La présence de *V. viviparus* n'a pas eu d'effet sur la proportion de particules fines sans MO (fig. 8 ; ANOVA II, effet "traitement",  $F_{1,40} = 0.95$ ,  $p > 0.05$ , transformation log).



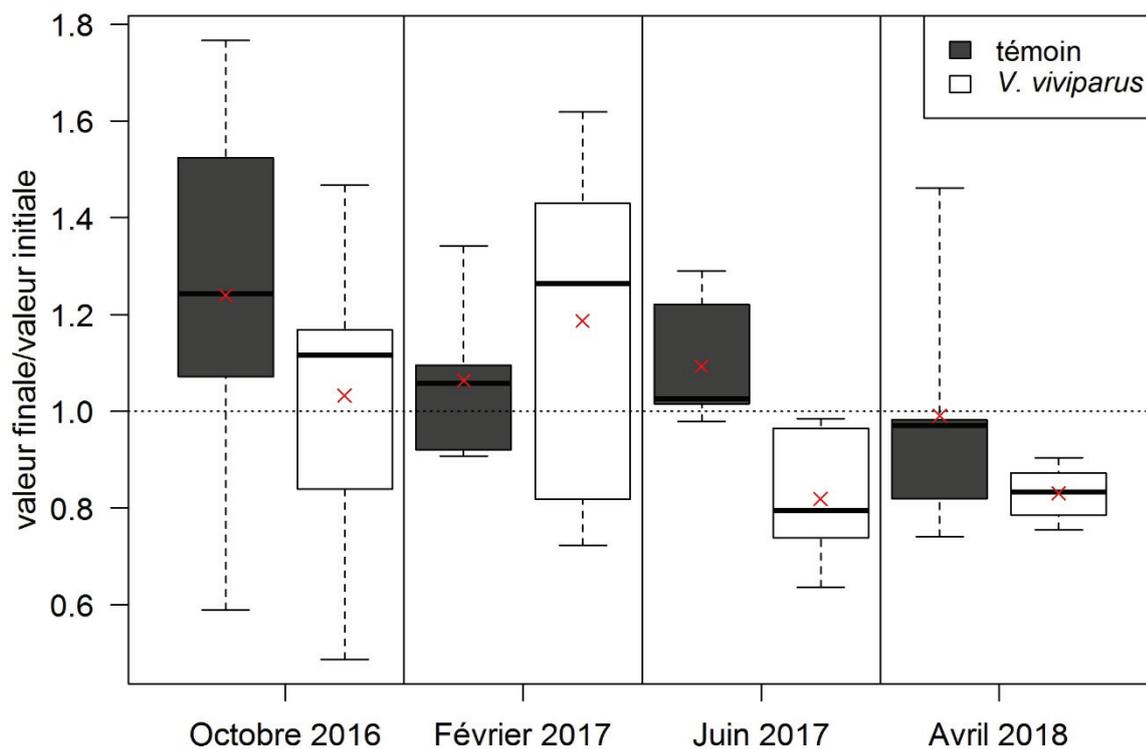
**Figure 8 :** Boite à moustache des ratios des valeurs finales sur les valeurs initiales de proportion de particules fines sans MO en fonction du traitement et de la campagne. Les croix rouges représentent les moyennes

Bien qu'il n'y ait pas eu d'effet significatif de *V. viviparus* sur la proportion de particules fines avec MO (ANOVA II, effet "traitement",  $F_{1,40} = 0.28$ ,  $p > 0.05$ , transformation log), on observe une interaction entre les facteurs « campagne » et « traitement » (ANOVA II, effet "traitement × campagne",  $F_{3,40} = 5.02$ ,  $p < 0.01$ , transformation log). En effet, les résultats montrent une réduction de la proportion de particules fines avec MO en présence de *V. viviparus* comparativement au témoin pour la campagne d'Octobre 2016 alors que l'effet inverse est observé pour la campagne de Juin 2017 (fig. 9).



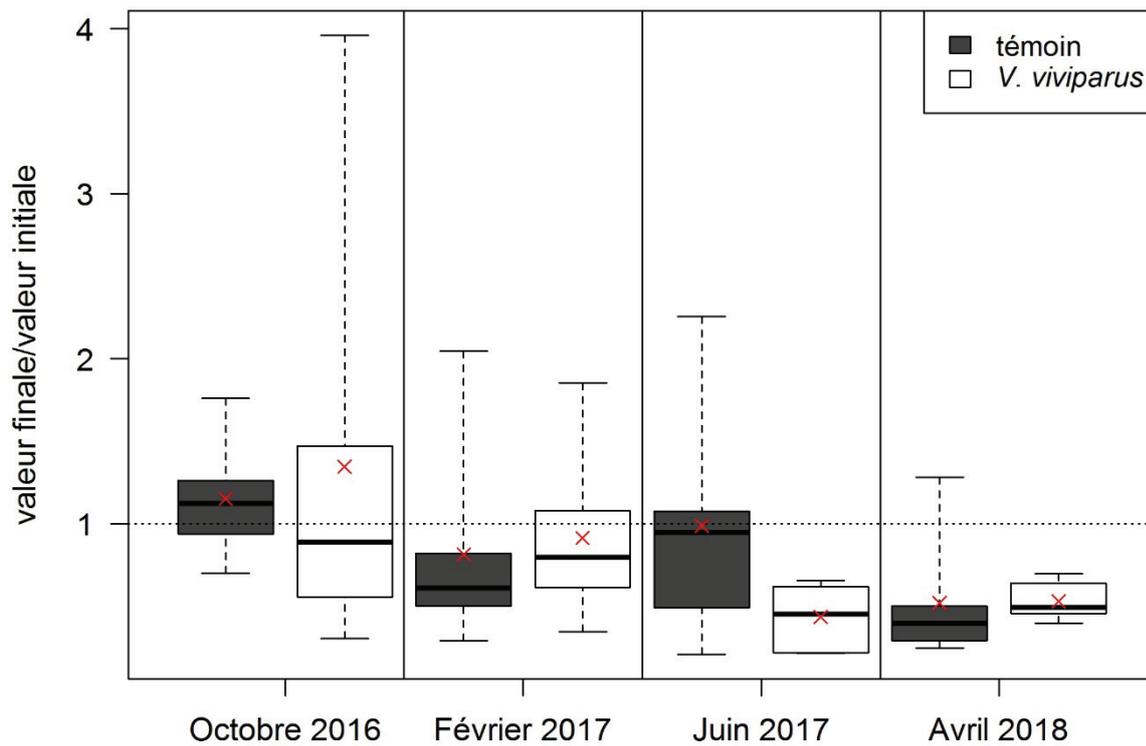
**Figure 9 :** Boite à moustache des ratios des valeurs finales sur les valeurs initiales de proportion de particules fines avec MO en fonction du traitement et de la campagne. Les croix rouges représentent les moyennes

On observe une tendance non significative à une diminution du COT en présence de *V. viviparus* (ANOVA II, effet "traitement",  $F_{1,40} = 3.06$ ,  $p = 0.09$ ) et, plus particulièrement, pour la campagne de Juin 2017 (fig. 10) qui était caractérisée par la biomasse algale sédimentaire la plus élevée en début d'essai (voir fig. 3).



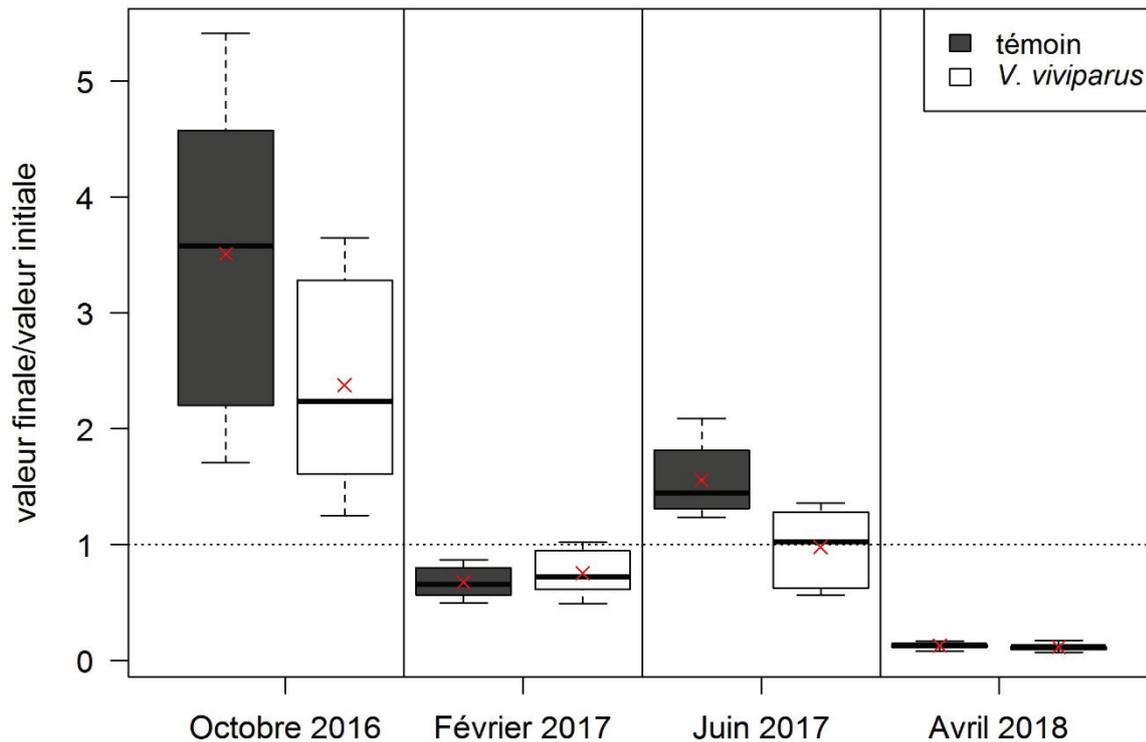
**Figure 10 :** Boite à moustaches des ratios des valeurs finales sur les valeurs initiales du COT en fonction du traitement et de la campagne. Les croix rouges représentent les moyennes

En juin 2017 on note également une diminution de la biomasse algale sédimentaire en présence de *V. viviparus* même si l'effet de *V. viviparus* est non significatif sur cette variable sur l'ensemble des 4 campagnes (ANOVA II, effet "traitement",  $F_{1,40} = 0.47$ ,  $p > 0.05$ , transformation log). En effet, la diminution observée en juin 2017 ne l'est pas lors des autres campagnes (fig. 11).



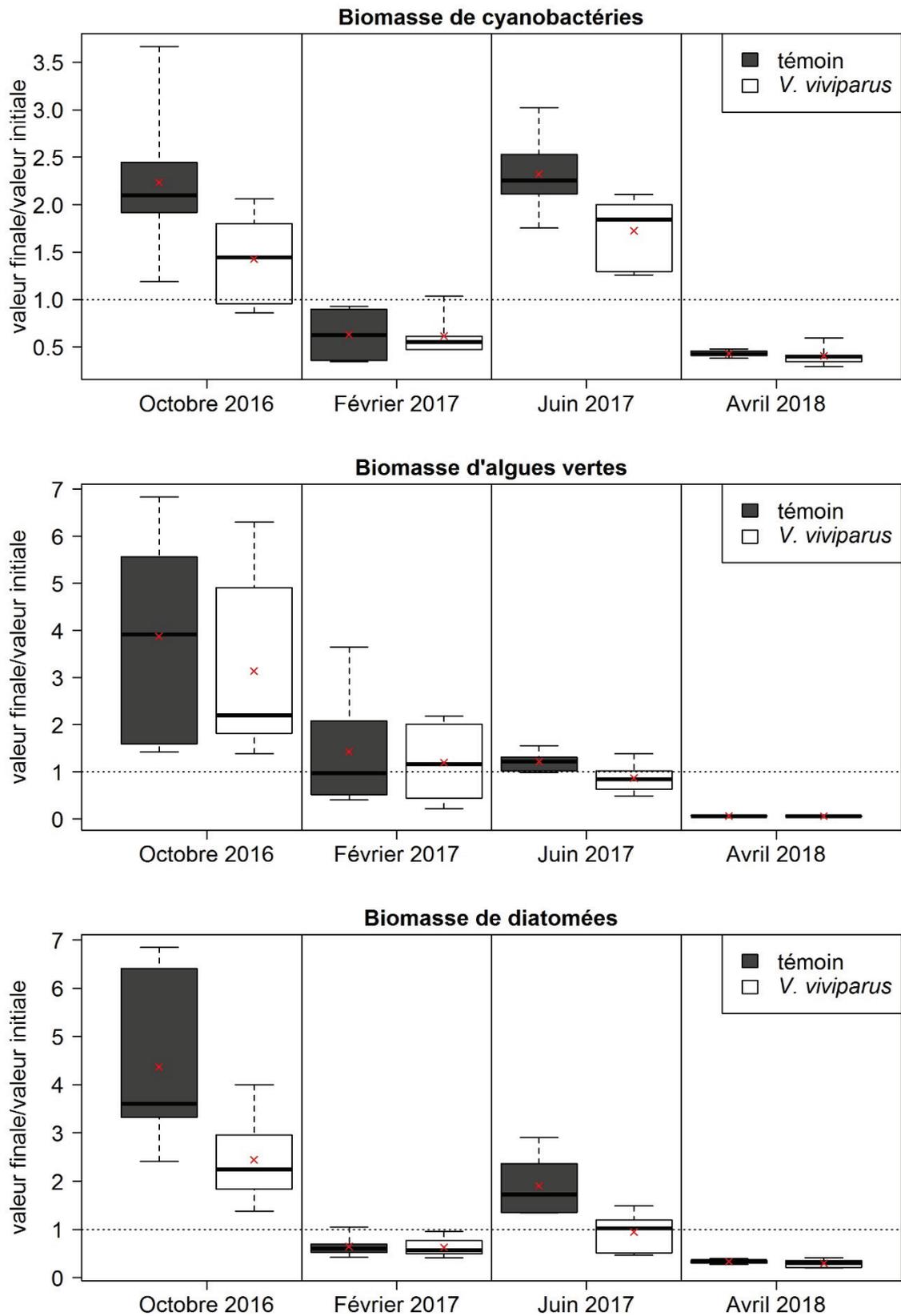
**Figure 11** : Boite à moustache des ratios des valeurs finales sur les valeurs initiales de la biomasse algale sédimentaire en fonction du traitement et de la campagne. Les croix rouges représentent les moyennes

Concernant la biomasse algale de surface, la plus accessible pour *V. viviparus*, celle-ci est réduite significativement par sa présence (fig. 12 ; ANOVA II, effet "traitement",  $F_{1,40} = 5.85$ ,  $p < 0.05$ , transformation log), avec un effet plus marqué pour la campagne de Juin 2017.



**Figure 12 :** Boite à moustache des ratios des valeurs finales sur les valeurs initiales de la biomasse algale de surface en fonction du traitement et de la campagne. Les croix rouges représentent les moyennes

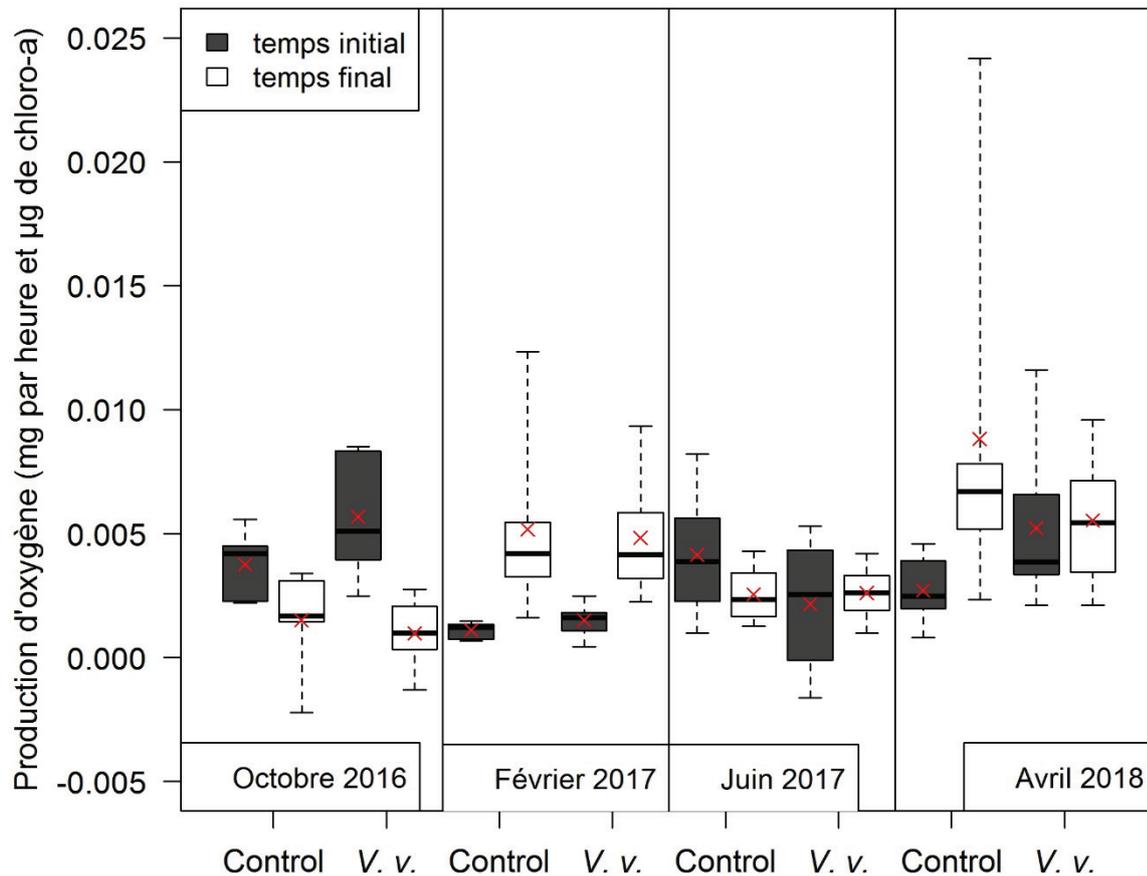
La composition globale de la biomasse algale de surface n'est pas modifiée de la même manière par la présence de *V. viviparus*. Sa présence n'a pas eu d'effet sur la densité des algues vertes (fig. 13 ; ANOVA II, effet "traitement",  $F_{1,40} = 1.24$ ,  $p > 0.05$ , transformation log). Inversement, les diatomées et les cyanobactéries sont impactées négativement par la présence de *V. viviparus* (ANOVA II, effet "traitement",  $F_{1,40} = 14.29$ ,  $p < 0.001$  &  $F_{1,40} = 5.33$ ,  $p < 0.05$ , respectivement). Par ailleurs, il est intéressant de noter que cet effet est le plus important pour les diatomées de la campagne de Juin 2017 (fig. 13 ; ANOVA II, effet "traitement × campagne",  $F_{1,40} = 2.96$ ,  $p < 0.05$ ).



**Figure 13 :** Boite à moustache des ratios des valeurs finales sur les valeurs initiales des composantes de la biomasse algale de surface en fonction du traitement et de la campagne. Les croix rouges représentent les moyennes

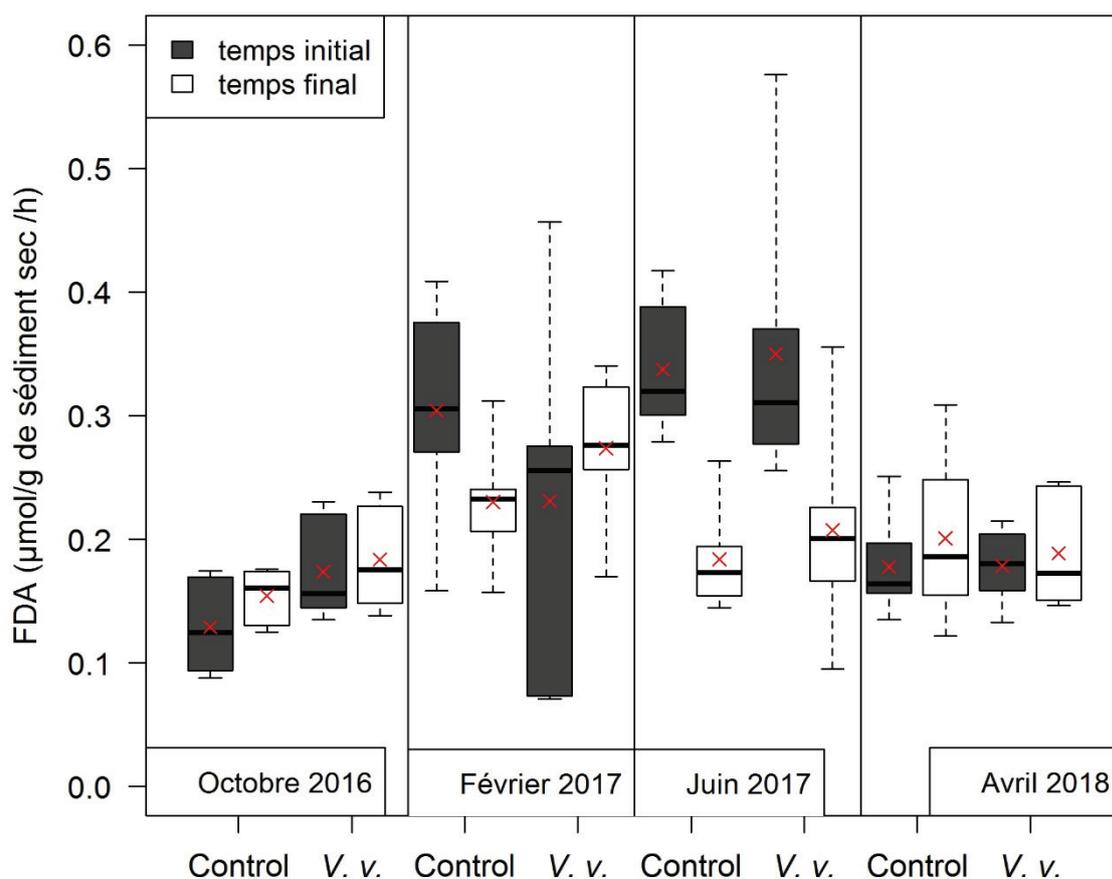
### 3.4 Quantification du rôle de *V. viviparus* sur le fonctionnement du biofilm

Il n'est pas mesuré d'effet significatif de *V. viviparus* sur la production photosynthétique brute quelle que soit la période considérée (fig. 14 ; ANOVA III, effet "traitement",  $F_{1,85} = 0.09$ ,  $p > 0.05$ ).



**Figure 14** : Boîte à moustaches de la production brute en fonction du temps, du traitement et de la campagne. Les croix rouges représentent les moyennes. *V. v.* = *V. viviparus*

De même, l'activité enzymatique estérase (FDA) n'est pas modifiée par la présence de *V. viviparus* aux 4 campagnes (fig. 15 ; ANOVA III, effet "traitement",  $F_{1,87} = 0.31$ ,  $p > 0.05$ ). Par conséquent, les variables associées à l'activité du biofilm ne sont pas significativement influencées par les activités de *V. viviparus*.



**Figure 15** : Boite à moustaches de l'activité hydrolytique en fonction du temps, du traitement et de la campagne. Les croix rouges représentent les moyennes. *V. v.* = *V. viviparus*

#### 4. Discussion

Dans cette étude, nous avons testé l'influence de *V. viviparus* sur les propriétés physiques et biologiques de l'interface eau/sédiment d'un bassin d'infiltration colmaté, pour des conditions saisonnières contrastées. Ce travail comprenait trois objectifs principaux.

Le premier objectif était de quantifier la contribution respective des processus biologiques et physiques dans le colmatage du support d'infiltration au cours du temps. Nos résultats montrent que la conductivité hydraulique, initialement étonnamment basse ( $< 10^{-5}$  m/s), ne se détériore pas au cours du temps ; ceci, malgré les variations de biomasses totale (COT) et algale de surface (chlorophylle-*a* mesurée au BenthosTorch) qui tendent à augmenter dans le temps. La biomasse algale de surface augmente globalement au cours du temps avec des valeurs plus élevées en juin 2017 et avril 2018, probablement en réponse aux photopériodes qui sont également plus élevées à ces deux saisons. En effet, il a été largement démontré que la lumière était le facteur le plus déterminant avec les nutriments pour le développement des communautés algales (Hillebrand, 2005 ; Hill, 1996). En juin 2017, l'augmentation de biomasse algale de surface est liée à un développement d'algues vertes et d'algues diatomées alors qu'en avril 2018 elle est uniquement expliquée par une croissance d'algues vertes. Ces résultats rejoignent clairement nos observations de terrain montrant un

développement d'algues vertes filamenteuses en avril 2018. Les diatomées sont plus représentées en hiver, ce qui est cohérent avec la bibliographie étudiant les successions algales au cours des saisons (Soma et al., 1993). Malgré les variations de biomasse algale de surface mais aussi de biomasses totale et algale sédimentaire, la conductivité hydraulique ( $K_s$ ) reste globalement comparable au cours des saisons, ce qui tend à indiquer que le colmatage n'est pas contrôlé par des variables biologiques en lien avec le développement des biofilms contrairement à ce qui était observé lors des études précédentes (Gette-Bouvarot et al., 2014 ; Gette-Bouvarot et al., 2015 ; Estragnat et al., 2018). A l'inverse des variables relatives à la structure globale des biofilms, les teneurs en particules fines avec et sans MO restent comparables au cours du temps tout comme la conductivité hydraulique ( $K_s$ ). Même si nos résultats ne nous permettent aucunement de relier les particules fines avec le processus de colmatage, les analyses granulométriques effectuées avant et après suppression de la matière organique révèlent que la proportion de particules fines ( $<63\mu\text{m}$ ) est supérieure en présence de matière organique. Ainsi, inversement à ce qui est généralement montré dans la bibliographie (Badin et al., 2009 ; Badin et al., 2009) et des résultats que nous avons obtenus précédemment sur d'autres bassins (Estragnat et al., 2018), la matière organique ne tend pas à favoriser la constitution d'agrégats (lesquels réduiraient la proportion de particules fines en présence de matière organique). Cette absence d'agrégation des particules fines par la MO peut avoir un effet négatif sur le volume du réseau poral et, par conséquent, sur les capacités d'infiltration du milieu (Gette-Bouvarot et al., 2014). Cela étant, les variables mesurées dans cette étude ne permettent pas de démontrer ce point.

Le deuxième objectif était d'évaluer si l'efficacité de *V. viviparus* pour décolmater est fonction du degré de colmatage. Notre hypothèse était que plus l'interface est colmatée, plus *V. viviparus* aura une influence positive sur la conductivité hydraulique. Contrairement à cette hypothèse, nos travaux montrent que l'efficacité du gastéropode pour réduire le colmatage n'est pas supérieure dans le cas d'un colmatage plus prononcé. Dans le cas de cette étude, la présence du gastéropode n'est d'ailleurs pas efficace pour réduire le colmatage dans le bassin étudié quelle que soit la campagne. On peut supposer que cette absence d'effet positif de *V. viviparus* sur la conductivité hydraulique est liée à un colmatage non biologique sur ce bassin. Plus particulièrement, l'absence d'agrégation des particules fines par la matière organique observée dans ce bassin peut avoir conduit à un colmatage par insertion de particules fines dans les pores du sable du bassin en dessous de la couche « bioturbée » par *V. viviparus*. Dans ces conditions, les actions de nutrition et de déplacement du gastéropode s'avèrent alors inefficaces pour réduire le colmatage. On note aussi que *V. viviparus* tend uniquement à réduire le développement algal et la biomasse totale (COT) en juin 2017 lorsque la quantité de chlorophylle-*a* dans le premier cm de sédiments était la plus élevée (autour de  $10\ \mu\text{g/g}$  de sédiment sec) et lorsque les températures du milieu étaient autour de  $20\ ^\circ\text{C}$ . Or, Gette-Bouvarot et al. (2015) et Estragnat et al. (2018) ont mesuré une réduction significative de la biomasse algale par *V. viviparus* dans les mêmes conditions de température et pour des biomasses algales du même ordre que dans l'étude présente. Cette

confrontation des deux études suggère que l'action de *V. viviparus* sur les algues serait liée aux conditions de température mais aussi à la densité du tapis algal. D'une part, *V. viviparus* étant un organisme ectotherme, il est potentiellement plus actif pour des températures de l'ordre de 20°C que pour des températures plus basses (11 à 16 °C dans notre étude). Cela pourrait expliquer une augmentation de l'activité de nutrition de ce gastéropode en juin 2017 et donc un effet significatif sur la biomasse algale. D'autre part, les résultats présentés dans la partie III.1 du manuscrit montrent que *V. viviparus* est capable de constituer des ressources énergétiques sur plusieurs sources de nourriture et n'est pas dépendant de la composante algale des biofilms pour sa nutrition. Par conséquent, l'absence d'effet significatif de *V. viviparus* sur la biomasse algale aux différentes campagnes peut être liée à une nutrition non exclusive de *V. viviparus* sur les algues mais aussi sur la composante hétérotrophe (couche non éclairée du 1<sup>er</sup> cm de sédiment étudié) comme peut en témoigner la baisse du COT mesurée en présence du gastéropode en juin 2017. En effet, même si les algues sont une ressource plus efficace que le biofilm sédimentaire pour la constitution de ressource énergétique lorsque ces sources sont en excès (partie III.1 du manuscrit), la recherche d'algues dans un milieu où celles-ci sont peu abondantes peut s'avérer très coûteuse et ne pas être bénéfique pour *V. viviparus*. Par exemple, Denny (1980) et Calow (1974) indiquent que le coût énergétique de production du mucus par les gastéropodes aquatiques atteint des valeurs allant de 13% à 32% de l'énergie assimilée par les animaux. Dans ces conditions, il est fort probable que *V. viviparus* module son régime trophique en fonction des ressources disponibles afin de limiter ses coûts énergétiques de déplacement. Le troisième objectif était de déterminer l'influence de *V. viviparus* sur l'activité du biofilm, qu'elle soit positive ou négative. Notre hypothèse était une stimulation directe des activités du biofilm via un retrait des cellules sénescents sous l'effet du broutage et une stimulation indirecte via la régénération des nutriments liés à ces mêmes activités. L'hypothèse alternative étant une réduction trop massive de la densité des biofilms pour que son fonctionnement soit maintenu ou stimulé. Etant donné l'effet limité de *V. viviparus* sur la structure du biofilm, il n'a pas non plus été mesuré d'effet de *V. viviparus* sur l'activité du biofilm (photosynthèse et activité estérase). L'activité trophique du gastéropode n'était sans doute pas suffisante pour modifier la « productivité » de la composante phototrophe du biofilm comme cela a été montré dans plusieurs études (Lamberti et al., 1987 ; Gette-Bouvarot et al., 2015).

Pour conclure, les caractéristiques du bassin (faible  $K_s$  potentiellement lié à un colmatage physique, faible densité de biofilm par rapport aux études précédentes – COT faible – biomasse algale sédimentaire < 10µg / g de sédiment sec) font que *V. viviparus* a eu peu d'effet que ce soit sur le biofilm ou sur la conductivité hydraulique pour l'ensemble des quatre campagnes. Le colmatage non biologique du bassin étudié explique en grande partie nos résultats car l'effet positif des gastéropodes sur la conductivité hydraulique a été précédemment mesuré dans des bassins présentant un développement plus important de biofilm à la surface des sédiments (valeurs de COT bien supérieures à 1% de sédiment sec

alors que celui-ci est en moyenne inférieur à 0.8% dans l'étude présente). Dans le cas de ce travail, on suppose que le colmatage peut être lié à un colmatage de la matrice sableuse par des particules fines qui n'ont pas été agrégées par la MO présente. Ce phénomène pourrait expliquer nos observations de terrain témoignant d'un carottage particulièrement difficile qui était clairement lié à la dureté des sédiments. Cependant, d'autres pistes conduisant au même phénomène peuvent être explorées telles que la présence d'un colmatage chimique par précipitation de calcite.

## Partie IV : Synthèse et Perspectives

Ma thèse avait pour objectif d'observer, mesurer et comprendre les effets des variations des conditions environnementales, et notamment du contexte sédimentaire, sur l'efficacité du décolmatage des interfaces eau/sédiment par des gastéropodes herbivores. Il s'agissait également d'évaluer la capacité de ces organismes à maintenir leur bon état physiologique au cours des différentes saisons. Ces objectifs se déclinent en deux principaux volets :

Volet 1-Dynamique des interactions biofilm/brouleur : conséquences sur l'état physiologique du brouleur

Quel est l'impact de la variabilité saisonnière sur la survie et l'état physiologique de l'organisme introduit à l'interface eau/sédiment ?

Volet 2-Dynamique des interactions biofilm/brouleur : conséquences sur les propriétés hydrauliques et écologiques de l'interface eau/sédiment

Quel est l'impact de la variabilité spatio-temporelle du milieu sur les actions de l'organisme introduit à l'interface eau/sédiment ?

---

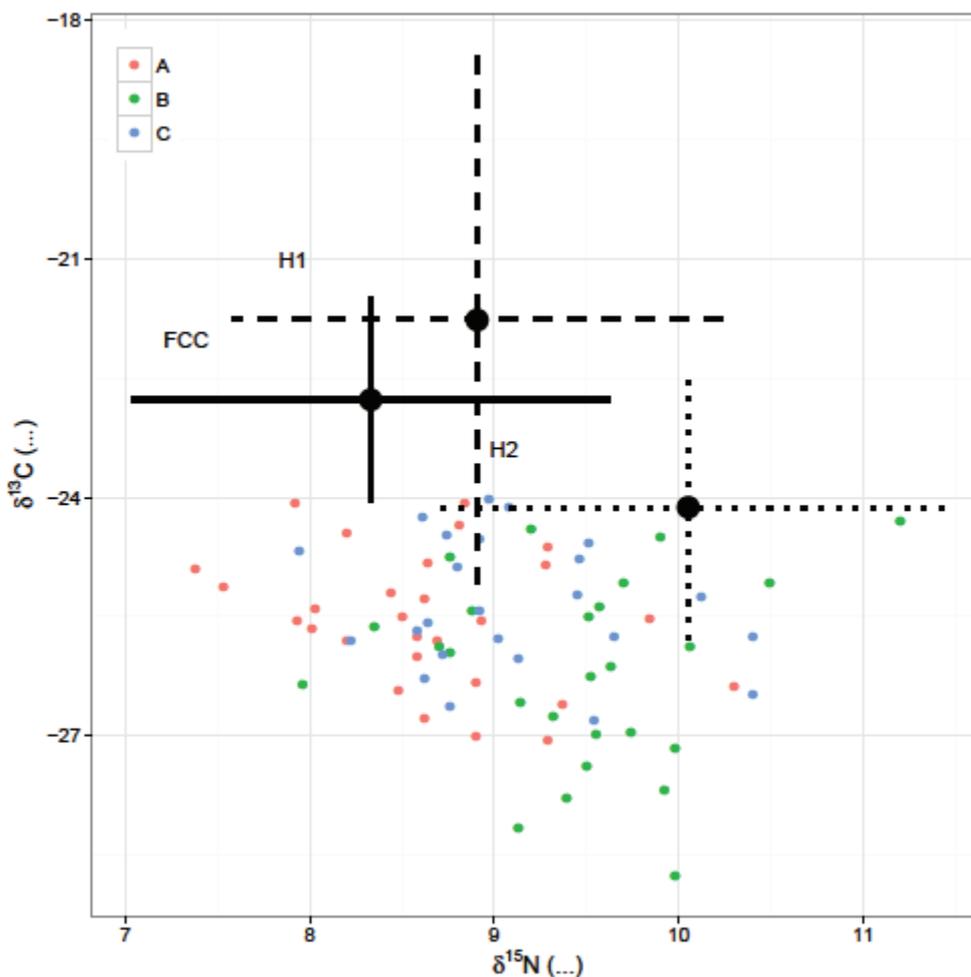
### IV.1 Quel est l'impact de la variabilité saisonnière sur la survie et l'état physiologique de l'organisme introduit à l'interface eau/sédiment ?

L'objectif de ce premier volet était de tester la faisabilité d'une solution d'ingénierie écologique basée sur l'introduction de *V. viviparus* dans des bassins d'infiltration servant à la recharge de la nappe phréatique. Cette biomanipulation ne peut être durable que si le gastéropode est capable de s'accommoder des variations saisonnières du milieu et particulièrement des ressources trophiques.

Les résultats ont clairement démontré que les *V. viviparus* pouvaient survivre dans des conditions environnementales contrastées, c'est-à-dire à différentes saisons. De plus, après six semaines d'expérimentation, les individus présentaient des concentrations en triglycérides comparables au contrôle positif (i.e. nourriture d'élevage), ce qui reflétait une capacité à maintenir leurs réserves énergétiques et, par conséquent, à rester dans bon état physiologique. Bien que le tapis algal soit une source de nourriture plus favorable d'un point de vue énergétique que le biofilm sédimentaire, c'est le mélange des sources trophiques (i.e. « mixing diet ») qui permet d'atteindre les concentrations les plus élevées en triglycérides. Ces résultats nous permettent de conclure que l'utilisation de *V. viviparus* pour la restauration des écosystèmes aquatiques peut être envisagée de manière durable car les organismes sont capables de survivre et de maintenir leur état physiologique au cours des différentes saisons.

A présent, les perspectives de ce travail pourraient être de décrire plus finement le régime alimentaire des *V. viviparus* en identifiant les ressources réellement assimilées. Une approche par analyses isotopiques répondrait parfaitement bien à un tel objectif. Au cours de ce travail de thèse, des travaux ont été initiés en considérant les signatures isotopiques du

C et du N des organismes testés (*V. viviparus*) et des ressources trophiques disponible dans les bassins étudiés et présentés dans l'article 2 (partie III.1 du manuscrit). Malheureusement, les signatures isotopiques ( $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$ ) des différentes ressources trophiques prélevées sur le terrain se sont avérées trop proches pour évaluer leurs parts relatives dans le régime alimentaire de *V. viviparus* (fig. IV.1). Pour parvenir à différencier les sources trophiques, nous proposons en complément d'utiliser les isotopes du soufre. Une autre solution serait d'enrichir artificiellement les ressources trophiques pour mieux suivre leur devenir. De notre point de vue, une expérimentation de terrain permettrait de conserver la diversité taxonomique des micro-organismes. On pourrait, par exemple, faire buller du  $\text{CO}_2$  enrichi en  $^{13}\text{C}$ , ce qui entrainerait un marquage différencié des organismes phototrophes et hétérotrophes. Ces analyses pourraient également nous permettre de mettre en évidence l'importance du mélange de source trophique (i.e. mixing diet) chez *V. viviparus*.



**Figure IV.12 :** Représentation graphique des signatures isotopiques des *V. viviparus* en fonction des bassins (couleur) et signatures isotopiques des ressources trophiques présentes (FCC = algues filamenteuses ; H1 = tapis algal, H2 = biofilm sédimentaire) pour un fractionnement de  $+3,4 \pm 2 \Delta^{15}\text{N}$  et  $+0,5 \pm 1 \Delta^{13}\text{C}$

La deuxième perspective proposée s'appuie sur la théorie de stratégie optimale de recherche de nourriture (i.e. « optimal foraging theory » ; MacArthur & Pianka, 1966 ; Emlen, 1966), selon laquelle les organismes mettent en place des stratégies leur permettant d'optimiser leurs apports en nutriments. Ainsi, dans un environnement présentant une variabilité spatiale de la qualité des ressources trophiques, les organismes consommateurs vont faire le choix de se nourrir sur les ressources pour lesquelles le coût en temps et en déplacement n'excède pas le bénéfice en énergie. Dans ce contexte théorique, il serait intéressant de tester les choix de ressources trophiques de *V. viviparus* en lui proposant plusieurs patches de qualités différentes. On peut imaginer l'utilisation de puces GPS sur ces organismes pour suivre leurs déplacements sur les différents patches et en même temps réaliser des analyses isotopiques pour connaître l'assimilation des ressources trophiques. Enfin, une dernière perspective serait de tester la survie de *V. viviparus* sur le long terme (échelle pluriannuelle). L'utilisation de bassins expérimentaux permettant de travailler à une échelle pilote serait tout à fait pertinente. Cette échelle pourrait notamment permettre de faire un suivi de population en fonction des conditions environnementales.

#### IV.2 Quel est l'impact de la variabilité spatio-temporelle du milieu sur les actions de l'organisme introduit à l'interface eau/sédiment ?

##### IV.2.1 Quel est l'impact de la variabilité spatiale sur les actions de l'organisme à une période propice au développement du biofilm ?

Le but de ce sous-volet était de tester l'influence de la variabilité spatiale du milieu sur les actions de *V. viviparus* (i.e. relation trophique, remaniement sédimentaire) à l'interface eau/sédiment. Les résultats de ce premier sous-volet ont mis en évidence que *V. viviparus* avait, à la même période, une influence positive sur la conductivité hydraulique de trois bassins d'infiltration ayant des caractéristiques initiales contrastées. Mais l'hypothèse de « contexte dépendance » selon laquelle l'influence du brouteur sur la conductivité hydraulique serait la plus importante dans le bassin le plus colmaté par la biomasse algale n'a pas été validée. De plus, bien que l'influence du brouteur soit majoritairement associée à sa consommation du tapis algal, des effets sur la conductivité hydraulique liés aux actions physiques comme la « crawling activity » et la pelletisation ont été observés.

L'absence de validation de l'hypothèse de « contexte dépendance » sur l'action des organismes ingénieurs peut provenir d'un manque de contraste entre les interfaces eau/sédiment des différents bassins étudiés, par comparaison aux études ayant permis de construire cette hypothèse (Gutiérrez et al., 2003 ; Navel et al., 2012). En effet, Navel et al. (2012) ont comparé des sédiments sablo-graveleux sur lesquels étaient ajoutés soit des particules fines (i.e. limons et argiles), soit du sable, alors que dans notre cas les différences sédimentaires étaient plus réduites. Ainsi, les perspectives de ce travail pourraient être de tester l'hypothèse de « contexte dépendance » dans des conditions de laboratoire afin de contrôler les caractéristiques des interfaces eau/sédiment et d'avoir un contraste plus marqué.

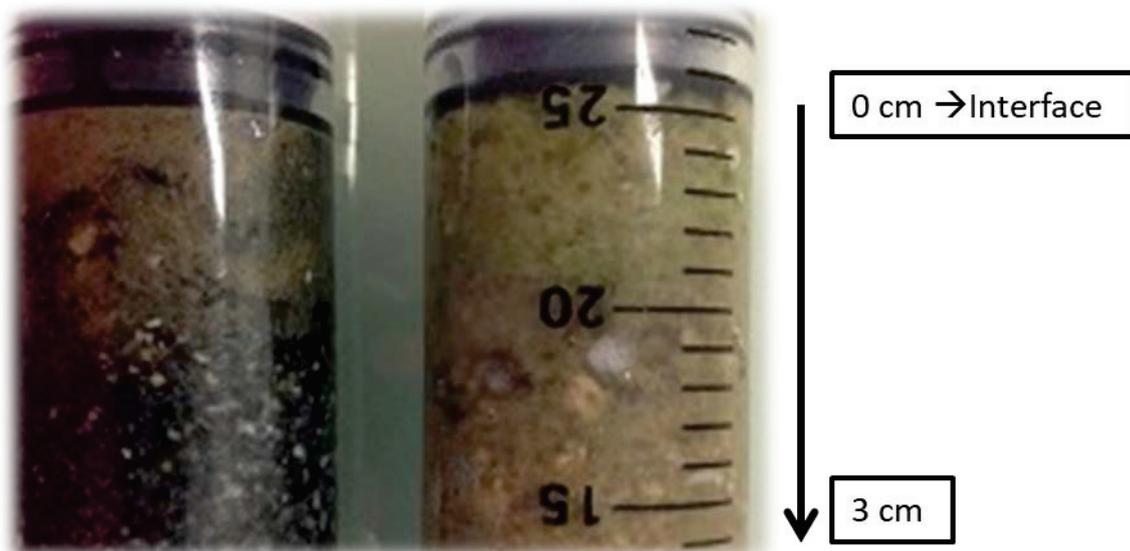
Enfin, une perspective importante serait de quantifier la contribution respective des actions physiques et des actions trophiques du gastéropode sur la conductivité hydraulique. En effet, *V. viviparus* agit comme un « bulldozer » sur l'interface eau/sédiment, remaniant fortement le substrat et laissant de nets sillons sur son passage (Sommer, 2000). Une telle action est observée non seulement lors de ses déplacements mais aussi lors de sa consommation du biofilm. Afin de distinguer les actions trophiques et les actions physiques du gastéropode, la comparaison avec un brouteur de petite taille et ayant une action très limitée sur le sédiment (e.g. *Physella*) serait envisageable. Une telle approche permettrait d'observer seulement l'effet d'actions trophiques d'un brouteur sur la conductivité hydraulique des interfaces eau/sédiments.

#### IV.2.2 Quel est l'impact de la variabilité saisonnière sur les actions de l'organisme ?

Ce deuxième sous-volet comportait plusieurs objectifs : tout d'abord celui de quantifier, au cours du temps, la contribution respective des processus biologiques et physiques dans le colmatage du support d'infiltration. Le second objectif était d'évaluer l'efficacité de *V. viviparus* pour limiter le colmatage aux différentes saisons. Enfin le troisième objectif était de déterminer le rôle de *V. viviparus* sur le fonctionnement des biofilms phototrophes.

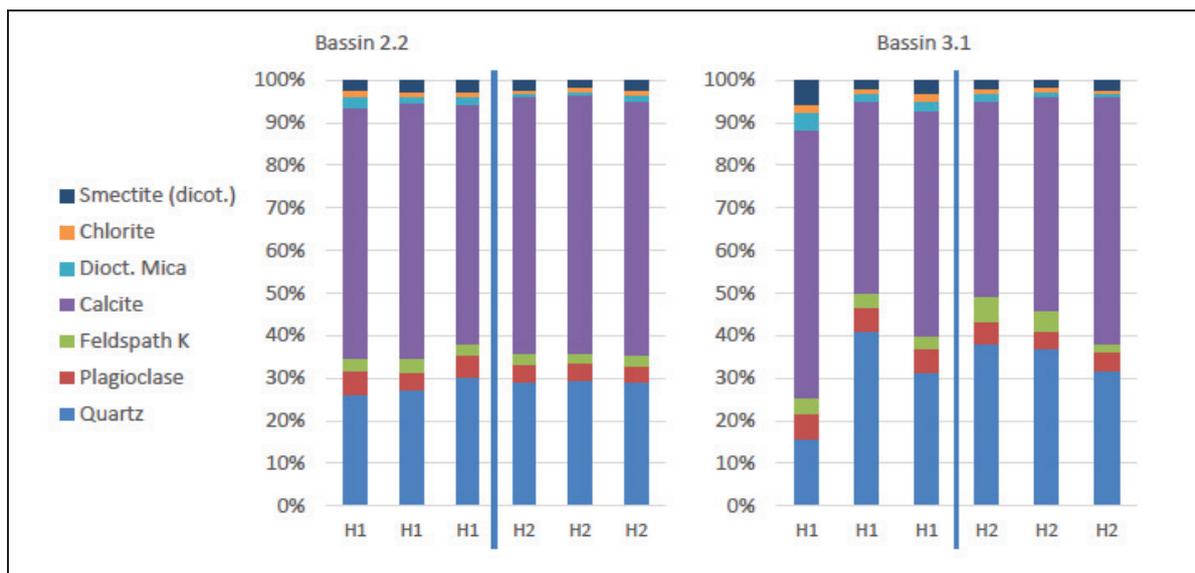
De manière surprenante, le colmatage dans le bassin étudié n'a pas pu être mis en lien avec des processus biologiques (biomasse algale) ou physiques (proportion de particules fines) quelle que soit la saison. De plus, les résultats n'ont pas mis en évidence une influence positive de *V. viviparus* sur la conductivité hydraulique, et ce même lorsque le gastéropode avait une influence négative sur la biomasse algale ou totale. Ces résultats supportent l'idée d'un colmatage non biologique en deçà de la zone « bioturbée » par les activités de *V. viviparus* ou d'une forme de colmatage qui inhiberait l'activité de bioturbation. En effet, certains types de colmatage peuvent agir comme un « ciment » sur le sédiment et gêner la progression verticale de *V. viviparus*, rendant le substrat trop dur pour être creuser.

Au vu des résultats de cette partie, la première perspective de ce travail est clairement de mieux comprendre les processus de colmatage du bassin étudié car celui-ci se distingue complètement de ceux observés dans les études précédemment menées dans d'autres bassins du même site. Le faible taux d'agrégation des particules peut expliquer en partie le colmatage de l'interface eau/sédiment de ce bassin. Néanmoins, ce n'est qu'une hypothèse et il est crucial de mieux comprendre les processus contrôlant la conductivité hydraulique sur ce bassin. Pour cela, nous avons initié un premier travail via des analyses minéralogiques (ISTerre, Bruno Lanson & Nathaniel Findling) et de porosimétrie par intrusion de mercure (IGE, Hervé Denis) en collaboration avec les laboratoires de la plateforme de recherche de Crépieux-Charmy. Les analyses ont été effectuées sur des carottes prélevées en mai 2018 dans le bassin de cette expérience (2.2) et dans un bassin (3.1) qui présentait une capacité d'infiltration considérée comme satisfaisante par les gestionnaires (fig. IV.2).

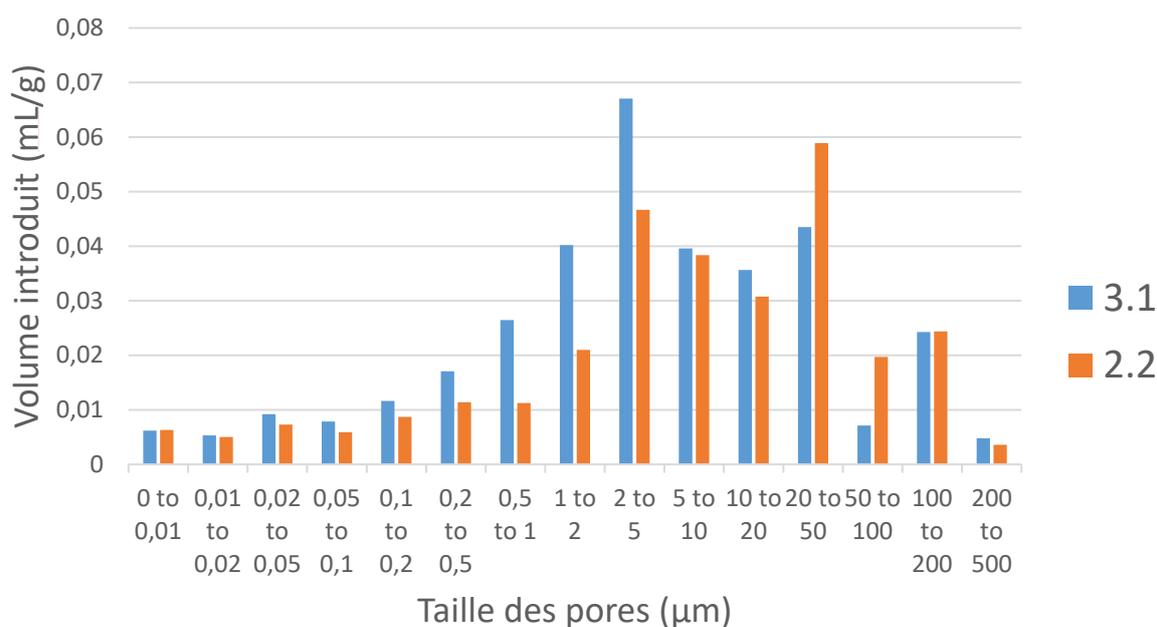


**Figure IV.13** : Photographie de deux carottes effectuées dans le bassin 2.2 (à gauche) et dans le bassin 3.1 (à droite)

Les premières analyses consistaient à modéliser des diffractogrammes de rayons X (méthode Rietveld) après identification des phases cristallines. Ces analyses nous permettent d'obtenir les proportions des minéraux présents dans l'échantillon de sédiment. Deux horizons sédimentaires ont été différenciés dans l'analyse, le premier centimètre de sédiment (H1) et en dessous de ce premier centimètre (H2). Les résultats mettent en évidence une plus importante hétérogénéité dans le bassin 3.1 (fig. IV.3) qui est caractérisé par un « squelette » plus poreux de silicates détritiques (quartz, feldspaths –K et plagioclase) que le bassin 2.2 qui est anormalement colmaté. De plus, le bassin 2.2 présente une proportion de calcite de 7% supérieure (en moyenne) au bassin 3.1. Il est important de préciser que le sable utilisé comme support d'infiltration est le même dans les deux bassins, les différences étant dues aux apports extérieurs ou au fonctionnement intrinsèque des bassins. Ces éléments vont dans le sens d'une résistance plus forte à l'infiltration dans le bassin 2.2.



**Figure IV.14 :** Histogrammes empilés de la composition minéralogique en fonction de la profondeur (triplicat) et du bassin.



**Figure IV.4 :** Volume de mercure introduit en fonction de la taille de l'entrée des pores du sédiment.

Les analyses de porosimétrie par intrusion de mercure nous permettent d'obtenir des informations sur le pourcentage de porosité, le volume de cette porosité mais également la taille de l'entrée des pores et leurs volumes relatifs par classe de taille (seuls les pores connectés sont pris en compte). Les résultats ont mis en évidence une porosité plus faible dans le bassin 2.2 comparé au bassin 3.1 (fig. IV.4). En effet, le volume total de mercure introduit était de  $0.29 \text{ mL.g}^{-1}$  pour le bassin 2.2 et  $0.34 \text{ mL.g}^{-1}$  pour le bassin 3.1. Ces deux

analyses mettent donc en évidence un colmatage chimique par précipitation de calcite réduisant la taille de la porosité, la conductivité hydraulique et l'activité de bioturbation du gastéropode. Cette étude était exploratoire car le problème était totalement inattendu. Ainsi, il conviendrait à présent de confirmer les tendances obtenues en appliquant un plan d'échantillonnage plus conséquent au sein des mêmes bassins.

Une ouverture à ce travail exploratoire serait d'identifier les critères de gestion du bassin conduisant au colmatage des bassins d'infiltration par des processus chimiques. Parmi ces critères, les effets de la température, de la fréquence des assecs ou encore du niveau d'eau pourraient être testés car ils peuvent influencer la précipitation de calcite.

L'utilisation de bassins expérimentaux à une échelle expérimentale pilote pourrait nous permettre de répondre aux questions soulevées au cours de cette section. En effet, ils permettraient de contrôler ou de suivre certains paramètres comme la hauteur d'eau, les apports en nutriments et en MES ou encore la fréquence des assecs.

L'utilisation d'une solution d'ingénierie écologique permettant d'obtenir une plus grande quantité d'eau infiltrée ne doit pas se faire au détriment de sa qualité. Dans ce but, les bassins expérimentaux pourraient être équipés de systèmes de récupération de l'eau infiltrée. Ces équipements permettraient de quantifier l'effet de *V. viviparus* sur la qualité microbiologique des eaux infiltrées. En effet, sa présence pourrait favoriser ou inversement inhiber le développement de certains microorganismes, ce qui pourrait avoir une influence sur l'épuration de l'eau ou la présence de toxines. De plus, la récupération des eaux infiltrées permettrait aussi de tester l'effet de *V. viviparus* sur la qualité physico-chimique des eaux lors du transfert (quantifié la dynamique des nutriments et du carbone organique dissous).

#### IV.3 Conclusion :

Cette thèse a permis de confirmer l'intérêt des solutions d'ingénierie écologique et notamment de biomanipulation pour limiter le colmatage du support d'infiltration par des processus biologiques. A notre connaissance, ce type d'approche est tout à fait novateur dans ces milieux. Ce travail de thèse a plus particulièrement permis de démontrer la faisabilité de ces solutions en s'intéressant à la capacité des organismes à survivre et à maintenir leur bon état physiologique dans différentes conditions saisonnières. L'un des principaux atouts de cette solution est de ne pas retirer la partie colmatée des sédiments, contrairement aux technologies actuelles (e.g. raclage du sédiment). En effet celle-ci a un rôle très important dans les processus auto-épuration des eaux d'infiltration (Battin et al., 2003). L'introduction de *V. viviparus* semble donc être une très bonne stratégie pour limiter le colmatage biologique au niveau de l'interface eau/sédiment et garantir la pérennité des services rendus par les ouvrages d'infiltration. Il est important de noter que notre étude repose sur des systèmes artificiels mais que les solutions apportées peuvent clairement être utilisées dans le cadre de milieux naturels, tels que les zones humides. En effet, les zones humides rendent de nombreux services écosystémiques, tels que l'épuration, l'atténuation des crues et la régulation de la ressource en eau, ainsi qu'un intérêt culturel élevé (e.g.

loisirs). Ces milieux sont menacés tant d'un point de vue quantitatif (64% des zones humides ont disparu à l'échelle planétaire au dernier siècle ; Convention de Ramsar, 1995), que d'un point de vue qualitatif (e.g. pollution, assèchement). Les menaces proviennent des activités humaines comme du contexte global de réchauffement avec ces phénomènes associés (e.g. invasion biologique). La gestion de ces zones humides est donc d'une importance cruciale pour assurer la qualité et la durabilité de cette ressource vitale, l'eau.

## Bibliographie

### A

- Abel, C. D., Sharma, S. K., Mersha, S. A., & Kennedy, M. D. (2014). Influence of intermittent infiltration of primary effluent on removal of suspended solids, bulk organic matter, nitrogen and pathogens indicators in a simulated managed aquifer recharge system. *Ecological engineering*, 64, 100-107.
- Aeschbach-Hertig, W., & Gleeson, T. (2012). Regional strategies for the accelerating global problem of groundwater depletion. *Nature Geoscience*, 5(12), 853.
- AEE, (2010). The European environment – State and Outlook 2010: urban environment. Agence européenne pour l'environnement, Copenhague
- Andersen, T. J. (2001). Seasonal variation in erodibility of two temperate, microtidal mudflats. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 53(1), 1-12.
- ARS (2017). Qualité des eaux destinées à la consommation humaine. Rapport annuel 2017. Métropole de Lyon.
- Asano T. (1985). *Artificial recharge of groundwater*. 749 p., Butterworth Publ., Stoneham, USA

### B

- Badin, A. L., Faure, P., Bedell, J. P., & Delolme, C. (2008). Distribution of organic pollutants and natural organic matter in urban storm water sediments as a function of grain size. *Science of the total environment*, 403(1-3), 178-187.
- Badin, A. L., Méderel, G., Béchet, B., Borschneck, D., & Delolme, C. (2009). Study of the aggregation of the surface layer of Technosols from stormwater infiltration basins using grain size analyses with laser diffractometry. *Geoderma*, 153(1-2), 163-171.
- Battin, T. J. (1997). Assessment of fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total esterase activity in natural stream sediment biofilms. *Science of the Total Environment*, 198(1), 51-60.
- Battin, T. J., & Sengschmitt, D. (1999). Linking sediment biofilms, hydrodynamics, and river bed clogging: evidence from a large river. *Microbial Ecology*, 37(3), 185-196.
- Battin, T. J., Kaplan, L. A., Newbold, J. D., & Hendricks, S. P. (2003). A mixing model analysis of stream solute dynamics and the contribution of a hyporheic zone to ecosystem function. *Freshwater Biology*, 48(6), 995-1014.
- Battin, T. J., Kaplan, L. A., Findlay, S., Hopkinson, C. S., Marti, E., Packman, A. I., ... & Sabater, F. (2008). Biophysical controls on organic carbon fluxes in fluvial networks. *Nature geoscience*, 1(2), 95.

- Barclay, M. C., Dall, W., & Smith, D. M. (1983). Changes in lipid and protein during starvation and the moulting cycle in the tiger prawn, *Penaeus esculentus* Haswell. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 68(3), 229-244.
- Barranguet, C., Veuger, B., Van Beusekom, S. A., Marvan, P., Sinke, J. J., & Admiraal, W. (2005). Divergent composition of algal-bacterial biofilms developing under various external factors. *European Journal of Phycology*, 40(1), 1-8.
- Baver, L. D. (1963). *Soil Physics*. New York, John Wiley & Sons, 3rd edition. 398 pages.
- Bellinger, B. J., M. R. Gretz, D. S. Domozych, S. N. Kiemle, & S. E. Hagerthey, (2010). Composition of extracellular polymeric substances from periphyton assemblages in the florida everglades. *Journal of Phycology*, 46(3), 484–496.
- Biggs, B. (2000). New Zealand periphyton guideline: detecting, monitoring and managing enrichment of streams. Prepared for Ministry for the Environment.
- Bolnick, D. I., Svanbäck, R., Fordyce, J. A., Yang, L. H., Davis, J. M., Hulsey, C. D., & Forister, M. L. (2002). The ecology of individuals: incidence and implications of individual specialization. *The American Naturalist*, 161(1), 1-28.
- Bouwer, H. (2002). Artificial recharge of groundwater: hydrogeology and engineering. *Hydrogeology Journal*, 10(1), 121-142.
- Brunke, M. (1999). Colmation and depth filtration within streambeds: retention of particles in hyporheic interstices. *International Review of Hydrobiology*, 84(2), 99-117.
- Brunke, M., & Gonser, T. O. M. (1997). The ecological significance of exchange processes between rivers and groundwater. *Freshwater biology*, 37(1), 1-33.
- Bulleri, F., Russell, B. D., & Connell, S. D. (2012). Context-dependency in the effects of nutrient loading and consumers on the availability of space in marine rocky environments. *PloS one*, 7(3), e33825.
- Burek, P., Satoh, Y., Fischer, G., Kahil, M. T., Scherzer, A., Tramberend, S., Nava, L. F., Wada, Y., Eisner, S., Flörke, M., Hanasaki, N., Magnuszewski, P., Cosgrove, B. et Wiberg, D. (2016). Water Futures and Solution: Fast Track Initiative (Final Report). Document de travail de l'IIASA. Laxenbourg, Autriche, International Institute for Applied Systems Analysis (IIASA). [pure.iiasa.ac.at/13008/](http://pure.iiasa.ac.at/13008/)
- BURGEAP (1997). Protocole de suivi des opérations de remplacement du sable des bassins du champ captant de Crépieux-Charmy – Caractéristiques du mélange de sable proposé. Rly 319/A5652

## C

- Calow, P. (1974). Some observations on locomotory strategies and their metabolic effects in two species of freshwater gastropods, *Ancylus fluviatilis* Müll. and *Planorbis contortus* Linn. *Oecologia*, 16(2), 149-161.
- Calow, P. (1975). The feeding strategies of two freshwater gastropods, *Ancylus fluviatilis* Müll. and *Planorbis contortus* Linn.(Pulmonata), in terms of ingestion rates and absorption efficiencies. *Oecologia*, 20(1), 33-49.
- Carpenter, S., Kitchell, J., & Hodgson, J. (1985). Cascading trophic interactions and lake productivity. *BioScience*, 35(10), 634-639.
- CE (Commission européenne). (2013). Rapport de la Commission au Conseil et au Parlement européen relatif à la mise en œuvre de la directive 91/676/CEE du Conseil concernant la protection des eaux contre la pollution par les nitrates à partir de sources agricoles, sur la base des rapports établis par les États Membres pour la période 2008-2011. Bruxelles, CE. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/HTML/?uri=CELEX:52013DC0683&from=en>
- CEREMA, (2003). La ville et son assainissement – Principes, méthodes et outils pour une meilleure intégration dans le cycle de l'eau. SKU1806112367
- Chapin, F. S., Schulze, E. D., & Mooney, H. A. (1992). Biodiversity and ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution*, 7(4), 107-108.
- Clavel, J., Julliard, R., & Devictor, V. (2011). Worldwide decline of specialist species: toward a global functional homogenization?. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 9(4), 222-228.
- Cole, J. J., Carpenter, S. R., Pace, M. L., Van de Bogert, M. C., Kitchell, J. L., & Hodgson, J. R. (2006). Differential support of lake food webs by three types of terrestrial organic carbon. *Ecology Letters*, 9(5), 558-568.
- Convention de Ramsar (1995). Fiche technique 3.1 : les zones humides avis de disparition mondiale.
- Cook, P. M. (1949). A ciliary feeding mechanism in *Viviparus viviparus* (L.). *Journal of Molluscan Studies*, 27(6), 265-271.
- Costa, O. Y., Raaijmakers, J. M., & Kuramae, E. E. (2018). Microbial extracellular polymeric substances: ecological function and impact on soil aggregation. *Frontiers in microbiology*, 9..
- Covich, A. P., Austen, M. C., Bärlocher, F., Chauvet, E., Cardinale, B. J., Biles, C. L., ... & Statzner, B. (2004). The role of biodiversity in the functioning of freshwater and marine benthic ecosystems. *BioScience*, 54(8), 767-775.
- Cruz-Rivera, E., & Hay, M. E. (2001). Macroalgal traits and the feeding and fitness of an herbivorous amphipod: the roles of selectivity, mixing, and compensation. *Marine Ecology Progress Series*, 218, 249-266.

Cummins, K. W., & Klug, M. J. (1979). Feeding ecology of stream invertebrates. *Annual review of ecology and systematics*, 10(1), 147-172.

## D

Denny, M. (1980). Locomotion: the cost of gastropod crawling. *Science*, 208(4449), 1288-1290.

Decho, A. W. (1990). Microbial exopolymer secretions in ocean environments: their role (s) in food webs and marine processes. *Oceanography and Marine Biologie*, 28(737153), 9-16.

Decho, A. W., & Moriarty, D. J. (1990). Bacterial exopolymer utilization by a harpacticoid copepod: a methodology and results. *Limnology and Oceanography*, 35(5), 1039-1049.

Devictor, V., Clavel, J., Julliard, R., Lavergne, S., Mouillot, D., Thuiller, W., ... & Mouquet, N. (2010). Defining and measuring ecological specialization. *Journal of Applied Ecology*, 47(1), 15-25.

Devictor, V., Julliard, R., Clavel, J., Jiguet, F., Lee, A., & Couvet, D. (2008). Functional biotic homogenization of bird communities in disturbed landscapes. *Global ecology and biogeography*, 17(2), 252-261.

Datry, T., Malard, F., & Gibert, J. (2005). Response of invertebrate assemblages to increased groundwater recharge rates in a phreatic aquifer. *Journal of the North American Benthological Society*, 24(3), 461-477.

de Marsily, G. (1986). *Quantitative hydrogeology: groundwater hydrology for engineers*. Academic Press. 440 pages.

Descloux, S., Datry, T., Philippe, M., & Marmonier, P. (2010). Comparison of different techniques to assess surface and subsurface streambed colmation with fine sediments. *International Review of Hydrobiology*, 95(6), 520-540.

diCatri F, Hansen AJ, Holland MM (eds). (1988) A new look at ecotones, emerging international projects on landscape boundaries. *Biology International* (special issue) 17:1-163.

Dodds, W., Whiles, M. (2010). Nitrogen, sulfur, phosphorus, and other nutrients. In *Freshwater Ecology*; Dodds, W.K., Whiles, M., Eds.; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands.

Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews*, 15(2), 167-193.

Duchaufour, P. (1995). *Abrégé de Pédologie - sol, végétation, environnement*. 4ème édition, Masson. 324 pages.

Dupraz, C., Visscher, P. T., Baumgartner, L. K., & Reid, R. P. (2004). Microbe–mineral interactions: early carbonate precipitation in a hypersaline lake (Eleuthera Island, Bahamas). *Sedimentology*, 51(4), 745-765.

Dussart, B. (1992). *Limnologie. L'étude des eaux continentales*. Boubée Ed., 250p.

Dillon, P. (2005). Future management of aquifer recharge. *Hydrogeology journal*, 13(1), 313-316.

## E

Elendt, B. P. (1989). Effects of starvation on growth, reproduction, survival and biochemical composition of *Daphnia magna*. *Archiv fur Hydrobiologie. Stuttgart*, 116(4), 415-433.

Elton, C. S. (1927). *Animal ecology*. Sidgwick and Jackson, London

Emlen, J. M. (1966). The role of time and energy in food preference. *The American Naturalist*, 100(916), 611-617.

Estragnat, V., Mermillod-Blondin, F., Jully, M., Lemoine, D., Lassabatere, L., & Volatier, L. (2018). Does the efficiency of grazer introduction to restore and preserve the hydraulic performance of infiltration basins depend on the physical and biological characteristics of the infiltration media?. *Ecological engineering*, 116, 127-132.

## F

Fang, F., Lu, W. T., Shan, Q., & Cao, J. S. (2014). Characteristics of extracellular polymeric substances of phototrophic biofilms at different aquatic habitats. *Carbohydrate polymers*, 106, 1-6.

Flemming, H. C. (2011). The perfect slime. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 86(2), 251-259.

Flemming, H. C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature reviews microbiology*, 8(9), 623.

Foulquier, A. (2009). *Ecologie fonctionnelle dans les nappes phréatiques : liens entre flux de matière organique, activité et diversité biologiques* (Manuscrit de thèse, Université Claude Bernard-Lyon I).

Foulquier, A., Malard, F., Barraud, S., & Gibert, J. (2009). Thermal influence of urban groundwater recharge from stormwater infiltration basins. *Hydrological Processes: An International Journal*, 23(12), 1701-1713.

Foulquier, A., Malard, F., Mermillod-Blondin, F., Datry, T., Simon, L., Montuelle, B., & Gibert, J. (2010). Vertical change in dissolved organic carbon and oxygen at the water table region of an aquifer recharged with stormwater: biological uptake or mixing?. *Biogeochemistry*, 99(1-3), 31-47.

- Freckman, D. W., Blackburn, T. H., Brussaard, L., Hutchings, P., Palmer, M. A., & Snelgrove, P. V. (1997). Linking biodiversity and ecosystem functioning of soils and sediments. *Ambio*, 26(8), 556-562.
- Frömming, E. (1956). *Biologie der mitteleuropäischen Süßwasserschnecken*. Duncker & Humblot.
- François, F., Poggiale, J. C., Durbec, J. P., & Stora, G. (1997). A new approach for the modelling of sediment reworking induced by a macrobenthic community. *Acta Biotheoretica*, 45(3-4), 295-319.
- François, F., Gerino, M., Stora, G., Durbec, J. P., & Poggiale, J. C. (2002). Functional approach to sediment reworking by gallery-forming macrobenthic organisms: modeling and application with the polychaete *Nereis diversicolor*. *Marine Ecology Progress Series*, 229, 127-136.
- Futuyma, D. J., & Moreno, G. (1988). The evolution of ecological specialization. *Annual review of Ecology and Systematics*, 19(1), 207-233.

## G

- Geesey, G. G., Mutch, R., Costerton, J. T., & Green, R. B. (1978). Sessile bacteria: An important component of the microbial population in small mountain streams 1. *Limnology and Oceanography*, 23(6), 1214-1223.
- Gette-Bouvarot, M., Mermillod-Blondin, F., Angulo-Jaramillo, R., Delolme, C., Lemoine, D., Lassabatere, L., ... & Volatier, L. (2014). Coupling hydraulic and biological measurements highlights the key influence of algal biofilm on infiltration basin performance. *Ecohydrology*, 7(3), 950-964.
- Gette-Bouvarot, M., Volatier, L., Lassabatere, L., Lemoine, D., Simon, L., Delolme, C., & Mermillod-Blondin, F. (2015). Ecological engineering approaches to improve hydraulic properties of infiltration basins designed for groundwater recharge. *Environmental science & technology*, 49(16), 9936-9944.
- Gibert, J. (2001). Basic attributes of groundwater ecosystems. In: Griebler, C., Danielopol, D.L., Gibert, J., Nachtnebel, H.P., Notenboom, J. (Eds), *Groundwater ecology: a tool for management of water resources*. Official publication of the European community, Luxembourg, pp 39-52.
- GIEC. (2014). Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Working Group II Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, Royaume-Uni/New York, Cambridge University Press. [www.ipcc.ch/report/ar5/wg2/](http://www.ipcc.ch/report/ar5/wg2/)
- Glunk, C., Dupraz, C., Braissant, O., Gallagher, K. L., Verrecchia, E. P., & Visscher, P. T. (2011). Microbially mediated carbonate precipitation in a hypersaline lake, Big Pond (Eleuthera, Bahamas). *Sedimentology*, 58(3), 720-736.

- Graça, M. A. S., Maltby, L., & Calow, P. (1993). Importance of fungi in the diet of *Gammarus pulex* and *Asellus aquaticus* I: feeding strategies. *Oecologia*, 93(1), 139-144.
- Grasshoff, P. (1983). *Methods of seawater analysis*. Second ed. Verlag Chemie Berlin. FRG, 419, 61-72.
- Groendahl, S., & Fink, P. (2016). The effect of diet mixing on a nonselective herbivore. *PloS one*, 11(7), e0158924.
- Grünheid, S., Amy, G., & Jekel, M. (2005). Removal of bulk dissolved organic carbon (DOC) and trace organic compounds by bank filtration and artificial recharge. *Water research*, 39(14), 3219-3228.
- Gunatilaka, A. (1982). Phosphate adsorption kinetics of resuspended sediments in a shallow lake, Neusiedlersee, Austria. *Hydrobiologia*, 91(1), 293-298.
- Gust, M., Buronfosse, T., Geffard, O., Coquery, M., Mons, R., Abbaci, K., ... & Garric, J. (2011). Comprehensive biological effects of a complex field poly-metallic pollution gradient on the New Zealand mudsnail *Potamopyrgus antipodarum* (Gray). *Aquatic toxicology*, 101(1), 100-108.
- Gutiérrez, J. L., Jones, C. G., Strayer, D. L., & Iribarne, O. O. (2003). Mollusks as ecosystem engineers: the role of shell production in aquatic habitats. *Oikos*, 101(1), 79-90.

## H

- Hairston, N. G., Smith, F. E., & Slobodkin, L. B. (1960). Community structure, population control, and competition. *The American Naturalist*, 94(879), 421-425.
- Hansson, L.-A.; Brönmark, C. (2010). Biomanipulation of Aquatic Ecosystem. In Likens, G. E. *Lake Ecosystem Ecology*. Academic Press. 463 p.
- Harris, T. D., & Graham, J. L. (2015). Preliminary evaluation of an in vivo fluorometer to quantify algal periphyton biomass and community composition. *Lake and Reservoir Management*, 31(2), 127-133.
- Hatfield Consultants. (2007). *Selenium in Waste Rock Creek aquatic biota: regional and ecological context*. Memo prepared for Northgate Minerals Corp., Kemess Mine, by M. Davies, Hatfield Consultants, West Vancouver, BC, July 3, 2007.
- Hill, W. R., Weber, S. C., & Stewart, A. J. (1992). Food limitation of two lotic grazers: quantity, quality, and size-specificity. *Journal of the North American Benthological Society*, 11(4), 420-432.
- Hill, W. (1996). Effects of light. In *Algal ecology: freshwater benthic ecosystems*, R. J. Stevenson, M. L. Bothwell and R. L. Lowe. London, Academic Press. 121-146.

- Hillebrand, H., Kahlert, M., Haglund, A. L., Berninger, U. G., Nagel, S., & Wickham, S. (2002). Control of microbenthic communities by grazing and nutrient supply. *Ecology*, 83(8), 2205-2219.
- Hillebrand, H. (2005). Light regime and consumer control of autotrophic biomass. *Journal of ecology*, 93(4), 758-769.
- Hillebrand, H., Gruner, D. S., Borer, E. T., Bracken, M. E., Cleland, E. E., Elser, J. J., ... & Smith, J. E. (2007). Consumer versus resource control of producer diversity depends on ecosystem type and producer community structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(26), 10904-10909.
- Hillebrand, H. (2009). Meta-analysis of grazer control of periphyton biomass across aquatic ecosystems. *Journal of Phycology*, 45(4), 798-806.
- Hillel, D. (1998). *Environmental Soil Physics*. San Diego, Academic Press. 771 pages.
- Hiscock, K. M., & Grischek, T. (2002). Attenuation of groundwater pollution by bank filtration. *Journal of Hydrology*, 266(3-4), 139-144.
- Höckelmann, C., & Pusch, M. (2000). The respiration and filter-feeding rates of the snail *Viviparus viviparus* (Gastropoda) under simulated stream conditions. *Archiv für Hydrobiologie*, 553-568.
- Holt, R. D. (2009). Bringing the Hutchinsonian niche into the 21st century: ecological and evolutionary perspectives. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(Supplement 2), 19659-19665.
- Hupfer, M., & Lewandowski, J. (2008). Oxygen controls the phosphorus release from lake sediments—a long-lasting paradigm in limnology. *International Review of Hydrobiology*, 93(4-5), 415-432.

## J

- Jakubik, B. (2006). Reproductive pattern of *Viviparus viviparus* (Linnaeus 1758)(Gastropoda, Viviparidae) from littoral aggregations in a through-flow reservoir (Central Poland). *Polish Journal of Ecology*, 54(1), 39-55.
- Jakubik, B., & Lewandowski, K. (2007). Size structure, age, mortality and fecundity in *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758)(Gastropoda: Architaenioglossa: Viviparidae). *Folia Malacologica*, 15(3).
- Jakubik, B. (2009). Food and feeding of *Viviparus viviparus* (L.)(Gastropoda) in dam reservoir and river habitats. *Polish Journal of Ecology*, 57(2), 321-330.

Jakubik, B. (2012). Life strategies of Viviparidae (Gastropoda: Caenogastropoda: Architaenioglossa) in various aquatic habitats: *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758) and *V. contectus* (Millet, 1813). *Folia Malacologica*, 20(3).

Jakubik, B., Koperski, P., & Lewandowski, K. (2014). Diversity of Mollusca in lowland river-lake system: lentic versus lotic patches. *Polish Journal of Ecology*, 62(2), 335-349.

Jones, C. G., Lawton, J. H., & Shachak, M. (1994). Organisms as ecosystem engineers. *Oikos* 69, 373-386.

## K

Kangas, P. (2004). *Ecological engineering: principles and practice*. CRC Press.

Kamann, P. J., Ritzi, R. W., Dominic, D. F., & Conrad, C. M. (2007). Porosity and permeability in sediment mixtures. *Groundwater*, 45(4), 429-438.

Kay, B. D. and Angers, D. A. (2000). Soil structure. in *Handbook of Soil Science*. M. E. Sumner. Boca Raton, CRC Press Taylor and Francis group.

Knowles, P., Dotro, G., Nivala, J., & García, J. (2011). Clogging in subsurface-flow treatment wetlands: occurrence and contributing factors. *Ecological Engineering*, 37(2), 99-112.

Kolasa, J., & Zalewski, M. (1995). Notes on ecotone attributes and functions. *Hydrobiologia*, 303(1-3), 1-7.

Krantzberg, G. (1985). The influence of bioturbation on physical, chemical and biological parameters in aquatic environments: a review. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 39(2), 99-122.

Kristensen, E. (2000). "Organic matter diagenesis at the oxic/anoxic interface in coastal marine sediments, with emphasis on the role of burrowing animals." *Hydrobiologia* 426(1): 1-24.

Kristensen, E., Penha-Lopes, G., Delefosse, M., Valdemarsen, T., Quintana, C. O., & Banta, G. T. (2012). What is bioturbation? The need for a precise definition for fauna in aquatic sciences. *Marine Ecology Progress Series*, 446, 285-302.

## L

Lamberti, G. A., Ashkenas, L. R., Gregory, S. V., & Steinman, A. D. (1987). Effects of three herbivores on periphyton communities in laboratory streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 6(2), 92-104.

Lamberti, G. A., Gregory, S. V., Ashkenas, L. R., Li, J. L., Steinman, A. D., & McIntire, C. D. (1995). Influence of grazer type and abundance on plant-herbivore interactions in streams. *Hydrobiologia*, 306(3), 179-188.

- Lefebvre, S., Marmonier, P., Pinay, G., Bour, O., Aquilina, L., & Baudry, J. (2005). Nutrient dynamics in interstitial habitats of low-order rural streams with different bedrock geology. *Archiv für Hydrobiologie*, 164(2), 169-191.
- Leibold, M. A. (1995). The niche concept revisited: mechanistic models and community context. *Ecology*, 76(5), 1371-1382.
- Levins, R., 1968. *Evolution in changing environments: some theoretical explorations*. Princeton University Press.
- Lindeman, R. L. (1942). The trophic-dynamic aspect of ecology. *Ecology*, 23(4), 399-417.
- Loizeau, S. (2013). *Amélioration de la compréhension des fonctionnements hydrodynamiques du champ captant de Crépieux-Charmy* (Manuscrit de thèse, Grenoble).
- Lu, Y., Du, X. Q., Chi, B. M., Yang, Y. S., Li, S. T., & Wang, Z. J. (2011). The porous media clogging due to suspended solid during the artificial recharge of groundwater. *Journal of Jilin University (Earth Science Edition)*, 41(2), 448-454.
- Lürling, M., Mackay, E., Reitzel, K., & Spears, B. M. (2016). Editorial—A critical perspective on geo-engineering for eutrophication management in lakes. *Water Research*, 97:1–10.

## M

- MacArthur, R. H., & Pianka, E. R. (1966). On optimal use of a patchy environment. *The American Naturalist*, 100(916), 603-609.
- Marmonier, P., Fontvieille, D., Gibert, J., & Vanek, V. (1995). Distribution of dissolved organic carbon and bacteria at the interface between the Rhône River and its alluvial aquifer. *Journal of the North American Benthological Society*, 14(3), 382-392.
- McCall, P. L., & Fisher, J. B. (1980). Effects of tubificid oligochaetes on physical and chemical properties of Lake Erie sediments. In *Aquatic oligochaete biology* (pp. 253-317). Springer, Boston, MA.
- McCave, I. N. (1976a). Solution-Sediment Chemical Interactions. In *The Benthic Boundary Layer* (pp. 261-272). Springer, Boston, MA.
- McCave, I. N. (1976b). Organism-sediment relationships. In *The benthic boundary layer* (pp. 273-295). Springer, Boston, MA.
- McDowell-Boyer, L. M., Hunt, J. R., & Sitar, N. (1986). Particle transport through porous media. *Water Resources Research*, 22(13), 1901-1921.
- Mermillod-Blondin, F. (2000). *Rôle de la diversité des invertébrés à l'interface sédimentaire eau libre-eau interstitielle* (Manuscrit de thèse, Lyon 1).

- Mermillod-Blondin, F., Creuzé des Châtelliers, M., Marmonier, P., & Dole-Olivier, M. J. (2000). Distribution of solutes, microbes and invertebrates in river sediments along a riffle-pool-riffle sequence. *Freshwater biology*, 44(2), 255-269.
- Mermillod-Blondin, F., Gaudet, J. P., Gerino, M., Desrosiers, G., Jose, J., & Chatelliers, M. C. D. (2004). Relative influence of bioturbation and predation on organic matter processing in river sediments: a microcosm experiment. *Freshwater Biology*, 49(7), 895-912.
- Mermillod-Blondin, F., Mauclaire, L., & Montuelle, B. (2005). Use of slow filtration columns to assess oxygen respiration, consumption of dissolved organic carbon, nitrogen transformations, and microbial parameters in hyporheic sediments. *Water research*, 39(9), 1687-1698.
- Mermillod-Blondin, F. (2011). The functional significance of bioturbation and biodeposition on biogeochemical processes at the water-sediment interface in freshwater and marine ecosystems. *Journal of the North American Benthological Society*, 30(3), 770-778.
- Mermillod-Blondin, F., Simon, L., Maazouzi, C., Foulquier, A., Delolme, C., & Marmonier, P. (2015). Dynamics of dissolved organic carbon (DOC) through stormwater basins designed for groundwater recharge in urban area: Assessment of retention efficiency. *Water research*, 81, 27-37.
- Meysman, F. J., Middelburg, J. J., & Heip, C. H. (2006). Bioturbation: a fresh look at Darwin's last idea. *Trends in Ecology & Evolution*, 21(12), 688-695.
- Ministère de l'environnement, (2016). Datalab - Chiffres clés de l'environnement. Edition SOeS.
- Ministère de l'environnement, (2017). Datalab - Les prélèvements d'eau douce en France : les grands usages en 2013 et leur évolution depuis 20 ans. Edition SOeS.
- Ministère de la Santé et des Sports, (2008). Guide technique : Protection des captages d'eau – Acteurs et stratégies. Editions Dicom, p. 82.
- Mitsch, W. J. (1996). Ecological engineering: a new paradigm for engineers and ecologists. Pp. 111-128. In: *Engineering within Ecological Constraints*. National Academy Press, Washington, DC.
- Mitsch, W. J., & Jørgensen, S. E. (2004). *Ecological engineering and ecosystem restoration*. John Wiley & Sons.
- Mitsch, W. J. (2012). What is ecological engineering?. *Ecological Engineering*, 45, 5-12.
- Murphy, J., & Riley, A. J. (1958). A single-solution method for the determination of soluble phosphate in sea water. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 37(1), 9-14.

## N

- Navel, S., Mermillod-Blondin, F., Montuelle, B., Chauvet, E., Simon, L., & Marmonier, P. (2011). Water–sediment exchanges control microbial processes associated with leaf litter degradation in the hyporheic zone: a microcosm study. *Microbial ecology*, 61(4), 968-979.
- Navel, S., Mermillod-Blondin, F., Montuelle, B., Chauvet, E., & Marmonier, P. (2012). Sedimentary context controls the influence of ecosystem engineering by bioturbators on microbial processes in river sediments. *Oikos*, 121(7), 1134-1144.
- Nogaro, G., Mermillod-Blondin, F., François-Carcaillet, F., Gaudet, J. P., Lafont, M., & Gibert, J. (2006). Invertebrate bioturbation can reduce the clogging of sediment: an experimental study using infiltration sediment columns. *Freshwater Biology*, 51(8), 1458-1473.
- Nogaro, G. (2007). *Influence des dépôts de sédiments fins sur le fonctionnement physique et biogéochimique des interfaces sédimentaires aquatiques: Interactions avec les processus de bioturbation* (Manuscrit de thèse, Lyon 1).
- Nogaro, G., Mermillod-Blondin, F., Montuelle, B., Boisson, J. C., Lafont, M., Volat, B., & Gibert, J. (2007). Do tubificid worms influence organic matter processing and fate of pollutants in stormwater sediments deposited at the surface of infiltration systems?. *Chemosphere*, 70(2), 315-328.
- Nogaro, G., Mermillod-Blondin, F., Valett, M. H., François-Carcaillet, F., Gaudet, J. P., Lafont, M., & Gibert, J. (2009). Ecosystem engineering at the sediment–water interface: bioturbation and consumer–substrate interaction. *Oecologia*, 161(1), 125-138.
- Nogaro, G., & Mermillod-Blondin, F. (2009). Stormwater sediment and bioturbation influences on hydraulic functioning, biogeochemical processes, and pollutant dynamics in laboratory infiltration systems. *Environmental science & technology*, 43(10), 3632-3638.
- Nogaro, G., Datry, T., Mermillod-Blondin, F., Descloux, S., & Montuelle, B. (2010). Influence of streambed sediment clogging on microbial processes in the hyporheic zone. *Freshwater biology*, 55(6), 1288-1302.

## O

- Odong, J. (2007). Evaluation of empirical formulae for determination of hydraulic conductivity based on grain-size analysis. *Journal of American Science*, 3(3), 54-60.
- Orvain, F., & Sauriau, P. G. (2002). Environmental and behavioural factors affecting activity in the intertidal gastropod *Hydrobia ulvae*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 272(2), 191-216.

Orvain, F., Sauriau, P. G., Sygut, A., Joassard, L., & Le Hir, P. (2004). Interacting effects of *Hydrobia ulvae* bioturbation and microphytobenthos on the erodibility of mudflat sediments. *Marine ecology progress series*, 278, 205-223.

## P

Pedescoll, A., Uggetti, E., Llorens, E., Granés, F., García, D., & García, J. (2009). Practical method based on saturated hydraulic conductivity used to assess clogging in subsurface flow constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 35(8), 1216-1224.

Pedescoll, A., Samsó, R., Romero, E., Puigagut, J., & García, J. (2011). Reliability, repeatability and accuracy of the falling head method for hydraulic conductivity measurements under laboratory conditions. *Ecological Engineering*, 37(5), 754-757.

Piechocki, A. (1979). Mięczaki (Mollusca), Ślimaki (Gastropoda) W: Fauna słodkowodna Polski 7. PWN, Warszawa, 1-189.

PNUE. (2016). A Snapshot of the World's Water Quality: Towards a Global Assessment. Nairobi, PNUE. [uneplive.unep.org/media/docs/assessments/uneplive\\_wwqa\\_report\\_web.pdf](http://uneplive.unep.org/media/docs/assessments/uneplive_wwqa_report_web.pdf)

Poisot, T., Bever, J. D., Nemri, A., Thrall, P. H., & Hochberg, M. E. (2011). A conceptual framework for the evolution of ecological specialisation. *Ecology letters*, 14(9), 841-851.

Pool, M., & Carrera, J. (2010). Dynamics of negative hydraulic barriers to prevent seawater intrusion. *Hydrogeology journal*, 18(1), 95-105.

## R

Réfloch, A. (2018). *Compréhension expérimentale et numérique des chemins de l'eau sur l'ensemble du champ captant de la Métropole de Lyon* (Manuscrit de thèse, Grenoble Alpes).

Rehg, K. J., Packman, A. I., & Ren, J. (2005). Effects of suspended sediment characteristics and bed sediment transport on streambed clogging. *Hydrological Processes: An International Journal*, 19(2), 413-427.

Rempel, L. L., Richardson, J. S., & Healey, M. C. (2000). Macroinvertebrate community structure along gradients of hydraulic and sedimentary conditions in a large gravel-bed river. *Freshwater biology*, 45(1), 57-73.

Rizzo, W. M., Dailey, S. K., Lackey, G. J., Christian, R. R., Berry, B. E., & Wetzel, R. L. (1996). A metabolism-based trophic index for comparing the ecological values of shallow-water sediment habitats. *Estuaries*, 19(2), 247-256.

Rodgers, M., & Mulqueen, J. (2006). Field-saturated hydraulic conductivity of unsaturated soils from falling-head well tests. *Agricultural water management*, 79(2), 160-176.

Root, R. B. (1967). The niche exploitation pattern of the blue-gray gnatcatcher. *Ecological monographs*, 37(4), 317-350.

## S

Schälchli, U. (1992). The clogging of coarse gravel river beds by fine sediment. *Hydrobiologia*, 235(1), 189-197.

Schuh, W. M. (1990). Seasonal variation of clogging of an artificial recharge basin in a northern climate. *Journal of Hydrology*, 121(1-4), 193-215.

Shapiro, J., V. Lamarra & M. Lynch, (1975). Biomanipulation: an ecosystem approach to lake restoration. In Brezonik, P. L. & J. L. Fox (eds), *Proceedings of a symposium on water quality management through biological control*. University of Florida, Gainesville: 85–96.

Shepherd, R. G. (1989). Correlations of permeability and grain size. *Groundwater*, 27(5), 633-638.

Sigee, D. (2005). *Freshwater microbiology: biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the aquatic environment*. John Wiley & Sons.

Simon, N. S. (1989). Nitrogen cycling between sediment and the shallow-water column in the transition zone of the Potomac River and Estuary. II. The role of wind-driven resuspension and adsorbed ammonium. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 28(5), 531-547.

Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S. and Deneff, K. (2004). A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil and Tillage Research* 79(1): 7-31.

Soma, Y., Imaizumi, T., Yagi, K. I., & Kasuga, S. I. (1993). Estimation of algal succession in lake water using HPLC analysis of pigments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50(6), 1142-1146.

Sommer, U. (2000). Benthic microalgal diversity enhanced by spatial heterogeneity of grazing. *Oecologia*, 122(2), 284-287.

Staats, N., Stal, L. J., de Winder, B., & Mur, L. R. (2000). Oxygenic photosynthesis as driving process in exopolysaccharide production of benthic diatoms. *Marine Ecology Progress Series*, 193, 261-269.

Steinman, A. D. (1996). Effects of grazers on freshwater benthic algae. In *Algal ecology: freshwater benthic ecosystems*. R. J. Stevenson, M. L. Bothwell and R. L. Lowe. London, Academic Press pp. 341-373 pages.

Sterner, R. W., & Hessen, D. O. (1994). Algal nutrient limitation and the nutrition of aquatic herbivores. *Annual review of ecology and systematics*, 25(1), 1-29.

Stevenson, R. J., Bothwell, M. L., Lowe, R. L., & Thorp, J. H. (1996). *Algal ecology: Freshwater benthic ecosystem*. Academic press. 753 p.

Stewart, T. J., Traber, J., Kroll, A., Behra, R., & Sigg, L. (2013). Characterization of extracellular polymeric substances (EPS) from periphyton using liquid chromatography-organic carbon detection–organic nitrogen detection (LC-OCD-OND). *Environmental Science and Pollution Research*, 20(5), 3214-3223.

Sturt, M. M., Jansen, M. A., & Harrison, S. S. (2011). Invertebrate grazing and riparian shade as controllers of nuisance algae in a eutrophic river. *Freshwater Biology*, 56(12), 2580-2593.

Sundbäck, K., Linares, F., Larson, F., Wulff, A., & Engelsen, A. (2004). Benthic nitrogen fluxes along a depth gradient in a microtidal fjord: the role of denitrification and microphytobenthos. *Limnology and Oceanography*, 49(4), 1095-1107.

## T

Tachet, H., Richoux, P., Bournaud, M., & Usseglio-Polatera, P. (2000). *Invertébrés d'eau douce: systématique, biologie, écologie* (Vol. 15). Paris: CNRS éditions.

Teal, J. M. (1991). Contributions of marshes and saltmarshes to ecological engineering. In: *Ecological Engineering for Wastewater Treatment*. C. Etnier and B. Guterstam (eds.). Bokskogen, Gothenburg, Sweden. pp. 55–62.

Thomasson, A. J. (1978). Towards an objective classification of soil structure. *Journal of Soil Science* 29(1): 38-46.

Triest, L., Stiers, I., & Van Onsem, S. (2016). Biomanipulation as a nature-based solution to reduce cyanobacterial blooms. *Aquatic ecology*, 50(3), 461-483.

Tsvetkov, I. L., Popov, A. P., & Konichev, A. S. (2003). Acid phosphatase complex from the freshwater snail *Viviparus viviparus* L. under standard conditions and intoxication by cadmium ions. *Biochemistry (Moscow)*, 68(12), 1327-1334.

Tufenkji, N., Ryan, J. N., & Elimelech, M. (2002). Peer reviewed: the promise of bank filtration. ASC Publications pp. 422A-428A.

## U

UNESCO, (1966). Determination of photosynthetic pigments in sea water. Report Scor-Unesco. Working paper 17, *Monographs on Oceanographic Methodology*.

## V

Vanek V. (1997). Heterogeneity of groundwater-surface water ecotones. In *Groundwater/surface water ecotones: biological and hydrological interactions and management options*, Gibert J, Mathieu J and Fournier F (eds), Cambridge University Press: Cambridge; 151-161.

Vervier, P., Gibert, J., Marmonier, P., & Dole-Olivier, M. J. (1992). A perspective on the permeability of the surface freshwater-groundwater ecotone. *Journal of the North American Benthological Society*, 11(1), 93-102.

Veolia/IFPRI (Institut international de recherche sur les politiques alimentaires). (2015). The Murky Future of Global Water Quality: New Global Study Projects Rapid Deterioration in Water Quality. Wasington DC/Chicago, Ill., États-Unis, IFPRI/Veolia. [www.ifpri.org/publication/murky-future-global-water-quality-new-global-study-projects-rapid-deterioration-water](http://www.ifpri.org/publication/murky-future-global-water-quality-new-global-study-projects-rapid-deterioration-water)

## W

Wang, H., Yang, Z., Saito, Y., Liu, J. P., Sun, X., & Wang, Y. (2007). Stepwise decreases of the Huanghe (Yellow River) sediment load (1950–2005): Impacts of climate change and human activities. *Global and Planetary Change*, 57(3-4), 331-354.

White, R. E. (1985). The influence of macropores on the transport of dissolved and suspended matter through soil. In *Advances in soil science* (pp. 95-120). Springer, New York, NY.

Waters, T. F. (1995). *Sediment in streams: sources, biological effects, and control* (Vol. 1). Bethesda, Maryland: American Fisheries Society.

WWAP. (2017). Rapport mondial des Nations Unies sur la mise en valeur des ressources en eau 2017 : Les Eaux Usées : une ressource inexploitée. Paris, UNESCO. <http://unesdoc.unesco.org/images/0024/002475/247551f.pdf>

WWAP (Le Programme mondial des Nations Unies pour l'évaluation des ressources en eau)/ONU-Eau. (2018). Rapport mondial des Nations Unies sur la mise en valeur des ressources en eau 2018 : Les solutions fondées sur la nature pour la gestion de l'eau. Paris, UNESCO.

## Z

Zhang, X., & Bishop, P. L. (2003). Biodegradability of biofilm extracellular polymeric substances. *Chemosphere*, 50(1), 63-69.



## **Dynamique des interactions biofilm/macro-organismes : conséquences sur les organismes et sur les propriétés hydrauliques et écologiques de l'interface eau/sédiment.**

### **Résumé**

Dans un contexte global d'augmentation de la population, les réserves en eau des nappes phréatiques sont de plus en plus sollicitées. Pour pallier à cette exploitation, des systèmes d'infiltration artificiels ont été mis en place pour recharger les nappes avec de l'eau de surface. Néanmoins, ces systèmes subissent des pertes d'efficacité liées au colmatage du support d'infiltration par des processus physiques, chimiques ou biologiques. Face à ce phénomène, le travail de thèse a pour but de tester la faisabilité d'une technique d'ingénierie écologique par introduction d'un gastéropode, *V. viviparus*, pour limiter le colmatage de l'interface eau/sédiment de bassins d'infiltration utilisés pour recharger artificiellement l'aquifère sous-jacent au Rhône. Par des approches expérimentales, deux volets ont été abordés, (1) la dynamique des interactions biofilm/brouteur et les conséquences sur l'état physiologique du gastéropode et (2) la dynamique des interactions biofilm/gastéropode et les conséquences sur les propriétés hydrauliques et écologiques de l'interface eau/sédiment. Les résultats ont mis en évidence que (1) *V. viviparus* pouvait se maintenir dans les bassins d'infiltration aux différentes saisons, (2) *V. viviparus* pouvait limiter le colmatage biologique de l'interface eau/sédiment soit par ses actions trophiques (broutage), soit par des actions physiques (déplacement, pelletisation) et (3) *V. viviparus* n'a pas eu d'effet positif sur l'infiltration lorsque le colmatage était chimique. Pour conclure, *V. viviparus* apparaît comme un bon candidat pour des solutions d'ingénierie écologique visant à restaurer des interfaces eau/sédiment, colmatées par un biofilm phototrophe. Ce travail ouvre des perspectives sur l'utilisation de solutions basées sur la nature à plus large échelle spatiale (e.g. pilote) et à des milieux naturels comme les zones humides.

### **Mots-clés**

Ingénierie écologique, biomanipulation, interface eau/sédiment, recharge artificielle des aquifères, colmatage, biofilm phototrophe, gastéropodes, remaniement sédimentaire

---

## **Biofilm/macro-organisms interactions dynamic: consequences on the organisms and on the ecological and hydraulic properties of the water/sediment interface.**

### **Abstract**

With the global increase of the population, groundwater reserves are increasingly exploited. To circumvent this problem, managed aquifer recharge systems using surface water are used worldwide. Nevertheless, the hydraulic performance of these systems is often altered by physical, chemical or biological clogging. This work aims to test the sustainability of ecological engineering solutions based on the introduction of the gastropod, *V. viviparus*, to attenuate the clogging of the water/sediment interface of infiltration basins used for the recharge of the Rhône river aquifer. Two sections have been addressed with experimental approaches, (1) dynamic of biofilm/grazer interaction and its consequences on the physiological state of the gastropod and (2) dynamic of biofilm/grazer interaction and its consequences on the hydraulic and ecological properties of the water/sediment interface. Results show that (1) *V. viviparus* is able to survive in the infiltration basins at contrasted seasons, (2) *V. viviparus* can attenuate the biological clogging of the water/sediment interface, either by trophic interaction (grazing) or physical actions (crawling activity, pelletization), and (3) *V. viviparus* has no positive effect on infiltration in case of chemical clogging. To conclude, *V. viviparus* appears to be a good candidate for ecological engineering solutions aiming to preserve and restore water/sediment interface impacted by biological clogging. This work provides useful information for the study of nature-based solutions at larger scale (experimental pilot) and in natural ecosystems as wetlands.

### **Keywords**

Ecological engineering, biomanipulation, water/sediment interface, managed aquifer recharge, clogging, phototrophic biofilm, gastropods, sediment reworking

---

### **Intitulé et adresse du laboratoire**

Université Claude Bernard - Lyon I

CNRS, UMR 5023 - LEHNA (Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés)

3-6, rue Raphaël Dubois - Bâtiments Darwin C & Forel, 69622 Villeurbanne Cedex

43, Boulevard du 11 novembre 1918

Ou

ENTPE

CNRS, UMR 5023 - LEHNA (Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés)

3, rue Maurice Audin

69518 Vaulx-en-Velin