

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	i
RÉSUMÉ	iii
ABSTRACT	iv
TABLE DES MATIÈRES	v
LISTE DES FIGURES	xi
LISTE DES TABLEAUX	xxi
 INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	 1
ÉTAT DES CONNAISSANCES	6
LA COMMUNAUTÉ INTERTIDALE À <i>MACOMA BALTHICA</i> DE L'ESTUAIRE DU SAINT-LAURENT	6
IMPACT DE LA BIOTURBATION SUR LE RECYCLAGE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE ...	12
<i>Processus de diagenèse précoce</i>	12
<i>Transport des particules et des solutés</i>	17
<i>Redistribution des métabolismes bactériens</i>	19
<i>Développement des communautés méiofauniques</i>	21
<i>Flux biogéochimiques à l'interface eau-sédiment</i>	22
ÉTUDE DES RELATIONS ENTRE DIVERSITÉ BENTHIQUE ET FONCTIONNEMENT DES ÉCOSYSTÈMES INTERTID AUX VIA LES APPROCHES EXPÉRIMENTALES	24
<i>Diversité spécifique versus diversité fonctionnelle</i>	24
<i>Le concept de groupe fonctionnel</i>	25
Les différents attributs fonctionnels des organismes benthiques	25
Effets des traits fonctionnels sur les réactions diagénétiques: quelques exemples	27
Quelques modèles de classification fonctionnelle.....	29
<i>Étude des interactions</i>	37

<i>Variabilité temporelle</i>	40
OBJECTIFS SPÉCIFIQUES	42
HYPOTHÈSES DE RECHERCHE	44
ORGANISATION DE LA DEUXIÈME PARTIE DU MANUSCRIT.....	45
 CHAPITRE 1	47
 THE FUNCTIONAL APPROACH TO BIOTURBATION: THE EFFECTS OF BIODIFFUSERS AND GALLERY-DIFFUSERS OF THE <i>MACOMA BALTHICA</i> COMMUNITY ON SEDIMENT OXYGEN UPTAKE	
RÉSUMÉ.....	48
ABSTRACT	49
INTRODUCTION	50
MATERIALS AND METHODS.....	53
<i>Sampling site</i>	53
<i>Microcosms</i>	55
<i>Biovolume</i>	56
<i>Experimental design</i>	56
<i>Oxygen flux measurements</i>	57
<i>Sediment properties</i>	57
<i>Statistical analysis</i>	59
RESULTS.....	59
<i>Sediment properties</i>	59
<i>Oxygen fluxes</i>	61
DISCUSSION.....	66
<i>Effects of organisms on oxygen uptake</i>	66
<i>Characteristics of the gallery-diffuser system</i>	70
<i>Characteristics of the biodiffuser system</i>	71
<i>Changes in oxygen uptake during the experiment</i>	73

CONCLUSION.....	74
ACKNOWLEDGEMENTS	74
 CHAPITRE 2.....	 75
 THE FUNCTIONAL GROUP APPROACH TO BIOTURBATION: II. THE EFFECTS OF THE <i>MACOMA BALTHICA</i> COMMUNITY ON FLUXES OF NUTRIENTS AND DISSOLVED ORGANIC CARBON ACROSS THE SEDIMENT-WATER INTERFACE	
 RÉSUMÉ.....	 76
ABSTRACT	77
INTRODUCTION	78
MATERIAL AND METHODS.....	81
<i>Sampling site</i>	81
<i>Microcosms</i>	82
<i>Experimental design</i>	83
<i>Flux measurements</i>	83
<i>Sediment properties</i>	86
<i>Statistical analysis</i>	86
RESULTS.....	86
<i>Visual observations</i>	86
<i>Sediment properties</i>	87
<i>Benthic fluxes</i>	89
DISCUSSION.....	93
<i>Effects of the two functional groups on fluxes of inorganic nutrients (NH_4^+, NO_3^-, and PO_4^{3-}) and dissolved organic carbon (DOC)</i>	93
<i>Gallery-diffuser and benthic fluxes</i>	96
<i>Biodiffuser-induced fluxes and intra-functional variability</i>	98
ACKNOWLEDGEMENTS	101

CHAPITRE 3.....102

THE FUNCTIONAL GROUP APPROACH TO BIOTURBATION: III. THE EFFECTS OF INTERACTIONS AMONG THE FUNCTIONAL GROUPS OF THE *MACOMA BALTHICA* COMMUNITY ON BENTHIC FLUXES

RÉSUMÉ.....	103
ABSTRACT	104
INTRODUCTION	105
MATERIAL AND METHODS.....	108
<i>Sampling site</i>	108
<i>Microcosms</i>	108
<i>Experimental design</i>	109
<i>Flux measurements</i>	110
<i>Sediment properties</i>	112
<i>Statistical analysis</i>	112
<i>Extent and significance of interaction among different functional groups</i>	113
<i>Effects of species diversity and functional group diversity on benthic fluxes</i>	113
RESULTS.....	114
<i>Sediment properties</i>	114
<i>Benthic fluxes</i>	114
<i>Interactive effects among species and functional groups on benthic fluxes</i>	121
<i>Effects of species and functional diversity on benthic fluxes</i>	125
DISCUSSION.....	125
<i>Experimental design</i>	125
Influence of microphytobenthos.....	127
Functional diversity versus species diversity	127
<i>Effects and mechanisms of functional interactions</i>	128
Feeding strategies and partitioning of food	128
Spatial organization among functional groups	129
Burrowing depth.....	132
Stimulation of bio-irrigation.....	133

CONCLUSIONS.....	134
ACKNOWLEDGMENTS.....	135
 CHAPITRE 4.1	136
AN ALGORITHM FOR RAPID AUTOMATIC LUMINOPHORE COUNTING IN BIOTURBATION STUDIES	
RÉSUMÉ.....	137
ABSTRACT	138
INTRODUCTION	139
MATERIAL AND PROCEDURES	141
<i>Manual counting</i>	141
<i>Image processing and automatic counting</i>	142
ASSESSMENT - DISCUSSION	149
COMMENTS AND RECOMMENDATIONS.....	154
ACKNOWLEDGEMENTS	154
 CHAPITRE 4.2	155
CARACTÉRISATION ET QUANTIFICATION DE L'EFFET DES GROUPES FONCTIONNELS ET DE LEUR DIVERSITÉ SUR LE REMANIEMENT SÉDIMENTAIRE ET LES CARACTÉRISTIQUES MICROBIENNES	
RÉSUMÉ.....	156
MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	159
<i>Site d'étude</i>	159
<i>Microcosmes expérimentaux</i>	159
<i>Les luminophores</i>	160
<i>Quantification des luminophores</i>	161
<i>Le modèle d'advection-diffusion</i>	161

<i>Mesures bactériennes</i>	162
<i>Tests statistiques</i>	163
<i>Détermination des interactions entre groupes fonctionnels</i>	163
<i>Effet de la diversité sur les coefficients de remaniement sédimentaire</i>	164
RÉSULTATS	164
<i>Distribution des luminophores</i>	164
<i>Caractérisation du remaniement sédimentaire</i>	167
<i>Caractérisation des mesures bactériennes</i>	168
<i>Étude des interactions</i>	168
<i>Effet de la diversité sur le remaniement sédimentaire</i>	173
DISCUSSION	175
 CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES	 178
CONCLUSIONS	178
PERSPECTIVES DE RECHERCHES	183
 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	 188
 ANNEXES	 209
EXEMPLES DE DONNÉES BRUTES DE CONCENTRATIONS EN O₂	

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Répartition des communautés à *Macoma balthica* sur les côtes de l'Atlantique Nord. Modifié de Rosenberg, 2001. 5

Figure 2: Visualisation en 2D (Mermillod-Blondin *et al.*, 2003) et 3D (Dufour *et al.*, 2005), par la méthode du Cat-Scan, de la répartition des trois espèces dominantes de la communauté à *M. balthica* (*M. balthica*, *M. arenaria* et *N. virens*) de l'estuaire du Saint-Laurent (Québec, Canada) au sein de la colonne sédimentaire. 7

Figure 3: Représentation schématique des différents flux de matières particulaires et dissous dans la colonne sédimentaire, induits par les activités de bioturbation des trois espèces dominantes de la communauté à *M. balthica* de l'estuaire du Saint-Laurent (Québec, Canada) (*M. balthica*, *Mya arenaria* et *Nereis virens*). Modifié de Reise, 1985, François, 1999 et Karlson, 2005. 8

Figure 4: Distribution idéalisée de la dégradation de la matière organique dans les sédiments marins. A gauche, les principales voies de minéralisation de la matière organique dans les sédiments marins, associées à la quantité d'énergie libre ΔG° (KJ/mol), libérée lors de la réaction et indispensable au développement physiologique des micro-organismes (Froelich *et al.*, 1979). A droite, représentation schématique de la distribution des composés dissous

majeurs dans les sédiments marins. La profondeur et les concentrations sont arbitraires. Cette distribution verticale montre l'utilisation préférentielle de l'oxygène, suivi des nitrates, puis des oxydes métalliques et enfin des sulfates.

Modifié de Dedieu, 2005.

14

Figure 5: Répartition des accepteurs d'électrons dans les sédiments marins : (a) : distribution idéalisée dans un système verticalement stratifié; (b) : zonation cylindrique autour d'un micro-environnement de type terrier bioirrigué; (c) : zonation sphérique (ellipsoïdale) au niveau de micro-environnements de type pelotes fécales. Modifié de Aller, 1982.

18

Figure 6: Représentation schématique des mécanismes de remaniement physique et biologique des biodiffuseurs, convoyeurs vers le bas, convoyeurs vers le haut, régénérateurs et des diffuseurs à galeries (François *et al.*, 2002). Les paramètres indiqués sont : a , la largeur de la zone de mélange, n la profondeur de la zone de mélange par les organismes, m_{ie} la hauteur de la zone d'ingestion-d'excrétion des convoyeurs vers le bas, m_i la hauteur de la zone d'ingestion des convoyeurs vers le haut, m_R la hauteur de la zone du fond des galeries des diffuseurs à galeries, m_b la hauteur de la zone de diffusion du diffuseur à galerie, et b la hauteur de la première ligne de la matrice utilisée dans les modèles de François *et al.*, 2002. Les flèches indiquent le mouvement des particules sédimentaires.

34

Figure 7 : Profils schématiques des taux de réactions de la dégradation de la matière organique en fonction de la profondeur dans deux types de sédiments initiaux. **A:** Dans un sédiment homogénéisé, les taux de réactions sont constants sur la profondeur. **B:** Dans un sédiment non homogénéisé, les taux de réactions varient avec la profondeur. L'action des organismes dans un sédiment de type A peut surestimer l'intensité des flux diffusifs par rapport à un sédiment de type B (Aller, 1978).

180

Figure I-1 : Representative bioturbation functional groups of the *M. Bathica* community : 1a. Biodiffusers, 1b. Gallery-diffusers (modified from Reise, 1985 and Francois *et al.*, 2002).

52

Figure I-2: Sampling site in the Baie des Ha! Ha! at the Parc National du Bic.

54

Figure I-3: Experimental microcosms set-up for O₂ flux measurements

58

Figure I-4: Oxygen fluxes ($\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$) at the sediment-water interface measured on day 12 of the experiment (before introducing the macrofauna). B = Biodiffuser and G-D = Gallery-diffuser. Rates are given as means $\pm$ SD of 3 cores.

63

Figure I-5: Oxygen fluxes ($\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$) at the sediment-water interface measured on days 20, 28, and 36 of the experiment. B = biodiffuser and G-D = Gallery-diffuser. Rates are given as means $\pm$ SD of 3 cores.

64

Figure I-6: Net oxygen fluxes ($\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$) attributable to macrofauna after subtracting oxygen uptake by the controls. Rates are given as means $\pm$ SD of 3 cores. 67

Figure II-1: Diagram of sediment core during nutrients and DOC flux measurements under dark conditions. 84

Figure II-2: Fluxes of (A) DOC, (B) Ammonium, (C) Phosphate, (D) Nitrate across the sediment-water interface for the four treatments (control, *M. balthica*, *M. arenaria*, *N. virens*) on days 21, 29 and 37 of the experiment. Rates are given as mean of $\pm$ SD of 3 cores. * indicates treatment fluxes that significantly differ from control fluxes. 90

Figure II-3: Net fluxes of (A) DOC, (B) Ammonium, (C) Phosphate, (D) by macrofauna system after subtraction of control fluxes from the fluxes measured with each species (*M. balthica*, *M. arenaria*, *N. virens*) on days 21, 29 and 37 of the experiment. Rates are given $\pm$ SD of 3 cores. * indicates treatment fluxes that significantly differ with time. 94

Figure II-4: Theoretical representation of the influence of nitrate and ammonium distributions in sediment on biodiffuser-mediated fluxes. *M. balthica*, which burrows within the nitrification zone, produces a net release of nitrate to the

overlying water. The burrow of *M. arenaria*, which traverses both nitrification and denitrification zones, produces nitrate uptake and ammonium release. 100

Figure III-1: Experimental design and time table. Replicates of each treatment were randomly distributed in 3 groups of 8 microcosms. Each group was settled with an interval of three days, and the experiment lasted 39 days for each group. The entire experiment lasted from August 18 to October 2 2003. 111

Figure III-2: Fluxes of (A) Oxygen (O₂) and (B) Dissolved Organic Carbon (DOC) across the sediment-water interface for the eight treatments (control, *M. balthica* (Mb), *M. arenaria* (Ma), *N. virens* (Nv), Mb+Ma, Mb+Nv, Ma+Nv, Mb+Ma+Nv) on days 20 (21), 28 (29) and 36 (37) of the experiment for the O₂ and DOC measurements. Fluxes are given as mean of $\pm$ SD of 3 microcosms. * indicates treatments that differed significantly from control ($p < 0.05$). 117

Figure III-3: Fluxes of (A) Ammonium (NH₄⁺), (B) Nitrate (NO₃⁻) and (C) Phosphate (PO₄³⁻), across the sediment-water interface for the eight treatments (control, *M. balthica* (Mb), *M. arenaria* (Ma), *N. virens* (Nv), Mb+Ma, Mb+Nv, Ma+Nv, Mb+Ma+Nv) on days 21, 29 and 37 of the experiment. Rates are given as mean of $\pm$ SD of 3 microcosms. * indicates treatments that differed significantly from control ($p < 0.05$). 118

Figure III-4: Position of the functional assemblages on the two first axis of PCA. The first and the second axis explain respectively 70% and 10% of the variance. Functional assemblages containing the gallery-diffuser alone and in combination with the biodiffusers have distinct effects on fluxes relative to treatments containing biodiffusers alone and combined. 122

Figure III-5: Comparisons between the measured and the predicted O_2 fluxes (A), and between the measured and the predicted DOC fluxes (B), across the sediment-water interface, for the four assemblage treatments (Mb+Ma, Mb+Nv, Ma+Nv, Mb+Ma+Nv) on days 20 (21), 28 (29) and 36 (37) of the experiment. Rates are given as mean of $\pm$ SD of 3 microcosms. * indicates measured fluxes that differ significantly from predicted fluxes. 123

Figure III-6: Comparisons between the measured and the predicted NH_4^+ fluxes (C), between the measured and the predicted NO_3^- fluxes (D), and between the measured and the predicted PO_4^{3-} fluxes (E) across the sediment-water interface, for the four assemblage treatments (Mb+Ma, Mb+Nv, Ma+Nv, Mb+Ma+Nv) on days 21, 29 and 37 of the experiment. Rates are given as mean of $\pm$ SD of 3 microcosms. * indicates measured fluxes that differ significantly from predicted fluxes. 124

Figure III-7: Effects of species diversity and functional diversity on oxygen uptake over the duration of the experiment (days 20, 28, and 36). Only significant

regression coefficients and significant slopes are indicated on the graphs (p<0.05).

126

Figure III-8: Sketches of the qualitative effects of interactions among functional assemblages (**A**: *M. balthica* + *M. arenaria*; **B**: *M. balthica* + *N. virens*; **C**: *M. arenaria* + *N. virens*; **D**: *M. balthica* + *M. arenaria* + *N. virens*) on benthic fluxes. The direction of open arrows indicate direction of measured fluxes and the arrow size is proportional to the component of the flux attributed to interactions. Burrowing depth of each functional group in the assemblage treatments mediated theoretical representation of the oxygen and nutrients distributions in sediment. Scaling of oxygenated zones around life sites, characteristics spacing observed and transport processes are also represented. Particulate transport represented the sediment mixing by feeding and excretion modes, mobility, foraging and storage behaviour, and passive advection. Dissolved transport represented bioirrigation path by gallery-diffuser and respiration by biodiffuser, molecular diffusion across burrow walls and siphons. 131

Figure IV.1-1: Algorithm for image processing from the initial RGB pictures to the percent of green and red luminophores detected. Three filters are used. Parameter values and symbol meanings are given in Table IV.1-1.

143

Figure IV.1-2: Example of the processing steps (a, c, d and e) leading to the green luminophore detection for a section of an initial image in RGB format. Red luminophores are visible in the initial image (a), but green luminophores are

only visible after subtracting the blue component and increasing the contrast (b). The successive use of filters 1, 2, and 3 (F1, F2, and F3) on the green component (c) gave images d and e. An identical processing applied to the red component gave the red luminophore detection on the same image section (f). 145

Figure IV.1-3: a. Example of histograms representing pixel number (after a logarithmic transformation) as a function of the colour intensity for the green and red components. The values of inflection points s_g and s_r were set at 15 and 20, respectively. b. Example of histograms representing pixel number (after a logarithmic transformation) as a function of the colour ratio between the intensities of the red and blue components and between the intensities of the green and blue components. The values of inflection points t_g and t_r were set at 0.2 and 0.4, respectively. 146

Figure IV.1-4: Frequencies of the ratio between the red and green components in one image of a surface layer. The noise was removed (step 1) before the frequency estimation. The ratio threshold (t_b) used for the luminophore identification is indicated. 148

Figure IV.1-5: Luminophore counting with manual and automatic methods for red (A) and for green (B) luminophores. Linear regressions (solid lines) were significant for red luminophores ($R^2=0.91$, $p<0.005$) and green luminophores ($R^2=0.77$, $p<0.005$). The regression line slopes were significantly close to 1 for

red (slope=0.98, $t=0.15$, $df=23$, $p=0.05$), and green (slope=0.973, $t=0.09$, $df=23$, $p=0.05$) luminophores. Dashed lines have slopes of 1 for comparison. The variability due to subsamples is also represented. 150

Figure IV.1-6: Luminophore distribution in the sediment column (%) for controls (A, B) and *Nereis virens* (C, D) cores determined with microscopy (+) and automatic (o) counting methods. 152

Figure IV.2-1a: Profils de distribution des luminophores de 150 – 180 μm , observés (●) et simulés (o), pour les traitements en allopatrie. Les valeurs de chaque coefficient de biodiffusion (D_b) et d'advection (r), attribuables à chaque traitement, sont indiquées. 165

Figure IV.2-1b: Profils de distribution des luminophores de 150 – 180 μm , observés (●) et simulés (o), pour les traitements en sympatrie. Les valeurs de chaque coefficient de biodiffusion (D_b) et d'advection (r), attribuables à chaque traitement, sont indiquées. 166

Figure IV.2-2: Profils verticaux du nombre total de bactéries pour les huit traitements (moyenne $\pm$ E.T, $n=3$). Les profils contrôles sont indiqués sur chaque graphe. Les profils issus des valeurs prédites ont été également ajoutés pour comparaison avec les profils réellement observés. Les interactions significatives sont indiquées (* $p<0.05$) 169

Figure IV.2-3: Profils verticaux du pourcentage de bactéries actives EUB pour les huit traitements (moyenne $\pm$ E.T, n=3). Les profils contrôles sont indiqués sur chaque graphe. Les profils issus des valeurs prédites ont été également ajoutés pour comparaison avec les profils réellement observés. Les interactions significatives sont indiquées (*p<0.05). 170

Figure IV.2-4: Profils verticaux du pourcentage de bactéries actives sulfato-réductrices SRB pour les huit traitements (moyenne $\pm$ E.T, n=3). Les profils contrôles sont indiqués sur chaque graphe. Les profils issus des valeurs prédites ont été également ajoutés pour comparaison avec les profils réellement observés. Les interactions significatives sont indiquées (*p<0.05). 171

Figure IV.2-5: Coefficients d'advection (%.y-1) mesurés et prédits (means $\pm$ SD., n=3). Les coefficients prédits ont été calculés à partir des coefficients issus des traitements en allopatrie. Les résultats des interactions significatives sont indiqués sur la figure (*p<0.05). 172

Figure IV.2-6: Effets de la diversité spécifique et fonctionnelle sur les coefficients d'advection r. Les coefficients de régression linéaire et les pentes significatifs sont indiqués sur chaque graphe (p<0.05). 174

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Classification des activités de bioturbation, sur une échelle de 0 (absence de bioturbation) à 4 (bioturbation importante). Modifié de Swift, 1993.	31
Tableau 2: Comparaison des relations entre les activités de biodiffusion et la qualité de la matière organique, sédimentant à quatre stations de la Mer du Nord, avec différents régimes hydrodynamiques et sédimentaires. Les plus hauts niveaux de bioturbation sont observés aux stations recevant une quantité intermédiaire de matière organique. Modifié de Dauwe <i>et al.</i> (1998).	32
Table I-1: Loss on ignition (LOI), particulate organic carbon (POC) and nitrogen (PON), molecular C/N ratio, and chl <i>a</i> in freshly sieved sediment at the beginning of the experiment and in the surface layer of the microcosms at the end of the experiment (means $\pm$ SD, n = 3).	60
Table I-2: Results of 1-way analysis of variance using treatment (control, <i>Macoma balthica</i> , <i>Mya arenaria</i> , and <i>Nereis virens</i>) as fixed factor.	62
Table I-3: Results of 1-way repeated analysis of variance using time as repeated factor and treatment (control, <i>Macoma balthica</i> , <i>Mya arenaria</i> , and <i>Nereis virens</i>) as fixed factor. * indicates significant results (*p < 0.05).	65

Table I-4: Significant differences in O ₂ uptake among treatments (*p < 0.05) obtained with HSD tuckey tests.	65
Table I-5: Net oxygen uptake per mL biovolume (μmol O ₂ h ⁻¹ mL ⁻¹) (means ± SD, n = 3).	68
Table II-1: Loss on ignition (LOI), particulate organic carbon (POC) and nitrogen (PON), molecular C/N ratio, and chl <i>a</i> in freshly sieved sediment at the beginning of the experiment and in the surface layer of the microcosms at the end of the experiment (means ± SD, n = 3).	88
Table II-2: Results of 1-way repeated analysis of variance using time as repeated factor and treatment (control, <i>Macoma balthica</i> , <i>Mya arenaria</i> , and <i>Nereis virens</i>) as fixed factor. * indicates significant results (*p < 0.05). Statistical O ₂ results were taken from Michaud et al. (2005).	91
Table II-3: Net DOC and nutrients fluxes per mL (means ± SD, n = 3).	95
Table III-1: Loss on ignition (LOI), particulate organic carbon (POC) and nitrogen (PON), molecular C/N ratio, and chl <i>a</i> in freshly sieved sediment at the beginning of the experiment and in the surface layer of the microcosms (control, <i>M. balthica</i> (Mb), <i>M. arenaria</i> (Ma), <i>N. virens</i> (Nv), Mb+Ma, Mb+Nv, Ma+Nv, Mb+Ma+Nv) at the end of the experiment (means ± SD, n = 3).	115

Table III-2 : Results of one-way analysis of variance on sediment properties at the end of the experiment using treatment (control, *M. Balthica* (Mb), *M. Arenaria* (Ma), *N. Virens* (Nv), Mb+Ma, Mb+Nv, and Ma+Nv, Mb+Ma+Nv) as fixed factor. 116

Table III-3: Results of 1-way repeated analysis of variance using time as repeated factor and treatment (control, *Macoma balthica* (Mb), *Mya arenaria* (Ma), and *Nereis virens* (Nv), (Mb+Ma), (Mb+Nv), (Ma+Nv), and (Mb+Ma+Nv)) as fixed factor. * indicates significant results (*p < 0.05). 119

Table IV.1-1: Definition and values of the symbols and parameters. 144

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les zones côtières, peu profondes (< 200m), s'étendent sur plus de 350 000 Km autour des continents. Si elles ne couvrent approximativement que 10 % de la surface des océans elles jouent un rôle considérable dans les cycles biogéochimiques (Gattuso *et al.*, 2005) en :

- recevant 75 à 90 % de matière organique et de nutriments terrestres via les systèmes fluviaux et sous-terrains,
- échangeant de larges quantités de matière avec l'océan ouvert,
- constituant une des aires aquatiques les plus actives et productives.

Ainsi, 14 à 30% de la production primaire océanique est produite au niveau des zones côtières, 80% du matériel organique reçu y est enfoui, 90% de la matière y est minéralisée, et 50% des carbonates de calcium y sont déposés (Hedges et Keil, 1995; Herbert, 1999; Gattuso *et al.*, 1998; Gazeau *et al.*, 2004). De plus 90% des pêches mondiales se développent dans ces zones côtières (Pauly et Christensen, 1995) et leur valeur économique est estimée à plus de 43% de la valeur totale des services naturels mondiaux (Costanza *et al.*, 1997).

Parmi les milieux côtiers, les zones intertidales (zones de balancement des marées) (i.e., mangroves, marais salés, lagunes, vasières) constituent une large fraction et sont des sites d'échanges intenses de matière et d'énergie, conduisant à une productivité très élevée et à une importante transformation de la matière organique (Mathieson, 1991). On estime environ que 22×10^9 t. an⁻¹ des apports sédimentaires terrestres se déversent directement sur les zones intertidales, dépendant du type de marges continentales (i.e., deltas, pentes...), dont plus d'un quart (6×10^9 t. an⁻¹), sont apportés par 25 des plus grands fleuves du monde (de type

Amazone, Danube, Mississipi....), et 10×10^9 t. an⁻¹ sont drainés par de plus petites rivières (Eisma *et al.*, 2000).

Dans les zones intertidales, les flux de nutriments et de carbone inorganiques, issus du recyclage de la matière organique en excès, constituent des fonctions clés pour la productivité et le maintien des écosystèmes intertidaux (Asmus *et al.* 2000; Welsh *et al.*, 2000). Les invertébrés benthiques des zones intertidales jouent un rôle primordial dans le contrôle des processus de transformation de la matière organique (Welsh, 2003; Lohrer *et al.*, 2004). En effet, la matière organique qui arrive sur le fond est plus ou moins dégradée selon son origine, sa nature et son temps de séjour dans la colonne d'eau (Hulthe *et al.*, 1998; Canfield, 1994). En zone intertidale, en raison des faibles profondeurs (< 4m), le transit vers le fond ne permet pas une minéralisation complète par les micro-organismes de la colonne d'eau. Celle-ci se termine donc au niveau de l'interface eau-sédiment et dans la colonne sédimentaire où la dégradation de la matière organique est réalisée par des métabolismes microbiens aérobies et/ou anaérobies, en particulier dans les structures biogènes et le sédiment (Aller, 1994). La bioturbation qui représente l'ensemble des activités des organismes benthiques (e. g., construction de terriers, ingestion, excrétion...), en modifiant continuellement la structure physique et la composition chimique des sédiments, va créer de manière directe et/ou indirecte des environnements très réactifs vis-à-vis de la dégradation de la matière organique et conditionne l'activité microbienne (Aller, 2001).

L'équilibre des écosystèmes littoraux est malheureusement de plus en plus menacé par l'augmentation croissante des complexes touristiques, des pollutions d'origine diverses,

notamment pétrolières, l'érosion des côtes, les changements de température et de l'augmentation du niveau de la mer (Cohen *et al.*, 1997; Widdows *et al.*, 2000; Widdows et Brinsley, 2002; Philippart *et al.*, 2003). Ces espaces riches et diversifiés attirent de plus en plus de monde, et on estime qu'en 2025, plus de 75% de la population mondiale vivra à moins de 60 Km des côtes (UNESCO, 2000). Dans le but d'améliorer leurs gestions durables, intégrant à la fois l'utilisation des ressources et la préservation des écosystèmes littoraux, il est nécessaire de comprendre leur fonctionnement. Les travaux étudiant le rôle de la diversité benthique sur le fonctionnement des écosystèmes littoraux se sont de ce fait multipliés depuis les cinq dernières années (Emmerson *et al.*, 2001; Emmerson et Huxham, 2002; Biles *et al.*, 2003; Raffaelli *et al.*, 2003; Waldbusser *et al.*, 2004; Mermillod-Blondin *et al.*, 2005).

Afin de déterminer l'effet de la richesse spécifique sur l'intensité des processus mesurés, l'approche classique utilisée en écologie, consiste à augmenter le nombre d'espèces ou de groupes fonctionnels (ensemble d'espèces qui présentent des effets similaires sur les processus intervenant dans la dynamique d'un écosystème, Chapin *et al.* 1992) dans différents traitements expérimentaux répliqués (Hector *et al.*, 2002). Les relations entre la diversité fonctionnelle et les processus biogéochimiques, mesurés au niveau des sédiments aquatiques, restent tout de même encore mal comprises. Si les études récentes ont conclu que la diversité fonctionnelle a un effet majeur sur les propriétés des écosystèmes (i. e., production, respiration, flux de nutriments) (Mc-Grady Steed et Morin, 2000; Wardle *et al.*, 2000; Raffaelli *et al.*, 2003), très peu d'études ont souligné à ce jour l'importance des interactions entre les groupes fonctionnels (Cardinale *et al.*, 2002; Mermillod-Blondin *et al.*, 2004, 2005).

L'objectif général de cette thèse de doctorat a été de déterminer le rôle et les interactions des deux groupes fonctionnels dominants de la communauté à *Macoma balthica* de l'estuaire du Saint-Laurent sur les flux biogéochimiques à l'interface eau-sédiment et sur le mélange particulaire. La communauté benthique à *M. balthica* domine l'ensemble des côtes de l'Atlantique Nord (Thorson, 1957; Rosenberg, 2001) (Figure 1). Les groupes fonctionnels ont été définis ici selon leur mode de remaniement sédimentaire: les biodiffuseurs (*Macoma balthica* et *Mya arenaria*) et le diffuseur à galerie (*Nereis virens*) (Mermillod-Blondin *et al.*, 2003). Cette étude s'est faite, en faisant varier d'une expérience à l'autre la diversité spécifique et fonctionnelle.



Figure 1: Répartition des communautés à *Macoma balthica* sur les côtes de l'Atlantique Nord. Modifié de Rosenberg, 2001.

ÉTAT DES CONNAISSANCES

La communauté intertidale à *Macoma balthica* de l'estuaire du Saint-Laurent

Les zones intertidales de la rive Sud de l'Estuaire du Saint-Laurent à l'Est du Québec (Canada), sont constituées en majorité de vasières, avec un faible hydrodynamisme et une teneur en matière organique très élevée (2%). Un petit nombre d'espèces constituées d'un grand nombre d'individus forment la communauté à *M. balthica* de l'estuaire du Saint-Laurent (Desrosiers *et al.*, 1984), dominé par l'annélide polychète *Nereis virens* (1100-1600 ind/m²) et les deux bivalves lamellibranches *Macoma balthica* (2600-3000 ind/m²) et *Mya arenaria* (254-770 ind/m²) (Mermillod-Blondin *et al.*, 2003). L'éthologie de ces trois espèces est bien connue (Desrosiers *et al.*, 1984; Miron et Desrosiers, 1990; Miron *et al.*, 1991; Roseberry *et al.*, 1991; Desrosiers *et al.*, 1994; Azouzi *et al.*, 2002; Mermillod-Blondin *et al.*, 2003). Elles se distinguent essentiellement par leur mode différent d'enfouissement, de nutrition, de respiration et de remaniement sédimentaire (Figures 2 et 3):

Après un recrutement larvaire réalisé dans le haut de la plage (0-10 mg poids humide), et suite à une croissance de type segmentaire (3 à 4 années) (Desrosiers *et al.*, 1988), les juvéniles de *N. virens* (< 200 mg poids humide) migrent vers le bas de plage où il y'a construction, établissement et maintenance du terrier par la population adulte (200-300 mg poids humide) (Miron et Desrosiers, 1990). Des densités élevées de jeunes individus peuplent

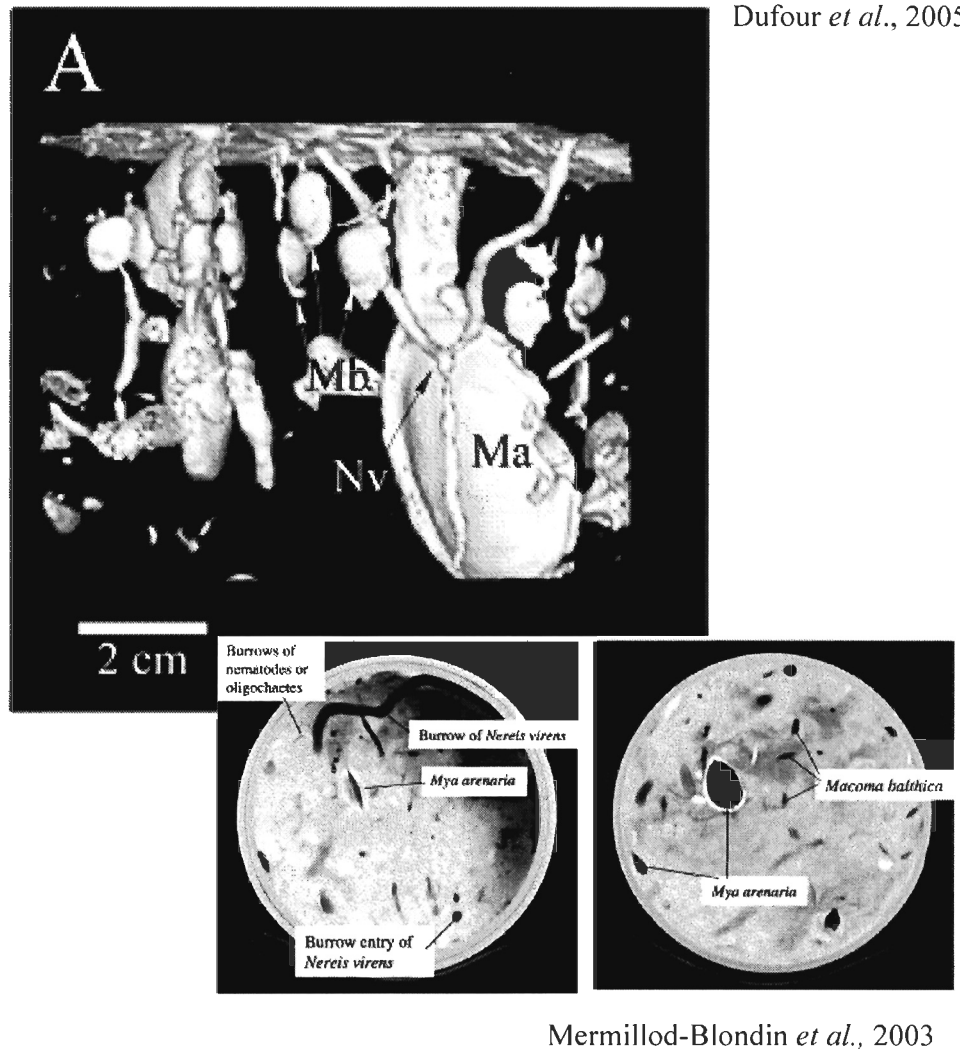


Figure 2: Visualisation en 2D (Mermillod-Blondin *et al.*, 2003) et 3D (Dufour *et al.*, 2005), par la méthode du Cat-Scan, de la répartition des trois espèces dominantes de la communauté à *M. balthica* (*M. balthica*, *M. arenaria* et *N. virens*) de l'estuaire du Saint-Laurent (Québec, Canada) au sein de la colonne sédimentaire.

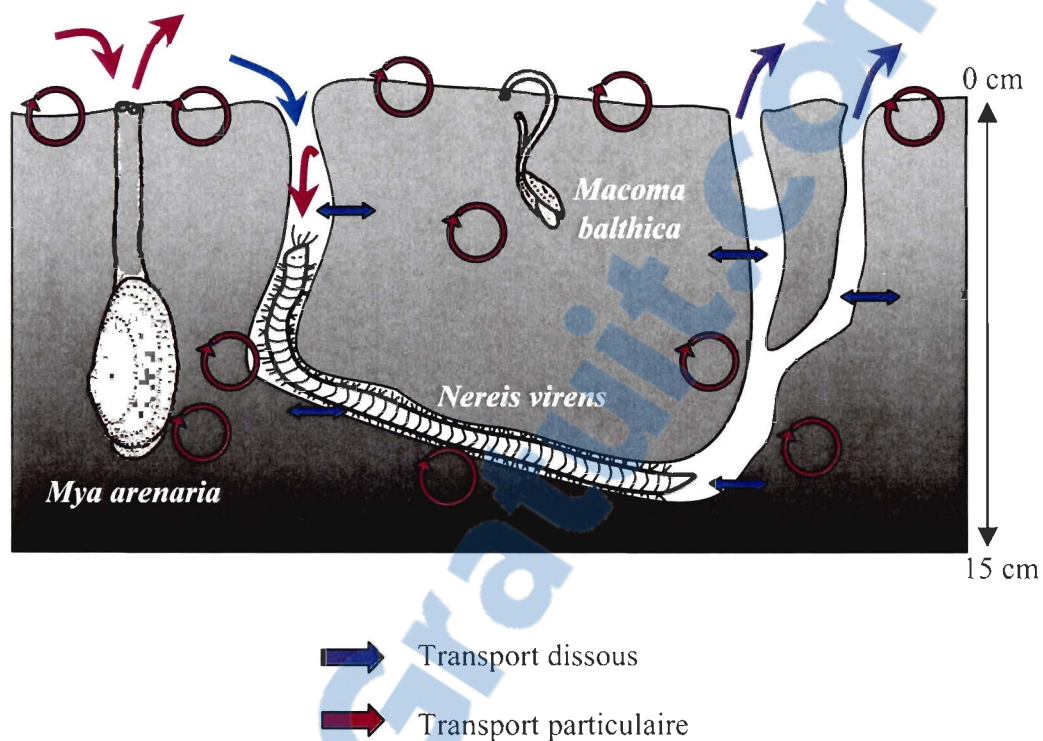


Figure 3: Représentation schématique des différents flux de matières particulaires et dissous dans la colonne sédimentaire, induits par les activités de bioturbation des trois espèces dominantes de la communauté à *M. balthica* de l'estuaire du Saint-Laurent (Québec, Canada) (*M. balthica*, *Mya arenaria* et *Nereis virens*). Modifié de Reise, 1985, François, 1999 et Karlson, 2005.

ainsi le haut de la zone intertidale (sédiments sablo-vaseux, riches en matière organique), tandis que de faibles densités d'individus matures se retrouvent en bas de plage (sables fins, pauvres en matière organique). Les individus se reproduisent vers l'âge de 6 ans, les migrations d'essaimage ayant lieu en mai (Desrosiers *et al.*, 1991).

Nereis virens creuse un terrier à plus de 15 cm de profondeur (Mermillod-blondin *et al.*, 2003; Dufour *et al.*, 2005) dont la paroi est recouverte d'un mucus riche en composé polysaccharides (Kristensen, 2000) et dont la forme et la grandeur sont dépendantes de la densité de la population (Miron *et al.*, 1991). La mise en place du terrier, sous conditions expérimentales, passe par différentes phases : (i) une phase d'exploration-construction durant les trois premiers jours, (ii) les 2 jours suivants, une phase de cessation d'activité et (iii) les trois derniers jours, une phase finale de construction du terrier (Miron *et al.*, 1991). La profondeur d'enfouissement du ver influence la longueur totale de la galerie.

N. virens a un comportement extrêmement territorial (Miron et Desrosiers, 1990; Caron *et al.*, 1996). Par contre, il n'entre pas en compétition pour la nourriture qui n'est pas limitée dans le milieu naturel (Olivier *et al.*, 1996; Caron *et al.*, 1996, 2004). Les adultes sont essentiellement carnivores en se nourrissant de macrofaune juvénile ou de méiofaune, mais ils peuvent être aussi dépositivores de surface en ingurgitant la matière organique autour de leur terrier. Ils ont également la particularité de stocker de la nourriture au fond de leur terrier pour préparer leur période de quiescence hivernale (Deschênes *et al.*, 2005). Les pelotes fécales, entièrement recouvertes de mucus, sont excrétées à l'extérieur du terrier. Une fois adulte, *N. virens* passe donc la majeure partie de sa vie dans son terrier qu'il ne quitte que pour rechercher de la nourriture à la surface du sédiment. *N. virens* entretient régulièrement son terrier en le ventilant par des mouvements ondulés du corps (Kristensen, 1985). Cette ventilation ou bioirrigation lui est nécessaire pour favoriser les échanges gazeux, l'enlèvement

des métabolites, le transport de la nourriture et des gamètes. Elle permet aussi la transmission des stimuli environnementaux jusque dans les terriers (Kristensen, 1988).

Les deux bivalves *M. balthica* et *M. arenaria* peuvent s'enfouir dans le sédiment, grâce au mouvement de leur pied, jusqu'à 4 cm et 8 cm respectivement (Mermillod-Blondin *et al.*, 2003). Ces fouisseurs sont en contact avec la surface du sédiment via l'extension de leurs deux siphons, l'un inhalant, l'autre exhalant. C'est la longueur des siphons qui déterminent chez les bivalves lamellibranches la profondeur d'enfouissement. Ils pompent l'eau en créant un courant inhalant par le battement des cils branchiaux. L'épithélium des branchies sécrète un mucus dans lequel se prennent les particules alimentaires. Les particules trop volumineuses sont rejetées par le siphon inhalant.

Chez *M. arenaria*, les deux siphons sont soudés sur toute leur longueur, il se nourrit par filtration de particules en suspension en même temps qu'il induit un courant respiratoire au travers de ses branchies (Emerson *et al.*, 1988; Grant et Thorpe, 1991). Ce bivalve a la particularité de sélectionner la matière organique avant de l'ingurgiter et produit donc une quantité importante de pseudofécès (Thorin *et al.*, 1998; Ward et Shumway, 2005).

Chez *M. balthica*, les siphons sont séparés. Selon les conditions hydrodynamiques et/ou de prédation, la profondeur à laquelle se trouve le bivalve peut changer, ainsi que son mode de nutrition (de Goeij et Luttikhuisen, 1998). Si les siphons sont étirés sur toute leur longueur dans la colonne sédimentaire, *M. balthica* se nourrit par filtration des particules en suspension. Si les siphons sont partiellement étendus, le bivalve se nourrit en aspirant activement les particules détritiques déposées sur le sédiment (Hummel, 1985). Dans ce dernier cas, le siphon inhalant peut prospecter une grande surface sédimentaire ce qui permet une meilleure prise

alimentaire (Zaklan et Ydenberg, 1997). *M. balthica* excrète une quantité importante de pelotes fécales à la surface du sédiment.

Des variations intra-populations de *M. arenaria* et *M. balthica* ont été déterminées entre le haut et le bas de plage en relation avec le poids et la taille des individus (Vincent *et al.*, 1987; Roseberry *et al.*, 1991). Les myes de 3-8 ans (< 30 mm) dominent le haut de plage, alors que celles de 10-15 ans (40-60 mm) dominent le bas de plage (Roseberry *et al.*, 1991). La mye atteint sa maturité sexuelle vers 5-6 ans (20 mm) et la période annuelle de reproduction se fait au printemps quand le phytoplancton est en quantité suffisante. Concernant *M. balthica*, il a été démontré une augmentation monotone de la croissance de ce bivalve avec une diminution du niveau altimétrique, les individus de plus de 5 ans (>10 mm) dominant le bas de plage (Vincent *et al.*, 1987). Les auteurs proposent la température comme facteur principal, responsable des variations de croissance observées dans le temps (croissance printanière et annuelle) et dans l'espace (effet du niveau altimétrique et des marées).

Impact de la bioturbation sur le recyclage de la matière organique

Processus de diagenèse précoce

La diagenèse représente l'ensemble des processus qui modifient les dépôts sédimentaires (Berner, 1980; Henrichs, 1992). Les processus diagénétiques peuvent être subdivisés en deux groupes: les processus réactionnels et les phénomènes de transport (Jorgensen et Boudreau, 2001).

- Les processus réactionnels permettent la production ou la consommation de solutés ou d'espèces chimiques solides, à l'intérieur du sédiment, via des moyens biotiques et abiotiques. Les réactions biologiques font intervenir les microorganismes qui participent directement à la dégradation de la matière organique, au recyclage des nutriments et à l'oxydation des métaux et composés réduits. Ces microorganismes peuvent aussi participer indirectement au processus abiotiques (dissolution et précipitation minérales, réactions ioniques dans les eaux porales) quand les produits issus de l'activité biologique influencent les réactions inorganiques.
- La diffusion moléculaire, l'advection, la bioturbation et la bioirrigation sont les principaux vecteurs de transport permettant le déplacement des particules et des solutés dans le sédiment.

Les processus de dégradation de la matière organique contrôlent une large part des processus de diagenèse précoce (Berner, 1980). Ils se font théoriquement selon une succession spécifique de réactions d'oxydoréduction qui obéissent aux lois de la cinétique et de la thermodynamique. Ces réactions diagénétiques chimiques sont en effet catalysées par des

systèmes enzymatiques par les microorganismes (Froelich *et al.*, 1979). Elles s'établissent en fonction des vitesses de minéralisation ou cinétiques de réactions qui dépendent de la labilité de la matière organique (Berner, 1980).

Thermodynamiquement, cette succession de réactions d'oxydoréduction est aussi déterminée par l'utilisation, par les micro-organismes, de l'oxydant le plus intéressant d'un point de vue énergétique (Froelich *et al.*, 1979). Les micro-organismes utilisent l'énergie libre libérée (ΔG°) lors des réactions d'oxydation de la matière organique pour se développer (Froelich *et al.*, 1979). Ainsi, l'oxydant libérant le plus d'énergie, sera consommé en premier comme le montre la figure 4. Une fois celui-ci disparu, parmi les oxydants encore présents dans le milieu, celui qui permet la plus grande libération d'énergie libre sera à son tour utilisé. Les oxydants disparaîtront selon cette succession de réactions. Les molécules organiques constituent le donneur d'électrons alors que les composés minéraux servent d'accepteur terminal d'électrons. Les composés susceptibles de jouer un tel rôle sont par ordre croissant d'efficacité thermodynamique : O_2 , NO_3^- , MnO_2 , $FeOOH$, SO_4^{2-} , HCO_3^- (Nedwell, 1984) (Figure 4).

A cette succession de réactions redox correspond donc une succession de communautés bactériennes, métaboliquement distinctes: aérobies, dénitrifiantes, sulfato-reductrices et méthanogènes (Figure 4). En théorie, en raison du principe d'exclusion compétitive, ces communautés bactériennes sont spécifiques à chaque réaction redox, et ces réactions se produisent donc successivement en association avec les changements de types bactériens (Aller, 1982). L'ensemble des métabolismes bactériens peuvent par contre s'exprimer simultanément, et donc, la dominance d'un type de métabolisme bactérien n'implique pas l'absence de réactions intermédiaires dans chaque zone (Jorgensen et Boudreau, 2001).

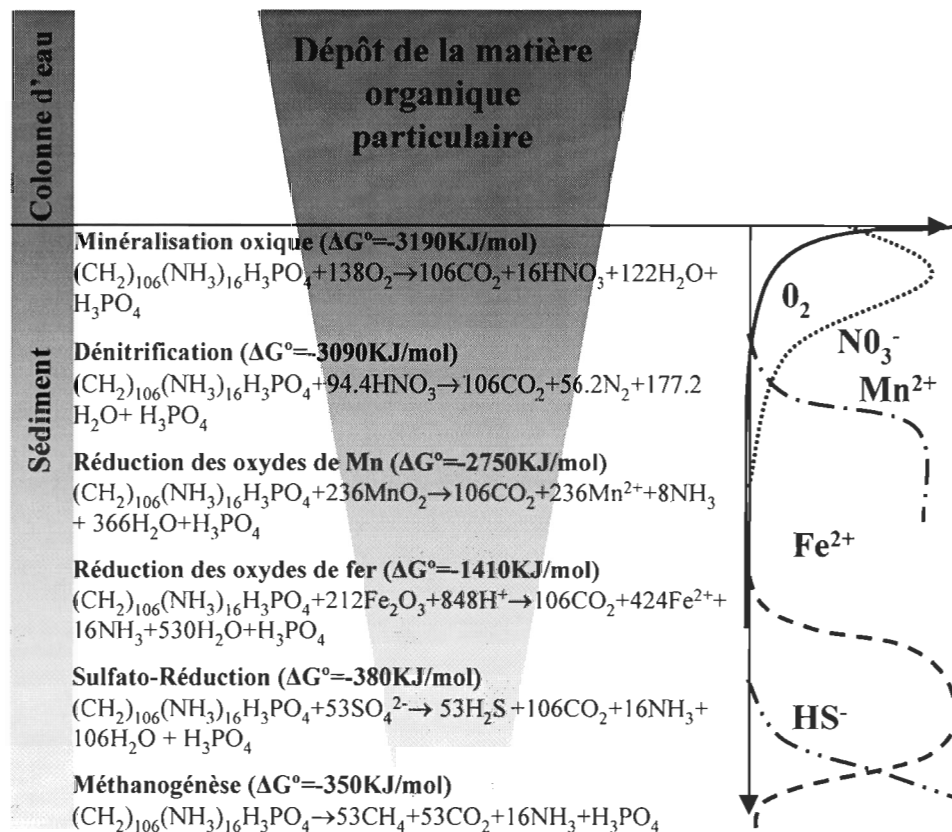


Figure 4: Distribution idéalisée de la dégradation de la matière organique dans les sédiments marins. A gauche, les principales voies de minéralisation de la matière organique dans les sédiments marins, associées à la quantité d'énergie libre ΔG° (KJ/mol), libérée lors de la réaction et indispensable au développement physiologique des micro-organismes (Froelich *et al.*, 1979). A droite, représentation schématique de la distribution des composés dissous majeurs dans les sédiments marins. La profondeur et les concentrations sont arbitraires. Cette distribution verticale montre l'utilisation préférentielle de l'oxygène, suivi des nitrates, puis des oxydes métalliques et enfin des sulfates. Modifié de Dedieu, 2005.

Le compartiment sédimentaire est alors découpé en trois zones (zones oxique, suboxique et anoxique), dans lesquelles s'établit verticalement la séquence diagénétique où les composés oxydés disparaissent rapidement sous l'interface et les composés réduits apparaissent en profondeur (Figure 4):

- A la surface des sédiments, en zone oxique l'oxygène dissous est l'accepteur d'électron préférentiel pour dégrader la matière organique. Les produits issus de cette réaction sont CO_2 , NH_4^+ directement nitrifiés en NO_3^- , et PO_4^{3-} , dérivés respectivement du carbone, de l'azote et du phosphore organique.
- Lorsque l'oxygène devient insuffisant (zone suboxique), les nitrates produits lors de la dégradation oxique de la matière organique servent d'accepteurs terminaux. C'est la zone de dénitrification. Le CO_2 , PO_4^{3-} , N_2 et NH_4^+ y sont produits. L'ammonium libéré dans la phase dissoute peut alors migrer par diffusion moléculaire vers la zone oxique où il sera ré-oxydé en NO_3^- .
- Sous cette zone de dénitrification (zone suboxique), les oxydes de manganèse (III, IV), présents dans la phase particulaire des sédiments sont utilisés comme accepteurs. Les produits de cette réaction sont CO_2 , PO_4^{3-} et NH_4^+ et le manganèse dissous (Mn^{2+}) qui est libéré dans les eaux interstitielles. Cet ion peut alors être transporté par diffusion vers la zone oxique où, une fois ré-oxydé, il précipite à nouveau sous forme d'oxydes

néoformés. Ces réactions d'oxydo-réduction complémentaires participent à l'intense recyclage du Mn à la frontière de la zone oxique.

- Sous l'horizon enrichi en oxydes de Mn (zone suboxique), les oxydes de fer (III) présents dans la fraction solide sont ensuite utilisés pour oxyder la matière organique. Ici sont produits CO_2 , PO_4^{3-} et NH_4^+ et le fer dissous (Fe^{2+}). Les ions Fe^{2+} peuvent alors diffuser vers la zone enrichie en oxygène et re-précipiter sous forme d'oxydes. La base de la zone oxique représente donc aussi une zone de recyclage pour le fer.
- En profondeur (zone anoxique), les sulfates dissous servent d'oxydant pour minéraliser la matière organique. Les sulfures produits sont d'ailleurs le piège de nombreux métaux en trace qui précipitent sous forme de minéraux soufrés ou sont adsorbés sur ces phases, marquant ainsi la présence de sulfato-réduction.
- Encore plus en profondeur (zone anoxique), quand les sulfates viennent à manquer, d'autres processus plus complexes et peu énergétiques se mettent en place dans la zone de méthanogenèse. Ils permettent, par exemple, la production de méthane et d'acide acétique. Ces réactions sont souvent associées à des réactions de fermentation.

Thermodynamiquement, d'autres réactions secondaires peuvent se produire impliquant les produits de la dégradation de la matière organique (Hulth *et al.*, 1999; Anschutz *et al.*, 2000). Par exemple, NO_3^- peut servir d'oxydant aux métaux dissous (Mn^{2+} et Fe^{2+}), les oxydes de Mn peuvent aussi oxyder le Fe dissous et les sulfures, NH_4^+ est un réducteur face aux

oxydes métalliques. Il reste cependant beaucoup d'incertitudes quant à l'impact de ces réactions sur la minéralisation de la matière organique. En effet, si ces processus secondaires sont chimiquement envisageables, ils peuvent aussi être catalysés par des micro-organismes, ce qui accélère leurs cinétiques.

De l'ensemble de ces réactions de décomposition, résultent des gradients de concentrations dans le sédiment et à l'interface eau-sédiment au niveau de la couche limite benthique, qui conduisent directement à des flux diffusifs de solutés dans la colonne sédimentaire et à l'interface eau-sédiment (Falcao et Vale, 1998; Boudreau et Jorgensen, 2001).

De façon schématique, dans les milieux côtiers non perturbés où l'oxygène est consommé près de la couche de surface et ne pénètre que sur quelques millimètres d'épaisseur dans les sédiments (Revsbech *et al.*, 1980), les zones oxiques et anoxiques du sédiment sont délimitées et la succession des réactions d'oxydoréduction est verticale comme le montre la figure 5a. Dans le cas d'un milieu côtier présentant une activité macro-benthique, celle-ci perturbe la distribution spatiale de ces réactions d'oxydo-réduction (Figure 5b, 5c) (Aller, 1982).

Transport des particules et des solutés

Le déplacement du macrobenthos endogé, la construction de structures biogènes (galeries, terriers, tubes) et les différents modes d'alimentation et d'excrétion entraînent en premier lieu un remaniement du sédiment (Figure 3). Ce remaniement d'origine biologique

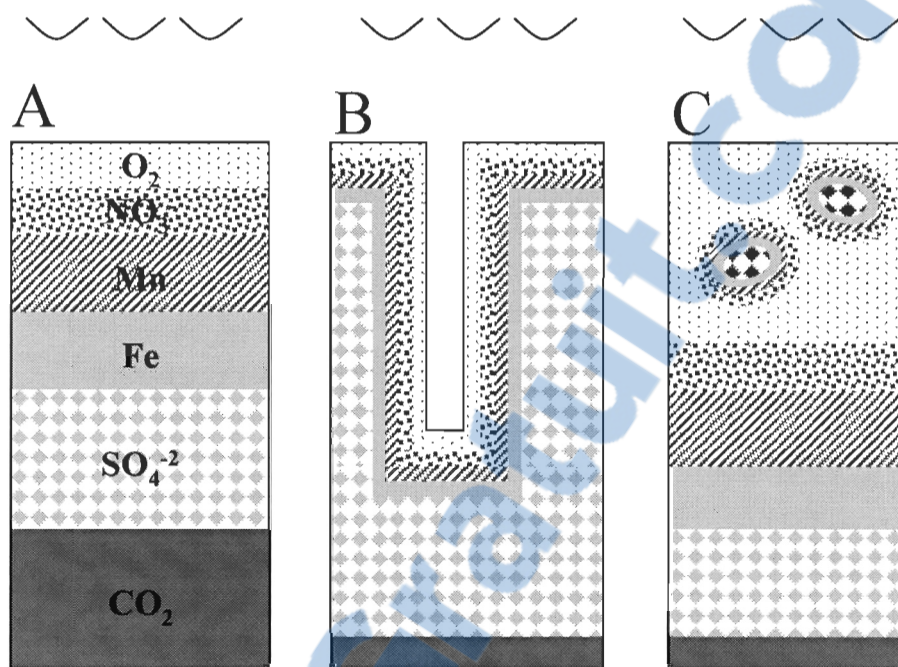


Figure 5 : Répartition des accepteurs d'électrons dans les sédiments marins : (a) : distribution idéalisée dans un système verticalement stratifié; (b) : zonation cylindrique autour d'un micro-environnement de type terrier bioirrigué; (c) : zonation sphérique (ellipsoïdale) au niveau de micro-environnements de type pelotes fécales. Modifié de Aller, 1982.

redistribue le matériel particulaire et modifie la structure primaire du sédiment (porosité, forces de cisaillement, rugosité et stabilité) (Krantzberg, 1985). Les propriétés physiques, ainsi contrôlées par l'activité des organismes, peuvent avoir des conséquences sur la sédimentation, le transport et l'érosion du substrat, ainsi que sur la redistribution des radioéléments, des polluants et des fossiles dans le sédiment (Rhoads, 1974; Thayer, 1979; Gerino *et al.*, 1998; Stoeck et Kronke, 2001; D'andrea *et al.*, 2004). La capacité d'adsorption du sédiment pour certains métaux traces peut aussi être considérablement modifiée (Sun et Torgersen, 2001). La matière organique particulaire ainsi érodée, remaniée et remise en suspension peut être exportée vers la colonne d'eau ou dans le sédiment (Gerino, 1992), créant des dépôts réactifs, indépendamment des processus de sédimentation.

Le transport des solutés, présents dans l'eau surnageante et interstitielle, est également modifié par la présence de la faune benthique. Dans le système galerie-organisme, la paroi des galeries devient la surface d'échanges de solutés par diffusion moléculaire entre l'eau interstitielle du sédiment et l'eau à l'intérieur des galeries (Figure 3). La bioirrigation constitue un vecteur supplémentaire de transport entre l'intérieur des galeries et la colonne d'eau (Aller, 2001). En présence d'un tel système, la surface d'échanges des solutés entre l'eau interstitielle, l'eau surnageante et autour des terriers est augmentée dû à la prolongation de la superficie de l'interface eau-sédiment dans les sédiments profonds (Jorgensen *et al.*, 2005).

Redistribution des métabolismes bactériens

La pénétration de l'oxygène dans les couches profondes entraîne des alternances de conditions oxiques et anoxiques, autrement dit une réorganisation de la distribution des

accepteurs terminaux d'électrons (Aller, 2001). Ainsi, nous n'aurons plus une seule distribution verticale des réactions d'oxydoréduction à partir de l'interface eau-sédiment mais également, comme le schématise la figure 5b, une distribution latérale à partir du centre de chaque terrier (Aller, 1982). Ces réactions d'oxydo-réduction sont aussi dépendantes des micro-niches causées par le déplacement de particules organiques fraîchement déposées à l'interface eau-sédiment vers la zone anaérobie, tandis que les substances inorganiques réduites, localisées en profondeur, sont ramenées vers l'interface eau-sédiment où elles subissent une re-oxydation (Kristensen *et al.*, 1995; Hulthe *et al.*, 1998; Banta *et al.*, 1999; Heilskov et Holmer, 2001). La présence des pelotes fécales ainsi que le mucus, excrétés par les macro-organismes, constituent donc des environnements riches, propres à être utilisés comme substrats par les micro-organismes (Kristensen, 2000) (figure 5c). Les dépôts de matière atteignant la surface des sédiments bioturbés sont ainsi soumis à une dynamique de transfert au sein d'une mosaïque tridimensionnelle d'environnements biogéochimiques différents (Aller, 1988). Les activités de ventilation des macro-invertébrés étant intermittentes (Kristensen, 1985; Forster et Graf, 1995; Marinelli et Boudreau, 1996), ces réactions d'oxydo-réduction peuvent également osciller dans le temps (Aller, 2001; Gilbert *et al.*, 2003).

L'alternance spatio-temporelle des conditions oxiques et anoxiques permettent alors l'expression simultanée de différents métabolismes bactériens, à la fois aérobie et anaérobie, ce qui amplifie les processus de reminéralisation de la matière organique (Aller, 1994; Kristensen et Holmer, 2001; Sun *et al.*, 2002). D'une manière générale, les différentes activités de la macrofaune stimulent la biomasse et l'activité des populations bactériennes dans la colonne sédimentaire (Aller et Yingst, 1985; Fenchel, 1996; Aller et Aller, 1998; Stock et Kronke, 2001). La sulfato-réduction, processus anaérobie, peut être augmentée ($\times 3-5$) en

présence de *M. arenaria* par des apports de matière organique dans les zones anaérobies du sédiment (Hansen *et al.*, 1996). L'apport d'oxydants (i.e., oxygène, nitrate) à l'intérieur des structures biogènes favorise l'existence de bactéries nitrifiantes sur les parois de ces structures (Mayer *et al.*, 1995). La diffusion accrue du nitrate dans le sédiment suite aux activités de bioturbation favorise la dénitrification (Gilbert *et al.*, 1998). La formation de micro-niches aérobies dans un sédiment réduit, ainsi que de micro-niches anaérobies déposées dans la couche oxydée renforcent également l'expression de la dénitrification (Gilbert *et al.*, 1998). La densité des terriers, ayant un impact sur l'épaisseur de la zone oxydée, jouent un rôle prépondérant dans la régulation du cycle nitrification-dénitrification (Gilbert *et al.*, 2003). La bioturbation crée de surcroît des conditions favorables aux cycles de l'azote et du manganèse (Hulth *et al.*, 1999, 2005). L'activité bactérienne a aussi un effet considérable sur la minéralisation des contaminants tels que les hydrocarbonés poly aromatiques (Granberg *et al.*, 2005).

Développement des communautés méiofauniques

La bioturbation n'affecte pas seulement les populations de micro-organismes et la répartition des divers métabolismes microbiens, mais influence également la méiofaune (Olafsson, 2003 pour synthèse), qui à son tour peut jouer un rôle prépondérant dans les échanges biogéochimiques à l'interface eau-sédiment (Aller et Aller, 1998). Il a été démontré que la diffusion de l'oxygène au travers des parois des structures biogènes favorisait la croissance de la méiofaune ainsi que le type d'assemblages par rapport au sédiment environnant plus anoxique (Aller et Yingst, 1978; Fenchel, 1996b; Nehring *et al.*, 1990). Reise (1981) a montré que la présence de bactéries et de copépodes harpacticoides et de nématodes

au niveau des pelotes fécales de *M. balthica* et des particules organiques présentes dans les terriers pouvait constituer une base alimentaire pour les macro-invertébrés. Le mucus des terriers de polychètes présente aussi un environnement favorable à la croissance de la méiofaune (Kristensen, 2000). Si la prédation de l'annélide polychète *Nereis virens* est connue pour affecter la méiofaune à la surface du sédiment, l'irrigation des terriers constitue au contraire un facteur favorable à l'abondance et la structure des assemblages de nématodes dans les couches profondes du sédiment (Tita *et al.*, 2000).

Flux biogéochimiques à l'interface eau-sédiment

L'oscillation spatio-temporelle des concentrations de solutés dans l'eau interstitielle, causée par les activités de bioturbation, engendre finalement des flux d'intensité variables, d'oxygène, de nutriments et de carbone dissous à l'interface eau-sédiment (Hines *et al.*, 1982; Lohrer *et al.*, 2004). Ces flux sont intensifiés par le biais des activités d'irrigation dans les terriers (Kristensen, 1988; Aller, 2001). La demande en oxygène est augmentée par la présence simultanée des communautés microbiennes, méiofauniques et de la macrofaune (Glud *et al.*, 2003; Jorgensen *et al.*, 2005). Les changements de la topographie à la surface du sédiment causés par les structures biogènes augmentent en plus les échanges d'oxygène (Roy *et al.* 2002; 2005). Les organismes creusant un terrier favorisent aussi le relargage de nutriments vers l'eau surnageante à un taux supérieur à celui de la diffusion seule (Rhoads *et al.*, 1977; Hansen et Kristensen, 1998). La distribution de phosphate qui dépend essentiellement des réactions de précipitation et de dissolution des oxydes de métaux (Sundby *et al.*, 1986, 1992; Anschuz *et al.*, 1998), est directement influencée par les changements d'oxygénation du sédiment causés par la bioturbation (Waldbusser *et al.*, 2004). La

bioirrigation peut aussi stimuler l'oxydation du carbone organique dissous par les bactéries hétérotrophes (Burdige et Homstead, 1994) et favorise notamment la dégradation du matériel réfractaire ou partiellement dégradé (Kristensen et Holmer, 2001; Kristensen et Mikkelsen, 2003).

Les flux d'oxygène, de carbone organique dissous et de nutriments qui transitent à l'interface eau-sédiment sont ainsi la résultante de processus de production, de minéralisation et de redistribution de la matière organique à la fois dans la colonne d'eau et le sédiment (Hall *et al.*, 1996 ; Aller et Aller, 1998; Asmus *et al.*, 1998; Mozeto *et al.*, 2001; Penniford et Davis, 2001; Denis et Grenz, 2003; Lohrer *et al.*, 2004; Jorgensen *et al.*, 2005). Cette recirculation benthique satisfait la demande en nutriments des producteurs primaires (Nilsson *et al.*, 1991; Grenz *et al.*, 2000; Welsh *et al.*, 2000). Les sédiments n'agissent cependant pas uniquement en tant que source de nutriments mais peuvent aussi enlever des nutriments « régénérés » pour de courtes ou de longues périodes de temps (adsorption, incorporation dans biomasse bactérienne benthique/assimilation, dénitrification) (Hall *et al.*, 1996).

Dans cette succession de mécanismes au niveau de l'interface eau-sédiment qui constitue le dernier maillon du cycle de la matière dans les océans, la bioturbation est un facteur primordial dans le devenir de la matière organique et la régulation des cycles biogéochimiques des éléments majeurs à l'interface eau-sédiment. La bioturbation constitue de ce fait un processus essentiel au fonctionnement des écosystèmes benthiques (Gerino, 1992; Rosenberg, 2001; Karlson, 2005).

Étude des relations entre diversité benthique et fonctionnement des écosystèmes intertidaux via les approches expérimentales

diversité spécifique versus diversité fonctionnelle

Pendant longtemps, les études portant sur la bioturbation ont été menées avec des espèces en allopatrie (espèces occupant des aires séparées) pour définir le rôle spécifique des organismes sur les propriétés physico-chimiques du sédiment et les flux biogéochimiques en résultant (pour exemple, Henriksen *et al.*, 1980; Hylleberg et Henriksen, 1980; Kristensen *et al.*, 1984; Kristensen *et al.*, 1991; Pelegri et Blackburn, 1995; Banta *et al.*, 1999; Christensen *et al.*, 2000; Mermillod-Blondin *et al.*, 2004; Karlson *et al.*, 2005).

Afin d'étudier l'effet de la diversité benthique sur le fonctionnement des écosystèmes intertidaux, l'érosion de la biodiversité devenant un sujet de plus en plus préoccupant, les recherches entreprises prennent de plus en plus en compte le rôle des espèces en sympatrie (association d'espèces). Raffaelli *et al.* (2003) ont ainsi défini un effet positif de la richesse spécifique sur les flux de nutriments.

L'écologie théorique actuelle divise cependant les effets de la diversité sur les propriétés des écosystèmes en deux mécanismes: l'effet d'échantillonnage et la complémentarité (Loreau et Hector, 2001; Loreau *et al.*, 2001; Hooper *et al.*, 2005). L'effet d'échantillonnage serait présent quand l'intensité des processus mesurés est expliquée par la présence de l'espèce la plus efficace ou de l'espèce ayant des traits fonctionnels dominants (Wardle, 1999). Plus la diversité est importante, plus la probabilité de retrouver les traits dominants est donc élevée. La complémentarité, quant à elle, s'expliquerait par des mécanismes de différenciation des niches écologiques, de facilitation ou d'interactions positives entre espèces (Loreau *et al.*,

2001). La notion de facilitation, qui est le contraire de la compétition, a été introduite par Bos *et al.* (1977) pour décrire ce qui se passe, quand l'utilisation de la ressource (i.e., nourriture, espace), partagée par deux espèces, est plus grande lorsque ces deux espèces co-existent, que lorsqu'elles sont isolées (Hooper *et al.*, 2002). Il est difficile de séparer ces deux effets lorsque l'on procède à des mesures de flux biogéochimiques, et cela dépend entre autres du plan expérimental (Loreau et Hector, 2001; Raffaelli *et al.*, 2003). Quelques études récentes en écologie benthique ont tout de même affirmé que la dominance de traits fonctionnels distincts (e.g., mode de bioturbation, profondeur d'enfouissement, mode alimentaire, stratégies d'irrigation) pouvaient exercer un plus fort contrôle sur les propriétés des écosystèmes que la simple complémentarité (Emmerson *et al.*, 2001; Raffaelli *et al.*, 2003; Solan *et al.*, 2004; Mermillod-Blondin *et al.*, 2005).

Étant donné l'importance des caractéristiques fonctionnelles de chaque espèce et l'impossibilité de travailler avec toutes les espèces d'un écosystème (Lawton, 1994), les travaux actuels prennent de plus en plus en compte la diversité fonctionnelle au lieu de la diversité spécifique (Bengtsson, 1998; Hooper *et al.*, 2002), en utilisant plus particulièrement les groupes fonctionnels dominants de chaque écosystème.

Le concept de groupe fonctionnel

Les différents attributs fonctionnels des organismes benthiques

L'approche fonctionnelle a été utilisée en écologie benthique pour déterminer la façon dont les différentes activités de nutrition des macro-invertébrés pouvaient resuspendre et éroder le sédiment, affecter la fixation des larves et donc la structure des communautés

benthiques (Rhoads et Young, 1970; Woodin, 1976; Woodin et Jackson, 1979; Brenchley, 1981; Thayer, 1983).

En raison du rôle majeur des activités benthiques dans les processus de transformation de la matière organique dans les sédiments meubles, les différents modes d'alimentation (suspensivore, dépositore, brouteur, charognard, carnivore), la position des organismes dans le sédiment (endofaune, épifaune), leur taille ainsi que leur mobilité sont aussi utilisés comme caractéristiques fonctionnelles pour décrire la capacité des organismes à redistribuer les particules sédimentaires et les solutés sur de courtes échelles de temps et donc à modifier l'intensité et la nature des réactions diagénétiques (Aller, 1977).

Dans le cas des suspensivores, par exemple, les particules sédimentaires sont directement ingérées à partir de l'eau surnageante et peuvent être éjectées à la surface sous forme de biodépôts et modifier fortement l'intensité des flux biogéochimiques (Ex. *M. edulis* voir Callier *et al.*, *Sous presse*; Richard *et al.*, *soumis*). L'intensité du mode suspensivore peut aussi être fortement dépendante des conditions d'écoulement des eaux surnageantes et de la quantité de nourriture reçue. Des espèces comme *N. diversicolor* ou *M. balthica* sont capables de changer leur mode de nutrition (suspensivore $\Leftrightarrow$ dépositore) en fonction des conditions environnementales (de Goej et Luttikhuisen, 1998; Christensen *et al.*, 2000). Le cas des dépositores est aussi plus complexe. Les dépositores de surface redistribuent les particules horizontalement sur la surface, alors que les dépositores de subsurface mobilisent les particules verticalement. Les différentes tailles d'organismes, retrouvées dans une communauté benthique naturelle ou lors du passage du stade larvaire au stade adulte modifient, en plus, la profondeur de mobilisation des particules dans le sédiment (Woodin, 1976; Miron et Desrosiers, 1990). En construisant des terriers permanents ou temporaires, les

espèces de chaque groupe trophique viennent aussi complexifier le sens de déplacement des particules (Gerino, 1992).

La mobilité des organismes, joue par dessus tout un rôle considérable dans le transport des particules et des solutés. Les suspensivores sont généralement sessiles tandis que les carnivores et les brouteurs se déplacent horizontalement. Les détritivores de surface ont différents degrés de mobilité, parmi eux les laboureurs (ex. les isopodes) ou ceux qui utilisent des tentacules pour filtrer la nourriture (ex. spionidae) (Thayer, 1983). La mobilité des constructeurs de galeries, de terriers ou de tubes est également dépendante des stratégies d'alimentation et de ventilation. Les moins mobiles ont généralement des mouvements confinés à l'extension de leur tube pour leur croissance et le maintien de leur tube. Sous la pression de prédation et d'instabilité sédimentaire, certains peuvent abandonner leur tube et en construire un autre ailleurs.

Effets des traits fonctionnels sur les réactions diagénétiques: quelques exemples

La zone des forts coefficients de transport particulaire et dissous (Aller, 1977; 1982 pour synthèse) correspond donc à la zone de remaniement biologique et/ou d'irrigation intenses, où la plus grande proportion de matière organique métabolisable est dégradée et où les processus réactionnels sont les plus affectés.

A l'interface eau-sédiment, par exemple, où les vitesses de dégradation sont déjà plus rapides, la présence d'organismes comme *Y. limatula*, déposivore de subsurface très mobile, en augmentant les processus de transports dans les 4 premiers centimètres, contribue à stimuler l'activité métabolique bactérienne (Aller, 1978). Contrairement à *C. torquata*, autre déposivore de subsurface mais cette fois sédentaire, *Y. limatula* a la particularité de pouvoir augmenter le transport des solutés par 10, par rapport au transport particulaire. En effet, les solutés

interstitiels, après avoir diffusés verticalement dans la zone d'alimentation, sont en plus expulsés vers l'eau surnageante par les courants respiratoires de *Y. limatula*. Ingalls *et al.* (2000) ont ainsi montré que cette mobilité, spécifique à *Y. limatula*, est un facteur favorisant les taux de dégradation de la matière organique.

D'autres organismes, en sélectionnant les particules sédimentaires durant la phase d'alimentation et/ou de construction des terriers (pour des raisons de position des particules dans le sédiment, texture, densité, forme et taille des particules), créent une véritable ségrégation verticale et latérale des différentes classes de particules. Les propriétés chimiques des particules sédimentaires étant dépendantes de la taille des grains de sédiments, cette ségrégation sédimentaire cause inévitablement une variabilité de la composition chimique et des taux de réactions du milieu environnant (ex. respiration bactérienne dans Hargrave, 1972). Les processus de reminéralisation deviennent ainsi plus importants dans des environnements constitués de grains fins et la distribution des taux de réactions est donc directement affectée par ces processus de sélection particulaire (Aller, 1982). *Arenicola marina*, par exemple, en ingérant des particules fines en profondeur et en les excréant à la surface du sédiment, permet une augmentation des taux de réactions à l'interface eau-sédiment (Aller, 1982).

L'abondance, la taille des terriers, l'espacement entre terriers et la profondeur d'enfouissement des organismes irrigateurs sont aussi apparus comme des facteurs supplémentaires venant modifier les échelles de diffusion, la distribution des solutés dans la colonne sédimentaire et donc certaines réactions diagénétiques (Aller, 1988, 2001). Les stratégies d'irrigation (Pelegrini et Blackburn, 1995; Banta *et al.*, 1999) et les modes d'alimentation (Christensen *et al.*, 2000; Welsh, 2003) ont aussi permis d'expliquer les échanges variables de solutés à l'interface eau-sédiment. Mermillod-Blondin *et al.* (2004) ont montré que le type de mélange sédimentaire, associé au comportement d'irrigation et à la

profondeur d'enfouissement étaient suffisants pour déterminer l'impact de différents macro-invertébrés sur les communautés microbiennes et les processus biogéochimiques à l'interface eau-sédiment. Emmerson *et al.* (2001) ont aussi exploré le fait que les communautés, avec la même richesse spécifique, mais avec des traits fonctionnels distincts, ont des effets différents sur les flux biogéochimiques.

Quelques modèles de classification fonctionnelle

Certains auteurs soulignent que l'utilisation des groupes fonctionnels reste délicate en raison du risque de chevauchement des caractéristiques fonctionnelles de chaque espèce, et donc de l'appartenance d'une même espèce à plusieurs groupes (Ex. Posey, 1990). L'annélide polychète *Nereis diversicolor*, par exemple, en adoptant deux modes d'alimentation différents, suspensivore ou dépositivore, peut appartenir à deux groupes fonctionnels distincts exploitant différemment la ressource. Padilla et Allen (2000), Pearson (2001), Rosenberg (2001) et Gerino *et al.* (2003) pensent au contraire qu'il est à présent approprié d'attribuer des fonctions pour plusieurs espèces et groupes d'espèces et encouragent fortement l'utilisation de ces groupes pour une meilleure compréhension du fonctionnement des écosystèmes et de leur modélisation.

Étant donné l'importance que peuvent avoir certains traits fonctionnels sur les processus de transport dissous et particulaires, les réactions diagénétiques et les flux biogéochimiques qui en résultent, différents modèles ont donc été utilisés pour combiner les différents attributs fonctionnels et créer ainsi un groupe d'organismes ayant des effets similaires sur le fonctionnement des écosystèmes (pour synthèse, voir Pearson, 2001).

Fauchald et Jumars (1979) ont développé les guildes trophiques pour les polychètes, en prenant en compte la nourriture, la mobilité et la morphologie comme caractéristiques

fonctionnelles supplémentaires. En effet, la mobilité et donc la morphologie des polychètes est fortement dépendante de la quantité de nourriture reçue, les organismes sédentaires dominants les endroits riches en matière organique, alors que les organismes plus mobiles dominent les zones appauvries. L'approche des guildes trophiques a été appliquée par Pearson et Rosenberg (1987) pour expliquer la prédominance de tel ou tel groupe trophique en fonction de gradients environnementaux (nourriture et hydrodynamisme). Bonsdorff et Pearson (1999), en utilisant cette approche, ont expliqué les changements de distribution des groupes fonctionnels benthiques avec les changements de latitude en mer Baltique.

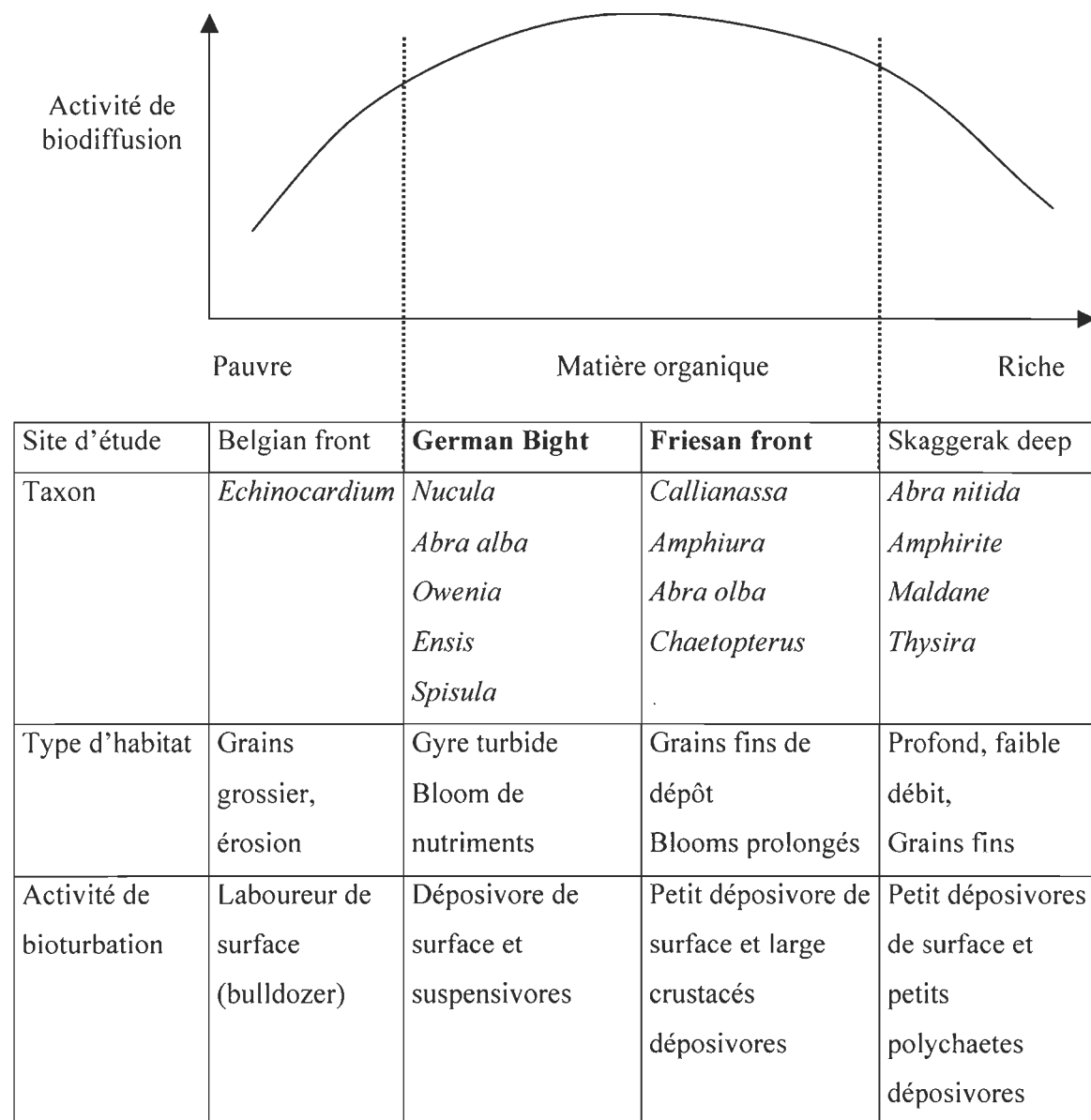
Le modèle de Swift (1993) a ensuite permis de classer différentes activités de bioturbation en fonction de la mobilité, du mode d'alimentation et de la capacité d'enfouissement des organismes en se basant sur une échelle de notation (Tableau 1).

Dauwe *et al.* (1998) ont une approche différente pour analyser les activités de bioturbation des organismes. Ils ont séparé ces activités en quatre catégories en fonction de l'hydrodynamisme du milieu et des arrivées de matière organique. Pour résumer, ils distinguent les dépositores de surface qui causent principalement la biodéposition (via l'excrétion en surface et le mélange diffusif) et les dépositores de subsurface qui en pénétrant dans le sédiment mélangent le sédiment verticalement (via les processus de convoyage et convoyage inverse). A partir de cette classification, Dauwe *et al.* (1998) ont développé un modèle diagénétique pour prédire l'effet potentiel de la bioturbation sur la distribution de la matière organique reçue à chaque site (Tableau 2). L'intensité de bioturbation est maximale pour une qualité intermédiaire de matière organique. Dans les zones appauvries, les dépositores de subsurface dominent, alors que dans les zones enrichies, les dépositores sont dominants. Olenin (1997) souligne l'intérêt de ce dernier modèle qui est capable de combiner les études fauniques et biogéochimiques. Une étude plus récente (Gutierrez *et al.*, 2000) a

Tableau 1 : Classification des activités de bioturbation, sur une échelle de 0 (absence de bioturbation) à 4 (bioturbation importante). Modifié de Swift, 1993.

Attribut fonctionnel	Activité benthique	Résultat
mobilité	Sédentaire ou mobile à l'intérieur des tubes	0
	Mouvement limité, i.e. retrait à l'intérieur du sédiment si perturbé	1
	Mouvement lent lors de la formation de terriers non permanents	2
	Mobilité à l'intérieur du sédiment au sein de terriers permanents	3
nourriture	Carnivore ou filtreur	0
	Ingestion/égestion en subsurface	1
	Ingestion/égestion de détritits en surface	2
	Ingestion en surface/égestion en subsurface	3
	Ingestion en subsurface/égestion en surface	4
construction	Pas de construction de terriers	0
	Construction d'un simple trou en surface	1
	Construction associé à un déplacement de sédiment	2
	Construction associé à un transport sélectif de particules en surface	3
	Construction horizontale et/ou verticale associé à un transport net des particules vers la surface	4

Tableau 2 : Comparaison des relations entre les activités de biodiffusion et la qualité de la matière organique, sédimentant à quatre stations de la Mer du Nord avec différents régimes hydrodynamiques et sédimentaires. Les plus hauts niveaux de bioturbation sont observés aux stations recevant une quantité intermédiaire de matière organique. Modifié de Dauwe *et al.* (1998).



d'ailleurs appliqué l'approche de Dauwe *et al.* (1998) pour expliquer les changements du potentiel de bioturbation en réponse aux variations hypoxiques des côtes chiliennes.

La plupart de ces classifications cherchent surtout à regrouper les espèces sur la façon dont elles remanient les particules sédimentaires, mais aucune d'entre elles ne prend en compte simultanément les processus de transport des solutés dus à la diffusion moléculaire et aux phénomènes d'irrigation. A partir de la description des différents modes de remaniements retrouvée dans la littérature pour certaines espèces (via les activités combinées de construction de galeries, tubes et terriers, recherche de nourriture, mobilité, excrétion) (Rhoads, 1974; Aller, 1977; Fisher *et al.*, 1980; Boudreau, 1986; Smith *et al.*, 1986; Gardner *et al.*, 1987; Gerino, 1992), François (1999) a développé des modèles, ne prenant également en compte que le transport particulaire, mais qui permettent de caractériser et quantifier de façon plus précise le remaniement sédimentaire effectué par les organismes macro-benthiques dans les sédiments meubles. L'approche quantitative du remaniement sédimentaire dans ces modèles passe d'abord par le suivi temporel de la distribution d'un traceur particulaire dans une section de sédiment. L'application de ces modèles, tournant sur une durée théorique de 90 jours, permet ensuite d'estimer l'intensité du mélange biologique du sédiment en un temps donné pour cinq groupes fonctionnels différents (Figure 6):

- Les activités des **biodiffuseurs** conduisent à un transport diffusif dans le sédiment. Ils déplacent les particules sédimentaires de façon aléatoire au niveau de la zone bioturbée, de l'interface à la profondeur maximale de remaniement (Ex. 5 cm pour *Ruditapes decussatus*, Gerino, 1992). Si le maximum de traceur est mesuré en surface les 30 premiers

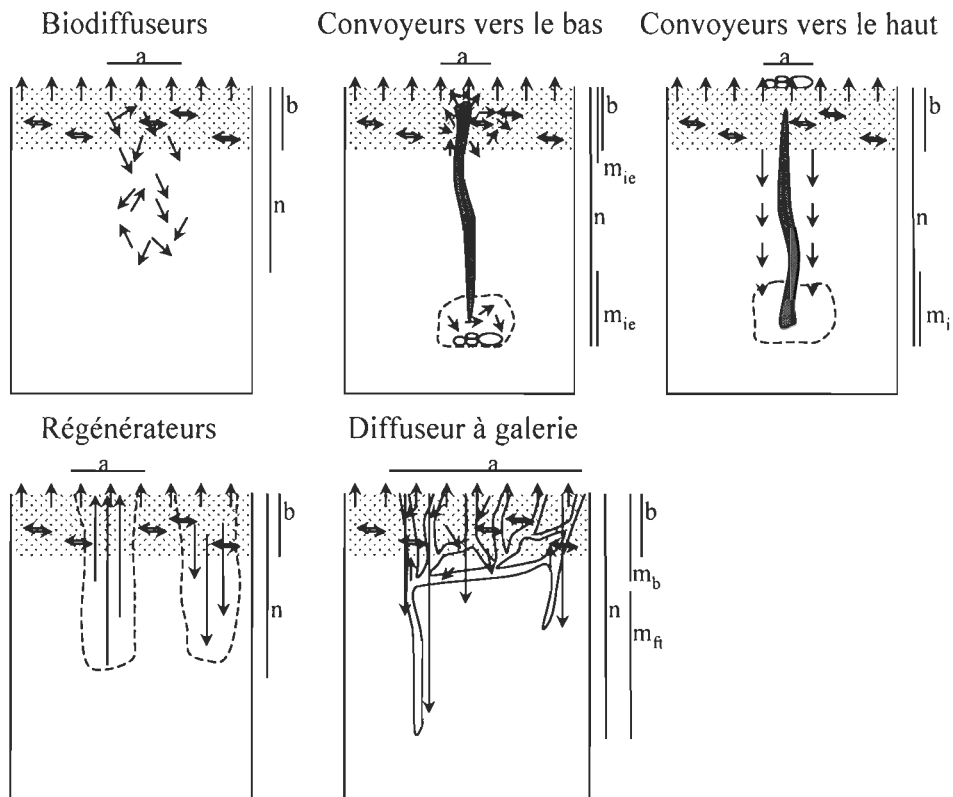


Figure 6: Représentation schématique des mécanismes de remaniement physique et biologique des biodiffuseurs, convoyeurs vers le bas, convoyeurs vers le haut, régénérateurs et des diffuseur à galeries d'après François *et al.*, 2002. Les paramètres indiqués sont : a , la largeur de la zone de mélange, n la profondeur de la zone de mélange par les organismes, m_{ie} la hauteur de la zone d'ingestion-d'excrétion des convoyeurs vers le bas, m_i la hauteur de la zone d'ingestion des convoyeurs vers les haut, m_{ft} la hauteur de la zone du fond des galeries des diffuseurs à galeries, m_b la hauteur de la zone de diffusion du diffuseur à galerie, et b la hauteur de la première ligne de la matrice utilisée dans les modèles de François *et al.*, 2002. Les flèches indiquent le mouvement des particules sédimentaires.

jours (20-30%), la distribution du traceur tend à être homogène (10%) sur toute la profondeur d'enfouissement au bout de 90 jours (François *et al.*, 1997).

- Les **convoyeurs vers le haut** sont orientés verticalement dans le sédiment avec la tête vers le bas (Ex. 10-30 cm pour *Clymenella torquata* (Maldanidae), Aller, 1978). Ils remobilisent les particules en profondeur qui passent par leur tube digestif et les expulsent à l'interface eau-sédiment. La cavité d'ingestion crée en profondeur entraîne d'abord une subsidence de la colonne sédimentaire et donc un transport passif des particules de surface vers le bas dès le 10^{ème} jour (50%). L'ingestion des particules dans la cavité suivie de l'expulsion vers la colonne d'eau diminue progressivement les concentrations de traceurs en profondeur qui tendent à s'homogénéiser (10%) au bout de 90 jours (François *et al.*, 1997).
- Les **convoyeurs vers le bas**, inversement, ont la tête en haut et transportent du sédiment à travers leur tube digestif à partir de l'interface vers la zone d'éjection en profondeur (Ex. 10 cm pour *Cirriformia grandis* (Cirratulidae), Shull et Yasuda, 2001). La concentration de traceurs en surface diminue (20%) dès le 10^{ème} jour due à l'ingestion, pour être maximale en profondeur (80-90%) au bout de 90 jours (François *et al.*, 1997).
- Les **régénérateurs** sont des organismes qui creusent des terriers et des galeries avec de larges ouvertures à l'interface eau-sédiment (Ex. Crabes), ce qui crée en premier lieu une expulsion active et massive de sédiment profond vers la surface. En phase « active », les particules sont rejetées vers l'eau surnageante par diffusion, ce qui diminue la concentration de traceurs en surface avec le temps. Elle devient nulle après 90 jours

(François *et al.*, 1997). En phase « passive », les particules de surface tombent instantanément au fond des terriers (60%) jusqu'à les remplir par mélange physique dès le 10^{ème} jour (François *et al.*, 1997). Après avoir été abandonnées par les organismes, ces structures se transforment donc en pièges à particules.

- Le remaniement sédimentaire exercé par les **diffuseurs à galeries** est une combinaison des deux processus : une biodiffusion du sédiment dans la couche superficielle creusée d'un réseau dense de galeries, et un transport des particules en profondeur dans les galeries (Ex: 14 cm de profondeur pour *Nereis virens* (Annelide polychète), Ouelette *et al.*, 2004). Le biotransport est ici particulièrement rapide puisque 16% des particules peuvent être enfouies en-dessous de 4 cm après 15 jours, et 30% le sont après 30 jours (François *et al.*, 2002).

A partir des modèles établis, il est possible de déterminer si une espèce en particulier appartient à un des groupes fonctionnel ou à aucun de ceux décrits jusqu'à maintenant. C'est une méthode d'analyse permettant d'affiner les connaissances éthologiques sur les espèces impliquées dans le remaniement du sédiment. Les modèles permettent d'estimer correctement la valeur des paramètres de mélange d'une espèce ou de plusieurs espèces combinées pour une même étude sous les conditions imposées lors de l'expérimentation in vitro. Ils sont donc capables de mettre en évidence les variations du comportement des espèces en fonction des conditions environnementales (température, teneur en matière organique, polluants...). Ces modèles, permettant de suivre le devenir spatio-temporel de la matière organique qui sédimente au niveau de l'interface eau-sédiment, seraient capables d'en prévoir les applications en matière de diagenèse précoce, en y intégrant les processus de transport des solutés (via la

diffusion moléculaire et l'irrigation) ainsi que les cinétiques de dégradation des divers composés impliqués dans les réactions diagénétiques (François, 1999, François *et al.*, 2002).

Étude des interactions

La plupart des études portant sur les interactions biotiques se sont surtout attachées à leur effet sur la structuration des communautés benthiques et au maintien de leur diversité, et non à leur effet direct sur les fonctions biogéochimiques majeures des sédiments (Brenchley, 1981; Schaffner, 1990; Reise, 2002; Widdicombe *et al.*, 2000, 2004). Reise (2002) a proposé que les structure biogènes (Ex : *Arenicola marina*) ont un effet promoteur sur le développement de la faune et la flore environnantes, via les changements induits sur l'environnement sédimentaire (stabilisation du sédiment, modifications chimiques et biologiques). Ce type d'effets, favorables à l'organisation des communautés benthiques, serait prépondérant entre des groupes fonctionnels vivant à des profondeurs différentes dans les sédiments estuariens (Schaffner, 1990). Widdicombe *et al.* (2000) ont aussi rapporté que l'existence de plusieurs modes de bioturbation pouvaient influencer différemment les propriétés du sédiment ce qui constituerait un milieu favorable à la diversité du milieu.

Les effets des interactions, spécifiques sur la biogéochimie du sédiment, commencent à être pris en compte (Cardinale *et al.*, 2002; Mermillod-Blondin *et al.*, 2004, 2005). Pour ce type d'études, liant les effets de la diversité benthique sur l'intensité des flux de nutriments et menant à des comparaisons de traitements, il est nécessaire de fixer un paramètre commun et indépendant pour les analyses statistiques ultérieures. Les travaux précédents ont surtout

travaillé avec une biomasse croissante (augmentation de densité) entre chaque traitement expérimental (Emmerson et Raffaelli, 2000; Emmerson *et al.*, 2001, Raffaelli *et al.*, 2003; Biles *et al.*, 2003). Emmerson et Raffaelli (2000) ont trouvé que les effets spécifiques sont dépendants de la biomasse (et de la densité), et que la diminution de la richesse spécifique pourrait réduire les interactions spécifiques positives mutualistes. Le nombre, la longueur et la symétrie des interactions spécifiques, changeant avec la composition des communautés et la densité, une érosion de la diversité conduirait donc à une diminution des effets des interactions spécifiques (Hughes et Roughgarden, 2000).

D'autres études ont travaillé avec des modèles additifs de densités (Mermillod-Blondin *et al.*, 2001; 2005). Mermillod-Blondin *et al.* (2005) ont ainsi proposé que les interactions spatiales négatives entre les espèces, à fortes densités, étaient la cause de faibles flux biogéochimiques. Ils rapportent que les traits fonctionnels de certaines espèces comme les galeries de *N. diversicolor* et ses activités d'irrigation empêchent les activités de *C. edule* et *C. volutator*. Solan et Kennedy (2000) soutiennent aussi que les activités de bioturbation de *A. filiformis* en fortes densités peuvent masquer l'activité des autres espèces présentes dans le sédiment. Marinelli et Williams (2003) suggèrent qu'à forte densité, le changement de comportement de *M. balthica* (suspensivore $\Leftrightarrow$ dépositivore) peut suffire à affecter les processus biogéochimiques sédimentaires. Les effets de la densité sur la biogéochimie du milieu peuvent être aussi fortement dépendants de la réactivité du sédiment. Karlson (2005) a démontré qu'à forte densité, le sédiment expérimental est appauvri en matière organique labile, les flux en oxygène en sont donc diminués par rapport à un microcosme de faible

densité. La plupart de ces études n'ont donc pas déterminé de relation linéaire entre la biomasse (ou la densité) des individus et l'intensité des flux mesurés.

Waldbusser *et al.* (2004) supposent que la configuration spatiale peut être une caractéristique bien plus importante affectant les taux de transport et de réactions dans le sédiment. Ils suggèrent que dans les communautés naturelles, où les différentes stratégies écologiques permettent aux organismes de coexister (via les processus de facilitation), les processus biogéochimiques sont positivement augmentés, par rapport aux communautés monospécifiques, dû à un partage adéquat de l'espace. D'autres études ont effectivement montré que les distances auxquelles les espèces sont séparées et le volume des terriers pouvaient avoir d'importantes conséquences biogéochimiques (Marinelli, 1994; Aller et Aller, 1998; Gilbert *et al.*, 2003).

La prise en compte de l'espace occupé par les invertébrés dans le sédiment devient donc une alternative potentielle en plus de l'utilisation des paramètres biomasse et/ou densité. Dans le cadre de ce travail, le biovolume représente le volume occupé par les organismes dans le sédiment, et indirectement le volume de sédiment déplacé par les individus durant les activités de bioturbation. Si il ne reflète pas le volume d'eau déplacé durant les activités d'irrigation et de ventilation, qui lui dépend essentiellement du volume des structures biogènes et des siphons des organismes impliqués, la connaissance du volume de sédiment déplacé devient cependant utile pour examiner l'influence des activités de bioturbation sur la biogéochimie du sédiment au sein d'un espace donné. Le biovolume est donc très bien adapté à l'utilisation des groupes fonctionnels de bioturbation, définis à partir du mode de mélange sédimentaire, plutôt que sur le transport des solutés et des gaz dissous. Le biovolume de chaque individu est déterminé

simplement en mesurant le déplacement d'eau de mer au sein d'une éprouvette graduée après y avoir introduit les individus. C'est donc une mesure statique, établie en début d'expérience avant l'introduction des organismes dans les carottiers expérimentaux. Le biovolume total choisi doit être le même pour chaque carottier afin d'avoir un paramètre fixe et indépendant entre chaque traitement. Il a l'avantage de pouvoir être déterminé plus rapidement que la biomasse, à partir des échelles de densités naturelles.

Variabilité temporelle

Des études précédentes ont montré que la non linéarité temporelle du comportement des macro-invertébrés, due par exemple, au changement de température, de salinité, de luminosité, à la construction des structures biogènes, ou à la périodicité des processus d'irrigation, pouvaient influencer fortement l'intensité du mélange sédimentaire et les processus biogéochimiques associés (Miron *et al.*, 1991; Miron *et al.*, 1992 ; Gilbert *et al.*, 1995; Mayer *et al.*, 1995; de Goeij et Honkoop, 2002 ; Ouelette *et al.*, 2004; Deschênes *et al.*, 2005). La complexification des structures biogènes avec le temps augmenterait, par exemple, la surface de sédiment oxydé en profondeur, ce qui accroîtrait les échanges de solutés avec le temps (Whenzhofer et Glud, 2004). De la même façon, l'installation graduelle des annélides polychètes dans leur terrier favoriserait progressivement les assemblages des communautés micro- et méiofauniques dans le sédiment environnant et, les interactions entre macrofaune, méiofaune et microfaune contrôlèrent les changements temporels de la minéralisation de la matière organique (Kristensen et Holmer, 2001).

Parmi les études prenant en compte l'effet de la diversité benthique sur les processus biogéochimiques, seules les études de Waldbusser *et al.* (2004) et Mermillod-Blondin *et al.* (2004, 2005) ont été réalisées sur plusieurs jours. Ils n'ont cependant pas déterminé de différences temporelles, probablement en raison de la courte durée de leurs expériences (15 jours). La prise en considération du temps dans de telles expériences apparaît cependant primordiale étant donnée la forte dépendance des processus biogéochimiques avec le comportement des organismes benthiques.

Objectifs spécifiques

À ce jour, une seule étude a abordé le concept de groupe fonctionnel de bioturbation pour expliquer comment le mode de remaniement sédimentaire des macro-invertébrés peut influencer les processus biogéochimiques du sédiment (Mermillod-Blondin *et al.*, 2004). L'approche des groupes fonctionnels de bioturbation n'a cependant jamais été employée pour déterminer l'effet de la diversité fonctionnelle sur les processus biogéochimiques ayant lieu dans le sédiment.

La communauté à *M. balthica*, de notre zone d'étude l'estuaire du Saint-Laurent, est dominée par deux biodiffuseurs (*M. balthica* et *M. arenaria*) et un diffuseur à galerie (*N. virens*). Nous avons donc entrepris, à travers ce projet de doctorat :

- 1) **de déterminer le rôle de chacun de ces groupes fonctionnels sur les flux biogéochimiques (oxygène, carbone organique dissous, nutriments) à l'interface eau-sédiment, et de voir comment chaque mode de mélange sédimentaire peut influencer la distribution des bactéries sulfato-réductrices, indicatrices de processus anaérobies,**
- 2) **de déterminer l'influence de la diversité fonctionnelle, plus particulièrement en étudiant les interactions possibles entre groupes fonctionnels et leurs effets sur les flux biogéochimiques, le remaniement sédimentaire et la distribution des bactéries sulfato-réductrices.**

Les groupes fonctionnels ont d'abord été étudiés en allopatrie dans des microcosmes expérimentaux, puis en sympatrie, combinés deux par deux et trois par trois. Les organismes ont été introduits dans les microcosmes à biovolume constant dont la valeur a été déterminée par les densités retrouvées en milieu naturel (Mermillod-Blondin *et al.*, 2003). Le diffuseur à galerie construisant des terriers, ayant un comportement d'irrigation important, et étant un groupe dominant de la communauté à *M. balthica*, il nous est apparu essentiel de déterminer les effets de la diversité fonctionnelle sur une période de temps plus longue que celle utilisée jusqu'à présent dans différents travaux. L'expérience a duré au total 40 jours.

L'effet des groupes fonctionnels et de leur diversité a été déterminé plus précisément sur :

- les flux biogéochimiques des éléments majeurs de l'écosystème par dosage de O_2 ; NO_3^- ; NH_4^+ ; PO_4^{3-} ; Carbone Organique Dissous (COD), à l'interface eau-sédiment à intervalles réguliers (1 fois par semaine pendant 4 semaines).
- les mécanismes de mélange sédimentaire, par le suivi de traceurs particuliers inertes, les luminophores, en fin d'expérience.
- Les communautés bactériennes (nombre total de bactéries, pourcentage de bactéries actives totales, pourcentage de bactéries actives sulfato-réductrices) en fin d'expérience.

L'ensemble des résultats a été comparé aux résultats obtenus dans les carottes défaunées (carottes contrôle).

Hypothèses de recherche

L'étude des effets des groupes fonctionnels et de leur diversité, à biovolume constant, sur le remaniement sédimentaire, les flux d'oxygène, de sels nutritifs, de COD, l'activité bactérienne dans le sédiment nous ont permis de vérifier les hypothèses de travail suivantes qui avaient été fixées en début de doctorat :

Hypothèse 1 : Le type de changement produit par les invertébrés dépend du groupe fonctionnel étudié (biodiffuseurs ou diffuseur à galerie). Nous avons testé cette hypothèse en étudiant *M. balthica*, *M. arenaria* et *N. virens* en allopatrie

Hypothèse 2 : L'intensité du processus mesuré est similaire pour les espèces du même groupe fonctionnel (biodiffuseurs). Nous avons testé cette hypothèse en étudiant *M. arenaria* et *M. balthica* en allopatrie.

Hypothèse 3 : Quand *M. balthica* et *M. arenaria* (biodiffuseurs) sont étudiées en sympatrie et quand *M. balthica* ou *M. arenaria* (biodiffuseurs) sont associées avec *N. virens*, l'intensité du processus mesuré est modifiée par les interactions respectives. Nous avons testé cette hypothèse en étudiant *M. arenaria* et *M. balthica* en sympatrie puis en étudiant les espèces deux à deux, appartenant à 2 groupes fonctionnels différents (*M. arenaria* + *N. virens* et *M. balthica* + *N. virens*).

Hypothèse 4 : Quand *M. balthica*, *M. arenaria* et *N. virens* sont étudiés en sympatrie, l'intensité du processus mesuré augmente avec la biodiversité et pourrait être due à une complémentarité entre espèces. Nous avons testé cette hypothèse en étudiant les espèces trois par trois, appartenant à 2 groupes fonctionnels différents (*M. arenaria*+ *N. virens* + *M. balthica*).

Organisation de la deuxième partie du manuscrit

La deuxième partie du manuscrit présente la méthodologie employée, les résultats de ce travail, ainsi que les éléments de discussion, sous forme d'articles scientifiques, lesquels ont été organisés comme suit:

Chapitre 1: Ce premier chapitre présente les effets différents de chacun des deux groupes fonctionnels en allopatrie sur les flux d'oxygène à l'interface eau-sédiment. Il a fait l'objet d'un article publié en 2005 dans *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Vol. 326, 77-88 : E. Michaud, G. Desrosiers, F. Mermillod-Blondin, B. Sundby, G. Stora. *The functional group approach to bioturbation: The effects of biodiffusers and gallery-diffusers of the M. balthica community on sediment oxygen uptake.*

Chapitre 2: Ce deuxième chapitre présente les effets des groupes fonctionnels en allopatrie sur les flux de nutriments et de carbone organique dissous à l'interface eau-sédiment. Cet article est paru en 2006 dans *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Vol. 337, 178-189: E. Michaud, G. Desrosiers, F. Mermillod-Blondin, B. Sundby, G. Stora.: *The*

functional group approach to bioturbation: II. The effects of the Macoma balthica community on fluxes of nutrients and dissolved organic carbon across the sediment-water interface.

Chapitre 3: Ce troisième chapitre présente l'effet des groupes fonctionnels combinés sur l'ensemble des flux biogéochimiques mesurés à l'interface eau-sédiment. Les résultats soulignent l'importance des interactions entre les groupes fonctionnels. L'article sera soumis très prochainement dans *Marine Ecology Progress Series* ou *Limnology and Oceanography*.
E. Michaud, G. Desrosiers, F. Mermillod-Blondin, B. Sundby, G. Stora. The functional group approach to bioturbation: III. The effects of interactions among the functional groups of the Macoma balthica community on benthic fluxes.

Chapitre 4: Ce quatrième chapitre fait l'objet de deux articles :

- Le premier article décrit une nouvelle méthode pour compter automatiquement les luminophores à partir d'images numériques. Cet article a été soumis dans *Limnology and Oceanography : Methods*: *E. Michaud, M. Sourisseau, G. Desrosiers, E. Duport, D. Cottin, G. Stora. An algorithm for rapid automatic luminophore counting in bioturbation studies.*
- Le deuxième article est en préparation. Il regroupe l'effet des groupes fonctionnels en allopatrie et en sympatrie sur la distribution des luminophores et les communautés bactériennes.

CHAPITRE 1

THE FUNCTIONAL APPROACH TO BIOTURBATION: THE EFFECTS OF BIODIFFUSERS AND GALLERY-DIFFUSERS OF THE *MACOMA BALTHICA* COMMUNITY ON SEDIMENT OXYGEN UPTAKE

E. Michaud, G. Desrosiers, F. Mermillod-Blondin, B. Sundby, G. Stora

Article publié dans

Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2005, Vol. 326, pp 77-88

Résumé

La communauté à *M. balthica*, largement distribuée au niveau des zones intertidales de l'Atlantique nord, est dominée par deux groupes fonctionnels, définis selon leur mode différent de remaniement sédimentaire: Les biodiffuseurs, *Macoma balthica* et *Mya arenaria*, et le diffuseur à galerie, *Nereis virens*. Afin de comparer les effets de ces deux groupes sur les demandes en oxygène, nous avons utilisé des microcosmes expérimentaux avec des biovolumes identiques pour mesurer l'influence de chaque espèce sur la consommation en oxygène. Bien que les deux biodiffuseurs s'enfouissent à des profondeurs différentes, s'alimentent et ventilent différemment, ils ont des effets similaires sur la consommation en oxygène. Les biodiffuseurs et le diffuseur à galerie ont donc des effets différents sur les flux d'oxygène. Par rapport aux biodiffuseurs qui restent immobiles dans le sédiment, la ventilation périodique du diffuseur à galerie a un effet bien plus stimulant sur les flux d'oxygène à l'interface eau-sédiment. La variation temporelle observée pour les flux d'oxygène est liée à la construction et au maintien des structures biogènes du diffuseur à galerie. Les résultats confirment finalement que l'approche des groupes fonctionnels à la bioturbation est un outil utile pour quantifier les effets des communautés intertidales sur les flux benthiques.

Abstract

The *Macoma balthica* community, which is widely distributed in intertidal soft sediments bordering the north Atlantic, is dominated by two functional groups with different sediment mixing modes: the biodiffusers *Macoma balthica* and *Mya arenaria* and the gallery-diffuser *Nereis virens*. To compare the effects of these two groups on sediment oxygen uptake rates, we used experimental microcosms with identical biovolumes to measure the influence of each species on oxygen uptake. The two biodiffusers had similar effects on oxygen uptake in spite of different space occupation and different feeding, ventilation and burrowing modes. Biodiffusers and gallery-diffusers had different effects on oxygen uptake. Periodic ventilation by the gallery diffusers stimulated the oxygen uptake by the sediment more than the steady activities of the biodiffusers. Temporal variation in oxygen fluxes in bioturbated microcosms were linked to construction and maintenance of biogenic structures. The results confirm that the functional group approach to bioturbation is a useful tool for quantifying the effects of intertidal benthic communities on benthic fluxes.

Introduction

The intertidal zone that fringes the coast line is a highly productive ecosystem, which is important as a sanctuary for wildlife and nursery grounds for fish and invertebrates (Mathieson and Nienhuis, 1991). The productivity of the intertidal zone, which is high compared to offshore waters (Mathieson and Nienhuis, 1991), is regulated by biogeochemical processes that are essentially driven by organic matter supplied as detritus of marine benthic algae and aquatic and terrestrial vegetation (Andersen and Hargrave, 1984).

Macoma benthic communities inhabit near-shore shallow muddy and sandy habitats in high latitudes. They are widely distributed from temperate to arctic coastal waters in both the North Atlantic and Pacific oceans (Rosenberg, 2001). The *Macoma balthica* community in intertidal zones of the St-Lawrence estuary is characterised by a low diversity and high densities of three dominant species: *M. balthica* (2600-3000 ind.m⁻²), *Mya arenaria* (254-770 ind.m⁻²) and *Nereis virens* (900-1600 ind.m⁻²) (Desrosiers *et al.*, 1994; Azouzi *et al.*, 2002; Mermillod-Blondin *et al.*, 2003b). Eco-ethology and population dynamics of these species in the St-Lawrence estuary are well described (Miron *et al.*, 1991, 1992; Roseberry *et al.*, 1991; Azouzi *et al.*, 2002). The role they play in the biogeochemical functioning of the intertidal zone of the St-Lawrence estuary is less well understood.

Bioturbation plays an important role in production, mineralization and redistribution of organic matter in intertidal environments (Aller, 1994). Feeding, burrowing and construction activities of macrofauna influence particle transport and impact organic matter sequestration and resuspension. Water and solute transport is affected mostly by ventilation of biogenic structures (Aller, 2001). Macrofaunal structures are a mosaic of microenvironments with

different chemical and biological properties that favour the growth and development of micro- and meiobenthic communities (Gerino, 1992; Gilbert *et al.*, 1995; Fenchel, 1996). Solute fluxes at the sediment-water interface are influenced by benthic activities (Grenz and Denis, 2003).

The effects of bioturbation on biogeochemical processes depend on the particular feeding and burrowing strategies of the various animals (Pelegri and Blackburn, 1995; Christensen *et al.*, 2000; Rosenberg, 2001; Grémare *et al.*, 2004; Mermillod-Blondin *et al.*, 2004; Waldbusser *et al.*, 2004). Species with similar effects on the major ecosystem processes are classified in functional groups according to the definition of Chapin *et al.* (1992). The functional group approach has become a useful tool to identify the ecosystem functions of invertebrates. By linking ecosystem functioning to biodiversity this approach can be used to understand better the complexity of ecological systems. Since bioturbation affects sediment-water exchange processes, benthic organisms with similar sediment mixing modes in muddy sediments have been classified according to their bioturbation functions (Gerino *et al.*, 2003).

Five bioturbation functional groups are described in the literature: biodiffusers, upward-conveyors, downward-conveyors, regenerators and gallery-diffusers (Fisher *et al.*, 1980; Boudreau, 1986; Smith *et al.*, 1986; François *et al.*, 1997, 2001, 2002). In the St-Lawrence estuary, the *M. balthica* community is dominated by biodiffusers and gallery-diffusers (Mermillod-Blondin *et al.*, 2003b). Biodiffusers include the bivalves *M. balthica* and *M. arenaria*. Their activities result in diffusive transport of sediment: they move particles in a random manner over short distances (Figure I-1a). Gallery-diffusers include the polychaete *N. virens*, which excavates burrows. Near the sediment surface, particles and particulate organic matter are moved by biodiffusion. Deeper in the sediment, particles are moved from the surface directly to the bottom of the burrow (Figure I-1b).

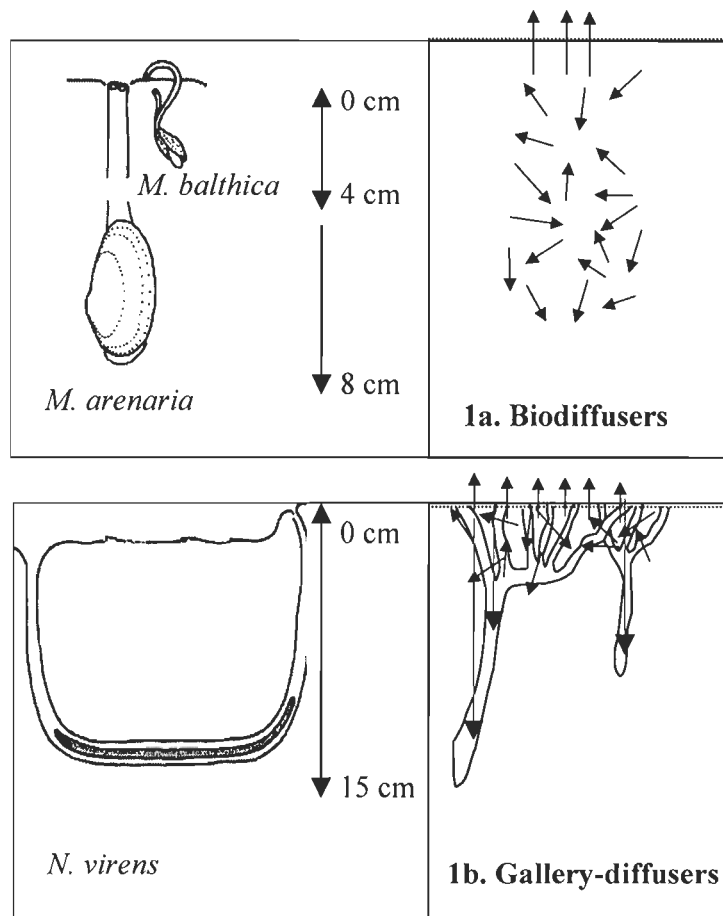


Figure I-1: Representative bioturbation functional groups of the *M. Bathica* community : 1a. Biodiffusers, 1b. Gallery-diffusers (modified from Reise, 1985 and Francois *et al.*, 2002).

Recent studies, using tomodensitometry, have examined the vertical distributions and determined accurately the space in the sediment that is occupied by the three dominant species of the *Macoma balthica* community (*M. balthica*, *M. arenaria* and *N. virens*) (Mermillod-Blondin *et al.*, 2003b). The bivalves, *M. balthica* and *M. arenaria*, were attributed to the same functional group because of their similar modes of bioturbation (Mermillod-Blondin *et al.*, 2003b). Since these bivalves live at different depth in the sediment and have different feeding and ventilation modes (Bacon *et al.*, 1998; de Goeij *et al.*, 1998), we have hypothesized that they have different effects on benthic fluxes. Since biodiffusers and gallery-diffusers have different modes of sediment reworking and irrigation (Francois *et al.*, 2002), we hypothesize that two functional groups also have different effects on benthic fluxes.

In spite of the importance of benthic organisms for sequestering and processing organic matter, the effects of the functional groups of the *Macoma balthica* community on solute fluxes in intertidal sediments has not yet been studied. We have therefore compared, in a 36-day experiment, the effects of two biodiffusers (*M. balthica* and *M. arenaria*) and one gallery-diffuser (*N. virens*) on sediment oxygen uptake. Oxygen was chosen because it is a good indicator of the biogeochemical functioning of intertidal sediments (Kristensen, 2000). The purpose of this research was to test the usefulness of the bioturbation functional approach to quantify the influence of invertebrates on O₂ fluxes at the sediment-water interface.

Materials and methods

Sampling site

Sediment and animals were collected in August 2003 on a tidal flat in the “Baie des Ha! Ha!” on the south shore of the St Lawrence estuary (Figure I-2). The tidal flat is sheltered

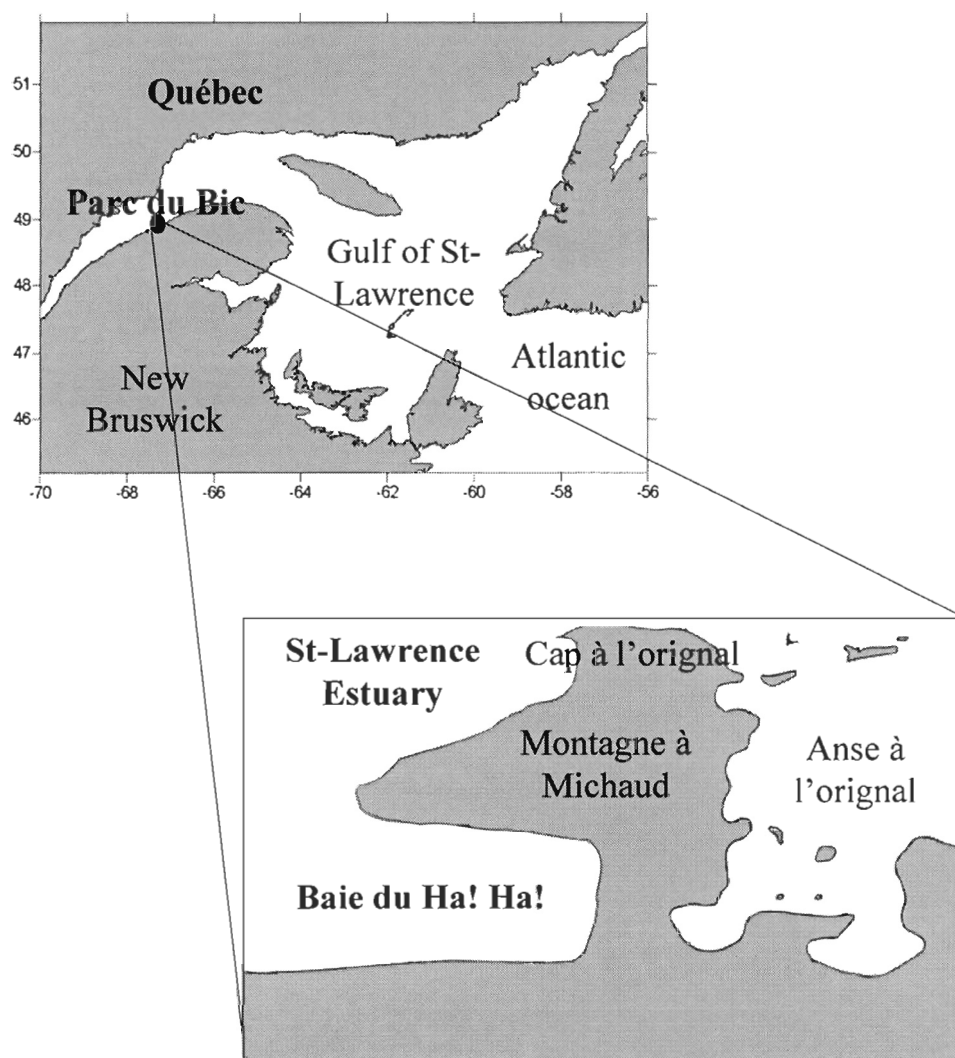


Figure I-2: Sampling site in the Baie des Ha! Ha! at the Parc National du Bic.

and is oriented toward the northwest. Water temperatures vary between 0°C (winter) and 13°C (summer). The salinity is 27. The sediment consists predominantly of muddy sand (60% mud, 30% sand) with 10% gravel. The organic matter content is approximately 2%, measured as loss upon ignition (500°C). The depth of the colonisable layer is limited to 20 cm because of the underlying Goldthwait Sea clay-deposit (Mermillod-Blondin *et al.*, 2003b).

Surface sediments were passed through a 1-mm mesh to remove macrofauna and larger particles. Specimens of *Macoma balthica* (15 ± 5 mm length), *Mya arenaria* (30 ± 10 mm length) and *Nereis virens* (60 ± 10 mm length) were collected at the same time.

Microcosms

Experimental microcosms were prepared by filling 17 cm long, 10 cm i. d. PVC tubes with 15 cm of freshly sieved sediment, leaving 2 cm for overlying seawater.

One of the principal factors controlling oxygen uptake in sediments is the concentration of degradable organic matter (Van Duyl *et al.*, 1992). Input of organic matter to intertidal sediments can be exceeding complex as it depends on erosion and sedimentation, both of which are strongly influenced by local hydrodynamics and even by ice (Dionne, 1984). Our experimental set-up was not intended to reproduce this complexity. Instead, every effort was made to eliminate differences in quality and quantity of organic matter by homogenizing the sediment before use.

The microcosms were placed in a thermostated room at the average summer temperature for the region ($12 \pm 0.5^\circ\text{C}$) with a 12h light/12h dark photoperiod. The overlying water of each microcosm was renewed continuously with water from the St-Lawrence estuary (Salinity = 27, Temperature = $12 \pm 1^\circ\text{C}$). The water flow was kept low in order not to induce sediment resuspension. The animals were acclimatized for 12 days before they were

introduced into the microcosms. The experiment lasted from August 18 to September 23, 2003.

Biovolume

To be able to compare the effects of different organisms on sediment properties, a fixed and independent parameter is needed. Commonly used parameters are density and biomass (Emmerson *et al.*, 2001; Mermillod-Blondin *et al.*, 2003a). The magnitude of solutes fluxes across the sediment-water interface has been related to the length and diameter of biogenic structures and to the space occupied by bivalves (Gerino, 1992; Aller, 2001). The space occupied by invertebrates, termed biovolume, thus appears to be a useful parameter for examining the influence of bioturbation functional groups on solute fluxes at the sediment water interface. Biovolume was measured by water displacement in a graduated test-tube (Persoone, 1971). An identical biovolume of 12 mL was used for each treatment. The choice of volume was based on measurements on intact cores.

Experimental design

The experimental design consisted of four treatments with three replicated microcosms per treatment. Treatment 1: control without macrofauna; Treatment 2: 24 individuals of *M. balthica* (individual biovolume = 0.5 ± 0.1 mL per individual; total biovolume = 12 ± 1.2 mL); Treatment 3: 6 individuals of *M. arenaria* (individual biovolume = 2 ± 0.2 mL per individual; total biovolume = 12 ± 2.4 mL); Treatment 4: 12 *N. virens* (individual biovolume = 1 ± 0.2 mL per individual; total biovolume = 12 ± 2.4 mL). These macrofaunal densities are equivalent to 3000, 764, 1528 individuals per m² for *M. balthica*, *M. arenaria* and *N. virens* respectively. This is close to average densities observed in the St-Lawrence estuary

(Mermillod-Blondin *et al.*, 2003b). Upon introduction into the microcosms, the animals burrowed rapidly (<4h) into the sediment.

Oxygen flux measurements

The renewal of overlying water was interrupted before making oxygen flux measurements. The microcosms, enclosing a water column of 2 cm (157 mL), were sealed with Plexiglas® lids and connected to an inflatable reservoir filled with seawater. This water was used to replace the water that was removed for O₂ analyses (Figure I-3). The water column in each core was not stirred to avoid disturbing the sediment surface. However, tests using fluorescein dye as a water tracer showed that the water column was mixed completely during the sampling procedure. The incubation time was limited to 2 hours, which ensured less than 20% oxygen depletion (Hall *et al.*, 1996). During this time, five water samples of 30 mL each were taken at 0.5 h intervals from the microcosms and the water reservoir. Dissolved oxygen concentrations were measured with a micro-Winkler procedure (Carpenter, 1965; Lewis and Cerrato, 1997; Grenz and Denis, 2003). The flux measurements were made in the dark to exclude the influence of photosynthetic organisms. Fluxes were calculated from the slopes of linear regressions of oxygen concentration against time. A correction for the replacement of sample with seawater from the reservoir was applied systematically. The first oxygen flux measurements were made on day 12 before adding organisms to the microcosms and then on days 20, 28 and 36 of the experiment.

Sediment properties

Total organic matter, organic carbon and nitrogen, and chlorophyll *a* concentrations were determined before the experiment on the freshly sieved sediments and at the end of the

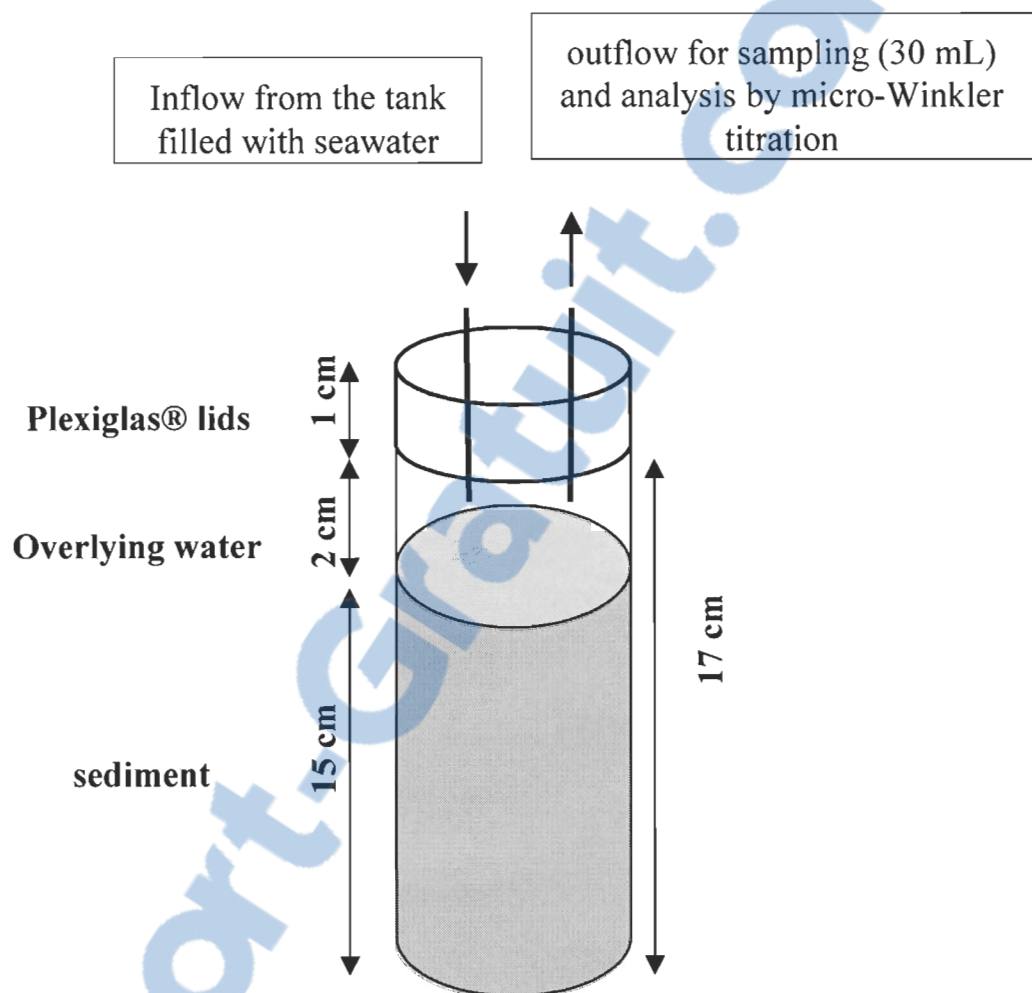


Figure I-3: Experimental microcosms set-up for O_2 flux measurements

experiment on surface sediment from all the microcosms. The organic matter content (OM) was calculated as loss upon ignition at 500°C for 12 h. Particulate organic carbon (POC) and particulate organic nitrogen (PON) were determined with a Perkin Elmer 2400 CHN elemental analyser. Chlorophyll *a* (chl *a*) was measured according to Riaux-Gobin and Klein (1993).

Statistical analysis

Before animals were introduced into the microcosms on day 12, O₂ uptake rates of the control microcosms were compared using 1-way analysis of variance. After day 12, oxygen fluxes were analysed as function of time and treatment using 1-way repeated analysis of variance with time as the repeated factor (days 20, 28, 36) and treatment as the independent factor. To determine whether the differences between treatments were significant, we used a Tuckey post hoc test after ANOVA. The differences between organic matter concentrations, C/N ratios and chl *a* content were analysed by 1-way variance analysis using treatment as fixed factor. The homogeneity of variances among treatments was verified with the Bartlett test.

Results

Sediment properties

Table I-1 shows the concentrations of organic matter, POC, PON and chl *a* in the sediment at the beginning and end of the experiment, and in the top layer of the sediment for each treatment at the end of the experiment. All the measured parameters tended to increase in the control microcosms, but the increase was not significant (student t-test, $p > 0.05$). Also, at

Table I-1: Loss on ignition (LOI), particulate organic carbon (POC) and nitrogen (PON), molecular C/N ratio, and chl *a* in freshly sieved sediment at the beginning of the experiment and in the surface layer of the microcosms at the end of the experiment (means $\pm$ SD, $n = 3$).

Treatment	LOI (%)	POC ($\mu\text{mol g}^{-1}$ DW)	PON ($\mu\text{mol g}^{-1}$ DW)	C/N ratio	Chl <i>a</i> ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW)
Beginning					
Freshly sieved sediment	1.88 ± 0.16	182.34 ± 16.99	19.93 ± 2.51	9.25 ± 1.60	13.82 ± 1.04
End					
Control	1.91 ± 0.30	325.26 ± 125.26	29.97 ± 5.96	10.64 ± 2.12	14.69 ± 1.88
<i>M. balthica</i>	1.86 ± 0.28	237.64 ± 59.82	14.50 ± 8.03	20.84 ± 12.08	12.02 ± 2.71
<i>M. arenaria</i>	1.80 ± 0.14	255.45 ± 64.66	20.81 ± 7.87	12.94 ± 3.29	13.57 ± 0.61
<i>N. virens</i>	1.99 ± 0.05	295.26 ± 72.70	31.01 ± 7.65	9.90 ± 3.09	10.27 ± 3.17

the end of the experiment, there was no significant difference in OM, POC, PON, and chl *a* concentrations between the four treatments (Table I-2).

Oxygen fluxes

Figure I-4 shows that the oxygen uptake rate in the control and animal microcosms was similar on day 12 before introducing the animals (1-way ANOVA, $F_{3,8}=0.595$, $p=0.63$). The evolution of the oxygen consumption rate during the experiment for each treatment is shown in Figure I-5. Table I-3 shows that the effects of time and treatment on oxygen uptake are significant (1-way repeated ANOVA, $F_{2,16}=6.42$, $**p<0.01$ for time; 1-way repeated ANOVA, $F_{3,8}=37.29$, $***p<0.001$ for treatment).

The oxygen uptake in the control microcosms tended to increase with time, but the difference over the duration of the experiment was not statistically significant (HSD Tukey tests, $p>0.9$ for comparison of O_2 fluxes among dates in the control treatment). The oxygen uptake in microcosms with biodiffusers (*M. balthica* (Mb) and *M. arenaria* (Ma)), increased from day 20 (Mb: $186\pm50 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$, Ma: $231\pm40 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$) to day 28 (Mb: $231\pm27 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$, Ma: $287\pm54 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$) and then remained stable from day 28 to day 36 (Mb: $220\pm49 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$, Ma: $255\pm21 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$). However, the increased oxygen uptake between day 20 and day 28 was not statistically different (HSD Tukey tests, $p>0.9$). In contrast, the oxygen uptake changed significantly from day 20 to day 28 in the microcosms with the gallery diffuser *N. virens* (HSD Tukey test, $*p<0.05$). The oxygen uptake rate increased from $288\pm64 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$ on day 20 to $447\pm49 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$ on day 28. Thereafter the uptake remained stable at $398\pm69 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$.

The presence of *M. balthica* did not significantly affect the O_2 uptake compared to the control (HSD Tukey tests, $p>0.5$) (Table I-4). In contrast, both *M. arenaria* and *N. virens*

Table I-2: Results of 1-way analysis of variance using treatment (control, *Macoma balthica*, *Mya arenaria*, and *Nereis virens*) as fixed factor.

Sediment properties	F (3,8)	P level
OM	0.398	0.761
POC	0.65	0.604
PON	3.356	0.076
C/N ratio	1.76	0.232
Chl <i>a</i>	2.073	0.182

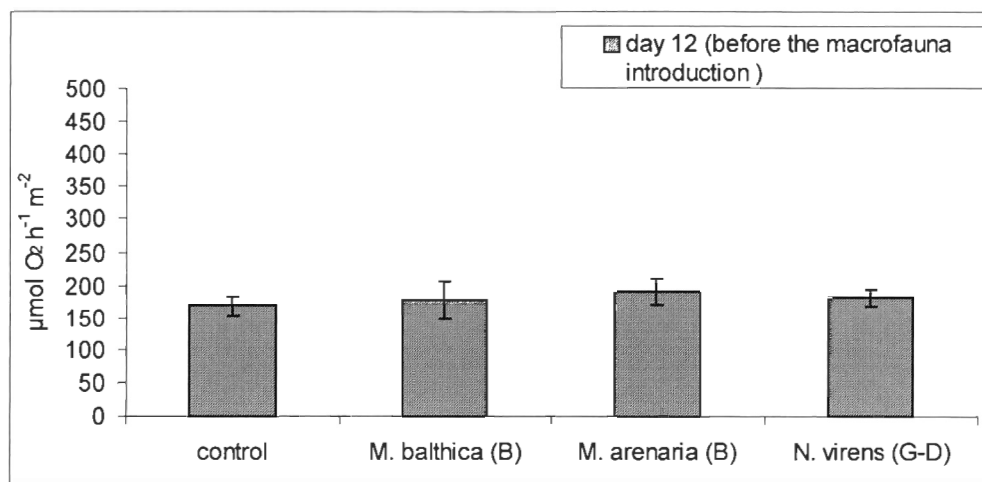


Figure I-4: Oxygen fluxes ($\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$) at the sediment-water interface measured on day 12 of the experiment (before introducing the macrofauna). B = Biodiffuser and G-D = Gallery-diffuser. Rates are given as means $\pm$ SD of 3 cores.

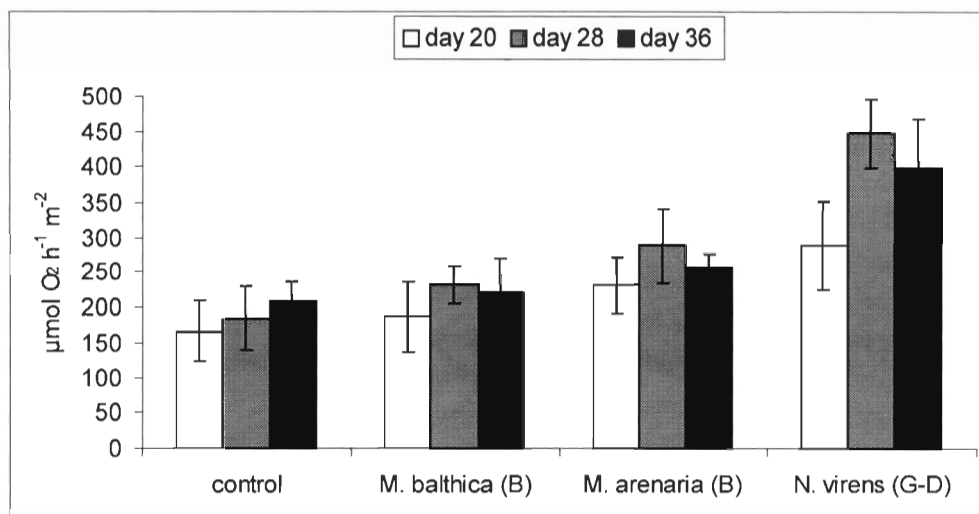


Figure I-5: Oxygen fluxes ($\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$) at the sediment-water interface measured on days 20, 28, and 36 of the experiment. B = biodiffuser and G-D = Gallery-diffuser. Rates are given as means $\pm$ SD of 3 cores.

Table I-3: Results of 1-way repeated analysis of variance using time as repeated factor and treatment (control, *Macoma balthica*, *Mya arenaria*, and *Nereis virens*) as fixed factor.

* indicates significant results (*p < 0.05).

effect	df	F	p level
Treatment	3	37.29	0.001*
Time	2	6.42	0.008*
Treat*time	6	1.28	0.32

Table I-4: Significant differences in O₂ uptake among treatments (*p < 0.05) obtained with HSD tuckey tests.

	HSD Tuckey tests	
Control	a	
Biodiffuser (<i>M. balthica</i>)	a	b
Biodiffuser (<i>M. arenaria</i>)	b	
Gallery-diffuser (<i>N. virens</i>)	c	

stimulated the O₂ uptake (HSD Tuckey tests, * $p < 0.05$) (Table I-4). The polychaete increased the oxygen uptake rate on days 20, 28 and 36, by factors of 1.7, 2.4, and 1.9, respectively, relative to the non-bioturbated microcosms. The corresponding increases in oxygen uptake rates were lower for *M. balthica* (factors of 1.1, 1.3, and 1.1, respectively) and for *M. arenaria* (factors of 1.4, 1.6, and 1.2, respectively). There was no significant difference between the two biodiffuser treatments (HSD Tuckey tests, $p > 0.15$) (Table I-4). Overall, the oxygen uptake rate was more than 45% higher in the microcosms that contained the gallery-diffuser *N. virens* than in the microcosms containing biodiffusers (HSD Tuckey tests, $p < 0.005$).

Discussion

Effects of organisms on oxygen uptake

The presence of macro-invertebrates in sediment microcosms increased the oxygen uptake rate dramatically. Compared to the control, *N. virens* doubled the oxygen uptake: on days 20, 28 and 36 the presence of this organisms accounted for 42%, 58% and 48%, respectively, of the total oxygen uptake (Figure I-6). On the same days, *M. balthica* was responsible for 11%, 20% and 6% and *M. arenaria* for 28%, 36% and 19%, respectively, of the oxygen uptake.

In order to compare oxygen fluxes on the basis of the space occupied by the organisms, oxygen uptake rates were calculated as a function of the biovolume (mL). Expressed on this basis, the oxygen uptake was 0.08 - 0.17 $\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ for the *N. virens* system, 0.03 - 0.06 $\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ for the *M. arenaria* system, and 0.008 - 0.03 $\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ for the *M. balthica* system (Table I-5). Similar respiration rates for the two biodiffuser systems shows

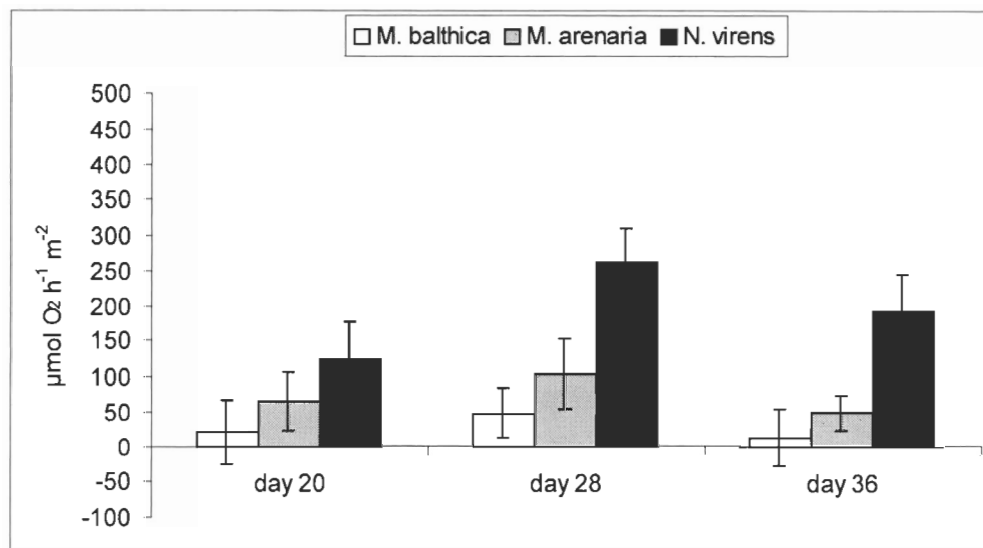


Figure I-6: Net oxygen fluxes ($\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$) attributable to macrofauna after subtracting oxygen uptake by the controls. Rates are given as means $\pm$ SD of 3 cores.

Table I-5: Net oxygen uptake per mL biovolume ($\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mL}^{-1}$) (means $\pm$ SD, n = 3).

	Day 20	Day 28	Day 36
<i>M. balthica</i>	0.01 ± 0.03	0.03 ± 0.02	0.008 ± 0.02
<i>M. arenaria</i>	0.04 ± 0.02	0.06 ± 0.03	0.03 ± 0.01
<i>N. virens</i>	0.08 ± 0.03	0.17 ± 0.03	0.12 ± 0.03

that similar biovolumes of two bivalves have similar effects on the oxygen uptake. Although biodiffusers and gallery-diffusers occupied the same volume in the sediment, the respiration by the two functional groups was different.

Several factors have been proposed to explain trends of oxygen uptake for each species, including sediment characteristics, specific respiration rates of organisms, micro- and meiobenthic respiration, and oxidation of reduced metabolites (Kristensen, 2000). In our experiments, changes in organic matter, POC and PON, C/N ratios, and chlorophyll *a* were insignificant. These factors were thus not responsible for the increased oxygen uptake.

Specific respiration rates of *M. arenaria* (5 - 14 $\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ DW}$) and *M. balthica* (7.1 - 27 $\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ DW}$) are greater than specific respiration rates of *N. virens* (0.81 - 1.9 $\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ DW}$) (Kristensen, 1985; Emerson *et al.*, 1988; Pelegri and Blackburn, 1995; Bacon *et al.*, 1998; Hummel *et al.*, 2000). As metabolism is higher for the two bivalves than for *Nereis*, we would expect similar biovolumes of bivalves to consume more oxygen than *N. virens*. However, the trend in oxygen uptake for each treatment was the opposite of the trend in specific respiration rates. We can therefore also exclude differences in specific respiration rates as being responsible for the increased oxygen uptake.

The sediment was sieved through a 1-mm mesh and therefore contained both micro and meio-fauna (Tita *et al.*, 2002). These organisms affect both transport and reaction rates at the sediment-water interface and stimulate oxic processes in the bioturbated zone (Rysgaard *et al.*, 2000; Roy *et al.*, 2002). These effects are represented by the control microcosms. The stable oxygen demand in the control indicates that micro- and meiobenthic biomass and activities did not change with time. The constant oxygen uptake by the controls also highlights the fact that the system functioning was not limited by availability of food. The supply of

dissolved oxygen, inorganic nutrients and organic matter was sufficient to support normal benthic activities such as microphytobenthic growth and micro- and meiobenthic metabolism.

Relative to control cores, the presence of macro-invertebrates in bioturbated cores probably modified and enhanced micro- and meiobenthic populations (Aller, 2001). Several studies have shown that respiration of *M. balthica* and *M. arenaria* accounts for 60 to 90 % of the benthic community respiration (Schwinghamer *et al.*, 1986; Emerson *et al.*, 1988; Lewis and Cerrato, 1997), which demonstrates that micro- and meiobenthic is a small fraction of the total community respiration. Studies of *N. virens* have shown that the polychaete respiration accounts for 10 to 20 % of the total sediment respiration (Kristensen, 1985; Pelegri and Blackburn, 1995; Christensen *et al.*, 2000), suggesting that polychaetes stimulate the activity of micro- and meiobenthos.

Characteristics of the gallery-diffuser system

When nereids were introduced into our cores, they first buried rapidly and began to construct burrows using organic-rich small particles obtained from the sediment surface. The burrows were U-shaped with two openings at the sediment surface (Kristensen, 2000). Burrow construction was the first reworking activity of the gallery-diffuser. When burrow construction was finished, the nereids flushed their burrows by muscular movements of the body. The renewal of burrow water supplies oxygen and food particles and removes metabolites (Kristensen, 2000). *N. virens* spent 20% to 30% of its time irrigating (Miron *et al.*, 1992). Thus, the overall result is to increase the area of the sediment-water interface and promote the exchange of solutes between sediment and water. Bioirrigation by gallery-diffusers also favours growth and increased activity of micro- and meiobenthic communities.

Ventilation by *N. virens* is volumetrically much more important than particle reworking (Kristensen, 1989). *N. virens* typically ventilates its burrows for short intervals (about 5 min) separated by longer periods of quiescence (about 30 min). Much longer periods of quiescence without ventilation can also occur (Kristensen, 1985). In our study, flux measurements integrate both active ventilation and passive resting periods. During active ventilation periods, the increased surface area represented by burrow walls increased the oxygen flux into the sediment, and during the resting periods, oxygen was rapidly exhausted by polychaete respiration and loss at the burrow walls. The intermittent ventilation of the *N. virens* system generates variable oxygen conditions that stimulate microbial organic matter degradation (Aller, 1994).

Faunal enhancement of meiobenthic and microbial metabolisms inside nereis burrows may also be explained by factors specific to nereis systems: redistribution of particles, removal of toxic metabolites, storage of organic matter deeper in the sediment, enhanced pore-water transport, transport of organic-rich small particles into the burrows, and secretion of labile mucus along the walls of the burrows (Kristensen, 2000; Tita *et al.*, 2000; Aller, 2001).

Characteristics of the biodiffuser system

When bivalves were introduced into the cores, they buried immediately. During the course of the experiment, ongoing biodiffusive activities created an oxidized sediment volume a few centimetres deep in the microcosms colonised by the biodiffusers. Visual observations at the end of the experiment showed that this oxidized zone was limited to 4 cm for *M. balthica* and 8 cm for *M. arenaria*.

M. balthica is a facultative deposit-feeder that depends on food availability in the overlying water (de Goeij *et al.*, 1998). It is therefore mainly the length of siphon that

determines the maximum depth to which it can bury and thus limits the oxygenation depth to 4 cm. We also observed important increases in surface roughness in cores with *M. balthica* during the course of the experiment. Sediment resuspension caused by this bivalve could explain the increased consumption and penetration depth of oxygen. Although *M. balthica* is somewhat mobile (Aller and Yingst, 1985), we did not observe lateral displacement during the course of the experiment that might have explained sediment oxygenation.

M. arenaria is larger than *M. balthica* and oxidizes the sediment to 8 cm. When *M. arenaria* has established its place, it usually extends both siphons to the sediment-water interface in a suspension feeding mode (Zaklan and Ydenberg, 1997). The repeated withdrawals and extensions of siphons may determine the burying depth of the bivalve. The oxidised sediment surrounding the bivalve was probably due to diffusion of oxygen from the siphon to the sediment.

Relative to the gallery-diffuser system, the oxidised zone surrounding the biodiffusers was larger and more homogeneous. The oxidised zone may have important effects on microbial metabolism and meiofaunal enhancement and therefore on sediment oxygen demand. Sediment reworking by *M. balthica* is known to facilitate microbial metabolism and growth of meiofauna (Reise, 1983; Lehtoranta and Heiskanen, 2003), and the bivalve *M. arenaria* usually enhances microbial activity related to the sulfur cycle (Hansen *et al.*, 1996). However, in our experiment, these micro- and meiobenthic activities were not significant for oxygen uptake compared to gallery-diffusers. In spite of the continuous diffusion into the sediment by the biodiffusers, it was apparent that the periodic ventilation activity of the gallery-diffuser, coupled with the presence of biogenic structures, had a greater effect on sediment oxygen demand. We found that the two biodiffusers produced the same sediment

oxygen demand despite their different space occupation and feeding, ventilation and burrowing modes.

Changes in oxygen uptake during the experiment

Pelegri and Blackburn (1995) found that *N. virens* stimulated oxygen uptake more than the bivalves. However, this study was limited to the one day that followed the introduction of the organisms to the sediment. They noted that this period was too short to establish a normal burrow *Nereis* structure. They also indicated that characteristics of the burrow micro-environment might change after longer pre-incubation times. In the present study, we took burrow establishment into account by measuring oxygen fluxes not only after introducing the organisms but each week thereafter. We observed that the oxygen uptake changed with time. In the microcosms with gallery diffusers, the oxygen uptake actually increased during the course of the experiment.

If we assume that invertebrate respiration remained constant during the experiment, the evolution of oxygen uptake is mainly linked to construction and maintenance of biogenic structures. Miron *et al.* (1991) showed that the gallery length of *N. virens* increased with time following the constructing of a simple burrow network during the first 7 days. Gerino (1992), Gilbert *et al.* (1994, 1995) and Ouellette *et al.* (2004) found that sediment reworking by polychaetes was more intense after 30 days, which was attributed to a gradual increase in the complexity of the biogenic structures. In our experiment, it appears that construction and maintenance of biogenic structures reached a steady state between days 28 and 36 after which oxygen fluxes were stable.

Conclusion

This study has revealed the different effects the two bioturbation functional groups in the *M. balthica* community have on oxygen uptake at the sediment-water interface. The use of a similar biovolume for different treatments has confirmed that a bioturbation functional group approach is a useful tool for quantifying the effects of intertidal benthic communities on benthic fluxes. However, further quantification of the role of the *Macoma balthica* community at the sediment-water interface will need to take into account not only the individual role of each species but also the interactions among these species.

Acknowledgements

We thank Herven Holmes, Jean-Francois Lemieux and Marlène Dionne for permission to sample in the Parc national du Bic; Real Fournier for providing laboratory space in the Aquaculture Station at Pointe au Père; Frédérique Francois and Christian Grenz for their advice on the notion of biovolume and the micro-Winkler method, respectively. We are grateful to Marcel Laroche for technical help, Diane Bérubé for CHN analysis, and Michel Lavoie for help with sampling. The first author thanks Marc Sourisseau for his co-operation during the experiment. The study was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada to Drs. Gaston Desrosiers and Bjorn Sundby and is Nereis Park contribution number 13.

CHAPITRE 2

THE FUNCTIONAL GROUP APPROACH TO BIOTURBATION: II. THE EFFECTS OF THE *MACOMA* *BALTHICA* COMMUNITY ON FLUXES OF NUTRIENTS AND DISSOLVED ORGANIC CARBON ACROSS THE SEDIMENT- WATER INTERFACE

E. Michaud, G. Desrosiers, F. Mermillod-Blondin, B. Sundby, G. Stora

Article publié dans

Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2006, Vol. 337, pp 178-189

Résumé

Nous avons examiné les effets des individus des groupes fonctionnels dominants de la communauté à *Macoma balthica* sur les flux de nutriments et de carbone organique dissous à l'interface eau-sédiment. Les biodiffuseurs, *M. balthica* et *Mya arenaria*, et le diffuseur à galerie, *Nereis virens*, ont été introduits dans des microcosmes contenant du sédiment tamisé, à biovolume identique, pour faciliter les comparaisons. Les deux groupes fonctionnels modifient les flux par rapport à un sédiment contrôle sans macrofaune et le diffuseur à galerie a l'effet le plus fort. Les deux biodiffuseurs ont des effets opposés sur les flux de nitrate. *M. balthica* qui vit proche de l'interface eau-sédiment crée un relargage de nitrate vers l'eau surnageante, tandis que la présence de *M. arenaria* cause une consommation de nitrate par les sédiments. Les deux organismes augmentent les flux d'ammonium, mais avec des intensités différentes, *M. arenaria* ayant le plus grand effet. Nous attribuons cette différence intra-fonctionnelle aux interactions entre la profondeur d'enfouissement des organismes et la profondeur de distribution des solutés interstitiels. *M. balthica* étant localisé à l'intérieur de la zone de nitrification où la concentration moyenne en nitrate est supérieure à celle de l'eau surnageante, ce qui cause un relargage de nitrate vers l'eau surnageante. Au contraire, *M. arenaria* est enfoui, à la fois, au niveau des zones de nitrification et de dénitrification, où la concentration moyenne de nitrate est inférieure à celle de l'eau surnageante. Au sein d'une étude portant sur les échanges de solutés à l'interface eau-sédiment, l'approche fonctionnelle devrait prendre en compte les processus qui contrôlent la chimie du sédiment aux profondeurs d'enfouissement des organismes.

Abstract

We have examined the effects of individual members of the two dominant functional groups of the *Macoma balthica* community on fluxes of nutrients and dissolved organic carbon between sediment and overlying water. The biodiffusers *Macoma balthica* and *Mya arenaria* and the gallery-diffuser *Nereis virens* were added to microcosms containing sieved tidal flat sediment, using identical biovolume for each treatment to facilitate comparison. Both functional groups enhanced fluxes over a control without macrofauna. The gallery-diffuser had the greatest effect. The two biodiffusers had opposite effects on the flux of nitrate. *M. balthica*, which lives near the sediment surface caused nitrate release whereas *M. arenaria* caused nitrate uptake. Both organisms increased the release of ammonia, but *M. arenaria* had the greater effect. We attribute this intra-functional difference not so much to different functionality as to interactions between organisms and the depth distribution of pore water constituents. Because the burrow of *M. balthica* is located within the nitrification zone of the sediment, the depth averaged concentration of nitrate in its burrow is higher than in the overlying water, and burrow flushing leads to net release of nitrate. In contrast, the burrow of *M. arenaria* includes both nitrification and denitrification zones, which lower the depth averaged concentration of nitrate below the concentration in the overlying water. The functional group approach needs to take the processes that control sediment chemistry into account in order to predict fluxes successfully.

Introduction

Diagenesis refers to the total sum of the processes that bring about changes in a sediment subsequent to deposition in water (Berner, 1980). Organic matter oxidation, which to a large extent controls the diagenesis of sediment, takes place preferentially with the electron acceptors that yield the highest amount of free energy in the terminal electron transfer of the bacterially mediated oxidation of organic matter (Froelich *et al.*, 1979). Oxygen reduction is followed by reduction of nitrate, manganese oxides, iron oxides, sulfate, and carbon dioxide. These reactions occur in succession, and, in theory, decomposition reactions are vertically stratified below the sediment-water interface. The decomposition reactions create concentration gradients and drive fluxes of solutes across the sediment-water interfaces (Boudreau and Jorgensen, 2000). One of the most important consequences of early diagenesis is therefore the control it exerts upon the chemical composition of natural waters (Santshi *et al.*, 1990).

The idealized vertical zonation is altered by the presence of benthic fauna. Through feeding, excretion, bulldozing, burrowing, and construction of tubes, mounds, and pits, macrofauna influence particle transport, alter porosity, surface composition and erodability of sediments, and modify the adsorption capacity of the sediment for many redox sensitive metals (Rhoads, 1974; Thayer, 1979; Sun and Torgersen, 2001). Some organisms ventilate their burrows by irrigation, which favours introduction of reactive electron acceptors into otherwise reduced sediment and removes metabolites (Kristensen, 1985). The presence of benthic fauna creates juxtapositions of oxic and anoxic microenvironments with different redox conditions and with different bacterial populations around biogenic structures (Aller, 1982). Reactions involving metal oxides may be affected (Aller, 1977; Hulth *et al.*, 1999) and

micro- and meiobenthic communities are enhanced (Fenchel, 1996; Aller and Aller, 1998). Bioturbation stimulates coupled nitrification-denitrification (Gilbert *et al.*, 2003), and may also create favourable conditions for alternative pathways for nitrogen and metal redox coupling (Hulth *et al.*, 2005).

Oscillations in the pore water concentration of solutes leads to variable nutrient and carbon fluxes (Hines *et al.*, 1982) that are increased by bioirrigation and siphonal water exchanges (Kristensen, 1985). According to Rhoads *et al.* (1977), burrowing organisms promote the return of mineralised nitrogen nutrients to the overlying water at a greater rate than by molecular diffusion alone. The distribution of phosphate depends on precipitation and dissolution of metal oxides (Sundby *et al.*, 1986, 1992; Anschütz *et al.*, 1998), and bioturbation can influence the rate of phosphate release by changing oxygen levels and redox potentials (Waldbusser *et al.*, 2004). Bioirrigation stimulates DOC oxidation in the sediments by either macrofauna or associated heterotrophic bacteria (Burdige and Homstead, 1994). Redox oscillations resulting from bioturbation favours more complete and rapid decomposition than is possible under constant conditions or unidirectional redox change (Aller, 1994; Kristensen and Holmer, 2001; Sun *et al.*, 2002; Gilbert *et al.*, 2003), and impacts organic matter sequestration, resuspension and redistribution (Caradec *et al.*, 2004).

The extent to which these effects are realized may depend on the functional groups present (Aller, 1982). Woodin and Jackson (1979) defined functional groups of benthos on the basis of how benthic organisms exploit their substratum environment. The hypothesis of trophic group amensalism and adult-larvae interactions was used as functional approaches to determine how the feeding activities of adult mobile burrowers can resuspend and erode sediment, impact larval settlement and structure of the benthic communities (Rhoads and Young, 1970; Woodin, 1976; Brenchley, 1981; Thayer, 1983). Other functional groups

hypotheses have taken different forms. Fauchald and Jumars (1979) formed functional groups by delineating feeding guilds among benthic polychaetes, considering food, feeding habits, locomotory patterns and functional morphology. Because of its importance to sedimentary biogeochemistry, bioturbation has led to a definition of functional groups on the basis of sediment mixing modes (Fisher *et al.*, 1980; Boudreau, 1986; Smith *et al.*, 1986; Gardner *et al.*, 1987; Francois *et al.*, 2001; Gerino *et al.*, 2003). Biodiffusers include species whose activities result in diffusive transport of sediment, they move sediment particles in a random manner over short distances. Upward-conveyors include head down, vertically oriented species that remove sediment at depth in the substratum and expel it at the sediment-water interface. Downward-conveyors include head-up, vertically oriented species causing “active” transport of sediment through their gut from the sediment-water interface to their egestion depth. Regenerators include digging species that transfer sediment at depth to the surface where it is washed away and replaced by sediment of surficial signature. Gallery-diffuser include species that dig gallery systems in sediment, leading to biodiffusive tracer distribution in the upper layers of the sediment, intensively drilled by organisms, and leading to an advective transport of matter from the surface to the deep part of the tubes due to egestion of feces and to the dragging of particles down to the tube bottom by animal movements.

Posey (1990) felt that functional-group interactions have limited applicability because of overlapping modes, Padilla and Allen (2000), Pearson (2001) and Rosenberg (2001) reported that it is now possible to make more appropriate functional attributions for many individual species and groups of species, and encouraged the use of functional groups for a better understanding of ecosystem functioning and modelling.

Given the complexity of sediment chemistry, one expects to find a spatial dependency of functional-group influence on benthic fluxes. Organisms that live deep in the sediment may

have different effects than organisms that live near the sediment-water interface, and organisms that irrigate their burrows may have different effects than organisms that siphon water. Irrigation behaviour (Pelegri and Blackburn, 1995; Banta *et al.*, 1999) and feeding strategies (Christensen *et al.*, 2000; Welsh, 2003) can explain variable exchanges at the sediment-water interface. Mermillod-Blondin *et al.* (2004) showed that the mode of sediment mixing, associated with irrigation behaviour and burrowing depth, appeared to be sufficient to determine the impacts of different invertebrates on microbial communities and biogeochemical processes at the sediment-water interface.

The purpose of the present study was to determine effects of the dominant bioturbational functional groups (defined by sediment mixing mode) of the *Macoma balthica* community in the St-Lawrence estuary (Quebec, Canada) on benthic fluxes at the sediment-water interface. To allow comparison, we used identical biovolumes for each treatment. The two functional groups were represented by the bivalves *M. balthica* and *M. arenaria* (two biodiffusers), and the polychaete *N. virens* (one gallery-diffuser). We monitored the effects of these organisms on fluxes of ammonium, nitrate, phosphate, and dissolved organic carbon (DOC). We choose these solutes because they are indicators of nutrient cycling and oxidation and degradation of organic matter.

Material and methods

Sampling site

Sediment and animals were collected in August 2003 on a tidal flat in the “Baie des Ha! Ha!” on the south shore of the St Lawrence estuary, 30 km west of Rimouski (Québec,

Canada) (Michaud *et al.*, 2005). The bay is sheltered and is oriented toward the northwest. The water temperature varies seasonally between 0°C and 13°C, and the salinity was 27 psu. The sediment consists predominantly of muddy sand (60% mud, 30% sand) with 10% gravel. The organic matter content was approximately 2%, measured as loss upon ignition (500°C). Before the experiment, surface sediments were passed through a 1-mm mesh to remove macrofauna and larger particles. Specimens of *Macoma balthica* (15 ± 5 mm individual length), *Mya arenaria* (30 ± 10 mm individual length) and *Nereis virens* (60 ± 10 mm individual length) were collected at the same time.

Microcosms

After sieving, the sediment was homogenised and added to PVC tubes (17 cm long, 10 cm i. d.) to produce a 15 cm thick sediment layer, overlain by 2 cm of seawater. These microcosms were placed in a thermostated room at the average summer temperature for the region ($12 \pm 0.5^\circ\text{C}$) with a 12h light/12h dark photoperiod. The overlying water of each microcosm was renewed continuously with water from the St-Lawrence estuary (Salinity = 27 psu, Temperature = $12 \pm 1^\circ\text{C}$). The water inflow was kept low in order to avoid sediment resuspension. The animals were acclimatized for 12 days before their introduction into the microcosms. The animals were not fed additionally during the experiment, because we considered that there was enough food in the initial sediment and in the seawater coming from the St Lawrence estuary during the experiment. The experiment lasted from August 18 to September 24 2003.

Experimental design

The experimental design consisted of four treatments with three replicated microcosms per treatment. The number of organisms introduced was calculated to obtain similar biovolumes in each treatment (Michaud *et al.*, 2005). The treatments were (1) control without macrofauna; (2) 24 individuals of *M. balthica* (individual biovolume = 0.5 ± 0.1 mL per individual; total biovolume = 12 ± 1.2 mL); (3) 6 individuals of *M. arenaria* (individual biovolume = 2 ± 0.2 mL per individual; total biovolume = 12 ± 2.4 mL); (4) 12 *N. virens* (individual biovolume = 1 ± 0.2 mL per individual; total biovolume = 12 ± 2.4 mL). These densities are equivalent to 3000, 764, 1528 individuals per m² for *M. balthica*, *M. arenaria* and *N. virens*, respectively, close to average densities observed in the St-Lawrence estuary (Mermillod-Blondin *et al.*, 2003). After they were introduced into the microcosms, *Nereis* and *Macoma* burrowed more rapidly (<10mn and <30 mn, respectively) than *M. arenaria* (<4h, maximum time for some individuals) into the sediment.

Flux measurements

The microcosms, enclosing a 2 cm water layer on top of the 15 cm sediment layer, were sealed with Plexiglas® lids and connected to an inflatable reservoir filled with seawater. This reservoir was used to replace the water that was removed for analysis (Figure II-1). The flux measurements were made in the dark to exclude the influence of photosynthetic organisms. The water flow was shut off, and the water in each core was not stirred to avoid disturbing the sediment surface. Tests with fluorescein dye as a water tracer showed that the water column remained well mixed during the sampling procedure. For each flux measurement, 20 mL samples were collected at 30 minute intervals (0h, 0.5h, 1h, 1.5h, and 2h) (Figure II-1). Each measurement was limited to 2 hours to avoid more than 20% oxygen depletion (Hall *et al.*,

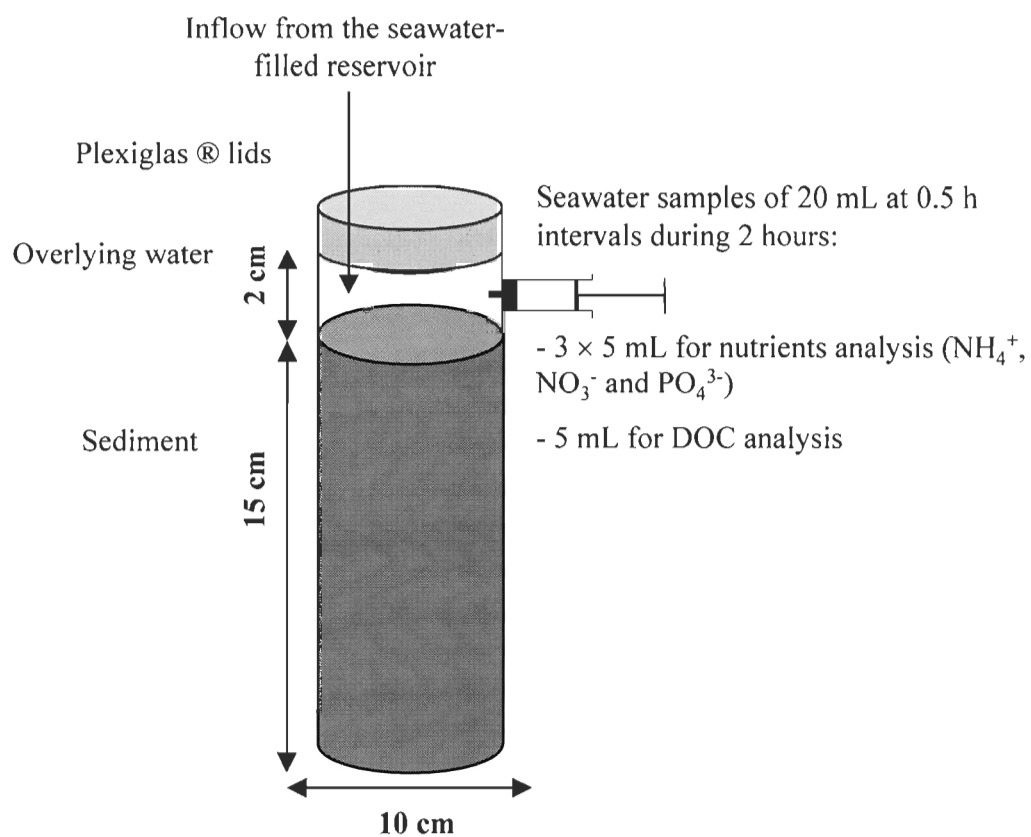


Figure II-1: Diagram of sediment core during nutrients and DOC flux measurements under dark conditions.

1996). The concentration in each sample was corrected for the composition of the water in the replacement reservoir, measured simultaneously.

The water was sampled with syringe and needle through septa located on the side of each core 0.5 cm above the sediment surface (Figure II-1). Each septum could be perforated several times without the risk of contamination by air. The samples were immediately filtered through 0.7µm GF/F Whatman glass fiber-filter, combusted at 500°C for 12h. Three 5mL samples for nutrient analyses were immediately frozen (-80°C) in polypropylene cryovials, and one 5 mL sample for DOC analysis was acidified (HCL, 0,1%) and stored in a cold room in brown glass containers (Deflandre and Gagné, 2001). All equipment used for nutrient and DOC sampling was washed in an alconox solution, rinsed with tap water, soaked in 10% HCL, and finally rinsed with distilled deionized water (Burdige and Homstead, 1994). The equipment was dried at 60°C in a conventional lab oven, and the glassware was baked clean of any residual organic matter in a muffle furnace at 550°C (Burdige and Homstead, 1994).

Ammonia was measured spectrophotometrically according to method of Solozarno (1969) as adapted by Aminot and Chaussepied (1983). Nitrate and orthophosphate were determined with an autoanalyser (Alpkem FS III, Perstop analytical) (Strickland and Parsons, 1978). All reagents and standards were prepared in acid-washed glassware, and standards were prepared in a nutrient-free artificial seawater matrix. DOC concentrations were determined using a high temperature catalytic oxidation (HTCO) method (Shimadzu 5050 TOC Analyser).

Fluxes were calculated from the slopes of the linear regression of concentration against time. Nutrients and DOC fluxes measurements were made one day after each O₂ flux measurements (Michaud *et al.*, 2005), and thus they began on day 13 before organisms were added to the microcosms, and then on days 21, 29 and 37.

Sediment properties

Total organic matter, organic carbon and nitrogen, and chlorophyll *a* concentrations were determined on the freshly sieved sediment before the experiment and on surface sediment from all microcosms at the end of the experiment. The organic matter content (OM) was calculated as loss upon ignition for 12 h at 500°C. Particulate organic carbon (POC) and particulate organic nitrogen (PON) were determined with a Perkin Elmer 2400 CHN elemental analyser. Chlorophyll *a* (chl *a*) was measured according to Riaux-Gobin and Klein (1993).

Statistical analysis

Before animals were introduced into the microcosms on day 13, fluxes of inorganic nutrients and DOC in all cores were compared using 1-way analysis of variance. After day 13, the influences of time and treatment on benthic fluxes were tested using a 1-way repeated analysis of variance with time as the repeated factor (days 21, 29, 37) and treatment as main factor. Tuckey *post hoc* tests were carried out to determine which time and treatments differed. The organic matter concentrations, C/N ratios and chl *a* contents were compared among treatments by using a 1-way analysis of variance using treatment as main factor. The homogeneity of variances among treatments was verified with the Bartlett test.

Results

Visual observations

During the dark periods, individual *N. virens* occasionally left their burrows, and we observed mucus-wrapped sediment on the sediment surface. *M. balthica* fed on surface

deposits throughout the experiment. They extended their siphons regularly above the sediment surface and deposited numerous faecal pellets on the sediment surface. In contrast, *M. arenaria* never extended their siphons above the sediment surface; they merely stretched and withdrew them at irregular intervals within the sediment column. The siphon burrow openings of *M. arenaria* were sometimes covered by sediment, making them invisible.

When the control cores were dismantled at the end of the experiment, an oxidised zone, revealed by the brown colour of the sediment, was present to about 5 mm depth. A 2 mm thick red-brown oxidised zone, extending to 4 cm depth, surrounded *M. balthica* individuals. A more extensive 5 mm diameter red-brown zone, extending to 8 cm depth, was observed surrounding the siphon of *M. arenaria*. The most extensive oxidised zone (10 mm diameter) was in the transition zone between the siphon and the body of *M. arenaria*. Only a very thin oxidised zone (0.5 mm) was found around the shell of the bivalve. A 2 mm oxidised zone was also observed around the *Nereis* burrows, which formed a dense burrow network extending to 14 cm depth in the sediment.

Sediment properties

The concentrations of organic matter, POC, PON and chl *a* in the sediment at the beginning of the experiment, and in the top layer of the sediment at the end of the experiment are presented in Table II-1. There was a tendency for the variables (except for chlorophyll) to increase with time in the control microcosms, but the increase was not significant (student t-test, $p > 0.05$). The mean values among treatments were variable, but no significant differences in OM, POC, PON, and chl *a* concentrations were detected among the four treatments (1-way analyses of variance, $p > 0.05$ for the four variables).

Table II-1: Loss on ignition (LOI), particulate organic carbon (POC) and nitrogen (PON), molecular C/N ratio, and chl *a* in freshly sieved sediment at the beginning of the experiment and in the surface layer of the microcosms at the end of the experiment (means $\pm$ SD, n = 3).

Treatment	LOI (%)	POC ($\mu\text{mol g}^{-1}$ DW)	PON ($\mu\text{mol g}^{-1}$ DW)	C/N ratio	Chl <i>a</i> ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW)
Beginning					
<i>Freshly sieved sediment</i>	1.88 ± 0.16	182.34 ± 16.99	19.93 ± 2.51	9.25 ± 1.60	13.82 ± 1.04
End					
Control	1.91 ± 0.30	325.26 ± 125.26	29.97 ± 5.96	10.64 ± 2.12	14.69 ± 1.88
<i>M. balthica</i>	1.86 ± 0.28	237.64 ± 59.82	14.50 ± 8.03	20.84 ± 12.08	12.02 ± 2.71
<i>M. arenaria</i>	1.80 ± 0.14	255.45 ± 64.66	20.81 ± 7.87	12.94 ± 3.29	13.57 ± 0.61
<i>N. virens</i>	1.99 ± 0.05	295.26 ± 72.70	31.01 ± 7.65	9.90 ± 3.09	10.27 ± 3.17

Benthic fluxes

On day 13, before the organisms were introduced, the fluxes of ammonia ($60 \pm 24 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$), nitrate ($16.6 \pm 5.4 \mu\text{mol NO}_3^- \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$), phosphate ($6.6 \pm 0.7 \mu\text{mol PO}_4^{3-} \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$) and dissolved organic carbon ($6.3 \pm 3 \text{ mg DOC h}^{-1} \text{ m}^{-2}$) were comparable in the four groups of cores assigned to each treatment (1-way analysis of variance, $p > 0.05$).

From day 21, the DOC efflux to the overlying water decreased significantly over time in all treatments (Figure II-2A, Table II-2, 1-way repeated ANOVA, $F_{2,16}=115.85$; $p<0.0001$, time effect), and the DOC efflux was significantly different among treatments (Figure II-2A, Table II-2, 1-way repeated ANOVA, $F_{3,8}=6.0$; $p<0.02$, treatment effect). Fluxes measured on day 21 were significant differently from fluxes measured on days 29 and 37 (HSD Tukey tests, $p < 0.05$). All animal treatments tended to produce lower DOC effluxes than the control (Figure II-2A). However, only the gallery-diffuser *N. virens* produced a significant influx of DOC compared to the control (HSD Tukey test, $p < 0.05$); the two bivalves did not affect the DOC fluxes significantly (HSD Tukey tests, $p > 0.05$).

In all treatments, the ammonium efflux to the overlying water increased significantly during the course of the experiment (Figure II-2B, Table II-2, 1-way repeated ANOVA, $F_{2,16}=47.3$, $p < 0.0001$, time effect). The fluxes of ammonium increased from $35 \pm 20 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ on day 21 to $201 \pm 107 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ on day 37 in the control cores. Ammonia fluxes measured on day 21 were significantly different from fluxes measured on days 29 and 37 (HSD Tukey tests, $p < 0.05$). The ammonium fluxes were significantly different among treatments (Figure II-2B, Table II-2, 1-way repeated ANOVA, $F_{3,8} = 52.7$, $p < 0.0001$, treatment effect). *N. virens* produced the highest ammonium efflux (HSD Tukey tests, $p < 0.05$). *M. arenaria* differed from *M. balthica* by a greater ammonium efflux (HSD Tukey

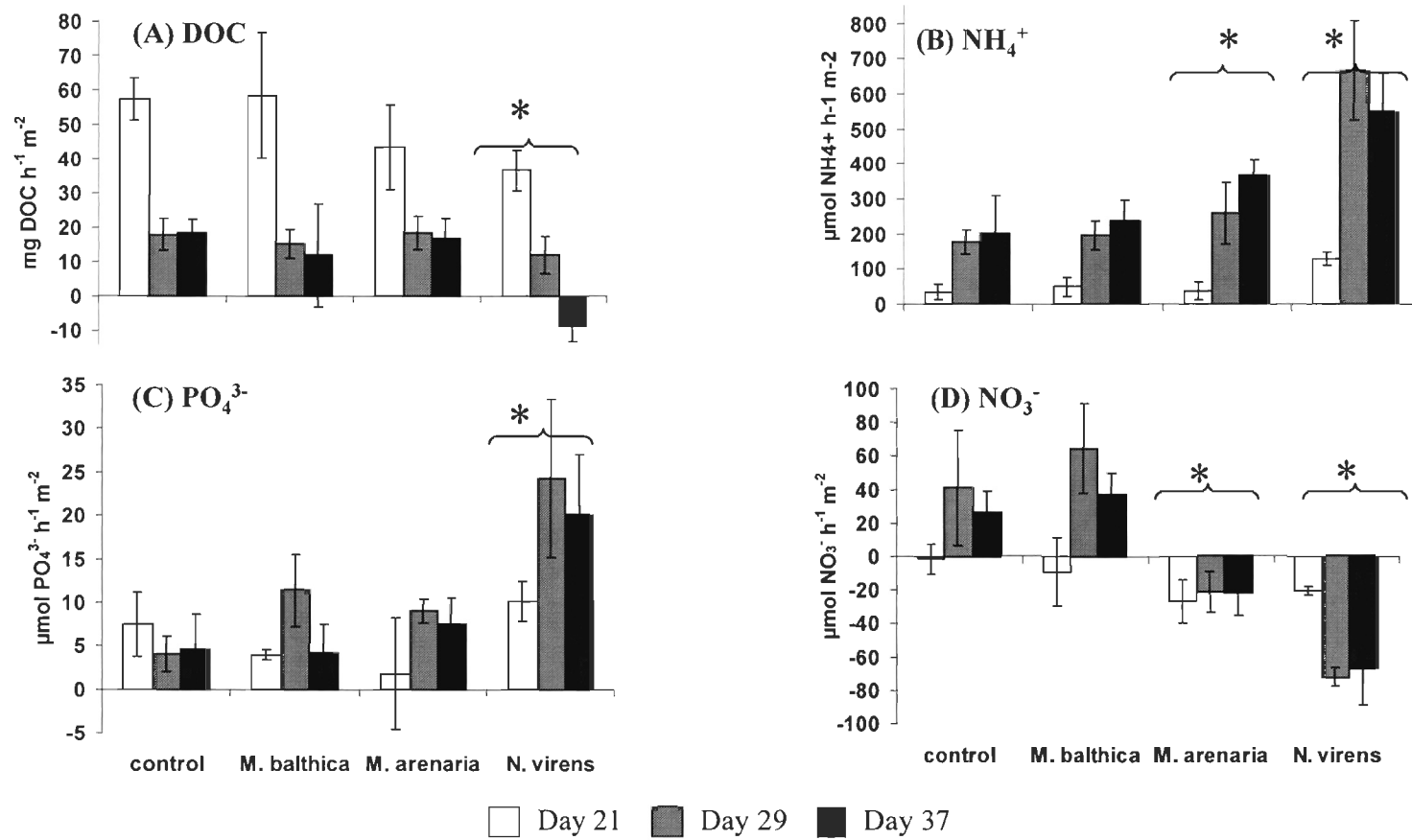


Figure II-2: Fluxes of DOC (A), Ammonium (B), Phosphates (C), Nitrate (D) across the sediment-water interface for the four treatments (control, *M. balthica*, *M. arenaria*, *N. virens*) on days 21, 29 and 37 of the experiment. Rates are given as mean of $\pm$ SD of 3 cores. * indicates treatment fluxes that significantly differ from control fluxes.

Table II-2: Results of 1-way repeated analysis of variance using time as repeated factor and treatment (control, *Macoma balthica*, *Mya arenaria*, and *Nereis virens*) as fixed factor.

* indicates significant results (* $p < 0.05$). Statistical O₂ results were taken from Michaud *et al.* (2005).

Parameter	Treatment effect		Time effect		Interaction effect	
	<i>F</i> (3.8)	<i>p</i>	<i>F</i> (2.16)	<i>p</i>	<i>F</i> (6.16)	<i>p</i>
O ₂	37.29	0.001*	6.42	0.008*	1.28	0.32
NH ₄ ⁺	52.66	0.0001*	47.33	0.0001*	4.75	0.006*
NO ₃ ⁻	34.83	0.0001*	2.84	0.088	7.26	0.0007*
PO ₄ ³⁻	8.93	0.006*	7.11	0.006*	2.79	0.046*
DOC	6	0.02*	115.85	0.0001*	3.08	0.033*

tests, $p < 0.05$). *M. balthica* did not affect ammonium efflux significantly compared to the control (HSD Tukey test, $p > 0.05$).

The release of phosphate from the sediment evolved significantly during the course of the experiment (Figure II-2C, Table II-2, 1-way repeated ANOVA, $F_{2,16} = 7.1$, $p < 0.01$, time effect), and significantly different phosphate fluxes were measured among treatments (Figure II-2C, Table II-2, 1-way repeated ANOVA, $F_{3,8} = 8.9$, $p < 0.01$, treatment effect). Phosphate fluxes measured on day 21 were significantly different from fluxes measured on days 29 and 37 (HSD Tukey tests, $p < 0.05$). *N. virens* produced the highest phosphate fluxes (HSD Tukey tests, $p < 0.05$). *M. balthica* and *M. arenaria* had no significant effect on phosphate fluxes compared to the control (HSD Tukey tests, $p > 0.05$).

Nitrate fluxes varied significantly among the treatments (Figure II-2D, Table II-2, 1-way repeated ANOVA, $F_{3,8} = 34.8$, $p < 0.001$, treatment effect), but not with time (Figure II-2D, Table II-2, 1-way repeated ANOVA, $F_{2,16} = 2.84$, $p > 0.088$, time effect). Thus, whereas nitrate was released from the sediment at similar rates both in the control and the *M. balthica* treatment (HSD Tukey tests, $p > 0.05$), nitrate was taken up by the sediment in the presence of both *M. arenaria* and *N. virens* (Figure II-2D). The effect of *N. virens* on nitrate uptake was significantly higher than the effect of *M. arenaria* (HSD Tukey tests, $p < 0.05$).

Although the concentrations of DOC, NH_4^+ in the overlying water column of all the microcosms were maintained constant throughout the experiments, the fluxes of these solutes in the control cores were not constant over time (DOC : 1-way repeated ANOVA, $F_{2,6} = 62.21$, $p < 0.0001$; NH_4^+ : 1-way repeated ANOVA, $F_{2,6} = 5.50$, $p < 0.044$). Because this variability probably reflected the dynamic of the organic matter in the system, our experiments had the originality to test the impact of animals under different conditions of organic matter reactivity.

As an example of organic matter dynamics, the fact that DOC fluxes reached a peak on day 21 and declined thereafter may be due to the evolution of DOC reactivity in sediments, most DOC might becoming refractory after three weeks of experiment. To analyse the influence of each animal under variable control fluxes, we subtracted the fluxes in the control from the fluxes measured in the treatments (Figure II-3) assuming that this would reveal the net effect of macrofauna on benthic fluxes.

Benthic fluxes were then calculated as a function of the biovolume (mL) in order to compare nutrient fluxes on the basis of the space occupied by the organisms (Table II-3). Expressed on this basis, towards the end of the experiment the ammonium releases were $0.23 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ for the gallery-diffuser, and one order of magnitude lower (0.023 to $0.10 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ mL}^{-1}$) for *M. balthica* and *M. arenaria*, respectively. Phosphate release was greater for the gallery-diffuser ($0.01 \mu\text{mol PO}_4^{3-} \text{ h}^{-1} \text{ mL}^{-1}$) than the biodiffusers (-0.001 to $0.002 \mu\text{mol PO}_4^{3-} \text{ h}^{-1} \text{ mL}^{-1}$) on day 37. Nitrate and DOC consumptions were more important for *N. virens* ($-0.061 \mu\text{mol NO}_3^- \text{ h}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ and $-0.017 \text{ mg DOC h}^{-1} \text{ mL}^{-1}$), and *M. arenaria* ($-0.032 \mu\text{mol NO}_3^- \text{ h}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ and $-0.001 \text{ mg DOC h}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ on day 37), relative to *M. balthica* ($0.007 \mu\text{mol NO}_3^- \text{ h}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ and $-0.004 \text{ mg DOC h}^{-1} \text{ mL}^{-1}$).

Discussion

Effects of the two functional groups on fluxes of inorganic nutrients (NH_4^+ , NO_3^- , and PO_4^{3-}) and dissolved organic carbon (DOC)

Both functional groups modified DOC and nutrient (NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-}) fluxes compared to a sediment without macrofauna, but biodiffusers and gallery-diffusers had different effects

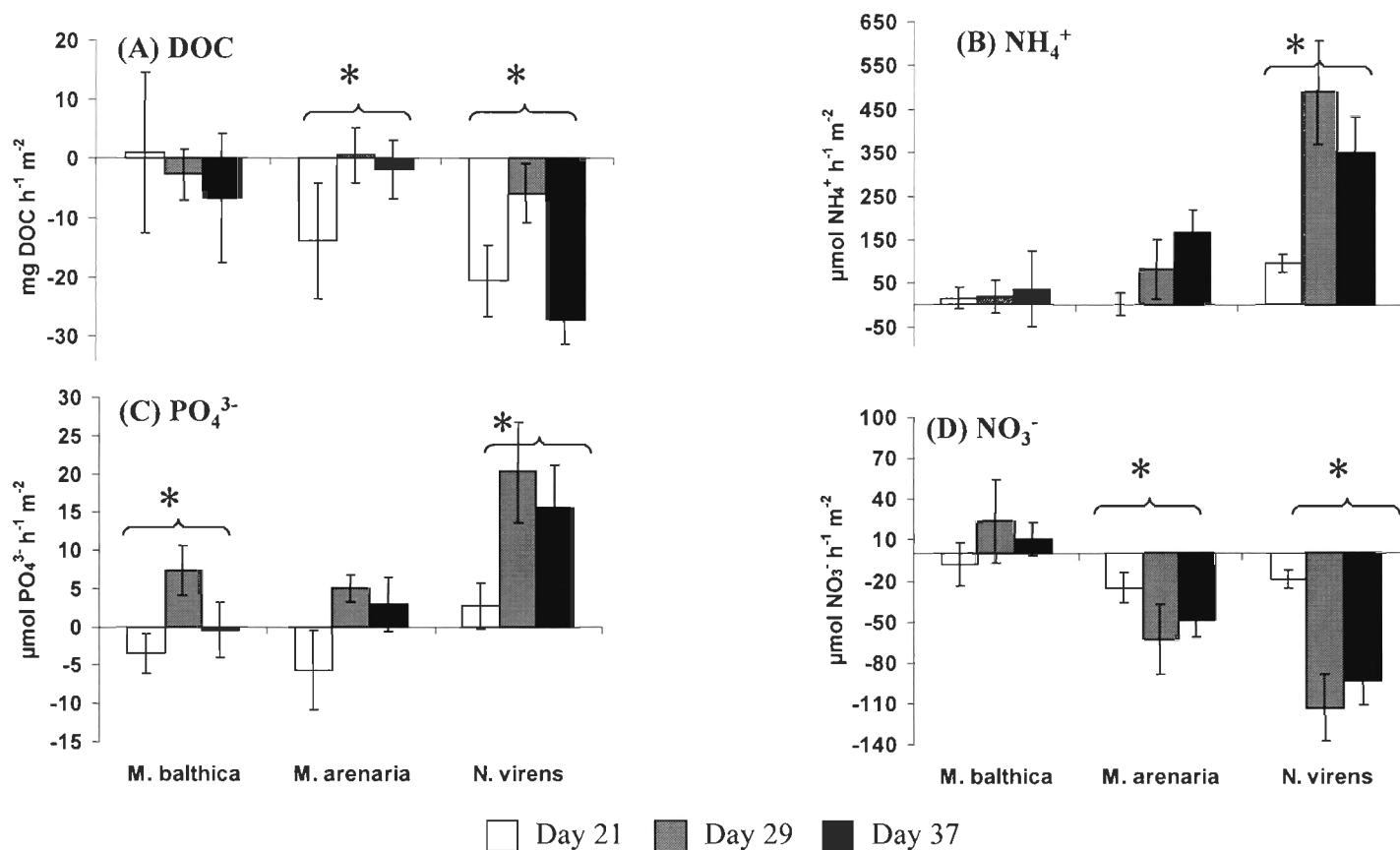


Figure II-3: Net fluxes of DOC (A), Ammonium (B), Phosphates (C), nitrate (D) by macrofauna system after subtraction of control fluxes from the fluxes measured with each species (*M. balthica*, *M. arenaria*, *N. virens*) on days 21, 29 and 37 of the experiment. Rates are given mean $\pm$ SD of 3 cores. * indicates treatment fluxes that significantly differ with time.

Table II-3: Net DOC and nutrients fluxes per mL (means $\pm$ SD, n = 3).

	Biodiffuser (<i>M. balthica</i>)	Biodiffuser (<i>M. arenaria</i>)	Gallery-diffuser (<i>N. virens</i>)
<i>DOC (mg h⁻¹ mL⁻¹)</i>			
Day 21	0.0007 $\pm$ 0.009	-0.009 $\pm$ 0.006	-0.014 $\pm$ 0.003
Day 29	-0.001 $\pm$ 0.002	0.0004 $\pm$ 0.003	-0.004 $\pm$ 0.003
Day 37	-0.004 $\pm$ 0.007	-0.001 $\pm$ 0.003	-0.018 $\pm$ 0.002
<i>NH₄⁺ (μmol NH₄⁺ h⁻¹ mL⁻¹)</i>			
Day 21	0.010 $\pm$ 0.016	0.001 $\pm$ 0.010	0.062 $\pm$ 0.014
Day 29	0.012 $\pm$ 0.024	0.054 $\pm$ 0.040	0.319 $\pm$ 0.077
Day 37	0.023 $\pm$ 0.057	0.100 $\pm$ 0.035	0.227 $\pm$ 0.055
<i>NO₃⁻ (μmol NO₃⁻ h⁻¹ mL⁻¹)</i>			
Day 21	-0.005 $\pm$ 0.01	-0.016 $\pm$ 0.007	-0.012 $\pm$ 0.004
Day 29	0.015 $\pm$ 0.020	-0.040 $\pm$ 0.010	-0.074 $\pm$ 0.016
Day 37	0.007 $\pm$ 0.008	-0.032 $\pm$ 0.008	-0.061 $\pm$ 0.011
<i>PO₄³⁻ (μmol PO₄³⁻ h⁻¹ mL⁻¹)</i>			
Day 21	-0.002 $\pm$ 0.001	-0.004 $\pm$ 0.003	0.002 $\pm$ 0.002
Day 29	0.005 $\pm$ 0.002	0.003 $\pm$ 0.001	0.013 $\pm$ 0.004
Day 37	-0.0002 $\pm$ 0.002	0.002 $\pm$ 0.002	0.01 $\pm$ 0.004

on flux pattern and intensities. Normalized to equal biovolumes, gallery-diffusers affected benthic fluxes more than biodiffusers.

Gallery-diffuser and benthic fluxes

The increased uptake of DOC and NO_3^- and the increased release of NH_4^+ and PO_4^{3-} in the presence of gallery-diffusers indicate stimulation of microbial processes. Through bioturbation, such as burrow construction (Miron *et al.*, 1991), crack propagation (Dorgan *et al.*, 2005), and carbon sequestration (Deschênes *et al.*, 2005), gallery-diffusers move fresh organic matter into the deeper part of their burrows where it accumulates and supports micro- and meiofaunal activity. Through bioirrigation, gallery-diffusers favour an influx of oxygen and nitrate from the overlying water into the anoxic parts of the sediment, which also stimulates organic matter oxidation (Aller, 1994). A previous study has shown that a gallery-diffuser increases oxygen uptake by a factor of 2 over the control (Michaud *et al.*, 2005).

The influx of oxygen and nitrate during irrigation may stimulate oxidation of ammonia to nitrate. It has been shown that irrigation and sediment mixing by *N. virens* stimulates nitrifying bacteria in the sediment located immediately below the penetration depth of oxygen and in burrow linings (Henriksen *et al.*, 1983; Kristensen *et al.*, 1984). However, the mode of irrigation by gallery-diffusers is intermittent, and the supply of oxygen is not continuous (Kristensen, 1985). *N. virens* spends usually only 20-30% of its time irrigating, and the oxygen that is supplied is consumed soon after the irrigation stops (Kristensen, 1985; Miron *et al.*, 1992). Our flux measurements, which integrate both active ventilation and passive resting periods, indicate that the rate of nitrification in the gallery of *N. virens* did not support a net flux of nitrate out of the sediment. On the contrary, our results suggest that denitrification

during resting periods consumed more nitrate than was produced during the ventilation period net uptake of nitrate as the result.

Similarly, the oxygen supplied during ventilation of *Nereis* burrows might immobilize remineralized phosphate via adsorption or co-precipitation with iron oxides on burrow walls (Sundby *et al.*, 1992). However, our measurements show that *Nereis* stimulated the release of phosphate. This suggests that, with respect to phosphate fluxes, resting periods predominate over irrigation, and that immobilization of phosphate is less important than mobilization. Since phosphate and ammonium concentrations in sediment tend to increase with depth (Aller, 1977), the diffusive flux of ammonia and phosphate into the burrows of *Nereis*, which are located deep within the anoxic sediment layer, may also play a role in increasing the net flux of phosphate and ammonia to the overlying water. In addition to these effects, phosphate may also be released from phosphate-containing mucus-lining in the burrows of *Nereis* (Kristensen, 2000), and ammonia may be released from *N. virens* by excretion. Kristensen *et al.*, (1984) found that this organism excretes $0.69 \pm 0.16 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ in organic-rich sediments (2%).

As observed for oxygen (Michaud *et al.*, 2005), temporal changes of benthic fluxes were more pronounced with gallery-diffusers than biodiffusers (Figure II-3). This may have been due to the more dynamic nature of burrows and associated micro- and meiofauna, and the influence of bioirrigation activities on the availability and degradability of the organic matter over time (Kristensen and Mikkelsen, 2003; Whenzhofer and Glud, 2004).

Biodiffuser-induced fluxes and intra-functional variability

Biodiffusers had much less effect than the gallery-diffuser on fluxes of DOC and nutrients with sometimes an order of magnitude difference. The same was observed for oxygen fluxes (Michaud *et al.*, 2005). Phosphate fluxes in the biodiffuser treatments were not different from the control fluxes, and the variability of the phosphate fluxes during the experiment did not allow a specific tendency to be expressed. The fact that the oxidized zone surrounding the bivalves was deeper and more constant did not seem to affect phosphate mobilisation. Nevertheless, there were some striking differences between the two organisms representing biodiffusers. Thus, nitrate was released from the sediment in the *M. balthica* treatment and taken up by the sediment in the *M. arenaria* treatment; and while *M. balthica* did not influence the ammonia flux, *M. arenaria* produced a significant increase in the release of ammonia compared to the control.

The deep burrowing of *M. arenaria*, in combination with withdrawals and extensions of its siphons, might favour transfer of O₂ from the overlying water towards the anoxic zones and deeper parts of the surrounding sediment and enhance nitrification of ammonia. However, throughout the experiment we observed that more nitrate was consumed than was produced. We also observed that the extremities of the two siphons were covered regularly with sediment, which made them invisible. This phenomenon probably indicates periods when the two siphons are withdrawn and closed simultaneously. Thorin *et al.* (1998) found the simultaneous closing of the two siphons represented 44% of total clam activity, which was explained by pseudofaeces ejection, contact of a siphon with other organisms (e. g. nematodes), inhalation of large particles, or external stresses (Jorgensen and Riisgard, 1988). Hansen *et al.* (1996) suggested that the large “burrow” openings created by *M. arenaria* may trap

labile organic matter when the siphons close or retract. It is possible that this may create organic-rich micro-environments favourable for nitrate consumption (Gilbert, 1994).

Because macrofauna interact with biogeochemical reactions to control solute concentration profiles, they also influence the actual magnitudes of fluxes (Aller, 1977). We therefore attribute the observed intra-functional difference not so much to different functionality as to interactions between organisms and the depth distribution of pore water constituents (Figure II-4). Because the burrow of *M. balthica* is located within the nitrification zone of the sediment, the depth averaged concentration of nitrate in its burrow is higher than in the overlying water and burrow flushing leads to net release of nitrate. In contrast, the burrow of *M. arenaria* includes both nitrification and denitrification zones, which lowers the depth averaged concentration of nitrate below the concentration in the overlying water. This interpretation agrees with the findings of François *et al.* (1999) and Mermillod-Blondin *et al.* (2001) to the effect that different members of a functional group could produce effects of the same nature on ecosystem processes such as sediment reworking and biogeochemical reactions, but with different intensities because of different behaviors. These include different burrowing depths, excretion rates, and feeding modes.

In addition to the different position in the sediment column, the higher excretion rates of *M. arenaria* ($0.99 \pm 0.16 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) over *M. balthica* ($0.1 \pm 0.01 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (Henriksen *et al.*, 1983) may contribute to the different ammonium fluxes between the two organisms. Numerous fecal pellets of *M. balthica* accumulating at the sediment water interface might contribute to nitrate release in *M. balthica* treatments (Henriksen *et al.*, 1983).

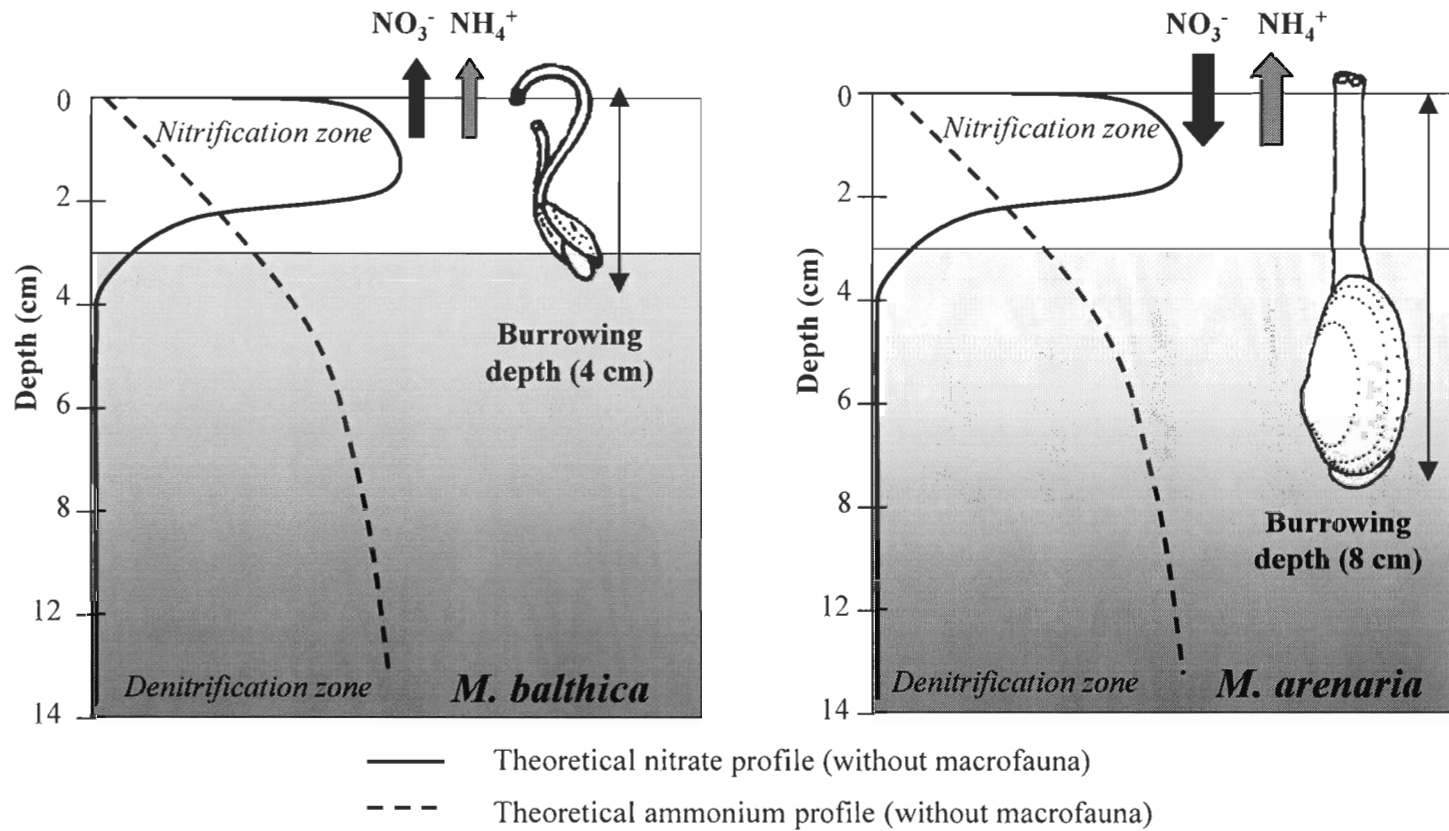


Figure II-4: Theoretical representation of the influence of nitrate and ammonium distributions in sediment on biodiffuser-mediated fluxes. *M. balthica*, which burrows within the nitrification zone, produces a net release of nitrate to the overlying water. The burrow of *M. arenaria*, which traverses both nitrification and denitrification zones, produces nitrate uptake and ammonium release.

It is important to note that NH_4^+ and NO_3^- fluxes are the results of biogeochemical processes in the sediment column; they can not be explained only by different sediment mixing modes. Burrowing depth may be the common feature that links the effect of fluxes by *M. arenaria* and *N. virens* since burrowing depth contributes to modifying the depth distribution of pore water constituents, favours redox oscillations, and stimulates exchange between deep sediment and overlying water. This does not invalidate the concept of bioturbation functional group, but this refines the concept by showing the importance of the burrowing depth on the sediment geochemical processes that produce or consume solutes.

Acknowledgements

We thank Herven Holmes, Jean-Francois Lemieux and Marlène Dionne for permission to sample in the Parc national du Bic and Real Fournier for providing laboratory space in the Aquaculture Station at Pointe au Père. We are grateful to Marcel Laroche for the technical help, Marylin Gauthier, Mike Dalva and Diane Bérubé for nutrient, DOC and CHN analysis help. The study was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada to Drs. Gaston Desrosiers and Bjorn Sundby, from the International Council for Canadian Studies to Emma Michaud, and is Nereis Park contribution number 15.

CHAPITRE 3

THE FUNCTIONAL GROUP APPROACH TO BIOTURBATION: III. THE EFFECTS OF INTERACTIONS AMONG THE FUNCTIONAL GROUPS OF THE *MACOMA* *BALTHICA* COMMUNITY ON BENTHIC FLUXES

E. Michaud, G. Desrosiers, F. Mermillod-Blondin, B. Sundby, G. Stora

Article à soumettre

Résumé

Nous avons déterminé les effets des interactions entre les groupes fonctionnels de la communauté à *Macoma balthica* (estuaire du Saint-Laurent, Québec, Canada) sur les flux d'oxygène, de carbone organique dissous, de phosphate, d'ammonium et de nitrate à l'interface eau-sédiment. La communauté à *M. balthica* est dominée par les biodiffuseurs (*M. balthica* et *Mya arenaria*) et le diffuseur à galerie (*Nereis virens*). Nous avons manipulé la diversité fonctionnelle de cette communauté (groupes fonctionnels isolés et combinés) en respectant un biovolume identique, ajusté en fonction des densités naturelles, pour chaque traitement. La combinaison des groupes fonctionnels de la communauté à *M. balthica* crée de plus forts effets sur les flux d'oxygène, de carbone organique dissous et de sels nutritifs, par rapport à ceux attendus, à partir de la simple addition des flux spécifiques de chaque groupe fonctionnel. Nous proposons que ces effets sont dus au partage de la nourriture, de l'espace et l'effet promoteur des activités d'irrigation sur de petites échelles spatiales. Notamment, les groupes fonctionnels qui utilisent et modifient différemment l'espace peuvent avoir d'importantes conséquences biogéochimiques. Afin d'approfondir notre compréhension sur les interactions, des mesures précises de profondeur d'enfouissement, de volume des structures biogènes et d'espace entre les structures des organismes, des mesures de taux de production des galeries devraient être déterminées.

Abstract

We have investigated the effects of interactions among functional groups of the *Macoma balthica* community in the St-Lawrence estuary on fluxes of oxygen, dissolved organic carbon, phosphate, ammonium and nitrate across the sediment-water interface. The functional diversity of the *M. balthica* community, which consists primarily of the biodiffusers *Macoma balthica* and *Mya arenaria* and the gallery-diffuser *Nereis virens*, was manipulated by combining different combinations of individual functional groups in sediment microcosms containing sieved tidal flat sediment. Each treatment was adjusted to similar biovolumes and in situ densities. Combinations of functional groups of the *Macoma balthica* community have a stronger effect on fluxes of oxygen, dissolved organic carbon, phosphate, ammonium and nitrate across the sediment-water interface than would be expected from simply adding the contributions of individual functional groups. We propose that the effects are related to food utilization and partitioning, spatial organization, and pore water irrigation on small spatial scales. Functional groups that use and modify sedimentary space differently can have important biogeochemical consequences. Measurements of the spatial scales on which the functional groups are distributed, the volumes occupied by their burrows, production rates of burrows, and the depths to which the organisms burrow should be determined in future studies in order to improve our understanding of functional interactions.

Introduction

Concern that erosion of biodiversity could affect biogeochemical fluxes in shallow marine ecosystems has prompted numerous studies of the role that benthic organisms play in processing organic matter and regenerating nutrients (e.g. Emmerson and Raffaelli, 2000; Emmerson *et al.*, 2001; Emmerson and Huxham, 2002; Raffaelli *et al.*, 2003; Waldbusser *et al.*, 2004; Mermillod-Blondin *et al.*, 2005; D'Andrea *et al.*, 2002; Widdicombe *et al.*, 2004). Interactions between benthic species, including the way community composition and density affect the strength and symmetry of the interactions (Hughes and Roughgarden, 2000), and the resulting biogeochemical consequences were examined by Cardinale *et al.*, 2002 and Mermillod-Blondin *et al.*, 2004, 2005.

Current ecological theory partitions diversity effects into complementary and sampling effects (Loreau and Hector, 2001; Loreau *et al.*, 2001). Complementary effects are due to facilitative interactions and resource use partitioning between species, whereas sampling effects occur when the rates observed can be explained by the presence of the most productive species or the species with dominant functional traits (keystone species; Lawton, 1991) in the entire species pool (Wardle, 1999; Loreau *et al.*, 2001). To understand how loss of biodiversity might alter the functioning of marine ecosystems, diversity has been manipulated experimentally by using species' gradients to study single species or assembled species from a common pool of taxa (Hector *et al.*, 2002).

A broad range of biomass (organism density) among experimental treatments are commonly used to study diversity effects (Emmerson and Raffaelli, 2000; Emmerson *et al.*, 2001, Raffaelli *et al.*, 2003). McGrady-Steel *et al.* (1997) and Raffaelli *et al.* (2003) used

production, respiration, population stability and nutrient fluxes as measures of the effects of species richness on ecological processes. Emmerson and Raffaelli (2000) found that species effects are biomass dependent and that declining species richness may lead to a reduction in positive interactions.

Other studies have employed additive density models (Raffaelli *et al.*, 2003; Mermillod-Blondin *et al.*, 2004; 2005; Karlson, 2005). Mermillod-Blondin *et al.* (2005) found that negative spatial interactions among species occurring in high densities could decrease the rates of biogeochemical processes. This study highlighted the dominant impact of burrowing and irrigation by *N. diversicolor* on biogeochemical processes; the activities of this worm were in effect hiding the activities of the other species of the community (*C. edule* and *C. volutator*). Solan and Kennedy (2000) also contend that bioturbation by high densities of *A. filiformis* masked the activity of other species present in sediments. Furthermore, Marinelli (1994) and Marinelli and Williams (2003) found that the behavior of *M. balthica* switched with increasing density with respect to ammonium and silicate fluxes.

The absence of a linear relationship between abundance or biomass of infauna and nutrient fluxes was often noted in these studies, which emphasized the importance of functional traits such as mode of bioturbation, depth of burrowing, and feeding behaviour (Christensen *et al.*, 2000, Raffaelli *et al.*, 2003, Solan *et al.*, 2004, Mermillod-Blondin *et al.*, 2005). Emmerson *et al.* (2001) showed that the dominant functional traits of various communities may contribute to idiosyncratic patterns of ecosystem function with increasing diversity. The spatial configuration and interactions between species are also important attributes affecting transport and reaction rates in sediments and thus nutrient fluxes. In diverse communities, different ecological strategies allow more organisms to coexist (Marinelli and Williams, 2003; Waldbusser *et al.*, 2004).

The function and the importance within ecosystems is not the same for all species, as emphasized in the keystone species model of Lawton (1991). It is therefore more appropriate, when designing experiments, to use functional groups (groups of species that have similar function for important ecological processes (Chapin *et al.*, 1992). These functions include trophic mode, mobility, size, morphology, sediment mixing mode (Aller, 1977, Fauchald and Jumars, 1979; Dauwe *et al.*, 1998; Francois, 1999). Functional diversity, as opposed to species diversity, can therefore be used to study the links between diversity and ecosystem functioning (Bengtsson, 1998; Hooper *et al.*, 2002).

The objectives of this study were to examine the interactions among functional groups of the *Macoma balthica* community in terms of the effects on fluxes of oxygen, dissolved organic carbon, phosphate, ammonium and nitrate across the sediment-water interface. The *M. balthica* community is widely distributed in the intertidal zones of the North Atlantic (Rosenberg, 2001). In the St Lawrence estuary, this community is characterized by a low number of species (Desrosiers et Brêthes, 1984). The three principal species belong to one of two bioturbation functional groups: the mollusks *M. balthica* (Mb) and *Mya arenaria* (Ma) are biodiffusers and the polychaete *Nereis virens* (Nv) belongs to the gallery-diffusers (Mermillod-Blondin *et al.*, 2003).

In previous studies we determined the effects of each individual bioturbation functional group on these fluxes (Michaud *et al.*, 2005, 2006). We normalized the experiments by using constant a biovolume in each treatment, adjusted to densities observed in nature. The biovolume represents the space occupied by organisms and thus the volume of sediment displaced during bioturbation. This static parameter is simple to measure and is well adapted to the study of bioturbation functional groups as it is based on particle displacement rather than biomass. The contribution of each functional group in the assemblage treatments to fluxes

can not be quantified (Raffaelli *et al.*, 2003), so we could not use Loreau and Hector's (2001) method for partitioning the effects of biodiversity into “complementarity” and “sampling” effects.

Material and methods

Sampling site

Sediment and animals were collected in August 2003 on a tidal flat in the “Baie des Ha! Ha!” on the south shore of the St Lawrence estuary, 30 km west of Rimouski, Québec, Canada (Michaud *et al.*, 2005). The tidal flat is sheltered and is oriented toward the northwest. Water temperatures vary between 0°C (winter) and 13°C (summer), and the salinity is nearly constant at 27. The sediment consists predominantly of muddy sand (60% mud, 30% sand) with 10% gravel, and the organic matter content is approximately 2%, measured as loss upon ignition (500°C).

Surface sediments were passed through a 1-mm mesh to remove macrofauna and larger particles. Specimens of *Macoma balthica* (15 ± 5 mm length), *Mya arenaria* (30 ± 10 mm length) and *Nereis virens* (60 ± 10 mm length) were collected at the same time.

Microcosms

After sieving, sediment was homogenised and added to the microcosms to achieve a sediment depth of 15 cm in PVC core tubes (17 cm long, 10 cm i. d.), overlaid by 2 cm of seawater. The microcosms were placed in a thermostated room at the average summer temperature for the region ($12 \pm 0.5^\circ\text{C}$) with a 12h light/ 12h dark photoperiod. The overlying

water of each microcosm was renewed continuously with water from the St-Lawrence estuary (Salinity = 27, temperature = $12 \pm 1^\circ\text{C}$). The water flow was kept low to avoid resuspending the sediment. The animals were acclimatized in separate tanks for 12 days before introducing them into the microcosms. The animals were not fed during the experiment, because we considered that there was sufficient food in the sediment and in the seawater coming from the St Lawrence estuary during the experiment.

Experimental design

The experimental design consisted of eight treatments with three microcosms per treatment (total of 24 microcosms):

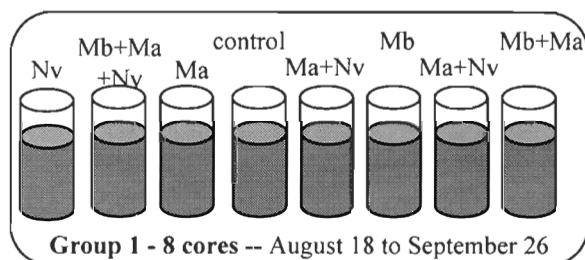
- (1) control without macrofauna;
- (2) 24 individuals of *M. balthica* (Mb) (individual biovolume = 0.5 ± 0.1 mL per individual; total biovolume = 12 ± 1.2 mL);
- (3) 6 individuals of *M. arenaria* (Ma) (individual biovolume = 2 ± 0.2 mL per individual; total biovolume = $12 \text{ mL} \pm 2.4 \text{ mL}$);
- (4) 12 *Nereis virens* (Nv) (individual biovolume = 1 ± 0.2 mL per individual; total biovolume = 12 ± 2.4 mL);
- (5) 12Mb+3Ma (Mb individual biovolume = 0.5 ± 0.1 mL per individual; Ma individual biovolume = 2 ± 0.2 mL per individual, total biovolume = 12 ± 1.2 mL);
- (6) 12Mb+6Nv (Mb individual biovolume = 0.5 ± 0.1 mL per individual; Nv individual biovolume = 1 ± 0.2 mL per individual, total biovolume = 12 ± 1.2 mL);
- (7) 3Ma+6Nv (Ma individual biovolume = 2 ± 0.2 mL per individual; Nv individual biovolume = 1 ± 0.2 mL per individual, total biovolume = 12 ± 1.2 mL)

- (8) 6Mb+2Ma+4Nv (Mb individual biovolume = 0.5 ± 0.1 mL per individual; Ma individual biovolume = 2 ± 0.2 mL per individual; Nv individual biovolume = 1 ± 0.2 mL per individual, total biovolume = 12 ± 1.2 mL)

All treatments employed similar biovolumes, comparable to *in situ* densities, in order to facilitate comparisons between treatments (Michaud *et al.*, 2005). After they were introduced into the microcosms, *Nereis* and *Macoma* burrowed more rapidly (<10 min and <30 min, respectively) than *M. arenaria* (<4h) into the sediment. 24 experimental microcosms were randomly distributed in 3 groups of 8 microcosms (Figure III-1). Each group was settled with an interval of three days, and the experiment of each group lasted 39 days (Figure III-1). The complete experiment lasted from August 18 to October 2, 2003.

Flux measurements

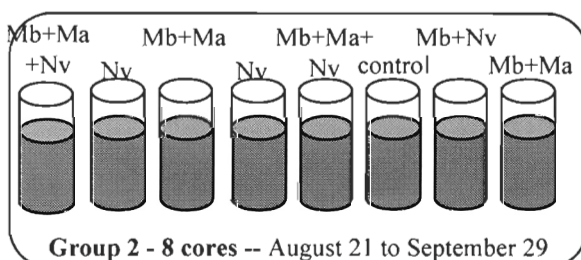
The flow of water to the microcosms was stopped before beginning a flux measurement. These measurements were carried out during the dark phase. The microcosms, each enclosing a water column of 2 cm (157 mL), were sealed with Plexiglas® lids and connected to an inflatable reservoir filled with seawater. This reservoir was used to replace the water that was sampled for flux analyses (Michaud *et al.*, 2005, 2006). The water column in each core was not stirred to avoid disturbing the sediment surface. Tests using fluorescein dye as a tracer of water showed that the 2 cm water column was completely mixed during the sampling procedure. The combination of removing and replacing water sufficed to mix the water column. To avoid artifacts to low oxygen levels, the incubation time was limited to 2 hours, which ensured less than 20% oxygen depletion (Hall *et al.*, 1996). Sampling for O₂, DOC and nutrients was as described in Michaud *et al.* (2005, 2006). During each flux measurement, water samples were collected at 30 minute intervals (0h, 0.5h, 1h, 1.5h, and 2h).



For each group of cores, 4 flux measurements were made at 4 different dates :

Day 12: 1st oxygen flux measurements

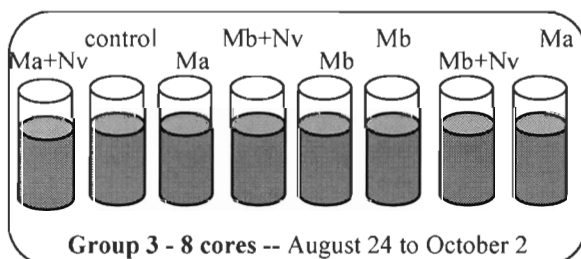
Day 13: 1st DOC and nutrients flux measurements



Day 14: organisms introduction

Day 20: 2nd oxygen flux measurements

Day 21: 2nd DOC and nutrients flux measurements



Day 28: 3rd oxygen flux measurements

Day 29: 3rd DOC and nutrients flux measurements

Day 36 : 4th oxygen flux measurements

Day 37: 4th DOC and nutrients flux measurements

Figure III-1: Experimental design and time table. Replicates of each treatment were randomly distributed in 3 groups of 8 microcosms. Each group was settled with an interval of three days, and the experiment lasted 39 days for each group. The entire experiment lasted from August 18 to October 2 2003.

The flux measurements were made in the dark to exclude the influence of photosynthetic organisms. Fluxes were calculated from the slopes of the linear regressions of oxygen, DOC and nutrient concentrations against time. A correction for the composition of the reservoir water that replaced each sample was applied systematically. The first flux measurements were made on day 12 for oxygen and on day 13 for nutrients and DOC (in separate incubations) before adding organisms to the microcosms. The subsequent O₂ measurements were made on days 20, 28 and 36 of the experiment whereas the subsequent nutrients and DOC measurements were made on days 21, 29, and 37 in separate incubations (Figure III-1).

Sediment properties

Total organic matter, organic carbon and nitrogen, and chlorophyll *a* concentrations were determined on the freshly sieved sediment before the experiment started and on surface sediment from all microcosms after the experiment was completed. The organic matter content (OM) was determined as loss upon ignition at 500°C for 12 h. Particulate organic carbon (POC) and particulate organic nitrogen (PON) were determined with a Perkin Elmer 2400 CHN elemental analyser. Chlorophyll *a* (chl *a*) was measured according to Riaux-Gobin and Klein (1993).

Statistical analysis

A 1-way analysis of variance was applied to the fluxes of oxygen, inorganic nutrients and DOC of all microcosms, measured before the animals were introduced into the microcosms on day 12. After day 12, the influences of time and treatment on benthic fluxes were tested with a 1-way repeated analysis of variance, using time as the repeated factor and treatment as the main factor. The organic matter concentrations, C/N ratios and chl *a* contents

were compared among treatments with a 1-way analysis of variance, using treatment as the main factor. Tuckey *post hoc* tests were carried out to determine differences among treatments and date of measurement. The homogeneity of variances among treatments was verified with the Bartlett test (Zar, 1998). Principal component analysis (PCA) were also realized, using the Primer version 5 software (@copyright 2001 PRIMER-E Ltd), with the fluxes as variables and the functional treatments as observations, to see how functional treatments are separated relative to factors related to solute fluxes.

Extent and significance of interaction among different functional groups

The effects of interactions on fluxes were estimated by comparing the observed fluxes with the fluxes one would have expected in the absence of interactions. The latter were estimated by simply adding the fluxes determined in the allopatric treatments (as in Raffaelli *et al.*, 2003), adjusted for the relative abundance of the species making up the assemblage. Differences between observed and predicted fluxes were tested with Student's t-test. Net diversity effect on benthic fluxes was expressed as the ratio between expected and measured fluxes (Cardinale *et al.*, 2002).

Effects of species diversity and functional group diversity on benthic fluxes

Each benthic flux was plotted against species and functional diversity at each date of the measurement. Species diversity was represented by the number of each species contained in each treatment (0, 1, 2, 3 species), and functional diversity by the number of functional groups in a treatment (0, 1, 2 functional groups). After verification of normality and variance homogeneity, linear regressions were used to determine if species and/or functional diversity

influenced benthic fluxes significantly. Significance of linear regression coefficients and slopes were tested by Fisher-Snedecor and Student's t-tests, respectively (Zar, 1998).

Results

Sediment properties

The measurements of sedimentary organic matter, POC, PON, and *chl a*, and the C/N ratio at the beginning of the experiment and in the top layer of the sediment at the end of the experiment are given in Table III-1. In the control microcosms, all the parameters increased during the experiment, but the increases were not significant (Student's t-test, $p > 0.05$). Likewise, none of the measured parameters in the treatments were significantly different from the control (1-way analyses of variance, $p > 0.05$ for the four variables) (Table III-2).

Benthic fluxes

Fluxes of dissolved oxygen, nutrients and DOC measured on days 12 and 13, immediately before introducing the organism, were comparable in the 24 microcosms (1-way analysis of variance, $p > 0.05$). Benthic fluxes at later dates are presented in figures III-2 and 3. Repeated variance analysis showed that, with the exception of nitrate fluxes, all other fluxes evolved significantly over the duration of the experiment (Table III-3). Fluxes measured on day 20 (21) were different from fluxes measured on days 28 (29) and 36 (37) (HSD Tuckey test, $p < 0.05$). The fluxes were significantly different among treatments (Table III-3). Repeated variance analysis also showed significant statistical interactions between treatments and time

Table III-1: Loss on ignition (LOI), particulate organic carbon (POC) and nitrogen (PON), molecular C/N ratio, and chl *a* in freshly sieved sediment at the beginning of the experiment and in the surface layer of the microcosms (control, *M. balthica* (Mb), *M. arenaria* (Ma), *N. virens* (Nv), Mb+Ma, Mb+Nv, Ma+Nv, Mb+Ma+Nv) at the end of the experiment (means $\pm$ SD, n = 3).

Treatment	LOI (%)	POC ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{DW}$)	PON ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{DW}$)	C/N ratio	Chl <i>a</i> ($\mu\text{g g}^{-1}\text{DW}$)
Beginning					
Freshly sieved sediment	1.88 $\pm$ 0.16	182 $\pm$ 17	19.9 $\pm$ 2.5	9.2 $\pm$ 1.6	13.8 $\pm$ 1.0
End					
Control	1.91 $\pm$ 0.30	325 $\pm$ 125	29.9 $\pm$ 5.9	10.6 $\pm$ 2.1	14.6 $\pm$ 1.8
<i>M. balthica</i>	1.86 $\pm$ 0.28	237 $\pm$ 59	14.5 $\pm$ 8.0	20.8 $\pm$ 12.1	12.0 $\pm$ 2.7
<i>M. arenaria</i>	1.80 $\pm$ 0.14	255 $\pm$ 64	20.8 $\pm$ 7.8	12.9 $\pm$ 3.3	13.5 $\pm$ 0.6
<i>N. virens</i>	1.99 $\pm$ 0.05	295 $\pm$ 72	31.0 $\pm$ 7.6	9.9 $\pm$ 3.1	10.2 $\pm$ 3.1
<i>Mb+Ma</i>	2.09 $\pm$ 0.16	263 $\pm$ 83	19.5 $\pm$ 12.4	17.4 $\pm$ 11.4	13.3 $\pm$ 0.4
<i>Mb+Nv</i>	1.76 $\pm$ 0.15	225 $\pm$ 20	9.4 $\pm$ 1.1	24.1 $\pm$ 5.1	10.2 $\pm$ 0.9
<i>Ma+Nv</i>	1.85 $\pm$ 0.15	258 $\pm$ 19	17.6 $\pm$ 1.3	14.7 $\pm$ 1.6	14.4 $\pm$ 1.3
<i>Mb+Ma+Nv</i>	1.90 $\pm$ 0.18	215 $\pm$ 8	15.4 $\pm$ 4.4	14.7 $\pm$ 4.3	12.8 $\pm$ 1.1

Table III-2 : Results of one-way analysis of variance on sediment properties at the end of the experiment using treatment (control, *M. Balthica* (Mb), *M. Arenaria* (Ma), *N. Virens* (Nv), Mb+Ma, Mb+Nv, and Ma+Nv, Mb+Ma+Nv) as fixed factor.

Sediment properties	F (7,15)	P level
OM	0.67	0.69
POC	0.77	0.62
PON	2.83	0.05
C/N ratio	1.37	0.28
Chl <i>a</i>	2.41	0.07

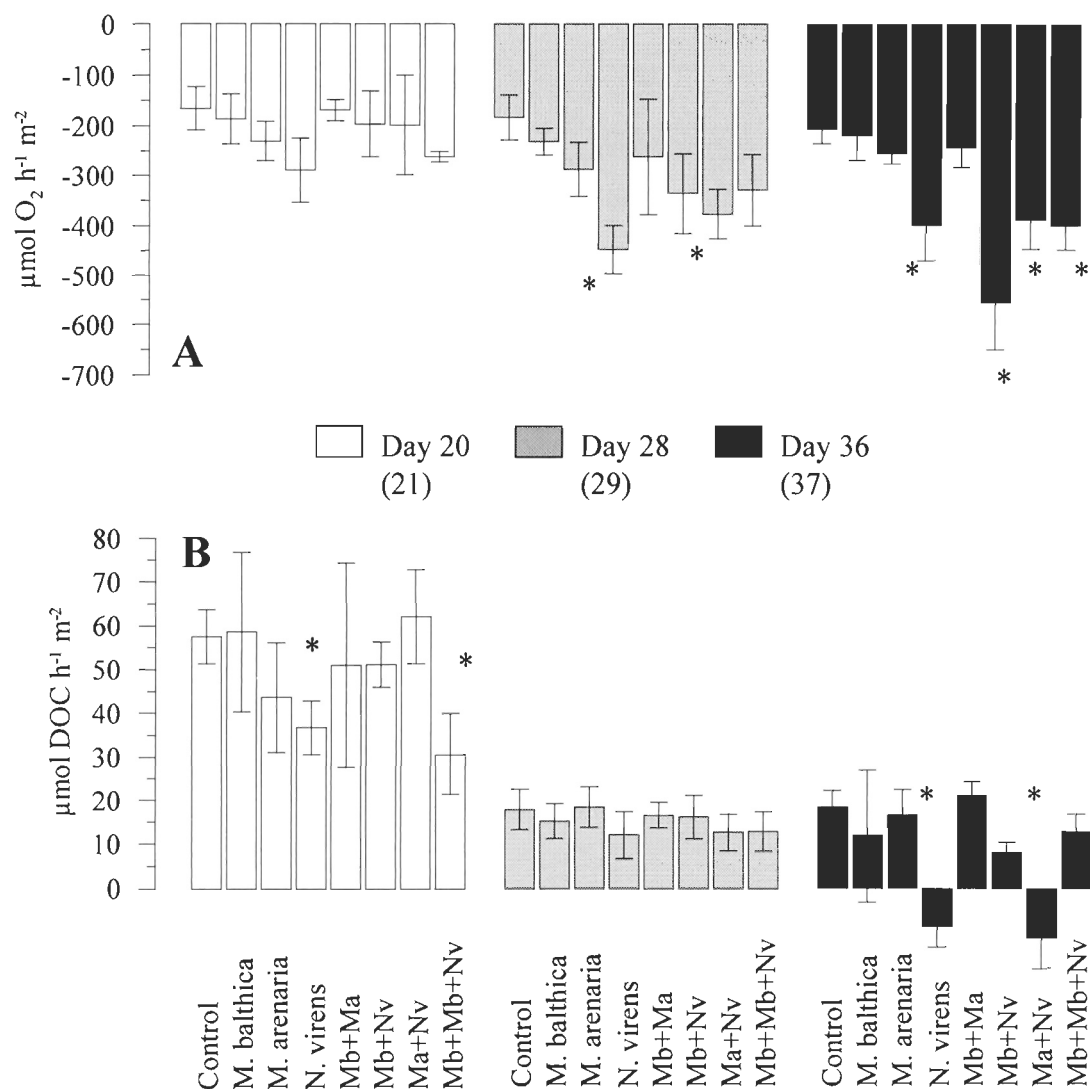


Figure III-2: Fluxes of (A) Oxygen (O_2) and (B) Dissolved Organic Carbon (DOC) across the sediment-water interface for the eight treatments (control, *M. balthica* (Mb), *M. arenaria* (Ma), *N. virens* (Nv), Mb+Ma, Mb+Nv, Ma+Nv, Mb+Ma+Nv) on days 20 (21), 28 (29) and 36 (37) of the experiment for the O_2 and DOC measurements respectively. Fluxes are given as mean of $\pm$ SD of 3 microcosms. * indicates treatments that differed significantly from control ($p < 0.05$).

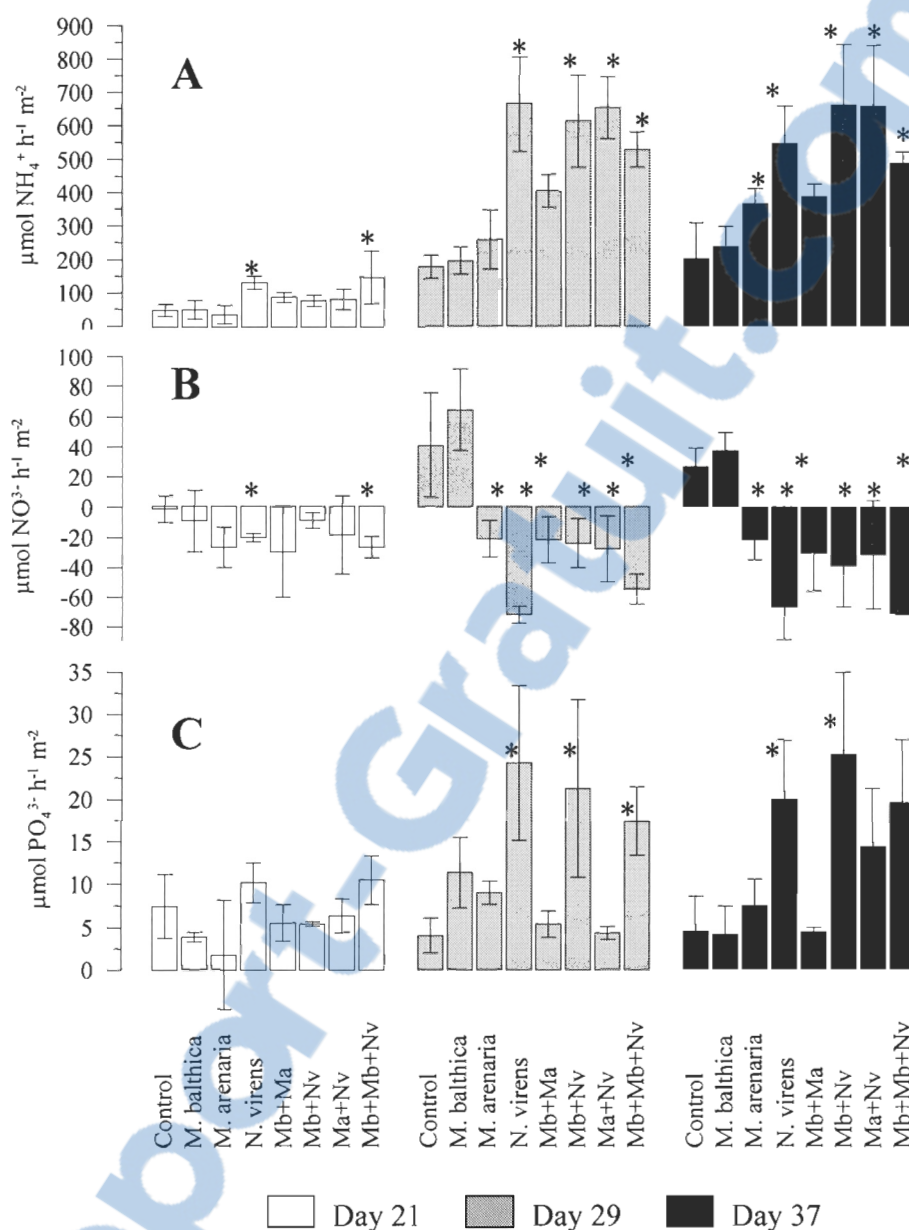


Figure III-3: Fluxes of (A) Ammonium (NH_4^+), (B) Nitrate (NO_3^-) and (C) Phosphate (PO_4^{3-}), across the sediment-water interface for the eight treatments (control, *M. balthica* (Mb), *M. arenaria* (Ma), *N. virens* (Nv), Mb+Ma, Mb+Nv, Ma+Nv, Mb+Ma+Nv) on days 21, 29 and 37 of the experiment. Rates are given as mean of $\pm$ SD of 3 microcosms. * indicates treatments that differed significantly from control ($p < 0.05$).

Table III-3: Results of 1-way repeated analysis of variance using time as repeated factor and treatment (control, *Macoma balthica* (Mb), *Mya arenaria* (Ma), and *Nereis virens* (Nv), (Mb+Ma), (Mb+Nv), (Ma+Nv), and (Mb+Ma+Nv)) as fixed factor. * indicates significant results (*p < 0.05).

Parameter	Treatment		Time		Interaction	
	<i>F</i> (7,16)	<i>p</i>	<i>F</i> (2,32)	<i>p</i>	<i>F</i> (14,32)	<i>p</i>
O ₂	27.10	*0.0001	22.04	*0.0001	2.64	*0.01
NH ₄ ⁺	22.20	*0.0001	108.66	*0.0001	3.50	*0.002
NO ₃ ⁻	19.47	*0.0001	2.05	0.15	4.42	*0.0005
PO ₄ ³⁻	9.64	*0.0001	7.35	*0.003	2.10	0.05
DOC	3.73	*0.015	175.96	*0.0001	3.34	*0.0027

for all the fluxes (Table III-3), indicating that differences between treatments varied with time except for phosphate fluxes.

Because of these differences, the fluxes were compared for the three dates separately using a 1-way ANOVA for each date. All treatments tended to increase the oxygen flux to the sediment compared to the control (Figure III-2a), but only *N. virens* alone and in combination (Mb+Nv, Ma+Nv and Mb+Ma+Nv) increased the oxygen flux significantly on day 28 ($F_{7,16}=1.92$, $p=0.004$) and 36 ($F_{7,16}=14.42$, $p<0.001$) (HSD Tuckey tests, $p<0.05$) (Michaud *et al.*, 2005). DOC effluxes were lower in microcosms with animals than in the controls, suggesting a possible consumption of DOC by the animals. However, significant differences between DOC fluxes in treatments and control were only observed in treatments with *N. virens* alone, Mb+Ma+Nv, and Nv+Ma on days 21 and 37 ($F_{7,16}=17.85$, $p<0.001$; HSD Tuckey tests, $p<0.05$) (figure III-2b). The ammonium effluxes were higher in the presence of animals than in the control from day 21 onwards. The highest fluxes were for treatments containing *N.virens* alone and all three species (Mb+Ma+Nv) ($F_{7,16}=3.85$, $p=0.01$; HSD Tuckey tests, $p<0.05$). On the two last days, the fluxes were increased by *N. virens* alone and in combination (Mb+Nv), (Ma+Nv) and (Mb+Ma+Nv) (day 29: $F_{7,16}=10.02$, $p=0.0003$; day 37: 1-way ANOVA, $F_{7,16}=7.42$, $p=0.0004$, HSD Tuckey tests, $p<0.05$) (figure III-3a). *M. balthica* did not affect the nitrate flux, but the other treatments increased the flux of nitrate into the sediment significantly on day 29 ($F_{7,16}=15.96$, $p=0.0004$) and day 37 (1-way ANOVA, $F_{7,16}=8.83$, $p=0.0004$) (HSD Tuckey tests, $p<0.05$) (figure III-3b). The gallery-diffuser increased the efflux of phosphate with the highest values on days 29 and 37 for treatments containing *N.virens* alone and *N.virens* combined with *M. balthica* (day 29: $F_{7,15}=5.74$, $p=0.002$; day 37: $F_{7,15}=5.25$, $p=0.003$; HSD Tuckey tests, $p<0.05$).

Principal component analysis (figure III-4) show that all functional treatments containing the gallery-diffuser (*N. virens*) are separated to treatments containing biodiffusers alone and in combination on the first axis (PC1, 70% of variance).

Interactive effects among species and functional groups on benthic fluxes

Figures III-5 and 6 present measured and predicted fluxes of O_2 , DOC, PO_4^{3-} , NH_4^+ and NO_3^- , for each treatment and time. We observed interactive effects by the two biodiffusers, *M. balthica* and *M. arenaria*, on the two last periods of the experiment only for the nitrate flux to the sediment. These fluxes were higher than predicted values by 200% to 489% ($t_{(Mb+Ma)} > 2.56$). The assemblage containing *M. arenaria* and *N. virens* had significant effects on all fluxes excepting PO_4^{3-} , but interactive effects between *M. arenaria* and *N. virens* were only observed for ammonium fluxes on day 29 and for DOC fluxes on day 37. The flux of ammonium from the sediment was 41% ($t_{(Ma+Nv)} > 3.01$) higher than the predicted value. The flux of DOC was directed into the sediment whereas a DOC flux out of the sediment had been predicted ($t_{(Ma+Nv)} > 3.55$). The combination of *M. balthica* with *N. virens* lead to several positive interactive effects on oxygen uptake, ammonium efflux, and phosphate effluxes with factors of 79% ($t_{(Mb+ Nv)} > 2.28$), +68% ($t_{(Mb+ Nv)} > 2.45$) and +109% ($t_{(Mb+ Nv)} > 2.87$), respectively. When all functional groups are present (Mb+Ma+Nv), positive interactive effects reduced the DOC flux on day 21 by 34%, compared to the predicted values ($t_{(Mb+ Ma+ Nv)} > 2.68$), and produced a higher oxygen uptake than predicted (+37%) on day 36 ($t_{(Mb+ Ma+ Nv)} > 3.75$). Measured ammonium effluxes and nitrate influxes on the two last days of the experiment were also higher than predicted by factors of +42% ($t_{(Mb+ Ma+ Nv)} > 4.36$) to +27% ($t_{(Mb+ Ma+ Nv)} > 4.22$) for ammonium, and +470% ($t_{(Mb+ Ma+ Nv)} > 6.77$) to +316% ($t_{(Mb+ Ma+ Nv)} > 17.09$) for nitrate.

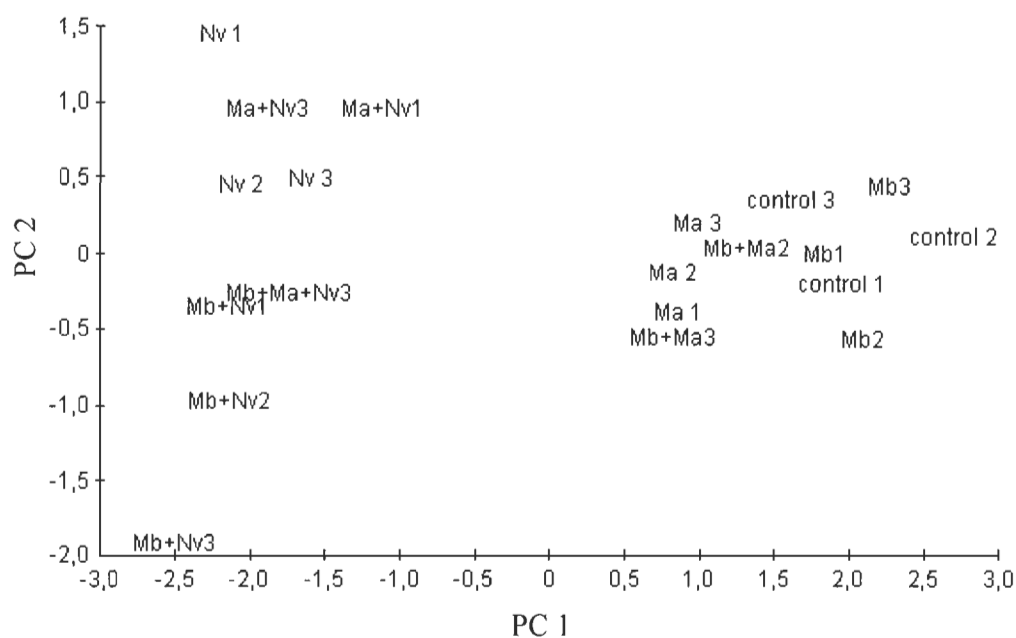


Figure III-4: Position of the functional assemblages on the two first axis of PCA. The first and the second axis explain respectively 70% and 10% of the variance. Functional assemblages containing the gallery-diffuser alone and in combination with the biodiffusers have distinct effects on fluxes relative to treatments containing biodiffusers alone and combined.

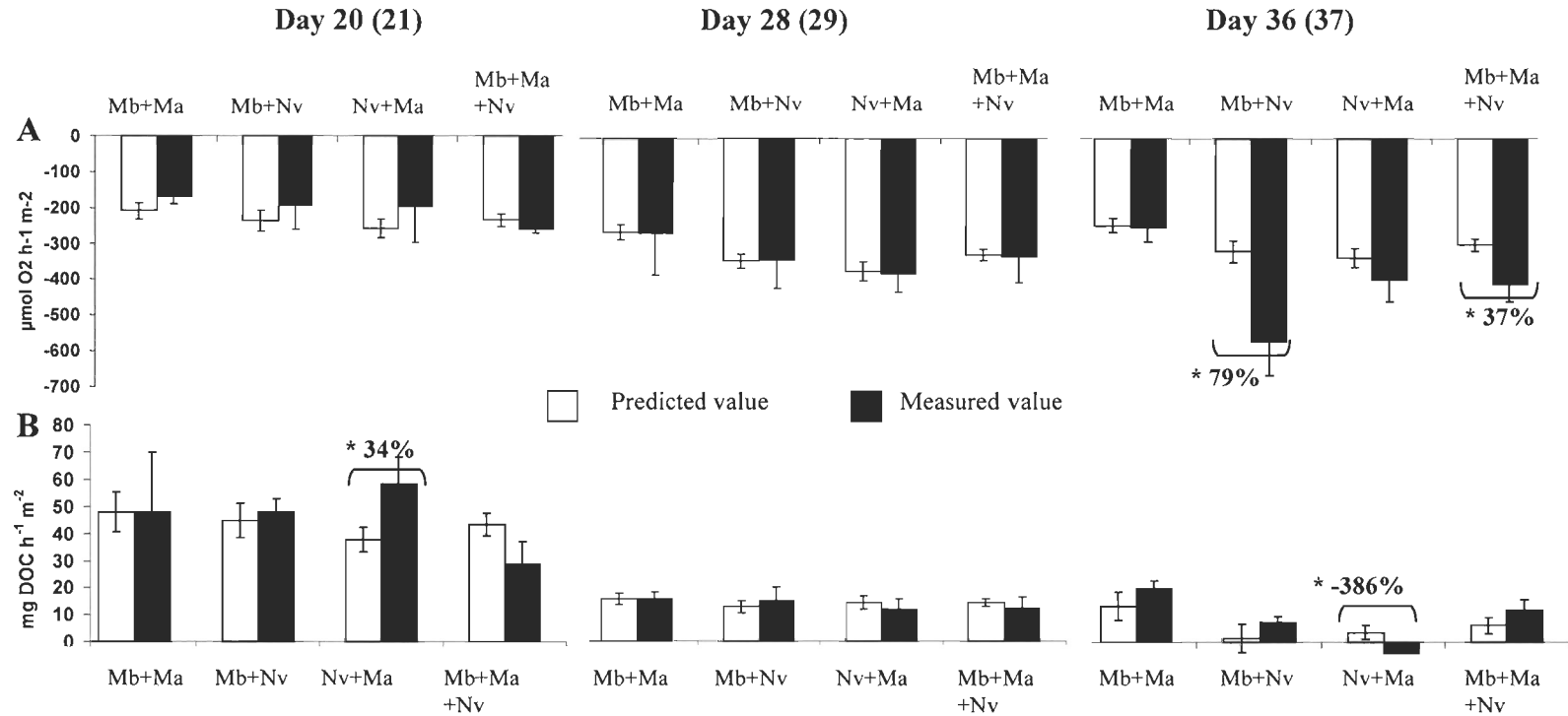


Figure III-5: Comparisons between the measured and the predicted O₂ fluxes (A), and between the measured and the predicted DOC fluxes (B), across the sediment-water interface, for the four assemblage treatments (Mb+Ma, Mb+Nv, Ma+Nv, Mb+Ma+Nv) on days 20 (21), 28 (29) and 36 (37) of the experiment. Rates are given as mean of $\pm$ SD of 3 microcosms. * indicates measured fluxes that differ significantly from predicted fluxes.

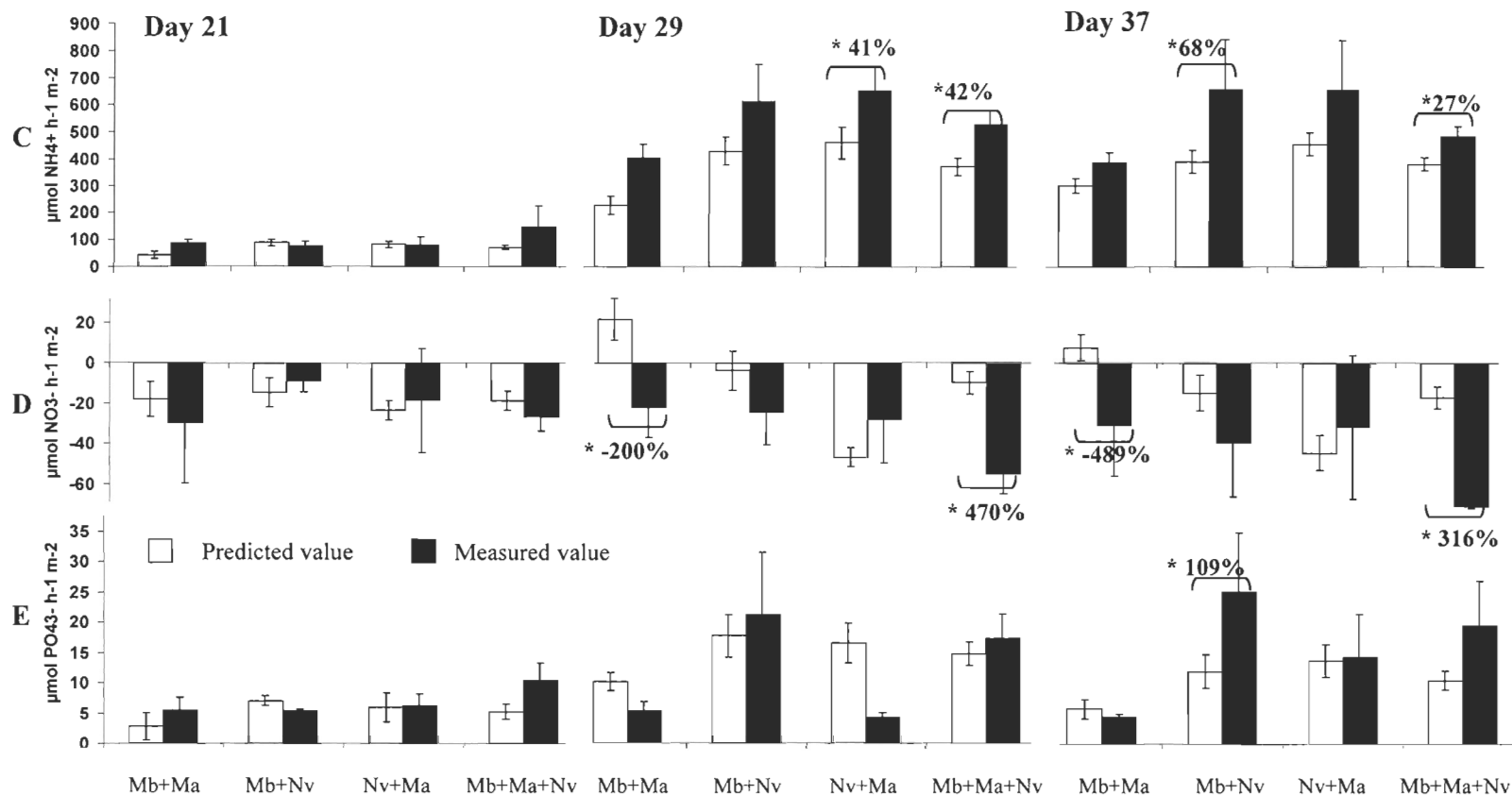


Figure III-6: Comparisons between the measured and the predicted NH_4^+ fluxes (C), between the measured and the predicted NO_3^- fluxes (D), and between the measured and the predicted PO_4^{3-} fluxes (E) across the sediment-water interface, for the four assemblage treatments (Mb+Ma, Mb+Nv, Ma+Nv, Mb+Ma+Nv) on days 21, 29 and 37 of the experiment. Rates are given as mean of $\pm$ SD of 3 microcosms. * indicates measured fluxes that differ significantly from predicted fluxes.

Other fluxes could be explained by simple additive effects without significant influences of the interactions.

Effects of species and functional diversity on benthic fluxes

The effects of species diversity (SD) and functional diversity (FD) on DOC, oxygen, NH_4^+ , NO_3^- and PO_4^{3-} fluxes were measured, and the effects of diversity on oxygen fluxes over time are illustrated in Figure III-7. Diversity had no effect of on DOC fluxes ($F < 4.3$, $p < 0.05$). Oxygen uptake, nitrate consumption, ammonium and phosphate releases tended to increase linearly with increasing species and functional diversity. Linear regression between diversity and fluxes were significant on the two last days of the measurements ($F > 4.3$, $p < 0.05$) (Figure III-7 for example). The effects of functional diversity seemed to be greater than the effects of species diversity on O_2 , NH_4^+ and PO_4^{3-} fluxes, as indicated by differences in regression coefficients and slopes. The nitrate flux was an exception, with similar effects of species and functional diversity. Statistical tests showed however that the slopes were not significantly different for species and functional group diversity, nor for time (Student's t-tests, $p < 0.05$).

Discussion

Experimental design

Our experimental design required that the sediment used in the microcosms be sieved and homogenized before use. While this was essential for reducing inter-microcosm variability, the resulting sediment column lacked the vertically decreasing gradient in

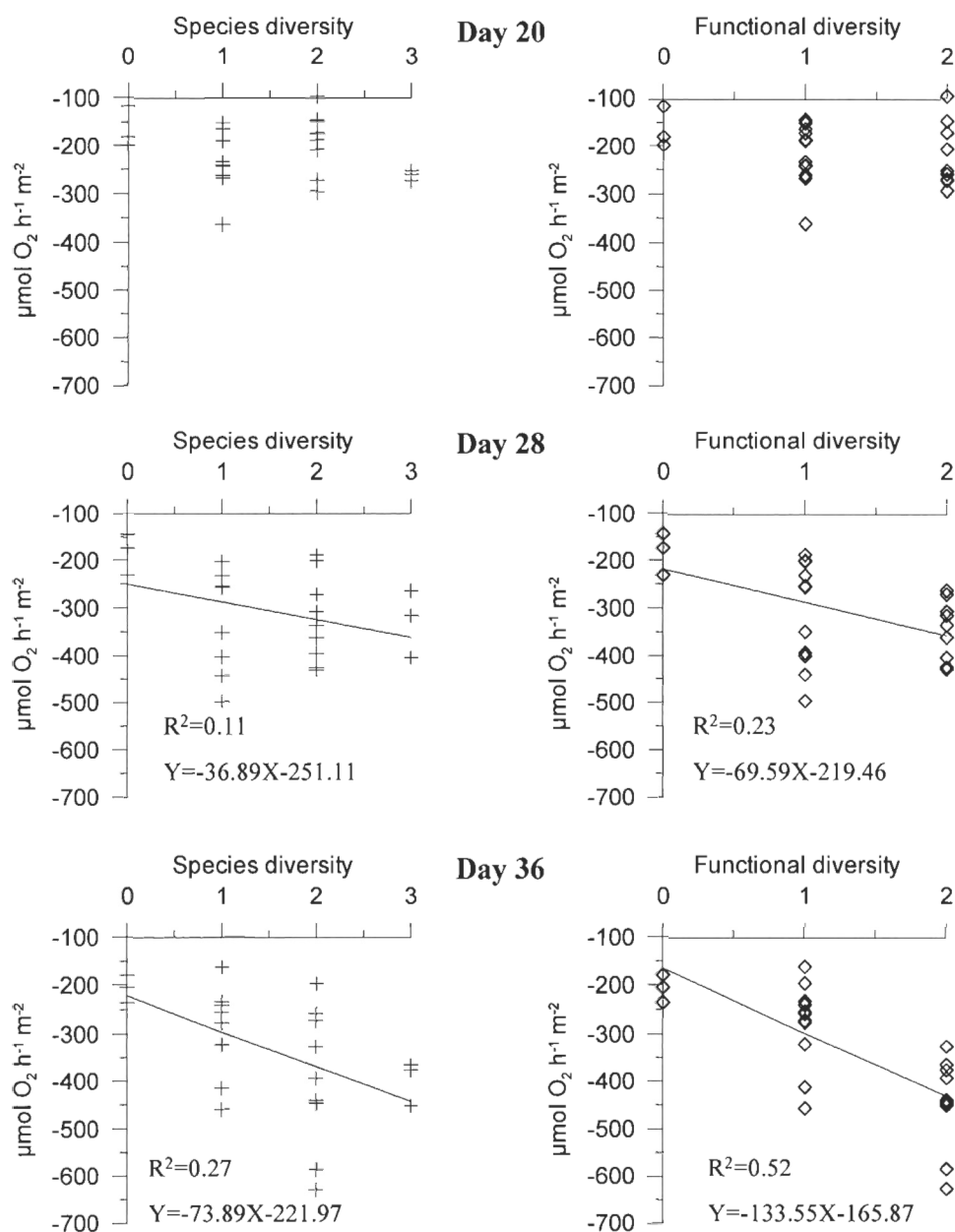


Figure III-7: Effects of species diversity and functional diversity on oxygen uptake over the duration of the experiment (days 20, 28, and 36). Only significant regression coefficients and significant slopes are indicated on the graphs ($p < 0.05$).

concentration and reactivity of organic matter that one typically finds *in situ* (Aller, 1978). Bacterial remineralization rates would therefore have been approximately constant over the depth of the microcosms rather than decreasing with depth. In consequence, the relative effect of deep burrows on fluxes might have been greater than under typical *in-situ* conditions. This limitation of our experiment should be kept in mind when considering the absolute values of the observed fluxes.

Influence of microphytobenthos

The experimental protocol included a 12H-dark /12H-light photo cycle, and the flux measurements were made during the dark phase in order to minimize the influence of photosynthesis on fluxes. Oxygen production and additional supply of oxidants to the surface sediment by benthic microalgae during the light period may modify redox reactions in sediments and indirectly affect rates and speciation of measured benthic fluxes (Sundback *et al.*, 1991). Eyre and Fergusson (2005) supposed that photosynthetic processes may contribute to increase the organic labile components during the dark phase by algal excretion. We found no significant difference in the concentration of *chlorophyll a*, a pigment usually indicating microphytobenthic biomass, among the treatments. Therefore we did not take into account the potential influence of microphytobenthos on measured fluxes. Simultaneous measurements during dark and light phases would be required to quantify the influence of benthic microalgae on nutrient fluxes.

Functional diversity versus species diversity

The weak or non-significant correlation we observed between fluxes and species diversity confirms previous observations that each species can not be treated as equivalent and

does not have identical effects on sediment processes (Emmerson *et al.*, 2001; Raffaelli *et al.*, 2003). Michaud *et al.* (2005, 2006) showed that biodiffuser and gallery-diffuser do not have identical effects on fluxes of oxygen, DOC and nutrients. Gallery-diffusers increase the fluxes of oxygen and nutrients by factors of 2 and 3, respectively, over biodiffusers, other conditions being the same. Feedbacks between gallery-diffusers and sediment likely alter such characteristics of the sediment as micro and meiofauna activities, chemical reactions and solute transport. By testing assemblages of functional groups, the present study shows that increasing functional diversity may affect oxygen and nutrient fluxes significantly. This observation can be related to interactions among functional groups (Cardinale *et al.*, 2002). Interactions were strongest in the assemblages containing both gallery-diffuser and biodiffusers.

Effects and mechanisms of functional interactions

It is not obvious how functional groups of organisms interact to increase fluxes at the sediment-water interface, i.e. why the total flux is not simply the weighted sum of the fluxes generated when single groups occupy the microcosms. One can imagine a number of factors acting alone or in combination to stimulate fluxes, including interactions among different feeding strategies and partitioning of food, the spatial organization of the community, the range of depths occupied, stimulation of the microbial community, and irrigation activities.

Feeding strategies and partitioning of food

Because biodiffusers and gallery-diffuser use food differently (e.g. suspensivore and/or surface-subsurface depositivore modes) the competition for food is mitigated. This one

probably favours the partitioning of food resources in sediments thus leading to positive effects of interactions on fluxes as Hooper *et al.* (2002) observed.

Recent studies have also shown that the grazing pressure by *M. balthica* may impact microbenthos distributions, meiofauna assemblages, and ammonia fluxes (Marinelli *et al.*, 2003; Olafsson *et al.*, 2005). We did not observe significant variations in the pigment concentrations at the sediment surface among the treatments, which suggests that intensity of grazing pressure among the treatment was not significant.

Macoma and *Nereis* faeces may contribute directly to ammonia excretion (Henriksen *et al.*, 1983), and they may also contribute to increasing the enrichment of micro and meiofauna communities in sediment layers inhabited by biodiffusers and gallery-diffusers (Reise, 1983a; Kristensen, 2000). We can not exclude this possibility since we did not make excretion rates measurements. The foraging and storing of food by *N. virens* (Deschênes *et al.*, 2005) may also stimulate micro-and meiobenthic activity in deeper sediment layers. Modifications of the sediment topography, caused by various functional groups doing burrow construction, may increase exchange rates and facilitate fluxes across the sediment-water interface (Roy *et al.*, 2000, 2002; Huettel *et al.*, 2003).

Spatial organization among functional groups

The use of constant biovolume in this experiments assured that the total volume of the space occupied by the organisms in the different treatments did not differ. Nevertheless, the number of organisms and the spatial distribution of the volume they occupied would vary. For example, when *M. balthica* and *N. virens* are combined (12Mb+6Nv), the 6 *N. virens* (6×1 mL.ind⁻¹) are likely to have more space available to them in the deep layers than the 12 *N.*

virens ($12 \times 1 \text{ mL.ind}^{-1}$) in the corresponding single species treatment. There is thus less competition for space at the level occupied by *N. virens*. Since space partition, shape and length of *Nereis* burrows are density dependent (Miron *et al.*, 1991), fewer animals might create greater and deeper burrows with more branches and openings. At lower densities, burrows are U-shaped and double the volume occupied, contrasting with the L and Y-shaped tubes found at higher densities (Miron *et al.*, 1991). The absence of negative interaction effects on fluxes in our results indicate an absence of competitive effects suggesting that spatial accommodation among the two functional groups did occur. This was likely also the case in the other functional assemblages when 3 *M. arenaria* ($3 \times 2 \text{ mL.ind}^{-1}$) were combined with 6 *N. virens* ($6 \times 1 \text{ mL.ind}^{-1}$), and when 8 *M. balthica* ($8 \times 0.5 \text{ mL.ind}^{-1}$) were combined with 2 *M. arenaria* ($2 \times 2 \text{ mL.ind}^{-1}$) and 4 *N. virens* ($4 \times 1 \text{ mL.ind}^{-1}$). Alteration of the spatial configuration could thus affect the total surface area of the burrows and the diffusion characteristics between solutes, hence the flux between the sediment and irrigated burrows, and therefore ultimately the fluxes across the sediment-water interface (Figure III-8). Marinelli (1994) and Aller and Aller (1998) moreover found respectively that (i) organisms can modify the barrier to solute diffusion offered by tube aggregations and that (ii) burrow spacing modifies the scale of diffusion and alters the net production of metabolites such as NH_4^+ . In their side, Gilbert *et al.* (2003) demonstrated a dependence between the rates of N remineralization and the balance between stimulation/inhibition of denitrification with sedimentary biogenic structures and the particular geometries of irrigated burrow distributions. They determined an optimal length between burrows that is appropriate for the denitrification stimulation. Small changes in the thickness of adjacent oxic-anoxic zones around burrows are determinant factors for sedimentary nitrification and denitrification. We did not make

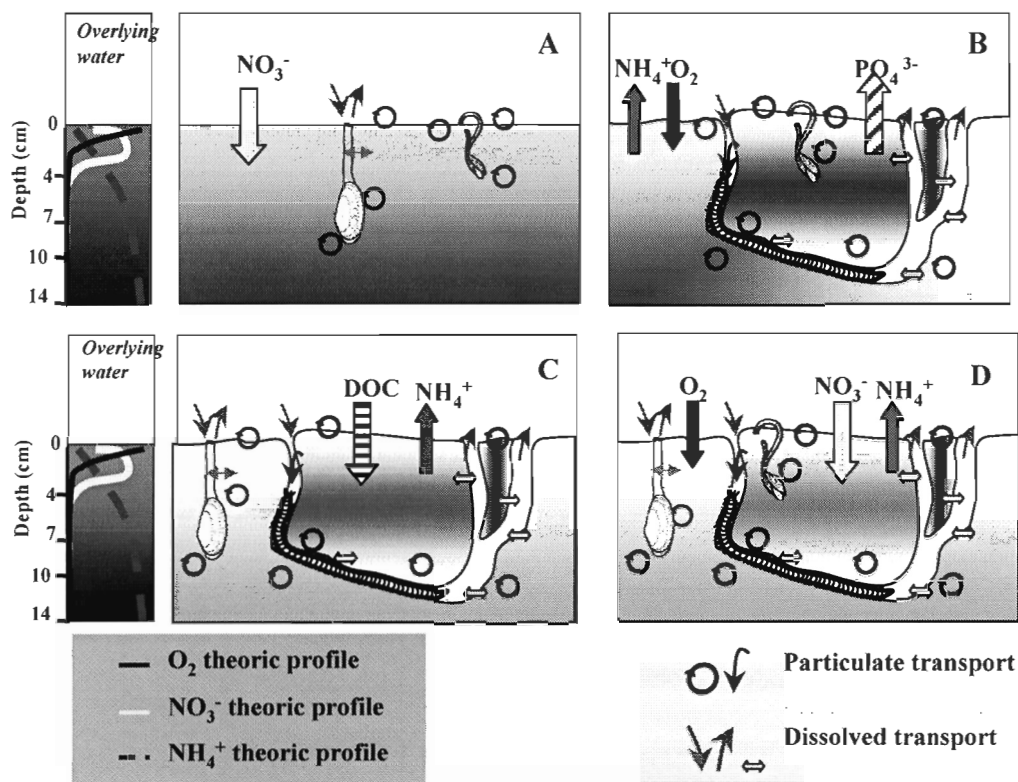


Figure III-8: Sketches of the qualitative effects of interactions among functional assemblages (A: *M. balthica* + *M. arenaria*; B: *M. balthica* + *N. virens*; C: *M. arenaria* + *N. virens*; D: *M. balthica* + *M. arenaria* + *N. virens*) on benthic fluxes. The direction of open arrows indicate direction of measured fluxes and the arrow size is proportional to the component of the flux attributed to interactions. Burrowing depth of each functional group in the assemblage treatments mediated theoretical representation of the oxygen and nutrients distributions in sediment. Scaling of oxygenated zones around life sites, characteristics spacing observed and transport processes are also represented. Particulate transport represented the sediment mixing by feeding and excretion modes, mobility, foraging and storage behaviour, and passive advection. Dissolved transport represented bioirrigation path by gallery-diffuser and respiration by biodiffuser, molecular diffusion across burrow walls and siphons.

measurements of the spatial arrangements of the burrows, nor of their total surface area. Clearly such measurements need to be carried out in future studies of this kind. Biosurface representing the surface occupied by organisms in the sediments (but more difficult to measure when organisms are retracted), could be also an adapted parameter to give information on the surface and volume of biogenic structure, and thus a complementary parameter for the fluids and gas study at the sediment-water interface.

Burrowing depth

The greatest effects resulting from combining several functional groups were on nitrate fluxes (enhanced 300-400%), followed by phosphate (100%), ammonia (40-70%), and oxygen fluxes (40-80%). These effects may in part be related to the vertical distribution of solutes in the sediment pore water (Aller, 1977) whereby greater burrowing depths may give access to higher concentrations of such solutes as ammonia and phosphate and increase their flux across the sediment water interface (Figure III-8). This was observed for the (*M. balthica* + *N. virens*) and (*M. balthica* + *M. arenaria* + *N. virens*) assemblages. Burrowing depths of the two biodiffusers seemed also sufficient to favour the ammonium release from sediments and the nitrate consumption into sediments via diffusion (Figure III-8). Both biodiffusers impact similarly the distribution of pore water solutes and microbial activity by creating similar physical reworking, but burrowed at different depths. This was described for *Clymenella* and *Leitoscolopos* in Waldbusser *et al.* (2004). Burrowing depths do not explain the weak mobilization of phosphate, possibly because of oxidation and co-precipitation of phosphate with iron oxides in the vicinity of the siphons of the bivalves. Nevertheless, the combination of the effects of numbers of organisms (number of individuals of each species or number of

functional groups) described above and the vertical gradients in pore water solutes such as ammonia, nitrate, and phosphate, may be one of the factors affecting fluxes.

Stimulation of bio-irrigation

In contrast to the functional assemblages that contained the gallery-diffuser *N. virens*, interactions within other did not affect the fluxes of oxygen, DOC, ammonium and phosphate (Figure III-8). This might be because space requirements and irrigation rates of individual animals from these assemblages (*Macoma* and *Mya*) do not vary with the density of organisms, as in the case of *N. virens*. It is possible, therefore, that interactions with other organisms does not stimulate increased irrigation. In contrast, *N. virens* may be obliged to increase the flushing rate to avoid anoxia if it increases the size of its burrow. Irrigation enhances transport of oxygen to the deeper layers of the sediment through burrow walls (Kristensen, 2000). Through burrow irrigation, microbial growth is stimulated (Mayer *et al.*, 1995), providing food for meiofaunal assemblages a higher demand for oxygen. Tita *et al.* (2000) found the greatest densities of nematodes in subsurface and deep sediment layers as a consequence of the stimulative effects of irrigation of burrows by *Nereis*. Interactions among *Mya* and *Nereis* that decreased the DOC flux by a factor of 4 might reflect stimulation of microbial activity (Kristensen and Holmer, 2001).

During the 37 days that our experiments lasted we observed temporal changes of interaction effects only in functional assemblages that contained both the biodiffusers and the gallery-diffuser. This may reflect the more dynamic nature of galleries and the associated micro- and meiofauna, as well as the influence of bioirrigation on availability and degradability of organic matter over time (Kristensen and Mikkelsen, 2003; Michaud *et al.*, 2005, 2006). Previous studies did not reveal such changes, possibly because these experiments

did not measure the temporal dynamic of the processes influenced by animals (Waldbusser *et al.*, 2004; Mermillod-Blondin *et al.*, 2005).

Conclusions

This study shows that fluxes of oxygen and nutrients across the sediment-water interface are related to the functional diversity of the *M. balthica* community. We observed strong interactions between the two biodiffusers and the gallery-diffuser. These interactions likely comprise both a direct relationships, such as changes in space occupation, spatial organization and food partitioning, and indirect relationships, such as interactions with micro- and meiofaunal communities, depth gradients in pore water constituents, and physical changes of the local environment. By using natural biovolume, it is unlikely that, in our functional assemblages, saturation of functions was reached. Among the likely factors that may explain positive interactive effects on fluxes across the sediment-water interface are changes in the spatial organization of organisms and burrows, depth of burrowing, and stimulation of burrow irrigation. Such results might be used for the development and validation of theoretical models on the role of functional diversity. Future work should take into account the effects of interactions among functional groups on space occupation by different functional groups, including changes in the volume and distribution of burrows and burrow production rates over time. More complex benthic communities with greater number of functional groups need to be investigated.

Acknowledgments

We thank Herven Holmes, Jean-Francois Lemieux and Marlène Dionne for permission to sample in the Parc national du Bic and Real Fournier for providing laboratory space in the Aquaculture Station at Pointe au Père. We are grateful to Marcel Laroche for technical help, to Marylin Gauthier, Mike Dalva and Diane Bérubé for help with nutrient, DOC and CHN analysis. Dr. R.C Aller and S. Hulth provided helpful comments. The study was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada to Drs. Gaston Desrosiers and Bjorn Sundby, from CNRS, France, to Dr. Georges Stora, and from the International Council for Canadian Studies to Emma Michaud. This is Nereis Park contribution number X.

CHAPITRE 4.1

AN ALGORITHM FOR RAPID AUTOMATIC LUMINOPHORE COUNTING IN BIOTURBATION STUDIES

E. Michaud, M. Sourisseau, G. Desrosiers, E. Duport, D. Cottin, G. Stora

Article soumis dans la revue

Limnology and Oceanography : Methods

Résumé

Ce papier présente un algorithme permettant de compter automatiquement les particules de luminophores, de différentes couleurs et de différentes tailles, à partir de photos numériques de sédiment. La détection et la quantification des luminophores a été faite en établissant un ratio de couleur en définissant une taille de particules. Nos résultats ont été comparés à ceux obtenus à partir de la méthode classique de comptage par microscopie à épi fluorescence. Les deux méthodes détectent le même nombre de luminophores à chaque profondeur. La méthode automatique est aussi efficace que la méthode manuelle et permet une quantification précise de la distribution des particules. Cet algorithme permet une analyse d'un plus grand nombre d'échantillons, du fait de la rapidité du temps d'analyse. Cet algorithme est finalement un outil utile et complémentaire aux études de bioturbation. Il peut être utilisé en parallèle avec d'autres méthodes optiques (e.g., optodes planaires).

Abstract

This paper presents an algorithm to automatically count luminophore particles with different colours and different sizes on digital images of sediment slices. The detection and quantification of luminophore particles were made by establishing a colour ratio and defining particle sizes. Our results were compared with those from a traditional counting under a microscope. Both methods detected the same number of luminophores at each depth. The automatic method is as efficient as the manual counting and allows an accurate quantification of the particle distribution. By decreasing the processing time, the algorithm allows to analyze a greater number of samples. It provides a useful and complementary tool for bioturbation studies which use in parallel of other optical applications (e.g., planar optodes).

Introduction

Bioturbation is the term used to describe the mixing of sediment particles and transport of pore water solutes caused by biological activities such as feeding, excretion, bulldozing, burrowing, and construction of tubes, mounds, and pits (Rhoads, 1974). These activities can lead to particles selection mechanisms according the size and the quality of the particles (Shull and Yasuda, 2001). Benthic macroinvertebrates alter sediment biogeochemical properties by the downward or upward particle transport between redox zones (Aller, 1982). The organisms favour thus more complete and rapid decomposition than is possible under constant conditions or with unidirectional redox change, and they impact organic matter sequestration, resuspension, and redistribution (Aller, 1994; Grossi *et al.*, 2003; Caradec *et al.*, 2004). The rate of biological sediment mixing is dependent on the macroinvertebrate's behaviour (Aller and Cochran, 1976), and several sediment mixing modes can be defined (Gerino *et al.*, 2003).

To accurately determine the organic matter processing in sediments, the particle movements have to be quantified in the sediment column to calculate sediment mixing rates for the validation of diagenetic models (Boudreau, 1997). Several tools have been developed, and natural tracers such as ^{14}C , ^{210}Pb , and ^{234}Th were the first to be used to reveal biological mixing rates in the sediment column (Aller and Cochran, 1976; Erlenkeuser, 1980; Gardner *et al.*, 1987). However, these tracers did not permit the differentiation between interstitial solutes and sedimentary particles (Gerino, 1992). Other tracers such as chlorophyll *a* and microalgal lipids were next used as tracers for sedimentary particles (Stoeck and Kronke, 2001; Grossi *et al.*, 2003). With all these tracers, it was only possible to quantify the sediment reworking on different time scales. Being non-conservative, these tracers did not allow one to observe the

displacement of specific sedimentary particles (Gerino *et al.*, 1998). Artificial and inert tracers were thus necessary, e.g., silt labelled with Au, sand labelled with Ag, spherical glass bead, microspheres, and luminophore particles (Brennan and McGrath, 1988; Gerino, 1992; Shull and Yasuda, 2001; Ciutat *et al.*, 2005). Luminophores are sediment particles dyed with inert fluorescent colours; they have several size ranges that cover the whole sediment granulometric spectra (40 μm to 2 mm, Kiel University). Mahault and Graf (1987) were the first to use luminophore particles as conservative tracers for bioturbation studies.

In classical use, specific sizes of luminophores are deposited on the sediment surface after the macroinvertebrate organisms are introduced into experimental cores (Gerino, 1992). At the end of the experiment, sediment cores are sectioned into layers, usually ranging from 5 mm to 3 cm. The sediment collected from each depth is homogenized and dried for luminophore counting (Gerino, 1992). Following the method of Mahault and Graf (1987), luminophores have always been counted manually by microscopy under an ultraviolet light (UV) and converted into tracer percentage for each sediment slice (Gilbert *et al.*, 1995; Gerino *et al.*, 1998; Mermillod-Blondin *et al.*, 2004). The vertical distributions of the luminophore particles are compared to profiles predicted by mathematical models of particle displacement (François *et al.*, 1997; François-Carcaillet *et al.*, 2002). Good agreement between predicted and measured profiles indicates the kind of sediment mixing, and allows one to determine the sediment reworking coefficients (Gerino *et al.*, 1998).

Luminophore counting by epifluorescence microscopy must be done for each sediment sample and is time consuming. Recently, Duport *et al.* (submitted) used digital photos of sediment slice subsamples taken under UV light. Instead of directly counting luminophores, they determined luminophore pixel distribution relative to the total pixel distribution on each photo using image analysis software such as Photoshop (Adobe Systems Incorporated) and

Scion Images (Scion Corporation) for image processing. However, this technique is must be repeated manually for each photo and thus is also time-consuming. Moreover, the manual processing for each photo implies subjective adjustment depending on photo characteristics (luminosity, contrast) that can increase the variability of the results.

Using the method described by Duport *et al.* (submitted), we have developed an algorithm to automatically count luminophore particles for all photos. Different paint colours and luminophore particle sizes were accurately detected. Since the calculation is automatic, results are more objective and the processing more rapid. The results obtained with this new automatic counting method were compared with the results obtained with the classical counting method using microscopy.

Material and Procedures

Manual counting

Two experimental cores from the study of Michaud et al. (2005) were used: one without macrofauna and one with *Nereis virens*. Seven days after organism introduction, 0.5 g of each luminophore type (two different sizes and colours) were deposited on the surface of each sediment core. Red luminophores were 150-180 μm and green were 180-220 μm . After 21 days, cores were sliced every 0.5 cm for the first 4 cm, every 1 cm from 4 cm to 9 cm, and every 3 cm from 9 cm to 15 cm. Each sediment slice was homogenized and dried. Three replicates of 0.15 g of sediment per slice were placed in a Petri dish (20 cm² area) under UV light. Luminophore particles were directly counted with epifluorescence microscopy (5 $\times$) (ZEISS Axiovert 100, Inverted Phase Contrast Microscope). About 30 minutes were necessary

to manually count all luminophores in each subsample of 0.15g, thus 45 hours were required for the 90 subsamples (2 cores).

Image processing and automatic counting

Another 0.15g of sediment from different subsamples was placed in a Petri dish (20 cm²), the bottom of which was then painted with black. Images of each sediment slide were obtained as described in Duport *et al.* (submitted). The UV light spectrum was assumed to be constant. A digital camera (Olympus C-2500L) was placed in a black box 12 cm from the sediment sample. The camera set-up (aperture time 0.5 second, diaphragm aperture f/2.0, ISO 100) was constant for all images, and the image resolution was 2342016 pixels (33 $\mu\text{m} \cdot \text{pixels}^{-1}$). Images were saved in red-green-blue (RGB) colour in JPEG format, giving file sizes of 1.8 Mo. Each image was subsequently cleaned using Photoshop software for deleting exterior contamination (e.g., fibres, mineral and organic detritus) that appeared visible and reflect some fluorescence. Less than 5 minutes per image was devoted to this task.

The image processing was done with Matlab software (Mathworks). The detection of red and green luminophores were completed with the same steps (described below; Figures IV.1-1 and 2).

The first step was to remove the noise from each image. To estimate the noise level, the histogram representing the pixel number (after a logarithmic transformation) as a function of the colour intensity was calculated for the green and red components for several test images (Figure IV.1-3a). An inflection point was observed at the same position on each histogram. Since the signal/noise data ratio increased with the colour intensity, these inflection points were assumed to be the minimal intensity thresholds, (s_g) for green and (s_r) for red, which were set to 15 and 20, respectively (Figure IV.1-3a). An additional condition was added to

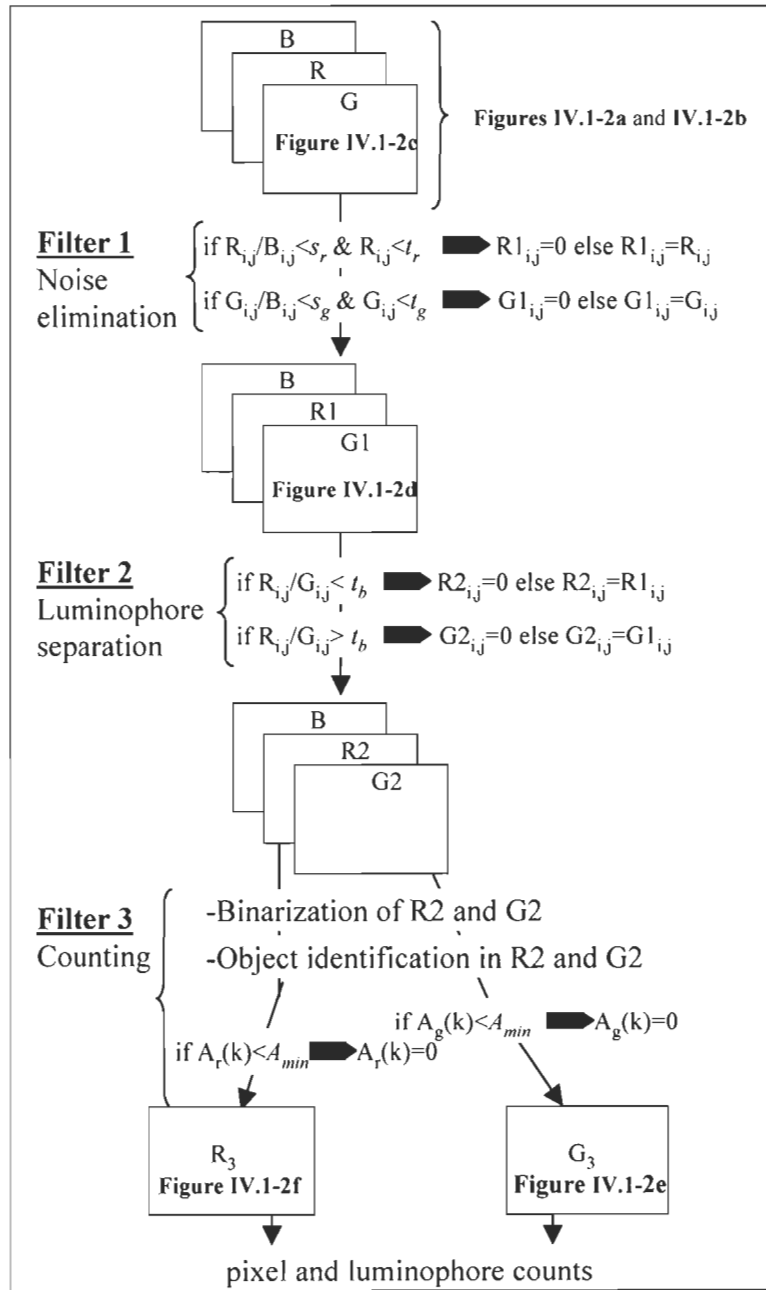


Figure IV.1-1: Algorithm for image processing from the initial RGB pictures to the percent of green and red luminophores detected. Three filters are used. Parameter values and symbol meanings are given in Table IV.1-1.

Table IV.1-1: Definition and values of the symbols and parameters.

Symbol	Definition	Value
R, G, B	Matrix of the red, green and blue colour components of the initial image	—
$R1, G1, R2, G2, R3, G3$	Matrix of the red and green colour components after the first, second and third filters	—
i, j	Pixel index of the colour matrix	—
s_g	Minimal intensity threshold for the green component (filter 1)	15
s_r	Minimal intensity threshold for the red component (filter 1)	20
t_g	Minimal ratio between the intensities of the green and blue components for all pixels (filter 1)	0.2
t_r	Minimal ratio between the intensities of the red and blue components for all pixels (filter 1)	0.4
t_b	Threshold value for the colour identification of the luminophores (filter 2)	1.2
k	Number of detected objects (filter 3)	—
A_{min}	Minimum area imposed for the detected object k in the green and red matrix (filter 3)	10 pixels
$A_g(k), A_r(k)$	Area of the detected object k in the green and red matrix after the binarization (filter 3)	—

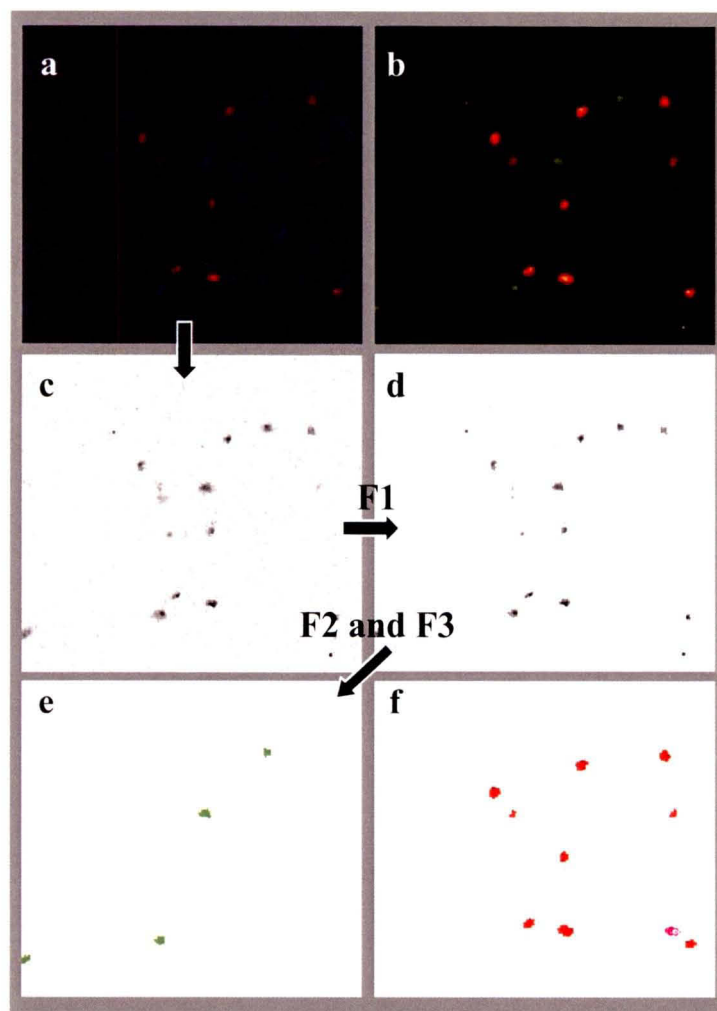


Figure IV.1-2: Example of the processing steps (**a**, **c**, **d** and **e**) leading to the green luminophore detection for a section of an initial image in RGB format. Red luminophores are visible in the initial image (**a**), but green luminophores are only visible after subtracting the blue component and increasing the contrast (**b**). The successive use of filters 1, 2, and 3 (F1, F2, and F3) on the green component (**c**) gave images **d** and **e**. An identical processing applied to the red component gave the red luminophore detection on the same image section (**f**).

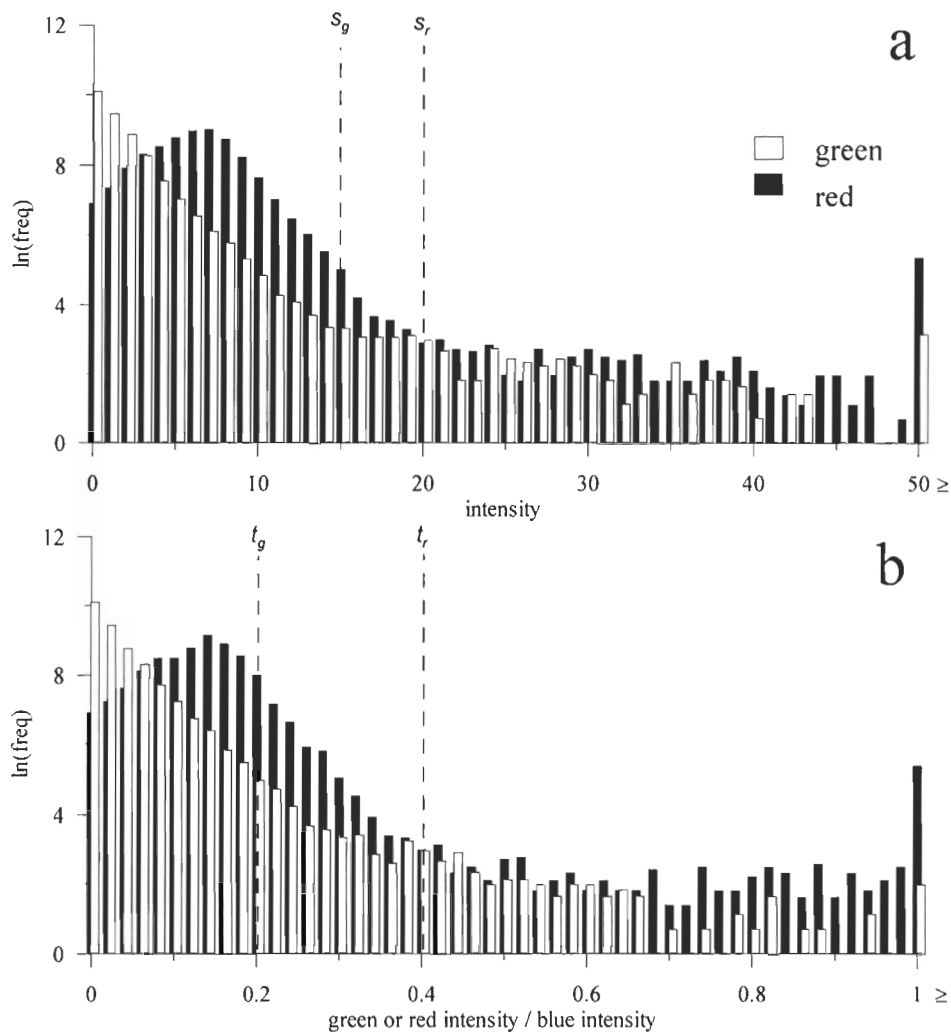


Figure IV.1-3: a. Example of histograms representing pixel number (after a logarithmic transformation) as a function of the colour intensity for the green and red components. The values of inflection points s_g and s_r were set at 15 and 20, respectively. **b.** Example of histograms representing pixel number (after a logarithmic transformation) as a function of the colour ratio between the intensities of the red and blue components and between the intensities of the green and blue components. The values of inflection points t_g and t_r were set at 0.2 and 0.4, respectively.

remove noise. Other histograms representing pixel number (after a logarithmic transformation) as a function of the colour ratio were calculated between the intensities of the red and blue components and between the intensities of the green and blue components (Figure IV.1-3b). Inflection points were also visible in these histograms of green/blue and red/blue intensity ratios, and the inflection point was used to fix the minimal ratio (t_r) for the red/blue component. For the green luminophore detection, the minimal ratio (t_g) was fixed to a smaller value than the inflection point value after preliminary tests: this smaller value decreased the noise removal efficiency but was necessary because of the low fluorescence of the green luminophores compared to the red. These low intensities were due to the properties of the paint colour and to the UV spectrum used (see further details in the discussion). The values used were 0.4 for t_r and 0.2 for t_g (Figure IV.1-3b). These two conditions, (s_g, s_r) and (t_g, t_r), were scanned onto each pixel to clean the noise. When these conditions were not respected for one pixel, the value of the green (G) or red (R) component was set to zero for that pixel (Figure IV.1-1). One new RGB image with no noise was thus obtained (Figure IV.1-2b).

The second step was luminophore identification. Each luminophore emits fluorescence in the two colour components (red and green). In our case, red luminophores (150-180 μm) emitted the same green fluorescence intensity as the green luminophores (180-220 μm) despite their smaller size. However, the two types of luminophore particles had a specific fluorescence with different red/green intensity ratios according to the dominant paint colour used. To accurately detect the two types of luminophores used in our experiment, a threshold ratio (t_b) between the red and the green components was used. The value of the threshold ratio (t_b) was fixed at 1.2 according to the red/green ratio distribution observed for several images after the noise removal (Figure IV.1-4). For detection of the green luminophores, if the red/green ratio for one pixel was higher than t_b , the value of the green component (G) for this pixel was set to

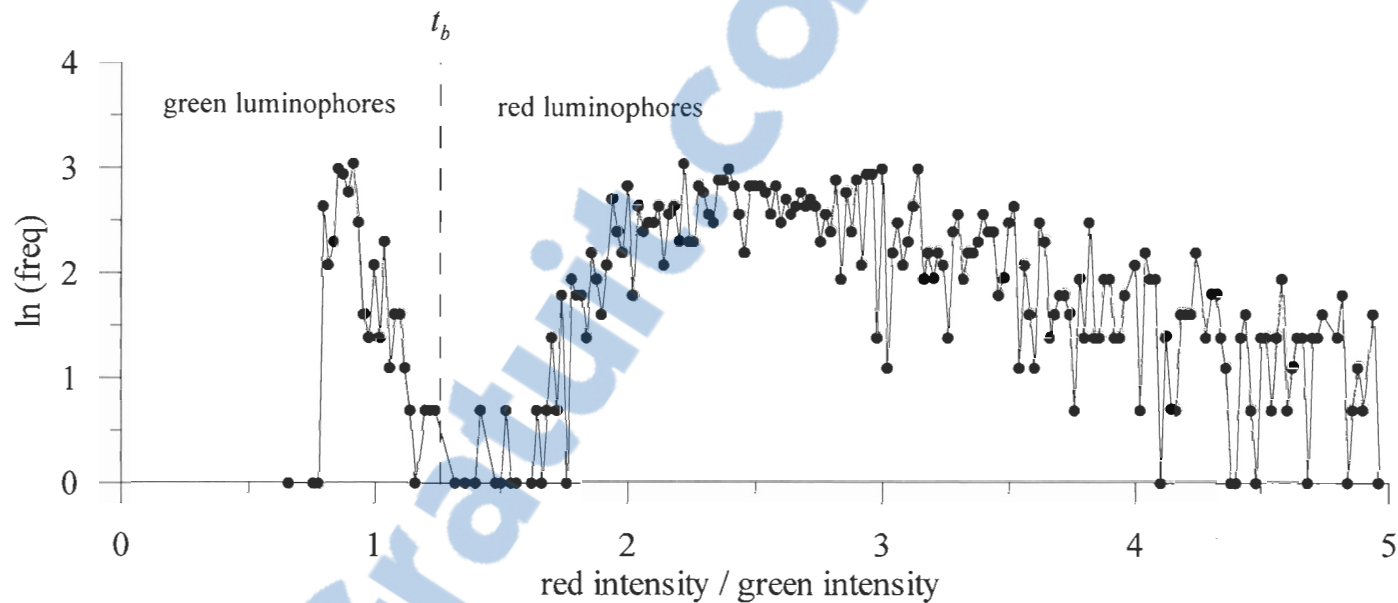


Figure IV.1-4: Frequencies of the ratio between the red and green components in one image of a surface layer. The noise was removed (step 1) before the frequency estimation. The ratio threshold (t_b) used for the luminophore identification is indicated.

zero (Figure IV.1-2d). For red luminophores, the same process was made if the red/green ratio was lower than t_b .

A third step was necessary to eliminate some of the remaining noise for all the pixels due to the lower value of the green threshold (s_g), to some luminophore fragmentation, which produced some very small fluorescent particles, and to small cysts or mineral traces. This noise takes the form of squares with sizes equal to or lower than 3×3 pixels ($90 \times 90 \mu\text{m}$). To remove this bias, the green or red component (R2, G2) was converted to a binary file (Figure IV.1-1). The threshold for the binary image was equal to s_g , and objects were then identified with a Matlab function of the image processing toolbox. According to the luminophore sizes ($>150 \mu\text{m}$), the threshold value for the object area (A_{min}) was fixed at 10 pixels. The smaller objects were thus eliminated. After this last step, the sum of the areas (in pixels) of the remaining objects and the number of objects (i.e., luminophore) were estimated (Figure IV.1-1, 2e). Finally, with these abundances for all sediment depths for each core, the results were computed as the percentage of detected pixels per depth according to the total number of pixels detected per core.

Assessment - Discussion

Manual and automatic counting for each luminophore colour were compared (Figure IV.1-5). Values were log transformed because typical luminophore distributions decrease nearly exponentially in the cores. Linear regressions (major axis, model II; Legendre and Legendre, 1998) were significant for red and green luminophores, with regression coefficients of 0.91 and 0.77, respectively (permutation test, $p < 0.005$). The slopes of the two regressions

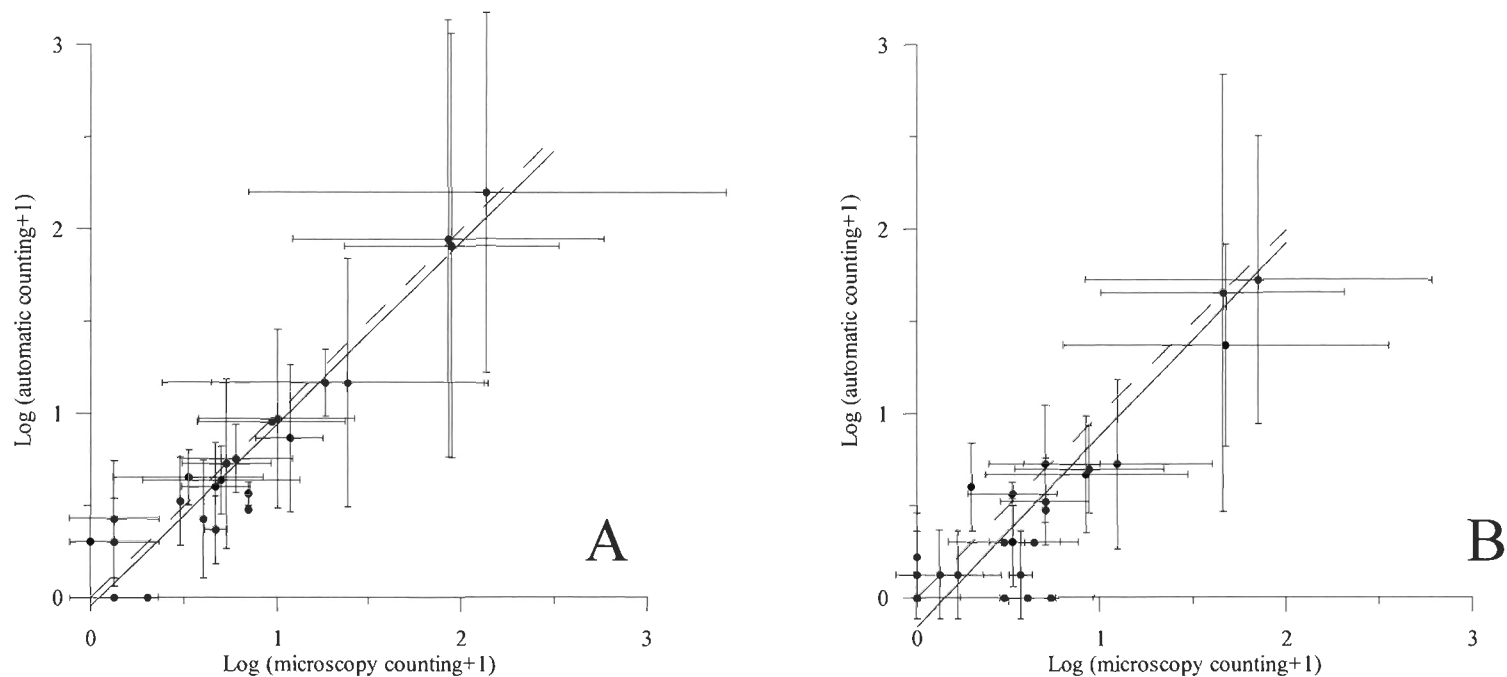


Figure IV.1-5: Luminophore counting with manual and automatic methods for red (A) and for green (B) luminophores. Linear regressions (solid lines) were significant for red luminophores ($R^2=0.91$, $p<0.005$) and green luminophores ($R^2=0.77$, $p<0.005$). The regression line slopes were significantly close to 1 for red (slope=0.98, $t=0.15$, $df=23$, $p=0.05$), and green (slope=0.973, $t=0.09$, $df=23$, $p=0.05$) luminophores. Dashed lines have slopes of 1 for comparison. The variability due to subsamples is also represented.

were 0.99 ± 0.15 for the red luminophores and 0.97 ± 0.20 for the green luminophores (Figure IV.1-5). With slopes significantly close to 1 ($t=0.15$, $df=23$, $p=0.05$ for red luminophores, and $t=0.09$, $df=23$, $p=0.05$ for green luminophores), both methods detected the same number of luminophores at each depth. The automatic method is thus as efficient as the manual counting. The variability observed for each point with the automatic counting method is similar to this one measured with the microscopy method, and it is mainly caused by different sediment subsamples.

The luminophore distribution (%) for each core and each colour obtained with the two counting methods were thus well matched (Figure IV.1-6). The two methods detected a maximum at the sediment surface for the control (70 to 80%) and *N. virens* (60 to 70%) cores. Luminophores were never found in the control cores below 3 cm using either method. Peaks that we observed at 2.25 cm (2%) in the control cores for the two particle types with the manual counting were also observed with the automatic method. For *N. virens* cores, both methods identified some peaks at deeper layers, between 2.5 and 6.5 cm. Some differences, between the two counting methods, only appeared with the green luminophore distribution in *N. virens* cores. This variability could be due to the different sediment subsamples.

Since the two methods gave similar results, the automatic method has a major advantage due to its rapidity. Luminophores were accurately counted with the manual epifluorescence microscopy method (avoidance of shells and various fibres), but the processing time for one core was estimated to be 22.5 hours. With the automatic method, cleaning each picture (shells, organic fibres) was the longest step, but was necessary to detect only the luminophore signal. The automatic elimination of additional debris could be investigated by using the maximal

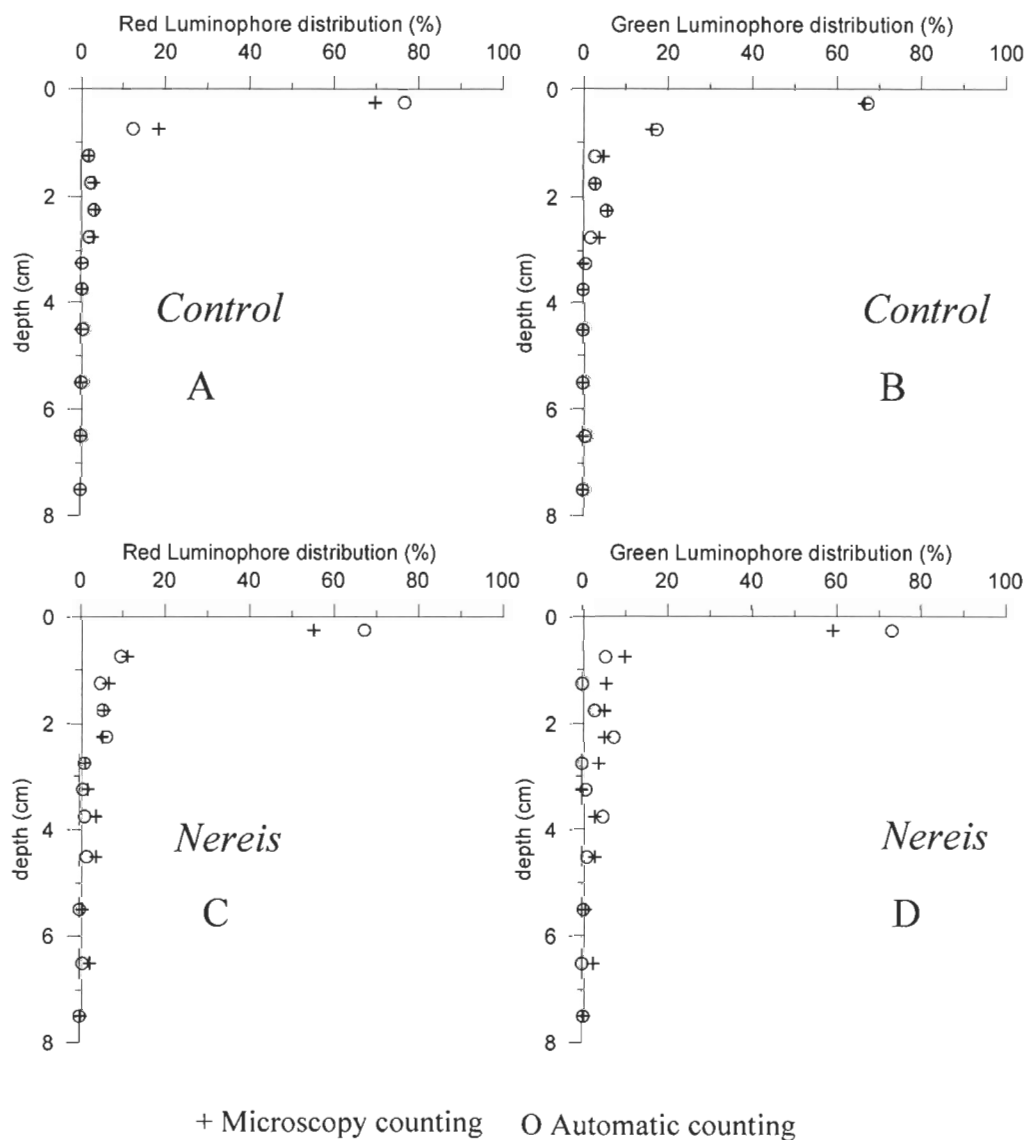


Figure IV.1-6: Luminophore distribution in the sediment column (%) for controls (**A, B**) and *Nereis virens* (**C, D**) cores determined with microscopy (+) and automatic (o) counting methods.

luminophore size. Not including this step, the final counting time with this method was only 5 minutes per core.

The background noise was eliminated by imposing a size limit considering the image resolution and the luminophore particle sizes. The different luminophore particle sizes were also estimated by the automatic method; however, any difference between the size distribution of each luminophore type has been highlighted. This fact resulted from the small difference between the two luminophore sizes (150-180 μm for red luminophores and 180-220 μm for green). It is difficult to accurately separate luminophore particles with different sizes. They are sold in a same packaging with a wider range of sizes (mixing of sizes from 40 μm to 2 mm), and the sieving through several sizes of meshes is not precise. Polypolyene microspheres could be an interesting alternative because they are sold with a pre-sieving, and thus with defined sizes. Several sizes could be tested to see which gave the best image resolution. In addition, the use of new digital cameras with higher pixel resolution and an adaptive lens could give a better estimation of luminophore size. The fact that green fluorescence intensities are similar between the two luminophore types might also explain the lack of difference between the size distribution of each luminophore type. Moreover, we observed halos around red luminophores with microscopy. Such a halo was not observed around the green luminophores, probably because the red colour was more fluorescent than the green. These light halos probably caused the red particles to appear larger on the digital images even though the red luminophores are in reality smaller than the green ones.

Another critical point highlighted by the microscopic and digital observations was the different intensities of the colours: the green colour intensity had a lower fluorescence than the red. The stability of the colours between luminophore packages is also unknown. The use of different paint colours should be tested before the experiment to establish the fluorescent

intensity and colour ratio for each package and to adjust the set-up of the camera, such as the aperture time.

Comments and recommendations

An algorithm like the one described here is able to rapidly differentiate luminophore colours other than red or green. However, the blue colour must not be used because background noise appears in blue on the digital images. The algorithm offers the opportunity to increase the number of samples analyzed, to study the distribution of several particles sizes, and to evaluate the temporal changes of the sediment reworking by introducing different colours into the cores on different dates. If luminophores are used to quantify different particle sizes, the size difference between the particles must be large and the colours must be tested before the experiment. Microspheres can be used for a fixed particle size and for very small particle sizes (Ciutat *et al.*, 2005). The algorithm could also be adapted to the method of Gilbert *et al.* (2003), which estimates luminophore distribution in 2-D and has been adapted by Solan *et al.* (2004) for behavioural ecological studies. Our algorithm provides a useful tool for bioturbation studies.

Acknowledgements

This study was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada to Dr. Gaston Desrosiers and from the International Council for Canadian Studies to Emma Michaud. Thanks to Emilie Doussantousse and Aurore Trottet for their respective help during core slicing and microscopy use. Laure Devine corrected the English translation. This paper is Nereis Park contribution number 17.

CHAPITRE 4.2

CARACTÉRISATION ET QUANTIFICATION DE L'EFFET DES GROUPES FONCTIONNELS ET DE LEUR DIVERSITÉ SUR LE REMANIEMENT SÉDIMENTAIRE ET LES CARACTÉRISTIQUES MICROBIENNES

article en préparation

Résumé

Nous avons déterminé les effets des groupes fonctionnels de la communauté à *Macoma balthica* et de leurs interactions sur le remaniement sédimentaire et les communautés bactériennes. Les biodiffuseurs (*M. balthica* et *Mya arenaria*) et le diffuseur à galerie (*Nereis virens*) constituent les groupes dominants de la communauté à *M. balthica*. Nous avons manipulé la diversité fonctionnelle de cette communauté (groupes fonctionnels isolés et combinés) en respectant un biovolume identique, ajusté en fonction des densités naturelles, pour chaque traitement. Le mélange biodiffusif est sensiblement le même pour tous les traitements bioturbés, en raison du même volume d'occupation spatiale. Le diffuseur à galerie agit fortement sur l'advection et l'activité bactérienne. *M. arenaria* a un effet différent de *M. balthica*, par son effet plus important sur l'activité bactérienne. L'augmentation du nombre de groupes fonctionnels a également un effet important sur l'advection et l'activité bactérienne. Quand les deux biodiffuseurs sont combinés avec le diffuseur à galerie, les interactions entre les groupes expliquent le remaniement observé et le pourcentage de bactéries actives mesuré. Le partage de l'espace entre organismes a pu augmenter les effets de la bioturbation sur les processus biogéochimiques dans la colonne sédimentaire et augmenter l'activité bactérienne.

Introduction

La matière organique se déposant à l'interface eau-sédiment, et celle déjà enfouie dans le sédiment, est soumise à différents types de remaniements, qu'ils soient physiques, en particulier l'hydrodynamisme, ou biologiques, par les activités de bioturbation des macro-invertébrés benthiques (D'andrea *et al.*, 2002). Ce remaniement sédimentaire issu de la bioturbation, en modifiant les propriétés physiques et biogéochimiques du sédiment, contribue à stimuler la minéralisation bactérienne de la matière organique et constitue un des éléments clés du fonctionnement des écosystèmes côtiers (Rosenberg, 2001; Caradec *et al.*, 2004; Ciutat *et al.*, 2005).

Il apparaît donc essentiel de quantifier l'effet du remaniement sédimentaire sur les propriétés biogéochimiques et diagénétiques des sédiments et ceci passe, entre autres, par des mesures précises du taux de mélange des particules par la bioturbation (Boudreau, 1986). Afin de marquer le déplacement des particules, des traceurs particuliers inertes comme les luminophores, sont souvent utilisés (Gerino *et al.*, 1994). Les profils obtenus avec ce type de traceur peuvent être ajustés à des profils simulés issus de modèles de bioturbation pour déterminer l'influence spécifique de chaque espèce benthique sur le mélange particulaire (François *et al.*, 1997, 2002). Cinq groupes fonctionnels de bioturbation ont été identifiés dans la littérature en fonction du type de mélange sédimentaire effectué : les biodiffuseurs, les convoyeurs vers le haut, les convoyeurs vers le bas, les régénérateurs et les diffuseurs à galeries (Fisher *et al.*, 1980; Boudreau, 1986; Smith *et al.*, 1986; Gardner *et al.*, 1987; Gerino, 1992; François *et al.*, 2002; Gerino *et al.*, 2003).

Des études récentes ont montré que les activités engendrées par certains de ces groupes pouvaient affecter les processus biogéochimiques du sédiment ainsi que les flux benthiques à l'interface eau-sédiment (Mermillod-Blondin *et al.*, 2004; Michaud *et al.*, 2005). Ce remaniement peut notamment affecter les métabolismes microbiens en modifiant la distribution des solutés interstitiels (Yingst et Rhoads, 1980). La quantification des bactéries actives dans le sédiment permet de connaître l'effet de chaque groupe fonctionnel sur l'activité microbienne aérobie et/ou anaérobie (Mermillod-Blondin *et al.*, 2004). Dans cette optique, des analyses moléculaires utilisent des sondes moléculaires avec un label fluorescent qui vont se fixer sur l'ARN 16S des micro-organismes. Cette technique permet l'identification *in situ* des cellules bactériennes par microscopie à épi fluorescence (Amann *et al.*, 1997). Cette technique moléculaire a été déjà utilisée pour les communautés bactériennes des sols (Christensen *et al.*, 1999), des rivières (Stief *et al.*, 2005) et dans les sédiments marins (Mermillod-Blondin *et al.*, 2004).

Si la plupart des études ont tenté de caractériser les coefficients de remaniement sédimentaire de quelques groupes fonctionnels, très peu d'études se sont penchées sur l'effet de la diversité fonctionnelle sur l'intensité du remaniement sédimentaire et sur les communautés bactériennes (Mermillod-Blondin *et al.*, 2005). En raison des préoccupations croissantes concernant l'érosion de la biodiversité, de plus en plus d'études s'intéressent au rôle joué par la diversité des espèces benthiques sur le fonctionnement des écosystèmes côtiers (Emmerson *et al.*, 2001; Cardinale *et al.*, 2002; Raffaelli *et al.*, 2003; Mermillod-Blondin *et al.*, 2005). L'objectif de cette étude a été de comparer l'effet de trois espèces (deux bivalves, *Macoma balthica*, *Mya arenaria* et une annélide polychète, *Nereis virens*), en allopatrie (isolées) et en sympatrie (assemblées), sur l'intensité des coefficients de remaniement sédimentaire et sur les communautés bactériennes (nombre total de bactéries, bactérie actives totales, bactéries

actives sulfato-réductrices), afin de déterminer le rôle de ces organismes sur le fonctionnement de la colonne sédimentaire. Les trois espèces étudiées sont dominantes de la communauté à *M. balthica* (Estuaire du Saint-Laurent), laquelle est largement répandue sur l'Atlantique et le Pacifique nord.

Matériel et Méthodes

Site d'étude

Les organismes ont été prélevés dans les sédiments superficiels de la Baie du Ha ! Ha ! au parc provincial du Bic sur la rive Sud du Saint-Laurent (48°22'N, 68°49'O) (Michaud *et al.*, 2005). Cette Baie est un estran à substrat vaso-sablo-graveleux (53 % de vase, 38.4% de sable, 8.5 % de gravier). La teneur en matière organique est de 2% dans la couche de sédiment superficiels. La température de l'eau varie entre 0° (en hiver) et 13°C (en été) avec une salinité de 27‰. La densité naturelle des organismes est comprise entre 2600-2900 ind./m² pour *M. balthica*, entre 800-1600 ind./m² pour *N. virens* et entre 254-770 ind./m² pour *M. arenaria* (Mermillod-Blondin *et al.*, 2003).

Microcosmes expérimentaux

Pour reconstituer la colonne sédimentaire et l'interface eau-sédiment, nous avons utilisé des carottes de plexiglas (diamètre =10 cm; longueur =17cm), chacune étant remplie de 15 cm de sédiments et 2 cm d'eau (Michaud *et al.*, 2005). L'eau était renouvelée en permanence dans la colonne (circuit ouvert). Le sédiment utilisé, préalablement tamisé sur 1mm de vide de maille pour éliminer les macro-détritus de taille supérieure à 1mm (débris coquillier,

végétaux...), a été déposé et laissé pendant une période de 12 jours dans les carottes de manière à ce que la colonne sédimentaire se stabilise. Au 13^{ème} jour, les organismes ont été introduits dans les carottes en respectant les densités naturelles et en conservant un biovolume identique. Pour chaque traitement, trois répliquats de carottes ont été réalisés.

Les luminophores

La méthode d'évaluation du mélange sédimentaire est basée sur l'utilisation de traceurs colorés : les luminophores (Gerino, 1992). Ce sont des particules sédimentaires naturelles, recouvertes d'une peinture fluorescente en présence d'une source de lumière UV (360 nm). Ces particules non toxiques peuvent être parfaitement ingérées par les organismes et ne se dégradent pas dans le temps (Mahaut et Graf, 1987). Nous avons utilisé des luminophores de 150 à 180 μm colorés en rose.

Dans chaque carotte, en début d'expérience (6 jours après l'introduction des organismes, le temps que les *Nereis* construisent leur terrier (Miron et al, 1991), 0.5 g de luminophore a été déposé à la surface du sédiment de chaque carotte. Le dépôt s'est effectué dans l'eau surnageante afin de répartir les luminophores le plus régulièrement possible à la surface du sédiment. À la fin des expériences (20 jours après), les carottes ont été découpées en couches de 0.5 cm pour les 4 premiers cm, de 1 cm pour les couches sous jacentes jusqu'à 9 cm et enfin tous les 2 cm pour les dernières couches de la carotte (15 cm). Chaque couche a été pesée et une partie du sédiment congelée à -20°C. Ce sédiment a ensuite été lyophilisé, homogénéisé immédiatement après séchage, déposé uniformément dans une cuve de comptage et pris en photo numériquement sous lumière UV. Trois répliquats de photos ont été réalisés pour chaque couche.

Quantification des luminophores

La quantification des luminophores est basée sur l'analyse des photos numériques de chaque couche via des logiciels d'analyse d'images (adobe Photoshop et Matlab). Ce traitement a permis de compter le nombre de luminophores détecté pour chaque photo, et des profils verticaux de concentrations de luminophores pour chaque carotte ont ainsi été obtenus. La méthode de traitement d'images et de comptage des luminophores est présentée dans Michaud *et al.* (*submitted to Limnology and Oceanography: methods*).

Le modèle d'advection-diffusion

Il existe plusieurs modèles mathématiques permettant d'estimer le remaniement sédimentaire engendré par la macrofaune (pour synthèse, voir François, 1999). Le modèle que nous avons utilisé pour quantifier la bioturbation contient un terme décrivant le mélange biodiffusif et un terme décrivant la bioadvection à l'origine du transport vertical (non local) de la matière (François *et al.*, 1997, 2002). Le mélange biodiffusif est défini comme un transport omnidirectionnel et aléatoire des particules sédimentaires dans la colonne. Ce type de mélange effectué par les organismes est quantifié par un coefficient de mélange biologique Db ($\text{cm}^2 \cdot \text{an}^{-1}$), appelé le coefficient de biodiffusion. Ce coefficient de mélange peut être considéré comme constant sur toute la couche de mélange ou dépendant de la profondeur. La bioadvection, quant à elle, caractérise le transport de matière de la surface vers le fond, c'est-à-dire le mélange non local engendré par les organismes. Ce mélange est caractérisé par un coefficient d'advection r qui dépend directement de l'action des organismes (en $\% \cdot \text{an}^{-1}$). Dans notre système, l'utilisation de ce modèle a pour but d'apporter des informations qualitatives (type de mélange effectué) et quantitative (niveau d'activité des organismes) sur la fonction

des organismes à l'interface sédimentaire. L'estimation des paramètres Db et r a été réalisée en comparant les profils de luminophores obtenus après les 21 jours d'expérience avec les profils simulés en utilisant la méthode des moindres carrés (François, 1999). Notons que pour chaque carotte, plusieurs ajustements de la courbe du modèle au profil expérimental (profondeur de la couche de biodiffusion (x_1) et profondeur de la couche d'advection marquée(x_2)) ont été nécessaires de manière à obtenir les sommes des carrés des écarts (SCE) les plus faibles. Le modèle a été utilisé avec le logiciel Matlab.

Mesures bactériennes

Le protocole utilisé pour nos mesures bactériennes est identique à celui de Mermillod-Blondin *et al.* (2004). À la fin des expériences (20 jours après), après le découpage des carottes, 2 g de sédiment humide ont été prélevés à chacune des profondeurs 0.5 cm, 1.5 cm, 3cm, 6 cm, et 12 cm. Les échantillons de sédiment, une fois prélevés, ont donc été fixés par du paraformaldéhyde (4%) dans une solution tampon (PBS) pendant 6H. Les échantillons une fois fixés ont été rincés cinq fois avec de l'éthanol (100%) dilué de moitié avec le tampon salin PBS et centrifugés entre chaque rinçage de façon à éliminer le surnageant. À la suite de cette étape, les échantillons ont été conservés au congélateur (-80°C) jusqu'à analyse ultérieure. Des sous-échantillons de 0,5 g ont ensuite été additionnés de 4 mL de pyrophosphate à 0.1% dans du PBS. Tous les échantillons ont ensuite été homogénéisés dans un bain ultra sons (Sonicator XL 2020) durant 2 minutes. Un détergent NP-40 (Flucka, Buchs, Switzerland) a été rajouté dans chaque suspension pour atteindre une concentration finale de 0.01%. Un volume de 10 μL d'échantillon a ensuite été déposé sur une lame de gélatine sur laquelle il y a eu séchage et déshydratation par passage successif dans de l'éthanol à 50, 80 et 96%. L'échantillon a finalement été hybridé avec un mélange de gel oligonucléotide Cy-3 et

du DAPI. Après l'hybridation, les lames ont été rincées dans le tampon salin, rincer avec de l'eau distillée et congelées. Les préparations ont enfin été examinées au microscope à épifluorescence. Le nombre de bactéries marquées au DAPI et au CY-3 a été compté séparément afin de calculer le pourcentage de bactéries actives (EUB/DAPI) et sulfato-réductrices (SRB/DAPI).

Tests statistiques

Pour comparer les activités de bioturbation et la distribution des bactéries dans les différents carottiers, nous avons réalisé des tests statistiques en vérifiant préalablement la condition de normalité et l'homogénéité des variances. Un test ANOVA à un facteur (traitement: Contrôle, *M. balthica* (Mb), *M. arenaria* (Ma), *N. virens* (Nv), Mb+Ma, Mb+Nv, Ma+Nv, Mb+Ma+Nv) et à mesures répétées (profondeur) a ensuite été réalisé pour vérifier si les pourcentages de luminophores et de bactéries différaient entre traitements en fonction de la profondeur ($p < 0,05$). Les valeurs obtenues étant des pourcentages, une transformation ARCSIN a été effectuée (Zar, 1998). Pour comparer les valeurs des coefficients de biodiffusion (Db) et d'advection (r) obtenus à partir du modèle pour chacun des carottiers, nous avons utilisé une analyse de variances à un facteur (traitement).

Détermination des interactions entre groupes fonctionnels

Les interactions entre groupes fonctionnels ont été estimées en comparant les coefficients de remaniement sédimentaire prédits avec ceux observés. Les coefficients de remaniement sédimentaire prédits ont été obtenus à partir des traitements en allopatrie (Raffaelli *et al.*, 2003) et ont été divisées par le nombre d'individus utilisés pour maintenir un biovolume constant. Chaque coefficient mesuré a été comparé aux coefficients prédits par un

test de Student. Quand le test était significatif, nous avons conclu à des effets interactifs entre les groupes fonctionnels, et non à de simples effets additifs. L'effet net de la diversité a aussi été déterminé en calculant le rapport entre les valeurs prédites et mesurées (Cardinale *et al.*, 2002).

Effet de la diversité sur les coefficients de remaniement sédimentaire

L'effet de la diversité spécifique et fonctionnelle a été déterminé sur les coefficients de remaniement sédimentaire. Les diversités spécifique et fonctionnelle ont été respectivement obtenues à partir du nombre d'espèces et de groupes fonctionnels contenus dans chaque combinaison (0, 1, 2 ou 3 espèces et 0, 1 ou 2 groupes fonctionnels). Après vérification de la normalité des données et de l'homogénéité des variances, des régressions linéaires ont été utilisées pour déterminer si la diversité spécifique et/ou fonctionnelle influençait significativement les coefficients de remaniement sédimentaire. La signification des régressions linéaires et des pentes ont été respectivement testées par des test de Fisher-Snedecor et de Student (Zar, 1998).

Résultats

Distribution des luminophores

Les profils de luminophores obtenus en fin d'expérience sont présentés sur les Figures IV.2-1a et b (cercles noirs). Les valeurs les plus fortes sont mesurées en surface (0-0.5 cm) (de 60 à 80%). Ces valeurs décroissent rapidement avec la profondeur. À partir de 1,5 cm, nous ne distinguons plus de luminophores, sauf pour les traitements contenant *N. virens* où les

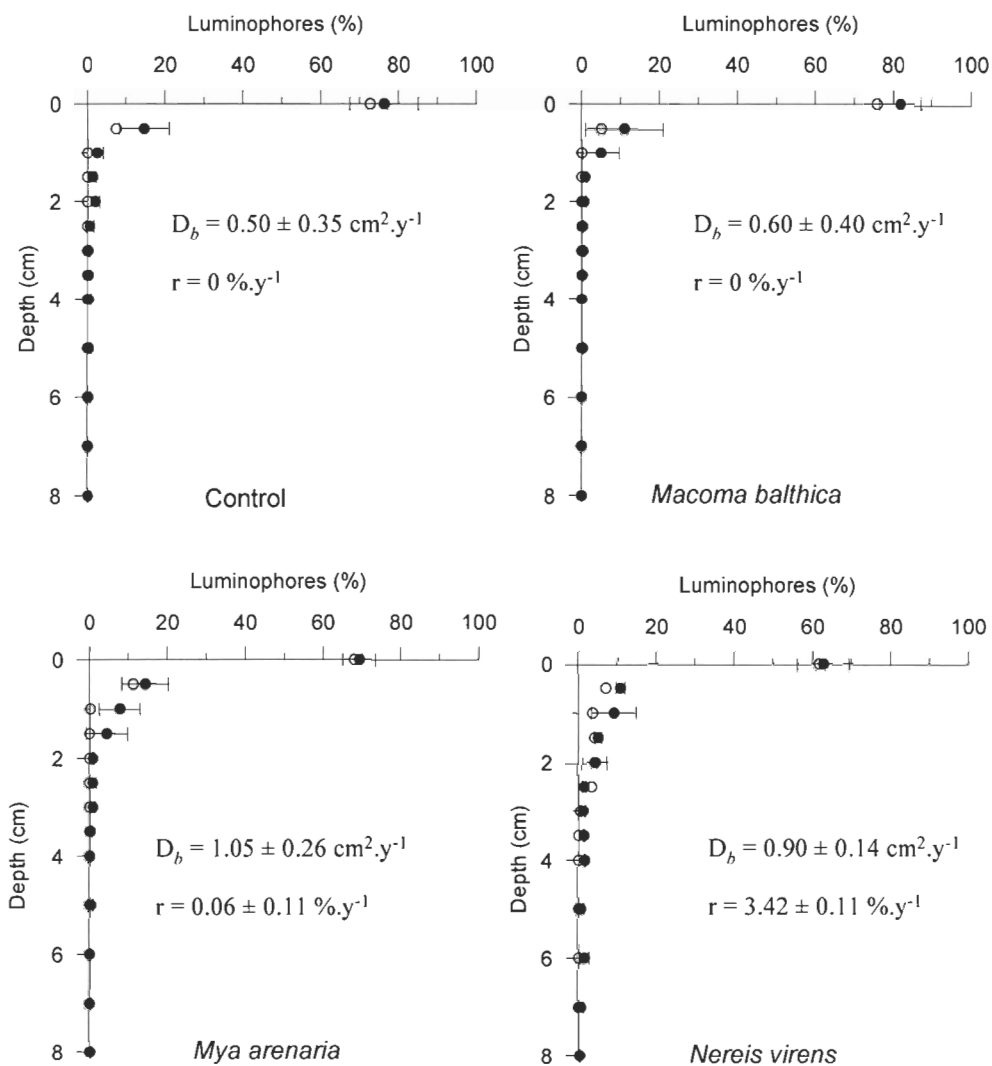


Figure IV.2-1a: Profils de distribution des luminophores de 150 – 180 μm , observés (●) et simulés (○), pour les traitements en allopatrie. Les valeurs de chaque coefficient de biodiffusion (D_b) et d'advection (r), attribuables à chaque traitement, sont indiquées.

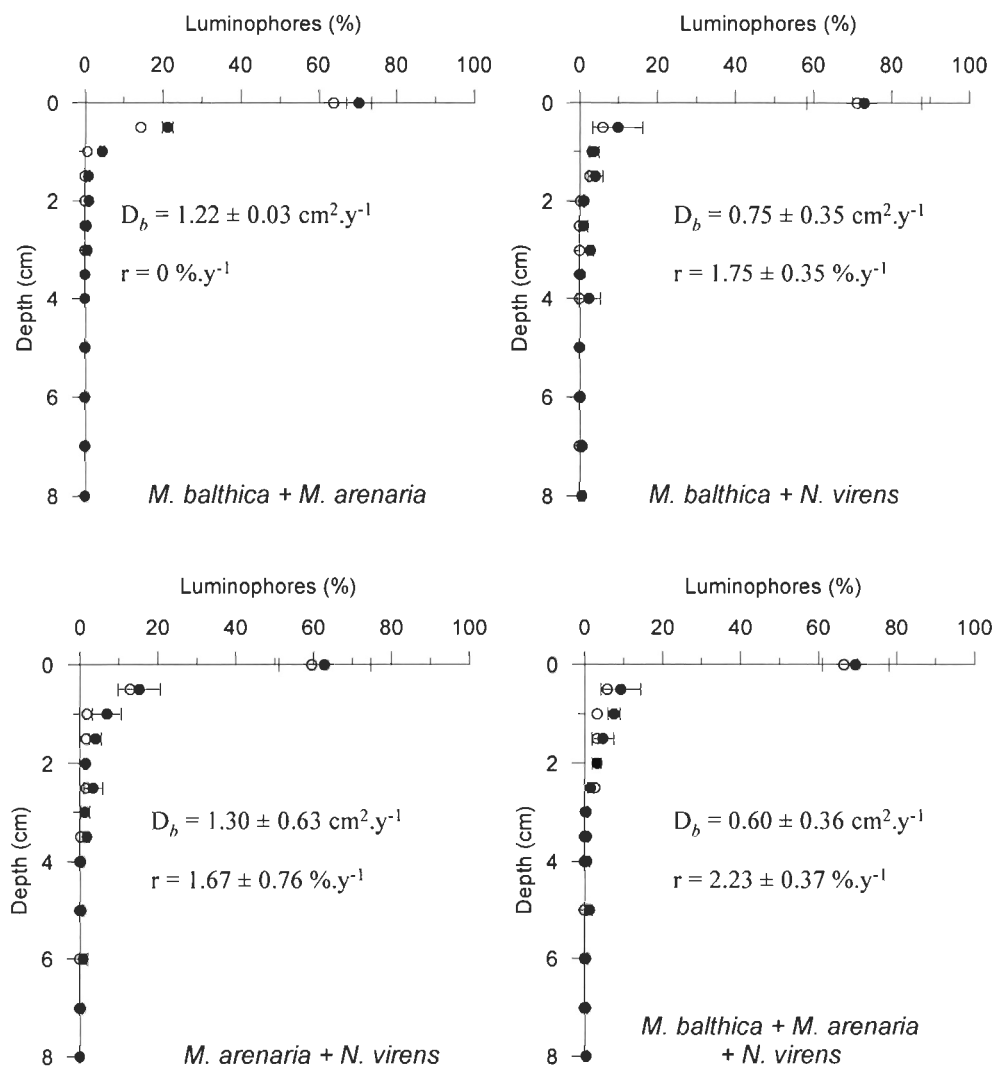


Figure IV.2-1b: Profils de distribution des luminophores de 150 – 180 μm , observés (●) et simulés (○), pour les traitements en sympatrie. Les valeurs de chaque coefficient de biodiffusion (D_b) et d'advection (r), attribuables à chaque traitement, sont indiquées.

luminophores sont présents à 4-5 cm (5%). Les analyses de variance, effectuées sur les profils moyens de distribution des luminophores, indiquent une interaction traitement×profondeur significative ($F_{84,156}=1,45$; $p=0,02$), indiquant que le pourcentage de luminophores varie avec la profondeur en fonction du traitement. Les tests à posteriori montrent une concentration différente de luminophores rouges sur la couche de surface entre les traitements control, *M. balthica*, et *N. virens* (Tuckey Post test, $p<0,05$). Même si un pic de luminophores est observé dans tous les traitements contenant *N. virens*, les test à posteriori n'indiquent aucune différence de distribution significative dans les couches plus profondes.

Caractérisation du remaniement sédimentaire

Les profils de distribution simulés, issus du modèle de diffusion-d'advection, sont superposés avec les profils de distribution observés (Figures IV.2-1a et b). Les coefficients de diffusion obtenus sont de l'ordre de 0,50 à 1,30 $\text{cm}^2.\text{an}^{-1}$, le plus faible (0,50 $\text{cm}^2.\text{an}^{-1}$) étant mesuré pour le contrôle. Même si, les coefficients de diffusion issus du remaniement des luminophores ont tendance à être plus forts avec les carottes colonisées, l'analyse de variance effectuée ne montre pas de différence de diffusion entre les traitements ($F_{7,13}=1,60$; $p=0,22$). Des différences significatives entre les coefficients d'advection ont été par contre mesurées en fonction des traitements ($F_{7,13}=9,85$; $p=0,0001$). Les coefficients d'advection sont significativement plus forts pour les traitements contenant *N. virens* en allopatrie et en sympatrie (Tuckey *post hoc* test, $p<0,05$).

Caractérisation des mesures bactériennes

Le nombre total de bactéries décroît significativement avec la profondeur (ANOVA II, $F_{4,8}=6$, $p<0,0004$) (Figure IV.2-2), et les abondances mesurées à 6 et 12 cm sont nettement plus faibles que celles observées en surface (Tuckey test, $p<0,0001$). Aucun effet traitement n'a été observé sur le nombre total de bactéries.

Le pourcentage de bactéries actives EUB (rapport entre les bactéries hybridées avec la sonde EUB et les bactéries totales marquées au DAPI) décroît significativement avec la profondeur (ANOVA II, $F_{4,8}=91,55$, $p<0,0001$) et diffèrent significativement en fonction du traitement (ANOVA II, $F_{7,8}=9,05$, $p<0,0001$) (Figure IV.2-3). Le pourcentage de bactéries EUB est particulièrement augmenté par rapport au control, par la présence de *M. arenaria* et tous les traitements contenant *N. virens* (en allopatrie et en sympatrie) (Tuckey test, $p<0,001$).

Le pourcentage de bactéries actives sulfato-réductrices SRB décroît également de manière significative avec la profondeur (ANOVA II, $F_{4,8}=2,89$, $p<0,03$) et est influencé par l'effet traitement (ANOVA II, $F_{7,8}=19,89$, $p<0,0001$) (Figure IV.2-4). Le pourcentage de bactéries SRB est affecté par tous les traitements excepté celui contenant *M. balthica*+*M. arenaria* (Tuckey test, $p<0,0001$). Si le pourcentage de bactéries SRB est plus faible dans les couches profondes des traitements contenant *M. balthica*, *M. arenaria* et *N. virens* (en allopatrie) par rapport au contrôle, au contraire, il tend à augmenter en profondeur avec les traitements en sympatrie, particulièrement celui contenant *M. arenaria*+*N. virens*.

Étude des interactions

Des interactions ont été mesurées entre *M. balthica*, *M. arenaria* et *N. virens* pour le coefficient d'advection (+92%) (Figure IV.2-5). Les autres traitements ont de simples effets additifs sur l'intensité du coefficient d'advection.

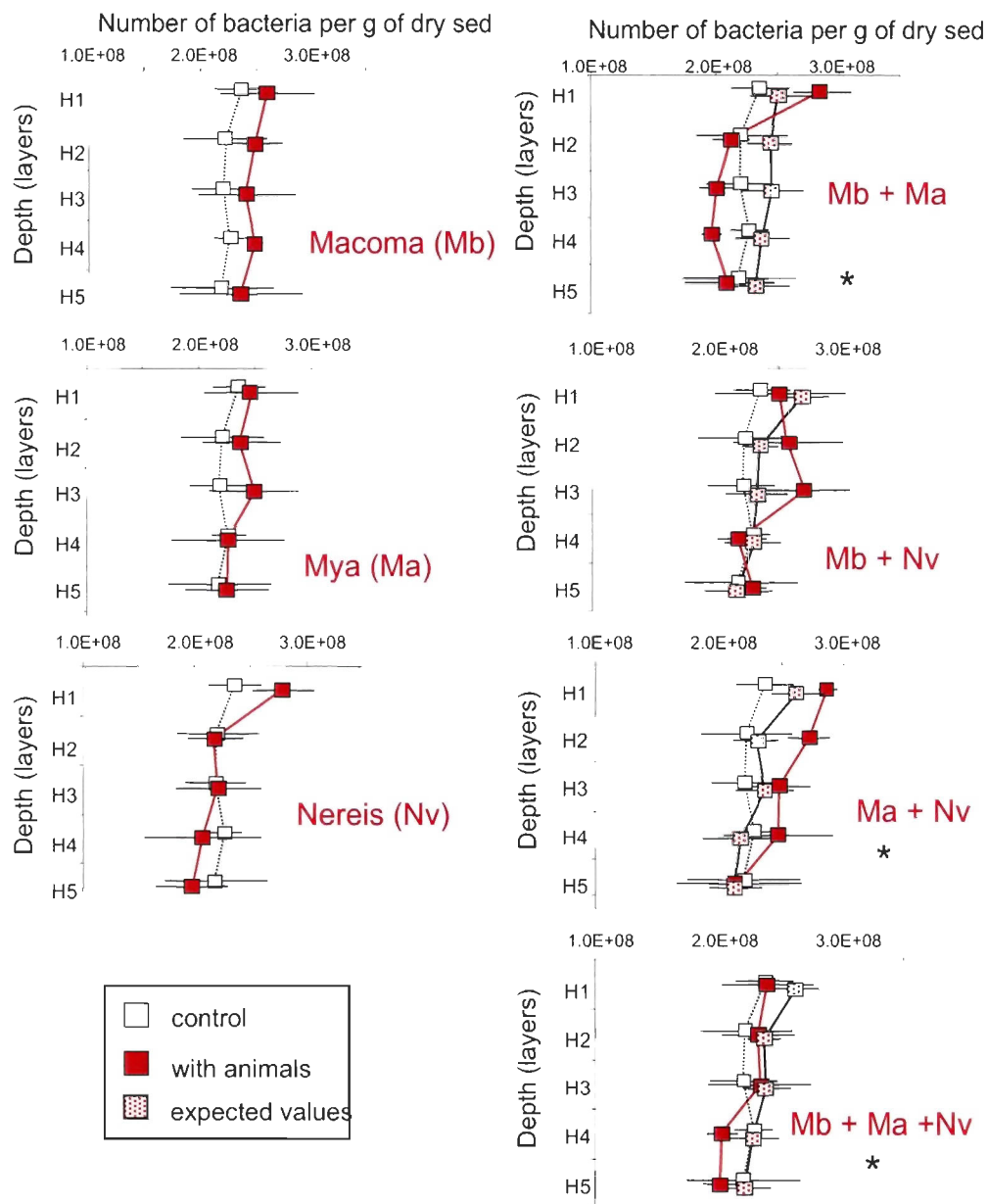


Figure IV.2-2: Profils verticaux du nombre total de bactéries pour les huit traitements (moyenne $\pm$ E.T, $n=3$). Les profils contrôles sont indiqués sur chaque graphe. Les profils issus des valeurs prédites ont été également ajoutés pour comparaison avec les profils réellement observés. Les interactions significatives sont indiquées (* $p < 0.05$)

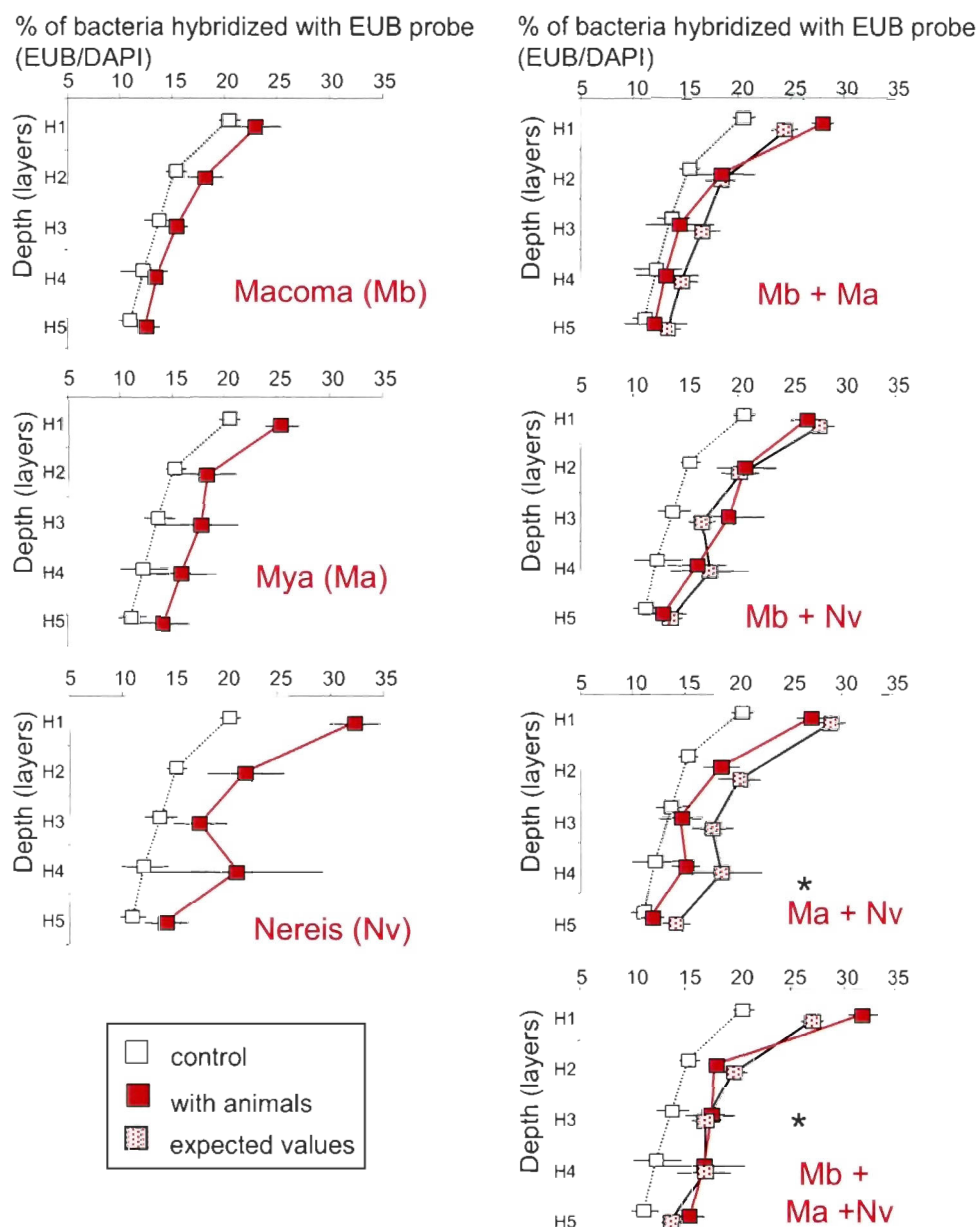


Figure IV.2-3: Profils verticaux du pourcentage de bactéries actives EUB pour les huit traitements (moyenne $\pm$ E.T, n=3). Les profils contrôles sont indiqués sur chaque graphe. Les profils issus des valeurs prédites ont été également ajoutés pour comparaison avec les profils réellement observés. Les interactions significatives sont indiquées (*p<0.05).



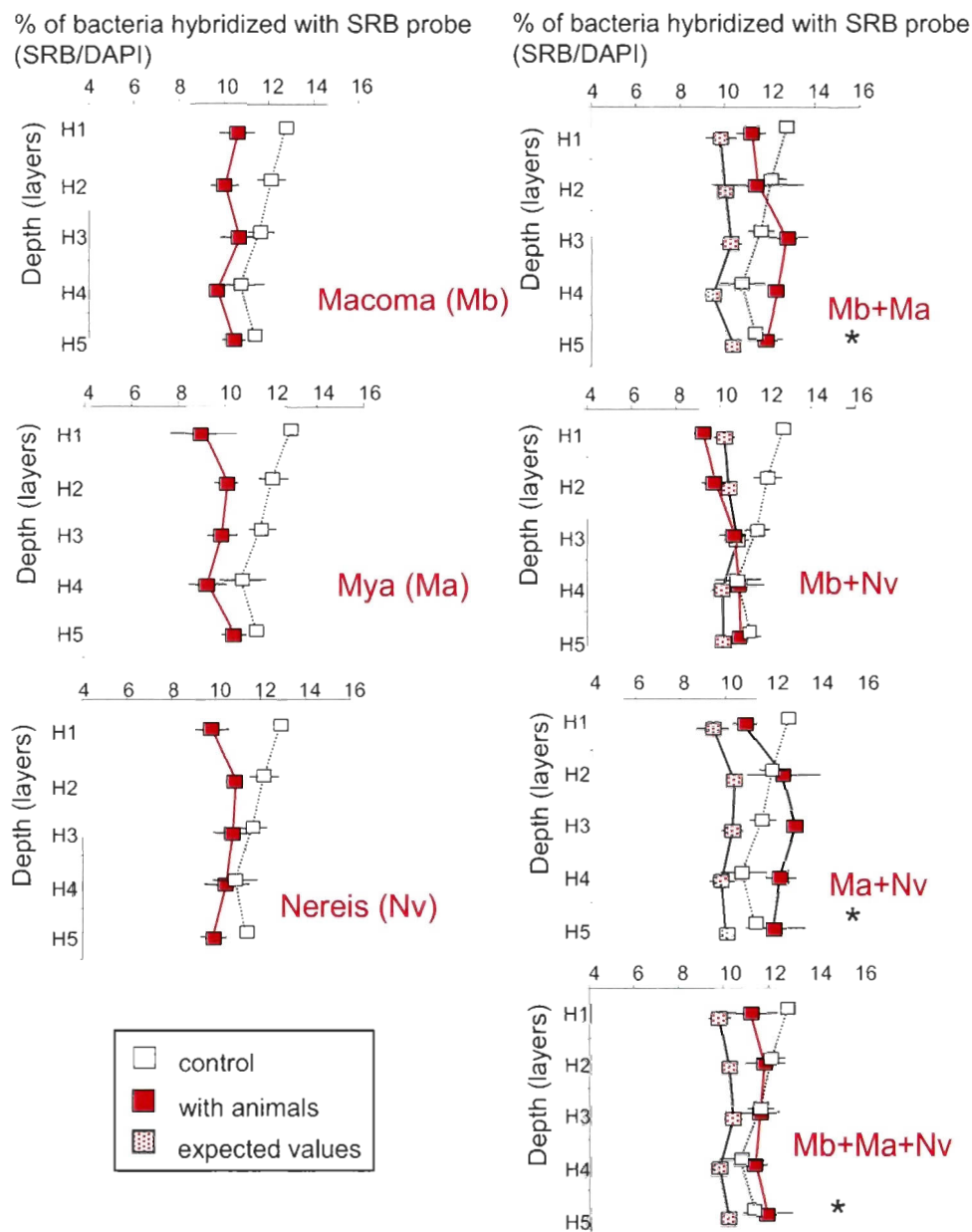


Figure IV.2-4: Profils verticaux du pourcentage de bactéries actives sulfato-réductrices SRB pour les huit traitements (moyenne $\pm$ E.T, n=3). Les profils contrôles sont indiqués sur chaque graphe. Les profils issus des valeurs prédites ont été également ajoutés pour comparaison avec les profils réellement observés. Les interactions significatives sont indiquées (*p<0.05).

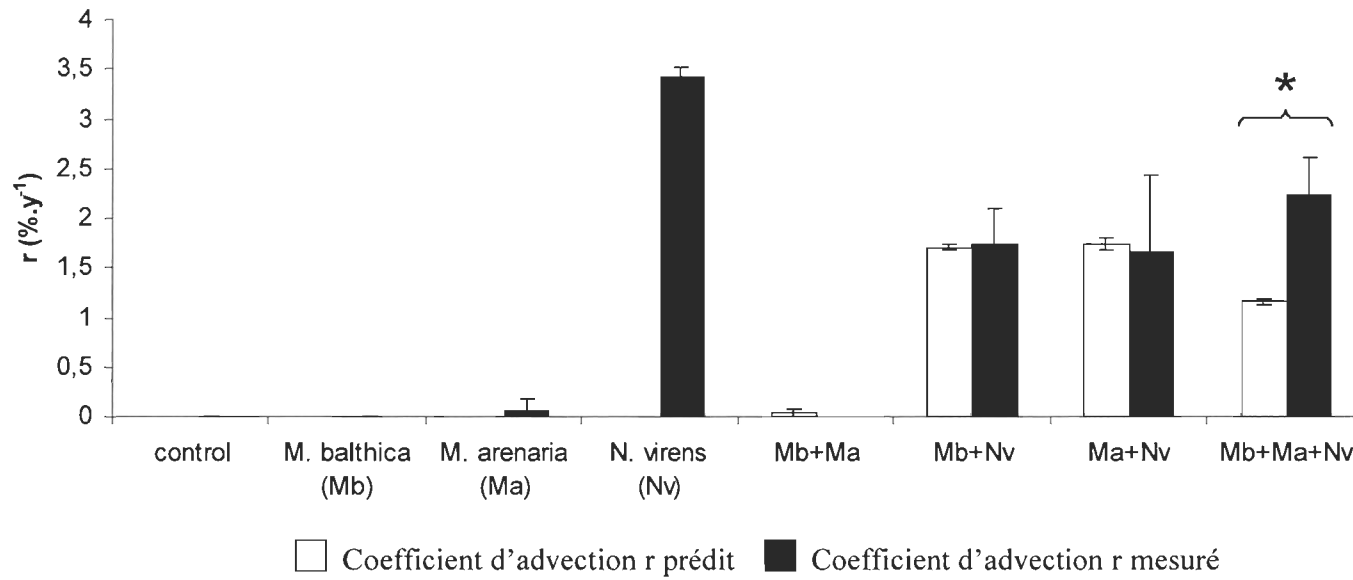


Figure IV.2-5: Coefficients d'advection (%·y⁻¹) mesurés et prédits (moyenne ± SD., n=3). Les coefficients prédits ont été calculés à partir des coefficients issus des traitements en allopatrie. Les résultats des interactions significatives sont indiqués sur la figure (*p<0.05).

Des interactions ont également été mesurées entre *M. balhica* et *M. arenaria*, entre *M. arenaria* et *N. virens* et entre *M. balhica*, *M. arenaria* et *N. virens* pour le nombre total de bactéries et le pourcentage de bactéries actives SRB (Figures IV.2-2 et IV.2-4). Aucun effet significatif d'interaction n'a été mesuré entre *M. balhica* et *N. virens*. Toutes les interactions mesurées ont eu un effet positif sur le pourcentage de bactéries SRB, alors que seul le traitement *Ma+Nv* a eu effet positif sur le nombre total de bactéries. Concernant le pourcentage de bactéries EUB, des interactions négatives et positives ont été respectivement mesurées entre *M. arenaria* et *N. virens* et entre *M. balhica*, *M. arenaria* et *N. virens* (Figure IV.2-3).

Effet de la diversité sur le remaniement sédimentaire

Les effets de la diversité spécifique et fonctionnelle sur le remaniement sédimentaire n'ont été mesurés que pour le coefficient d'advection (Figure IV.2-6), puisque les coefficients de diffusion sont identiques pour tous les traitements. Les résultats indiquent des corrélations significatives entre la diversité et l'advection ($F < 4.3$, $p < 0.05$). Les pentes étant significativement positives pour tous les graphiques (Student-t test < 2.48), la diversité a un effet significatif sur l'advection; l'intensité de l'advection tend à augmenter quand la diversité spécifique ou fonctionnelle est forte. Les valeurs des pentes semblent indiquer un effet plus prononcé de la diversité fonctionnelle sur l'advection par rapport à la diversité spécifique. Cependant nous n'avons pas mesuré de différence significative entre les pentes (Student-t test < 1.68).

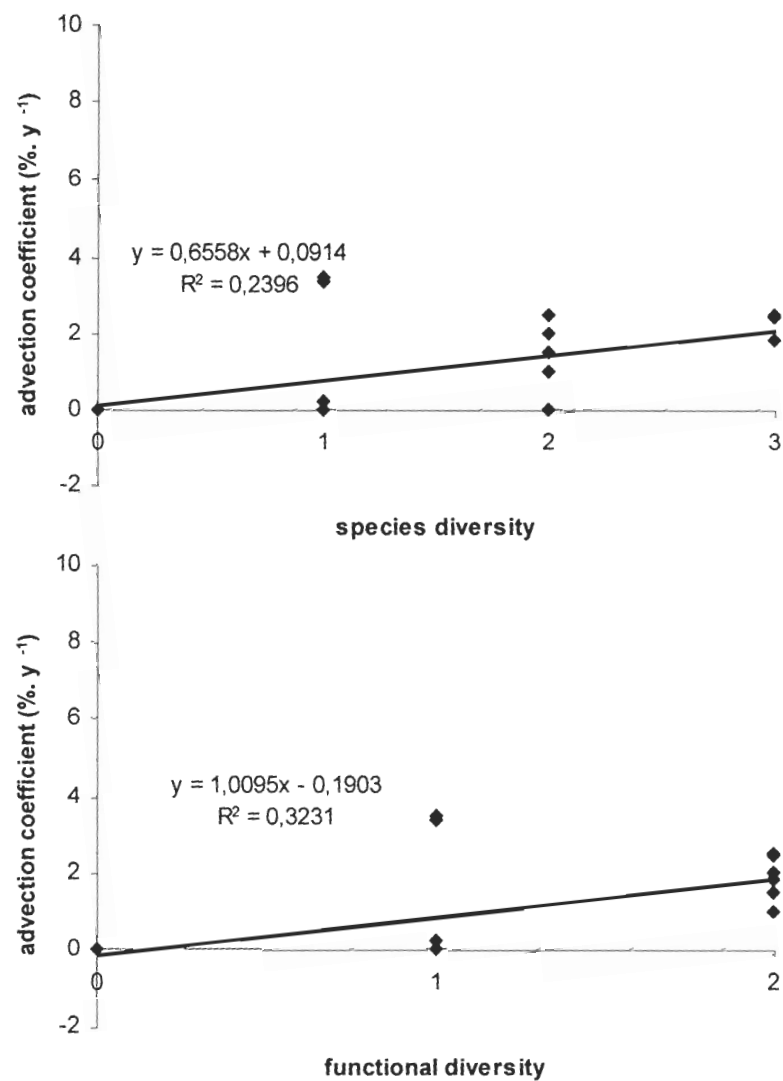


Figure IV.2-6: Effets de la diversité spécifique et fonctionnelle sur les coefficients d'advection r . Les coefficients de régression linéaire et les pentes significatifs sont indiqués sur chaque graphe ($p < 0.05$).

Discussion

Le coefficient de diffusion obtenu pour le contrôle ($0,50 \pm 0,35 \text{ cm}^2 \cdot \text{an}^{-1}$) est peu différent des autres coefficients obtenus avec les carottes colonisées ($0,60$ à $1,30 \text{ cm}^2 \cdot \text{an}^{-1}$) et reste élevé par rapport à d'autres mesures effectuées dans la littérature (Mermillod-Blondin *et al.*, 2004). Cette valeur indique que la méiofaune, permanente et temporaire, joue un rôle non négligeable sur le mélange particulaire au niveau du premier centimètre de la colonne sédimentaire. Il a d'ailleurs été observé dans les deux premiers centimètres de la colonne sédimentaire, en fin d'expérience, des organismes juvéniles de l'ordre de 1 cm de long.

Les coefficients de diffusion obtenus avec les carottes colonisées n'indiquent pas de différence importante entre les traitements. Ceci peut s'expliquer par le fait que le volume occupé par les organismes dans le sédiment étant identique entre tous les traitements, le même volume de sédiment a été déplacé par mélange diffusif et donc entraîné des coefficients de diffusion similaires.

L'advection quant à elle, sensiblement plus forte avec *N. virens*, indique que *N. virens* agit comme un diffuseur à galerie (François *et al.*, 2002; Ouellette *et al.*, 2004). *M. balthica* et *M. arenaria* vivant respectivement dans les quatre et huit premiers centimètres de la colonne sédimentaire ne contribuent pas à un transport du sédiment vers les couches profondes et agissent comme de véritables biodiffuseurs (François *et al.*, 1999). Si une légère advection est observée pour *M. arenaria*, cela peut s'expliquer par la rétraction des siphons, observées à l'occasion, et donc par la chute éventuelle de particules dans les trous formés préalablement par les siphons (Hansen *et al.*, 1996; Thorin *et al.*, 1998).

Quand le diffuseur à galerie est combiné avec les biodiffuseurs, l'advection reste importante par rapport au contrôle, mais diminue de manière non significative par rapport au

traitement diffuseur à galerie seul. Dans les traitements contenant *N.virens*+*M.balthica* et *N.virens*+*M.arenaria*, aucune interaction n'a été mesurée, indiquant que seul l'effet du diffuseur à galerie a influencé l'advection. Des interactions positives ont par contre été mesurées avec le traitement *N.virens*+*M.balthica*+*M.arenaria*, indiquant que l'effet du diffuseur à galerie n'est pas seulement responsable de ce transport advectif. Si les deux biodiffuseurs ne sont pas responsables directement de l'advection mesurée dans ces traitements, leur présence simultanée semble avoir changé le comportement du diffuseur à galeries. Pour maintenir le biovolume constant entre tous les traitements, le nombre d'individus a été diminué pour les traitements en sympatrie par rapport à ceux en allopatrie. Les espèces utilisées s'enfouissant à des profondeurs différentes (Mermillod-Blondin *et al.*, 2003), la compétition spatiale, à un niveau particulier de la colonne sédimentaire, entre groupes fonctionnels est donc peu probable dans le cas des traitements en sympatrie. Le partage de l'espace par les trois espèces a pu favoriser la complexité des structures biogènes du diffuseur à galerie, modifiant alors le volume, la longueur et la distance entre les galeries. Si Marinelli (1994), Aller et Aller (1998), Gilbert *et al.* (2003) et Waldbusser *et al.* (2004) ont souligné l'importance de la configuration spatiale entre espèces (structures biogènes) sur les processus biogéochimiques sédimentaires, il est possible, dans le cadre de cette étude, que ce soit l'interaction spatiale qui favorise le déplacement des particules en profondeur, par rapport à un effet attendu dû à la seule action du diffuseur à galerie.

L'augmentation du pourcentage de bactéries actives totales en présence de *M.arenaria* seule, et de *N.virens* combiné aux autres espèces, indique qu'il y a eu stimulation de l'ensemble des processus microbiens, en particulier le long des profondeurs d'enfouissements. Cette stimulation est d'autant plus marquée dans le traitement *N.virens*+*M.balthica*+*M.arenaria* où les interactions entre espèces sont fortes. L'oxydation du sédiment via la diffusion,

l'irrigation, la construction de structures biogènes, ainsi que l'apport de particules fraîches en profondeur peuvent être des explications à la stimulation de ces processus (Mayer *et al.*, 1995; Aller et Aller, 1998; Stoek et Kronke, 2001; Mermillod-Blondin *et al.*, 2004). Parallèlement, la diminution du pourcentage de bactéries actives sulfato-réductrices, pour tous les traitements colonisés, par rapport à un sédiment contrôle, indique que la pénétration de l'oxygène dans les 3 premiers centimètres diminue clairement l'expression des processus anaérobies (Banta *et al.*, 1999; Heilskov et Holmer, 2001; Mermillod-Blondin *et al.*, 2004).

CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES

Conclusions

L'objectif de ce travail de doctorat est de caractériser et de quantifier l'effet des groupes fonctionnels de bioturbation dominants de la communauté à *M. balthica* (les biodiffuseurs (*M. balthica* et *M. arenaria*) et le diffuseur à galeries (*N. virens*)) et de leur diversité sur les flux biogéochimiques à l'interface eau-sédiment, le remaniement sédimentaire et les communautés microbiennes. Les résultats obtenus ont permis de vérifier les hypothèses de départ.

1. Hypothèses sur les groupes fonctionnels en allopatrie (isolés)

Les effets des groupes fonctionnels isolés (allopatrie) sur les paramètres mesurés ont d'abord été comparés à un sédiment contrôle. À biovolume similaire, les effets du diffuseur à galerie apparaissent nettement supérieurs à ceux des biodiffuseurs sur les flux biogéochimiques, en augmentant respectivement d'un facteur 5, 3 et 2,5, les flux de phosphate, d'ammonium et d'oxygène. Les flux de nitrate et de DOC sont à l'inverse diminués d'un facteur -3 et -2. Parmi les coefficients de remaniement sédimentaire, le diffuseur à galerie a effectivement un effet particulièrement marqué sur le déplacement de la matière particulaire ($\times 4$). Concernant les communautés microbiennes, les pourcentages de bactéries actives totales et de bactéries actives sulfato-réductrices sont respectivement multipliés par 1,5 et -2 par la présence du diffuseur à galeries.

Le sédiment échantillonné a été homogénéisé avant de l'introduire dans les carottiers. Nous avons attendu 12 jours afin que la colonne sédimentaire se stabilise et retrouve ses propriétés physico-chimiques et biologiques initiales. Gilbert (1994) avait cependant démontré qu'un temps d'attente de 90 jours était nécessaire et plus réaliste pour un retour à la normale des conditions initiales. Dans notre cas, il est donc fort probable que les propriétés initiales ne soient pas complètement revenues au bout de 12 jours et durant toute la période de l'expérience, et que les taux de réactions diagénétiques soient encore constants avec la profondeur, excepté pour la couche limite benthique proche de l'interface eau-sédiment (Aller, 1978). Cette instabilité biogéochimique a pu amener à une surestimation de la contribution relative de chacun des groupes fonctionnels sur les flux mesurés (Figure 7). Cependant, cette situation ne change pas l'interprétation de nos résultats sur l'impact des groupes fonctionnels dans la mesure où les résultats de chaque traitement ont été comparés à ceux du contrôle tout au long de l'expérience et que chaque carottier était homogène en début d'expérience (voir les mesures de flux de solutés au jour 12 de l'expérience).

Si les biodiffuseurs ont un impact sur l'ensemble des paramètres mesurés, l'advection supplémentaire liée à l'activité du diffuseur à galerie agit comme un facteur primordial pour la stimulation des processus biogéochimiques ayant lieu dans le sédiment. En effet, la création de structures biogènes par le diffuseur à galerie, associée aux activités d'irrigation et à l'apport de particules vers les couches profondes contribuent, d'une part, à apporter des oxydants dans le fond des terriers et le sédiment environnant, et d'autre part à stimuler l'activité des bactéries dans leur ensemble. La diminution de l'activité des bactéries sulfato-réductrices s'explique notamment par une plus grande utilisation des oxydants des autres communautés bactériennes.

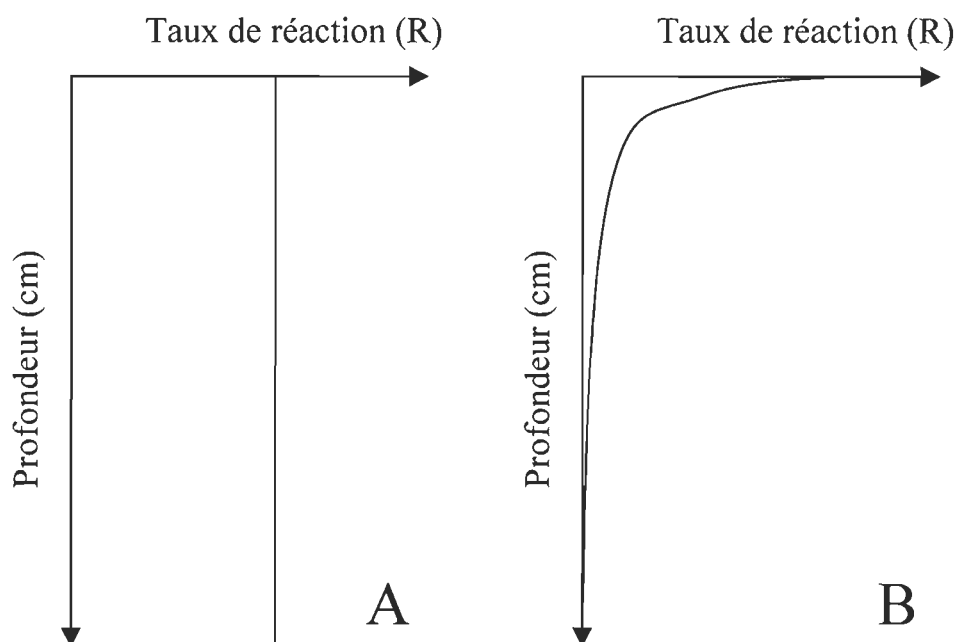


Figure 7: Profils schématiques des taux de réactions de la dégradation de la matière organique en fonction de la profondeur dans deux types de sédiments initiaux. **A:** Dans un sédiment homogénéisé, les taux de réactions sont constants sur la profondeur. **B:** Dans un sédiment non homogénéisé, les taux de réactions varient avec la profondeur. L'action des organismes dans un sédiment de type A peut surestimer l'intensité des flux diffusifs par rapport à un sédiment de type B (Aller, 1978).



La variabilité spatio-temporelle des oscillations redox, dues à la construction des structures biogènes et à la périodicité des activités d'irrigation du diffuseur à galerie, apparaît comme un autre facteur expliquant la stimulation des processus microbiens de minéralisation et finalement l'augmentation des flux biogéochimiques.

Les profondeurs d'enfouissements des différents organismes jouent également un rôle considérable dans l'activité des communautés bactériennes et l'intensité des flux mesurés. Les profondeurs auxquelles le diffuseur à galerie construit ses structures biogènes coïncident avec les zones où les concentrations en ammonium et phosphate sont élevées. La présence des organismes à ces profondeurs modifie donc directement les gradients de solutés qui diffusent dans le sédiment vers l'eau surnageante où les concentrations (ammonium et phosphate) sont plus faibles. Ces flux sont ensuite augmentés via les activités d'irrigation.

La variabilité intra-fonctionnelle observée entre les deux biodiffuseurs sur les flux d'ammonium et de nitrate ainsi que sur les communautés microbiennes, s'explique aussi par leurs différentes profondeurs d'enfouissement maximales observées. *M. arenaria* étant retrouvée à des profondeurs de 8 cm, sa présence perturbe les gradients d'ammonium et de nitrate et modifie ainsi les flux.

2. Hypothèses sur les groupes fonctionnels en sympatrie (combinés)

Travailler avec un biovolume constant a permis d'avoir un espace similaire d'occupation par les macro-invertébrés pour chaque traitement et éviter ainsi tout problème de compétition spatiale. Pour respecter ce biovolume constant, le nombre d'individus a en effet été diminué

pour les traitements en sympatrie, contrairement à d'autres études qui ont utilisé des modèles croissants de biomasse et additifs de densités (Emmerson *et al.*, 2001; Mermillod-Blondin *et al.*, 2004). Le biovolume, pour notre étude, a été choisi à partir des densités naturelles. L'utilisation d'un biovolume constant dans notre étude a permis une comparaison entre traitements plus réaliste, comme l'ont suggéré des travaux précédents qui ont montré que l'organisation spatiale avait une influence plus importante sur les processus biogéochimiques au sein du sédiment (Gilbert *et al.*, 2003; Marinelli et Williams, 2003; Waldbusser *et al.*, 2004).

Les assemblages contenant à la fois le diffuseur à galerie et les biodiffuseurs modifient les flux de phosphate ($\times 3-4$), d'ammonium ($\times 2-3$), de nitrate ($\times 2-3$), et d'oxygène ($\times 2$), sur le remaniement sédimentaire ($\times 2-3$) et sur les communautés bactériennes (EUB $\times 1,5$ et SRB $\times 0,8$). Seul l'assemblage *M. arenaria* + *N. virens* diminue les flux de DOC d'un facteur de $-1,5$. Les deux biodiffuseurs assemblés (*M. balthica* + *M. arenaria*) n'ont d'effet que sur les flux de nitrate ($\times 2$). Les interactions particulièrement fréquentes entre les biodiffuseurs et le diffuseur à galerie expliquent les effets observés.

Les profondeurs d'enfouissement maximales étant différentes pour chaque espèce, l'espace occupé par les organismes est différemment distribué selon les combinaisons spécifiques. Ce partage de l'espace peut donc favoriser la complexité des structures biogènes du diffuseur à galeries, modifiant le volume, la longueur et la distance entre les galeries et agir ainsi directement sur la distribution des solutés en profondeur, le transport des particules vers le fond, la répartition des métabolismes microbiens et donc sur les flux biogéochimiques résultants. Les intensités des interactions affectant essentiellement les flux de nitrate (300-

500%), de phosphate (100%), d'ammonium (40-70%) et d'oxygène (40-80%) montrent une nouvelle fois que la profondeur d'enfouissement de chaque groupe fonctionnel et l'organisation spatiale entre groupes fonctionnels apparaissent effectivement comme des facteurs clés dans la stimulation des flux biogéochimiques.

Perspectives de recherches

Ce travail valide l'approche fonctionnelle pour l'étude de la bioturbation et ses effets sur les flux biogéochimiques. Ce type de résultats peuvent servir au développement et à la validation de modèles théoriques sur le rôle de la diversité fonctionnelle, ainsi qu'à la paramétrisation de modèles benthiques utilisant des groupes fonctionnels pour estimer des flux biogéochimiques dans l'écosystème. Cependant, les groupes fonctionnels que nous avons utilisés ont été définis sur la base de leur remaniement sédimentaire. Or nos mesures montrent que les profondeurs d'enfouissement des organismes d'un même groupe fonctionnel jouent un rôle dominant dans l'intensité des flux biogéochimiques. Ainsi, au sein d'une étude basée sur les échanges à l'interface eau-sédiment, la prise en compte des groupes fonctionnels en fonction de leur mode de remaniement sédimentaire n'est peut être pas suffisante. La détermination de nouveaux groupes fonctionnels ayant des effets distincts sur les flux biogéochimiques, prenant en compte les profondeurs d'enfouissements et les structures biogènes ainsi que le mode d'irrigation de chaque espèce pourrait être mieux adaptée pour ce type d'études.

Différentes voies de recherche sont aussi à envisager pour approfondir l'effet des interactions entre groupes fonctionnels au sein d'une communauté, sur le fonctionnement des sédiments côtiers:

- L'utilisation des nouvelles techniques d'imagerie benthique (Tomodensitométrie axiale (CAT-SCAN) (Michaud *et al.*, 2003; Dufour *et al.*, 2005), planar optodes (Glud *et al.*, 1996; Hulth *et al.*, 2002; Zhu *et al.*, 2005, 2006), Sediment Profile Imagery (SPI) (Nilsson et Rosenberg, 2000)) apparaît dorénavant comme la prochaine étape pour caractériser précisément l'effet des interactions sur la géométrie, le volume, la distance entre les structures biogènes, et leurs conséquences sur la distribution des solutés interstitiels et sur la dynamique des micro-environnements sédimentaires. Des mesures intégrées d'activités benthiques sur différentes échelles de temps, comme le taux de production des galeries, pourraient alors être déterminées rapidement, sans destruction des carottiers pour connaître l'évolution de la surface d'échanges entre le sédiment et l'eau surnageante.
- D'ailleurs, si notre étude montre que les flux biogéochimiques varient avec le temps dans les traitements contenant le diffuseur à galerie, en raison de la dynamique des structures biogènes, de plus longues expériences (de l'ordre de quelques mois) devraient être menées pour déterminer la dynamique temporelle de ces structures et celle des micro-environnements sédimentaires associés.
- Le biovolume, ne reflétant pas le volume d'eau déplacé durant les activités d'irrigation et de ventilation, mais le volume de sédiment déplacé lors des activités de bioturbation, des

mesures de surface de chaque organisme, appelée aussi biosurface, pourraient être faites, en parallèle, en début et en fin d'expérience. Celles-ci, bien que plus difficiles à mesurer quand les organismes sont rétractés, permettraient d'avoir des informations supplémentaires sur la superficie occupée par les organismes dans le sédiment, indirectement sur la superficie et le volume des structures biogènes.

- Dans ces futurs travaux, la notion de biovolume, qui est une mesure adaptée à l'étude du remaniement sédimentaire, devrait tout de même être approfondie en déterminant l'effet densité à biovolume constant sur l'intensité des interactions entre espèces et leurs effets sur la biogéochimie du sédiment. Par exemple, l'effet d'un individu de 6 mL serait-il de même nature que l'effet de 6 individus de 1 mL (i.e. adultes versus juvéniles)?
- La diversité fonctionnelle utilisée dans notre étude montre un effet considérable sur l'ensemble des paramètres mesurés, mais elle s'est limitée à deux groupes fonctionnels. Le protocole expérimental (i.e. biovolume identique) mis en place lors de cette étude, ayant été validé par des mesures de flux biogéochimiques, de remaniement sédimentaire et de communautés bactériennes, devrait maintenant être essayé avec d'autres communautés à *M. balthica* plus complexes (Ex. Europe de l'ouest), contenant plusieurs types d'espèces et un plus grand nombre de groupes fonctionnels.
- En vue d'une quantification précise et réelle des flux biogéochimiques et des taux de reminéralisation de la matière organique, il est nécessaire de respecter l'état d'équilibre des réactions diagénétiques (décroissance exponentielle des taux de réactions avec la profondeur)

dans le temps. Des expériences futures pourraient, de ce fait, faire l'objet d'une attente de stabilisation de la colonne sédimentaire supérieure à 12 jours ou à un échantillonnage direct des carottes de sédiment sans homogénéisation afin de se rapprocher le plus possible des conditions naturelles. Il est à préciser tout de même qu'il est possible de retrouver un sédiment homogène en milieu naturel, suite à une arrivée massive de sédiments par exemple, qui peut être suivie d'une recolonisation plus ou moins rapide par les organismes (i.e., tempêtes benthiques, crues éclair, Rhoads et Germano, 1982; Michaud *et al.*, 2003). Des mesures de concentrations de solutés dans les eaux porales et des mesures de réactivité du sédiment pourraient aussi être faites en complément afin de pouvoir suivre précisément les changements temporels de la distribution des taux de réactions au sein du sédiment.

- Nos mesures de flux ont été faites à l'obscurité, période pendant laquelle, les micro-algues benthiques consomment de l'oxygène pour produire des nutriments dans l'eau surnageante (hétérotrophie). Au contraire, en phase d'éclairement, les processus de photosynthèse amènent à une production d'oxygène et à une consommation des sels nutritifs (autotrophie). Il est tout de même important de préciser que l'oxygène produit par les micro-algues benthiques, pendant cette phase d'éclairement, bien que non prise en compte dans nos mesures, peut influencer un certain nombre de réactions chimiques redox ayant lieu dans le sédiment (i.e., nitrification-dénitrification) et contribuer ainsi à réguler les flux de nutriments à l'interface eau-sédiment durant la phase obscure comme l'ont observés Sundback *et al.* (1991). Celles-ci, dont les diatomées, peuvent être en effet particulièrement abondantes dans les 5 premiers mm à la surface du sédiment ainsi que sur la paroi des terriers des organismes et d'autant plus en milieu intertidal (Sundback *et al.*, 1991). Eyre et Ferguson (2002) supposent aussi que l'oxygène produit par photosynthèse peut augmenter, durant la phase obscure, le

relargage de composés organiques labiles par excrétion algale et donc la respiration bactérienne, ainsi qu'amener des changements dans les processus de sulfato-réduction. Nous n'avons pas tenu compte de l'influence potentielle du microphytobenthos sur les flux mesurés dans l'interprétation de nos résultats puisque nous n'avons pas mesuré de différence significative de concentrations de *chlorophylle a* entre chaque traitement, la *chlorophylle a* étant habituellement utilisée comme une mesure approximative des activités des micro-algues benthiques. Des mesures simultanées de flux et de pigments photosynthétiques seraient nécessaires, à la fois en phases d'éclairement et d'obscurité, afin de quantifier précisément l'effet des micro-algues benthiques sur les flux de nutriments à l'interface eau-sédiment par rapport à l'effet seul de la macrofaune benthique.

- Une étude *in situ*, associée à des mesures de biovolume, pourrait valider les résultats obtenus *in vitro*. Ce type d'étude permettrait de déterminer les effets des variations saisonnières (i.e., qualité et quantité de matière organique, photopériode, température, hydrodynamisme) sur les flux benthiques puisque la chimie du sédiment (réactivité), les processus photosynthétiques et le comportement des organismes en sont fortement dépendants.

Références bibliographiques

Aller, R. C. 1977. The influence of macrobenthos on chemical diagenesis of marine sediments. **Thèse de Doctorat. Department of geology and geophysics.** New haven, Yale University: 600.

Aller, R. C. 1978. "Experimental studies of changes produced by deposit feeders on pore water, sediment, and overlying water chemistry." **American Journal of Science** 278: 1185-1234.

Aller, R. C. 1982. The effects of macrobenthos on chemical properties of marine sediment and overlying water. **Animal-Sediment Relations.** P. Press. New-York, P.L. Mc Call Tevessz, M.J.S.: 53-102.

Aller, R. C., Cochran, J.K. 1976. "²³⁴Th/²³⁸U disequilibrium in near-shore sediment: particle reworking and diagenetic time scales." **Earth and Planetary Sciences Letters** 29: 37-50.

Aller, R. C., Yingst, J.Y. 1978. "Biogeochemistry of tube-dwellings: A study of the sedentary polychaete *Amphirite ornata* Leidy." **Journal of Marine Research** 36: 201-254.

Aller, R. C., Yingst, J. Y. 1985. "Effects of the marine deposit-feeders *Heteromastus filiformis* Polychaeta, *Macoma balthica* Bivalvia, and *Tellina texana* Bivalvia on averaged sedimentary solute transport, reaction rates and microbial distributions." **Journal of Marine Research** 43: 615-645.

Aller, R. C. 1988. Benthic fauna and biogeochemical processes in marine sediments: the role of burrow structures. **Nitrogen cycling in coastal marine environments.** T. H. Blackburn, Sorensen, J. New-York, John Wiley: 301-338.

Aller, R. C., Aller, J. Y. 1992. "Meiofauna and solute transport in marine muds." **Limnology and Oceanography** 37: 1018-1033.

Aller, R. C. 1994. "Bioturbation and remineralization of sedimentary organic matter: effects of redox oscillation." **Chemical Geology** 114: 331-345.

Aller, R. C., Aller, J.Y. 1998. "The effect of biogenic irrigation intensity and solute exchange on diagenetic reaction rates in marine sediments." **Journal of Marine Research** 56: 905-936.

Aller, R. C. 2001. Transport and reactions in the bioirrigated zone. **The benthic boundary layer: transport processes and biogeochemistry.** B. P. Boudreau, Jorgensen, B. B. Oxford, University Press Oxford: 269-301.

Amann, R., Glokner, F.O., Neff, A. 1997. "Modern methods in subsurface microbiology: in situ identification of microorganisms with nucleic acid probes." **FEMS Microbiology Review**. 20: 191-200.

Aminot, A., Chaussepied, M. 1983. **Manuel des analyses chimiques en milieu marin**. Brest.

Andersen, F. O., Hargrave, B. T. 1984. "Effects of *Spartina* detritus enrichment on aerobic/anaerobic benthic metabolism in an intertidal sediment." **Marine Ecology Progress Series** 16: 161-171.

Anschutz, P., Zhong, S., Sundby, B. 1998. "Burial efficiency of phosphorous and the geochemistry of iron in continental margin sediments." **Limnology and Oceanography** 43: 53-64.

Anschutz, P., Sundby, B., Lefrancois, L., Luther, G.W., Mucci, A. 2000. "Interactions between metal oxides and species of nitrogen and iodine in bioturbated marine sediments." **Geochimica et Cosmochimica Acta** 64(16): 2751-2763.

Asmus, R. M., Jensen, M.H., Jensen, K.M., Kristensen, E., Asmus, H., Willie, A. 1998. "The role of water movement and spatial scaling for measurement of dissolved inorganic nitrogen fluxes in intertidal sediments." **Estuarine, Coastal and Shelf Science** 46: 221-232.

Asmus, R.M., Sprung, M., Asmus, H. 2000. Nutrient fluxes in intertidal communities of a South European lagoon (Ria Formosa) - similarities and differences with a northern Wadden Sea bay (Sylt-Romo Bay). **Hydrobiologia**. Vol. 436, no. 1-3, 217-235.

Azouzi, L., Bourget, E., Borcard, D. 2002. "Spatial variation in the intertidal bivalve *Macoma balthica*: biotic variables in relation to density and abiotic factors." **Marine Ecology Progress Series** 234: 159-170.

Bacon, G. S., Mac Donald, B. A., Ward, J. E. 1998. "Physiological responses of infaunal *Mya arenaria* and epifaunal *Plecten magellanicus* bivalves to variations in the concentration and quality of suspended particles. I. Feeding activity and selection." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 219: 105-125.

Banta, G. T., Holmer, M., Jensen, M. H., Kristensen, E. 1999. "Effects of two polychaete worms, *Nereis diversicolor* and *Arenicola marina*, on aerobic and anaerobic decomposition in a sandy marine sediment." **Aquatic Microbial Ecology** 19: 189-204.

Bengtsson, J. 1998. "Which species? What kind of diversity? Which ecosystem function? Some problems in studies of relations between biodiversity and ecosystem function." **Applied Soil Ecology** 10: 191-199.

Berner, R. A. 1980. **Early diagenesis : a theoretical approach**. Princeton, N.J.

Biles, C. L., Solan, M., Isaksson, I., Paterson, D. M., Emes, C., Raffaelli, D. G. 2003. "Flow modifies the effect of biodiversity on ecosystem functioning: an *in situ* study of estuarine sediments." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 285-286: 165-177.

Bonsdorff, E., Pearson, T.H. 1999. "Variation in the sublittoral macrozoobenthos of the Baltic Sea along environmental gradients: a functional group approach." **Australian Journal of Ecology**. 24: 312-326.

Boudreau, B. P. 1986. "Mathematics of tracer mixing in sediment. I-Spatially-dependent, diffusive mixing. II: Non local mixing and biological conveyor-belt phenomena." **American Journal Scientist**. 286: 161-238.

Boudreau, B.P. 1997. **Diagenetic models and their implementation**. Springer-Verlag.

Boudreau, B. P., Jorgensen, B.B. 2000. Diagenesis in the benthic boundary layer. **The benthic boundary layer: transport processes and biogeochemistry**. B. P. Boudreau, Jorgensen, B.B. Oxford University Press.: 211-244.

Brenchley, G. A. 1981. "Disturbance and community structure: an experimental study of bioturbation in marine soft-bottom communities." **Journal of Marine Research** 39: 767.

Brennan, R.F., and McGrath, J.F., 1988. The vertical movement of zinc on sandy soils in southern Western Australia. **Austr. Journal of Soil Research**. 261: 211-216.

Burdige, D., Homstead, J. 1994. "Fluxes of dissolved organic carbon from Cheseapeake Bay sediments." **Geochimica et Cosmochimica Acta** 5816: 3407-3424.

Callier, M. D., Weise, A.M., McKindsey, A.M., Desrosiers, G. (*Sous Presse*). "Sedimentation rates in a suspended mussel farm (Great Entry lagoon, Canada): biodeposit production and dispersion." **Marine Ecology Progress Series**.

Canfield, D. E. 1994. "Factors influencing organic carbon preservation in marine sediments." **Chemical Geology** 1143-4: 315-329.

Caradec, S., Grossi, V., Huth, S., Stora, F., Gilbert, F. 2004. "Macrofaunal reworking activities and hydrocarbon redistribution in an experimental sediment system." **Journal of Sea Research** 523: 199-210.

Cardinale, B. J., Palmer, M.A., Collins, S.L. 2002. "Species diversity enhances ecosystem functioning through interspecific facilitation." **Nature** 415426-429.

Caron, A., Desrosiers, G., Miron, G., Retière, C 1996. "Comparison of spatial overlap between the polychaetes *Nereis virens* and *Nephtys caeca* in two intertidal environments." **Marine Biology** 124: 537-550.

Caron, A., Desrosiers, G., Olive, P.J.W., Retière, C., Nozais, C. 2004. "Comparison of diet and feeding activity of two polychaetes, *Nephtys caeca* (Fabricius) and *Nereis virens* (Sars), in

an estuarine intertidal environment in Québec, Canada.” **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 304: 225-242.

Carpenter, J. H. 1965. “The Chesapeake Bay Institute Technique for the Winkler dissolved oxygen method.” **Limnology and Oceanography** 10: 141-143.

Chapin, F. S., Schulze, E.D., Mooney, H.A. 1992. “Biodiversity and ecosystem processes.” **Tree** 74: 107-108.

Christensen, H. H., M., Sorensen, J. 1999. “Counting and size classification of active soil bacteria by fluorescence in situ hybridization ith an rRNA oligonucleotide probe.” **Applied Environemental Microbiology**. 65: 1753-1761.

Christensen, H. H., M., Sorensen, J. 1999. “Counting and size classification of active soil bacteria by fluorescence in situ hybridization ith an rRNA oligonucleotide probe.” **Applied Environmental Microbiology**. 65: 1753-1761.

Christensen, B., Vedel, A., Kristensen, A. 2000. “Carbon and nitrogen fluxes in sediment inhabited by suspension-feeding *Nereis diversicolor* and non suspension-feeding *Nereis virens* polychaetes.” **Marine Ecology Progress Series** 192: 203-217.

Ciutat, A., Gerino, M., Mesmer-Dudons, N., Anschutz, P., Boudou, A. 2005. “Cadmium bioaccumulation in tubificidae from the overlying water source and effects on bioturbation.” **Ecotoxicology and Environmental Safety** 60: 237-246.

Cohen, J. E., Small, C., Mellinger, A., Gallup, J., Sachs, J. 1997. “Estimates of coastal populations.” **Science** 278: 1211-1212.

Costanza, R., d'Arge, R., de Groot, R., Farber, S., Grasso, M. 1997. “The value of the world's ecosystem services and natural capita.” **Nature** 387: 253-259.

Cummins, K. W., Klugg, M.J. 1979. “Feeding ecology of stream invertebrates.” **Annual Review of Ecology and Systematics**. 10: 147-172.

D'Andrea, A. F., Aller, R.C., Lopez, G.R. 2002. “Organic matter flux and reactivity on a south Carolina sandflat: The impacts of porewater advection and macrobiological structures.” **Limnology and Oceanography** 47: 1056-1070.

D'Andrea, A. F., Lopez, G.R., Aller, R.C. 2004. “Rapid physical and biological particle mixing on an intertidal sandflat.” **Journal of Marine Research** 62: 67-92.

Dauwe, B., Hermann, P.M., Heip, C.H.R. 1998. “Community structure and bioturbation potential for macrofauna at four North sea stations with contrasting food supply.” **Marine Ecology Progress Series** 173: 67-83.

de Goeij, P., Honkoop, P. J. C. 2002. “The effect of immersion time on burying depth of the bivalve *Macoma balthica* Tellinidae.” **Journal of Sea Research** 47 (2): 109-119.

de Goeij, P., P. Luttikhuisen 1998. "Deep-burying reduces growth in intertidal bivalves: field and mesocosm experiments with *Macoma balthica*." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 228: 327-337.

Dedieu, K. 2005. La dynamique biogéochimique de l'oxygène dans les sédiments des milieux littoraux: étude par microélectrodes *in-situ* et modèle biogéochimique. **Thèse de Doctorat en Sciences de la Terre et Évolution des milieux naturels**. Paris, Université Paris 6: 191p.

Deflandre, B., Gagné, J. P. 2001. "Estimation of dissolved organic carbon DOC concentrations in nanoliter samples using UV spectroscopy." **Water Research** 3513: 3057-3062.

Denis, L., Grenz, C. 2003. "Spatial variability in oxygen demand and nutrient fluxes at the sediment-water interface on the continental shelf in the Gulf of Lions NW Mediterranean." **Oceanologica Acta** 26: 373-389.

Deschênes, J., Desrosiers, G., Ferron, J., Cloutier, R., Stora, G. 2005. "Environmental influence on activity levels and behavioural allocation in the polychaete *Nereis virens* Sars." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 317: 203-212.

Desrosiers, G., Brêthes, J.C., Long, B. 1984. "L'effet d'un glissement de terrain sur une communauté benthique médio-littorale du Nord du golfe du St-Laurent." **Oceanologica Acta** 7: 251-258.

Desrosiers, G., Vincent, B., Retière, C., Boucher, L. 1988. "Comparaison de critères utilisables pour l'étude de la structure des populations du polychète *Nereis virens* (Sars)." **Canadian Journal of Zoology** 66: 1454-1459.

Desrosiers, G., Olivier, M., Vincent, B. 1991. "Variations de la densité et de la croissance des recrues de l'annéide polychète *Nereis virens* (Sars) en zone intertidale." **Canadian Journal of Zoology** 69: 560-566.

Desrosiers, G., Caron, A., Olivier, M., Miron, G. 1994. "Cycle de développement d'une population intertidale de *Nereis virens* Polychaeta Nereidae de l'estuaire maritime du Saint-Laurent." **Oceanologica Acta** 176: 683-695.

Dionne, J. C. 1984. "An estimate of ice-drifted sediments based on the mud content of the ice cover at Montagny, Middle St-Lawrence estuary." **Marine Geology** 541/4: 149-166.

Dorgan, K. M., Jumars, P.A., Johnson, B., Boudreau, B.P., Landis, E. 2005. "Burrow extension by crack propagation." **Nature** 433: 475.

Dufour, S. C., Desrosiers, G., Long, B., Lajeunesse, P., Gagnoud, M., Labrie, J., Archambault, P., Stora, G. 2005. "A new method for three-dimensional visualisation and quantification of biogenic structures in aquatic sediments using axial tomodensitometry." **Limnology and Oceanography: Methods**. 3: 372-380.

Duport E., G. F., Poggiale J-C., Dedieu K. and Stora G. **Submitted to Estuarine, Coastal and Shelf Sciences.** "Benthic macrofauna and sediment reworking quantification at the Thau Lagoon."

Eisma, D., de Boer, P.L., Cadée, G.C., Dijkema, K., Ridderinkhof, H., Philippart, C. 2000. **Intertidal deposits, Rivers mouths, Tidal flats, and coastal lagoons.** Boca Raton, Florida, CRC Marine Science Series.

Emerson, C. W., Minchinton, T.E., Grant, J. 1988. "Population structure, biomass, and respiration of *Mya arenaria* L. on temperate sandflat." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 115: 99-111.

Emmerson, M. C., Raffaelli, D.G. 2000. "Detecting the effects of diversity on measures of ecosystem function: experimental design, null models and empirical observations." **Oikos** 91: 195-203.

Emmerson, M. C., Solan, M., Emes, C., Paterson, D. M., Raffaelli, D. 2001. "Consistent patterns and the idiosyncratic effects of biodiversity in marine ecosystems." **Nature** 411: 73-77.

Emmerson, M., M. Huxham 2002. How can marine ecology contribute to the biodiversity-ecosystem functioning debate? **Biodiversity and ecosystems functioning: synthesis and perspectives.** M. Loreau, Naeem, S., Inchausti, P. Oxford, Oxford University Press: 139-146.

Erlenkeuser, H. 1980. "¹⁴C and vertical mixing of deep sea sediments." **Earth and Planetary Sciences** 47: 319-326.

Eyre, B. D., et Ferguson, A.J.P. 2005. "Benthic metabolism and nitrogen cycling in a subtropical east Australian estuary (Brunswick): temporal variability and controlling factors." **Limnology and Oceanography** 50(1): 81-96.

Falcao, M., Vale, C. 1998. "Sediment-water exchanges of ammonium and phosphate in intertidal and subtidal areas of a mesotidal coastal lagoon Ria Formosa." **Hydrobiologia** 373-374: 193-201.

Fauchald, K., Jumars, P. 1979. "The diet of worms: a study of polychaete feeding guilds." **Oceanography Marine Biology Annual Review** 17: 193-284.

Fenchel, T. 1996. "Worm burrows and oxic microniches in marine sediments. 1. Spatial and temporal scales." **Marine Biology** 127: 289-295.

Fenchel, T. 1996. "Worm burrows and oxic microniches in marine sediments. 2. Distribution patterns of ciliated protozoa." **Marine Biology** 127: 297-301.

Fisher, J. B., Lick, W. L., Mc Call, P. L., Robbins, J. A. 1980. "Vertical mixing of lake sediments by tubicids ologochaetes." **Journal of Geophysical Research** 85: 3997-4006.

Forster, S. Graf, G. 1995. "Impact of irrigation on oxygen flux into the sediment: intermittent pumping by *Callianassa subterranea* and "piston pumping" by *Lanice conchilega*." **Marine Biology** 123: 335-346.

François, F. 1999. Mise au point d'un nouveau modèle de bioturbation pour une approche fonctionnelle du remaniement sédimentaire lié à l'activité des communautés benthiques. **Thèse de Doctorat en Sciences de l'environnement Marin**. Aix-Marseille II, Université de la Méditerranée: 110p.

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 Biotheorica** 45: 295-319.

François, F., Dalègre, K., Gilbert, F., Stora, G. 1999. "Variabilité spécifique à l'intérieur des groupes fonctionnels. Etude du remaniement sédimentaire de deux bivalves Veneridae, *Ruditapes decussatus* et *Vererupis aurea*." **Académie des Sciences** 322: 339-345.

François-Carcaillet, F., Poggiale, J-C., Durbec, J-P., Stora, G. 2001. A new model of bioturbation for a functional approach to sediment reworking resulting from macrobenthic communities. **Organisms Sediments Interactions**. J. Aller, Woodin, A., Aller, R.: 76-86.

François-Carcaillet, F., Gérino, 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.

Froelich, P. N., Klinkhammer, G.P., Bender, M.L., Luedtke, N.A., Heath, G.R., Cullen, D., Dauphin, P., Hammond, D., Hartman, B., Maynard, V. 1979. "Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of the eastern equatorial Atlantic: Suboxic diagenesis." **Geochimica et Cosmochimica Acta** 43: 1075-1090.

Gardner, L. R., Sharma, P., Moore, W.S. 1987. "A regeneration model for the effect of bioturbation by fiddler crabs on ^{210}Pb profiles in salt marsh sediments." **Journal of Environmental radioactivity**. 5: 25-36.

Gattuso, J.-P., Frankignoulle, M., and Wollast, R. 1998. "Carbon and carbonate metabolism in coastal aquatic ecosystems." **Ann. Rev. Ecol. Syst.** 29: 405-434.

Gattuso, J. P., Dawson, N., Duarte, C.M., Middelburg, J.J. 2005. "Patterns of publication effort in coastal biogeochemistry: a bibliometric survey 1971-2003." **Marine Ecology Progress Series** 294: 9-22.

Gazeau, F., Smith, S.V., Gentili, B., Frankignoulle, M., Gattuso, J-P. 2004. "The european coastal zone: characterization and first assessment of ecosystem metabolism." **Estuarine, Coastal and Shelf Science** 60: 673-694.

Gerino, M. 1992. Etude expérimentale de la bioturbation en milieu littoral et profond. **Thèse de Doctorat en Sciences de l'environnement Marin**. Aix-Marseille II, Université de la Méditerranée: 196p.

Gerino, M., Stora, M., Durbec, J-P. 1994. "Quantitative estimation of bioturbative and bioadvective sediment mixing: *In situ* experimental approach." **Oceanologica Acta** 175: 547-554.

Gerino, M., Aller, R. C., Lee, C., Cochran, J. K., Aller, J. Y., Green, M. A., Hirschberg, D. 1998. "Comparison of different tracers and methods used to quantify bioturbation during a spring bloom: 234-Thorium, luminophores and chlorophyll *a*." **Estuarine, Coastal and Shelf Science** 46: 531-547.

Gerino, M., Stora, G., Francois-Carcaillet, F., Gilbert, F., Poggiale, J-C., Mermillod-Blondin, F., Desrosiers, G., Vervier, P. 2003. "Macro-invertebrates functional groups in freshwater and marine sediments: a common mechanistic classification." **Vie et Milieu** 534: 221-231.

Gilbert, F. 1994. Influence de la bioturbation sur l'activité dénitrifiante dans des sédiments marins côtiers. Effet d'un apport exogène de matière organique : les hydrocarbures. **Thèse de Doctorat**. Aix-Marseille II, Université de la Méditerranée: 137 p.

Gilbert, F., Bonin, P., Stora, G. 1995. "Effect of bioturbation on denitrification in a marine sediment from the West Mediterranean littoral." **Hydrobiologia** 304: 49-58.

Gilbert, F., G. Stora, Bonin, P. 1998. "Influence of bioturbation on denitrification activity in Mediterranean coastal sediments: an *in situ* experimental approach." **Marine Ecology Progress Series** 163: 99-107.

Gilbert, F., Hulth, S., Stromberg, N., Ringdahl, K., Poggiale, J-C. 2003. "2-D optical quantification of particle reworking activities in marine surface sediments." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 285-286: 251-263.

Gilbert, F., Aller, R.C., Hulth, S. 2003. "The influence of macrofaunal burrow spacing and diffusive scaling on sedimentary nitrification and denitrification : an experimental simulation and model approach." **Journal of Marine Research** 61: 101-125.

Glud, R. N., Ramsing, N.B., Gundersen, J.K., Klimant, I. 1996. "Planar optodes: a new tool for fine scale measurement of two-dimensional O₂ distribution in benthic communities." **Marine Ecology Progress Series** 140: 217-226.

Glud, R. N., Gundersen, J.K., Roy, H., Jorgensen, B.B. 2003. "Seasonal dynamics of benthic O₂ uptake in a semienclosed bay: Importance of diffusion and faunal activity." **Limnology and Oceanography** 483: 1265-1276.

Goni-Urruza, M., de Montaudouin, X., Guyoneaud, R., Bachelet, G., de Wit, R. 1999. "Effect of macrofaunal bioturbation on bacterial distribution in marine sandy sediments, with special reference to sulphur-oxidising bacteria." **Journal of Sea Research** 41: 269-279.

Granberg, M. E., Hansen, R., Selk, H. 2005. "Relative importance of macrofaunal burrows for the microbial mineralisation of pyrene in marine sediments: impact of macrofaunal species and organic matter quality." **Marine Ecology Progress Series** 288: 59-74.

Grant, J., Thorpe, B. 1991. "Effects of suspended sediment on growth, respiration, and excretion of the Soft-Shell Clam *Mya arenaria*." **Canadian Journal of Aquatic Sciences** 48: 1285-1292.

Grémare, A. D., J. C., Rosenberg, R., David, E., Desmalades, M. 2004. "Feeding behaviour and functional response of *Abra ovata* and *A. nitida* compared by image analysis." **Marine Ecology Progress Series** 267: 195-208.

Grenz, C., Cloern, J.E., Hager, S.W., Cole, B.E. 2000. "Dynamics of nutrient cycling and related benthic nutrient and oxygen fluxes during a spring phytoplankton bloom in south San Francisco Bay USA." **Marine Ecology Progress Series** 197: 67-80.

Grenz, C., Denis, L. 2003. "Spatial variability in sediment Oxygen consumption under Winter conditions in a lagoonal system in New Caledonia South Pacific." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 285-286: 33-47.

Grossi, V., Caradec, S., Gilbert, F. 2003. "Burial and reactivity of sedimentary microalgal lipids in bioturbated Mediterranean coastal sediments." **Marine chemistry** 81: 57-69.

Gutierrez, D., Gallardo, V.A., Mayor, S., Neira, C., Vasquez, C., Sellanes, J., Rivas, M., Soto, A., Carrasco, F., Baltazar, M. 2000. "Effects of dissolved oxygen and organic matter on the bioturbation potential of macrofauna in sublittoral sediments off Central Chile during the 1997/1998 El Nino." **Marine Ecology Progress Series** 202: 81-99.

Hall, P. O. J., Hulth, S., Hulthe, G., Landen, A., Tenberg, A. 1996. "Benthic nutrient fluxes on a Basin-Wide scale in the Skagerrak North-Eastern North Sea." **Journal of Sea Research** 351-3: 123-137.

Hansen, K., King, G.M., Kristensen, E. 1996. "Impact of soft shell clam *Mya arenaria* on sulfate reduction in an intertidal sediment." **Aquatic Microbial Ecology** 10: 181-194.

Hansen, K., Kristensen, E. 1998. "The impact of the polychaete *N. diversicolor* and enrichment with macroalgal *Chaetomorpha linum* detritus on benthic metabolism and nutrient dynamics in organic-poor and organic-rich sediment." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 231: 201-223.

Hargrave, B. T. 1972. "Aerobic decomposition of sediment and detritus as a function of particle surface area and organic content." **Limnology and Oceanography** 17: 583-596.

Hector, A., Loreau, M., Schmid, B. 2002. Biodiversity manipulation experiments: studies replicated at multiple sites. **Biodiversity and ecosystems functioning: synthesis and perspectives**. M. Loreau, Naeem, S., Inchausti, P. Oxford, Oxford University Press: 36-46.

Hedges, J. I., Keil, R. G. 1995. "Sedimentary organic matter preservation : an assessment and speculative synthesis." **marine chemistry** 49: 81-115.

Heilskov, A. C., Holmer, M. 2001. "Effects of benthic fauna on organic matter mineralization in fish-farm sediments: importance of size and abundance." **ICES Journal of Marine Science** 58: 427-434.

Henrichs, S. M. 1992. "Early diagenesis of organic matter in marine sediments: progress and perplexity." **Marine chemistry** 39: 119-149.

Henriksen, K., Rasmussen, M. B., Jensen, A. 1983. "Effect of bioturbation on microbial nitrogen transformations in the sediment and fluxes of ammonium and nitrate to overlying water." **Ecol. Bull** 35: 183-205.

Henriksen, K., Hansen, J. E., Blackburn, T. H. 1980. "The influence on benthic infauna on exchange rates of inorganic nitrogen between sediment and water." **Ophelia** 1: 249-256.

Herbert, R. A. 1999. "Nitrogen cycle in coastal marine ecosystems." **FEMS Microbiology Reviews** 23: 563-590.

Hines, M. E., Orem, W.H., Jones, G.E. 1982. "Microbial activity and bioturbation induced oscillations in pore water chemistry of estuarine sediments in spring." **Nature** 299: 433-435.

Hooper, D. U., Solam, M., Symstad, A., Diaz, S., Gessner, M.O., Buchmann, N., Degrange, V., Grime, P., Hulot, F., Mermillod-Blondin, F., Roy, J., Spehn, E., Van Peer, L. 2002. Species diversity, functional diversity, and ecosystem functioning. **Biodiversity and ecosystems functioning: synthesis and perspectives**. N. M. Loreau, S., Inchausti, P. Oxford, Oxford University Press.: 195-208.

Hooper, D. U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A.J., Vandermeer, J., Wardle, D.A. 2005. "Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge." **Ecological Monographs**. 751: 3-35.

Huettel, M., Roy, H., Pecht, E., Ehrenhauss, S. 2003. "Hydrodynamical impact on biogeochemical processes in aquatic sediments." **Hydrobiologia** 494: 231-236.

Hughes, J., et Roughgarden, J. 2000. "Species diversity and biomass stability." **The American Naturalist** 155(5): 618-627.

Hulth, S., Aller, R. C., Gilbert, F. 1999. "Coupled anoxic nitrification/manganese reduction in marine sediments." **Geochimica et Cosmochimica Acta** 631: 49-66.

Hulth, S., Aller, R.C., Engstroem, P., Selander, E. 2002. A pH plate fluorosensor (optode) for early diagenetic studies of marine sediments. **Limnology and Oceanography**. Vol. 47, no. 1, 212-220.

Hulth, S. A., R.C., Canfield, D. E., Dalsgaard, T., Engstrom, P., Gilbert, F., Sundback, K., Thamdrup, B. 2005. "Nitrogen removal in marine environments: recent findings and future reasearch challenges." **Marine Chemistry**.

Hulthe, G., Hulth, S., Hall, P. O. J. 1998. "Effect of oxygen on degradation rate of refractory and labile organic matter in continental margin sediments." **Geochimica et Cosmochimica Acta** 628: 1319-1328.

Hummel, H. 1985. "Food intake of *Macoma balthica* Mollusca in relation to seasonnal changes in its potential food on a tidal flat in the dutch Wadden Sea." **Neth, J. Sea Res.** 19: 52-76.

Hummel, H., Bogaards, R. H., Bachelet, G., Caron, F., Sola, J. C., Amiard-Triquet, C. 2000. "The respiratory performance and survival of the bivalve *Macoma balthica* L. at the southern limit of its distribution area: a translocaion experiment." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 251: 85-102.

Hylleberg, J., Henriksen, K. 1980. "The central role of bioturbation in sediment mineralization and element recycling." **Ophelia** 1: 1-16.

Ingalls, A. E., Aller, R.C., Lee, C., Sun, M-Y. 2000. "The influence of deposit-feeding on *chlorophyll-a* degradation in coastal marine sediments." **Journal of Marine Research** 58: 631-651.

Jorgensen, C. B., Riisgard, H.U. 1988. "Gill pump characteristics of the soft clam *Mya arenaria*." **Marine Biology** 99: 107-109.

Jorgensen, B. B., Boudreau, B.P. 2001. Diagenesis and sediment-water exchange. **In The benthic boundary layer: transport processes and biogeochemistry**. B. P. Boudreau, Jorgensen, B.B. (Eds). Oxford University Press: 211-238.

Jorgensen, B. B., Glud, R.N., Holby, O. 2005. "Oxygen distribution and bioirrigation in Arctic fjord sediments Svalbard, Barents Sea." **Marine Ecology Progress Series** 292: 85-95.

Karlson, K. 2005. Impact of benthic macrofauna on sediment biogeochemistry - the importance of bottom water oxygen concentrations. **Thèse de Doctorat. Department of Marine Ecology Goteborg University**. Goteborg. 490p.

Karlson, K., Hulth, S., Ringdahl, K., Rosenberg, R. 2005. "Experimental recolonisation of balthic Sea reduced sediments: survival of benthic macrofauna and effects on nutrient cycling." **Marine Ecology Progress Series** 294: 35-49.

Krantzberg, G. 1985. "The influence of bioturbation on physical and biological parameters in aquatic environments : a review." **Environmental pollution** 39series d: 99-122.

Kristensen, E., Jensen, M. H., Andersen, T. K. 1984. "Effect of natural concentrations on nutrient exchange between a polychaete burrow in estuarine sediment and the overlying water." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 75: 171-190.

Kristensen, E. 1985. "Oxygen and inorganic nitrogen exchange in a *Nereis virens* Polychaeta bioturbated sediment-water system." **Journal of Coastal Research** 12: 109-116.

Kristensen, E., Jensen, M.H., Andersen, R.C. 1985. "The impact of polychaete *Nereis Virens* burrows on nitrification and nitrate reduction in estuarine sediments." **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** 85: 75-91.

Kristensen, E. 1988. Benthic fauna and biogeochemical processes in marine sediments: microbial activities and fluxes. **Nitrogen cycling in coastal marine environments**. T. H. e. S. Blackburn. Chichester, John Willey and Sons: 275-297.

Kristensen, E. 1989. "Oxygen and carbon dioxide exchange in the polychaetes *Nereis virens*: influence of ventilation activity and starvation." **Marine Biology** 101: 381-388.

Kristensen, E., Jensen, M.H., Aller, R.C. 1991. Direct measurement of dissolved inorganic nitrogen exchange and denitrification in individual polychaete (*Nereis virens*) burrows. **Journal of Marine Research**. Vol. 49, no. 2, pp. 355-377.

Kristensen, E., Ahmed, S.A., Devol, A.H. 1995. "Aerobic and anaerobic decomposition of organic matter in marine sediments. Which is faster?" **Limnology and Oceanography** 40: 1430-1437.

Kristensen, E., Hansen, K. 1995. "Decay of plant detritus in organic-poor marine sediments: production rates and stoichiometry of dissolved C and N compounds." **Journal of Marine Research** 53: 675-702.

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

Kristensen, E., Mikkelsen, O.L. 2003. "Impact of the burrow-dwelling polychaete *Nereis diversicolor* on the degradation of fresh and aged macroalgal detritus in a coastal marine sediment." **Marine Ecology Progress Series** 265: 141-153.

Kristensen, E. Holmer, M. 2001. "Decomposition of plant materials in marine sediment exposed to different electron acceptors O_2 , NO_3^- and SO_4^{3-} with emphasis on substrate origin, degradadion kinetics, and the role of bioturbation." **Geochimica et Cosmochimica Acta** 653: 419-433.

Lawton, J. 1991. "Are species useful?" **Oikos** 62: 3-4.

- Lawton, J. H. 1994. "What do species do in ecosystems?" **Oikos** 71: 367-374.
- Legendre, P., and Legendre, L.. 1998. Numerical ecology. 2nd ed. Elsevier Science. BV. Amsterdam.
- Lehtoranta, J., Heiskanen, A-S. 2003. "Dissolved iron:phosphate ratio as an indicator of phosphate release to oxic water of the inner and outer coastal Baltic Sea." **Hydrobiologia** 492: 69-84.
- Lewis, D. E., Cerrato, R. M. 1997. "Growth uncoupling and the relationship between shell growth and metabolism in the soft shell clam *Mya arenaria*." **Marine Ecology Progress Series** 158: 177-189.
- Lohrer, A. M., Thrush, S.F., Gibbs, M.M. 2004. "Bioturbators enhance ecosystem function through complex biogeochemical interactions." **Nature** 431: 1092-1095.
- Loreau, M., et Hector, A. 2001. "Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments." **Nature** 412: 72-76.
- Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J.P., Hector, A., Hooper, D.U., Huston, M.A., Raffaelli, D., Schmid, B., Tilman, D., Wardle, D.A. 2001. "Biodiversity and ecosystems functioning: current knowledge and challenges." **Science** 294: 804-808.
- Mahault, M.-L., Graf, G. 1987. "A luminophore tracer technique for bioturbation studies." **Oceanologica Acta** 103: 323-328.
- Marinelli, R. L. 1994. "Effects of burrow ventilation on activities of a terebellid polychaete and silicate removal from sediment pore waters." **Limnology and Oceanography** 39: 303-317.
- Marinelli, R. L., Boudreau, B.P. 1996. "An experimental and modelling study of pH and related solutes in an irrigated anoxic coastal sediment." **Journal of Marine Research** 54: 939-966.
- Marinelli, R. L., Williams, T.J. 2003. "Evidence for density-dependent effects of infauna on sediment biogeochemistry and benthic-pelagic coupling in nearshore systems." **Estuarine, Coastal and Shelf Science** 57: 179-192.
- Mathieson, A. C. a. N., P. H. 1991. **Intertidal and littoral ecosystems**, Elsevier, Amsterdam.
- Mayer, M. S., Schaffner, L., Kemp, M. W. 1995. "Nitrification potentials of benthic macrofaunal tubes and burrows walls: effect of sediment NH_4^+ and animal irrigation behavior." **Marine Ecology Progress Series** 121: 157-169.

McGrady-Steed, J., Harris, P.M., Morin, P.J. 1997. "Biodiversity regulates ecosystem predictability." **Nature** 390: 162-165.

McGrady-Steed, J., Morin, P.J. 2000. "Biodiversity, density compensation, and the dynamic of populations and functional groups." **Ecology** 812: 361-373.

Mermillod-Blondin, F., Gérino, M., Degrange, V., Iensi, R., Chassé, J.L., Rard, M., Creuzé des Chateliers, M. 2001. "Testing the functional redundancy of *Limnodrilus* and *tubifex* Oligochaeta, Tubificidae in hyporheic sediments: an experimental study in microcosms." **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** 58: 1747-1759.

Mermillod-Blondin, F., Marie, S., Desrosiers, G., Long, B., de Montety, L., Michaud, E., Stora, G. 2003. "Assessment of the spatial variability of intertidal benthic communities by axial tomodesitometry: importance of fine-scale heterogeneity." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 287: 193-208.

Mermillod-Blondin, F., Gaudet, J.P., Gérino, M., Desrosiers, G., Creuzé des Châtelières, M. 2003. "Influence of macroinvertebrates on physical-chemical and microbial processes in hyporheic sediments." **Hydrological processes** 17: 779-794.

Mermillod-Blondin, F., Rosenberg, R., François, F., Norling, K., Mauclair, L. 2004. "Influence of bioturbation by three benthic species on microbial communities and biogeochemical processes in marine sediment." **Aquatic Microbial Ecology** 36: 271-284.

Mermillod-Blondin, F., Gérino, M., Sauvage, S., Creuzé des Châtelières, M. 2004. "Influence of nontrophic interactions between benthic invertebrates on river sediment processes: a microcosm study." **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** 61: 1817-1831.

Mermillod-Blondin, F., François-Carcaillet, F., Rosenberg, R. 2005. "Biodiversity of benthic invertebrates and organic matter processing in shallow marine sediments: an experimental study." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 315: 187-209.

Michaud, E., Desrosiers, G., Long, B., de Montety, L., Crémer, J.F., Pelletier, E., Locat, J., Gilbert, F., Stora, G. 2003. "Use of axial tomography to follow temporal changes of benthic communities in an unstable sedimentary environment (baie des Ha! Ha!, Saguenay fjord)." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 285-286: 265-282.

Michaud, E., Desrosiers, G., Mermillod-Blondin, F., Sundby, B., Stora, G. 2005. "The functional group approach to bioturbation: The effects of biodiffusers and gallery-diffusers of the *Macoma balthica* community on sediment oxygen uptake." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 326: 77-88.

Michaud, E., Desrosiers, G., Mermillod-Blondin, F., Sundby, B., Stora, G. 2006. "The functional group approach to bioturbation: II. The effects of the *Macoma balthica* community on fluxes of nutrients and dissolved organic carbon across the sediment-water interface." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 337: 178-189.

Miron, G., Desrosiers, G. 1990. "Distribution and population structures of two estuarine polychaetes in the St. Lawrence Estuary, with special reference to environmental factors." **Marine Biology** 105: 297-306.

Miron, G., Desrosiers, G., Retière, C., Lambert, R. 1991. "Évolution spatio-temporelle du réseau de galeries chez le polychète *N. virens* en relation avec la densité." **Canadian Journal of Zoology** 69: 39-42.

Miron, G. D., G., Retière, C. Lambert, R. 1991. "Dispersion and prospecting behaviour of the polychaete *Nereis virens* Sars as a function of density." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 145: 65-77.

Miron, G., Desrosiers, G., Retière, C., Masson, S. 1992. "Variations in time budget of the polychaete *Nereis virens* as a function of density and acclimation after introduction to a new burrow." **Marine Biology** 114: 41-48.

Mozeto, A. A., Silverio, P. F., Soares, A. 2001. "Estimates of benthic fluxes of nutrients across the sediment-water interface Guarapiranga reservoir, Sao Paulo, Brazil." **The Science of the Total Environment** 266: 135-142.

Naeem, S. 1998. "Species redundancy and ecosystem reliability." **Conservation Biology** 12: 39-45.

Nedwell, D. B. 1984. "The input and mineralisation of organic carbon in anaerobic aquatic sediments." **Advances in Microbiology** 7: 93-132.

Nerhing, S., Jensen, P., Lorenzen, S. 1990. "Tube-dwelling nematodes : tube construction and possible ecological effects on sediment water-interface." **Marine Ecology Progress Series** 64: 123-128.

Nilsson, P., Jonsson, B., Lindstrom Swandberg, I., Sunback, K. 1991. "Response of a marine shallow water sediment system on an increased load of inorganic nutrients." **Marine Ecology Progress Series** 71: 275-290.

Olafsson, E. 2003. "Do macrofauna structure meiofauna assemblages in marine soft-bottoms? A review of experimental studies." **Vie Milieu** 534: 249-265.

Olafsson, E., Ullberg, J., Arroyo, N.L. 2005. "The clam *Macoma balthica* prevents in situ growth of microalgal mats: implications for meiofauna assemblages." **Marine Ecology Progress Series** 298: 179-188.

Olenin, S. 1997. "Benthic zonation of the eastern Gotland Basin, Baltic Sea." **Netherlands Journal of Aquatic Ecology**. 30: 265-282.

Olivier, M., Desrosiers, G., Caron, A., Retière, C. 1996. "Juvenile growth of the polychaete *Nereis virens* feeding on a range of marine vascular and macroalgal sources." **Marine Biology** 125: 693-699.

Ouelette, D., Desrosiers, G., Gagné, J. P., Gilbert, F., Poggiale, J-C., Blier, P., Stora, G. 2004. "Effects of temperature on *in vitro* sediment reworking processes by a gallery biodiffusor, the polychaete *Neanthes virens*." **Marine Ecology Progress Series** 266: 185-193.

Padilla, D. K., Allen, B.J. 2000. "Paradigm lost: reconsidering functional from and group hypotheses in marine ecology." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 250: 207-221.

Pauly, D., Christensen, V. 1995. "Primary production required to sustain global fisheries." **Nature** 374: 255-257.

Pearson, T. H. et Rosenberg, R. 1987. Feast and Famine : structuring factors in marine benthic communities. Organisation of communities past and present. **The 27 Th Symposium of the British Ecological society, Aberystwyth.**

Pearson, T. H. 2001. "Functional group ecology in the soft-sediment marine benthos: the role of biturbation." **Oceanography Marine Biology Annual Review** 39: 233-267.

Pelegri, S. P., Blackburn, T. H. 1995. "Effect of bioturbation by *Nereis* sp., *Mya arenaria*, and *Cerastoderma* sp. on nitrification and denitrification in estuarine sediments." **Ophelia** 42: 289-299.

Penniford, M., Davis, J. 2001. "Macrofauna and nutrients cycling in the Swan River Estuary, Western Australia: experimental results." **Hydrological Processes** 15: 2537-2553.

Persoone, G. 1971. "A simple volumeter for small invertebrates." **Helgolander Wiss. Meeresunters.** 22: 141-143.

Philippart, C. J. M., Van Aken, H.M., Beukema, J.J., Bos, O.G., Cadée, G.C., Dekker, R. 2003. "Climate-related changes in recruitment of the bivalve *Macoma balthica*." **Limnology and Oceanography** 486: 2171-2185.

Posey, M. H. 1990. "Functional approaches to soft-substrate communities: How useful are they?" **Aquatic Sciences** 23,4: 343-356.

Raffaelli, D., Emmerson, M., Solan, M., Biles, C., Paterson, D. 2003. "Biodiversity and ecosystem processes in shallow coastal waters: an experimental approach." **Journal of Sea Research** 49: 133-141.

Reise, K. 1981. "High abundance of small zoobenthos around biogenic structures in tidal sediments of the Wadden Sea." **Helgolander Meeresuntersuchungen** 34: 413-425.

Reise, K. 1983. "Biotic enrichment of intertidal sediments by experimental aggregates of the deposit-feeding bivalve *Macoma balthica*." **Marine Ecology Progress Series** 12: 229-236.

Reise, K., 1985. Tidal flat ecology. An experimental approach to species interactions. Springer-Verlag, Berlin. 191 pp.

Reise, K. 2002. "Sediment mediated species interactions in coastal waters." **Journal of Sea Research** 48: 127-141.

Revsbech, N. P., Sorensen, T.H., Blackburn, T.H., Lomholt, J.P. 1980. "Distribution of oxygen in marine sediments measured with a microelectrode." **Limnology and Oceanography** 25: 403-411.

Richard, M., Archambault, P., Thouzeau, G., Desrosiers, G. "Summer influence of 1- and 2-yr-old mussel cultures on benthic fluxes in Grande-Entrée Lagoon, îles de la Madeleine (Québec, Canada)." **Soumis dans Marine Ecology Progress Series**.

Rhoads, D. C. 1974. "Organism-sediment relations on the muddy sea floor." **Oceanography Marine Biology Annual Review** 12: 263-300.

Rhoads, D. C., Aller, R.C., Golhaber, M.B. 1977. The influence of colonizing macrobenthos on physical properties and chemical diagenesis of the estuarine seafloor. **Ecology of marine benthos**. B. C. Coull, Carolina press: 467.

Rhoads, D. C., Young, D. G. 1970. "The influence of deposit feeding organisms on sediment stability and community trophic structure." **Journal of Marine Research** 28: 150-178.

Rhoads, D.C., Germano, J.D. 1982. Characterization of organisms-sediment relations using sediment profile imaging: an efficient method of remote sensing ecological monitoring of the seafloor (REMOTS system). **Marine Ecology Progress Series** 8, 115-128.

Riaux-Gobin, C., Klein, B. 1993. **Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology**. In: Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B., Cole, J.J. (Eds). Microphytobenthic biomass measurement using HPLC and conventional pigment analysis. Lewis Publishers Inc., Boca Raton: 369-376.

Roseberry, L., Vincent, B., Lemaire, C. 1991. "Croissance et reproduction de *Mya arenaria* dans la zone intertidale de l'estuaire maritime du St Laurent." **Canadian journal of Zoology** 69: 724-732.

Rosenberg, R. 2001. "Marine benthic faunal successional stages and related sedimentary activities." **Scientia Marina** 652: 107-119.

Roy, H., Huttel, M., Jorgensen, B. B. 2002. "The role of small-scale sediment topography for oxygen flux across the diffusive boundary layer." **Limnology and Oceanography** 473: 837-847.

Roy, H., Huettel, M., Jorgensen, B.B. 2005. "The influence of topography on the functional exchange surface of marine soft sediments, assessed from sediment topography measured *in situ*." **Limnology and Oceanography** 501: 106-112.

Rysgaard, S., Christensen, P. B., Sørensen, M. V., Funch, P., Berg, P. 2000. "Marine meiofauna, carbon and nitrogen mineralisation in sandy and soft sediments of Disko Bay, West Greenland." **Aquatic Microbial Ecology** 21: 59-71.

Santschi, P., Hohener, P., Gaboury, B., Buchlotz-ten Brink, M. 1990. "Chemical processes at the sediment-water interface." **Marine chemistry** 30: 269-315.

Schaffner, L. C. 1990. "Small-scale organisms distributions and patterns of species diversity: evidence for positive interactions in an estuarine benthic community." **Marine Ecology Progress Series** 61: 107-117.

Schwinghamer, P., Hargrave, B., Peer, D., Hawkins, C. M. 1986. "Partitioning of production and respiration among size groups of organisms in an intertidal benthic community." **Marine Ecology Progress Series** 31: 131-142.

Shull, D., Yasuda, M. 2001. "Size-selective downward particle transport by cirratulid polychaetes." **Journal of Marine Research** 59: 453-473.

Smith, J. N., Boudreau, B. P., Noshkin, V. 1986. "Plutonium and ²¹⁰Pb distributions in Northeast Atlantic sediments subsurface anomalies caused by non local mixing." **Earth and Planetary Sciences letters** 281: 15-28.

Solan, M., Kennedy, R. 2000. "Observation and quantification of *in situ* animal-sediment relations using time-lapse sediment profile imagery t-SPI." **Marine Ecology Progress Series** 228: 179-191.

Solan, M., Cardinale, B.J., Downing, A.L., Engelhardt, K.A.M., Ruesink, J.L., Srivastava, D.S. 2004. "Extinction and Ecosystem Function in Marine Benthos." **Science** 306: 1177-1180.

Solan, M., Wigham, B.D., Hudson, I.R., Kennedy, R., Coulon, C.H., Norling, K., Nilsson, H.C., and Rosenberg, R. 2004. "In situ quantification of bioturbation using time-lapse fluorescent sediment profile imaging f-SPI, luminophore tracers and model simulation." **Marine Ecology Progress Series** 271: 1-12.

Solorzano, L. 1969. "Determination of ammonia in natural waters by the phenol-hypochlorite method." **Limnology and Oceanography** 14: 799-801.

Stief, P. d. B., D. 2002. "Bioturbation effects of *chironomus riparius* on the benthic N-cycle as measured using microsensors and microbiological assays." **Aquatic Microbiology Ecology** 27: 175-185.

Stoeck, T., Kroncke, I. 2001. "Influence of particle mixing on vertical profiles of chlorophyll a and bacterial biomass in sediments of the German Bight, Oyster Ground and Dogger Bank North Sea." **Estuarine, Coastal and Shelf Science** 52: 783-795.

Strickland, J. D., Parsons, T.R. 1978. **A practical handbook of sea water analysis**.

Sun, M.-Y., Aller, R.C., Lee, C., Wakeham, S.G. 2002. "Effects of oxygen and redox oscillation on degradation of cell-associated lipids in surficial marine sediments." **Geochimica et Cosmochimica Acta** 66: 2003-2012.

Sun, Y., Torgersen, T. 2001. "Adsorption-desorption reactions and bioturbation transport of ^{224}Ra in marine sediments: a one-dimensional model with applications." **Marine Chemistry** 74: 227-243.

Sundback, K., Enoksson, V., Graneli, W., Pettersson, K. 1991. "Influence of sublittoral microphytobenthos on the oxygen and nutrient flux between sediment and water: a laboratory continuous-flow study." **Marine Ecology Progress Series** 74: 263-279.

Sundby, B., Anderson, L.G., Hall, P.O., Iverfeldt, A., Van der Loeff, R.M.M., Westerlund, S.T.F.G. 1986. "The effect of oxygen on release and uptake of cobalt, manganese, iron, and phosphate at the sediment-water interface." **Geochimica et Cosmochimica Acta** 50: 1281-1288.

Sundby, B., Gobeil, C., Silverberg, N., Mucci, A. 1992. "The phosphorus cycle in coastal marine sediments." **Limnology and Oceanography** 37: 1129-1145.

Swift, D. J. 1993. "The macrobenthic infauna off Sellafield (north-eastern Irish sea) with special reference to bioturbation." **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom** 73: 143-162.

Thayer, C. W. 1979. "Biological bulldozers and the evolution of marine benthic communities." **Science** 203: 458-461.

Thayer, C. W. 1983. Sediment-mediated biological disturbance and evolution of marine benthos. **Benthic Communities**. M. J. S. Teves, Mc Call, P.L.. New York, Plenum Press: 479.

Thorin, S., Bourdages, H., Vincent, B. 1998. "Study of siphon activity in *Mya arenaria* L. in the intertidal zone by means of an underwater video camera." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 224: 205-224.

Thorson, G. 1957. "Bottom communities sublittoral or shallow shelf." **Geol. Soc. Am. Memoir** 671: 461-534.

Tita, G., Desrosiers, G., Vincz, M. 2000. "Sediment disturbance and predation of the intertidal polychaete *Nereis virens* sars on the associated meiofaunal assemblages." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 243: 261-282.

Tita, G., Desrosiers, G., Vincz, M., Clément, M. 2002. "Intertidal meiofauna of the St Lawrence estuary Quebec, Canada : diversity, biomass and feeding structure of nematodes assemblages." **J. Mar. Biol. Ass. U.K** 82: 779-791.

UNESCO 2000. **Développements urbains durables en zone côtière**. Actes du séminaire international., UNESCO Paris, Madhia, Tunisie.

Van Duyl, F. C., Kop, A. J., Kok, A., Sandee, A. J. J. 1992. "The impact of organic matter and macrozoobenthos on bacterial and oxygen variables in marine sediment boxcosms." **Netherlands Journal of Sea research** 294: 343-355.

Vincent, B., Brassard, C., Harvey, M. 1987. "Variations de la croissance de la coquille et de la structure d'âge du bivalve *Macoma balhica* (L.) dans une population intertidale de l'estuaire du Saint-Laurent (Québec)." **Canadian Journal of Zoology** 65: 1906-1916.

Waldbusser, G., Marinelli, R., Whitlatch, R.B., Visscher, P.T. 2004. "The effects of infaunal biodiversity on biogeochemistry of coastal marine sediments." **Limnology and Oceanography** 495: 1482-1492.

Ward, J. E., Shumway, S.E. 2004. "Separating the grain from the chaff: particle selection in suspension and deposit-feeding bivalves." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 300: 83-130.

Wardle, D. A. 1999. "Is sampling effect a problem for experiments investigating biodiversity-ecosystem function relationships?" **Oikos** 872: 403-410.

Wardle, D. A., Bonner, K.I., Barker, G.M. 2000. "Stability of ecosystem properties in response to above-ground functional group richness and composition." **Oikos** 89: 11-23.

Welsh, D. 2003. "It's a dirty job but someone has to do it: the role of marine benthic macrofauna in organic matter turnover and nutrient recycling to the water column." **Chemistry and Ecology**: 1-22.

Welsh, D. T., Bartoli, M., Nizzoli, D., Castaldelli, G., Riou, S., Viarolli, P. 2000. "Denitrification, nitrogen-fixation, community primary productivity and inorganic-N and oxygen fluxes in an intertidal *Zostera noltii* meadow." **Marine Ecology Progress Series** 208: 65-77.

Wenzhofer, F., Glud, R.N. 2004. "Small-scale spatial and temporal variability in coastal benthic O₂ dynamics: effects of fauna activity." **Limnology and Oceanography** 495: 1471-1481.

Widdicombe, S., Austen, M.C., Kendall, R.M., Jones, M.B. 2000. "Bioturbation as a mechanism for setting and maintaining levels of diversity in subtidal macrobenthic communities." **Hydrobiologia** 440: 369-377.

Widdicombe, S., Austen, M.C., Kendall, M.A., Olsford, F., Schaanning, M.T., Dashfield, S.L., Needham, H.R. 2004. "Importance of bioturbators for biodiversity maintenance: indirect effects of fishing disturbance." **Marine Ecology Progress Series** 275: 1-10.

Widdows, J., Brown, S., Brinsley, M.D., Salkeld, P.N., Elliot, M. 2000. "Temporal changes in intertidal sediment erodability: influence of biological and climatic factors." **Continental Shelf Research** 20:10-11: 1275-1289.

Widdows, J., Brinsley, M. 2002. "Impact of biotic and abiotic processes on sediment dynamics and the consequences to the structure and functioning of the intertidal zone." **Journal of Sea Research**. 48: 143-156.

Woodin 1976. "Adult-larvae interactions in dense infaunal assemblages: patterns of abundance." **Journal of Marine Research** 34:1: 25-41.

Woodin, S. A., Jackson, J.B.C. 1979. "Interphyletic competition among marine benthos." **American Zoologist** 19: 1029-1043.

Yingst, J. Y., Rhoads, D.C. 1980. The role of bioturbation in the enhancement of microbial turnover rates in marine sediments. **Marine benthic dynamics**. K. R. Tenore, Coull, B.C. Columbia, University of South Carolina Press: 407-422.

Zaklan, S., Ydenberg, R. 1997. "The body size burial depth relationship in the infaunal clam *Mya arenaria*." **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 215: 1-17.

Zar, J. H. 1998. **Biostatistical analysis**. Prentice-Hall, Upper Saddle River, New-Jersey. 664p.

Zhu, Q., Aller, R.C., Fan, Y. 2005. "High-performance planar pH fluorosensor for two-dimensional pH measurements in marine sediment and water." **Environmental Sciences and Technology**. Vol. 39, no. 22, pp. 8906-8911.

Zhu, Q., Aller, R.C., and Fan, Y. 2006. "A new ratiometric, planar fluorosensor for measuring high resolution, two-dimensional pCO_2 distributions in marine sediments." **Marine chemistry**. Vol. 101, 1-2, 40-53.

ANNEXES: Exemples de données brutes de concentrations en O₂

Annexe 1: Données brutes des concentrations en oxygène (mg/L) obtenues dans les 30 mL d'eau surnageante des **trois carottes contrôle** en fonction du temps (0h; 0,5h; 1h; 1,5h; 2h) aux jours 12, 20, 28, et 36, à partir de la technique de titration Micro-Winkler. Le volume total de l'eau surnageante de chaque carotte est indiqué, ainsi que la concentration en oxygène mesurée dans chaque nourrice (réservoir rempli d'eau de mer). L'ensemble de ces données a permis de calculer la concentration finale en oxygène (μM) après avoir soustrait l'effet dilution apporté par l'eau de la nourrice. Cette concentration finale n'est pas indiquée ici. Les données brutes de COD et sels nutritifs sont disponibles sur demande.

Contrôle		Jour 12	Jour 20	Jour 28	Jour 36
	temps (H)	O ₂ (mg/L)	O ₂ (mg/L)	O ₂ (mg/L)	O ₂ (mg/L)
carotte D	0	1,5	1,75	1,7	1,85
	0,5	1,35	1,7	1,65	1,8
	1	1,25	1,45	1,65	1,65
	1,5	1,2	1,35	1,35	1,65
	2	1	1,30	1,3	1,6
<i>Vol. Eau surn. (mL)</i>		157	196,25	196,25	196,25
<i>O₂ (mg/L) nourrice</i>		1,45	1,37	1,57	1,79
carotte N	0	1,6	1,5	2,05	1,9
	0,5	1,5	1,35	1,95	1,7
	1	1,4	1,2	1,85	1,5
	1,5	1,25	1,25	1,75	1,4
	2	1	1,2	1,70	1,5
<i>Vol. Eau surn. (mL)</i>		157	157	157	157
<i>O₂ (mg/L) nourrice</i>		1,37	1,18	1,77	1,49
carotte R	0	1,55	1,55	2,2	1,95
	0,5	1,5	1,35	1,85	1,85
	1	1,2	1,3	1,75	1,5
	1,5	1,2	1,25	1,75	1,55
	2	1,1	1,2	1,7	1,5
<i>Vol. Eau surn. (mL)</i>		157	196,25	196,25	196,25
<i>O₂ (mg/L) nourrice</i>		1,37	1,42	1,74	1,5

Annexe 2: Données brutes des concentrations en oxygène (mg/L) obtenues dans les 30 mL d'eau surnageante des **trois carottes *M. balthica*** en fonction du temps (0h; 0,5h; 1h; 1,5h; 2h) aux jours 12, 20, 28, et 36, à partir de la technique de titration Micro-Winkler. Le volume total de l'eau surnageante de chaque carotte est indiqué, ainsi que la concentration en oxygène mesurée dans chaque nourrice (réservoir rempli d'eau de mer). L'ensemble de ces données a permis de calculer la concentration finale en oxygène (μM) après avoir soustrait l'effet dilution apporté par l'eau de la nourrice. Cette concentration finale n'est pas indiquée ici. Les données brutes de COD et sels nutritifs sont disponibles sur demande.

<i>M. balthica</i>		Jour 12	Jour 20	Jour 28	Jour 36
	temps (H)	O_2 (mg/L)	O_2 (mg/L)	O_2 (mg/L)	O_2 (mg/L)
carotte F	0	1,7	1,65	1,75	2
	0,5	1,55	1,4	1,7	1,9
	1	1,35	1,3	1,5	1,75
	1,5	1,2	1,3	1,4	1,65
	2	1,3	1,25	1,3	1,6
<i>Vol. Eau surn. (mL)</i>		157	274,75	274,75	274,75
<i>O_2 (mg/L) nourrice</i>		1,38	1,34	1,37	1,63
carotte U	0	2	1,45	2	2,2
	0,5	1,9	1,35	1,7	1,85
	1	1,8	1,35	1,7	1,8
	1,5	1,6	1,3	1,55	1,75
	2	1,6	1,20	1,6	1,75
<i>Vol. Eau surn. (mL)</i>		157	235,5	235,5	235,5
<i>O_2 (mg/L) nourrice</i>		1,58	1,57	1,69	1,73
carotte V	0	2	1,6	1,8	2
	0,5	1,9	1,5	1,7	1,9
	1	1,8	1,35	1,6	1,75
	1,5	1,5	1,3	1,4	1,7
	2	1,6	1,27	1,45	1,6
<i>Vol. Eau surn. (mL)</i>		157	196,25	196,25	196,25
<i>O_2 (mg/L) nourrice</i>		1,57	1,33	1,56	1,64

Annexe 3: Données brutes des concentrations en oxygène (mg/L) obtenues dans les 30 mL d'eau surnageante des **trois carottes *M. arenaria*** en fonction du temps (0h; 0,5h; 1h; 1,5h; 2h) aux jours 12, 20, 28, 36, à partir de la technique de titration Micro-Winkler. Le volume total de l'eau surnageante de chaque carotte est indiqué, ainsi que la concentration en oxygène mesurée dans chaque nourrice (réservoir rempli d'eau de mer). L'ensemble de ces données a permis de calculer la concentration finale en oxygène (μM) après avoir soustrait l'effet dilution apporté par l'eau de la nourrice. Cette concentration finale n'est pas indiquée ici. Les données brutes de COD et sels nutritifs sont disponibles sur demande.

<i>M. arenaria</i>		Jour 12	Jour 20	Jour 28	Jour 36
	temps (H)	<i>O₂</i> (mg/L)	<i>O₂</i> (mg/L)	<i>O₂</i> (mg/L)	<i>O₂</i> (mg/L)
carotte C	0	1,65	1,6	2	2
	0,5	1,55	1,5	1,45	1,75
	1	1,5	1,4	1,6	1,8
	1,5	1,1	1,1	1,3	1,5
	2	1,25	1,2	1,6	1,65
<i>Vol. Eau surn. (mL)</i>		157	196,25	235,5	196,25
<i>O₂</i> (mg/L) nourrice		1,41	1,37	1,56	1,72
carotte S	0	1,65	1,75	2,2	2,05
	0,5	1,5	1,35	2	1,95
	1	1,45	1,25	1,85	1,95
	1,5	1,1	1,2	1,65	1,35
	2	1,3	1,4	1,75	1,65
<i>Vol. Eau surn. (mL)</i>		157	196,25	196,25	196,25
<i>O₂</i> (mg/L) nourrice		1,57	1,37	1,72	1,64
carotte X	0	2,05	1,6	2,3	2,05
	0,5	1,95	1,5	2,1	1,9
	1	1,9	1,35	1,85	1,8
	1,5	1,65	1,3	1,8	1,5
	2	1,6	1,25	1,8	1,6
<i>Vol. Eau surn. (mL)</i>		157	196,25	196,25	196,25
<i>O₂</i> (mg/L) nourrice		1,76	1,49	1,82	1,70

Annexe 4: Données brutes des concentrations en oxygène (mg/L) obtenues dans les 30 mL d'eau surnageante des **trois carottes *N. virens*** en fonction du temps (0h; 0,5h; 1h; 1,5h; 2h) aux jours 12, 20, 28, et 36, à partir de la technique de titration Micro-Winkler. Le volume total de l'eau surnageante de chaque carotte est indiqué, ainsi que la concentration en oxygène mesurée dans chaque nourrice (réservoir rempli d'eau de mer). L'ensemble de ces données a permis de calculer la concentration finale en oxygène (μM) après avoir soustrait l'effet dilution apporté par l'eau de la nourrice. Cette concentration finale n'est pas indiquée ici. Les données brutes de COD et sels nutritifs sont disponibles sur demande.

<i>N. virens</i>		Jour 12	Jour 20	Jour 28	Jour 36
	temps (H)	O_2 (mg/L)	O_2 (mg/L)	O_2 (mg/L)	O_2 (mg/L)
carotte A	0	1,62	1,75	1,9	1,5
	0,5	1,55	1,5	1,7	1,25
	1	1,5	1,4	1,6	1,3
	1,5	1,3	1,15	1,3	1,1
	2	1,25	1,25	1,4	1,1
<i>Vol. Eau surn. (mL)</i>		157	235,5	274,75	274,75
O_2 (mg/L) nourrice		1,5	1,62	1,74	1,74
carotte J	0	1,7	1,6	1,85	1,65
	0,5	1,65	1,25	1,1	1,45
	1	1,6	1,2	1,3	1,2
	1,5	1,2	1,15	1,2	1,05
	2	1,35	1,1	1,4	1,3
<i>Vol. Eau surn. (mL)</i>		157	235,5	274,75	274,75
O_2 (mg/L) nourrice		1,37	1,29	1,77	1,69
carotte L	0	1,75	1,5	1,75	1,7
	0,5	1,65	1,25	1,25	1,6
	1	1,5	1,15	0,95	1,15
	1,5	1,2	1	0,9	1
	2	1,4	1,15	1,1	1,25
<i>Vol. Eau surn. (mL)</i>		157	196,25	196,25	196,25
O_2 (mg/L) nourrice		1,37	1,21	1,76	1,70