

## Introduction

Le développement humain et industriel autour de l'étang de Berre (Bouches du Rhône, France) s'est accompagné de l'accumulation dans les sédiments de contaminants organiques et minéraux principalement associés à la phase particulaire. Le programme de recherche BERTOX (Action sur projet EC2CO, Ecosphère Continentale et Côtière) a été initié depuis 2010 afin d'améliorer la connaissance sur les liens entre contaminants, dynamiques biogéochimiques des sédiments et impacts sur les macrofaunes benthiques. Il s'agit ici d'évaluer l'effet des contaminants sur les diversités taxonomique et fonctionnelle des microflore sédimentaires et sur celles associées à la macrofaune, en tenant compte des échelles spatiales et temporelles.

## Site d'étude et prélèvements

Des échantillons de macrofaune (présentée ci dessous et les carottes sédimentaires ont été collectés en juin 2010, novembre 2010 et avril 2011, sur deux stations contaminées (V et VN), et deux stations « témoin », dans une partie où la macrofaune est plus abondante (B9 et H).



*Mytilus galloprovincialis*



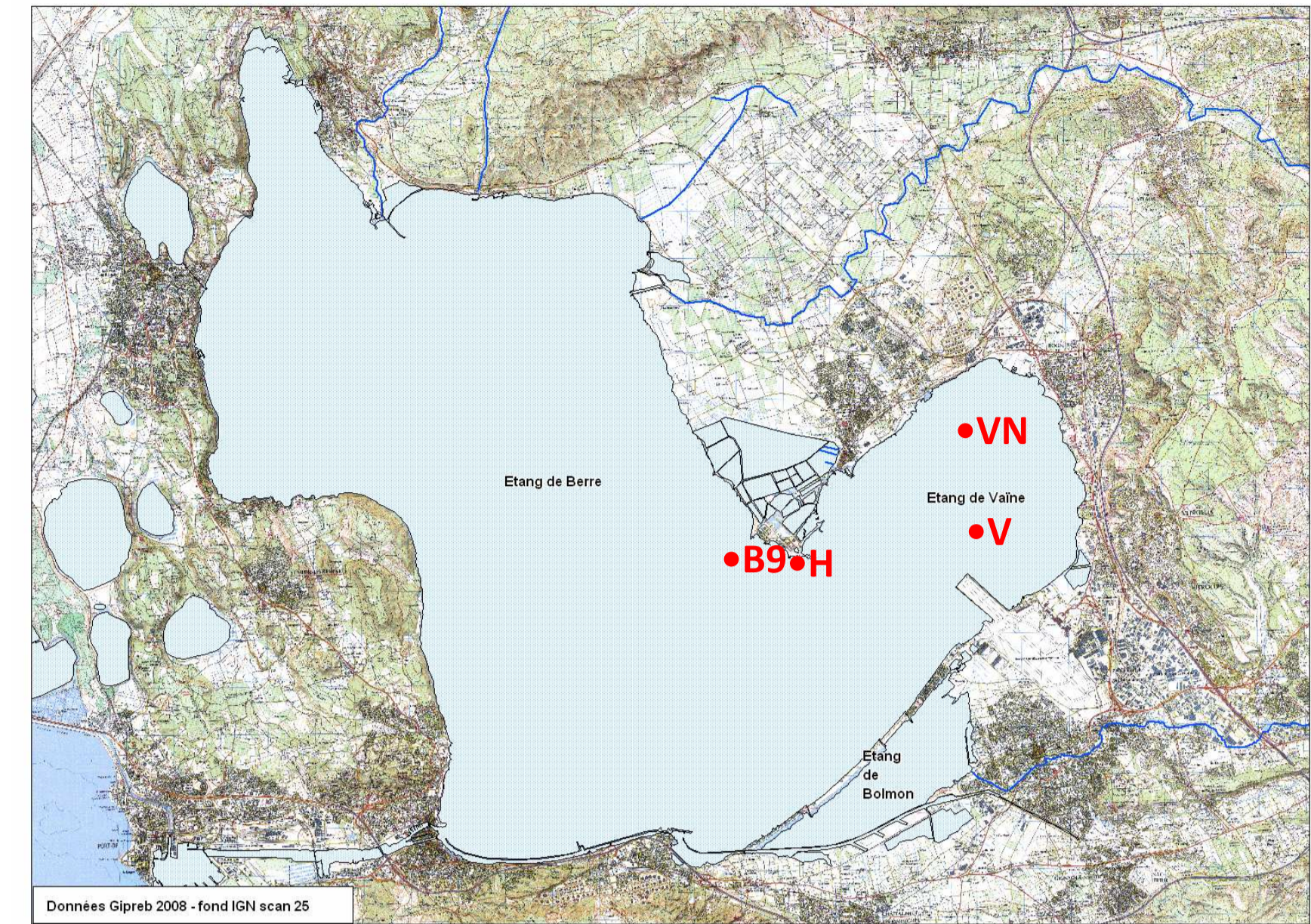
*Hediste succinea*



*Musculista senhousia*



*Cerastoderma sp.*



## Traitement des échantillons et analyses de diversité

- Les microflore ont été extraites de chaque échantillon de **sédiment**, des **fluides extrapalléaux** et des **tissus animaux**.
- La **diversité fonctionnelle** des communautés microbiennes a été étudiée grâce au système BIOLOG Ecoplate® permettant de suivre la croissance microbienne à partir de 31 sources de carbone ciblant le métabolisme aérobie (Figure 1).
- La **diversité moléculaire** a été établie en séquenceur capillaire par géotypage moléculaire de l'ITS de l'opéron ribosomique (PCR ARISA, Figure 3).

## Diversité fonctionnelle

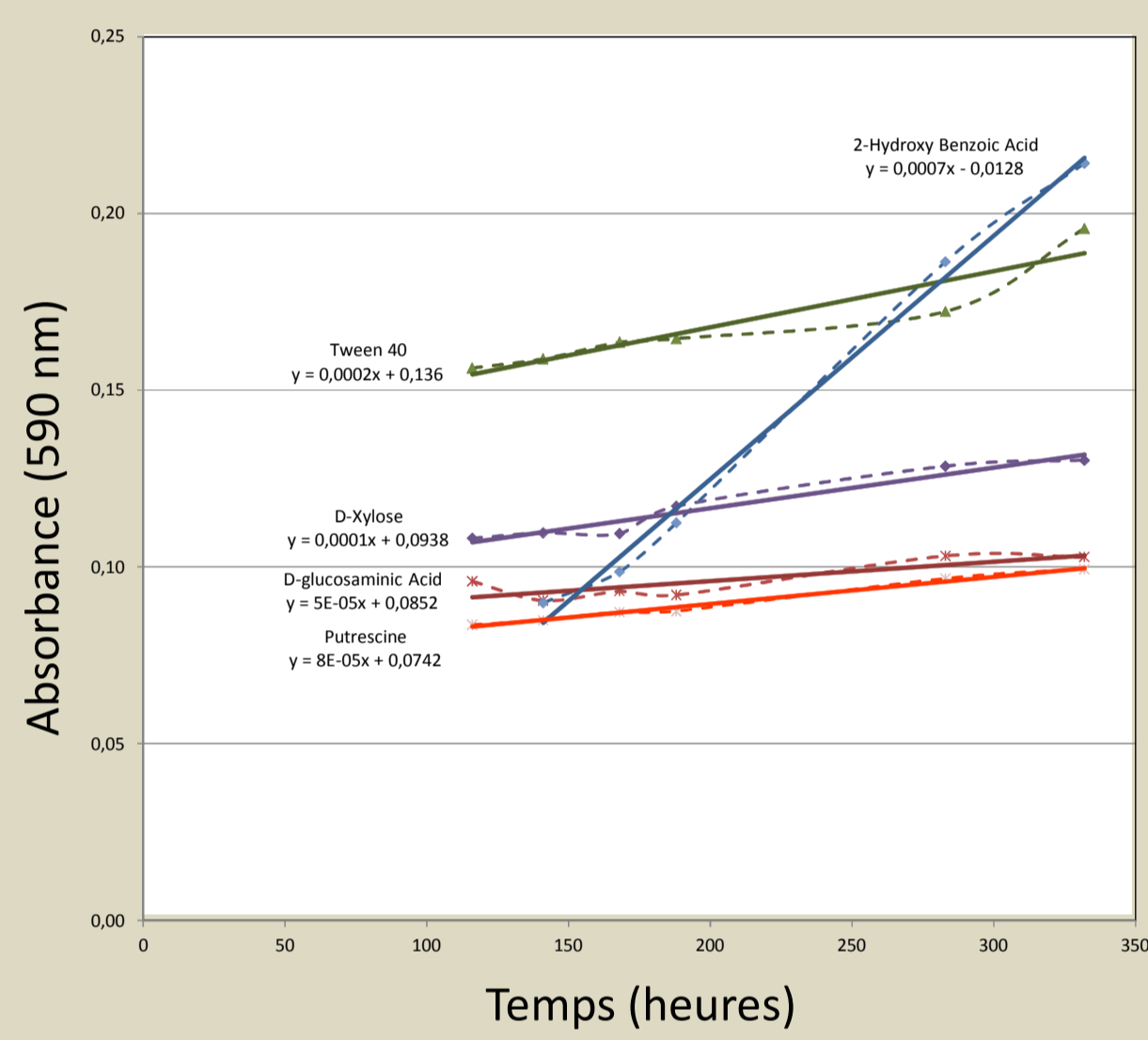


Figure 1. Exemple de mesures de la capacité des microorganismes à dégrader les 31 substrats présents sur le système Biolog® Ecoplate, pour un échantillon de sédiment. Chaque valeur de pente positive (heure<sup>-1</sup>) est considérée comme l'unité de mesure de la capacité de la microflore à utiliser le substrat comme seule source de carbone. Les pentes négatives ou nulles ne sont pas représentées.

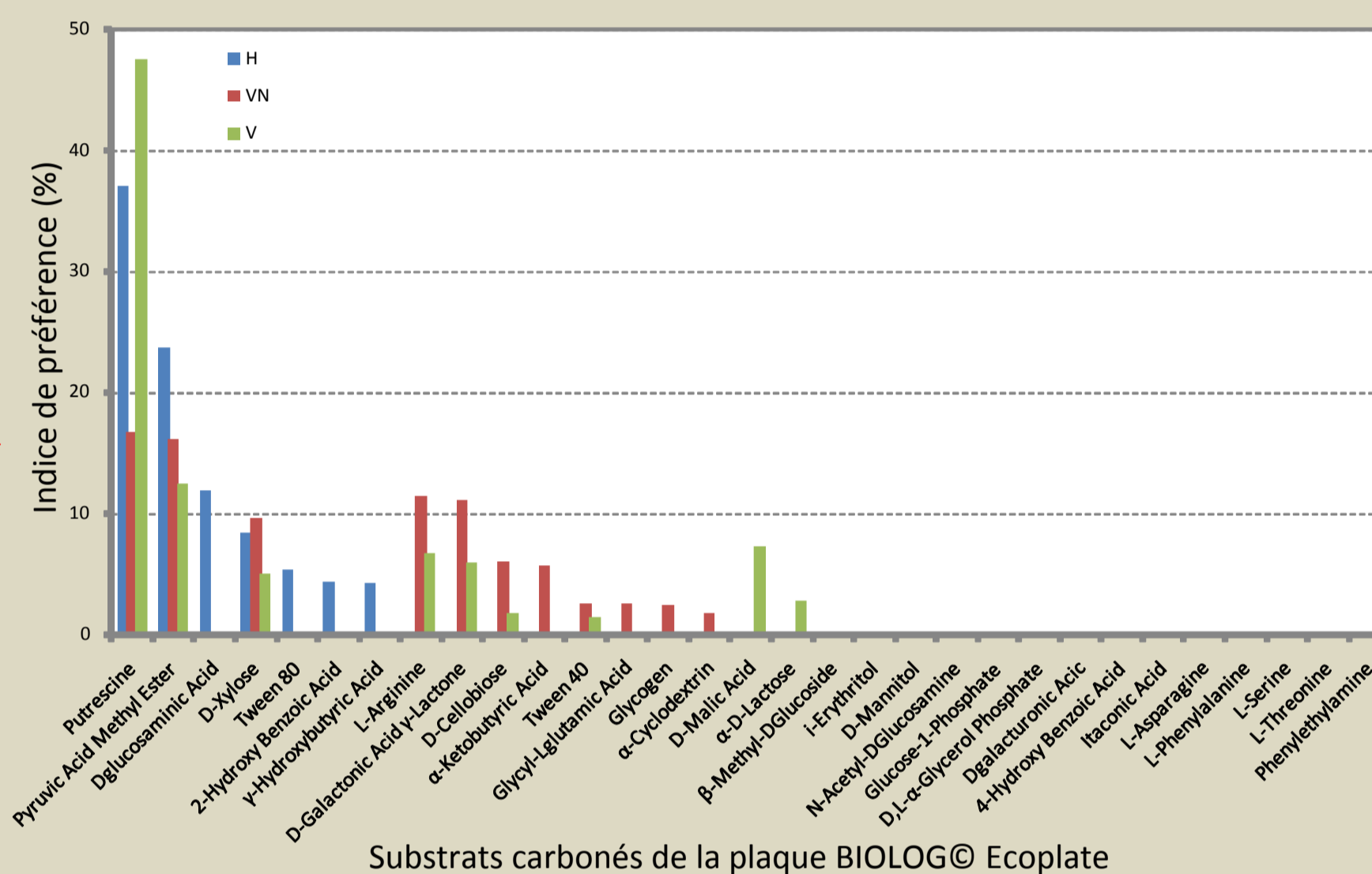


Figure 2. Diversité fonctionnelle de la microflore sédimentaire des sites H, VN et V, lors de la campagne de terrain de juin 2010. Les substrats carbonés du système BIOLOG® Ecoplate sont classés selon leur importance dans les carottes sédimentaires du site H (bleu), puis dans le site VN (rouge) et enfin dans le site V (vert), indépendamment de la profondeur des carottes de sédiment.

Tableau 1. Substrats carbonés du système BIOLOG® classés selon leur préférence d'utilisation par les microflore de chaque tranche sédimentaire (1 : 0-1cm, 2 : 1-2cm, 3 : 2-3cm, 4 : 3-4cm, 5 : 4-5cm, 6 : 5-7cm et 7 : 7-9cm) indépendamment du site de prélèvement, lors de la campagne de terrain de juin 2010.

Substrat	Coupes du sédiment						
	1	2	3	4	5	6	7
Putrescine	51,34	23,27	23,26	26,66	0	60,43	3,43
L-Arginine	22,81	3	7,83	0	0	0	5,24
γ-Hydroxybutyric Acid	6,05	0	3,56	0	16,8	0	0
D-glucosaminic Acid	5,5	0	0	0	0	0	0
Tween 40	5,36	5,3	0	0	0	0	0
D-Xylose	21,09	0	18,59	0	8,69	25,91	0
D-Galactonic Acid γ-Lactone	14,34	0	17,75	11,69	0	16,29	0
Pyruvic Acid Methyl Ester	0	7,37	46,75	24,78	38,76	22,03	0
Glycogen	0	7,2	0	0	0	0	0
N-Acetyl-D-glucosamine	0	4,15	0	0	0	0	0
2-Hydroxy Benzoic Acid	0	3,34	0	0	0	0	3,31
L-Threonine	0	2,69	0	0	0	0	0
α-D-Lactose	0	0	7,09	0	0	0	0
D-Cellobiose	0	0	2,82	0	0	0	0
L-Phenylalanine	0	0	0	4,43	32,75	0	0
α-Cyclodextrin	0	0	0	0	0	17,12	0
α-Ketobutyric Acid	0	0	0	0	0	12,23	0
Glycyl-L-glutamic Acid	0	0	0	0	0	0	8,61
Tween 80	0	0	0	0	0	0	0
β-Methyl-D-glucoside	0	0	0	0	0	0	0
l-Erythritol	0	0	0	0	0	0	0
D-Mannitol	0	0	0	0	0	0	0
Glucose-1-Phosphate	0	0	0	0	0	0	0
D,L-α-Glycerol Phosphate	0	0	0	0	0	0	0
Dgalacturonic Acid	0	0	0	0	0	0	0
4-Hydroxy Benzoic Acid	0	0	0	0	0	0	0
Itaconic Acid	0	0	0	0	0	0	0
D-Malic Acid	0	0	0	0	0	0	0
L-Asparagine	0	0	0	0	0	0	0
L-Serine	0	0	0	0	0	0	0
Phenylethylamine	0	0	0	0	0	0	0

L'intensité et la diversité des activités microbiennes aérobie est généralement faible dans le sédiment. Les préférences métaboliques diffèrent entre les sites de prélèvement (Figure 2) et évoluent le long des carottes sédimentaires (Tableau 1). Ainsi, parmi les 31 substrats carbonés testés, la putrescine est préférée dans les couches de surface (1 & 2), intermédiaire (4) et profonde (6) ; l'acide pyruvique méthyl ester est préféré dans les couches intermédiaires (3 & 5) ; le D-xylose est préféré dans la couche la plus profonde (7).

## Diversité moléculaire

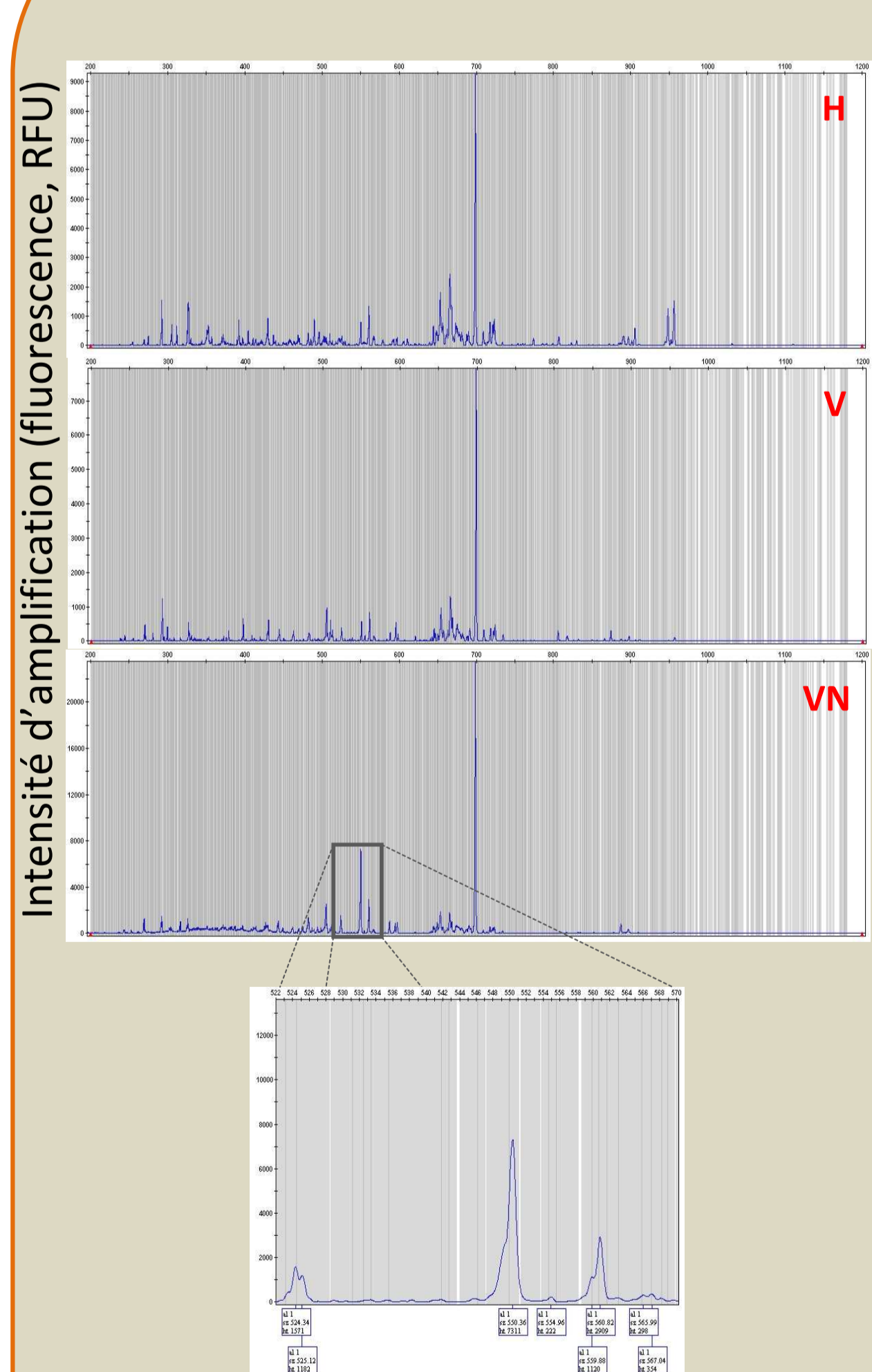


Figure 3. Exemple de profils de géotypage des communautés bactérienne obtenu par PCR ARISA en séquenceur capillaire (Logiciel Genemapper®, Applied Biosystem) pour trois échantillons sédimentaires (H, V et VN).

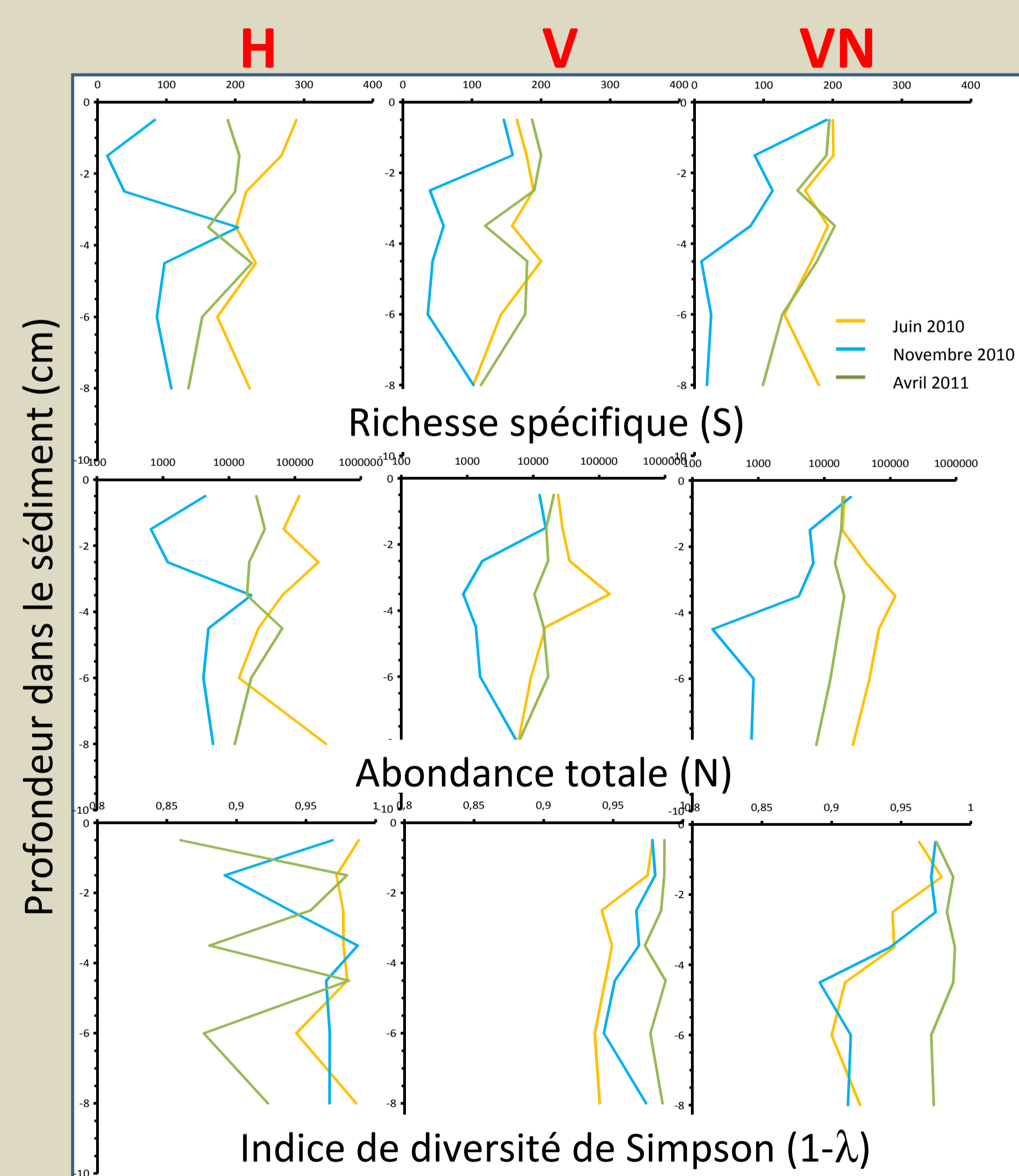


Figure 4. Analyse des profils de géotypage obtenu par PCR ARISA. Pour chaque site (H, V, VN) et pour chaque date de prélèvement. Mesures de la richesse spécifique (S), de l'abondance totale (N) et de la diversité bactérienne (indice de Simpson :  $1-\lambda=1-\sum p_i^2$ ) dans la profondeur des carottes sédimentaires.

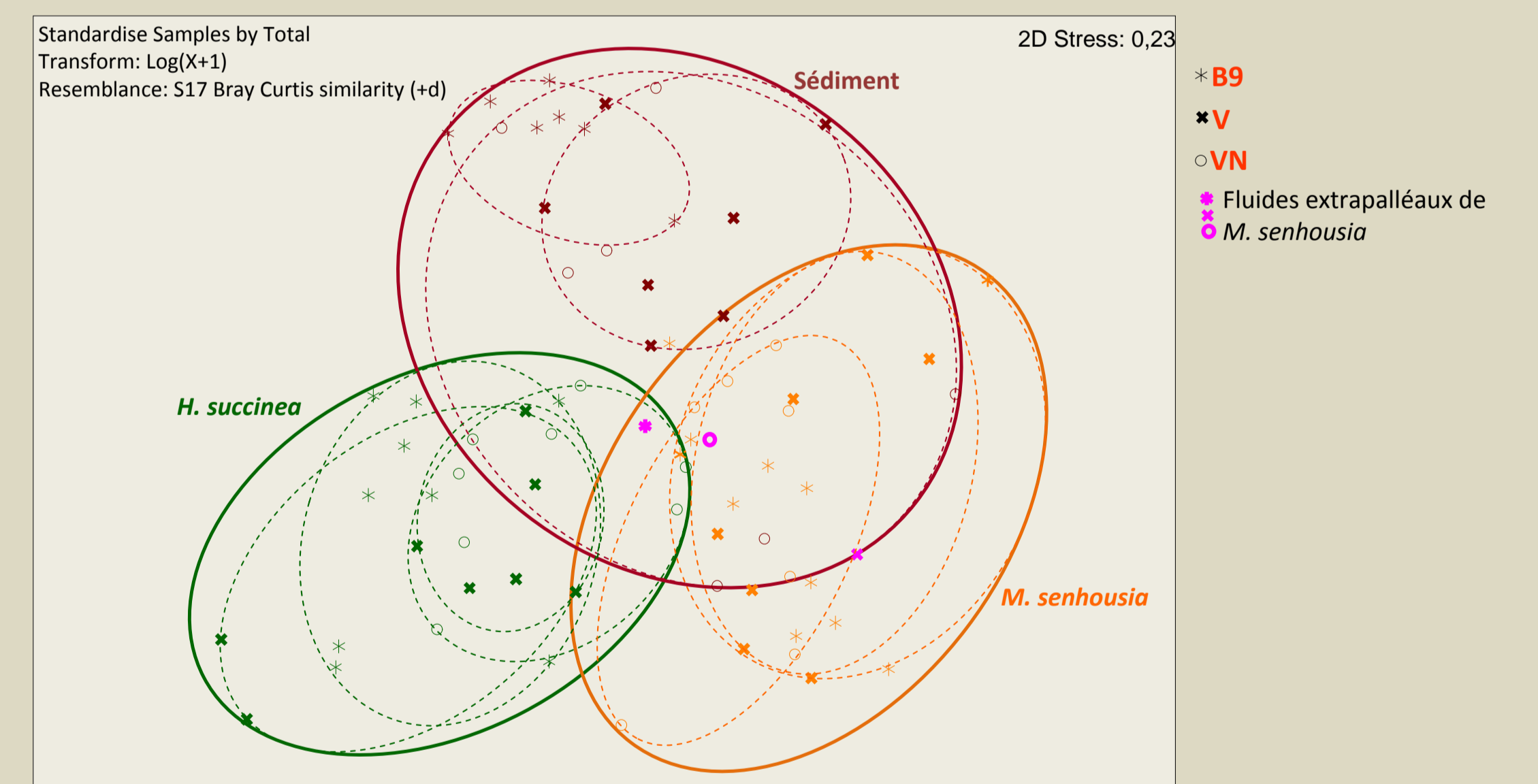


Figure 5. Analyse multidimensionnelle (NMDS) représentant les distances entre les communautés microbiennes extraites du sédiment, de la macrofaune sédimentaires (*H. succinea*, *M. senhousia*) et des fluides extrapalléaux de *M. senhousia* pour les sites B9, V et VN, lors de la campagne de terrain de novembre 2010.

La richesse spécifique, l'abondance et la diversité des microflore sédimentaire évolue dans la profondeur du sédiment, de manière différente selon le site de prélèvement (Figure 4). La richesse spécifique et l'abondance totale sont notoirement plus faible en profondeur du sédiment pour la campagne de prélèvement de Novembre.

Les analyses de similarités (ANOSIM) entre microflore sédimentaires et celles associées à la macrofaune (Figure 5) montrent les différences entre microflore sédimentaires et celles associées aux vers, *H. succinea* (R stat = 0,57, p = 0,001) et au mollusque bivalve, *M. senhousia* (R stat = 0,45, p = 0,001), ainsi qu'entre ces deux espèces (R stat = 0,47, p = 0,001).

## Discussion - Perspectives

Ces analyses préliminaires montrent que les communautés bactériennes du sédiment et celles associées à la macrofaune benthique constituent des indicateurs biotiques sensibles aux facteurs environnementaux et aux facteurs anthropiques.

La poursuite de cette étude s'intéressera à :

- établir les **liens entre diversité moléculaire et diversité fonctionnelle des communautés bactériennes** selon le niveau de pollution du milieu,
- établir les **liens entre ces indicateurs microbiologiques et les fonctions / la santé / l'aptitude (fitness) de la macrofaune benthique**,
- évaluer le **rôle des facteurs environnementaux sur ces indicateurs microbiologiques et physiologiques**,
- évaluer le **rôle des polluants métalliques et bactériennes**