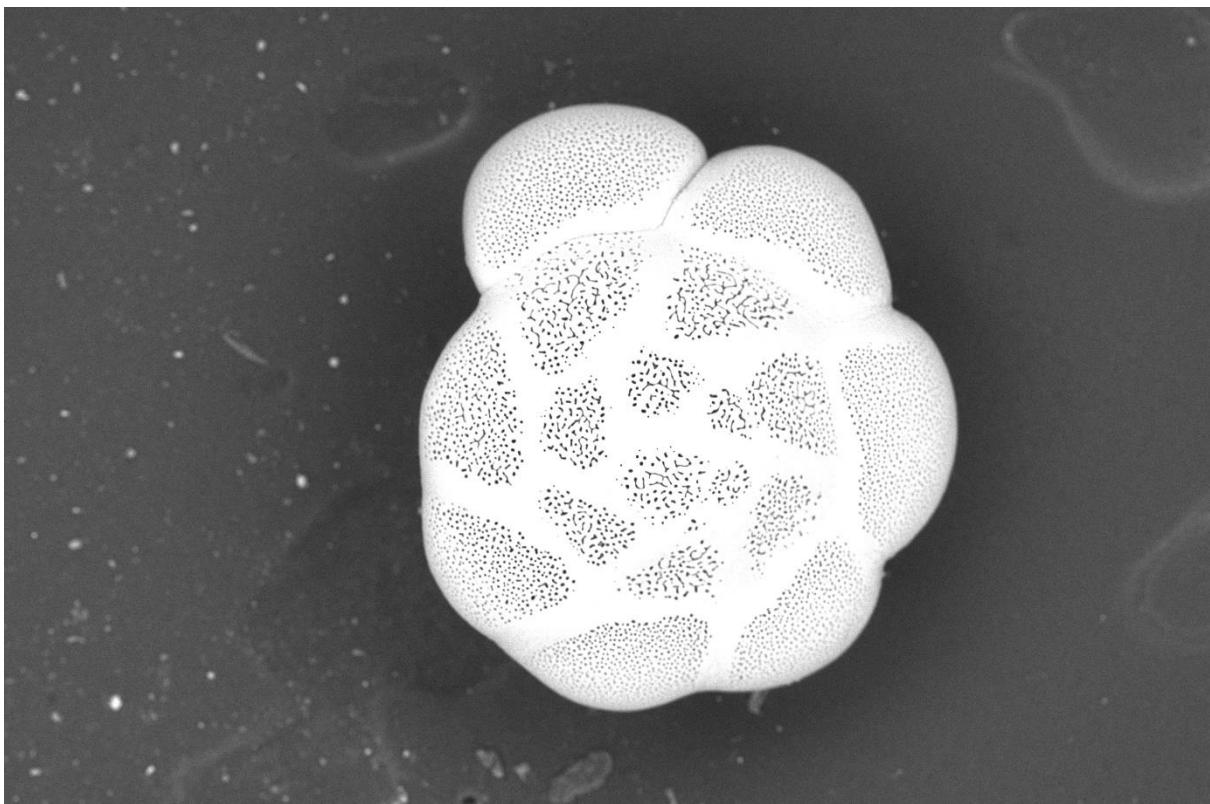


Université d'Angers  
Laboratoire de Planétologie et Géosciences UMR 6112  
Faculté des Sciences  
2 Boulevard Lavoisier  
49045 ANGERS Cedex

## **DISTRIBUTION SPATIALE ET TEMPORELLE DES PHYLOTYPES T1, T2 ET T6 D'*AMMONIA SP.* DANS L'ESTUAIRE DE LA RIVIERE D'AURAY**



### **Rapport de stage de Master 1 BEE Parcours : Mer Anthropisation Diagnostic**

Présenté par Mathias AGERON

Année universitaire : 2022/2023

Promotion : M1 BEE MAD

**Université d'Angers Faculté des Sciences**

2 boulevard Lavoisier 49045 Angers Cedex

Type de stage scientifique avec obtention de données

**Master 1 Biodiversité Ecologie-Evolution Parcours Mer  
Anthropisation Diagnostic**

**« DISTRIBUTION SPATIALE ET TEMPORELLE DES PHYLOTYPES T1, T2 ET T6  
D'AMMONIA SP. DANS L'ESTUAIRE DE LA RIVIERE D'AURAY »**

Auteur : AGERON Mathias

Maître de stage : VAN DIJK Inge / Enseignante tutrice : BARRAS Christine

Laboratoire de Planétologie et Géoscience UMR 6112, Université d'Angers

**Année universitaire : 2022-2023**

**Abstract**

This internship report focuses on the distribution of Ammonia foraminifera in the estuary of the Auray River, France, using samples from five stations collected during three periods. The aim is to determine the specific composition of the stations and assess the potential contamination of the estuary by a non-native phylotype. The identification method relies on morphometric criteria using scanning electron microscopy and ImageJ software. Results are compared with previous studies, and the correlation between test and pore size is examined. The findings contribute to understanding the spatial distribution of foraminifera and their ecological implications in the estuarine environment.

**ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT**

AGERON Mathias

Je, soussigné (e)....., déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire.

Signature :



## **REMERCIEMENTS**

Je tiens tout d'abord à remercier Inge Van Dijk, ma maître de stage, pour m'avoir offert l'opportunité d'effectuer mon stage au LPG sur un sujet aussi intéressant. Je la remercie également pour la confiance et l'autonomie qu'elle m'a accordé ainsi que pour m'avoir conseillé et guidé tout au long de ce stage, toujours avec bienveillance et humour. Je remercie également Christine Barras, ma tutrice, pour avoir été présente sur tous les aspects techniques, notamment pour m'avoir formé à l'utilisation du MEB, toujours avec énergie et bonne humeur. Je remercie également l'intégralité de l'équipe du LPG et notamment Emmanuelle Geslin et Magali Schweizer, avec lesquelles j'ai le plus échanger, pour leur patience et leur envie de transmettre. Merci à l'équipe technique (Sophie Sanchez et Quinchard ainsi que Eric Bénéteau) toujours réactive et présente quand il fallait.

Merci à mes camarades de stage et de promotion par la même occasion pour l'ambiance très détendue qu'on a réussi à créer durant ces 2 mois. Les podcasts glauques sur les meurtriers, les énigmes recherchées, les « super » dessins au tableau et les débats nuls sur tout et n'importe quoi me manqueront. Le stage n'aurait pas été le même sans vous.

## **SOMMAIRE**

<b>1. Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Matériel et méthode .....</b>	<b>2</b>
<b>3. Résultats .....</b>	<b>4</b>
<b>4. Discussion .....</b>	<b>5</b>
<b>5. Conclusion .....</b>	<b>6</b>
<b>6. Bibliographie.....</b>	<b>7</b>

## 1. Introduction

Les foraminifères sont des organismes unicellulaires eucaryotes fréquemment utilisés comme proxies environnementaux pour déterminer, en partie, les conditions paléoenvironnementales et paléoclimatologiques d'un milieu donné, notamment les variations de température, de salinité et d'oxygénation (Richirt et al., 2020). Il est donc important de documenter au mieux leur répartition spatiale et temporelle à l'échelle planétaire pour faciliter les futures études portant sur les variations climatiques passées et à venir. Au cours de ce stage, nous nous sommes concentrés sur la distribution du genre *Ammonia* dans l'estuaire de la rivière d'Auray (Golfe du Morbihan, France) en se basant sur des échantillons provenant de 5 stations (Port de Guilvin, Loqmariaquer, Loqueltas, 2A et 4B) selon 3 périodes différentes (janvier, mars et avril 2023). Trois phylotypes du groupe *Ammonia tepida* (T1 = *A.veneta*, T2 = *A aberdoveyensis* et T6 = *A. confertitesta*) sont présents sur les côtes Nord-Est de l'Atlantique (Richirt et al., 2019), cependant le phylotype T6 n'est pas autochtone du Nord-Est Atlantique et aurait été introduit depuis l'Asie en mer Baltique par anthropisation (Pawlowski and Holzmann, 2009). Auparavant considérés comme des espèces cryptiques puis discriminées comme espèces à part entière grâce à des critères morphologiques puis génétiques (Bird et al., 2020), une nouvelle méthode basée sur la mesure de critères morphométriques grâce à l'imagerie MEB (Microscope Electronique à Balayage) et l'utilisation du logiciel de traitement d'images « ImageJ » facilite désormais leur identification (Petersen et al., 2016 ; Richirt et al., 2021). C'est cette méthode que nous utiliserons ici pour déterminer la composition spécifique de nos stations. Nos résultats seront mis en relation avec de précédentes études effectuées sur la même zone (Fouet et al., 2022; Richirt et al., 2021). Nous nous demanderons également si l'estuaire d'Auray a été contaminé par le phylotype T6 ? Enfin l'activité des « cable bacterias » (sujet de thèse en cours de Maxime Daviray, université d'Angers) en fonction des stations sera commentée et la corrélation entre la taille du test et la taille des pores du genre *Ammonia* sera testée.

## 2. Matériel et méthode

L'échantillonnage a été réalisé sur 5 stations (figure 1) à 3 périodes différentes dans les vasières (espace intertidale) de l'estuaire de la rivière d'Auray, respectivement d'amont en aval : station Loqueltas (Lql 01, 22 mars 2023), station 4B (24 janvier et 4 avril 2023), station 2C (24 janvier et 4 avril 2023), station Locmariaquer (Lmq 02, 22 mars 2023) et station Port de Guilvin (Pdg 03, 22 mars 2023).

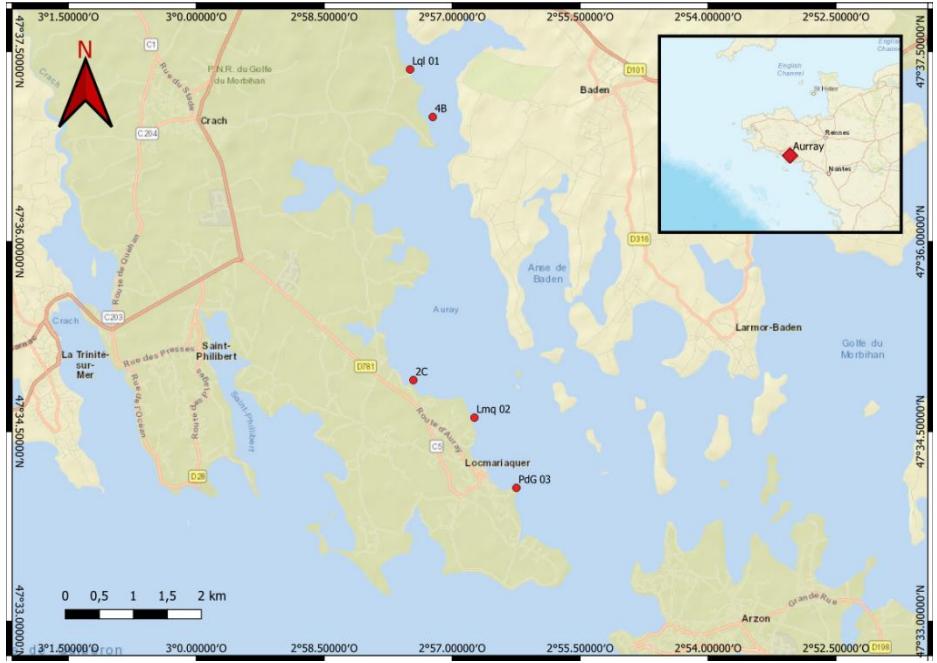


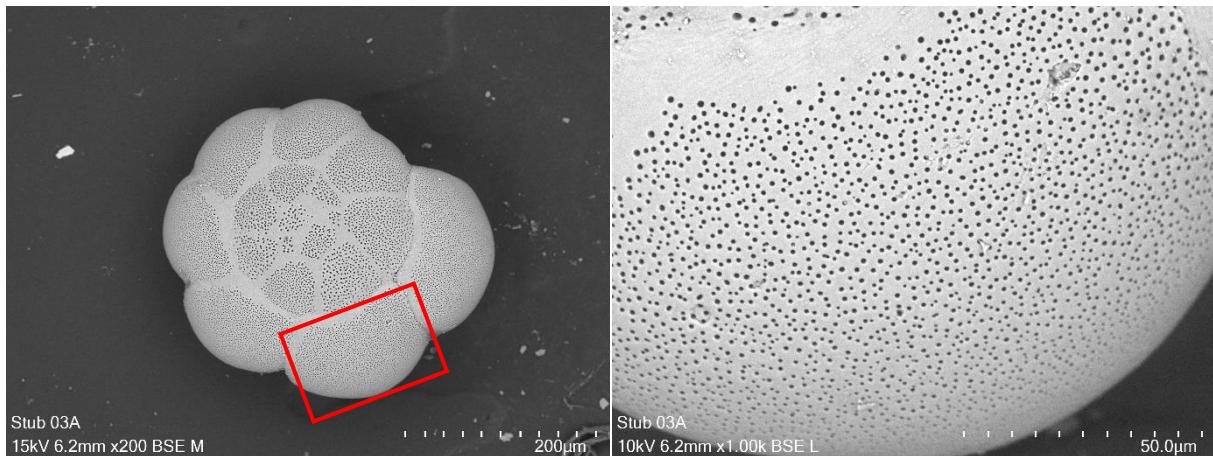
Figure 1 : Sites d'échantillonnage dans l'estuaire d'Auray (France)

Les prélèvements ont été effectués à marée basse par raclage des 2cm de sédiment à partir de la surface à l'aide d'une spatule, puis mis dans des contenants plastiques qui ont été identifiés sur place.

Les échantillons des stations Loqueltas 01, Locmariaquer 02, Port de Guilvin 03 et 2C et 4B de la campagne du 4 avril ont été placés en laboratoire dans des aquariums d'eau de mer prélevée in situ et oxygéné à l'aide d'un bulleur afin de maintenir les organismes en vie, le taux d'oxygénéation n'était pas monitoré. Les échantillons 2C et 4B de la campagne du 24 janvier 2023 avaient été mis sur plaquette après avoir suivi un protocole de tamisage, rinçage, coloration au rose Bengal puis triage que nous ne détaillerons pas ici car il s'agit d'un travail fait hors stage.

Pour les échantillons Lql 01, Lmq 02, Pdg 03, 4B et 2C du 4 avril 2023 un prélèvement a été effectué dans chaque aquarium puis tamisé à 500µm et 200µm afin de ne garder que la fraction contenant les *Ammonias* matures. Cette fraction a été mise dans des boîtes de Petri contenant de l'eau de mer puis observé à la loupe binoculaire à grossissement x60. Les *Ammonias* ont été piquées à l'aide d'un pinceau fin et mises à part, toujours dans de l'eau de mer, puis rincées trois fois à l'eau déionisée Milli-Q® pour enlever le sel présent sur leurs tests. Les individus rincés ont ensuite été mis face spiralée vers le haut sur des plots métalliques. Chaque plot a été identifié selon la station et la date de prélèvement in situ. L'ensemble du protocole a été répété jusqu'à obtenir 100 individus d'*Ammonia* par station. Pour les stations 2C et 4B du 24 janvier 2023, les *Ammonias* ont été prélevées sur leurs plaquettes, rincées à nouveau, puis mis sur plot au nombre de 100 également. Le nombre d'individus retirés a été spécifié sur les plaquettes.

Les *Ammonias* sur plot ont ensuite été photographiées à l'aide d'un microscope électronique à balayage (MEB, modèle TM4000 Hitachi®) à grossissement x200 pour obtenir une image globale du foraminifère puis à grossissement x1000 (Image 1) sur l'avant dernière chambre (« penultimate chamber ») pour avoir le détail des pores de la dernière chambre dont le développement est fini (Richirt et al., 2019). La position de chaque spécimen sur le plot ainsi que la correspondance spécimen/photo ont été renseignés dans notre cahier de laboratoire pour faciliter le traitement par logiciel ImageJ.



*Image 2 : Photographie d'un spécimen d'*Ammonia* T2 (vue face spiralée) en grossissement x200 (gauche) et x1000 (droite) sur sa chambre F-1 (encadré rouge)*

Les photos ont été traitées sur le logiciel ImageJ à l'aide d'un macro de mesure des critères morphométriques (Petersen et al., 2016). Ici nous avons utilisé le critère de taille de pores ainsi que l'élévation des sutures centrales pour déterminer s'il s'agissait d'un individu T1, T2 ou T6 (Richirt et al., 2021). Un deuxième macro a été dérivé de celui de Petersen et al., il visait à mesurer le diamètre de Ferret d'un test en vue de tester la corrélation qu'il yaurait entre celui-ci et la taille des pores. L'ensemble des mesures a été consigné à l'aide d'un logiciel tableur et l'état de chaque individu a été renseigné : test dissout (pores entourés d'un motif en « engrenage », test sale (présence de particules pouvant boucher les pores), chambre penchée/incurvée (biais de sous-estimation du diamètre des pores), pores atypique. Seuls les individus ne présentant aucun de ces biais ont été utilisés pour déterminer la composition spécifique des stations.

La relation entre le diamètre des pores et le diamètre du test d'*Ammonia* a été testée par modèle de régression linéaire réalisé en langage R avec une taille d'échantillon n=100, uniquement sur des spécimens de T2.

### 3. Résultats

En ce qui concerne la distribution des phylotypes T1, T2 et T6 d'*Ammonia* (figure 3), on observe une dominance du phylotype T2 sur l'ensemble des stations étudiées, il présente un maximum de 99% de l'effectif utilisable (tests « vierges » non dissout) sur la station de Port de Guilvin et un minimum de 70% de l'effectif utilisable sur la station 4B en janvier 2023.

La dominance de T2 tend à diminuer à mesure que l'on rentre dans l'estuaire. De fait un gradient positif de la proportion des phylotypes T1 et T6 de l'estuaire externe vers l'estuaire interne ressort de nos résultats.

Notons que le phylotype T6 est totalement absent de la station Port de Guilvin , qui est la plus en aval de notre zone d'étude, et présente sa proportion la plus élevée (17%) sur la station la plus en amont (Loqueltas).

T2 présente sa proportion la plus élevée (22%) sur la station 4B en janvier 2023.

Une différence de distribution est observée en fonction de la saisonnalité sur les stations 2C et 4B. La proportion de T6 et T2 diminue faiblement entre janvier et avril sur la station 2C. En revanche sur la station 4B la proportion de T2 diminue de plus de 19% entre janvier et avril tandis que T6 reste constant entre ces 2 périodes.

Enfin la proportion de tests dissous reste en dessous des 15% de l'effectif total sur l'ensemble des stations exceptés pour les stations Loqueltas et 4B où les tests dissous représentent 46% de l'effectif total.

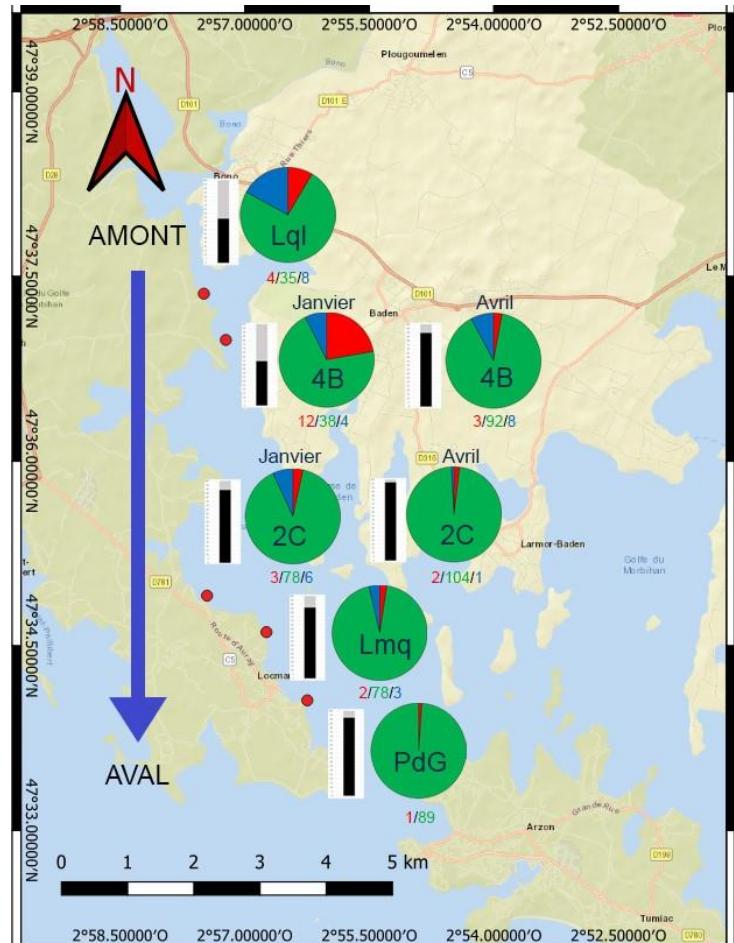


Figure 2 : Distribution de T1(rouge), T2(vert) et T6(bleu) (valeurs absolues sous diagramme) dans l'estuaire de la rivière d'Auray. La barre latérale représente le pourcentage de tests dissous/non dissous (gris/noir)

Pour ce qui est de la relation entre le diamètre du test et le diamètre moyen des pores d'*Ammonia*, les résultats du modèle de régression linéaire (figure 3) indiquent que la pente de la droite de régression est estimée à -0.0003929. Cela impliquerait qu'une augmentation d'1 µm du diamètre de la coquille serait associé à une diminution de 0.0003929 µm du diamètre du pore, cependant la pente de la droite de régression n'est pas statistiquement significative avec une valeur  $t = -1.592$  et une  $p\text{-value} = 0.115 (>0.05)$ . Cela suggère que le diamètre de la coquille n'est pas un prédicteur significatif du diamètre du pore.

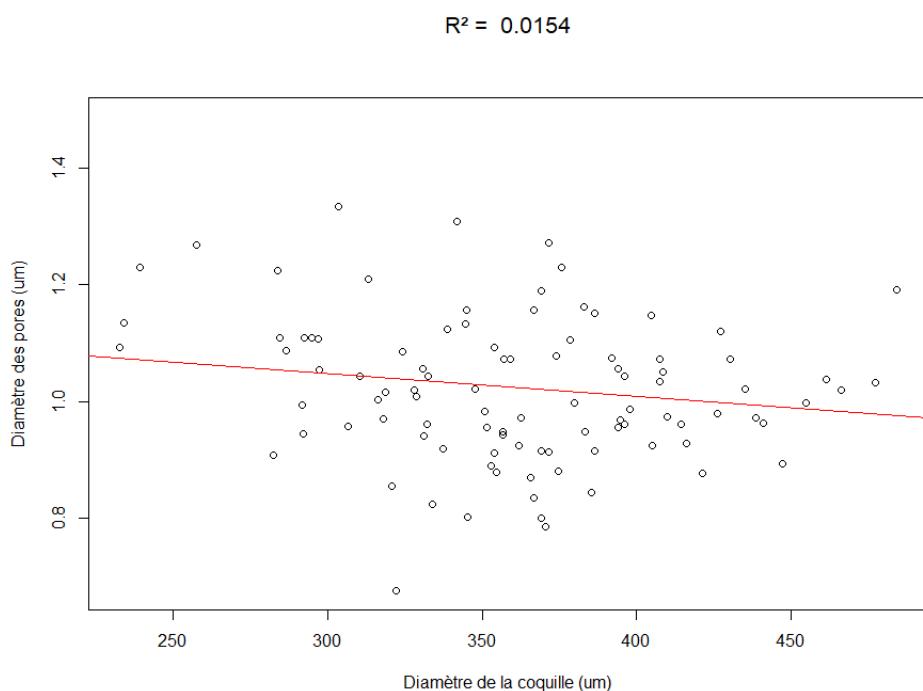


Figure 3 : Modèle de régression linéaire entre la variable "Diamètre moyen des pores" et la variable "Diamètre de la coquille", n=100, Ammonia T2

De plus le  $R^2$  ajusté est de 0.0154. Le modèle n'explique que 1.5% de la variation observée dans le diamètre du pore. La relation entre le diamètre de la coquille et le diamètre moyen des pores d'*Ammonia* est donc très faible, il y a probablement d'autres facteurs qui influencent davantage le diamètre moyen des pores.

## 4. Discussion

Lors des campagnes d'échantillonnage de mars et octobre 2016 (thèse Julien Richirt, Université d'Angers, 2020) aucun phylotype d'*Ammonia* T6 n'avait été détecté dans l'estuaire de la rivière d'Auray contrairement à nos résultats. Il a été détecté pour la première fois en juillet 2019 (Fouet et al., 2022) à un pourcentage ~5% de l'effectif total d'*Ammonia*. Aucun patern de distribution spatiale n'avait été observé. Nos résultats confirment que le phylotype T6 originaire d'Asie de l'est semblerait continuer à coloniser l'estuaire d'Auray et nous pouvons ajouter qu'il pourrait avoir une affinité pour les écosystèmes de l'estuaire interne. Le foyer d'origine de T6 sur la façade Atlantique française pourrait se situer dans les ports de Bordeaux et Saint-Nazaire.

La dominance de T2 était nette sur les stations KER2 (correspondant à notre station Lmq) et LOC2 (notre station PdG) en mars 2016 comme pour nos échantillons, en revanche on constate une plus grande proportion de T1 en mars 2016 en comparaison de mars 2023. En juillet 2019, les stations 2C, 4B, 1 (notre station PdG) et 5 (notre station Loqueltas) étaient dominées par le phylotype T1. Nous pouvons nous poser la question du rôle compétitif de T6 sur T1 (en mars) et T2 (en juillet) pour les ressources du milieu.

L'ensemble des variations spatiales et temporelles devrait cependant être traité avec des statistiques plus poussées qui n'ont pas pu être réalisées faute de temps.

La présence de tests dissous sur l'ensemble des stations pourrait être dûe à l'activité des « cable bacterias » tirant leur énergie de réactions d'oxydation des sulfures en transportant les électrons, l'activité des « cable bacteria » ayant lieu toutes l'année sur la station 2C, donc probablement aussi sur toute la vasière (Maxime Daviray, communication personnelle).

En ce qui concerne la relation entre le diamètre moyen des pores d'*Ammonia* et le diamètre de leur test, nous avons constaté une absence d'effet significatif entre les deux, en revanche la relation entre la densité des pores et le diamètre des coquilles mériterait des tests plus approfondis car on sait que ces deux variables sont soumises à un compromis biophysique entre solidité et efficacité métabolique (Richirt et al., 2020).

## 5. Conclusion

L'étude de la distribution des phylotypes d'*Ammonia tepida* dans l'estuaire de la rivière d'Auray met en évidence la dominance du phylotype T2 sur l'ensemble des stations. On constate une variation spatiale dans la composition spécifique des stations avec un gradient négatif de la proportion de T2 de l'estuaire externe vers l'estuaire interne de la rivière d'Auray. La variation saisonnière des proportions des 3 phylotypes (T1, T2, T6) quant à elle ne semble pas importante. La contamination de l'estuaire par le phylotype T6 est confirmée mais sa proportion semble rester stable au regard de la composition spécifique de 2019. T6 montre une absence totale dans la station la plus en aval et une proportion plus élevée dans la station la plus en amont de l'estuaire. La corrélation entre le diamètre du test et le diamètre des pores d'*Ammonia* est faible et non significative, indiquant que d'autres facteurs jouent un rôle plus important dans la détermination du diamètre moyen des pores. Ces résultats soulignent l'importance de continuer à étudier la distribution des foraminifères pour comprendre les variations environnementales passées et futures. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour approfondir notre compréhension de la biologie et de l'écologie des foraminifères dans cet estuaire spécifique.

## 6. Bibliographie

- Bird, C., Schweizer, M., Roberts, A., Austin, W. E., Knudsen, K. L., Evans, K. M., ... & Darling, K. F. (2020). The genetic diversity, morphology, biogeography, and taxonomic designations of Ammonia (Foraminifera) in the Northeast Atlantic. *Marine Micropaleontology*, 155, 101726.
- Fouet, M. P., Singer, D., Coynel, A., Héliot, S., Howa, H., Lalande, J., ... & Jorissen, F. J. (2022). Foraminiferal Distribution in Two Estuarine Intertidal Mudflats of the French Atlantic Coast: Testing the Marine Influence Index. *Water*, 14(4), 645.
- Pawlowski, J., & Holzmann, M. (2009). Diversity and geographic distribution of benthic foraminifera: a molecular perspective. *Protist Diversity and Geographical Distribution*, 83-94.
- Petersen, J., Riedel, B., Barras, C., Pays, O., Guihéneuf, A., Mabilieu, G., ... & Jorissen, F. J. (2016). Improved methodology for measuring pore patterns in the benthic foraminiferal genus Ammonia. *Marine Micropaleontology*, 128, 1-13.
- Richirt, J., Champmartin, S., Schweizer, M., Mouret, A., Petersen, J., Ambari, A., & Jorissen, F. J. (2019). Scaling laws explain foraminiferal pore patterns. *Scientific Reports*, 9(1), 9149.
- Richirt, J., Schweizer, M., Bouchet, V. M., Mouret, A., Quinchard, S., & Jorissen, F. J. (2019). Morphological distinction of three Ammonia phylotypes occurring along european coasts. *Journal of Foraminiferal Research*, 49(1), 76-93.
- Richirt, J., Schweizer, M., Mouret, A., Quinchard, S., Saad, S. A., Bouchet, V. M., ... & Jorissen, F. J. (2021). Biogeographic distribution of three phylotypes<? xmltex\break?>(T1, T2 and T6) of Ammonia (foraminifera, Rhizaria) around Great Britain: new insights from combined molecular and morphological recognition. *Journal of Micropalaeontology*, 40(1), 61-74.
- Risgaard-Petersen, N., Revil, A., Meister, P., & Nielsen, L. P. (2012). Sulfur, iron-, and calcium cycling associated with natural electric currents running through marine sediment. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 92, 1-13.