

Rapport expérimental de stage de Master 2

**Mise en évidence de l'impact de la
granulométrie sur la structure des
communautés benthiques de fond meuble
par métabarcoding d'ADN
environnemental ; et discussion sur la
pertinence du marqueur COI**

Un stage dans le cadre du master Biologie Ecologie Evolution

Parcours Génomique Environnementale



Etablissement d'accueil : Setec Energie Environnement

Encadrant : Thomas Pommier

Co-encadrants : Paulo Bonifacio, Yann Patry

Sommaire :

I introduction :.....P1

II Matériel et méthodes :.....P3

III Résultats :.....P7

IV Discussion :.....P10

V Conclusion et perspectives :..P13

VI Bibliographique

VII Annexes

Glossaire :

- ADNe : ADN environnemental
- COI : Cytochrome oxydase 1
- pH : Potentiel hydrogène
- PCR : Polymerase Chain reaction, soit la réaction en chaîne par polymérase
- LCA : Lowest Common Ancestor, soit le plus petit ancêtre commun.
- R1/R2 : fait références aux lectures en paired-end du séquençage Illumina
- BOLD : The Barcode Of Life Database
- OTU : Operational Taxonomic Unit (ou unité taxonomique opérationnelle)
- ASV : Amplicon Sequence Variant : varie de séquence d'amplicon
- UPGMA : Unweighted pair group method with arithmetic mean, une méthode de classification hiérarchique utilisée en biologie.

Remerciements : Je remercie chaleureusement Thomas Pommier pour l'encadrement, les conseils de qualité et les connaissances apportées lors du déroulé de mon stage. Je remercie également Paulo Bonifacio et Yann Patry ainsi que l'équipe de setec invivo pour l'accueil au sein de leur établissement et les données métadonnées utilisées dans la réalisation des analyses. Un grand merci à Aymeric Boulay pour la carte de la zone d'étude. Un grand merci à Louise Lanrivain pour son accompagnement lors de l'initiation à la détection morphologique. Et enfin un grand merci à l'équipe lyonnaise de setec énergie environnement pour son accueil.

I Introduction :

Les sédiments marins couvrent la majeure partie des fonds océaniques et abritent une biodiversité d'organismes à la fois conséquente et encore méconnue. Ces organismes, allant des métazoaires invertébrés aux protistes en passant par les algues multicellulaires, présents à la surface et dans les sédiments sont qualifiés de benthiques en opposition aux organismes pélagiques inféodés à la colonne d'eau (Snelgrove et al.1998, Breine et al.2018, Forster et al.2016). Ces organismes benthiques jouent un rôle crucial dans le fonctionnement des cycles de matières, dans le maintien et la stabilisation des sédiments, ainsi que dans la production primaire et secondaire de matière organique (Tsikopoulou et al.2024, Scaps 2024, p22, Wang, et al. 2024). En raison des interactions biotiques et abiotiques qui structurent non seulement les communautés benthiques, mais aussi leurs relations avec le compartiment pélagique - interactions essentielles au fonctionnement global des écosystèmes marins- et compte tenu des pressions actuelles auxquelles font face les organismes benthiques (Griffiths et al.2017), il est aujourd'hui indispensable de mieux comprendre les facteurs influençant la composition de ces communautés.

Les facteurs connus pour influencer la structure des communautés benthiques sont notamment le pH, la salinité, ainsi que la teneur en hydrocarbures et en métaux lourds dans les sédiments. En effet, ces facteurs, agissant sur la physiologie -notamment des invertébrés- expliquent la présence d'organismes plus tolérants à des environnements contraints, notamment dans les zones estuariennes (Moyano et al.2010). La granulométrie (c'est-à-dire la taille des grains de sédiments) est également un facteur clé dans la compréhension de la structure des communautés. En effet, entre les organismes sessiles colonisant les rochers, les prédateurs mobiles et les espèces fouisseuses, le type de substrat est un des principaux facteurs conditionnant les espèces que peut abriter un habitat donné (Scaps 2024, Snelgrove et al.1998). Même au sein des sédiments meubles, la variation de la granulométrie explique une différence de structure. En effet, les habitats de sables grossiers à moyens présentent de larges espaces interstitiels responsables d'une bonne oxygénation des sédiments, de formation de micro-habitats et permettant aux organismes mobiles une bonne capacité de déplacement et d'enfouissement (Romoth et al.2023) favorisant le développement d'espèces prédatrices comme certains polychètes ou malacostracés. D'un autre côté, les sables fins à vaseux, souvent moins oxygénés, plus denses et plus riches en matière organique permettent le développement d'organismes détritivores et tubicoles comme certains polychètes ou nématodes (Chauvel et al.2024). Enfin outre les hétérogénéités de facteurs abiotiques limitant, ou favorisant, le

développement d'organismes benthiques, la distance géographique (profondeur incluse) peut également expliquer une différence dans les communautés de deux sites distincts abritant le même type d'habitat (Ellingsen et al.2002). Cela fait référence à un effet écologique appelé décroissance par la distance (distance-decay), désignant une relation négative entre la similarité écologique de communautés à mesure d'une augmentation de la distance géographique ; amenant à des turnovers d'espèces ou de communautés (Nekola et al.1999). Pour les organismes benthiques cela s'illustre par des différences de capacité de dispersion larvaire ou de développement à certaines profondeurs (Valanko 2012). En cela, pour des habitats similaires, les communautés des sites les plus proches seront plus similaires que les sites éloignés en raison du sens des déplacements des masses d'eau, des capacités de dispersion, et de survie des larves des organismes (Martins et al.2013). Cependant la distance-decay n'explique pas nécessairement la cause de la dissimilarité observée, et la structure des communautés résulte souvent d'une combinaison de facteurs (Thrush et al.2010). Ainsi, cette étude a pour objectif de comprendre les facteurs expliquant les différences et similitudes de communautés d'eucaryotes benthiques au large de l'île d'Oléron (France), sur une zone destinée à des aménagements. Cette étude, réalisée avec une approche de métabarcoding d'ADN environnemental pour mission d'améliorer la compréhension des processus écologiques structurant les communautés dans cette zone.

Les méthodes principales actuelles de détermination des taxons présents dans les communautés sont d'une part l'approche par détermination des espèces benthiques d'une carotte de sédiments sur la base de caractères morphologiques ; et d'autre part l'approche non invasive par l'extraction de l'ADN environnemental présent dans les sédiments (Haenel et al. 2017). Cette dernière méthode est présentée comme une alternative intéressante car étant plus rapide et permettant la détection d'espèces cryptiques ou rares (Haenel et al.2017). En particulier l'utilisation du métabarcoding ciblant notamment des gènes mitochondriaux tels que le 28S, le 18S (Liu et al.2021) ainsi que le gène mitochondrial COI. Ce dernier marqueur est souvent favorisé en raison d'une grande proportion d'amplification sur un large éventail de groupes taxonomiques (Haenel et al.2017, Vause et al.2019). Ainsi cette étude a pour objectif de voir dans quelle mesure le métabarcoding d'ADNe ciblant le COI, permet d'identifier les facteurs influençant la structure des communautés benthiques de la zone d'étude. Nous émettons l'hypothèse i) que les communautés sont plus similaires entre elles dans les sites appartenant à la même classe granulométrique (Thrush et al.2010) ii) que le pH, les polluants et métaux

lourds, et la matière organique affectent la structure des communautés, et enfin iii) que l'on observe un effet de distance decay pour lequel la diminution de la similarité est plus faible entre les communautés des sites de granulométries plus fines (en raison d'une plus faible hétérogénéité d'habitats, Chauvel et al.2024).

II Matériel et méthodes

Echantillonnage : Les échantillons de sédiments ont été prélevés lors d'une campagne de prélèvement effectuée par l'équipe de *setec énergie environnement*. La zone d'étude s'étend sur environ 30 km de diamètre, au large de l'île d'Oléron à une distance allant de 60 à 80km du port de La Rochelle en France. Au total 34 sites ont été échantillonnés du 02 au 12 novembre 2024 (Fig.1). L'échantillonnage des sédiments benthiques s'est effectué à des profondeurs allant de 57 à 87 mètres avec une benne Day Grab de type Van Veen. Pour chaque site, 10g de sédiments sont prélevés à la cuillère stérile, de part et d'autre de la carotte sédimentaire, et ont été stockés dans un tube Falcon 50ml dans lequel ont été ajoutés par la suite 20ml de tampon Buffer avant homogénéisation à la main. Les échantillons sont laissés à température ambiante avant l'envoi rapide pour l'extraction.

L'extraction, l'amplification et le séquençage des échantillons sont effectués par le groupe E-BIOM, un laboratoire privé d'expertise scientifique. Les échantillons ont été homogénéisés au vortex pendant 30 secondes et les ADNs ont été extraits à partir de 2,5g de sédiments selon la norme ISO 11063 :2020 Soil quality – Direct extraction of soil DNA avec le kit NucleoSpin® Soil (Macherey-Nagel) (Les informations supplémentaires n'ont pas été fournies). La région « Folmer region » du COI est amplifiée avec le couple d'amorces développés par Leray et al (2013): **mlCOLintF** GGWACWGGWTGAACWGTWTAYCCYCC (Forward)/ **jgHCO2198** TAIACYTCIGGRTGICCRAARAAYCA (Reverse) pour une taille de fragments de 313pb (voir Annexe 1 pour le mix PCR). Les amplicons sont purifiés avec un kit colonne MinElute (Qiagen). Les amplicons sont séquencés avec la méthode Illumina Miseq en paired-end (2x300pb).

J'ai eu à charge le traitement bio-informatique des données brutes, incluant la construction des bases de données de référence spécifiques aux organismes ciblés et l'analyses statistiques des résultats.

Pour chaque valeur modifiable du traitement bio-informatique, différents seuils ont été testés et ceux permettant une assignation la plus précise possible ainsi qu'un clustering des séquences, cohérent au regard de la littérature ont été conservés. Les seuils testés sont notamment la taille

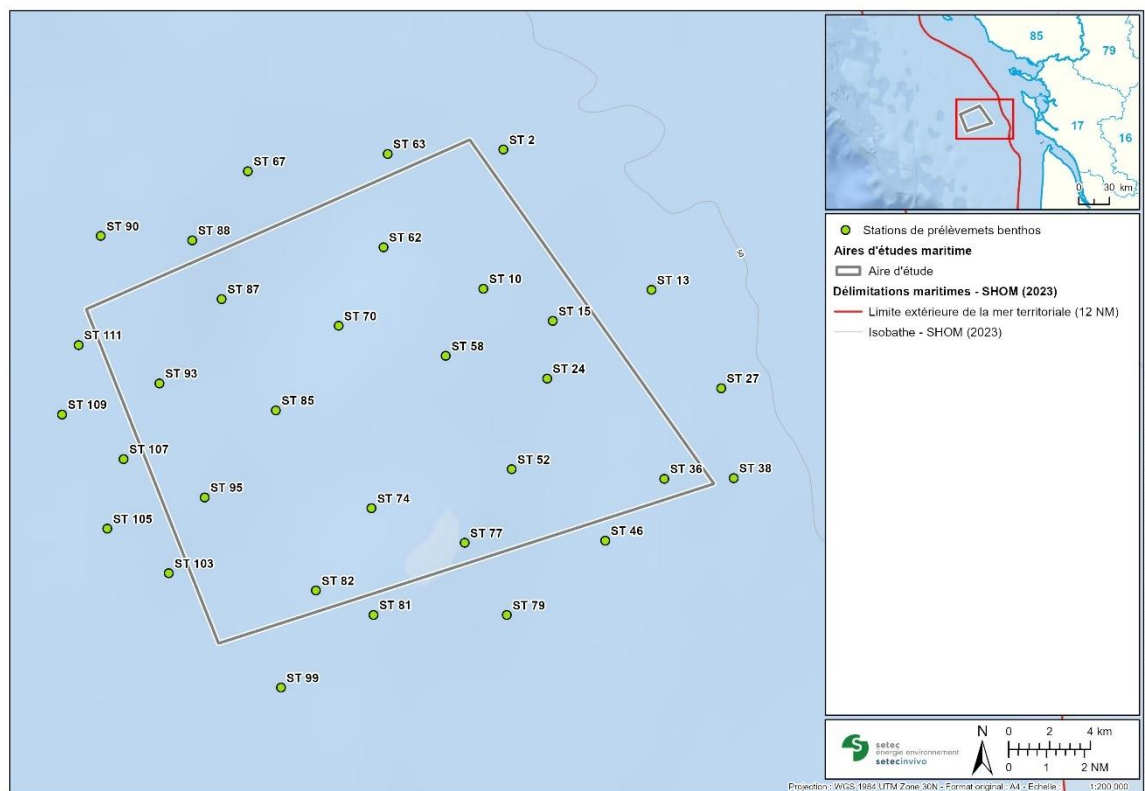


Figure 1 : Représentation de la zone d'étude et localisation des sites de prélèvements.

de recouvrement ([10 à 30] pb), la taille minimale et maximale des séquences ([100 à 400] pb), le % identité de clustering ([0,95 à 1,00]), et les seuils d'assignations : pour VSEARCH ([0,96 à 0,99] % identité, LCA [0,90 à 0,95]), et Blastn ([0,96 à 0,99] % identité, et [10e-10 à 10e-30] de e-value)). Le traitement effectué sur les données de cette étude est le suivant.

Les séquences brutes ont été traitées avec Cutadapt v5.0 (Martin et al., 2011) pour supprimer les adaptateurs. Le denoising a été effectué avec DADA2 v1.35.6 (Callahan et al., 2016), avec notamment la fusion des lectures R1/R2 avec un recouvrement minimal de 20 bases, le filtrage fragments de longueur comprise entre 310 et 320 pb, la suppression des chimères via la fonction `removeBimeraDenovo()`, et la construction d'une table d'ASVs. Ces ASVs ont ensuite été regroupées à 99 % d'identité à l'aide de VSEARCH v2.29.3 (Rognes et al., 2016) (Fig.2). Les assignations taxonomiques ont été réalisées en quatre temps. Premièrement, pour permettre une assignation plus précise et biologiquement cohérente, trois bases de données différentes ont été utilisées. Une base de données de séquences COI tirées de BOLD systemv4 (Ratnasingham et al.2013) est formée, sur la base de la liste des espèces et genres de macro invertébrés benthiques déterminés par les taxonomistes de *setec invivo* dans les échantillonnages collectés précédemment sur la zone d'étude en 2023 et en 2024. Cette base est la base ***Locale_benthique***. Cette base de données locale permet, pour un même OTU présentant des assignations différentes de scores identiques, de choisir une taxonomie plus réaliste. Ensuite nous avons construit une seconde base de données avec les séquences de BOLD systemv4 appartenant à l'ensemble des phylums d'invertébrés benthiques marins, de manière à assigner les séquences d'organismes non déterminés par l'équipe de *setec invivo*. Cette base est la base ***Bold_benthique*** (Fig.3). A ce stade les OTUs présents dans les contrôles négatifs sont retirés du jeu de données. En deuxième, les OTUs sont assignés aux bases de données locale_benthique et Bold_benthique, avec VSEARCH v29.3 (commande `usearch_global`), avec un seuil d'identité de 97% et une coupure LCA (Lowest Common Ancestor) fixée à 0.95. En troisième temps les séquences d'OTUs sont assignés à la base ***COInr*** (Meglecz 2023), une base couvrant l'ensemble des eucaryotes (disponible sur Genbank et Bold) avec une méthode analogue aux premières bases de données, suivi d'une autre assignation avec la méthode BLAST+ (commande `blastn`, Camacho et al.2009), avec un seuil d'identité de 97% et une e-value de 1e-20. *In fine*, dans le cas de plusieurs assignations pour un même OTU, l'assignation avec les meilleurs scores d'identités et d'e-value est conservée. Si deux assignations ont un score analogue, l'OTU est associé à un rang taxonomique supérieurs commun (par exemple le

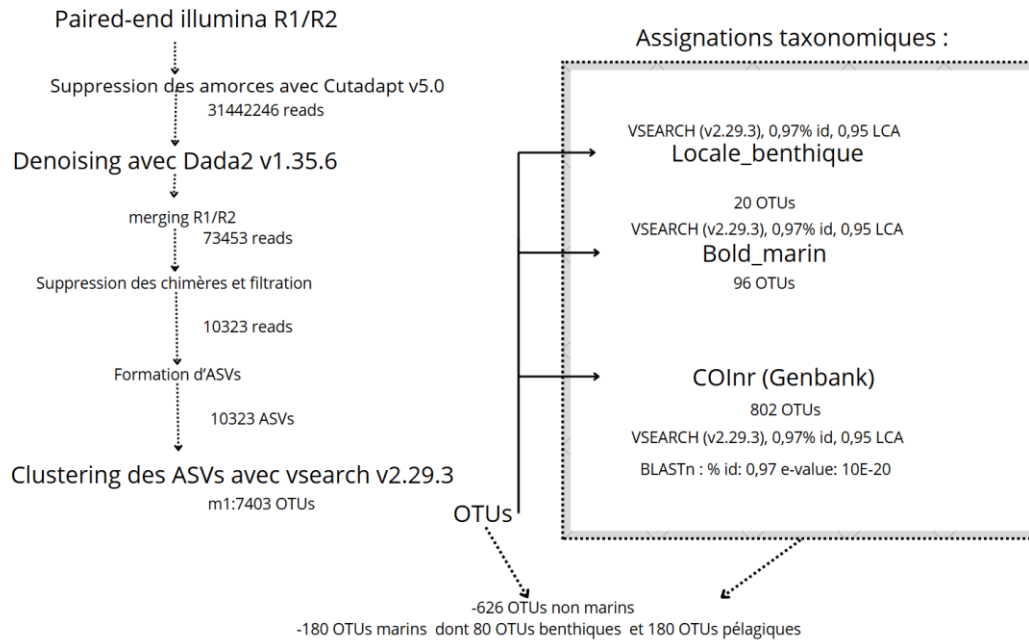


Figure 2 : Pipeline de denoising des séquences brutes, de clustering et d'assignation des OTUs formés.

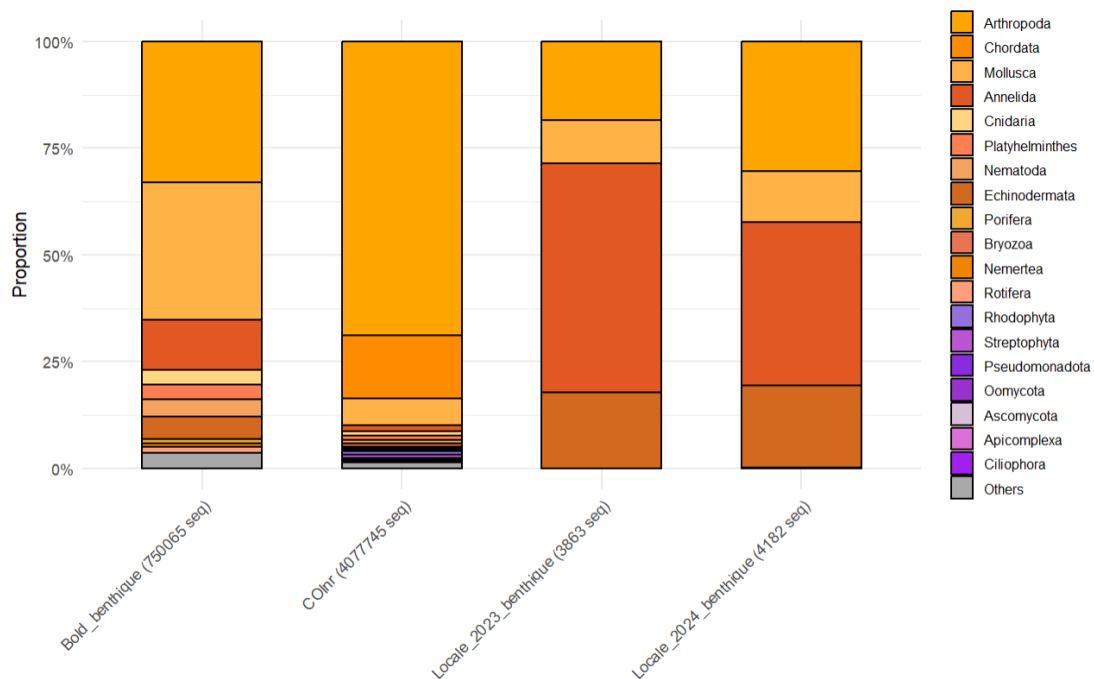


Figure 3 : Proportions de séquences COI par phylums, dans chaque base de données, utilisées pour l'assignation taxonomique. Les organismes métazoaires sont représentés en nuances d'orange et les autres organismes uni et pluricellulaires sont représentés en nuance de violet.

genre ou la famille). Seuls les OTUs correspondant à des organismes benthiques marins sont retenus. Les espèces uniquement marines et benthiques ont été identifiées avec WORMs, le site de l'INPN et sur la base de la littérature. L'utilisation de plusieurs seuils d'assignation sur plusieurs bases de données, de la plus locale (Locale_benthique) à la plus globale (COInr) a permis des assignations les plus fiables possibles compte tenu du caractère très généraliste du marqueur utilisé (Leray et al.2013). A cette étape les Fungi ont été écartés du jeu de données, en raison de l'ambiguïté des fungi assignés vivant en milieu marin et terrestre et au regard de la faible proportion de séquences qu'ils représentaient (moins d'une centaine de lectures). De plus les sites 3 et 72 ont été retirés en raison d'une trop faible profondeur de séquençage.

Analyses statistiques : Pour les analyses de la distance decay et de l'effet de l'habitat, la table d'occurrence des OTUs par sites a été normalisée en proportions par la méthode Hellinger du package R vegan (Oksanen et al.2020) (fonction decostand) afin de travailler sur les abondances relatives des séquences des OTUs benthiques. Cette transformation réduit l'impact des abondances trop élevées et est utilisable en présence de nombreux zéros, deux points caractéristiques du jeu de données (Legendre et al.2001). Ensuite une matrice de dissimilarité basée sur l'indice de Bray-Curtis a été formée avec le package R vegan (fonction vegdist) afin de mesurer les différences de composition, entre les communautés eucaryotes benthiques, sur la base de leurs abondances relatives (Legendre 2012).

Afin d'étudier l'hypothèse que les sites de granulométrie analogues abritent des communautés benthiques similaires, un clustering hiérarchique des sites les plus similaires est effectué sur la base de la matrice de dissimilarité de Bray-Curtis entre les sites (package R, commande hclust). La classification est effectuée avec la méthode UPGMA (commande average), en raison du caractère non euclidien de la matrice de Bray-Curtis (Legendre 2012) Les résultats sont représentés en dendrogramme et les sites présentent l'information de la catégorie granulométrique (faciès Wentworth, voir annexe 2). L'impact de la variable qualitative granulométrique est également testé sur la dissimilarité pour l'ensemble des sites avec une PERMANOVA (vegan, commande adonis2) dont l'utilisation est justifiée par un test de la dispersion de la variance entre les sites de granulométrie différente (Anderson et al.2006) (vegan, commande betadisper).

Chaque site est associé à une classe granulométrique, mais certains présentent des proportions non négligeables (mais pas majoritaires) d'autres classes de grains. Ainsi pour permettre une analyse plus fine, les proportions de classes granulométriques de chaque site sont transformées par la méthode Centered Log-Ratio (CLR) afin d'obtenir pour chaque classe de grain, une variable quantitative différant d'un site à l'autre. Cette transformation est effectuée avec le package R *compositions* (commande *clr*) et permet de rendre les proportions indépendantes statistiquement ainsi utilisables en analyse multivariée (Aitchison 1982).

Les données granulométriques transformées (CLR) et d'autres variables environnementales mesurées sur les sédiments prélevés sont soumises au test du Facteur d'Inflation de la Variance (VIF, package R *car*, commande *vif*) et les variables présentant un score de corrélation supérieur à 5 sont éliminées.

Ce test permet d'éliminer les variables corrélées entre elles (O'brien 2007). Les variables faiblement corrélées retenues dans le modèle sont : la matière sèche M.S (% de poids brut), le pH (extrait à l'eau), le phosphore total (P2O5, mg/kg M.S), hydrocarbures totaux (C10-C40, mg/kg M.S), somme des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP, mg/kg M.S), somme des polychlorobiphényles (PCB, mg/kg M.S), et la concentration en monobutyltin ionisé (MBT, µg/kg M.S). De plus les variables granulométriques transformées (CLR) ont été ajoutées au modèle et respectent le seuil minimal de corrélation du VIF.

DB RDA (Distance-Based Redundancy Analysis) : La matrice de distance des abondances relatives d'OTUs par sites est testée avec les variables granulométriques et les variables retenues par le VIF dans une Analyse de redondance discriminante basée sur la distance (dbRDA, package R *vegan*, commande *capscale*). Cette méthode est choisie en raison du caractère non euclidien de la matrice de Bray-Curtis, et de la non-linéarité des variables explicatives (Legendre et al.1999). Ensuite l'effet de chaque variable est testé dans une PERMANOVA terme à terme (*vegan*, commande *anova*, 999 permutations) afin d'observer l'effet de chaque variable.

Taxons indicateurs : Les résultats de l'analyse de l'impact de la granulométrie et autres variables mettent en évidence deux groupes de sites (voir résultats). Une recherche des taxons influençant significativement la distance de Bray-Curtis est effectuée sur les sites 2, 63, 74, 90, 93 et 103 et le reste des sites séparément. Pour cela un test IndVal (package R *indispecies*, commande *multipatt*) est effectuée sur la table d'OTUs par sites et la matrice de distance (Caceres et al.2009).

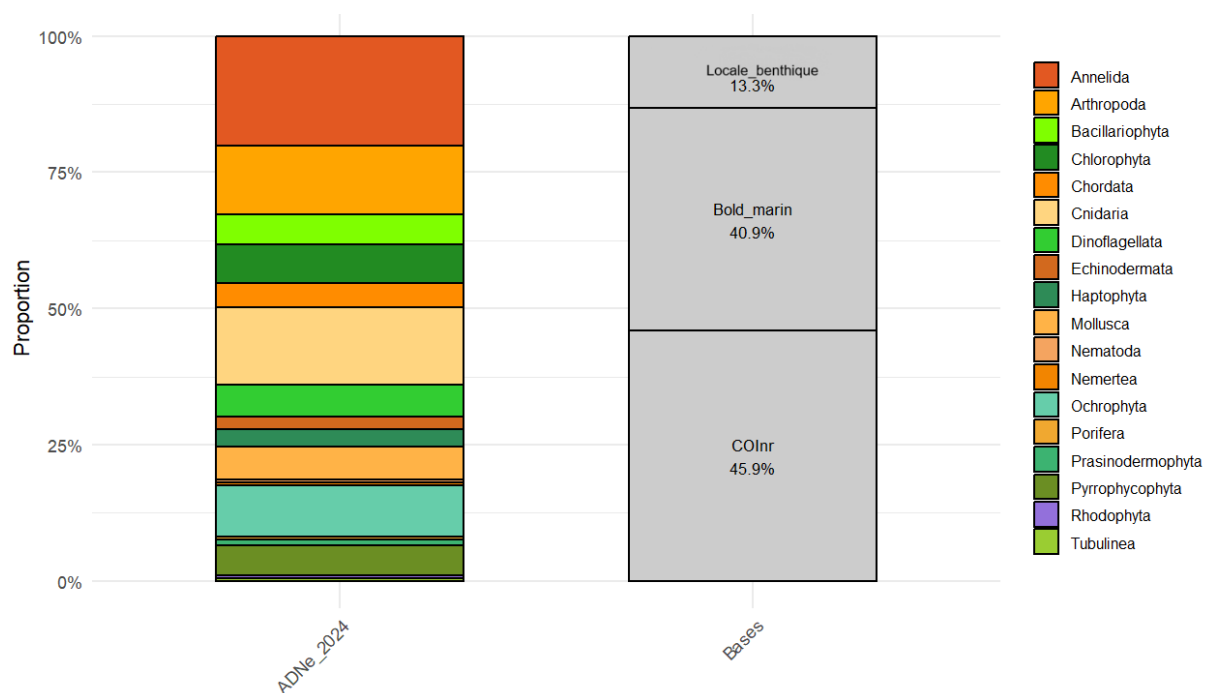


Figure 4 : Proportions relatives de séquences assignées taxonomiquement. A gauche : représentation de la proportion d'OTUs assignés par phylums pour l'ensemble des échantillons collectés. En nuances d'orange sont les métazoaires, en nuance de vert les organismes benthiques et pélagiques photosynthétiques. A droite est représentée la proportion d'OTUs assignés selon les trois bases de données (les proportions sont arrondies au 10^{ème}).

Distance-decay : Pour tester l'effet distance decay, deux matrices de distance basées sur la distance géographique d'une part entre les sites de sables très fins à vaseux, et d'autre part entre les sites de sables moyens à grossiers sont calculées en utilisant les coordonnées latitudinales, longitudinales et de profondeur d'échantillonnage des différents sites. Cette opération est effectuée avec le package R geosphere (Hijmans et al.2010). Ensuite pour tester l'hypothèse de la distance decay, un test de Mantel (package R vegan) est effectué sur les matrices de distances géographiques ainsi que les matrices de dissimilarités écologiques de Bray-Curtis pour les deux groupes de sites.

III Résultats :

Un set de données contraint mais intégrant une proportion de taxons cibles : Après regroupement des lectures R1 et R2, le jeu de données s'élevait à 31 442 246 reads. Les étapes de denoising ont formé 10 323 ASV à partir des séquences non chimériques. Le clustering des ASV a donné 7 403 OTUs (Fig.2). Sur l'ensemble des OTUs, 806 ont été assignés dont 180 assignations correspondant à des organismes marins pélagiques ou benthiques. Enfin sur ces assignations, 100 OTUs correspondent à des taxons pélagiques, et 80 OTUs correspondent à des taxons benthiques. 13,3% des genres ont été assignés à la base de données locale_benthique, 40,9% ont été assignés à la base d'invertébrés benthiques marins Bold_benthique mais ne sont pas présents sur la base locale _benthique, et enfin 45,9% ont été assignés avec la base COInr de Genbank (Fig.4). La figure 4 met en évidence que l'assignation taxonomique couvre un large éventail de phylums marins, incluant les phylums majoritaires des écosystèmes benthiques mais également une proportion non négligeable de phylums d'eucaryotes associés au plancton marin. Les OTUs assignés sont comparés aux déterminations morphologiques des invertébrés benthiques des mêmes échantillons par sites (Fig 5a et 5b). Ces figures permettent d'observer que près de la moitié des organismes assignés sont retrouvés morphologiquement sur les mêmes sites en 2023 et en 2024 (21 pour 39 espèces et 32 pour 37 genres). Cependant une majorité des OTUs ont manifestement des meilleures assignations sur des taxons non détectés en 2023 et 2024. A noter également que le nombre d'organismes détectés par ADNe (que ce soit au niveau de l'espèce ou du genre) est largement plus bas que le nombre d'organismes déterminés morphologiquement sur les mêmes sites.

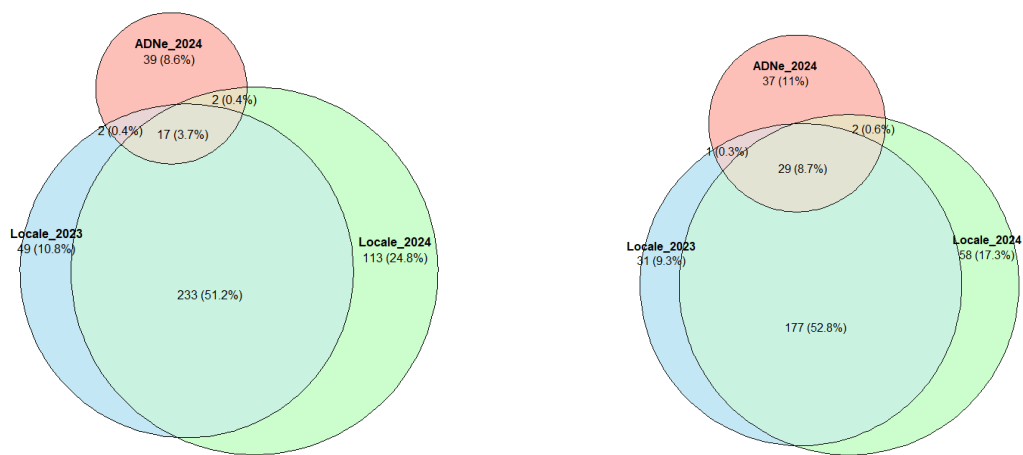


Figure 5 : Diagrammes de Venn représentant les espèces et (à gauche) les genres (à droite) uniques et communs entre l'assignations ADNe_2024 et les taxons déterminés en 2023 (en bleu) et en 2024 (en vert) de manière morphologique.

Structuration partielle des communautés benthiques par la granulométrie et la matière sèche :

Le clustering hiérarchique (Fig. 6) permet premièrement de réfuter l'hypothèse que les communautés les plus similaires sont retrouvées sur les sites dont la granulométrie est analogue. En effet on observe que les sites de classes 'sable grossiers' et 'sables moyens', représentant une majorité, ne sont pas regroupés en clusters distincts. On observe cependant que les granulométries fines : 'sables fins' et 'limons/argiles' sont plus similaires mais ne constituent pas un cluster distinct compte tenu de la présence de sites également proches dont la granulométrie est 'sable moyens' et 'sables grossiers'. Néanmoins la composition des communautés benthiques varie significativement selon les classes granulométriques, comme le montre le test PERMANOVA ($F = 1,89$; $R^2 = 0,22$; $p = 0,025$), basé sur 999 permutations. La granulométrie explique ainsi 22 % de la variance observée. Le test ANOVA de la dispersion de la variance des classes, révélé non significatif ($F = 1,82$; $df = 4,27$; $p = 0.154$), valide l'interprétation de la PERMANOVA. Autrement dit, l'hypothèse que les sites écologiquement similaires sont regroupés en classes granulométriques distinctes est rejetée, mais l'hypothèse de l'absence de différence de composition benthique entre les classes granulométriques ne peut pas être acceptée non plus. L'analyse de redondance basée sur les distances de Bray-Curtis met en évidence une structuration significative des communautés benthiques selon trois variables environnementales (Fig.7) Le test PERMANOVA indique que la matière sèche M.S, la proportion de sables très fins et la proportion de sables moyens expliquent significativement la variation de la composition des communautés (respectivement : $F = 4.47$, $p = 0.0013$; $F = 2.07$, $p = 0.0386$; $F = 2.06$, $p = 0.0287$). Les autres variables du modèle n'ont pas d'effet significatif. Le graphique db-RDA (Fig.7) montre une séparation selon le premier axe (dbRDA1) expliquant 54,3% de la variance. Cet axe distingue la majorité des sites (à droite) caractérisés par un pourcentage de matière sèche élevée et une granulométrie plus grossière que les sites situés à gauche du graphique, eux-mêmes caractérisés par une granulométrie plus fine et une quantité de matière sèche plus faible. L'axe dbRDA2 expliquant 16,6% de la variance différencie secondairement les sites 2 et 10 des autres sites, et met en évidence une différence de similarité au sein des sites structurés par les sables très fins et les sites de sable moyens. Cette analyse permet néanmoins de diviser le jeu de données en deux groupes : les sites dont la similarité de composition des communautés benthiques est expliquée en partie par une granulométrie fine (sites 2, 63, 74, 90, 93 et 103) et le reste des sites avec une proportion de matière sèche et de grains moyens à grossiers plus importante.

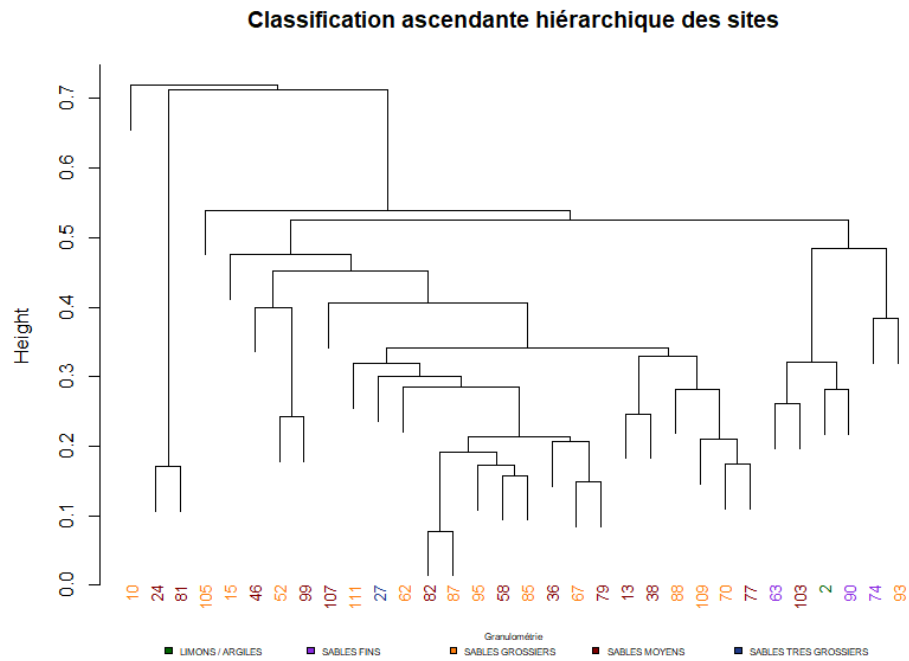


Figure 6 : Clustering hiérarchique des sites en fonction de la distance de Bray-Curtis avec information de la classe granulométrique de chaque site.

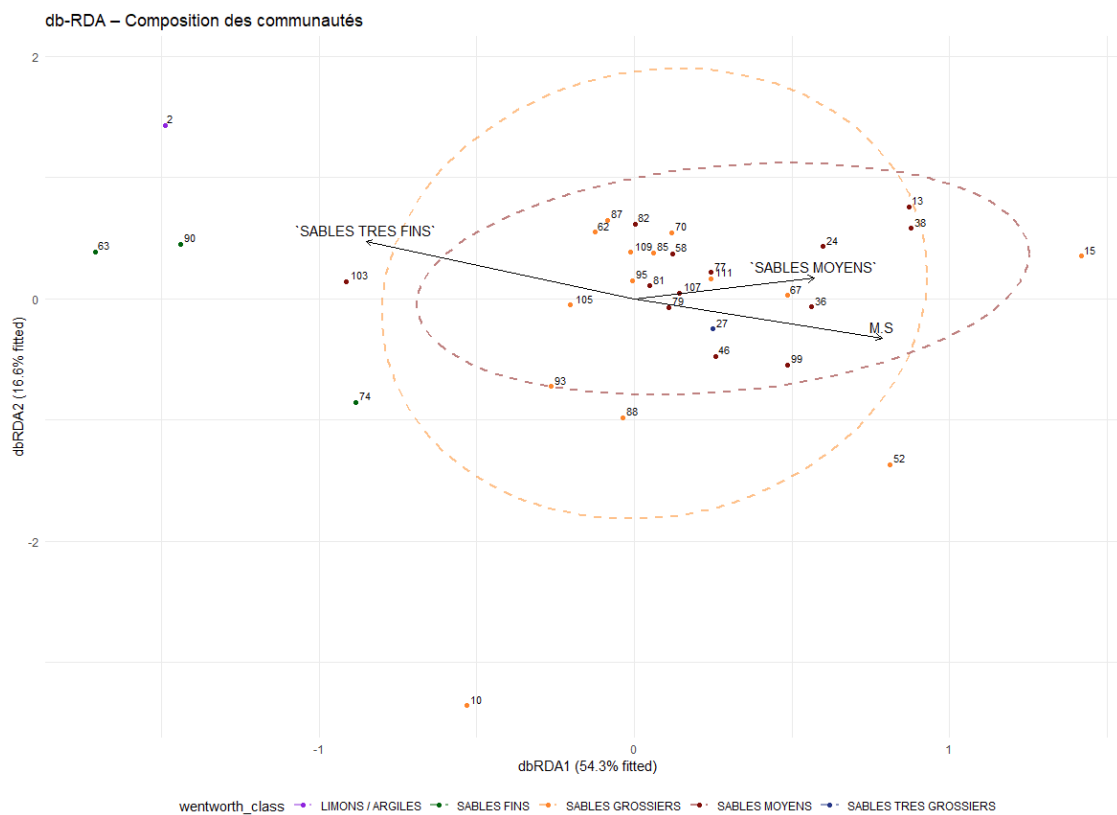


Figure 7 : Représentation de l'analyse dbRDA de la structuration des communautés selon les variables environnementales significatives (flèches).

L'analyse multipatt révèle 5 taxons significativement associés à des groupes de sédiments. Les sables très fins sont marqués par la présence du taxon *Paradoneis ilvana* (polychète fig.8.a, statistique IndVal.g=0.791, p=0.019), D'autres part les sables moyens à grossiers sont marqués par la présence des taxons *Hesionura elongata* (polychète fig.8.b, IndVal.g=0.806, p=0.016), *Protodorvillea kefersteini* (polychète fig.8.c, IndVal.g=0.798, p=0.023).

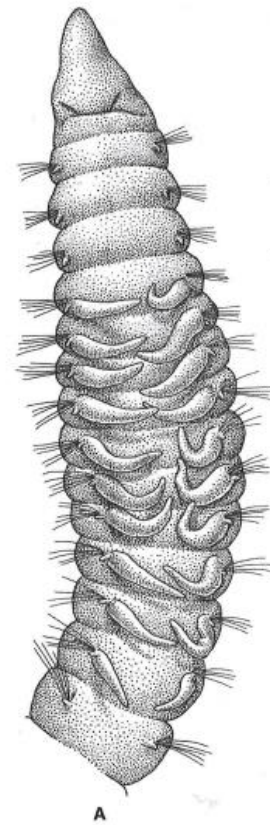
Absence de relation entre la distance géographique et la structure des communautés benthiques : Les résultats des tests de Mantel, effectués d'une part sur les 6 groupes de sables très fins, et d'autre part sur le reste des groupes (sables moyens à grossiers), indiquent une corrélation non significative entre les matrices de dissimilarité de Bray-Curtis et de distance géographique entre sites ($r = 0,1105$; $p = 0.2861$ pour les sables très fins, et $r = -0.04056$, $p = 0.655$ pour les sables moyens à grossiers). Cela indique que les données ne présentent pas de relation marquée entre la distance géographique et la dissimilarité de composition des communautés benthiques au sein des 2 grandes topologies de sédiments (fig.9). Autrement dit, les sites les plus éloignés entre eux n'abritent pas des communautés significativement différentes. Il n'y a pas suffisamment d'éléments pour rejeter l'hypothèse nulle d'indépendance entre les matrices de distance géographiques et écologiques pour les deux groupes de sites testés.



B



C



A

Figure 8 : Photos des polychètes majoritaires : (A) *Paradoneis ilvana* (Fauna ibérique, vol.47), (B) *Hesionura elongata* (Wikipedia), (C) *Protodorvillea kefersteini* (Wikipedia).

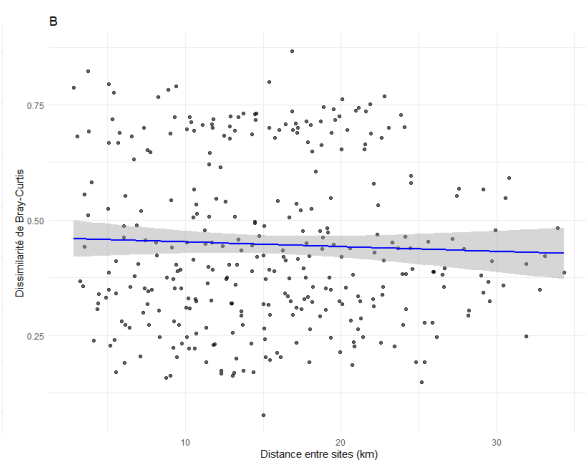
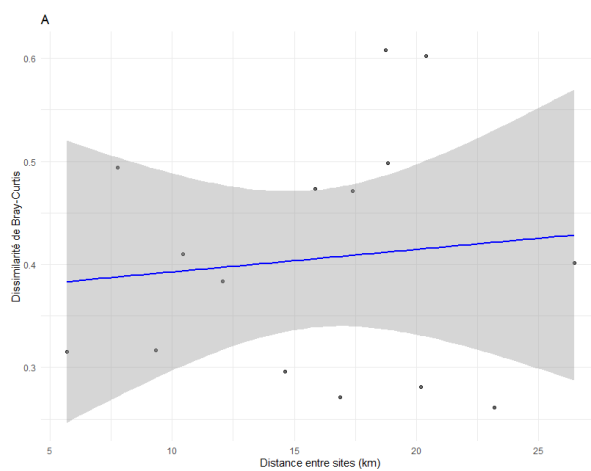


Figure 9 : Représentation graphique de la distance de Bray-Curtis en fonction la distance géographique et en profondeur entre les paires de sites (A) de sables très fins à vaseux, et (B) de sables moyens à grossiers.

IV Discussion :

Les analyses de l'impact de la granulométrie sur la structure des communautés ont mené au rejet de l'hypothèse d'une séparation des sites les plus similaires selon une taille de grain analogue. En effet le clustering hiérarchique (fig.6) montre que des sites abritant des communautés très similaires pour lesquels la granulométrie est différente. Pourtant au regard de la littérature, l'effet du type de substrat est un paramètre majeur pour les organismes benthiques (Puls et al.2012). Comme la PERMANOVA effectuée sur la matrice de dissimilarité de Bray-Curtis explique une différence significative de similarité en relation avec la variable granulométrique, une explication des agencements des sites les plus similaires du clustering hiérarchique est que le type de substrat joue bel et bien un rôle, mais pas pour toutes les classes granulométriques. D'un autre côté, il se peut que l'utilisation d'une variable catégorielle de classe granulométrique soit trop restrictif compte tenu du fait que certains sites abritent plusieurs des tailles de grains différentes. La transformation des proportions en variables indépendantes et l'analyse de dbRDA ont permis d'observer que 54,3% de la variabilité s'explique par une distinction entre les sites de granulométrie très fines à vaseuses, et les sites de sables moyens à grossiers. De plus, bien que la structuration des communautés soit multifactorielle, les variables connues pour influencer les organismes benthiques (pH, température, azote inorganique, métaux lourds, hydrocarbures) n'ont pas montré d'effet contrairement à ce qu'il a été observé (Zhang et al.2017, Fadeeva et al.2003). Il apparaît qu'une part de la variabilité pourrait être liée à des facteurs qui n'ont pas été testés dans d'autres études que celle-ci (notamment la salinité, et l'oxygène dissous) (Zettler et al.2007, Diaz et al.1995). Cependant la dbRDA montre que le pourcentage de matière sèche par poids brut dans les sédiments révèle une part de l'explication de la variation. En effet cette variable est utilisée comme proxy de la matière organique présente dans les sédiments (notamment le carbone). Ainsi les sédiments fins présentent des quantités de matière organique plus élevées à mesure que la matière sèche diminue (Avnimelech et al.2001). Bien qu'une augmentation de la matière organique présente bénéficie à des espèces détritivores inféodées aux sables vaseux et fins (Scaps 2024), il est nécessaire de garder à l'idée que cela n'explique pas forcément mieux la dissimilarité entre les sites. En effet, si la granulométrie est responsable de la structuration de certaines communautés, ces communautés sont également sensibles à la teneur en nutriments, et il se peut que ces deux facteurs expliquent la même chose (Wang, et al. 2024). La distinction entre les sites dont les substrats sont très fins d'une part et plus grossiers d'autre part permet néanmoins d'expliquer la présence de certains taxons. En effet, les polychètes *H.elongata* et

P. kefersteinii, des organismes fouisseurs opportunistes sont couramment retrouvés dans les substrats moyens à grossiers car ces habitats d'espaces interstitiels plus grands confèrent une bonne capacité de locomotion et de prédation (Moyano et al 2010, Dagli et al 2024). En parallèle, la présence significative de *P. ilvana* dans les sables très fins et stables concorde avec son écologie. Cette espèce de polychète, dépositivore de surface, est typiquement associée à des substrats fins et riches en matière organique, caractéristiques des milieux calmes. Sa préférence pour ces habitats explique l'augmentation de son abondance avec la diminution de la taille des grains et l'enrichissement du sédiment (Aguirrezabalaga et al. 2008).

Les tests de Mantel montrent que la structure des communautés benthiques ne présente pas de similarité marquée entre les sites géographiquement éloignés pour les groupes 'sables fins' et 'sables moyens' indépendamment. Cette hypothèse de départ pourtant observée dans certaines études (Martins et al.2012) est rejetée dans cette étude. Il semble que l'influence du substrat soit un facteur plus marquant que la capacité de dispersion des organismes ou la dispersion stochastique. Cet effet est notamment observé dans l'étude de Ellingsen et & Gray (2002).

Les résultats précédemment discutés notamment sur l'impossibilité de démontrer les hypothèses i et iii, peuvent également être expliqués par des limites méthodologiques. En effet, sur les 355 espèces d'invertébrés benthiques déterminées morphologiquement en 2024 par les équipes de taxonomistes de *setec invivo*, seules 19 ont été détectées à l'aide de l'ADNe. De ce fait, un certain nombre d'espèces étaient bel et bien présentes dans les échantillons d'où les ADN ont été extraits mais n'ont pas pu être détectés. Cette faible quantité d'espèces détectées nous oblige à garder un regard critique quant aux résultats obtenus, car les sites étudiés n'abritent pas nécessairement des communautés dont la similarité entre sites s'exprime différemment des conclusions que l'on peut lire dans la littérature. De plus, il se pose naturellement la question de la pertinence des amorces de (Leray et al.2013) pour une approche ciblée uniquement sur les invertébrés benthiques. En effet, une part importante des OTUs ont été assignés à des organismes non marins (notamment des diptères). Sur les OTUs assignés à des taxons marins, une part importante est associée à des organismes pélagiques. Malgré une bonne capacité à amplifier le phylum des polychètes (taxon souvent majoritaire du macrobenthos), ce marqueur s'est montré efficace pour les communautés zooplanctoniques et pélagiques en général (Stepien et al.2024). La large gamme de taxons amplifiables est tout de même intéressante dans notre étude car permettant de détecter des organismes qui ne sont pas aussi bien détectés par détermination à la binoculaire (Cnidaires, Echinodermes, Porifères,

zooplancton et meiofaune difficilement détectable). Cependant au regard de ce que l'on y trouve (annexe 3 et 4), les séquences d'OTUs pélagiques sont retrouvées en plus grande quantité que celles des OTUs benthiques. La présence de ces organismes, appartenant notamment au phytoplancton, dans les sédiments peut s'expliquer par la présence de cellules mortes agrégées ou de matière fécale (Turner et al.2002). Comme il est presque impossible d'éviter d'extraire ces ADN non-cible, une solution est de revoir la spécificité du marqueur, car une forte présence de ces ADN peut diminuer la fréquence des espèces cibles par compétition lors de l'amplification (Collins et al.2019). Une perspective couramment rencontrée est d'utiliser plusieurs marqueurs, notamment le 18S en addition du COI, car malgré une relative meilleure quantité de séquences amplifiées avec le COI, le 18S amplifie moins d'ADN non-cibles (Daraghmeh et al.2025). Une seconde perspective d'amélioration pour ce marqueur, au regard de l'amplification non-cible importante, est d'effectuer une plus grande profondeur de séquençage. Cela peut s'effectuer en Illumina MiSeq ou avec NovaSeq, une technologie pouvant aller jusqu'à 7 millions de lectures par échantillon (Singer et al.2019). Cela n'amplifiera pas les séquences cibles mieux que les autres mais cela permettrait d'obtenir une quantité plus importante d'OTUs assignés aux espèces benthiques. Enfin, une limite de l'utilisation de la méthode du metabarcoding dans l'étude des communautés benthiques est le manque flagrant de séquences dans les bases de données. En effet, malgré une plus grande quantité de séquences référencées, le gène COI est encore manquant pour certains organismes. Une étude de (Hestetun et al.2020) met en valeur que sur l'ensemble des organismes de la macrofaune benthique, de mer du Nord, déterminés seules les moitiés présentaient une séquence disponible dans les bases de données publiques. Cet effet explique une des raisons pour laquelle l'ensemble des organismes déterminés par des différences morphologiques ne sont pas détectés dans le jeu de données d'ADNe. Une perspective à long terme est naturellement de travailler avec les experts en détection morphologique pour combler les lacunes en séquençant des organismes jusqu'à lors indétectables.

V Conclusion et perspectives :

L'utilisation du COI dans l'étude des facteurs structurant les communautés eucaryotes benthiques de la zone d'étude au large de l'île d'Oléron a permis de mettre en évidence une distinction entre les communautés des sites de sables très fins à vaseux et des sites de sables moyens à grossiers. Les communautés inféodées à une grande taille de grains sont dominées par des polychètes *H.elongata* et *P.kefersteinii*, et les sites de sables plus fins par *P.ilvana*. Nous n'avons cependant pas observé une structure nettement différente entre les classes granulométriques, ainsi que l'impact des polluants et métaux lourds dans les sédiments. De plus les patterns de distance-decay n'ont pas été observés entre les sites d'habitats similaires.

Néanmoins mon travail a permis de définir les seuils pertinents de paramètres de traitement bio-informatique, et de permettre une assignation des séquences le plus précisément possible par l'élaboration de bases d'une base de données locale et globale des grands groupes d'invertébrés benthiques marins. De plus mon travail a permis de revoir l'utilisation du marqueur de Leray et al. (2013) notamment sur la pertinence de son utilisation pour cibler spécifiquement les invertébrés benthiques. Enfin cette étude permet de discuter de l'efficacité de l'outil ADNe en comparaison avec les méthodes de détermination morphologique de la macrofaune benthique, et de réfléchir aux améliorations méthodologiques que l'on peut apporter. Les perspectives que je propose pour une amélioration de la méthodologie sont premièrement d'échantillonner également des sites dont l'habitat est marqué par une granulométrie plus grande afin éventuellement de capter des séquences d'organismes sessiles inféodés aux substrats durs. Ensuite je suggère l'utilisation de marqueurs amplifiant une gamme de taxons moins large (ciblant par exemple le 18S) en addition du marqueur COI de Leray et al. (2013). L'addition des deux méthodes permettra une détection à la fois large et ciblée sur les organismes benthiques. A cela s'ajoute la proposition de maximiser la profondeur de séquençage au possible, car les espèces non-cibles seront éliminées. Enfin il s'agit d'enrichir la base de données locale_benthique avec des séquences d'individus déterminés morphologiquement, et de procéder à l'assignation des séquences de la base la plus locale à la base la plus globale.

VI Bibliographie :

Aguirrezabalaga, F., & Gil, J. (2008). Paraonidae (Annelida: Polychaeta) of the inlet of Zarautz (Basque Coast, Bay of Biscay), with new records from the Atlantic and the Iberian Coasts. *Cahiers De Biologie Marine*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Paraonidae-%28Annelida%3A-Polychaeta%29-of-the-inlet-of-Aguirrezabalaga-Gil/8db4e6f246bdab1dbf318583aaf4b98f9aeec0a>

Aitchison, J. (1982). The Statistical Analysis of Compositional Data. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, 44(2), 139–160. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1982.tb01195.x>

Anderson, M. J. (2006). Distance-Based Tests for Homogeneity of Multivariate Dispersions. *Biometrics*, 62(1), 245–253. <https://doi.org/10.1111/j.1541-0420.2005.00440.x>

Avnimelech, Y., Ritvo, G., Meijer, L. E., & Kochba, M. (2001). Water content, organic carbon and dry bulk density in flooded sediments. *Aquacultural Engineering*, 25(1), 25–33. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(01\)00068-1](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(01)00068-1)

Breine, N. T., De Backer, A., Van Colen, C., Moens, T., Hostens, K., & Van Hoey, G. (2018). Structural and functional diversity of soft-bottom macrobenthic communities in the Southern North Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 214, 173–184. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2018.09.012>

Cáceres, M. D., & Legendre, P. (2009). Associations between species and groups of sites: Indices and statistical inference. *Ecology*, 90(12), 3566–3574. <https://doi.org/10.1890/08-1823.1>

Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>

Camacho, C., Coulouris, G., Avagyan, V., Ma, N., Papadopoulos, J., Bealer, K., & Madden, T. L. (2009). BLAST+: Architecture and applications. *BMC Bioinformatics*, 10(1), Article 1. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-421>

Chauvel, N., Raoux, A., Weill, P., Dezilleau, L., Méar, Y., Murat, A., Poizot, E., Foveau, A., Desroy, N., Thiébaud, É., Dauvin, J.-C., & Pezy, J.-P. (2024). Sediment grain size and benthic community structure in the eastern English Channel: Species-dependent responses and environmental influence. *Marine Pollution Bulletin*, 200, 116042. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2024.116042>

Collins, R. A., Bakker, J., Wangenstein, O. S., Soto, A. Z., Corrigan, L., Sims, D. W., Genner, M. J., & Mariani, S. (2019). Non-specific amplification compromises environmental DNA metabarcoding with COI. *Methods in Ecology and Evolution*, 10(11), 1985–2001. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13276>

Dağlı, E., Ateş, A. S., Acar, S., & Büyükkateş, Y. (2024). The Relationship of Bristle Worm, *Protodorvillea kefersteini* (McIntosh, 1869) (Eunicida, Dorvilleidae) Abundance with

Environmental Variables in Çardak Lagoon (Turkish Straits) Exposed to domestic Discharge. *Aquatic Sciences and Engineering*, 39(1), Article 1. <https://doi.org/10.26650/ASE20241322577>

Daraghmeh, N., Exter, K., Pagnier, J., Balazy, P., Cancio, I., Chatzigeorgiou, G., Chatzinikolaou, E., Chelchowski, M., Christmas, N. A. M., Comtet, T., Dailianis, T., Deneudt, K., Diaz de Cerio, O., Digenis, M., Gerovasileiou, V., González, J., Kauppi, L., Kristoffersen, J. B., Kukliński, P., ... Obst, M. (2025). A Long-Term Ecological Research Data Set From the Marine Genetic Monitoring Program ARMS-MBON 2018–2020. *Molecular Ecology Resources*, 25(4), e14073. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.14073>

Diaz RJ, Rosenberg R (1995) Marine benthic hypoxia: A review of its ecological effects and the behavioural response of benthic macrofauna. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 33, 245–303.
https://www.researchgate.net/publication/236628341_Marine_benthic_hypoxia_A_review_of_its_ecological_effects_and_the_behavioural_response_of_benthic_macrofauna

Ellingsen, K. E. (2002). Soft-sediment benthic biodiversity on the continental shelf in relation to environmental variability. *Marine Ecology Progress Series*, 232, 15–27. <https://doi.org/10.3354/meps232015>

Ellingsen, Karie., & Gray, J. s. (2002). Spatial patterns of benthic diversity: Is there a latitudinal gradient along the Norwegian continental shelf? *Journal of Animal Ecology*, 71(3), 373–389. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2002.00606.x>

Fadeeva, N. P., Bezverbnaja, I. P., Tazaki, K., Watanabe, H., & Fadeev, V. I. (2003). Composition and Structure of Marine Benthic Community Regarding Conditions of Chronic Barbour Pollution. *Ocean and Polar Research*, 25(1), 21–30. <https://doi.org/10.4217/OPR.2003.25.1.021>

Forster, D., Dunthorn, M., Mahé, F., Dolan, J. R., Audic, S., Bass, D., Bittner, L., Boutte, C., Christen, R., Claverie, J.-M., Decelle, J., Edvardsen, B., Egge, E., Eikrem, W., Gobet, A., Kooistra, W. H. C. F., Logares, R., Massana, R., Montresor, M., ... Stoeck, T. (2016). Benthic protists: The under-charted majority. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(8), fiw120. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw120>

Griffiths, J. R., Kadin, M., Nascimento, F. J. A., Tamelander, T., Törnroos, A., Bonaglia, S., Bonsdorff, E., Brüchert, V., Gårdmark, A., Järnström, M., Kotta, J., Lindegren, M., Nordström, M. C., Norkko, A., Olsson, J., Weigel, B., Žydelis, R., Blenckner, T., Niiranen, S., & Winder, M. (2017). The importance of benthic–pelagic coupling for marine ecosystem functioning in a changing world. *Global Change Biology*, 23(6), 2179–2196. <https://doi.org/10.1111/gcb.13642>

Haenel, Q., Holovachov, O., Jondelius, U., Sundberg, P., & Bourlat, S. J. (2017). NGS-based biodiversity and community structure analysis of meiofaunal eukaryotes in shell sand from Hällö island, Smögen, and soft mud from Gullmarn Fjord, Sweden. *Biodiversity Data Journal*, 5, e12731. <https://doi.org/10.3897/BDJ.5.e12731>

Hestetun, J. T., Bye-Ingebrigtsen, E., Nilsson, R. H., Glover, A. G., Johansen, P.-O., & Dahlgren, T. G. (2020). Significant taxon sampling gaps in DNA databases limit the operational

use of marine macrofauna metabarcoding. *Marine Biodiversity*, 50(5), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s12526-020-01093-5>

Legendre, P., & Anderson, M. J. (1999). Distance-Based Redundancy Analysis: Testing Multispecies Responses in Multifactorial Ecological Experiments. *Ecological Monographs*, 69(1), 1–24. [https://doi.org/10.1890/0012-9615\(1999\)069\[0001:DBRATM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9615(1999)069[0001:DBRATM]2.0.CO;2)

Legendre, P., & Gallagher, E. D. (2001). Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia*, 129(2), 271–280. <https://doi.org/10.1007/s004420100716>

Legendre, P., & Legendre, L. (2012). *Numerical Ecology*. Elsevier.

Liu, J., & Zhang, H. (2021). Combining Multiple Markers in Environmental DNA Metabarcoding to Assess Deep-Sea Benthic Biodiversity. *Frontiers in Marine Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.684955>

Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.Journal*, 17(1), Article 1. <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>

Martins, G. M., Patarra, R. F., Álvaro, N. V., Prestes, A. C. L., & Neto, A. I. (2013). Effects of coastal orientation and depth on the distribution of subtidal benthic assemblages. *Marine Ecology*, 34(3), 289–297. <https://doi.org/10.1111/maec.12014>

Megléc, E. (2023). COInr and mkCOInr: Building and customizing a nonredundant barcoding reference database from BOLD and NCBI using a semi-automated pipeline. *Molecular Ecology Resources*, 23(4), 933–945. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13756>

Nekola, J. C., & White, P. S. (1999). The distance decay of similarity in biogeography and ecology. *Journal of Biogeography*, 26(4), 867–878. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.1999.00305.x>

O’Brien, R. M. (2007). A Caution Regarding Rules of Thumb for Variance Inflation Factors. *Quality & Quantity*, 41(5), 673–690. <https://doi.org/10.1007/s11135-006-9018-6>

Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlinn D, Minchin PR, O’Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Szoecs E & Wagner H (2020) *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.5-7. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

Puls, W., van Bernem, K.-H., Eppel, D., Kapitza, H., Pleskachevsky, A., Riethmüller, R., & Vaessen, B. (2012). Prediction of benthic community structure from environmental variables in a soft-sediment tidal basin (North Sea). *Helgoland Marine Research*, 66(3), Article 3. <https://doi.org/10.1007/s10152-011-0275-y>

Ratnasingham S, Hebert PDN (2013) A DNA-based registry for all animal species: the Barcode Index Number (BIN) system. *PLoS ONE*, 8, e66213. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066213>

Robert J. Hijmans (2010). *geosphere: Spherical Trigonometry*. R package version 1.5-20, <https://cran.r-project.org/web/packages/geosphere>. Accessed 22 May. 2025.

- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., & Mahé, F. (2016). VSEARCH: A versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>
- Romoth, K., Darr, A., Papenmeier, S., Zettler, M. L., & Gogina, M. (2023). Substrate Heterogeneity as a Trigger for Species Diversity in Marine Benthic Assemblages. *Biology*, 12(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/biology12060825>
- Sánchez-Moyano, J. E., García-Asencio, I., & García-Gómez, J. C. (2010). Spatial and temporal variation of the benthic macrofauna in a grossly polluted estuary from southwestern Spain. *Helgoland Marine Research*, 64(3), Article 3. <https://doi.org/10.1007/s10152-009-0175-6>
- Singer, G. a. C., Fahner, N. A., Barnes, J. G., McCarthy, A., & Hajibabaei, M. (2019). Comprehensive biodiversity analysis via ultra-deep patterned flow cell technology: A case study of eDNA metabarcoding seawater. *Scientific Reports*, 9(1), 5991. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42455-9>
- Scaps P (2022) *Invertébrés marins : Milieux de vie et diversité*. Éditions Ellipses, Paris.
- Snelgrove, P. V. R. (1998). The biodiversity of macrofaunal organisms in marine sediments. *Biodiversity & Conservation*, 7(9), 1123–1132. <https://doi.org/10.1023/A:1008867313340>
- Stepien, C. A., Schultz, H. K., McAllister, S. M., Norton, E. L., & Keister, J. E. (2024). Evaluating Metabarcoding Markers for Identifying Zooplankton and Ichthyoplankton Communities to Species in the Salish Sea: Morphological Comparisons and Rare, Threatened or Invasive Species. *DNA*, 4(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/dna4010001>
- Thrush, S. F., Hewitt, J. E., Cummings, V. J., Norkko, A., & Chiantore, M. (2010). β -Diversity and Species Accumulation in Antarctic Coastal Benthos: Influence of Habitat, Distance and Productivity on Ecological Connectivity. *PLOS ONE*, 5(7), e11899. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011899>
- Tsikopoulou, I., Nasi, F., & Bremner, J. (2024). Editorial: The importance of understanding benthic ecosystem functioning. *Frontiers in Marine Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1470915>
- Turner, J. T. (2002). Zooplankton fecal pellets, marine snow and sinking phytoplankton blooms. *Aquatic Microbial Ecology*, 27(1), 57–102. <https://doi.org/10.3354/ame027057>
- Valanko, S. (2012, December 19). *Dispersal and metacommunity dynamics in a soft-sediment benthic system: How well is the seafloor connected?* Åbo Akademi - Åbo Akademi University. <https://www.doria.fi/handle/10024/86172>
- Vause, B. J., Morley, S. A., Fonseca, V. G., Jażdżewska, A., Ashton, G. V., Barnes, D. K. A., Giebner, H., Clark, M. S., & Peck, L. S. (2019). Spatial and temporal dynamics of Antarctic shallow soft-bottom benthic communities: Ecological drivers under climate change. *BMC Ecology*, 19(1), Article 1. <https://doi.org/10.1186/s12898-019-0244-x>
- Wang, Z., Xu, J., Xu, Z., & Liu, X. (2024). Functional diversity and secondary production of macrofaunal assemblages can provide insights of biodiversity-ecosystem function

relationships. *Environmental Sciences Europe*, 36(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12302-024-00889-7>

Zettler, M. L., Schiedek, D., & Bobertz, B. (2007). Benthic biodiversity indices versus salinity gradient in the southern Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 55(1), 258–270. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.08.024>

Zhang, N., Xiao, X., Pei, M., Liu, X., & Liang, Y. (2016). Discordant Temporal Turnovers of Sediment Bacterial and Eukaryotic Communities in Response to Dredging: Nonresilience and Functional Changes. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(1), e02526-16. <https://doi.org/10.1128/AEM.02526-16>

VII Annexes :

40 cycles de PCR avec la Q5® High-Fidelity DNA Polymerase (ThermoFisher)

Réactifs	Volume
Eau stérile	4,74µl
BSA 10 mg/ml	1µl
Q5 High-fidelity master mix X2	10µl
Amorce F (20µM/0,5µM)	0,63µl
Amorce R(20µM/0,5µM)	0,63µl
ADN	3µl

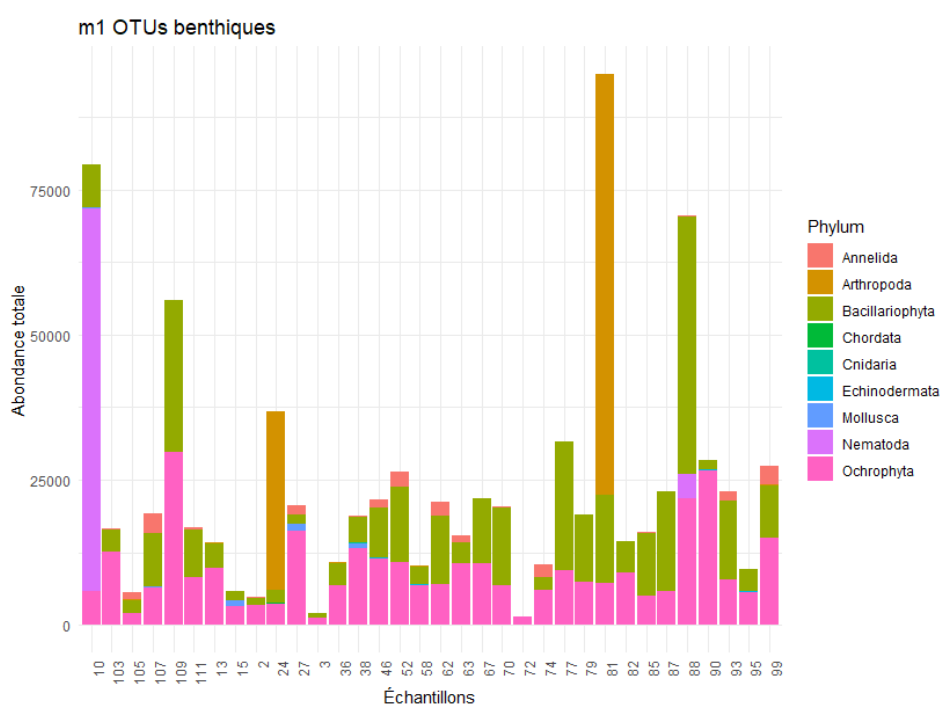
40 cycles de PCR avec la Q5® High-Fidelity DNA Polymerase (ThermoFisher)

Annexe 1 : Mix PCR utilisé par e-biom pour l'amplification des ADNs extraits.

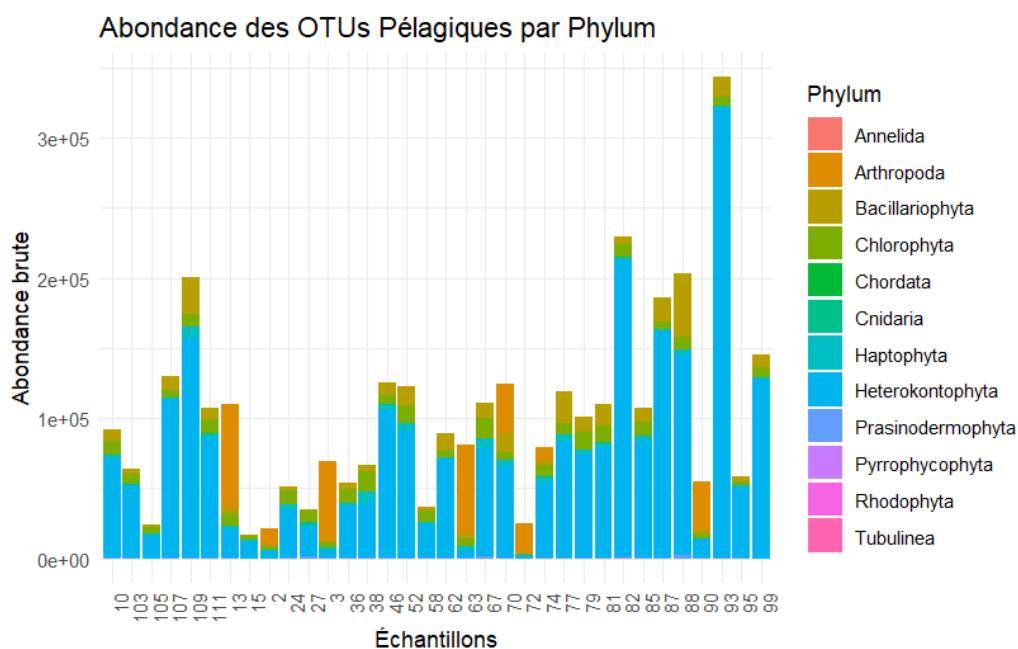
	SEDIMENT
<63 µm	LIMONS / ARGILES
[63-125 µm[	SABLES TRES FINS
[125-250 µm[	SABLES FINS
[250-500 µm[	SABLES MOYENS
[500-1 000 µm[	SABLES GROSSIERS
[1 - 2 mm[	SABLES TRES GROSSIERS
[2 - 4 mm[	GRAVILLONS / GRANULES
≥4 mm	CAILLOUX / GRAVIERS

La détermination des classes granulométriques s'est effectuée sur la taille de grain majoritaire en proportions.

Annexe 2 : Granulométrie Wentworth utilisée



Annexe 3 : Barplot de l'abondance des séquences de chaque phylum benthique par échantillons



Annexe 4 : Barplot de l'abondance des séquences de chaque phylum pélagique par échantillons (noter que les sites 3 et 72 n'ont une profondeur de séquençage trop faible pour être exploités).

Soyer Johan, Master Biologie Ecologie Evolution, parcours Génomique Environnementale. Encadré par Thomas Pommier et co-encadré par Paulo Bonifacio et Yann Patry au sein de l'entreprise Setec énergie environnement. Intitulé du stage : « Quels facteurs expliquent les patrons de distribution de la diversité de la macrofaune benthique au large d'Oléron ? ». Mot clés : *metabarcoding*, *COI*, *communautés benthiques*, *substrats meubles*, *distribution géographique*.

Dans le cadre de ce stage de Master 2, nous avons exploré la structuration des communautés benthiques de substrats meubles à l'aide du métabarcoding de l'ADNe ciblant le gène COI. L'étude a porté sur l'analyse de sites marins caractérisés par différentes granulométries. Nous avons évalué l'effet de plusieurs paramètres de traitement bio-informatiques concernant le denoising, le clustering et les assignations taxonomiques. Des bases de données locales et globales marines ont été constituées et plusieurs assignations ont été effectuées afin d'améliorer la qualité des assignations taxonomiques. L'analyse a révélé une structuration claire des communautés entre deux grands types d'habitats : 1) des sables très fins riches en matière organique, notamment dominés par le polychète *Paradoneis ilvana* 2) des sables moyens à grossiers, dominés par les polychètes *Hesionura elongata* et *Protodorvillea kefersteini*. Il a été montré que les concentrations en polluants ainsi que la distance géographique entre les sites n'avaient pas d'impact significatif sur la structure des communautés benthiques de cette étude. Enfin l'approche de métabarcoding ciblant le COI est discutée et au regard des résultats, et l'intérêt du choix du marqueur, de l'effort de séquençage ainsi que de la complétion des bases de données disponibles est souligné.

As part of this Master's internship, we explored the structuring of soft-substrate benthic communities using environmental DNA (eDNA) metabarcoding targeting the COI gene. The study focused on the analysis of marine sites characterized by different sediment grain sizes. We assessed the impact of various bioinformatic processing parameters, including denoising, clustering, and taxonomic assignment. Local and global marine reference databases were constructed, and multiple assignment strategies were implemented to improve taxonomic resolution. The analysis revealed a clear community structure between two main habitat types : (1) very fine sands rich in organic matter, predominantly inhabited by the polychaete *Paradoneis ilvana*, and (2) medium to coarse sands dominated by the polychaetes *Hesionura elongata* and *Protodorvillea kefersteini*. Concentrations of pollutants and geographic distance between sites were not found to significantly influence benthic community structure in this study. Finally, the COI-based metabarcoding approach is discussed in light of the results, highlighting the importance of marker choice, sequencing depth, and the enrichment of available reference databases for accurate taxonomic assignment.