UNIVERSITÉ DE NANTES FACULTÉ DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES

ÉCOLE DOCTORALE VÉGÉTAL, ENVIRONNEMENT, NUTRITION AGROALIMENTAIRE, MER (VENAM)

Année 2014

N° attribué par la bibliothèque

Écologie trophique du bécasseau variable, Calidris alpina, en Baie de Bourgneuf (France) : relation avec le microphytobenthos

THÈSE DE DOCTORAT

Discipline : Biologie marine Spécialité : Biologie et écologie côtières

> Présentée et soutenue publiquement par

Sigrid DROUET

Le 27 octobre 2014, devant le jury ci-dessous

Rapporteurs	M. Guy Bachelet, Directeur de Recherche CNRS, Station Marine d'Arcachon
	M. Matthieu Le Corre, Professeur, Université de La Réunion
Examinateurs	M. Paco Bustamante, Professeur, Université de La Rochelle
	M. Patrick Triplet, Directeur de la Réserve Naturelle de la Baie de Somme

atrick Triplet, Directeur de la Reserve Naturelle de la Bale de Somme Président M. Joël Fleurence, Professeur, Université de Nantes

Directeur de thèse: M. Richard P. COSSON, Chargé de Recherche CNRS, Université de Nantes

Co-encadrants : Mme Priscilla Decottignies et M. Vincent Turpin, Maîtres de Conférences, Université de Nantes

UNIVERSITÉ DE NANTES FACULTÉ DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES

ÉCOLE DOCTORALE VÉGÉTAL, ENVIRONNEMENT, NUTRITION AGROALIMENTAIRE, MER (VENAM)

Année 2014

N° attribué par la bibliothèque

Écologie trophique du bécasseau variable, *Calidris alpina*, en Baie de Bourgneuf (France) : relation avec le microphytobenthos

THÈSE DE DOCTORAT

Discipline : Biologie marine Spécialité : Biologie et écologie côtières

> *Présentée et soutenue publiquement par*

Sigrid DROUET

Le 27 octobre 2014, devant le jury ci-dessous

Rapporteurs	M. Guy Bachelet, Directeur de Recherche CNRS, Station Marine d'Arcachon
**	M. Matthieu Le Corre, Professeur, Université de La Réunion
Examinateurs	M. Paco Bustamante, Professeur, Université de La Rochelle
	M. Patrick Triplet, Directeur de la Réserve Naturelle de la Baie de Somme
Président	M. Joël Fleurence, Professeur, Université de Nantes
	Directeur de thèse: M. Richard P. COSSON, Chargé de Recherche CNRS, Université de Nantes

Co-encadrants : Mme Priscilla Decottignies et M. Vincent Turpin, Maîtres de Conférences, Université de Nantes

Remerciements

Au sortir de ce doctorat, je tiens à remercier Richard P. Cosson, qui a accepté, à l'issue de ma première année, de reprendre la direction de ma thèse après Peter Beninger. Merci pour votre bienveillance, votre écoute, votre disponibilité, vos conseils et vos corrections. Aussi bien au labo que dans la vase, de jour comme de nuit, à Nantes ou à l'autre bout du monde, vous avez su être encourageant. Et prêt même à mettre à contribution votre famille.

Mes remerciements vont bien évidemment aussi à mon encadrante Priscilla Decottignies qui a cru en moi depuis le Master 2 et sans qui je n'aurai pas réussi à faire de thèse sur Nantes. Merci pour tes conseils, ta gentillesse et ta bonne humeur à chaque instant. Toi aussi, tu as sollicité tes proches pour le bon déroulement de cette thèse. Un grand merci ! Je resterai toujours à mes yeux et dans ton cœur ton bébé scientifique (enfin j'espère!).

Merci également à mon second encadrant Vincent Turpin qui a su être très disponible. Merci pour ton enthousiasme et ton humour au quotidien, de jour comme de nuit, devant un bécher ou un barbecue. J'ai partagé avec toi mon amour de l'ornithologie. Que de bons souvenirs partagés sur le terrain! Merci aussi pour tes précieuses aides en statistiques et ta dextérité à réveiller le Skalar...

Merci à Joël Fleurence et Yves-François Pouchus de m'avoir accueillie dans leur laboratoire MMS. Merci également à Laurent Barillé de m'avoir accueillie au sein de son équipe, pour sa présence et sa gentillesse (jusqu'à Shanghaï !).

Je remercie également les membres du jury qui ont accepté de lire et critiquer cette thèse : Messieurs Guy Bachelet, Matthieu Le Corre, Paco Bustamante et Patrick Triplet.

Je remercie la communauté urbaine Nantes Métropole qui m'a accordé une allocation de recherches pour ce travail, ainsi que les préfectures de Loire-Atlantique et de Vendée et la Direction Départementale du Territoire et de la Mer (DDTM) pour les dérogations fournies.

Merci à vous trois, Philippe Rosa, Bruno Cognie et Ismaïl Benyoucef...ma « dream team » pour les captures nocturnes au détriment de la vie privée! Toujours là dans les coups fumants ! Pour les bécasseaux variables ni week end, ni jours fériés ! Même sur la ligne d'arrivée des foulées du Tram, Philippe, tu décroches ton portable pour régler les derniers préparatifs de la nuit ! Tu as toujours fait ton possible pour me faciliter la tâche et rendre mon travail plus agréable. Aux pieds des perches, à haubaner, à rabattre, autour du feu, à nettoyer, vous avez été constants et ingénieux. Sans oublier toujours un petit mot pour m'encourager. Le terrain crée des liens ! Une expérience inoubliable !

Merci aux MMSiens qui m'ont aidée au labo et sur le terrain: Pierre Gaudin, Fanny Descarrega, Vona Méléder et Bruno Jésus pour leurs compétences en microphytobenthos, Véronique Martin-Jezequel pour le prêt de matériel et son aide pour « shit matter », Pierre Gernez pour sa motivation pour le terrain. Merci à Laurent Godet pour m'avoir prêté sa longue-vue durant trois années et son aide en statistique! De grands mercis à Pierrick Bocher qui m'a fait partager les vicissitudes de la capture de limicoles. À ses côtés, j'ai appris beaucoup sur le terrain et au labo. Malgré la distance avec La Rochelle, tu as toujours été plus que présent... Merci pour ton aide, ton écoute, tes compétences et les bons moments que nous avons passés ensemble pendant la semaine benthos !

J'en profite pour remercier aussi les collègues du laboratoire LIENSs de La Rochelle, et plus particulièrement Nicolas Lachaussée et Philippe Pineau pour leur aide et leur bonne humeur sur le terrain et Anne Philippe pour sa collaboration efficace.

Merci à Gwenaël Quaintenne pour ses bons conseils, son expérience, son aide et sa motivation sur le terrain ou derrière la bino!

Merci à Thierry Jauffrais pour son investissement dans « shit matter » et sa bonne humeur!

Merci à Joseph Baudet, Christophe Moreau, Olivier Jaffrézic, Pascal Andrault et Tanguy Jean pour leur accompagnement et leurs conseils en enseignement. Merci à Odile Aumaille pour sa présence en TP et ses encouragements.

Merci à tous les MMSiens titulaires, de passage, nouveaux arrivants, doctorants, stagiaires et personnels !

Merci plus particulièrement aux doctorants du deuxième étage : Alexandra, Annaëlle, Anthony, Inna, Mathilde, Nuria et à Astrid. Des pauses café aux pauses sandwich, des rires aux larmes, des réconforts aux cris...ces quatre années ne me laisseront pas indemne. Merci à tous les stagiaires qui ont participé à mes recherches : Amandine, Bastien, Benjamin, Guillaume, Martha, Michaël, Pablo, Paulin, Vincent.

Merci aux vétérinaires du CVFSE des Pays de la Loire : Philippe, Caroline, Delphine, Barbara, Bérengère, Elodie pour avoir toujours répondu présents au milieu de la nuit.

Merci à notre secrétaire Alexandra Patoux qui m'a souvent dépatouillée de mes ordres de mission!

Merci à Christian Chauvet, mon photographe attitré sur la vase nuit et jour! Que de belles photos et de bons moments !

Merci à Antoine qui m'a prêté sa pêcherie !

Et surtout un immense MERCI à ceux qui ne souhaitent pas ou ne peuvent pas être cités...

Le gardien du phare aime trop les oiseaux

Des oiseaux par milliers volent vers les feux Par milliers ils tombent par milliers ils se cognent Par milliers aveuglés par milliers assommés Par milliers ils meurent

Le gardien ne peut supporter des choses pareilles Les oiseaux il les aime trop Alors il dit Tant pis je m'en fous !

Et il éteint tout

Au loin un cargo fait naufrage Un cargo venant des îles Un cargo chargé d'oiseaux Des milliers d'oiseaux des îles Des milliers d'oiseaux noyés.

Jacques Prévert, Histoires, Folio 119, 1946

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	1
Chapitre I. Le bécasseau variable Calidris alpina	11
I.1. Description générale de l'espèce	13
I.2. Distribution, phenology and long term trend of Dunlin <i>Calidris alpina</i> France	in 19
I.2.1. Introduction	19
I.2.3. Methods	21
I.2.4. Results	24
I.2.5. Discussion	29
I.2.6. Conclusion	33
I.3. Exemple d'un site d'accueil atlantique : la Baie de Bourgneuf	35
I.4. Alimentation du bécasseau variable	39
I.5. Bill and tongue structure of Dunlin (<i>Calidris alpina alpina</i>): relationsh with its feeding ecology	i p 45
I.5.1. Introduction	45
I.5.2. Materials and methods	47
I.5.3. Results	48
I.5.4. Discussion	53
I.6. Conclusion	58
Chapitre II. Macrofaune disponible et reconstitution du régime alimentaire bécasseau variable <i>Calidris alpina</i> à partir des restes digestifs	du 59
II.1. Introduction	61
II.2. Contrasting prey availability and selection by Dunlin <i>Calidris alpina</i> two bays on the French Atlantic coast	i n 65
II.2.1. Introduction	65
II.2.2. Material and methods	67
II.2.3 Results	73
II.2.4 Discussion	82
II.3. Étude de l'écologie trophique des bécasseaux variables à partir de l'observation de leurs contenus stomacaux	
II.3.1. Introduction	85
II.3.2. Matériels et méthodes	86
II.3.3. Résultats	91
II.3.4. Discussion	97
II.4. Conclusion	101

Chapitre III. Comportement trophique du bécasseau variable sur les vas intertidales de la Baie de Bourgneuf : relation avec la présence de	sières
microphytobenthos	105
III.1. Introduction	107
III.2. Utilisation of intertidal mudflats by the Dunlin, <i>Calidris alpina</i> , in to microphytobenthos biofilms	relation 111
III.2.1. Introduction	111
III.2.2. Materials and methods	113
III.2.3. Results	118
III.2.4. Discussion	123
III.3. Étude du régime alimentaire du bécasseau variable en Baie de Bourgneuf par l'analyse des isotopes stables du carbone et de l'azote	. 127
III.3.1. Introduction	127
III.3.2. Matériels et Méthodes	129
III.3.3. Résultats	136
III.3.4. Discussion	147
III.4. Conclusion	151
Chapitre IV. Aperçu de la fertilisation possible des vasières par les fient bécasseau variable	t es du 155
IV.1. Introduction	157
IV.2. Growth and biochemical composition of a microphytobenthic dia (<i>Entomoneis paludosa</i>) exposed to shorebird (<i>Calidris alpina</i>) dropping	atom n gs . 159
V.2.1. Introduction	160
IV.2.2. Materials and method	161
IV.2.3. Results	167
IV.2.4. Discussion	173
IV.2.5. Conclusion	177
IV.3. Conclusion	181
Conclusion générale	185
Bibliographie	195

Liste des figures

Figure 1 : Principales menaces subies par les populations animales et végétales1
Figure 2 : Cycle de migration schématisé des oiseaux limicoles5
Figure 3 : Répartition verticale de la macrofaune des vasières intertidales du peuplement à <i>Macoma balthica</i> à marée basse et longueurs des becs de différentes espèces d'oiseaux limicoles se nourrissant sur les vasières
Figure 4 : Bécasseaux variables, <i>Calidris alpina</i> , en alimentation sur la vasière de la Coupelasse en Baie de Bourgneuf
Figure I.1 : Le bécasseau variable Calidris alpina en plumage hivernal et nuptial13
Figure I.2 : Les voies de migration empruntées par les oiseaux migrateurs14
Figure I.3 : Répartition des bécasseaux variables en période de nidification et d'hivernage en Europe de l'Ouest
Figure. I.4 : (A) Sites d'étude des comptages annuels realisés à la mi-janvier et (B) sites surveillés mensuellement21
Figure I.5 : Distribution et nombre moyen de bécasseaux variables en janvier le long des côtes françaises au cours des trois décennies : 1980, 1990 et 200024
Figure I.6 : (A) Variations du nombre de bécasseaux variables et (B) indices d'abondance en janvier en France entre 1977 et 201326
Figure I.7 : Localisation des 14 sites où des comptages mensuels ont été effectués entre 2000 et 201227
Figure I.8 : Nombre moyen mensuel de bécasseaux variables sur 14 sites d'accueil majeurs le long des côtes françaises de la Manche et de l'Atlantique entre 2000 et 2012
Figure I.9 : Distribution moyenne des bécasseaux variables par saison (pour la période 2000-2012) le long des côtes françaises sur les sites surveillés mensuellement
Figure I.10 : Situation géographique de la Baie de Bourgneuf
Figure I.11 : Distribution numérique et géographique du bécasseau variable <i>Calidris alpina</i> sur les côtes françaises
Figure I.12 : Localisation de la Baie de Bourgneuf et des sites de captures47
Figure I.13 : Bec entier du bécasseau variable Calidris alpina alpina
Figure I.14 : Vue de profil du bec, de la surface externe du maxillaire et de la mandibule, et de la langue
Figure I.15 : Figure I.15 : Photographies au Microscope Électronique à Balayage de maxillaire. A: Fond du maxillaire interne. B: Extrémité interne. C: Détail du maxillaire avec une fosse sensorielle ovale. D: Fond du maxillaire interne. E: Maxillaire interne avec une rangée de denticules. F: Maxillaire interne avec une puis deux rangées de denticules. G: Maxillaire interne avec deux rangées de denticules
Figure I.16 : Photographies au Microscope Électronique à Balayage de la mandibule. A: Surface interne de l'extrémité. B: Zoom sur la surface interne de l'extrémité de la mandibule présentant des fosses sensorielles
Figure I.17 : Figure I.17 : Photographies au Microscope Électronique à Balavage de

Figure I.17 : Figure I.17 : Photographies au Microscope Electronique à Balayage de la langue excisée. A: Extrémité distale. B: Partie antérieure. C: Partie médiane......53

Figure I.18 : Observation de squames de kératine, érythrocytes, fosse sensorielle et Figure II.1 : Localisation des deux zones d'étude sur la côte atlantique française : la Figure II.2 : Abondances annuelles du bécasseau variable sur les deux zones d'étude (Baie de Bourgneuf et Baie de Marennes-Oléron) entre 1976 et 2013......73 Figure II.3 : Distributions des biomasses totales et disponibles de macrofaune pour le bécasseau variable sur l'ensemble de la zone d'étude de la Baie de Bourgneuf..76 Figure II.4 : Distributions des biomasses totales et disponibles de macrofaune pour le bécasseau variable sur les sous-sites de la Baie de Marennes-Oléron (Moëze et Oléron)......77 Figure II.5 : Comparaison des proportions moyennes des espèces de proies, mollusques et annélides entre les biomasses totale, accessible et disponible et le Figure II.6 : Comparaison de la masse sèche sans cendre de chair des proies de la masse sèche de coquille et des ratios « flesh-to-shell » en résultant pour chacune Figure II.7 : Situation géographique de la Baie de Bourgneuf, des sites de capture et Figure II.8 : Localisations et mesures réalisées sur les organismes entiers prélevés à La Coupelasse (Nephtys hombergii, Hediste diversicolor, Macoma balthica, Peringia Figure II.9 : Dent de nephtys hombergii, mâchoire de Hediste diversicolor observées Figure II.10 : Contribution des mollusques, des annélides et des «Autres» au volume stomacal occupé par les invertébrés chez les bécasseaux variables capturés en Baie de Bourgneuf......94 Figure II.11 : Distribution des classes de tailles des annélides polychètes Hediste Figure II.12 : Distribution des classes de tailles des mollusques : Peringia ulvae et Figure III.1 : Localisation des deux vasières étudiées dans la Baie de Bourgneuf: Lyarne et La Coupelasse......114 Figure III.2 : Délimitation des six zones de comptages sur les vasières de Lyarne et de La Coupelasse (les espèces épipeliques dominent le microphytobenthos)......115 Figure III.3 : Densités de bécasseaux variables Calidris alpina sur les vasières de Lyarne et de La Coupelasse sur les deux périodes de comptage......118 Figure III.4 : Variations des densités moyennes de bécasseaux variables Calidris alpina pendant la marée descendante et à marée basse sur les trois ceintures bathymétriques de Lyarne et de La Coupelasse......119 Figure III.5 : Taux de sélection spatiale moyen de l'habitat par les bécasseaux variables......121

Figure III.9 : Déviations isotopiques (δ^{13} C et δ^{15} N) moyennes et écart-types des compartiments physiologiques des bécasseaux variables capturés et de leurs sources potentielles de nourriture en mai 2012......140

Figure III.10 : Déviations isotopiques (δ^{13} C et δ^{15} N) moyennes et écart-types des compartiments physiologiques des bécasseaux variables capturés et de leurs sources potentielles de nourriture en octobre 2012......143

Figure IV.1 : Localisation de la Baie de Bourgneuf, du site de prélèvement des fientes de bécasseaux variables et de la souche d'*Entomoneis paludosa*......162

Figure IV.2 : Courbes de croissance d'*Entomoneis paludosa*......168

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Surfaces des unités fonctionnelles d'accueil des oiseaux limicoles et des zones protégées des sites surveillés par l'Observatoire du Patrimoine Littoral par rapport à leur importance relative pour le bécasseau variable en hiver......23 Tableau I.2 : Répartition de la population du bécasseau variable hivernant dans Tableau I.3 : Liste des espèces-proies observées dans le régime alimentaire du bécasseau variable sur les estrans meubles de l'Europe de l'Ouest......41-42
 Table
 I.4
 : Caractéristiques
 des
 sept
 bécasseaux
 variables
 utilisés
 pour
 les

Table I.5 : Biométrie des éléments du bec et de la langue du bécasseau variable...50

 Table II.1 : Sites d'étude, périodes d'échantillonnage, nombres d'échantillons,
 Table II.2 : Proies ingérées par le bécasseau variable sur les substrats meubles de
 l'Europe de l'Ouest à partir d'observations de leur alimentation sur le terrain, de leurs fientes, de leurs contenus stomacaux ou de ces deux derniers......71 Table II.3 : Occurrence, densité moyenne et biomasse moyenne des espèces de **Tableau II.4** : Nombre de contenus stomacaux prélevés lors des nuits de capture..88 Table II.5 :. Relation entre les différents éléments retrouvés dans les contenus stomacaux et les longueurs totales de chague espèce de proies observées.......90 Tableau II.6 : Contributions volumétriques moyennes des différents éléments **Tableau II.7**: Résultats statistiques des ANOVA pour les contributions relatives des mollusques et des annélides dans les invertébrés ingérés par les bécasseaux **Tableau III.1** : Taux de sélection spatiale comparés par le modèle mixte d'analyse de variance (ANOVA) à l'habitat considéré.....120 Tableau III.2 : Nombre de bécasseaux variables capturés en Baie de Bourgneuf..129 **Tableau III.3** : Participation de différentes sources potentielles de nourriture au régime alimentaire du bécasseau variable en Baie de Bourgneuf d'après le modèle SIAR......146 Tableau IV.1 : Composition des milieux de cultures des microalgues dans les différentes conditions expérimentales......164 Tableau IV.2 : Caractéristiques générales de la croissance d'Entomoneis paludosa cultivées dans les différentes conditions expérimentales......169 Tableau IV.3: Concentration cellulaire en protéines, lipides, et glucides d'Entomoneis **Tableau IV.4**: Concentration pigmentaire d'*Entomoneis paludosa* dans les différentes Tableau IV.5: Concentration en macronutriments mesurée dans les différentes

Introduction générale

La seconde moitié du XX^e siècle a été marquée par une augmentation exponentielle de la population mondiale. Elle a ainsi plus que doublé en 50 ans, passant de 3 milliards en 1959 à 6,8 milliards en 2009. D'ici 2050, d'après les projections les plus hautes, elle aura encore augmenté de 50% pour atteindre 9,1 milliards. Dès le XIX^e siècle, l'explosion de la population, liée aux progrès sanitaires (meilleure hygiène, progrès de la médecine), l'industrialisation et le développement économique ont entraîné des mutations sociales touchant aux conditions de vie, à la mobilité et à la répartition spatiale des hommes. Depuis le XX^{ième} siècle, un glissement de la population et des activités des régions intérieures vers le littoral est observé. Ce processus de littoralisation est un phénomène planétaire. Pour satisfaire l'essor des sociétés modernes, les pressions exercées sur l'environnement sont en continuelle augmentation dans les secteurs de l'agriculture, des forêts ou de la pêche qui doivent produire de la nourriture pour les hommes, des aliments pour les animaux et des matériaux, ainsi que des revenus, des emplois et d'autres services écosystémiques essentiels (FAO, 2009). Dans ce contexte, la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité pour l'agriculture et l'alimentation jouent un rôle prépondérant. Il est donc indispensable de préserver les écosystèmes de la destruction et de la dégradation des habitats qui sont considérées comme les principales causes du déclin global de la biodiversité (Figure 1).



Figure 1 : Principales menaces subies par les populations (sur 3829 espèces animales et végétales considérées et menacées dans le monde entier, d'après Venter *et al.*, 2006).

Les zones humides font partie des plus riches écosystèmes de la planète et sont caractérisées par la présence d'une très grande biodiversité, d'où leur intérêt exceptionnel, mais elles font aussi partie des écosystèmes les plus menacés au monde. Une dégradation constatée dans la conservation et la gestion de ces zones humides ainsi que la pression sur la ressource en eau qui menace ces écosystèmes sont pointées du doigt par l'ONU (2012). D'après la Convention de Ramsar (1971), les zones humides sont définies comme : «des étendues de marais, de fagnes, de tourbières ou d'eaux naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires, où l'eau est stagnante ou courante, douce, saumâtre ou salée, y compris des étendues d'eau marine dont la profondeur à marée basse n'excède pas six mètres » qui peuvent inclure « des zones de rives ou de côtes adjacentes à la zone humide et des îles ou des étendues d'eau marine d'une profondeur supérieure à six mètres à marée basse, entourées par la zone humide». Les vasières intertidales rencontrées à marée basse au niveau des baies et des systèmes estuariens du littoral atlantique et nord-européen répondent à cette définition.

Les vasières intertidales présentent une forte valeur écologique, économique et patrimoniale qui justifie leur préservation, ce qui inclut la sauvegarde de certaines espèces d'intérêt écologique majeur. Même si les vasières intertidales s'étendent sur de vastes surfaces, elles constituent des espaces relativement réduits très convoités par l'Homme : pêche, aquaculture, chasse, aménagements portuaires, construction, loisirs de plein air, nautisme... En effet, ces zones intertidales se retrouvent à l'interface entre des habitats marins et terrestres (Nybakken, 1993 ; Bertness, 1999). Leur attractivité suscite une concurrence pour l'espace et des conflits d'usage. Une fois anthropisés, ce sont autant d'espaces occupés qui ne sont plus accessibles aux oiseaux.

Les vasières intertidales sont protégées de l'action des vagues ce qui permet l'accumulation en leur sein de fines particules de sédiment et de matière organique (Nybakken, 1993). Ces vasières sont parmi les écosystèmes les plus productifs de la planète (Pomeroy *et al.*, 1981; Mann, 1982; McLusky, 1989; Valiela, 1995) en lien avec la présence d'une production primaire élevée (Colijn et de Jonge, 1984; de Jonge et Colijn, 1994). Elles présentent une forte productivité biologique et une abondance d'organismes dues à l'accumulation de matière organique (Mouritsen et Poulin, 2002), et une biodiversité limitée à quelques espèces communes et abondantes avec quelques espèces rares. Elles peuvent donc être qualifiées de

paucispécifiques. La pente intertidale y est typiquement très faible, ce qui permet la rétention d'eau interstitielle entre les particules sédimentaires à marée basse et des effets moindres de dessiccation sur les invertébrés habitant ces substrats meubles (Mouritsen et Poulin, 2002). Le renouvellement relativement lent de l'eau interstitielle combiné à l'action des bactéries dans la vase, entraîne une diminution rapide de la concentration en oxygène en profondeur, et des conditions anaérobiques quelques centimètres seulement sous la surface (Mouritsen et Poulin, 2002). La faune inféodée à ces zones intertidales se concentre principalement dans les premiers centimètres de vase encore oxygénée, voire jusqu'à 20-30 cm. Les principaux représentants des végétaux sont les microalques benthiques qui peuvent former des biofilms, des macroalgues et des herbiers de phanérogames (e.g. Spartina maritima et Salicornia sp.) en haut d'estran. La forte productivité des vasières intertidales est justement liée au développement de ces biofilms microphytobenthiques à leur surface (MacIntyre et al., 1996) alimentant ainsi les flux de matière dans les réseaux trophiques benthiques et pélagiques. Il s'agit d'une couche mince (0,01-2mm) de micro-organismes (microalgues, bactéries) qui se développent à la surface du sédiment dans une matrice mucilagineuse (Characklis et Marshall, 1990).

Les vasières intertidales abritent des invertébrés vivant librement dans le sédiment ou construisant des tubes ou terriers plus ou moins permanents en communication avec la surface. Il s'agit principalement d'annélides polychètes déposivores et suspensivores, de bivalves, de gastéropodes et de petits crustacés (Little, 2000 ; Rodrigues *et al.*, 2006). Ces organismes sont les proies de différents prédateurs fréquentant les vasières. Ainsi, ces vasières sont des sites de reproduction et de nourricerie pour une multitude d'espèces de poissons et de crustacés (Cattrijsse et Hampel, 2006). Ces zones accueillent également de nombreuses espèces d'anatidés et d'oiseaux limicoles qui en dépendent durant leur cycle de vie, notamment en tant qu'étapes au cours de leurs haltes migratoires (Piersma et Jukema, 1990). Les vasières leur offrent des sites d'alimentation et des reposoirs. Les vasières sont reconnues comme des zones d'importance internationale pour la conservation de nombreuses espèces d'oiseaux d'eau (Deceuninck et Mahéo, 2000). Leur intérêt écologique justifie les multiples classements, tels que ZNIEFF¹. ZICO² ou

¹ Zones Naturelles d'Intérêt Écologique Faunistique et Floristique

² Zones Importantes pour la Conservation des Oiseaux ou Zones d'Intérêt Communautaire pour les Oiseaux

Introduction générale

ZPS³, pour certaines de ces baies semi-fermées qui subissent une pression anthropique croissante (par exemple, la Baie du Mont-Saint-Michel, la Baie de Bourgneuf ou la Baie de l'Aiguillon).

Les oiseaux limicoles sont associés aux habitats vaseux (Jourdan, 1834). Ce sont des petits échassiers migrateurs aux pattes relativement longues et au bec relativement fin et long. Ces populations d'oiseaux déclinent globalement à l'échelle mondiale (Wetlands International, 2006). Les tendances actuelles pour les oiseaux limicoles arctiques montrent que 12% sont en augmentation, 42% sont stables et 44% sont en diminution, alors que 2% sont peut-être déjà éteintes (Meltofte *et al.*, 2007). Les raisons ne sont pas encore toutes connues mais les modifications d'habitats et autres perturbations anthropogéniques dans les zones non-reproductrices tempérées et tropicales sont suspectées d'y contribuer (Stroud *et al.*, 2004). Le changement climatique a déjà influencé la richesse spécifique et la composition des communautés d'oiseaux migrateurs européens (Lemoine *et al.*, 2007). Godet *et al.* (2011) ont d'ailleurs mis en évidence une forte réponse des communautés d'espèces d'oiseaux migrateurs face au changement climatique dans leurs zones d'hivernage.

Certains oiseaux limicoles pourraient être considérés comme des espèces sentinelles du changement environnemental global (Piersma et Lindström, 2004). Leur abondance, la stabilité ou non des escales migratrices et les modifications dans leur comportement témoigneraient de ce changement. En effet, la stabilité des escales montrerait que ces sites leur assurent un habitat accueillant, leur fournissant suffisamment de nourriture. Au contraire l'abandon ou la désertification d'un site témoigneraient du manque de ressources pour les oiseaux et donc d'une relation de cause à effet avec le changement climatique global. La voie de migration Est-Atlantique apparaît comme une des moins affectées par le déclin général des oiseaux limicoles avec seulement un peu plus d'un tiers (37%) des populations en baisse (Stroud et al., 2004). Le littoral français, long de plus de 6 460 km, se trouve sur cette voie de migration. La plupart des oiseaux limicoles ne se reproduisent pas en Europe et encore moins en France. Les côtes françaises représentent donc des sites importants pour les oiseaux limicoles en migration et en hivernage, en particulier les vastes zones intertidales découvertes à marée basse (Deceuninck et al., 2008). L'hivernage correspond à la période de ravitaillement en attendant le

³ Zones de Protections Spéciales

retour vers les sites de reproduction (Figure 2). Plus de 900 000 oiseaux limicoles viennent hiverner sur l'ensemble des zones humides françaises, et principalement au niveau des vasières intertidales (Deceuninck et Mahéo, 2000). Ces vasières accessibles cycliquement, à marée basse, leur offrent un large choix de proies invertébrées du macrobenthos (Zwarts et Wanink, 1993) dont les oiseaux limicoles se nourrissent pendant leur migration et l'hivernage (Sutherland *et al.*, 2000 ; Mathot et Elner, 2004 ; Nebel, 2005).



Figure 2 : Cycle de migration schématisé des oiseaux limicoles.

Les oiseaux limicoles se nourrissent de trois grands types de ressources : des végétaux, des invertébrés et des poissons, en fonction de leur abondance, de leur accessibilité et de la sélectivité propre à chaque oiseau (Colwell et Landrum, 1993 ; Backwell *et al.*, 1998). Selon les espèces, les caractéristiques morphologiques, la robustesse de leurs becs et leurs techniques de prises alimentaires diffèrent (Figure 3). En effet, les oiseaux limicoles possèdent des pattes plus ou moins longues ainsi que des becs relativement fins de différentes longueurs, leur permettant de capturer différents types de proies. Ils exploitent préférentiellement une ou quelques catégories d' invertébrés présents à la surface du sédiment ou enfouis à des profondeurs différentes en picorant et/ou sondant. Il existe une relation entre la taille des invertébrés consommés et la taille des oiseaux limicoles (Hale, 1980). Ceci permet aux différentes espèces de se nourrir sur le même milieu en limitant la compétition trophique.



Figure 3 : Répartition verticale de la macrofaune des vasières intertidales du peuplement à *Macoma balthica* à marée basse et longueurs des becs de différentes espèces d'oiseaux limicoles se nourrissant sur les vasières montrant leur capacité à se nourrir seulement à partir des proies qu'ils peuvent atteindre (d'après Prater, 1981).

La recherche de nourriture est l'une des premières conditions à la survie d'un animal, et comprendre comment se répartissent les proies d'une espèce permet de mieux appréhender un des plus importants facteurs qui régit la sélection de l'habitat chez les animaux (Piersma, 2006). Les oiseaux limicoles utilisent une stratégie alimentaire optimale qui tend à minimiser l'énergie dépensée à l'acquisition d'une quantité donnée de nourriture (Stephens et Krebs, 1986). Selon la théorie de la sélection naturelle (Williams, 1966), les individus capables de rechercher le plus efficacement possible leur nourriture ont un taux de survie supérieur. Les comportements qui se traduisent par une meilleure stratégie de recherche de nourriture et qui maximisent ainsi la bonne santé des individus, sont donc favorisés. Le comportement alimentaire des oiseaux limicoles répond alors à la théorie de l'« optimal foraging » ou stratégie optimale de recherche de nourriture (Smith *et al.*, 2012). Selon cette théorie, le gain énergétique obtenu par l'activité d'alimentation doit être supérieur aux pertes, afin de faire face à la demande énergétique des animaux pour leur croissance, leur reproduction, leur mue ou leur migration (Stephens et Krebs, 1986). Plusieurs critères permettent aux oiseaux d'optimiser le gain d'énergie en choisissant les meilleures proies de la macrofaune benthique (Solomon, 1949). Ce gain énergétique dépend du temps de manipulation de la proie, de son apport énergétique, de la contrainte digestive apportée par son ingestion, de la densité de la proie et du taux de réussite de sa capture.

Récemment, un nouveau mode d'alimentation jusqu'à présent inconnu a été mis en évidence chez des petites espèces d'oiseaux limicoles (*Calidris alpina, Calidris mauri, Calidris pusilla, Calidris ruficollis*) : le broutage du biofilm microphytobenthique et de l'ensemble de la matière organique qui lui est associé (Elner *et al.*, 2005 ; Kuwae *et al.*, 2008 ; Mathot *et al.*, 2010 ; Beninger *et al.* 2011 ; Kuwae *et al.*, 2012 ; Mac Donald *et al.*, 2012 ; Quinn et Hamilton, 2012). L'avantage sur l'alimentation à partir de la macrofaune pourrait être une diminution du temps de recherche et de manipulation de la nourriture, ainsi qu'une plus grande disponibilité et digestibilité des glucides à forte valeur énergétique (Beninger *et al.*, 2011). Cette découverte bouleverse la manière de considérer les oiseaux en tant que consommateurs secondaires dans les écosystèmes littoraux.

Problématique, objet d'étude et objectif de la thèse

Dans ce contexte, nos recherches se sont focalisées sur l'écologie trophique du bécasseau variable *Calidris alpina* (Figure 4), espèce la plus commune en hivernage en Baie de Bourgneuf. Une attention particulière a été portée à la place du biofilm qui est présent en forte biomasse dans cette baie. Pour ce faire, plusieurs approches complémentaires ont été utilisées : l'examen morpho-anatomique de leur appareil buccal, l'inventaire des ressources trophiques pour cette espèce, des observations comportementales sur le terrain, la reconstruction du régime alimentaire à partir des fientes et des contenus stomacaux et par traçage des isotopes stables du carbone et de l'azote. L'action fertilisante des bécasseaux variables a également été étudiée sur les vasières de la baie.



Figure 4 : Bécasseaux variables, *Calidris alpina*, en alimentation sur la vasière de la Coupelasse en Baie de Bourgneuf (Hiver 2012-2013). Photo : Christian Chauvet (Université de Nantes).

Le **Chapitre I** du mémoire est consacré à la présentation de l'espèce d'oiseau limicole étudiée, le bécasseau variable *Calidris alpina*. Un premier article publié dans le "Wader Study Group Bulletin" traite de son abondance sur les côtes françaises métropolitaines à partir des comptages annuels et en particulier en Baie de Bourgneuf, un des sites de migration principaux pour les oiseaux limicoles en France. Un état des lieux des connaissances sur son alimentation a été dréssé. Un deuxième article traite des particularités morpho-anatomiques de son bec et de sa langue qui sont déterminants dans son mode d'alimentation via l'analyse d'images prises au Microscope Électronique à Balayage (MEB).

Dans le **Chapitre II**, la sélection de l'habitat et des proies par le bécasseau variable a été étudiée. L'inventaire de la macrofaune présente et accessible pour lui dans une partie de la Baie de Bourgneuf a été dressé et comparé à celui établi pour deux sites de la Baie de Marennes-Oléron (Moëze et Oléron). Ces baies sont parmi les principaux sites d'hivernage de la côte Est-Atlantique française. L'étude de son comportement de sélection alimentaire a été réalisée à partir de l'analyse de fécès collectés dans les deux baies et de l'analyse de contenus stomacaux prélevés sur des oiseaux de la Baie de Bourgneuf. Cette étude fait aussi l'objet d'un article.

Dans le **Chapitre III**, les comportements spatial et alimentaire du bécasseau variable ont été étudiés sur les vasières de la Baie de Bourgneuf. Une première méthode : leur comptage sur deux vasières de la baie à marée basse, a été utilisée pour caractériser son utilisation de l'habitat. Une seconde méthode : l'analyse des isotopes stables du carbone et de l'azote, a été utilisée pour caractériser son régime alimentaire dans la baie. Pour ce faire, l'étroite relation existant entre les compositions isotopiques des tissus, organes ou contenus stomacaux d'un consommateur et de ses sources de nourriture a été exploitée. La première étude a été publiée dans "Journal of Ornithology", la deuxième fera ultérieurement l'objet d'un article.

Dans le **Chapitre IV**, une approche expérimentale a montré comment le bécasseau variable peut contribuer à l'enrichissement d'une vasière en matière organique ou inorganique assimilables via sa production de fientes. Cette étude fait l'objet d'un article soumis dans "Journal of Experimental Marine Biology and Ecology".

En **Conclusion**, nous précisons la position du bécasseau variable dans l'écosystème type vasière intertidale en nous intéressant aussi bien à son comportement qu'à son régime alimentaire en période d'hivernage sur les côtes atlantiques françaises. Puis, les enseignements découlant de notre étude sont replacés dans le contexte plus large de l'utilisation des vasières intertidales par les oiseaux limicoles et de la protection de celles-ci en tant qu'espace naturel d'importance écologique primordiale.

Chapitre I. Le bécasseau variable *Calidris alpina*

I.1. Description générale de l'espèce

Du latin *limicolus (limus*, limon ou vase et *coló*, habitant), les oiseaux limicoles sont associés aux habitats vaseux (Jourdan, 1834). Ce sont des petits échassiers appartenant à l'ordre des Charadriformes. Le bécasseau variable fait partie de la famille des *Scolopacidae* et de la sous-famille des *Calidridinae*. Sa taille est petite à moyenne allant de 16 à 22 cm et sa masse corporelle se situe entre 40 et 50 grammes (Svensson, 2010). Le bec du bécasseau variable est légèrement arqué, de taille moyenne, comprise entre 26 et 36 mm de long (Géroudet, 2008). Son bec et ses pattes sont noirs. En hiver, il présente un ventre blanc contrasté par rapport à son dos gris-brun pâle à liserés blanchâtres (Figure I.1). En période de reproduction, le dessous du corps devient noir et le dessus roux. La longévité maximale observée en nature à partir des données de baguage est de près de 29 ans (Fransson *et al.*, 2010) même si sa longévité moyenne est estimée à 20 ans. C'est une espèce protégée en France (articles 1 et 5 de l'arrêté modifié du 17/04/81), inscrite à l'Annexe I de la Directive Oiseaux (seulement pour la sous-espèce *C. a. schinzil*), et à l'annexe II des Conventions de Berne et de Bonn.



plumage Figure I.1 : Le bécasseau variable Calidris alpina hivernal (à en gauche, http://www.ruchet.com/becasseau-variable.html) et http://rade-denuptial (à droite. brest.infini.fr/becasseau-variable-calidris-alpina.html).

Comme beaucoup d'autres oiseaux limicoles, le bécasseau variable effectue chaque année des migrations longue-distance entre ses aires de nidification de la toundra arctique et ses habitats côtiers d'hivernage en zones tempérées à tropicales. Cet oiseau est un long-migrant ayant une aire de nidification circumpolaire. La figure I.2 montre les différentes voies de migration utilisées par les oiseaux limicoles. Le bécasseau variable est le plus abondant des oiseaux limicoles sur les habitats côtiers de la voie de migration Est-Atlantique (Delany *et al.*, 2009), où ils adoptent un comportement grégaire.



Figure I.2: Les voies de migration sont de larges couloirs qu'empruntent les oiseaux migrateurs de l'hémisphère nord au sud et vice versa. Huit voies de migration sont identifiées à travers le monde : Pacifique (en bleu), Mississippi (en beige), Ouest-Atlantique (en vert clair), Est-Atlantique (en jaune), Méditerranée et Mer Noire (en rose), Ouest-Asie et Afrique (en violet), Asie centrale et Inde (en rose pâle) et Est-Asie et Australie (en vert). Source : <u>http://sandystraitsandbeyond.blogspot.fr</u>.

Greenwood (1984) décrit les voies de migration des bécasseaux variables à l'échelle mondiale. Les bécasseaux variables de l'Est de la Russie hivernent sur la côte Pacifique Asiatique avec la population d'Alaska. En ce qui concerne les bécasseaux variables qui partent hiverner sur le continent américain, ceux de l'Ouest de l'Alaska hivernent sur la côte Ouest Nord-américaine et ceux de l'Arctique canadien sur la côte Est. Dans le cas des oiseaux empruntant les voies de migration de l'Europe et descendant hiverner jusqu'en Afrique, les individus venant du Groenland et d'Islande migrent à travers les îles britanniques et les côtes françaises pour passer l'hiver en Afrique du Nord-Ouest. Les populations islandaises empruntent la même voie de migration jusqu'en Afrique du Nord-Ouest, mais elles sont plus nombreuses à traverser les îles britanniques. Les bécasseaux variables qui se reproduisent au niveau des îles britanniques migrent aussi jusqu'en Afrique du Nord-Ouest. Les populations de l'Europe occidentale continentale, qui sont centrées autour de la mer Baltique, hivernent aussi dans le Nord-Ouest africain en traversant la Méditerranée jusqu'au Golfe Persique. Ils atteignent leur destination en passant par la côte Atlantique mais aussi en coupant à travers les terres. Les bécasseaux variables
lapplandiques⁴ hivernent de l'Europe de l'Ouest au Nord-Ouest de l'Afrique. Les oiseaux de l'Ouest de la Russie occupent différents sites d'hivernage : ceux qui se reproduisent à l'extrême Ouest hivernent sur les côtes britanniques et les côtes de l'Ouest de l'Europe, tandis que d'autres hivernent à l'Est de la Méditerranée, sur les bords de la mer Caspienne et du Golfe Arabique. Dans la présente étude, les bécasseaux variables étudiés en période d'hivernage sur la côte Atlantique française proviennent des populations nichant dans le Nord de l'Europe : en Scandinavie, en Russie, au bord de la mer des Wadden et dans les îles britanniques (Rösner et Delany, 2009)

Avant l'été, les bécasseaux adultes quittent leurs sites d'hivernage et partent sur leurs sites de reproduction et de nidification. La majorité des bécasseaux variables peut se reproduire au bout de deux ans. Les juvéniles, quant à eux, sont nombreux à rester passer l'été sur leur site d'hivernage. Les bécasseaux variables adultes se reproduisent dans différents types d'habitats humides : les touffes d'herbes arctiques, les tourbières de toundra, les landes de montagnes, les prairies humides tempérées et les marais salants côtiers (Thorup, 2006 ; Delany *et al.*, 2009). La période de ponte commence en général fin mai, parfois fin avril pour la sous-espèce *schinzii*, plus méridionale (Lopes *et al.*, 2006). Les œufs tâchetés de brun sont cachés dans un nid sommaire, simple dépression à même le sol ou placés dans une touffe d'herbe. L'incubation dure de 20 à 24 jours et est assurée par le mâle et la femelle. Mais c'est principalement le mâle qui s'occupe des poussins. Les jeunes volent dès l'âge de 19 à 21 jours (Gill et Donsker, 2014).

Si neuf sous-espèces de bécasseaux variables sont reconnues à partir de caractères morphologiques (par exemple la taille et la coloration du plumage) (Piersma *et al.*, 1996), seulement cinq le sont sur la base de différences génétiques et morphologiques, au Canada, en Europe, en Sibérie, au niveau du détroit de Béring et en Alaska (Buehler et Baker , 2005). Trois sous-espèces empruntent la voie de migration Est-Atlantique (Greenwood, 1986) (en jaune, Figure I.2) pour atteindre leurs aires d'hivernage allant du Nord-Ouest de l'Europe (îles britanniques et Sud de la Scandinavie) à l'Ouest africain (Greenwood, 1986 ; Piersma *et al.*, 1996) (Figure I.3). Il s'agit de *C. a. alpina, C. a. schinzii* et *C. a. arctica* (Greenwood, 1986). *C. a. arctica* niche dans le Nord-Ouest du Groënland, *C. a. shinzii* de l'Islande à la Baltique

⁴ L'adjectif lapplandique est relatif à la Laponie (Suède).

et au Sud de la Scandinavie, et *C. a. alpina* du Nord de la Scandinavie au Nord de la Russie (Greenwood, 1986 ; Piersma *et al.*, 1996).



Figure I.3 : Répartition des bécasseaux variables en période de nidification et d'hivernage en Europe de l'Ouest (<u>http://www.oiseaux-europe.com/Oiseau-3/Becasseau-variable.html</u>). Les bécasseaux variables peuvent descendre, le long de la côte africaine, plus au Sud que représenté sur cette carte, ils ne migrent pas au-delà de l'équateur.

Les bécasseaux variables qui se reproduisent du Groenland à la péninsule de Yamal (Russie) appartiennent au même groupe phylogéographique européen et peuvent donc être renvoyés à la sous-espèce nominale, *C. a. alpina* (Wenink *et al.*, 1996). En effet, aucune preuve génétique ne soutient la reconnaissance de *C. a. schinzii* dans ces populations (Wenink *et al.*, 1996) comme cela avait été proposé à partir de mesures biométriques par Greenwood (1986). Néanmoins, on considère que les deux sous-espèces *schinzii* et *alpina* viennent en hivernage sur les côtes françaises. Seules les mesures biométriques permettent de les différencier. *C. alpina schinzii* est de taille inférieure à l'autre sous-espèce.

Chaque année, plus d'un cinquième des effectifs utilisant la voie Est Atlantique hiverne sur les côtes françaises (Deceuninck et Mahéo, 2000) (Figure I.3). Ceci représente environ 312 000 individus et près de 23% de la population de l'Est-Atlantique (Bocher *et al.*, 2014a). Leurs principaux sites d'hivernage en Europe sont donc les îles Britanniques, la mer des Wadden et la France. Ils hivernent en France durant une période s'étalant de septembre à avril, essentiellement sur les sites de la Manche (Baie de Somme, estuaire de la Seine) et de la façade atlantique (Baie de

Bourgneuf, Baie de Marennes-Oléron, bassin d'Arcachon). Le littoral français joue donc un rôle primordial pour *Calidris alpina* en hivernage ou seulement de passage. L'article ci-après a été publié dans le journal "Wader Study Group Bulletin" (Bocher *et al.*, 2014a). La distribution, la phénologie et les tendances à long-terme des populations de bécasseaux variables *Calidris alpina* en France sont présentées dans l'article ci-après.

I.2. Distribution, phenology and long term trend of Dunlin *Calidris alpina* in France

Pierrick Bocher, Sigrid Drouet, Roger Mahéo, Sophie Le Dréan-Quénec'hdu, Thierry Guyot, Emmanuel Caillot

Article publié dans le journal "Wader Study Group Bulletin" 121(1): 23-32 (2014a)

Abstract

The coasts of France are known as wintering and staging areas for Dunlin, but the function and importance of the sites at which they are found remain unclear, especially during migration. This study updates information on the numbers and the distribution of Dunlin in France using International Waterbird Census data (counts in January 1977–2013, organized by Wetlands International) and monthly counts carried out at the main sites during 2000–2012. Over the past ten years, France has supported around 312,000 Dunlins in winter, which is about 23% of the wintering population of Europe. About a third were recorded at sites on the north coast (North Sea and Channel), while two-thirds were on the Atlantic coast. Numbers peaked in midwinter. The Mediterranean shore, where intertidal areas are limited, did not support many Dunlin in winter. At the national level the total number in midwinter has been more or less constant for the past 37 years, but with different trends on the Channel and Atlantic coasts. Importantly, around 50% of the midwinter population was concentrated at only eight sites. Most of the Dunlin that winter in France belong to the subspecies *alpina* which breeds in N Scandinavia and Russia, but significant numbers of migrant Greenlandic and Icelandic Dunlin (subspecies arctica and schinzii) occur on the central Atlantic coast in April or May. Patterns of autumn migration remained unclear. Information on the occurrence of subspecies or the different breeding populations is lacking; however, phenology at the main wintering and staging sites has varied substantially, suggesting that they are used by birds of different origin and/or age.

I.2.1. Introduction

The Dunlin *Calidris alpina* has a circumpolar breeding distribution encompassing Canada, Europe, Central Siberia, Beringia, and Alaska (Engelmoer and Roselaar, 1998). It is one of the most morphologically and genetically varied shorebird species and includes at least five genetically distinct lineages (Wennerberg, 2001; Buehler and Baker, 2005). Up to 11 subspecies have been described based on plumage characteristics, morphometrics, moulting pattern, and migratory behavior (Wenink *et al.*, 1993; Wenink *et al.*, 1996; Engelmoer and Roselaar, 1998; Wennerberg, 2001), but the division into subspecies remains controversial. Therefore for those that occur in W Eurasia and W Africa we follow the classification on population limits adopted by Delany *et al.* (2009).

The Dunlin is the most abundant shorebird species of coastal habitats in the East Atlantic flyway (Delany *et al.*, 2009). In W Europe, wintering Dunlins are mostly from the subspecies *C. a. alpina* (which breeds mostly in N Scandinavia and Russia) and possibly also *C. a. schinzii* (from the populations that breed around the Baltic Sea and in the British Isles (Rösner and Delany, 2009). The other Dunlin populations which both winter in W Africa, *C. a. shinzii* breeding in Iceland and *C. a. arctica* breeding in NE Greenland, occur as passage migrants in W Europe (Pienkowski and Dick, 1975). Among these five populations, two (*alpina* and Icelandic *shinzii*) are considered stable, one (*schinzii* in the British Isles) is decreasing and one (Baltic *schinzii*) is in strong decline (Rösner and Delany, 2009). The trend of *arctica* is unknown.

Dunlin is invariably the most abundant species at all the main wader wintering sites NW Europe (Van de Kam *et al.*, 2004). Each autumn for the last ten years the number of Dunlins wintering in the Wadden Sea has reached almost 1 million. There, also numbers have varied considerably among individual sites, the total population has been relatively stable only undergoing regional shifts (Reineking and Südbeck, 2007). In Great Britain, wintering Dunlins have been in steady decline since the mid 1990s and have shown the fastest rates of decline of all the regularly wintering wader species (Holt *et al.*, 2012). However, this reduction has been mirrored by a slight increase in the Netherlands (e.g. Hornman *et al.*, 2012), suggesting that a larger proportion of birds from northern breeding populations now winter there, possibly an effect of climate change (MacLean *et al.*, 2008).

With 6,460 km of coastline, France could potentially provide ecologically crucial and internationally significant wintering grounds for three Dunlin populations (*alpina*, Baltic *schinzii* and British *schinzii*) that breed to the north-east and staging or stopover sites for the two populations (*arctica* or Icelandic *shinzii*) that breed to the north-west. Nevertheless, documentation of the importance and use of the French coastal sites for Dunlin is currently incomplete. France is estimated to support around 25% of the total wintering population of Europe (Triplet *et al.*, 2006), but the phenology and distribution of the species over the main sites remains unknown. In this study, we report on the numbers, distribution and phenology of Dunlin staging or wintering along the coasts of France, using annual International Waterbird Census (IWC) data (Mahéo, 2013), complemented by synchronized monthly counts carried out by the Observatoire du Patrimoine Naturel Littoral from the network of Réserves

20

Naturelles de France. We also assess the importance of each site. Finally, we update and discuss the importance of the French coast for the entire wintering population of Dunlins in NW Europe. Size of functional unit for waders.

I.2.3. Methods

International Waterbird Census data

The coordination of wader counts in winter started in France in 1977 (Mahéo, 2013). The French scheme covers all estuaries and major non-estuarine areas holding large numbers of waders (Deceuninck and Mahéo, 2000). Depending on local conditions, waders are counted during the rising tide, at high tide or at low tide with the aim of a complete census of each functional unit (i.e. an area that supports a discrete population of waders, such as an estuary). The results of counts for all coastal IWC sites in France are reported in Mahéo (2013). The location of major coastal survey sites and regions are shown in figure I.4(A). In this study, the Channel coast is defined as extending from the Belgian border (including North Sea section) to Brest (Brittany), the Atlantic coast extending from Brest to the Spanish border, and the Mediterranean coast including the coast of Corsica (Figure 1.4(A)).

Population trends were estimated on the basis of population indexes computed with the TRIM software, which generates missing values (Trends and Indices for Monitoring data version 3.0, Pannekoek and Van Strien, 2005).



Figure. I.4: (A) Survey sites covered by the annual International Waterbird Census in mid-January (black dots), and (B) sites surveyed monthly by the Observatoire du Patrimoine Naturel Littoral (white dots).

Figure. I.4 : (A) Sites d'étude des comptages annuels realisés à la mi-janvier dans le cadre de l'International Waterbird Census (points noirs), et (B) sites surveillés mensuellement par l'Observatoire du Patrimoine Naturel Littoral (points blancs).

Monthly counts

For some sites, monthly wader counts are available from the 1980s onwards, but exhaustive counts of waders at a large number of coastal sites started in 2000, coordinated and compiled by the Observatoire du Patrimoine Naturel Littoral under the auspices of Réserves Naturelles de France (the network of French National Nature Reserves) and Agence des Aires Marines Protégées.

The count network has 31 sites along the Channel, Atlantic and Mediterranean coasts (Table I.1, Figure I.4 (B)). Counts are conducted around the 15th of each month using a standardized method. The people performing the counts divide every site into 'functional units', which each include the feeding area, pre-roost and roost sites of a discrete population of birds. Depending on the site, the counts are made when the birds are roosting at high water or at low tide in the intertidal zone using a telescope. The results of these counts are summarized annually by Caillot and Elder (2000-2012). Although the complete dataset covers 35 sites, only 15 were found to be important for Dunlin and for one of these (Mont Saint-Michel Bay) there was insufficient coverage. Therefore our account of Dunlin phenology is limited to the remaining 14 sites.

In presenting the data, we distinguish three seasons: (1) the post-breeding or autumn migration period from mid-July to late October; (2) the wintering period from early November to late March; and (3) the spring migration or pre-breeding period from early April to late May. During June to mid-July, some over-summering first-year birds remain in France and the very first post-breeding adults may arrive as early as late June, followed by a mass influx in July and August. Not also that northward migration might start much earlier than April; for example Dunlin begin to arrive in the eastern or northern parts of the Wadden Sea in late February (see e.g. Meltofte *et al.*, 1994).

Table I.1: Size of functional unit for waders and surface of the protected area of the survey sites participating in the Observatoire du Patrimoine Littoral survey compared with their relative importance for the Dunlins in winter (A dash (-) in a cell means that no data are available; RNN= Réserve Naturelle Nationale).

Tableau I.1 : Surfaces des unités fonctionnelles d'accueil des oiseaux limicoles et des zones protégées des sites surveillés par l'Observatoire du Patrimoine Littoral par rapport à leur importance relative pour le bécasseau variable en hiver (Un tiret (-) signifie qu'aucune donnée n'est disponible; RNN = Réserve Naturelle Nationale).

Site	Surface area of the functional unit or length of	Surface area of Nature Reserve	Surface area preserved of hunting	Surface area of mud- sandflat	Usual number of Dunlins in January
	coastline	included	activities included		
Channel Coast					
Platier d'Oye	231 ha	63 ha	-	231 ha	< 50
Canche Bay	1505 ha	1245 ha	750 ha	1505 ha	250
Somme Bay	3000 ha	120 ha	-	3000 ha	6,000
Seine Estuary	4438ha	2835 ha	-	4438 ha	4,500
Orne Bay	390 ha	124 ha	-	390 ha	2,000
Graye sur Mer	10 ha	5 ha	-	4 ha	250
Veys Bay	3700 ha	350 ha	135 ha	3330 ha	10,000
Cotentin East	2200 ha	-	-	1760 ha	4,000
Vauville Cove	5000 ha	0 ha	-	4000 ha	< 50
Cotentin West	10340 ha	185 ha	-	9752 ha	2,500
Mt St-Michel Bay*	27817 ha	-	737 ha	22250ha	22,000
Saint-Brieuc Bay	3000 ha	1140 ha	-	2895 ha	2,000
Sillon de Talbert	-	-	-	-	500
RNN Iroise	30 ha	30 ha	-	-	50
Conquet Ria	-	-	-	-	< 50
Atlantic Coast					
Sein Island	-	-	-	-	100
Groix Island	43 ha	43 ha	-	13 ha	< 50
Glénan Archipelago	62 ha	-	-	20 ha	< 50
Morbihan Gulf	6580 ha	3290 ha	7358 ha	4935 ha	10,000
Loire Estuary	20000 ha	4664 ha	4560 ha	14000 ha	8,000
Bourgneuf Bay*	5000 ha	181 ha	4200 ha	4200 ha	17,000
Aiguillon Bay and Lay Estuary*	7535 ha	4900 ha	1035 ha	6135 ha	27,000
Ré Island	8868ha	220 ha	-	3550 ha	9,000
Yves Bay	3300ha	2000 ha	2000 ha	1400 ha	7,000
Marennes-Oléron Bay*	54834 ha	6720 ha	-	44000 ha	25,000
Gironde Estuary	1900 ha	504 ha	-	1900 ha	5,000
Arcachon Bay*	22639 ha	5018 ha	-	20400 ha	25,000
Mediterranean Coast					
RNN Camargue	10000 ha	6000 ha	-	10000 ha	1,000
RNN Tour du Valat	2560 ha	2430 ha	-	2560 ha	< 50
Domaine de la Palissade	797 ha	702 ha	-	797 ha	100
RNC Etang de Biguglia (Corsica)	-	-	-	-	< 50

*Site of international importance for Dunlin (counts exceed 13,300, 1% of the C. alpina population).

I.2.4. Results

Winter distribution and inter-annual variation

During 1977-2013, the midwinter count of Dunlins in France averaged *ca.* 280,000 \pm 48,000 (SD), with a minimum of 170,000 in 1981 and a maximum of 355,000 in 2002 (Figure I.5 and Figure I.6(A)). The birds were distributed over a large number of sites (Figure I.5). About a third was found at Channel coast sites, while two-thirds were distributed on the Atlantic coast (Figure I.5 and I.6). Very few were found on the Mediterranean coast (less than 1.5%).



Figure I.5: Distribution and mean numbers of Dunlin in January along the coasts of France during three decades, 1980s, 1990s and 2000s (International Waterbird Census data).

Figure I.5 : Distribution et nombre moyen de bécasseaux variables en janvier le long des côtes françaises au cours des trois décennies : 1980, 1990 et 2000 (données provenant de l'International Waterbird Census).

On the Channel coast, only Mont Saint-Michel Bay was found to be a site of international importance every winter (according to Ramsar criterion 6), with a mean count of *ca.* $25,500 \pm 10,000$ (SD). Elsewhere, along the Channel coast, the international threshold of 13,300 Dunlins in winter was only recorded for the Somme and Veys bays only in certain years. The Mont Saint-Michel Bay counts represented 8%-43% of the total number of birds on the Channel coast each winter. Despite its large area of mudflats, Dunlins numbers on the Seine Estuary rarely exceeded

10,000. The number of Dunlins on the Channel coast in January showed a slight increase from 1977 to the mid-1990s and then a slight decrease to 2013 (y = $-0.0029x^2 + 11.7371x - 11710$, r² = 0.70) (Figure I.6(B)).

On the Atlantic coast, Dunlins were distributed at a large number of sites between W Brittany and the Gironde Estuary. South of the Gironde Estuary, with the exception of Arcachon Bay, the coast is a long and uninterrupted sandy beach that is unfavourable to Dunlin. In contrast with the Channel Coast, the number of birds decreased slightly between 1977 and the mid-1990s and then increased to some extent to 2013 (y = $0.0007x^2 - 2.6186x - 2610.39$, r² = 0.18) (Figure I.6(B)). Five sites of international importance were identified along the Atlantic coast (from North to South): the Morbihan Gulf with a mean count of *ca.* 23,000 ± 4,000, the Bourgneuf Bay (12,500 ± 5,000), the Aiguillon Bay (19,000 ± 11,000), the Marennes-Oléron Bay (23,000 ± 12,000) and the Arcachon Bay (37,000 ± 35,000). The sites of Ré Island (10,000 ± 4,000) and Yves Bay (9,000 ± 5,000) regularly met the international threshold and consequently qualified as sites of international importance on the basis of 'regular occurrence' (acknowledging that the threshold was not reached every year). These seven sites supported about two-thirds of all the Dunlin on the French Atlantic coast during the survey period.

Along the Mediterranean coast, the total number of birds counted in midwinter never exceeded 18,000; the mean was 5,000 ± 4,000 (SD). Nevertheless, numbers increased during the study period despite high variability over the last 10 years (y = $0.0004x^2 + 1.4183x - 1393$, r² = 0.63) (Figure I.6(B)).

In summary, the midwinter population of Dunlin in France was distributed over the 96 sites surveyed, but about half of it was concentrated at just eight major sites: Morbihan Gulf, Ré Island and the bays of Mont Saint-Michel, Marennes-Oléron, Aiguillon, Yves, Bourgneuf and Arcachon.



Figure I.6: (A) Variations of Dunlin numbers and (B) abundance indices (\pm SE) in January in France between 1977 and 2013 (International Waterbird Census data). The abundance indices are derived from the TRIM software (see Methods); the equations for the trend lines are given in Results.

Phenology at major sites

All populations of Dunlin considered in the study breed from May to July, and indeed Dunlin started arriving on the French coast from mid-July (Figures I.7 and I.8). At most Channel coast sites, very few birds were found until October except in the Somme Bay, where numbers increased steadily throughout the autumn to a peak in January (Figure I.8). At all other sites, numbers increased steeply between October and November. The same trend was observed on the Atlantic coast at the Morbihan Gulf, Loire Estuary and Arcachon Bay, and to a lesser extent on Ré Island, Marennes-Oléron Bay and Yves Bay. The only sites where there was no steep increase between October and November were the bays of Bourgneuf and Aiguillon where numbers increased more steadily.

Figure I.6 : (A) Variations du nombre de bécasseaux variables et (B) indices d'abondance (± E.S.) en janvier en France entre 1977 et 2013 (données provenant de l'International Waterbird Census). Les indices d'abondance ont été obtenus à partir du logiciel TRIM (cf Methods); les équations des courbes de tendance sont indiquées dans Results.



Figure I.7: Location of the 14 sites at which monthly counts were carried out during 2000-2012 (see the Results in Figure I.8).

Figure I.7 : Localisation des 14 sites où des comptages mensuels ont été effectués entre 2000 et 2012 (cf Results, Figure I.8).

At all sites, the highest numbers were recorded either in December or January except for Yves Bay where the maximum was recorded in November. After the midwinter peak, numbers declined steadily at all sites toward the end of the winter period.

In spring, very few Dunlins staged during migration in the Somme Bay, Seine Estuary, Veys Bay, Contentin Coast, Morbihan Gulf, Arcachon Bay and Ré Island. Migration peaks, detected as a sudden increase in numbers in either April or May were seen only in Loire Estuary ($3,700 \pm 2,200$), Bourgneuf Bay ($2,700 \pm 1,300$), Aiguillon Bay ($16,000 \pm 10,000$) and Yves Bay ($1,000 \pm 700$). The most important staging site during spring migration was Aiguillon Bay, with maximum counts of 35,500 in April 2006 and 26,000 in May 2005.

The phenology of Dunlin in the Camargue, on Mediterranean coast, was completely different. An autumn peak occurred in October (900 \pm 1,500), followed by a decrease until December, and then a second peak in March (1,300 \pm 1,600), and very few in May.



Figure I.8: Mean number (± SD) of Dunlin during each month for 2000-2012 at 14 major coastal sites for Dunlin along the Channel and Atlantic coasts of France (see Figure I.7 for the location of each site).

Figure I.8 : Nombre moyen mensuel (± D.S.) de bécasseaux variables sur 14 sites d'accueil majeurs le long des côtes françaises de la Manche et de l'Atlantique entre 2000 et 2012 (cf Figure I.7 pour la localisation de chaque site).

In summary, the distribution of Dunlin along the French coast showed large seasonal variation (Figure I.9). In autumn, most were to be found at a very few sites on the Atlantic coast and the wintering population did not arrive en masse until November. In winter, Dunlins were distributed over a large number of sites. During spring migration, very few sites were occupied and most of these were located on the central French Atlantic coast between the Loire and Gironde estuaries.



Figure I.9: Mean distribution of Dunlins per season (for the period 2000-2012) in monthly surveyed sites of coast of France.

Figure I.9 : Distribution moyenne des bécasseaux variables par saison (pour la période 2000-2012) le long des côtes françaises sur les sites surveillés mensuellement.

I.2.5. Discussion

International Waterbird Census counts of the main waterbird wintering sites in France were initiated in 1976; however coverage progressively extended to new sites until the mid-1980s. Therefore the first ten years of national waterbird monitoring should be considered with caution, although non-counted sites among the 96 surveyed sites are taken into account for the calculation of abundance indices (R. Mahéo, pers. comm.).

The maximum number of Dunlins in France is recorded in January or February. Most of these wintering birds belong to the largest Dunlin population, that of the nominate subspecies *alpina*, which was estimated at 1,330,000 during the early 2000s (Stroud *et al.*, 2004; Rösner and Delany, 2009; Wetlands International, 2012). The *alpina* population has been fairly stable for the past 50 years, although published data suggest a slight decline: 1.5 million in 1960-70 (Prater, 1976), 1.4 million in the 1980s and 1990s (Smit and Piersma, 1989; Rose and Scott, 1994), 1.33 million in the 2000s (Delany and Scott, 2002; Delany *et al.*, 2009; Wetlands International, 2012).

Although it is thought that *alpina* comprised the majority of the French winter population, it is possible that some belong to the smaller populations: British *schinzii* which is estimated at 23,000-26,000 and Baltic *schinzii* which has a small and declining population of 3,330-4,100 (Rösner and Delany, 2009). These three populations are considered to winter entirely or partly in W Europe. The other two main Dunlin wintering areas in Europe are the coast of the British Isles and the Wadden Sea. The mean number of Dunlins wintering in the United Kingdom was estimated to vary between 284,000 and 425,000 during 2002-2011(Pollitt *et al.*, 2003; Rehfisch *et al.*, 2003; Banks *et al.*, 2006; Musgrove *et al.*, 2007; Austin *et al.*, 2008; Holt *et al.*, 2009; Calbrade *et al.*, 2010; Holt *et al.*, 2011; Holt *et al.*, 2012) (Table I.2).

The mean January population of the Republic of Ireland during 2004-2009 was 36,000, with a maximum 44,000 (Boland and Crowe, 2012). Dunlins have declined markedly across Irish wintering sites and a similar downward trend as been reported in United Kingdom (Baker *et al.*, 2006; Calbrade *et al.*, 2010).

In the Wadden Sea, where large numbers of Dunlins (>500,000) and most likely large proportions of the East Atlantic Flyway population are present throughout much of the year, the overall trend is of a moderate decrease over the period 1987-2011. In the northern parts of the Wadden Sea (Denmark and Schleswig-Holstein) numbers have declined slightly, but there has been an increase in the south in the Netherlands; stable fluctuating numbers but are reported for Niedersachsen/Hamburg (Blew et al., 2013). Within the Wadden Sea, peak numbers have varied considerably between the different regions (Smit and Wolff, 1981; Meltofte et al., 1994; Blew and Südbeck, 2005). The Rhine-Maas-Schelde Delta in the south of the Netherlands hosts several thousand Dunlins in winter, with up to 83,000 in recent years (Rösner and Delany, 2009). The rest of the Dunlins that winter in W Europe occur in the south (Portugal, Spain and the northern Mediterranean Basin) and comprise about 66,000 birds (Table I.2).

On the basis of the figures mentioned above (and summarized in Table I.2), the Dunlins that winter along the French coast, with a mean of 312,000 over the last ten years, comprise about 23% of those wintering in W Europe. However, despite the fact that the French coast extends to over 6,000 km, half this total is concentrated at only eight sites. Dunlins are protected in France, but they seem to select sites with low disturbance because most of the main sites are entirely or partly within nature reserves. In some years, higher than usual winter numbers in France might be

30

caused by severe weather in N Europe leading to birds from the British Isles or the Wadden Sea moving south (Delany *et al.*, 1999). Similarly, if severe weather reaches France (e.g. resulting in frozen mudflats) Dunlins might move elsewhere.

Table I.2: The distribution of the W European wintering population of Dunlin between major sites or countries over the last 40 years. Data used are from the International Waterbird Census (Wetlands International, 2006; LPO 2010; Mahéo, 2013) and the relevant country or regional surveys (Velasco and Alberto, 1993; Costa and Rufino, 1997; Snow and Perrins, 1998; Delany *et al.*, 1999; Marti and Del Moral, 2002; Van den Bergh *et al.*, 2005; Van Roomen *et al.*, 2006; Boland and Crowe, 2004-2006; Blew and Südbeck, 2005; Laursen and Frikke, 2006; Boland and Crowe, 2007; Delany *et al.*, 2009; Crowe *et al.*, 2011; Boland and Crowe, 2012; Blew *et al.*, 2013). Note that the figures for the Wadden Sea are not for the wintering population but based on the mean count across each year including summer (from Blew *et al.*, 2013); as numbers in the Wadden Sea peak in autumn and are low in summer, these figures are probably close to those that occur in winter.

Tableau I.2: Répartition de la population du bécasseau variable hivernant dans l'ouest de l'Europe au cours des 40 dernières années. Les données utilisées proviennent de l'International Waterbird Census (Wetlands International, 2006 ; LPO 2010 ; Mahéo, 2013) et des pays ou des régions surveillées concernés (Velasco et Alberto, 1993 ; Costa et Rufino, 1997 ; Snow et Perrins, 1998 ; Delany *et al.*, 1999 ; Marti et Del Moral, 2002 ;. Van den Bergh *et al.*, 2005 ; Van Roomen *et al.*, 2006 ;. Boland et Crowe, 2004-2006 ; Blew et Südbeck, 2005 ; Laursen et Frikke, 2006 ; Boland et Crowe, 2007 ; Delany *et al.*, 2009 ; Crowe *et al.*, 2011 ; Boland et Crowe, 2012 ; Blew *et al.*, 2013). Note : les chiffres de la mer des Wadden ne représentent pas la population hivernante, mais les moyennes des comptages pour chaque année y compris l'été (Blew *et al.*, 2013). Comme les chiffres en mer des Wadden sont élevés en automne et faibles en été, ils sont probablement proches de ceux qui sont observés en hiver.

	Last 1970s		1980s		1990s		2000s		
	N (ind.)	%	N (ind.)	%	N (ind.)	%	N (ind.)	%	
France	248,000	27	225,000	23	295,000	24	312,000	23	
Great Britain	478,000	52	375,000	38	481,000	39	334,000	24	
Ireland	38,000	4	13,000	1	25,000	2	40,000	3	
Wadden Sea	?	?	258,000	26	310,000	25	560,000	40	
Rhine delta	74,000	8	30,000	3	23,000	2	68,500	5	
Elsewhere*	85,500	9	85,500	9	108,000	8	66,000	5	
Total	923,500	100	986,500	100	1,242,000	100	1,380,500	100	

*'Elsewhere' includes Portugal, Spain and the Mediterranean basin; as the data embrace both the late 1970s and the 1980s, the same figures are given for both periods.

Towards the end of the breeding season in N Europe, Greenland and Siberia, Dunlin can arrive in France as early as late June but in much bigger numbers from mid-July. The first to arrive are probably non- or failed breeders, followed a bit later by females and then successful males and finally juveniles. Bird numbers increase progressively, reaching a peak in mid-winter. Our results show that the arrival times in France vary between sites. At some, Dunlins remain fairly scarce until the end of October and then numbers increase abruptly (three- or four-fold) in November. This particularly applies to sites along the Channel coast which are mostly not occupied until late autumn (except the Somme Bay). Also, at two sites on the Atlantic coast, the

Morbihan Gulf and Arcachon Bay numbers stays low until November. Thus, apparently only at sites between the Loire and Gironde Estuaries are Dunlins abundant from early October onwards. These phenologies are rather different to those described for most French sites for Red Knot *Calidris canutus* (Bocher *et al.*, 2012) and Black-tailed Godwit *Limosa limosa* (Bocher *et al.*, 2013), where numbers increase steadily from early autumn, peaking in midwinter.

The sites that are not occupied until late autumn are probably used by Dunlin from N Europe or N Russia; these birds first stage for a long period (up to three months) in the Wadden Sea and The Wach, E England, to complete their moult, and then move to winter in sites further to the south and/or west (Meltofte *et al.*, 1994). This is consistent with the fact that peak numbers of Dunlin occur in the Wadden Sea in autumn and many birds stay there until the beginning of winter (Blew and Südbeck, 2005).

The Dunlins that use French sites in early autumn, could be adult *alpina*, and/or *arctica* and/or Icelandic *schinzii* staging during southward migration to W Africa. The area between the Loire and Gironde Estuaries is located on the migration route between the Wadden Sea and major Dunlin wintering sites on the coasts of W Africa (Shamoun-Baranes *et al.*, 2010). Analyses of biometric data are needed to identify which subspecies use these estuaries at different times.

In spring, most of the sites along the Channel coast, in the Morbihan Gulf and Arcachon Bay, are deserted in March; and very few Dunlins are seen there in April or May. As in autumn, the main sites used as migratory stopovers are those between the Loire and Gironde Estuaries, especially sites in the region of Pertuis Charentais including Ré Island, Aiguillon, Yves and Marennes-Oléron Bays. The most important site is Aiguillon Bay with a maximum count of 26,000 in May.

In contrast to the spring passage of Red Knots through W France which shows sharp peaks in May (Leyer *et al.*, 2009), the passage of Dunlins seems to be more spread out over April and May. Our count data do not allow us to distinguish between Greenlandic, Icelandic or Siberian Dunlins, but at least some from these three African wintering populations must stop at French stopover sites after the departure of the Dunlin that have wintered there.

Dunlin numbers are much lower and more variable on the French Mediterranean coast than at sites on the Channel and Atlantic coasts. This variation is inconsistent with that found on the other coasts, which suggests that there is only limited connectivity with those populations. The fact that Dunlins occur in higher numbers

32

during migration than in winter indicates that this cost is mainly a staging area, presumably for birds migrating to and from winter quarters on the N Africa coast (Serra *et al.*, 1998).

I.2.6. Conclusion

This review of national counts from the last 37 years and local monthly counts over the last 12 years confirms the importance of the estuarine bays of France for Dunlins in the East Atlantic Flyway. France supports a quarter of all Dunlin wintering in Europe. The bays between the Loire and Gironde Estuaries are crucial stopover sites for Dunlins wintering in Africa, and this is also the primary area for the wintering population. Differences in phenology between sites indicate variation in the origin and/or age categories of the birds using them. A complementary study, identifying subspecies based on biometric characteristics, ring recoveries or isotopic signatures of feathers, would clarify the relative use of the central Atlantic bays by each of the five Dunlin populations that occur in W Europe. This would be especially important for the two declining populations.

Contenu synthétique de l'article

Trois sous-espèces de bécasseaux variables Calidris alpina composent les cinq populations présentes en Europe durant leur migration ou en hivernage. En Europe de l'Ouest, les bécasseaux variables en hivernage incluent la plupart des individus de la sous-espèce C. a. alpina (nichant surtout dans le nord de la Scandinavie et en Russie) et potentiellement certains de la sous-espèce C. a. schinzii (appartenant à la population nichant autour de la mer Baltique et sur les îles britanniques et irlandaises). Au printemps et en automne, les individus sont principalement des C. a. schinzii hivernant en Afrique de l'Ouest et nichant en Islande ou des C. a. arctica hivernant également en Afrique de l'Ouest mais nichant dans le Nord-Est du Groenland. Les côtes françaises ont été décrites comme des zones d'hivernage importantes pour ces oiseaux limicoles en Europe. Néanmoins, le rôle et l'importance des sites français restent flous en particulier pendant les migrations vers le sud et au printemps. Cette étude présente des informations sur le nombre et la distribution des bécasseaux variables stationnant ou hivernant le long des côtes françaises à partir des recensements effectués lors de l'International Waterbird Census (IWC) (réalisés en janvier, de 1977 à 2013 et organisés par le Wetlands International) et des comptages mensuels dans les principaux sites d'hivernage de 2000 à 2012. Au cours des dernières années, la France a accueilli près de 23% des bécasseaux variables (312 000 individus) estimés en hivernage en Europe à la mi-janvier. Il s'agit probablement en majorité de C. a. alpina. Environ 1/3 de ces oiseaux se trouvait sur les sites de la mer du Nord et la Manche, tandis que les ²/₃ restants étaient présents sur la côte Atlantique. Au niveau national, le nombre total de bécasseaux variables à la mi-janvier est resté plus ou moins constant durant les 37 dernières années, mais une dynamique différente a été observée entre les côtes de la Manche et de l'Atlantique. Environ la moitié de ces oiseaux est concentré sur seulement huit sites. Les zones intertidales étant limitées le long de la côte méditerranéenne, peu de bécasseaux variables y passent l'hiver. Les pics d'abondance sont observés à la moitié de l'hiver, mais des passages significatifs de bécasseaux variables groenlandais et islandais ont lieu en avril ou mai sur les côtes de l'Atlantique central. Les tendances durant la migration d'automne restent floues et les informations sur la présence de chacune des sous-espèces ou des populations font défaut. Les tendances à long-terme sur les principaux lieux d'accueil des bécasseaux variables diffèrent d'un site à l'autre, en raison certainement de présence d'oiseaux d'origines et d'âges différents.

I.3. Exemple d'un site d'accueil atlantique : la Baie de Bourgneuf

Le bécasseau variable reste une espèce vulnérable face aux changements climatiques et aux pressions anthropiques. Il a été considéré en déclin en France et en mauvais état de conservation en Europe (Bonaccorsi, 1999 ; Dubois *et al.*, 2000). Mais une augmentation du nombre de bécasseaux variables observés en janvier en France a été montrée sur les dernières décennies. Ceci peut s'expliquer par les conditions climatiques rudes dans le Nord de l'Europe et l'arrivée en France d'individus des îles britanniques et de la mer des Wadden (Bocher *et al.*, 2014a).

L'importance des baies estuariennes françaises comme sites d'hivernage pour les bécasseaux variables, mais également comme escales pour les populations se reproduisant au Nord, a été confirmée par l'étude présentée ci-dessus (Bocher *et al.*, 2014a). L'ensemble des baies situées entre les estuaires de la Loire et de la Gironde constitue la première zone de migration et d'hivernage pour les bécasseaux variables en France. C'est notamment le cas de la Baie de Bourgneuf qui accueille en moyenne 12500 ± 5000 individus chaque hiver (Bocher *et al.*, 2014a), ce qui représente 50% des oiseaux présents à cette saison dans cette baie. Pour cette raison, notre étude du comportement alimentaire des oiseaux limicoles en Baie de Bourgneuf s'est focalisée sur cette espèce majoritaire en hiver.

La Baie de Bourgneuf (46°53'- 47°08' N, 1°55'- 2°23' W) se situe sur la façade ouest atlantique française sur les départements de Loire-Atlantique (44) et de Vendée (85), au sud de l'estuaire de la Loire. Cette baie s'étend de la pointe S^t Gildas au nord jusqu'à l'île de Noirmoutier au sud (Figure I.10). Au nord, la baie communique avec l'océan Atlantique par une ouverture de 12 km et au sud par un détroit de 800 m. Cette zone d'étude présente une superficie de 34 000 hectares comprenant une zone intertidale de 10 000 hectares. Cette baie est peu profonde, 10 à 15 m en moyenne, selon le zéro hydrographique. Elle est constituée de sédiments fins meubles avec quelques affleurements rocheux. La turbidité moyenne journalière est comprise entre 4 et 415 mg.L⁻¹ (Haure *et al.*, 1996). C'est un écosystème côtier turbide présentant des biomasses de producteurs primaires microphytobenthiques importantes (Méléder *et al.*, 2005).



Figure I.10 : Situation géographique de la Baie de Bourgneuf. Lyarne \blacklozenge , reposoir du Collet \blacktriangle , La Coupelasse \diamondsuit , lagune du Dain \triangle . Les parties en gris clair correspondent à la zone intertidale et les parties en noir aux rochers.

En effet, les immenses vasières intertidales de la Baie de Bourgneuf sont propices au développement de microphytobenthos. Celui-ci est dominé à 97% par les diatomées (Méléder *et al.*, 2005). Deux assemblages microphytobenthiques coexistent dans cette baie : un biofilm microphytobenthique épipélique sur les sédiments plus vaseux et un biofilm microphytobenthique épipsammique sur les sédiments plus sableux (Méléder *et al.*, 2005). Les diatomées épipéliques sont des espèces mobiles capables de migration verticale dans le sédiment et forment un biofilm à sa surface en période d'émersion. Les diatomées épipsammiques ne sont pas capables de migration et vivent fixées aux particules sédimentaires. Ces deux types de biofilms ont des rôles différents, ils se rencontrent sur deux vasières peu distantes : Lyarne, dominée par un biofilm microphytobenthique épipsammique.

D'autres types de végétaux sont observés par endroit dans la baie : des macroalgues (vertes, brunes et rouges) et des phanérogames (salicornes, obione, soude, zostères, etc.) (Rapport Natura 2000, 2011 ; Decottignies, 2006).

D'un point de vue économique, la baie est un site d'exploitation de ressources marines avec des activités telles que l'ostréiculture, la pêche artisanale et la pêche à pied (Corlay et Robert, 1986). L'ostréiculture a débuté en 1947 dans la baie grâce aux vastes étendues d'estran qui découvrent à marée basse et aux anciens marais salants réaménagés en claires ostréicoles dans les polders bordant la baie. Dans les années 1990, la baie était le 3^e site ostréicole le plus important en France avec une production annuelle de 13 000 tonnes (Barillé-Boyer *et al.*, 1997). Les parcs à huîtres couvrent aujourd'hui environ 10 km² de la superficie de la baie, la classant au 5^e rang de la production française de l'huître du Pacifique *Crassostrea gigas* (10 000 tonnes.an⁻¹ en 2008-2009 - CNC, 2010). La Baie de Bourgneuf n'échappe donc pas à des pressions anthropiques croissantes.

La Baie de Bourgneuf, de par l'intérêt écologique de ses vasières, apparaît dans de nombreux réseaux européens et nationaux : « Natura 2000 », « Zone de Protection « Zones Naturelles d'Intérêt Écologique Faunistique et Spéciale » (ZPS), Floristique » (ZNIEFF) et « Zones Importantes pour la Conservation des Oiseaux » (ZICO). En effet, cette baie constitue un site d'hivernage ou de halte pour environ 30 000 oiseaux. Les principales espèces représentées sont des oiseaux limicoles : le courlis cendré (*Numenius arquata*), la barge à queue noire (*Limosa limosa*), la barge rousse (Limosa lapponica), l'huîtrier pie (Haematopus ostralegus), l'avocette élégante (Recurvirostra avosetta), le pluvier argenté (Pluvialis squatarola), le bécasseau maubèche (Calidris canutus) et le bécasseau variable (Calidris alpina) (Mahéo et Le Dréan-Quénec'hdu, 2013). Comme cela a déjà été mentionné, ce dernier représente la moitié de la population d'oiseaux limicoles de la Baie de Bourgneuf chaque hiver faisant de cette baie un « site d'importance nationale » (Triplet et al., 2006) et même un « site d'importance internationale » selon les comptages Wetlands International de 2013 (Figure I.11). Pourtant peu d'études scientifiques ont été dédiées aux oiseaux limicoles de la Baie de Bourgneuf.

37



Remarque : Le graphique en dessous de chaque carte de répartition indique l'ENC (effectif national compté) de 2000 à 2013

Figure I.11 : Distribution numérique et géographique du bécasseau variable *Calidris alpina* sur les côtes françaises. Source : Mahéo et Le Dréan-Quénec'hdu (ONCFS-Wetlands International), 2013.

La baie est une zone d'alimentation privilégiée par les bécasseaux variables qui affectionnent particulièrement les vasières intertidales en sortie d'estuaire. En effet, une étude a montré qu'environ 90% des effectifs français de bécasseaux variables se trouvent soit dans des baies, soit en sortie d'estuaire (Mahéo *et al.*, 2002). Cet habitat est caractérisé par des communautés animales d'invertébrés benthiques (annélides, mollusques gastéropodes et bivalves fouisseurs, crustacés) vivant dans le sédiment. À marée basse, les oiseaux sont en alimentation sur les vasières de la Baie de Bourgneuf et notamment sur les vasières d'étude de Lyarne et de La Coupelasse présentant des biofilms microphytobenthiques différents. À marée haute, une grande partie des oiseaux se regroupe au niveau du reposoir du Collet et au niveau de la lagune du Dain sur le continent. D'autres se réfugient dans les marais d'arrière côte et d'autres encore vont sur les reposoirs de l'île de Noirmoutier.

I.4. Alimentation du bécasseau variable

Le rythme quotidien d'activité des oiseaux limicoles est dicté par celui des marées, avec alternance de périodes de repos ou de toilette sur des refuges à marée haute et d'alimentation sur les vasières à marée basse (Hale, 1980; Rogers et al., 2006; Peters et Otis, 2007; Delany et al., 2009). Ainsi, les bécasseaux variables se regroupent de préférence sur les vases qui viennent d'être découvertes pour s'alimenter (Burton, 1974; Nehls et Tiedemann, 1993; Dierschke et al., 1999a; Burton et al., 2004 ; Dias et al., 2006 ; Granadeiro et al., 2006). Les oiseaux limicoles picorent et sondent les vasières intertidales à la recherche d'invertébrés pendant leur migration et la saison non-reproductrice (Sutherland et al., 2000; Mathot et Elner, 2004 ; Nebel, 2005). Par le picorage proche ou à la surface du sédiment, ils se nourrissent de proies de l'épifaune. Par sondage, ils peuvent capturer des invertébrés de l'endofaune (Nebel et al., 2005). Ils localisent leurs proies en faisant des essais de sondage et par recherche visuelle (Burton, 1974). Les bécasseaux variables sont capables de détecter les proies de l'endofaune grâce à des fosses sensorielles de forme ovale à l'extrémité de leur bec (Von Bolze, 1968; Schwartzkopff, 1973; Pienkowski, 1983; Martin, 1990; dans Rojas et al., 1993), sorte de mécano-récepteurs qui détectent les vibrations dans le sédiment humide (Gerritsen et Meiboom, 1986). Jusqu'ici, trois modes d'alimentation étaient reconnus chez les bécasseaux variables : le picorage, le sondage et le « stitching ». Lors du picorage, le bec touche juste la surface de la vase. Lors du sondage, le bec peu ouvert pénètre dans le sédiment (Dewar, 1909 dans Burton, 1974). Le « stitching » est une série extrêmement rapide de picorages/sondages peu profonds et très rapprochés effectuée de nuit (Elhert, 1964 dans Burton, 1974). Les bécasseaux variables sont très mobiles sur la vasière. En mode « stitching », ils décrivent une course en zig-zag. Le sondage est lui aussi effectué rapidement et pourrait être qualifié de frémissant (Burton, 1974). Deux importants facteurs interviennent dans la prise alimentaire : la diminution des mouvements de la tête lors notamment du « stitching » et une meilleure adhérence du bec avec le substrat (Burton, 1974). En général, les bécasseaux utilisent préférentiellement le sondage du sédiment pour s'alimenter sur les vasières. En effet, la nature semi-liquide de la vase facilite l'insertion du bec qui n'a plus qu'à se réorienter légèrement pour attraper sa proie dans le substrat (Burton, 1974). Lorsque le bécasseau variable sonde le sédiment, une pression s'exerce sur l'extrémité de la partie postéro-ventrale de la mandibule entrainant le soulèvement de la partie supérieure du bec en l'absence d'autre force

extérieure. Cette pression ne peut déclencher ce mécanisme que si le bec est inséré au delà de la partie courbée de la mâchoire supérieure (maxillaire - Burton, 1974).

La taille du bec du bécasseau variable ne permet de prélever des proies que dans les quatre premiers centimètres de vase (Zwarts et Wanink, 1991). Les bécasseaux variables ont un taux d'alimentation extrêmement élevé pour leur petite taille, alors qu'ils s'alimentent de très petites proies (Burton, 1974). Leurs proies sont consommées en entier ou en partie sans manipulation dans la cavité buccale, réduisant les risques de perte (Burton, 1974). De manière générale, les oiseaux limicoles hivernant sur les vasières intertidales sont typiquement benthivores (Ysebaert et al., 2000). Les bécasseaux variables s'alimentent de polychètes, de petits gastéropodes (hydrobies), de crustacés et de bivalves extraits de préférence de sédiments meubles recouverts par un film d'eau (del Hoyo et al., 1996). D'après des études réalisées au niveau des estrans meubles de l'Europe de l'Ouest et plus particulièrement celles menées en Angleterre dans l'estuaire de la Severn (Worrall, 1984), trois proies dominent dans le régime alimentaire des bécasseaux variables : Hediste diversicolor, Macoma balthica et Peringia ulvae (Tableau I.3). Dans cet estuaire anglais, la proie la plus importante en masse sèche de chair ingérée était Hediste diversicolor (Worrall, 1984). Mais d'après Burton (1974), les hydrobies (taille 2,08 mm ± 0,03) sont retrouvées en très grand nombre dans les contenus stomacaux de bécasseaux variables (n=22, dans l'Essex en Angleterre) et elles sont donc considérées par cet auteur comme le composant majeur de leur régime alimentaire. Les hydrobies sont le plus souvent picorées à la surface du sédiment par « stitching », de façon intensive sur une petite surface.

En fonction du site d'étude et de l'accessibilité et de la disponibilité des proies, les « préférences alimentaires » des oiseaux limicoles peuvent changer. Comme en témoigne leur large spectre de proies (cf Tableau I.3), les bécasseaux variables sont des oiseaux limicoles opportunistes (Skagen et Oman, 1996; Dierschke *et al.*, 1999a; Davis et Smith, 2001; Long et Ralph, 2001; Elner *et al.*, 2005, Santos *et al.*, 2005; Bocher *et al.*, 2014b), c'est-à-dire qu'ils prélèvent leurs proies en fonction de leur disponibilité (Davis et Smith, 2001). L'estimation de la richesse spécifique et de la biomasse disponible de proies pour ceux-ci a donc été menée sur notre site d'étude et est présentée sous forme d'un article pour publication dans le chapitre II.

Tableau I.3: Liste des espèces-proies observées dans le régime alimentaire du bécasseau variable sur les estrans meubles de l'Europe de l'Ouest (Wolff, 1969⁵; Evans *et al.*, 1979⁴; Worral, 1984³; Yates *et al.*, 1993¹; Mouritsen, 1994⁸; Perez-Hurtado *et al.*, 1997⁹; Cabral *et al.*, 1999¹²; Dierschke *et al.*, 1999a⁷; Le Dréan-Quénec'hdu, 1999¹³; Lourenço *et al.*, 2005¹¹; Santos *et al.*, 2005¹⁰; Stillman *et al.*, 2005²; Folmer, 2012⁶). La catégorie « Autres » correspond aux larves de diptères, aux insectes, aux œufs d'invertébrés et aux végétaux. (Juv.=juvénile). Les classes de tailles sont indiquées en mm quand elles étaient disponibles.

		Estuaire Wash (GB) ¹	Estuaire Humber (GB) ²	Estuaire Severn (GB) ³	Estuaire Tees (GB)⁴	Delta Rhin- Meuse- Scheldt (PB) ⁵	Mer Wadden (PB, A) ⁶	Mer Baltique (A) ⁷	Mer Wadden (D) ⁸	Baie Cadix (E) ⁹	Estuaire Tage (P) ¹⁰	Estuaire Tage (P) ¹¹	Estuaire Mondégo (P) ¹²	Baie Mt- St-Michel (F) ¹³	Traict Croisic (F) ¹³
	Cerastoderma edule	4-10					<7		+	+			+		+
	Macoma balthica	<9	0-8	3-7	+		<7		+						+
Rivalvos	Mya arenaria	+													
Divalves	Mytilus edulis				+										
	<i>Abra</i> sp.										2,3-12,4	≤4			
	Scrobicularia plana									?		2-12,5	+		
Gastéropodes	Peringia ulvae	2-7	0-5	toutes	+		toutes	+	+		0,8-3,4		+	+	+
Gasteropodes	Retusa obtusa	toutes													
	Amphipodes												+		
	Bathyporeia sp.	>3													
Amphipodes	Corophium arenarium/volutator Gammarus oceanicus Gammarus salinus	>3	0-12		+		6	+ + +	+						+
	Urothoe sp.	>3													
	Cyathura carinata										+				
	ldotea balthica							+							
la su s da s	ldotea chelipes							+							
Isopodes	Sphaeroma hookeri							+							
	Carcinus maenas				+		+		+				+		
	Crangon crangon						25	+							
Ostracodes	Ostracoda sp.														+

Chapitre I. Le bécasseau variable Calidris alpina

Tableau I.3: Liste des espèces-proies observées dans le régime alimentaire du bécasseau variable sur les estrans meubles de l'Europe de l'Ouest (Wolff, 1969⁵; Evans *et al.*, 1979⁴; Worral, 1984³; Yates *et al.*, 1993¹; Mouritsen, 1994⁸; Perez-Hurtado *et al.*, 1997⁹; Cabral *et al.*, 1999¹²; Dierschke *et al.*, 1999a⁷; Le Dréan-Quénec'hdu, 1999¹³; Lourenço *et al.*, 2005¹¹; Santos *et al.*, 2005¹⁰; Stillman *et al.*, 2005²; Folmer, 2012⁶). La catégorie « Autres » correspond aux larves de diptères, aux insectes, aux œufs d'invertébrés et aux végétaux. (Juv.=juvénile). Les classes de tailles sont indiquées en mm quand elles étaient disponibles.

		Estuaire Wash (GB) ¹	Estuaire Humber (GB) ²	Estuaire Severn (GB) ³	Estuaire Tees (GB)⁴	Delta Rhin- Meuse- Scheldt (PB) ⁵	Mer Wadden (PB, A) ⁶	Mer Baltique (A) ⁷	Mer Wadden (D) ⁸	Baie Cadix (E) ⁹	Estuaire Tage (P) ¹⁰	Estuaire Tage (P) ¹¹	Estuaire Mondégo (P) ¹²	Baie Mt- St-Michel (F) ¹³	Traict Croisic (F) ¹³
	Polychètes		6-61		+					+			+	+	+
	Arenicola	Juv.							+						
	Capitellidés	+													
	Cirratulidés	+													
	Clymenella sp.	+													
	Hediste diversicolor	+		1-3	+	+	50	+	+		9,1-66,4	≤65	+	+	
	Heteromastus spp.						+								
	Lanice conchilega	+					+								
Polyobàtac	Marenzelleria spp.						+								
Folychetes	Nephtys hombergii	+					60		+		+				
	Nephtys spp.	+							+						
	Phyllodocidés	+													
	Polydora ciliata										+				
	Pygospio elegans	+													
	Scoloplos armiger	+					+								
	Spio filicornis	+													
	Spionidés								+						
	Streblospio shrubsolii										+				
Clitellates	Oligochètes	+			+						+				
Autres		+			+						+		+	+	+

42

Cependant, un nouveau mode d'alimentation a été mis en évidence récemment chez différentes espèces de bécasseaux : le broutage des biofilms microphytobenthiques (Elner *et al.*, 2005 ; Kuwae *et al.*, 2008 ; Mathot *et al.*, 2010 ; Beninger *et al.*, 2011 ; Kuwae *et al.*, 2012 ; Mac Donald *et al.*, 2012 ; Quinn et Hamilton, 2012). L'étude canadienne sur la morphologie du bec et de la langue de deux espèces de Calidrides, dont le bécasseau variable, a montré leur adaptation fonctionnelle au broutage du biofilm par la présence de papilles et d'épines de kératine au niveau de leur langue leur permettant de brouter le biofilm superficiel des vasières intertidales (Elner *et al.*, 2005).

Le rôle joué par le microphytobenthos dans l'alimentation du bécasseau variable en hivernage dans la Baie de Bourgneuf a donc également été étudié dans cette thèse. La question que nous pouvions nous poser était : les individus hivernant dans la Baie de Bourgneuf possèdent-ils les mêmes adaptations morphologiques au niveau de leur bec et de leur langue que les autres espèces capables de brouter le biofilm microphytobenthique? Pour répondre à cette interrogation et démontrer ou non les capacités de l'espèce à s'alimenter sur du biofilm dans la Baie de Bourgneuf, un article portant sur les particularités anatomiques du bec et de la langue de bécasseaux variables capturés dans la baie est présenté dans la partie suivante.

I.5. Bill and tongue structure of Dunlin (*Calidris alpina alpina*): relationship with its feeding ecology

Sigrid Drouet, Priscilla Decottignies, Vincent Turpin, Philippe Gourlay, Richard P. Cosson

Article en préparation

Abstract

The Dunlin (*Calidris alpina*) is a common shorebird that breeds on circumpolar tundra and winters along North temperate coasts. This bird shows highly plastic feeding behaviors in accordance with the habitats it frequents during its migration cycle. Night catches by using mist nests were carried out in September 2011, January and May 2012 in Bourgneuf Bay (France) that hosts between 12 000 and 13 000 wintering Dunlins a year. Scanning Electron Microscopy (SEM) was used to study C. alpina alpina bill and the tongue ultrastructure and observe potential sexual differences. Denticle dimensions appeared to be smaller in females than in males. Sensory pits were found longer and wider in females than in males. The lateral spines of the tongue measured between 136 and 273 µm. The lateral and distal spines were longer in females than in males. Our study showed that some features of C. a. alpina feeding are related to morphological and anatomical adaptations of its oral apparatus. Comparisons were established with other Calidridae showing that this subspecies, C. alpina alpina, shares common features (tongue spines, papillae, coarse denticles) with Sandpipers already known to feed on microphytobenthos biofilms. We hypothesize that this Dunlin subspecies is susceptible to graze on microphytobenthos biofilms when staying in Bourgneuf Bay.

I.5.1. Introduction

For many years, all over the world shorebird populations are declining threatened by human activities (Wetlands International, 2012). This emphasizes our need for a better knowledge of their ecology and in particular their feeding ecology. Shorebirds have cyclical access to intertidal mudflats where they find a large amount of invertebrate macrobenthic preys (Zwart and Wanink, 1993). Generally shorebirds feed on marine polychates, molluscs or crustaceans and insects (e.g. Zwarts *et al.*, 1990; Skagen and Oman, 1996).

The Dunlin, *Calidris alpina*, is a common shorebird that breeds in circumpolar tundra and winters along Northern temperate coasts (MacLean and Holmes, 1971). All over the world, more than eleven subspecies were described based on plumage and/or morphometric characteristics, moulting pattern, and migratory behavior (Wenink *et al.*, 1993; Wenink *et al.*, 1996; Engelmoer and Roselaar, 1998; Wennerberg, 2001). It is among the most abundant shorebird in the East Atlantic migratory flyway that links

arctic breeding locations (Greenland to Siberia) to wintering sites (Western Europ to Western Africa). About 300 000 Dunlins overwinter on French coasts. That represents almost 25% of the Eastern Atlantic population (Triplet et al., 2006). According to Burton (1974), Dunlins gather preferentially on wet mudflats for feeding. They locate preys by probing survey and visual search reducing their head movements. They use three feeding modes. When pecking, the bill just touches the mud surface. When probing, the slightly open bill enters into the mud (Dewar, 1909). When stitching, they perform extremely rapid series of pecking/probing, shallow and close, at night time (Elhert, 1964 in Burton, 1974). Dunlins complete diet is difficult to obtain due to their small size, rapid movements and the use of diverse foraging methods on mudflats. Their prey are consumed wholly or partially without any manipulation in the oral cavity in order to limit losses. Dunlins have a very high feeding rate relatively to their small size. They feed on very small preys. Their main preys are the bivalve, Macoma balthica, and the polychaete worm, Hediste diversicolor (Worral, 1984; Dierschke et al., 1999a; Folmer, 2012; Stillman et al., 2005; Santos et al., 2005).

Feeding modes are related to oral cavity adaptations. Filter-feeding anatomical adaptations were well investigated for ducks, Anas platyrhynchos, Anas clypeata and Ayhthya fuligula (Kooloos et al., 1989) or for flamingos, Phoenicopterus ruber using Scanning Electron Microscopy (Zweers et al., 1995). A recent study using light microscopy focused on bill morphological adaptations in relation with the foraging behavior of three calidrid shorebirds: the Western Sandpiper, Calidris mauri, the Least Sandpiper, C. minutilla and the Dunlin C. alpina (Nebel et al., 2005). But detailed studies of Dunlin bill and tongue remain scarce. Consequently, a better understanding of their feeding behaviour on mudflats needs a close examination of their jaws. A study of C. alpina and C. mauri bill and tongue morphology showed a functional case for unfiltered grazing on microphytobenthic biofilm (Elner et al., 2005; Kuwae et al., 2008). Up to date this work is the only one describing shorebird tongues using Scanning Electron Microscopy (SEM). The Dunlins subspecies studied in the cited publications were C. a. pacifica and/or C. a. hudsonia that use the Pacific flyway. Our study focused on a subspecies of Dunlin, C. a. alpina that uses the East Atlantic flyway. Calidris a. alpina is a common migratory shorebird observed on the mudflats of Bourgneuf Bay (France) that hosts between 12 000 and 13 000 wintering Dunlins (Bocher et al., 2014a). On French coasts wintering Dunlins are mainly C. a. alpina (Lopes et al., 2006; Piersma, 2007). In the present work, we studied C. a.

alpina bill and tongue structure and ultrastructure using SEM in order to improve our knowledge of morphological adaptations in relation with its foraging behaviour. A comparison with other subspecies allowed us to establish if biofilm grazing functional adaptation has to be considered as a common evolution.

I.5.2. Materials and methods

Sampling

Dunlins were collected from Bourgneuf Bay $(1^{\circ}-2^{\circ} W, 46^{\circ}-47^{\circ} N)$ on the French Atlantic coast South of the Loire estuary (Figure I.12).



Figure I.12: Location of night catches in Bourgneuf Bay: ▲Collet roost and △Dain lagoon.
Figure I.12: Localisation de la Baie de Bourgneuf et des sites de captures : ▲ reposoir du Collet et △ lagune du Dain.

A special dispensation ("dérogations relatives à des espèces N°58/2011 et N°23/2012, préfecture de Loire-Atlantique" and "arrêté N°12/DDTM85/575-SERN-TNDL, préfecture de Vendée") allowed bird night catches on the shore by using mist nests on the Dain lagoon in September 2011 and on the Collet roost in January and May 2012, at rising tide during new moon period, taking advantage of good weather conditions (no rain, no wind). Seven adult birds died during catching. Different biometric measurements (bill, wing, tarse lengths, body mass) were performed.

Dissection allowed determination of sex and tongue length from the tip to the oral cavity bottom (Table I.4).

Table I.4: Features of seven Dunlins (*Calidris alpina alpina*) used for Scanning Electron Microscopy(M: male; F: female).

Table I.4 : Caractéristiques	des sept	bécasseaux	variables	(Calidris	alpina	alpina)	utilisés	pour	les
observations en Microscopie	Électronic	ue à Balaya	ge (M: mâl	e; F: fem	elle).			-	

Capture	Location	Bill	Tongue	Wing	Tarse	Weight	Sex
date		length	length	length	length	(g)	
		(mm)	(mm)	(mm)	(mm)		
09/28/2011	Dain lagoon	27.5	20.5	115.0	24.8	54.6	М
09/28/2011	Dain lagoon	26.5	18.5	115.0	23.8	51.0	Μ
01/28/2012	Collet roost	31.5	23.5	119.5	30.5	50.2	М
05/19/2012	Collet roost	30.0	22.5	110.0	31.5	60.5	М
05/19/2012	Collet roost	26.0	20.5	109.0	27.5	47.8	М
11/12/2012	Collet roost	32.0	24.5	112.0	28.0	49.0	F
11/12/2012	Collet roost	30.5	24.0	111.0	28.5	41.2	F

Scanning Electron Microscopy (SEM)

Bills and tongues were removed immediately after catching, to avoid tongue tissue lysis (Elner *et al.*, 2005). They were immediatey fixed in 2,5 % glutaraldehyde in 0,1 M sodium cacodylate buffer for a minimum of 2 days after catching and stored at room temperature. To remove the mucus, bills were rinsed in a 0,2 M phosphate buffer (pH 7,2) before being deshydrated in an ascending ethanol gradient. Then, samples were placed into 100 % hexamethyldisilazane (HMDS) for a night (Cannuel and Beninger, 2006). Excess HMDS was evaporated under a fume hood, and the tongues were separated from the upper and lower bills. Then samples were mounted on SEM stub and sputter coated with gold-palladium. They were observed using a JEOL 6400 and a JEOL 7600 SEM. Various anatomical details (denticles, sensory oval pits, spines) were measured using the Lucia[®] software.

I.5.3. Results

The maxilla and the mandible form the bill which is a clamp with a converging wedgeshaped tip. The dorsal surface of the maxilla and the ventral surface of the mandible appeared smooth (Figure I.13 and I.14). Male bill was smaller size than female one (Table I.5).

Maxilla

The internal tip of the maxilla appeared smooth and presented two grooves. A short channel of 0.73 mm was observed at its distal part (Figure I.15 B). The oral cavity ceiling presented one then two rows of coarse denticles (Figure I.15 E to G). Without distinction of sex, the size of the denticles decreased in length from the tip to the bottom of the bill. The side of the denticle oriented toward the tip of the bill was sloping while the opposite side is steep. The grooves extended into the bottom of the maxilla on each side of the denticles.



Figure I.13: Complete bill of Dunlin *Calidris alpina alpina*.Figure I.13 : Bec entier du bécasseau variable *Calidris alpina alpina*.



Figure I.14: Side aspect, external surface of the maxilla (M) and mandible (m), and tongue (T) in the oral cavity.

Figure I.14 : Vue de profil du bec, de la surface externe du maxillaire (M) et de la mandibule (m), et de la langue (T) dans la cavité buccale.

Table I.5: Biometry of Dunlin (*Calidris alpina alpina*) bill and tongue structures. Mean values are given in mm for whole bill and tongue, and in μ m for others mean values. The confidence intervals (95%) are given into brackets. Bold numbers are significantly different (p < 0.05).

Tableau I.5: Biométrie des éléments du bec et de la langue du bécasseau variable (*Calidris alpina alpina*). Les valeurs moyennes sont indiquées en mm pour le bec entier et la langue entière et en µm pour les autres données. Les intervalles de confiance (95%) sont entre parenthèses. Les chiffres en gras sont significativement différents (p <0,05).

	Bill :			Coarse o	lenticles			Sensory	oval pits	Tongue :	ongue : Spines		
	Whole	Tip		Middle		Bottom				Whole	Distal	Central	Lateral
		Width	Length	Width	Length	Width	Length	Width	Length				
Male n=5	28.3 (3.3)	358 (44)	820 (32)	311 (14)	382 (26)	314 (31)	444 (5)	11 (5)	15 (4)	21.1 (1.7)	148 (26)	53 (7)	136 (17)
Female n=2	31.2 (1.5)	208 (32)	340 (28)	297 (8)	371 (15)	-	-	38 (8)	42 (8)	24.2 (0.5)	158 (23)	-	273 (8)
At the bill tip, the mean size of denticles was significantly bigger in male than in female (t test, p = 0.005) (Table I.5). No differences were detected in denticles dimensions between the sexes regarding the middle and bottom parts of the maxilla. High densities of small rounded pores were detected on a large opening in the oral cavity. They were papillae surrounding the salivary gland called sensory oval pits (Figure I.15 C). Their width and length differed between male and female (t test, p = 0.049 and p = 0.006, respectively) (Table I.5). Their arrangements varied along the maxilla and were larger and longer in female. They were randomly distributed in the maxilla cavity. The sensory oval pits were more numerous at the tip of the bill than at the bottom. The corneal surface was irregular. The internal maxilla was longitudinally slit by the cleft palate where the two choanae open separately in the vomer bone (Figure I.15D).

Mandible

The internal tip surface of the mandible presented two grooves and a lateral channel at the tip of 1063 \pm 30 (CI 95%) µm long (n = 5) (Figures I.16). The internal mandible appears smooth. The lateral edges of the mandible were bulged. There were also sensory pores randomly distributed within the mandible similar to maxilla ones.

Tongue

The tongue occupies the entire cavity of the mandible. It was smaller in males than in females (Table I.5). The tongue bore lateral small and short filiform keratin spines (n = 10; 125 \pm 0.015 (CI 95%) µm). Tactile bristles brush and long spines were located at the distal end (Figure I.17 A) and at the margins (Figure I.17 B) of the tongue. In female, the spines are longer than in male (t test, p = 0.006) (Table I.5). The rest of the tongue was covered by short spines giving it a "velvety structure". In males the central spine mean size of the tongue measured 53 \pm 7 µm (n = 20) (Figure I.17 B and C). The lateral spines were 2.5 times larger than the central. The lateral spines of female tongues were twice longer than male ones (t test, p = 0.041) (Table I.5). On some images elliptical erythrocytes were observed on the surface of the tongue (Figure I.18). The cell mean long diameter measured 11.7 \pm 0.3 µm (CI 95%) and its mean short diameter measured 6.4 \pm 0.5 µm (CI 95%), (n = 3).



Figure I.15: Photographies au Microscope Électronique à Balayage de maxillaire (langue excisée). **A**: Fond du maxillaire interne avec l'entrée du pharynx (P) et quelques denticules (D). **B**: Extrémité interne du maxillaire présentant un court canal (C) et deux rainures (G). **C**: Détail du maxillaire avec une fosse sensorielle ovale (SOP), sorte de papille entourant la glande salivaire. **D**: Fond du maxillaire interne portant l'ouverture de deux choanes (Ch). **E**: Maxillaire interne présentant une rangée de denticules grossiers (D) dans sa partie antérieure. **F**: Maxillaire interne avec une puis deux rangées de denticules (D) dans sa partie médiane. **G**: Maxillaire interne avec deux rangées de denticules (D) dans sa partie médiane.



Figure I.16: Scanning electron micrographs of mandible (note : tongue excised). **A**: Internal tip surface of mandible with a central channel (C). **B**: Zoom on the internal tip surface of mandible with sensory oval pits (SOP) randomly distributed. G: groove.

Figure I.16 : Photographies au Microscope Électronique à Balayage de la mandibule (langue excisée). **A**: Surface interne de l'extrémité de la mandibule présentant un canal central (C). **B**: Zoom sur la surface interne de l'extrémité de la mandibule présentant des fosses sensorielles (SOP) distribuées de façon aléatoire. G: rainures.



I.5.4. Discussion

The examination of bill and tongue ultrastructure of calidrid species was already performed by Burton (1974), Guerritsen (1988), Rubega (1996) and Elner *et al.* (2005). Our observations of a large number of SEM pictures completed the available

épines centrales.

informations on bill and tongue morphology with an other subspecies *Calidris alpina alpina*. The bill can be considered as a clamp formed by the thin maxilla and the mandible, composed of keratin on endoderm and bone matrix, converging to a blunt tip (Burton, 1974). The bill presents a wide variety of forms and adaptations in the class of birds, in relation with their diet and it is often primarily used to catch preys. Compared to other waders, Dunlin bill is fairly down curved facilitating prey prehension. This curvature allows the tip of the bill to explore a large zone and makes easier its perpendicular insertion in the sediment (Burton, 1974). In our study, we observed coarse denticles on the internal maxilla, not described earlier for Canadian Dunlins (Elner *et al.*, 2005). We found a sexual difference between denticles size. The alternative presence of one or two rows of denticles could imply various degrees of mechanical activity in prey intake.

In the oral cavity a high density of sensory oval pits was detected consistent with observations made earlier (Von Bolze, 1968 in Burton, 1974). Nebel et al. (2005) did not find any difference for sensory pit sizes between the maxilla and mandible in three species: the Western Sandpiper, the Dunlin and the Least Sandpiper. In our study we found a difference between male and female Dunlin pit sizes. Pit sizes observed for males in our study are similar to that reported by Nebel et al. (2005) (14 - 22 μ m long and 6 – 10 μ m wide) but female sensory pit sizes are longer (36 – 48 μ m) and wider (32 – 44 μ m) than that reported by them. Consequently female sensory pits are more circular than oval. As described earlier sensory pits are located under the keratin layer of the bill (Gottschaldt, 1985). Pits are involved in prey prehension from the substrate. They function as mechanical receptors allowing birds to detect the pressure gradients generated by invertebrate preys present in the wet sediment (Gerritsen and Meiboom, 1986; Piersma et al., 1998), in relation with a probing feeding mode. Longer bills and larger sensory oval pits of females (C. alpina: Soikkeli, 1966 and our study; C. mauri: Mathot and Elner, 2004) show that they preferentially probe and/or develop another feeding mechanism. Mathot and Elner (2004) showed that Western Sandpiper foraging behavior at a population level seems variable, while individual feeding modes are more specialized owing to sexual anatomical differences. This discrepancy results in a sexual partitioning of preys and limits intra-specific competition.

The size, shape and mobility of the tongue is well known to vary a lot within the class of birds and with their diets (Burton, 1974). Tongue length and spines are linked to its

54

involvement in food intake. In our study, the lateral spines of Dunlin tongue measured between 136 and 273 μ m whereas Elner *et al.* (2005) reported an average length of 100 μ m length. The difference could be due to the fact that these authors noticed that several observed spines were broken and worn and did not take into account the sex of the observed birds. The keratin squames we observed figure I.18 acts as protections against the abrasion of tongue surface which is in direct contact with external elements (Elner *et al.*, 2005).



Figure I.18: Observation of keratine squames (KS), erythrocytes (E), sensory oval pit (SOP) and pellet of mucus (PM) on the surface of the maxilla.

Figure I.18 : Observation de squames de kératine (KS), érythrocytes (E), fosse sensorielle (SOP) et agglomérat de mucus (PM) sur la surface interne du maxillaire.

The oval particles we noticed on the internal surface of the maxilla (Figure I.19) were considered as clay particles by Elner *et al.* (2005). Actually we assume they correspond to erythrocytes probably originating from the bill dissection.



Figure I.19: Observation of erythrocytes (E) between the spines (S) of the tongue. **Figure I.19**: Observation d'érythrocytes (E) entre des épines (S) de la langue.

Spines and sensory oval pits allow Dunlins to sweep upwards the substrate and absorb materials on its surface. Food is pushed into the oral cavity by the spineriched posterior borders of the tongue. The large number of spines increases the tongue surface in contact with the sediment (Burton, 1974). The longer lateral and distal spines observed in female are probably more suitable for surface feeding strengthening the hypothesis of a sexual feeding partitioning. Spines orientation causes a backward movement of food inside the oral cavity and bidirectional movements of the tongue (Burton, 1974; Zweers, 1985). Sensory pits observed on the internal surface of the maxilla are in direct contact with the tongue surface in the oral cavity. Particles are transported between the palate and the superior surface of the tongue.

In Japan, Kuwae *et al.* (2012) showed that the Red-necked Stint diet has a 50-78% reliance on biofilm and possesses the same type of tongue tip than our Dunlins. In Canada, Elner *et al.* (2005) and Kuwae *et al.* (2012) showed that the Western Sandpiper possesses also tongue tips similar to Dunlin ones. Biofilm grazing is a result of an adaptative radiation for feeding mode diversification (Kuwae *et al.*, 2012). Using ecological, morphological and phylogenetic comparative analyses the same authors showed that biofilm feeding is widespread in small-bodied shorebirds. Their more developed feeding apparatus including tongue spines allows them to consume biofilm. This common adaptation, phylogenetically dependant, is shared by sandpipers, shanks and plovers that possess tongue spines (Kuwae *et al.*, 2012). In this study, we showed that *C. a. alpina* owns common dietary morphological adaptations with other calidrids already known to feed on biofilm.

As described by Kuwae *et al.* (2008), biofilm pellets are directed between the coarse denticles and the dense spines of the tongue. Elner *et al.* (2005) hypothesized the following scenario. The biofilm is absorbed by a continuous "carpet-rolling mucus" at the Dunlin tongue surface and is ultimately ingested. The particles trapped by the oral cavity mucus are accumulated on the backside of the denticles forming pellets dragged forward the bill. The material is then conveyed along the groove at the base of the tongue toward the esophagus. The grazing of the biofilm is in accordance with the need for migratory birds, as Dunlin, to develop flexible and opportunistic feeding modes (Skagen and Oman, 1996; Elner and Seaman, 2003; Mathot and Elner, 2004). If Dunlins are able to eat the biofilm due to the evolutive adaptation of their bill and tongue, their trophic position and their interaction with other consumers (e.g.

56

Peringia ulvae) in intertidal ecosystems are questionned. As stated by Kuwae *et al.* (2012) this discovery may be key drivers for shorebird diversification of foraging modes and leads to a re-interpretation of niche differenciation.

Contenu synthétique de l'article

Au cours de son cycle de migration, le bécasseau variable présente une grande plasticité dans son comportement alimentaire en fonction des différents habitats côtiers et d'eau douce qu'il fréquente. Ceci lui est permis par son appareil d'alimentation composé de trois éléments: le maxillaire, la mandibule et la langue. Le maxillaire et la mandibule forment le bec, sorte de pince cunéiforme (Elner et al., 2005). Dans cet article, la structure et l'ultrastructure du bec et de la langue de la sous-espèce Calidris alpina alpina ont été décrites grâce aux individus capturés en Baie de Bourgneuf et morts accidentellement. Il s'agit d'une analyse d'images de becs et de langues prises au Microscope Électronique à Balayage (MEB) et de l'observation de différences potentielles entre les sexes. Le bec présente des denticules et de nombreuses fosses sensorielles. La langue comporte des épines denses. Leur présence est une caractéristique morphologique partagée avec d'autres bécasseaux pour qui le broutage du biofilm a été prouvé (Elner et al., 2005 ; Kuwae et al., 2012). Cette sous-espèce de bécasseau variable Calidris alpina alpina présente donc les capacités morpho-anatomiques nécessaires au broutage du microphytobenthos à la surface des vasières lors de son séjour hivernal en Baie de Bourgneuf. De plus, notre étude montre pour la première fois un dimorphisme entre mâles et femelles. Les épines de la langue sont plus longues chez les femelles que chez les mâles. Les denticules présents sur la surface interne du bec sont de plus petites tailles chez les femelles que chez les mâles. Les fosses sensorielles sont plus longues et plus larges chez les femelles. Ces femelles pourraient privilégier une alimentation par le sondage et/ou par le broutage du biofilm.

I.6. Conclusion

Ce premier chapitre a permis de décrire le bécasseau variable ainsi que sa distribution en hivernage sur le littoral français et un des sites d'accueil en France : la Baie de Bourgneuf. L'étude anatomique de son bec et de sa langue a mis en évidence ses capacités à brouter le biofilm microphytobenthique présent en abondance dans cette baie.

Sur les vasières, *Calidris alpina* présente des modes d'alimentation en relation avec la morphologie de ses organes (bec, langue, pattes). Il utilise différentes techniques d'alimentation en fonction de la marée. Lorsque la mer monte et qu'il y a plus d'eau sur la vasière, il utilise préférentiellement le sondage car ses proies remontent vers la surface (Ehlert, 1964 dans Burton, 1974). Lorsque la mer descend et que le sédiment est encore humide il peut brouter plus facilement le biofilm que lorsque le sédiment est devenu plus sec à marée basse (Elner *et al.*, 2005). D'autre part, dans une étude menée en mer des Wadden lors de la migration automnale du bécasseau variable, Mouritsen (1994) a montré qu'il existe des différences dans sa technique d'alimentation entre le jour et la nuit. Cet auteur a émis l'hypothèse que le bécasseau variable utiliserait préférentiellement le picorage pendant la journée et le sondage pendant la nuit. L'alimentation de nuit semble importante pour reconstituer les réserves de graisse de ces oiseaux migrateurs (Mouritsen, 1994).

Afin de mieux connaitre le comportement de sélection alimentaire adopté par les bécasseaux variables en hivernage dans la Baie de Bourgneuf et de comprendre pourquoi ils viennent en grand nombre passer l'hiver sur nos côtes, des méthodes complémentaires ont été utilisées dans cette thèse. Dans le chapitre suivant, nous présenterons la méthode de reconstruction du régime alimentaire à partir des fientes et des contenus stomacaux. Tout d'abord, la richesse spécifique en macrofaune dans la Baie de Bourgneuf a été étudiée et comparée à celles de deux autres sites, Moëze et Oléron, situés en Baie de Marennes-Oléron dans une Réserve Naturelle accueillant, de passage ou en hivernage, de nombreux bécasseaux variables (cf Figure II.1). Puis leur régime alimentaire a été déterminé au sein de ces deux baies en reconstruisant leur alimentation à partir des restes de proies retrouvés dans les fientes de ces oiseaux pour les deux baies et dans les contenus stomacaux pour la Baie de Bourgneuf seulement. Les prélèvements réalisés sur les oiseaux capturés (contenus stomacaux) ou directement sur les sites d'études (fientes) ont permis de distinguer des différences dans leur mode d'alimentation en fonction des sites et en fonction du jour et de la nuit.

Chapitre II. Macrofaune disponible et reconstitution du régime alimentaire du bécasseau variable *Calidris alpina* à partir des restes digestifs

II.1. Introduction

La distribution des espèces animales peut être expliquée par l'étude de la sélection de l'habitat (Krebs, 2009). Toutes les espèces sélectionnent leur habitat en fonction des ressources qu'elles y trouvent et qui sont nécessaires à leur survie et à leur reproduction. En effet, les ressources trophiques sont l'une des principales contraintes à la survie d'un animal. Il est évident que certains habitats sont plus favorables que d'autres, offrant des ressources plus ou moins adaptées à chaque période du cycle de vie d'une espèce. D'après Hall *et al.* (1997), les sites qui offrent les ressources nécessaires aux animaux pour leur survie comme les couloirs de migration ou de dispersion, les terres qu'ils occupent pendant leurs périodes d'hivernage ou de reproduction sont des habitats. La sélection de l'habitat est couramment reliée à la sélection des ressources alimentaires.

Différentes contraintes s'imposent à l'utilisation de la ressource trophique par un individu : l'accessibilité physique de celle-ci, la morphologie de celui-ci, le risque de prédation ou les phénomènes de compétition (Quaintenne, 2010). L'étude du comportement alimentaire de l'individu permet de mieux appréhender ces contraintes.

Les oiseaux limicoles hivernant dans les estuaires ou les baies tempérées subissent des conditions météorologiques rudes (tempêtes, pluies, vent), le cycle des marées et les ruissellements d'eau douce terrestre qui peuvent influencer les conditions thermiques et d'alimentation (Evans, 1976; Burger, 1984; Kelly, 2001). La capacité à maintenir un équilibre énergétique favorable est un des facteurs majeurs qui détermine la survie ou la mort des oiseaux vivants en liberté (Kersten et Piersma, 1986). Les oiseaux améliorent leurs chances de survie en maintenant leurs réserves énergétiques sous forme de graisses et de protéines qui seront mobilisées pour leur fournir plus d'endurance pendant les périodes de froid extrême ou de réduction de la disponibilité alimentaire (Evans et Smith, 1975; Davidson, 1981; Lindström *et al.*, 2000). Cependant les avantages de l'engraissement sont limités (Lima, 1986; McNamara et Houston, 1990; Witter et Cuthill, 1993). Les dépôts de graisses réduisent le risque de famine en augmentant l'endurance au jeûne, mais ils augmentent également les coûts énergétiques de vol, réduisant aussi la capacité de fuite des oiseaux à cause d'une plus forte masse corporelle, de plus, ils induisent

une augmentation du temps de recherche de nourriture (Witter et Cuthill, 1993; Witter *et al.*, 1994).

Le mode de nourrissage (sondage/picorage/stitching/broutage) choisi par les oiseaux limicoles résulte d'un compromis entre bénéfices et coûts (Gerritsen et Van Heezik, 1984 ; Mouritsen et Jensen, 1992 ; Le V. dit Durell, 2000). Sonder peut apparaître comme le mode de recherche de nourriture le plus rentable en raison du potentiel de disponibilité plus élevé des proies dans les profondeurs du sédiment (Myers et al., 1980; Mouritsen et Jensen, 1992). Cependant, le sondage induit un temps de prospection de la vase non négligeable et une dépense d'énergie supplémentaire liée aux frottements du bec contre les particules de sédiment (Le V. dit Durell, 2000) alors que nombre de sondages ne débouchent pas forcément sur la capture d'une proie (Gerritsen et Van Heezik, 1984). Les oiseaux limicoles privilégient donc les habitats à pénétrabilité plus élevée (Gerritsen et Van Heezik, 1984; Grant, 1984; Mouritsen et Jensen, 1992). Au-delà du mode de capture des proies utilisé par ces derniers, différents paramètres influencent la disponibilité de celles-ci. La recherche alimentaire et la capture des proies disponibles sur et dans le sédiment dépendent de la taille de celles-ci (Helfman et Winkelman, 1991), de la saisonnalité (Baker et Baker, 1973), de la température (Nebel et Thompson, 2005) et du cycle des marées (Zwarts et Wanink, 1993). L'éclairement peut également modifier les mécanismes de détection, plutôt visuelle dans la journée et plutôt tactile la nuit (McNeil et al., 1992; Rojas et al., 1999a).

Afin de mieux comprendre comment les oiseaux limicoles s'alimentent sur les vasières intertidales qu'ils fréquentent en période d'hivernage, une approche possible peut donc être l'étude de la disponibilité et de la taille des proies présentes. Dans la première partie de ce deuxième chapitre, les abondances de macrofaune benthique disponible et accessible pour le bécasseau variable ont été déterminées dans deux baies de la côte atlantique française : la Baie de Bourgneuf et la Baie de Marennes-Oléron. Ce travail est présenté sous forme d'un article en préparation dans la revue "Bird Study" et intitulé : "Contrasting prey availability and selection by Dunlin *Calidris alpina* in two bays on the French Atlantic coast". Pour caractériser le comportement de sélection alimentaire du bécasseau variable nous avons cherché à mettre en évidence une relation potentielle entre ses fientes et les stocks de proies présentes dans les deux baies.

Dans une deuxième partie, des contenus stomacaux de bécasseaux variables capturés de nuit en Baie de Bourgneuf ont été observés en microscopie optique. L'objectif poursuivi était la reconstitution des proies ingérées à partir des fragments observés dans leurs contenus stomacaux. Pour ce faire, une technique de régurgitation commune à Zann et Straw (1983) pour les oiseaux granivores et Martin et Hockey (1993) et Dierschke *et al.* (1999a) pour les oiseaux limicoles a été utilisée. Ces contenus stomacaux ont été récupérés par lavage de la cavité orale jusqu'au proventricule sans tuer l'animal (Barrett *et al.*, 2007). Martin et Hockey (1993) ont montré que la méthode de régurgitation par lavage était suffisamment représentative pour donner de bonnes indications sur l'importance relative de chaque type de proies dans le régime alimentaire. De plus, il s'agit d'une technique simple à utiliser et opérationnelle sur le terrain mais qui nécessite que l'oiseau ait son estomac presque rempli (Martin et Hockey, 1993).

II.2. Contrasting prey availability and selection by Dunlin *Calidris alpina* in two bays on the French Atlantic coast

Sigrid Drouet, Priscilla Decottignies, Vincent Turpin, Thierry Guyot, Gwenaël Quaintenne, Richard P. Cosson, Anne Philippe, Pierrick Bocher

Article en préparation pour le journal "Bird Study"

Abstract

In this study, we describe food availability and diet selection of Dunlin *Calidris alpina* wintering in two estuarine bays on the French Atlantic coast. We examined the distribution of birds and the density and availability of high quality prey. Results indicate strong inter-annual variation in the abundance of birds, which was subject to considerable fluctuations since 1992 without any defined trend and considerable variation in prey-item abundance and diet selection depending upon site. At Bourgneuf Bay and Marennes-Oléron Bay, the prey community was dominated by *Peringia ulvae* and this gastropod remained the most important prey species, except at one subsite (Moëze). At Bourgneuf and Oléron, Dunlins fed on *Peringia ulvae*, *Scrobicularia plana* and *Macoma balthica*. *Nephtys hombergii* and *Hediste diversicolor* contributed to a lesser extent to the diet of Dunlins. At Moëze, Dunlins selected exclusively polychete species.

II.2.1. Introduction

For animals, optimization in foraging activity is one of the first conditions of their survival and improvement of their fitness (Piersma, 2006). Understanding how preys distribute themselves is a key factor in habitat selection by predators in the animal world (Piersma, 2006). Habitat selection theory is therefore a useful framework for monitoring management and conservation (Jonzén, 2008).

Among birds, shorebirds is a group whose most of the species feed on open and accessible landscape as mudflat where the description of prey is facilitated by open access and the limited number of prey species living in sediment (Dekinga and Piersma, 1993). Among shorebirds, our study focused on one of the most abundant species in the world and particularly in wintering areas in Europe, the Dunlin, *Calidris alpina* (Van de Kam *et al.*, 2004; Delany *et al.*, 2009). Whereas del Hoyo *et al.* (1996) recognized nine subspecies defined mainly by morphological characters (e.g. size and plumage coloration), five sub-species were described based on genetic and morphological differences, in Canada, Europe, Siberia, Bering Strait and Alaska (Buehler and Baker, 2005). The three sub-species using the East-Atlantic Flyway are *C. c. alpina*, *C. a. schinzii* and *C. c. arctica* (Greenwood, 1986). These populations

breed in arctic tundra, from Greenland to Siberia and Northern Europe, during summer and migrate south to wintering areas in Europe and Africa (Smit and Piersma, 1989). Along the European coasts, around 1,300,000 individuals winter each year mainly in estuarine bays where they feed on intertidal mudflats but also on different kind of habitats such as beaches or rocky shores (Van de Kam et al., 2004). Approximately a fifth of the Dunlins overwinter in Europe is located on coast of France (Deceuninck and Mahéo, 2000). Thus, more than 300,000 Dunlins overwinter in France each year (Triplet et al., 2006), representing half of all the coastal shorebirds present on the territory. Consequently, this shorebird appears as one of the main top predator on coastal habitats along the Atlantic coast of France. During wintering, Dunlins feed on benthic macrofauna (i.e. molluscs, crustaceans and worms) mainly on soft substrates (Eybert *et al.*, 2003). Their diet can be qualitatively and quantitatively reconstituted with various and complementary methods (Barrett et al., 2007) by direct observation (Santos et al., 2010), by isotopic analyses of tissues (blood, cells, muscles, organs or feathers) (Haramis et al., 2007; Kohler et al., 2009; Bocher et al., 2014b), or by residual fragment analyses of various preys kept in faeces or stomach contents (Dekinga and Piersma, 1993; Verkuil, 1996; Scheiffarth, 2001; Sanchez et al., 2005). Nevertheless, the method giving the most precise diet composition with respective contribution of each prey species remains the analysis of faeces or stomach content, although it is a time consuming method (Pienkowski et al., 1984; Worral, 1984; Dekinga and Piersma, 1993). In previous studies, the species seemed to adopt a further generalist diet compare to other shorebirds, with a very opportunistic behaviour when foraging (Rottenborn, 1996; Skagen and Oman, 1996; Dierschke et al., 1999a; Davis and Smith, 2001; Long and Ralph, 2001; Elner et al., 2005; Santos et al., 2009; Bocher et al., 2014b).

The objective of the present study is to compare foraging behaviour and diet of Dunlins in different intertidal habitats. To this end, we sampled the benthic macrofauna and reconstructed the diet of the Dunlins by analyses of faeces in two major wintering sites in France: Bourgneuf Bay and Marennes-Oléron Bay (Wetlands International, 2012). The diet selection of Dunlins was studied, in relation to the accessibility, availability and digestive quality of their main prey at each of the two sites considered. We examined whether the distribution of Dunlins at favourable sites on the French Channel coast is related to the density and availability of highest quality prey or to most abundant and available prey.

II.2.2. Material and methods

Study sites

The two study sites are located along the French Atlantic coast between the Loire and Gironde estuaries (Figure II.1). Both large estuarine bays have large intertidal mudflats. Bourgneuf Bay is located South of the Loire Estuary and covers 340 km² including 100 km² of intertidal mudflats. Two distinct habitats were considered in Bourgneuf Bay: a sandy-muddy sector (mean grain size of 74 μ m, 41.9% silt) at the North of Port of Le Collet (North Collet) and a muddy sector (mean grain size of 15 μ m, 85.9% silt) at the South (South Collet) (Figure II.1 and Table II.1).



Figure II.1: Location of the two study areas on the French Atlantic coast. Black spots mark sampling stations.

Figure II.1 : Localisation des deux zones d'étude sur la côte atlantique française. Les points noirs indiquent les stations d'échantillonnage de la macrofaune.

The Marennes-Oléron Bay is located North of the Gironde estuary and 150 km south from Bourgneuf Bay. The bay is bordered by Oléron Island on its Western part and by the mainland on its Eastern part with a total area of 180 km², of which 110 km² are intertidal zones. In Marennes-Oléron Bay, two distinct habitats were considered in the Natural Reserve of Moëze-Oléron: a bare muddy sector (mean grain size of 17 µm, 85.1% silt) at Moëze on the mainland side and a *Zostera noltii* seagrass bed with sandy-muddy mudflat composition (mean grain size of 132 µm, 39.3% silt) on Oléron side. Both bays present a maximal tidal amplitude of about 6 m. Both bays are among Dunlin main wintering sites in France. In mid-winter, Bourgneuf Bay hosts a maximum of 19,000 individuals while a maximum of 30,000 individuals are present in Marennes-Oléron Bay (Wetlands International, 2012; Mahéo and Le Dréan-Quénec'hdu, 2013).

 Table II.1: Study sites, periods of sampling, number of samples (benthos and sediment), tidal characteristics and sediment characteristics.

Study sites	Study period			Tidal amplitu	ıde	Sediment characteris	stics
		Number of samples (N _{sed})	Sampled by foot (%)	Neap tide (m)	Spring tide (m)	Median grain size (µm)	Sediment <63 µm (%)
Bourgneuf Bay	10 Dec to 13	174	56	2.5	7.1	-	-
North Collet	Dec 2011	100 (4)	53	-	-	74	41.9
South Collet		74 (4)	61	-	-	15	85.9
Marennes- Oléron Bay	23 Jan to 22	128	57	2.4	5.1	-	-
Moëze	Feb 2012	64 (2)	35	-	-	17	85.1
Oléron		64 (12)	100	-	-	132	39.3

Table II.1 : Sites d'étude, périodes d'échantillonnage, nombres d'échantillons (benthos et sédiment), caractéristiques tidales et sédimentaires.

Bird counting

Annual Dunlin counts were made available by the Wetlands International Program and performed every year in January since 1970 (Mahéo, 2010; Wetlands International, 2012; Mahéo and Le Dréan-Quénec'hdu, 2013).

Benthos sampling

Bourgneuf Bay was sampled by mid-December 2011 and Marennes-Oléron Bay by the end of January-beginning of February 2012 (Table II.1). Macrofauna was sampled systematically at stations arranged in a grid of 250 m intervals using a handheld GPS (WGS84 as a geographic coordinate system). Across both study sites, a total of 302 sampling stations were visited (Figure II.1). A total of 174 stations were sampled at Bourgneuf Bay and 128 stations at Marennes-Oléron Bay according to methods described in Bocher et al. (2007). Each sampling station is represented by a dot in figure II.1. Most of the stations were sampled on foot at low tide (56%) and the others by boat during high tide. At each station sampled on foot, one sediment core of 15 cm diameter and 20-25 cm depth was collected. The upper 4 cm were separated from the rest of the core to select accessible prey for Dunlins according to maximal size of their bill (Zwarts and Wanink, 1991). The two parts were then sieved over a 1 mm square mesh. The mudsnail, Peringia ulvae, a small gastropod which is highly present on these mudflats, was sampled by taking an additional core of 7 cm diameter at 4 cm depth that was sieved over a 0.5 mm square mesh. At the stations sampled by boat, two sediment cores of 10 cm diameter and 25-40 cm depth were collected. The collected material was stored in plastic bags and frozen at -20°C for further analysis, except worms that were fixed in 70° ethanol. At each 1 km intersection of the gridlines a sediment sample was taken to a depth of 7-8 cm and stored at -20°C in closed plastic bags for particle size analysis.

Sample analysis

Polychaetes and molluscs are known to dominate the prey species in the diet of Dunlins (Table II.2). So we limited this study to polychetes, gastropods and bivalves (Table II.3).

Crustaceans were rare and not measured. At the laboratory, all molluscs and annelids were determined to species level, counted and measured (maximum length) to the nearest millimeter. For each bivalve (with a shell length larger than 5 mm), the flesh was separated from the shell and both parts were dried for 3 days at 55°C to determine the dry mass of the flesh (DM) and the shell (DM_{shell}). The ash-free flesh dry mass (AFDM_{flesh}) for each individual was determined after incineration at 550°C for 5 h. AFDM_{flesh} and DM_{shell} were determined with a precision of 0.1 mg (Piersma *et al.,* 1993a; Kraan *et al.,* 2007; Quaintenne *et al.,* 2010). To take into account damaged individuals (due to manipulation and sieving), various individual measurements (width or anterior segment length) allowed to establish allometric

relationships between the body length or width and biomass of corresponding individual. For *Hediste diversicolor* (Nereididae), the length (L3) from the end of the prostomium to the posterior part of the first setiger was used according to Gillet (1990) owing to its good correlation with worm ash-free dry mass. Another measurement was also taken among *Hediste diversicolor*, the tenth setiger width (WS10) observed ventrally excluding parapodia (Garcia-Arberas and Rallo, 2002) was measured because it is not affected by the partial or total devagination of the proboscis, common phenomenon in individuals fixed in ethanol. For *Nephthys hombergii*, the tenth setiger (WS10) (Warwick, 1975; Olive, 1977; Mathivat-Lallier and Cazaux, 1989) and the first setiger width (WS1), excluding parapodia, and ventrally observed were measured. For other species, the maximum width was measured. Whole individual total length was also recorded systematically. By convention only body parts including a prostomium were identified and considered as one individual. The ash-free dry mass (AFDM_{worm}) of complete worms was recorded. The harvestable prey for Dunlins was defined following Zwarts *et al.* (1992) and Zwarts and Blomett (1992) for Paed Knots Calidris canutus, applying the concents of

Zwarts and Blomert (1992) for Red Knots *Calidris canutus*, applying the concepts of accessibility (bivalves below the top 4 cm were excluded), ingestibility (large bivalves that could not be ingested were excluded) and profitability (bivalves that were too small and not profitable to predate were excluded). The available prey was then defined as prey that was both accessible and ingestible.

Median particle size and silt percentage (fraction < 63μ m) of sediments were determined using a Malvern Instruments Hydro 2000 laser particle size analyzer after treatment as described in Méléder *et al.* (2007), adapted from Baize (1988).

Table II.2: Prey species ingested by Dunlins on soft-substrate in West Europe from feeding birds observations (Evans *et al.*, 1979⁴), from droppings (Le V. dit Durell and Kelly, 1990⁶; Mouritsen, 1994²; Cabral *et al.*, 1999⁹; Santos *et al.*, 2005¹⁰; Stillman *et al.*, 2005⁵), from stomach contents (Dierschke *et al.*, 1999a¹; Le Dréan-Quénec'hdu, 1999⁸) or from both droppings and stomach contents (Worrall, 1984⁷; Yates *et al.*, 1993⁶; Perez-Hurtado *et al.*, 1997¹¹; Folmer, 2012³).

Table II.2: Proies ingérées par le bécasseau variable sur les substrats meubles de l'Europe de l'Ouest à partir d'observations de leur alimentation sur le terrain (Evans *et al.*, 1979⁴), de leurs fientes (Le V. dit Durell and Kelly, 1990⁶; Mouritsen, 1994²; Cabral *et al.*, 1999⁹; Santos *et al.*, 2005¹⁰; Stillman *et al.*, 2005⁵), de leurs contenus stomacaux (Dierschke *et al.*, 1999a¹; Le Dréan-Quénec'hdu, 1999⁸) ou de leurs fientes et contenus stomacaux (Worrall, 1984⁷; Yates *et al.*, 1993⁶; Perez-Hurtado *et al.*, 1997¹¹; Folmer, 2012³).

	altic Sea (D) ¹	adden Sea (DK) ²	adden Sea (NL,D) ³	ver Tees Estuary IK) ⁴	umber estuary (UK) ⁵	ne Wash (UK) ⁶	evern Estuary (UK) ⁷	ont St-Michel Bay) ⁸	aicts-du-Croisic (F) ⁸	nis study (F)	ondego Estuary (P) ⁹	agus estuary (P) ¹⁰	àdiz Bay (SP) ⁸
Diversity	ñ	3	3	<u> </u>	Ī	È	Ň	ΣĽ	Ц	Ţ	Σ	Ĕ	Ü
Bivalvia Corectodormo odulo						Ι.		Ι.					
Verasiouerma equie		+	+	Ι.	+	+		+		+			+
Abro an / Sarabiaularia plana		+	+	+	+	+		+	+			+	2
Abra sp./ Scrobicularia plaria									+	+	+		?
Mya aronaria												+	
Gastropoda					+								
Peringia ulvae	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Ŧ	+	+	
Refusa obtusa		•	· ·	1.	+	+		1.	•	•	•	•	
Amphipoda					•	·					+		
Gammarus oceanicus/ salinus	+										•		
Urothoe sp.					+								
Bathyporeia sp.					+								
Corophium arenarium/volutator	+	+	+	+	+	+		+				+	
Isopoda													
Cyathura carinata											+		
Idotea balthica/ chelipes	+												
Decapoda													
Crangon crangon	+		+										
Carcinus maenas		+	+							+		+	
Ostracoda													
Ostracoda sp								+					
Polychaeta				+	+			+	+		+		+
Arenicola marina		+			+								
Capitellids					+								
Heteromastis filiformis			+										
Cirratulids					+								
<i>Clymenella</i> sp.					+								
Nephtys hombergii		+	+		+				+		+		
Other Nephtys sp.		+			+	+							
Hediste diversicolor	+	+	+		+	+	+		+	+	+	+	
Scoloplos armiger			+		+								
Phyllodocids					+								
Spionidae		+											
Streblospio shrubsolii											+		
Polydora ciliata											+		
Pygospio elegans					+								
Spio filicornis					+								
Lanice conchilega			+		+								
Marenzelleria virides			+										
												Ι.	
UIYUUIAELES	1	1	1	1	+	1	1	1			+	+	1 1

Diet reconstruction

Diet was reconstructed from droppings collected during low tide on feeding area of Dunlin flocks. Fifteen droppings were sampled per site and geo-referenced using a GPS. At the laboratory, the droppings were frozen at -20°C. Dunlin diet was reconstructed from these samples following the protocols of Dekinga and Piersma (1993) for molluscs and Scheiffarth (2001) for worms. All parts were identified to species level whenever possible. For analyses, the droppings were pooled by five and sieved over a 64 µm square mesh with distilled water to remove mud and organic material. The particles remaining on the sieve, constituted largely of shell fragments, were weighed (DM_{shell}). Every fragment including hinges of bivalves was selected, the species was identified and hinge height was measured. For all fragments, three representative sub-samples of 5% of DM_{shell} were weighed and used to reconstruct the composition of the entire droppings. The total or part of Peringia ulvae were also selected and weighed. The filtered part was placed in ultrasonic bath for 15 min. It resulted that sediment remained at the bottom of the tube. After sedimentation for 5 min, the supernatant was poured in a 50 cm³ cylindrical chamber with a diameter of 25 mm. Jaws, tooth, chaetae and aciculae of polychaetes were sedimented and were identified to species level whenever possible (Friedrich, 1938; Hartmann-Schröder, 1971) by using an inverted microscope (x 100). All elements were photographed, then identified and measured. Lengths of molluscs and worms identified in droppings were reconstructed using predictive allometric equations between hinge height (or width of first whorl in the case of mudsnails) and shell lengths and between jaw or teeth lengths and worm lengths. Afterward, the AFDM of each ingested bivalve and worm was reconstructed from the shell and worm lengths. From the weighted shell fragments of each mollusc species, the relative DM_{shell}-contribution of each prey species in the diet of Dunlin was reconstructed. The relative AFDM_{flesh}-contribution of each mollusc species was calculated from the size- and species-specific AFDM_{flesh}-to-DM_{shell} ratios per site.

II.2.3 Results

Annual occurrence of Dunlins

During the annual mid-winter counts, Dunlins numbered on average $12,400 \pm 1,600$ individuals in Bourgneuf and $23,000 \pm 3,900$ individuals in Marennes-Oléron (Figure II.2). Dunlins were always more abundant in Marennes-Oléron than in Bourgneuf. Whatever the bay, Dunlins abundance displayed a substantial inter-annual variability characterized by coefficient of variations of 35% and 53% at Bourgneuf and Marennes-Oléron, respectively. At Bourgneuf, Dunlin number increased from 1977 to 1992, and then fluctuated annually without significant trend. A maximal number was recorded in 2002 with c. 22,000 individuals. At Marennes-Oléron, the number increased from 1977 until 2000, and then fluctuated between a minimum number of 12,700 individuals in 2011 and a maximal number of 47,437 individuals in 2008.



Figure II.2: Annual abundance of Dunlins at the two study sites (Bourgneuf Bay and Marennes-Oléron Bay) between 1976 and 2013 from IWC counts (mid-January). The solid lines stand for the mean and the dashed lines for the confidence interval at 95%.

Figure II.2 : Abondances annuelles du bécasseau variable sur les deux zones d'étude (Baie de Bourgneuf et Baie de Marennes-Oléron) entre 1976 et 2013 d'après les comptages IWC (réalisés à la mi-janvier). Les lignes pleines représentent la moyenne et les lignes en pointillés les intervalles de confiance à 95%.

Available mollusc and worm resources

Occurrences, mean densities and biomasses of each macrofauna species at each study subsite are presented table II.3. Respectively, 17 and 10 macrofauna species were recorded at Bourgneuf and Marennes-Oléron and among them, eight were common to both bays. When considering the molluscs, the gastropod *Peringia ulvae* was the most abundant species with the highest densities and biomass recorded in every study subsites (respectively, 7,976 and 17,757 mg AFDM_{flesh}.m⁻² at North and South Collet and respectively, 2,916 and 25,088 mg AFDM_{flesh}.m⁻² at Moëze and Oléron). In Bourgneuf, the other dominant mollusc species were the bivalves *Scrobicularia plana* (1,577 and 3,351 mg AFDM_{flesh}.m⁻²) and *Macoma balthica* (400 and 909 mg AFDM_{flesh}.m⁻²); and then the gastropod *Retusa obtusa* (512 and 181 mg AFDM_{flesh}.m⁻²).

In Marennes-Oléron, the pattern was different between Moëze and Oléron. At Moëze, the dominant bivalve species were: *Abra tenuis* (1,857 mg AFDM_{flesh}.m⁻²), *Ruditapes* spp. (1,544 mg AFDM_{flesh}.m⁻²), *S. plana* (552 mg AFDM_{flesh}.m⁻²) and *M. balthica* (372 mg AFDM_{flesh}.m⁻²) and at Oléron: *Ruditapes* spp. (4,171 mg AFDM_{flesh}.m⁻²), *M. balthica* (779 mg AFDM_{flesh}.m⁻²), *S. plana* (305 mg AFDM_{flesh}.m⁻²) and *A. tenuis* (240 mg AFDM_{flesh}.m⁻²) (Table II.3). Among the polychetes, *Hediste diversicolor* (with respectively 43 and 119 mg AFDM_{flesh}.m⁻² at North and South Collet and 134 and 715 mg AFDM_{flesh}.m⁻² at Moëze and Oléron) and *Nephtys hombergii* (with respectively 191 and 141 mg AFDM_{flesh}.m⁻² at North and South Collet and 328 and 153 mg AFDM_{flesh}.m⁻² at Moëze and Oléron) were the dominant species in Bourgneuf and Marennes-Oléron. *Arenicola marina* presented a biomass of 13 mg AFDM.m⁻² at Oléron owing to the collection of large individuals (Table II.3).

Some relative inter- and intra-site differences in prey abundance and distribution were observed (Table II.3 and Figures II.3 and II.4). In Bourgneuf, the sampled stations contained for more than 100 g AFDM.m⁻² (total biomass) whereas in Marennes-Oléron, for more than 200 g AFDM.m⁻². Considering the available fraction of the total biomass for Dunlin (present in first 4 cm depth), the mean available biomass decreased from 14.39 g AFDM.m⁻² to 10.81 g AFDM.m⁻² at North Collet and from 15.03 g AFDM.m⁻² to 10.98 g AFDM.m⁻² at South Collet (Figure II.3). A heterogenity in distributions of total and available biomasses of macrofauna was observed throughout the sampling area (Figure II.3). The total biomass seemed to

decrease from the highest level of the intertidal area to the lowest. Most favourable feeding area for Dunlins was located inside a stripe close to the shore and parallel to the coast throughout the North part of the Bay. A patch with higher available biomasses was also located in south of the South Collet sector.

and annelid species at each s Table II.3 : Occurrence (Occ., mollusques et d'annélides pré	ite (sa , %), de sentes	mpled fro ensité mo s sur cha	om Decem oyenne (D que site (é	ber 201 ens., inc chantillo	1 to Febi 1.m ⁻²) et l nnées de	ruary 2012 piomasse décembre	?). moyenne e 2011 à	e (Biom. février 2	, mgAFDN 2012).	l _{flesh} .m⁻²)	des espè	sces de
Species			Bourgn	euf Bay					Varennes.	Oléron	Bay	
		North Co	et e		South Co	allet –		Moěze			Olêran	
	80	Dens.	Biom.	0	Dens.	Biom.	80	Dens.	Biom.	30 0	Dens.	Biom.
Bivalves												
Nucula nitidosa	.	19	ø	⊽	CI	Ł	I	I	I	I	I	I
Cerastoderma edule	Ŷ	ы	თ	ŗ	∞	30	ŗ	56	56	Ź	66	192
Ruditapes spp.	Ā	⊽	Ю	⊽	9	20	⊽	66	1.544	ы	135	4,171
Macoma baithica	თ	186	400	र्च 	423	606	40	167	372	⊽	132	779
Scrobicularia plana	თ	178	1.577	6	378	3,351	13	33	552	,	104	305
Abre tenuis	I	I	I	V	28	ო	00	331	1.857	⊽	8	240
Mya arenaria	I	I	I	V	ო	283	I	I	I	I	ļ	I
Gastropods												
Peringia ulvae	66	3,165	7,976	<u>8</u> 3	7.046	17,757	69	1.000	2,916	93 93	11.378	25,088
Retusa obtusa	7	153	512	ы	54	181	I	ı	ı	I	ı	I
Polychaetes												
Ampharete acutifrons	I	ı	ı	ν	ৰ	ı			•		·	I
Arenicola marina	I	R	I	⊽	₽	I	ı	I	ı	Ţ	57	13
Heteromastis filiformis	I	I	I	ᠶ	Ţ	I	ı	ı	I	ı	·	I
Notomastus latericeus	Ā	Ś	I	₽	7	I	I	I	ı	I	ı	I
Cirritormia tentaculata	I	I	I	⊽	2.3	I	I	I	ı	I	ı	I
Nephtys hombergii	ю	96	191	ო	71	141	ი	68	328	V	<u>85</u>	153
Hediste diversicolor	5	13	43	Ŧ	37	119	⊽	56	134	V	27	715
Alittea (Neanthes) succinea	I	I	I	V	I	I	⊽	113	34	I	I	I

Table II.3: Frequency of occurrence (Occ., %), mean density (Dens., ind.m⁻²) and mean biomass (Biom., mg AFDMflesh.m⁻²) of mollusc





Figure II.3 : Distributions des biomasses totales et disponibles de macrofaune (toutes espèces confondues, gAFDM.m⁻²) pour le bécasseau variable sur l'ensemble de la zone d'étude de la Baie de Bourgneuf. AFDM: masse sèche sans cendres.

For Marennes-Oléron, the mean available total biomass decreased from 15.73 g AFDM.m⁻² to 9.71 g AFDM.m⁻² in termS of available fraction at Moëze and from 29.89 g AFDM.m⁻² to 29.49 g AFDM.m⁻² at Oléron (Figure II.4). At Moëze and Oléron, the maxima of total and available biomass were located further close to the shore. Very high concentrations in termS of total and available biomasses were observed at Oléron with 42% of stations superior to 30 g AFDM.m⁻² (Figure II.4).



Figure II.4: Distributions of total biomasses (all species, gAFDM.m⁻²) of macrofauna and available biomasses (gAFDM/m²) for Dunlins over the subsites of Moëze and Oléron. AFDM: ash-free dry mass.

Figure II.4 : Distributions des biomasses totales et disponibles de macrofaune (toutes espèces confondues, gAFDM.m⁻²) pour le bécasseau variable sur les sous-sites de Moëze et Oléron. AFDM: masse sèche sans cendres.

The contribution of prey species to total, accessible and available food stocks are presented in the three upper boxes of figure II.5. The contribution of each prey species from total to available biomass varied depending on their occurrence in the upper 4 cm fraction of sediment. In Bourgneuf and Marennes-Oléron, from the total to available biomass the dominant mollusc species was P. ulvae being the highest available biomass at each study subsite. In North Collet, the contribution of P. ulvae increased from accessible to available biomass, since all individuals were available. When focusing on the available prey fraction, P. ulvae predominated at North Collet (74%), at South Collet (92%), at Moëze (79%) and at Oléron (97%) (Figure II.5). In contrast, from accessible to available stocks of prey, the contribution of S. plana and *M. balthica* decreased because of larger individuals being excluded. The gastropod R. obtusa was solely found in Bourgneuf. The contribution of R. obtusa increased from the total to accessible biomass and was the dominant species in North Collet (64%) because this gastropod was more abundant in the upper 4 cm fraction of the sediment. The contributions of worms H. diversicolor and N. hombergii increased from the total to accessible biomass and decreased from the accessible to available biomass in Bourgneuf and at Oléron only for H. diversicolor. The opposite was observed at Moëze. The highest proportion of N. hombergii (2%) was observed in the available biomass at Oléron.



Figure II.5: Comparison of the mean proportions of prey mollusc and annelid (AFDM.m⁻²) species between total, accessible and available biomasses against the Dunlin diet (mean percentage AFDM) at each study subsites: NCOL (North Collet), SCOL (South Collet), MO (Moëze) and OLE (Oléron) (AFDM: ash-free dry mass, Hdi: Hediste diversicolor, Nho: Nephtys Ret: Retusa hombergii, obtusa, Hyd: Peringia ulvae, Mac: Macoma balthica, Scr: Scrobicularia plana).

others Figure II.5 : Comparaison des proportions moyennes des espèces de proies, 🗆 Hdi mollusques et annélides (AFDM.m⁻²) entre ■ Nho les biomasses totale, accessible et disponible et le régime alimentaire du □ Ret bécasseau variable (pourcentage moyen ■ Hyd d'AFDM) sur chaque sous-site: NCOL (Nord Collet), SCOL (Sud Collet), MO Mac (Moëze) et OLE (Oléron) (AFDM: masse ⊠Scr sèche Hediste sans cendres, Hdi: diversicolor, Nho: Nephtys hombergii, Ret: Retusa obtusa, Hyd: Peringia ulvae, Mac: Macoma balthica, Scr: Scrobicularia plana).

Dunlin Diet

No remains of crustaceans have been found in the analysed faeces. Two bivalves, *M. balthica* and *S. plana*; one gastropod *P. ulvae*; and two annelids, *H. diversicolor* and *N. hombergii* constituted the bulk of the diet of Dunlin at both study sites. Each prey species contribution to the reconstructed diet from faeces in each study subsite is depicted in the bottom graph of figure II.5. The diet of Dunlins in the four study subsites differed significantly (Chi-squared test: df = 12, χ^2 = 21.026, *P* < 0.0001). At Bourgneuf and Oléron, the diet of Dunlin was dominated by the gastropod, *P. ulvae*, whereas Dunlins were specialized on worms at Moëze (50% *H. diversicolor* and 50% *N. hombergii*). At North Collet, Dunlins fed on *M. balthica* (26%), *S. plana* (5%), *H. diversicolor* (5%) and *N. hombergii* (2%). At South Collet and Oléron, the bivalves species, *S. plana* (38% and 14%, respectively) and *M. balthica* (17% and 40%, respectively) both predominated in the diet of Dunlins. The worm contribution (4%) was much lower than the mollusc one.

Quality of preys

The flesh-to-shell ratios of each main accessible prey mollusc averaged by size classes of 3 mm and for *P. ulvae* by size classes of 1 mm are compared figure II.6. Ratios differed among species (GLM $F_{2,4053} = 41.395$, *P* < 0.001) and size classes ($F_{17,4053} = 3.639$, *P* =0.009). On average *Peringia* showed a higher flesh-to-shell ratio (0.47 ± SD 0.17, *n* = 3320) than the other species. *Scrobicularia* and *Abra* were almost the highest quality prey with a ratio of 0.22 ± 0.16 (*n* = 408). *Macoma*, with a mean ratio of 0.05 ± 0.028 (*n* = 326), showed the lowest digestive quality value compared to the other species. Indeed, its digestive quality decreased with decreasing size (< 3 mm).



Figure II.6: Comparaison of ash-free dry-mass of the prey flesh (AFDM_{flesh}; mg), shell dry-mass (DM_{shell}; mg) and resulting flesh-to-shell ratio (i.e. an index of the prey's digestive quality) for each main available prey species of Dunlin (*Peringia ulvae*, *Macoma balthica*, *Scrobicularia plana / Abra tenuis*). Values at each site are averaged 3-mm size classes and for *P. ulvae* 1-mm size classes. Sample sizes are given for the different size-classes and species above the upper graphs. AFDM: ash-free dry mass.

Figure II.6: Comparaison de la masse sèche sans cendre de chair des proies (AFDM_{flesh}; mg), de la masse sèche de coquille (DM_{shell}; mg) et des ratios « flesh-toshell » en résultant (i.e. un indice de la qualité digestive des proies) pour chacune des principales espèces de proies disponibles pour le bécasseau variable (*Peringia ulvae, Macoma balthica, Scrobicularia plana /Abra tenuis*). Pour chaque site considéré, les valeurs ont été moyennées par classe de taille de 3mm et de 1 mm pour les *P. ulvae*. Les tailles des échantillons sont données pour les différentes espèces et classes de taille au-dessus des graphiques. AFDM : masse sèche sans cendres.

II.2.4 Discussion

By examining food availability and diet selection of overwintering Dunlins in two bays of the French Atlantic coast, this study highlighted a high heterogeneity in prey abundance and distribution between sites.

Since 1977, we identified a strong inter-annual variation in the abundance of shorebirds. The Dunlin C. alpina wintering along the French coast, with a mean of 312,000 individuals over the last fourteen years, represents 23% of the wintering shorebird population in Western Europe. Nevertheless, despite the 6,460 km of coast length, 50% of this total number is concentrated at only eight sites (Bocher et al., 2014a). About one third of the birds were located on sites bordering the North Sea and the Channel, while two thirds were distributed on the Atlantic coast. On the French Atlantic coast, the set of bays between Loire and Gironde estuary constitutes the first area for migrating and wintering Dunlins in France (Bocher et al., 2014a). Consequently, Bourgneuf Bay and Marennes-Oléron Bay appear to be important migrating and wintering sites in France for the whole distribution of the population. Indeed, the position of French bays in estuarine outlets might represent the closest wintering site of Dunlins (Bocher et al., 2014a) but also the use of these sites as stopovers for the Northern breeding populations. These neighbouring bays allow easy exchange of birds in the course of winter (Bocher et al., 2014a). In our two study sites, Dunlin numbers increased till the 1990s, but a slight decrease has been observed since the late 2000s (Figure II.2).

As was already shown for other knot species (Dekinga and Piersma, 1993; Quaintenne *et al.*, 2013), dropping analysis can be a good method for reconstructing the diet of Dunlin. In this study, we confirmed that Dunlins select their prey in a more opportunistic way than other specialized shorebirds (Dierschke *et al.*, 1999a; Long and Ralph, 2001; Elner *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2009). For example the longdistance migratory knot *Calidris canutus* feeds almost exclusively on marine molluscs (Piersma *et al.*, 1993b; Quaintenne *et al.*, 2013). At Bourgneuf Bay and Marennes-Oléron Bay, Dunlin was not selective and fed on diverse marine molluscs and polychaetes. The observed diet can be explained by the available abundance and digestive quality of prey, which showed considerable variability, depending on prey species and size. At both study sites, we showed that Dunlins had a diverse diet. Dunlins fed mainly on molluscs on three study subsites and exclusively on worms at Moëze as well as at other sites in Europe (Table II.3). This result was already observed at Moëze where a majority of Dunlins were worm-eaters mainly feeding on N. diversicolor or N. hombergii (Bocher et al., 2014b). The annelids constituted the dominant prey in Dunlins diet probably owing to their high nutritional and energetic values (Zwarts and Wanink, 1993) and digestive quality (Zwarts et al., 1996). But in our study sites, it is exclusively the case of Moëze. At Bourgneuf and Oléron, three major prey species predominated in the diet of Dunlin, Peringia ulvae, Scrobicularia plana and Macoma balthica, even though P. ulvae remained the most important prey species. Nephtys hombergii and Hediste diversicolor contributed to a lesser extent to the diet of Dunlin, except for Moëze, where they were exclusive in the reconstructed diet. Previous study showed that H. diversicolor, M. balthica and P. ulvae were presumed to be the preferred prey of Dunlins in Severn Estuary (Great-Britain) (Worral, 1984). These prey and the polychaete N. hombergii were also observed in droppings and stomach contents of Dunlins in the Wash (Yates et al., 1993) and in the Wadden Sea (Mouritsen, 1994; Folmer, 2012). Further South, in Portuguese estuaries of the Mondego (Cabral et al., 1999) and Tagus (Santos et al., 2005) Dunlins were feeding mainly on S. plana, P. ulvae and H. diversicolor. S. plana are very abundant in Bourgneuf Bay and siphons represented a significant percentage of the prey biomass taken by the wader and gull populations (Moreira, 1997). However, siphons do not leave identifiable remains in droppings, so the importance of S. plana in Dunlin diet could be probably underestimated in this study.

We also showed that the gastropod *R. obtusa* was solely found in the study sites of Bourgneuf Bay. As far as we know, *R. obtusa* is solely mentioned as part of the diet of Dunlins observed in the Humber and the Wash estuaries (Le V. dit Durell and Kelly, 1990; Yates *et al.*, 1993; Stillman *et al.*, 2005). We did not find any *R. obtusa* in Dunlin droppings whereas *Peringia ulvae* was very abundant (Worral, 1984; Mouritsen, 1994). *P. ulvae* is known to be a favorite prey for *R. obtusa* (Berry, 1988; Berry *et al.*, 1992). Therefore, areas with high density of *R. obtusa* might be forsaken by *P. ulvae* and these two species should be preyed upon by Dunlins but not associated in the droppings.

Although the inter-annual variation of the resource was not considered in this study, we observed that at three subsites out of four sites, the gastropod *P. ulvae* was very abundant. This very abundant prey (Bocher *et al.*, 2007) can represent an important food resource for Dunlins at sites along French Atlantic coast related with its wide

83

distribution and not with a selective feeding behaviour of the birds. However, *P. ulvae* might represent a safe, abundant and predictable stock of prey compared to stocks of buried bivalves, which can vary greatly in relation to recruitment success or burying depth from one winter to another (Reading and McGrorty, 1978; Beukema, 1982; Zwarts and Wanink, 1993; Quaintenne *et al.*, 2013).

Strong inter-annual variations in Dunlin numbers in the studied areas might be related to the variability of mollusc and polychaete prey stocks. Further investigation needs to be conducted in order to link the population dynamics of both prey and predators, and try to explain this strong inter-annual variation in the abundance of Dunlins observed along the French Atlantic coast.

Contenu synthétique de l'article

Dans cette étude, les sources d'alimentation accessibles et disponibles et la sélection alimentaire des bécasseaux variables Calidris alpina en période d'hivernage ont été décrites dans deux baies le long de la côte atlantique française : Bourgneuf et Marennes-Oléron. Nous avons étudié si la distribution des oiseaux limicoles était liée à la densité et à la disponibilité des proies les plus profitables pour eux. Les résultats obtenus ont montré de fortes variations dans l'abondance des bécasseaux variables entre 1976 et 2013, de considérables fluctuations depuis 1992 sans aucune tendance définie et que l'abondance en proies disponibles et leur sélection alimentaire dépendaient des sous-sites étudiés. En baies de Bourgneuf et de Marennes-Oléron, la communauté de proies était dominée par le petit gastéropode Peringia ulvae qui est la proie la plus abondante à l'exception d'un sous-site (Moëze). Dans les deux baies, les bécasseaux variables se sont alimentés principalement d'Peringia ulvae et de bivalves Scrobicularia plana et Macoma balthica. Les annélides polychètes Nephtys hombergii et Hediste diversicolor ont contribué dans une moindre mesure à leur régime alimentaire. Mais à Moëze, les bécasseaux variables ont sélectionné exclusivement les espèces d'annélides polychètes.

II.3. Étude de l'écologie trophique des bécasseaux variables à partir de l'observation de leurs contenus stomacaux

Cette partie du manuscrit fera également l'objet d'un article. Elle est donc présentée sous la même forme et comporte des redites au niveau des généralités et des matériels et méthodes.

II.3.1. Introduction

Les populations d'oiseaux limicoles sont en déclin à l'échelle de la planète (Wetlands International, 2012). Il est donc nécessaire de mettre en place des stratégies de conservation pour préserver ces espèces d'oiseaux. Mais pour cela, un élément indispensable est la compréhension de leur alimentation dans leurs habitats. Il est donc utile de mieux comprendre leur régime alimentaire dans leur milieu naturel (Piersma, 2006; Kuwae, 2007). Certains oiseaux limicoles présentent un comportement alimentaire qui peut être qualifié de plastique et sélectionnent leurs aliments de manière opportuniste en réponse à la disponibilité locale des proies (Skagen et Oman, 1996; Davis et Smith, 2001). Tout au long de leur cycle de migration, ils sont contraints de répondre à leurs besoins énergétiques journaliers en s'alimentant dans des habitats très variés. Ces oiseaux limicoles s'alimentent principalement de macroinvertébrés comme des polychètes, des mollusques, des crustacés et des insectes (e.g. Zwarts et al., 1990 ; Skagen et Oman, 1996). Mais il a été montré récemment que certains oiseaux limicoles, de petite taille, seraient capables de brouter le biofilm microphytobenthique (Kuwae et al., 2008; Mathot et al., 2010; Beninger et al., 2011; Kuwae et al., 2012; MacDonald et al., 2012; Quinn et Hamilton, 2012). Par exemple, Mathot et al. (2010) ont montré, à partir de l'analyse de contenus stomacaux de bécasseaux variables et de bécasseaux d'Alaska que ceux-ci contenaient plus de 40% de particules sédimentaires, de diatomées et de détritus organiques et seulement 25% d'invertébrés.

La Baie de Bourgneuf accueille des milliers d'oiseaux en hivernage chaque année, ce qui en fait un site d'importance internationale pour les oiseaux limicoles (Deceuninck et Mahéo, 2000 ; Mahéo et Le Dréan-Quénec'hdu, 2012 ; 2013 ; Bocher *et al.*, 2014a). Les bécasseaux variables représentent la majorité des effectifs présents dans la baie à la mi-janvier.

Après avoir reconstruit le régime alimentaire du bécasseau variable en hivernage en Baie de Bourgneuf par la méthode de l'analyse des fientes, nous avons étudié la composition de contenus stomacaux d'individus capturés de nuit sur estran. Cette seconde méthode apporte des informations sur leur alimentation de nuit par opposition à l'analyse des fientes qui nous informe sur leur alimentation de jour sur les vasières. D'autre part, la digestion étant en court, les différents composants du bol alimentaire peuvent être plus facilement identifiés et mesurés. En effet, l'observation des contenus stomacaux en microscopie optique permet de déterminer à la fois la nature des proies et le volume de sédiments ingérés (Barrett *et al.*, 2007). En utilisant cette méthode non destructive, il nous a été possible d'évaluer la contribution relative des proies et du sédiment au volume du contenu stomacal des bécasseaux variables. La part du biofilm a pu ainsi être également évaluée selon la méthode de Mathot *et al.* (2010).

II.3.2. Matériels et méthodes

Échantillonnage des oiseaux et prélèvement des contenus stomacaux

Des autorisations ont été obtenues auprès des préfectures de Loire-Atlantique (44) (dérogations relatives à des espèces N°58/2011 et N°23/2012) et de Vendée (85) (arrêté N°12/DDTM85/575-SERN-TNDL) pour capturer les oiseaux et prélever des échantillons biologiques. Les bécasseaux variables ont été capturés sur des reposoirs de marée haute (coefficient \approx 80) de septembre 2011 à mars 2013 durant des nuits sans lune, sans vent (< 30 km.h⁻¹), sans pluie avec une pression atmosphérique proche de 1000 hPa. Les campagnes d'échantillonnages ont été réparties sur deux périodes d'hivernage-début de migration pré-nuptiale (de septembre 2011 à mai 2012 et d'octobre 2012 à mars 2013) à raison d'une ou deux nuit(s) par mois. Les conditions météorologiques (pluies et vents) n'ont pas permis d'effectuer des sorties tous les mois. La première nuit de capture a été réalisée sur la Lagune du Dain (85), les suivantes sur le reposoir du Collet (Figure II.7). Les dispositifs de captures utilisés étaient des filets japonais mesurant chacun 12 mètres de long sur 2,5 mètres de haut et présentant des mailles de 16 mm ainsi que quatre poches longitudinales. Ces filets ont été déployés environ trois heures avant la marée haute à l'aide de perches sur environ 80 mètres de façon perpendiculaire à la mer pour que les oiseaux s'emmaillent en suivant le flot au bord de l'eau. Les filets étaient relevés toutes les 30 minutes jusqu'à l'heure de pleine mer. Différentes


mesures biométriques (masses des individus et tailles du bec, de l'aile et du tarse replié) ont été effectuées.

Figure II.7 : Situation géographique de la Baie de Bourgneuf, des sites de capture (\blacktriangle reposoir du Collet et \triangle lagune du Dain) et de prélèvements des proies du bécasseau variable (\diamondsuit La Coupelasse). Les parties en gris clair représentent la zone intertidale et les parties en noir les rochers.

Les contenus stomacaux ont été prélevés par une technique de régurgitation inspirée de celles de Zann et Straw (1983) pour les oiseaux granivores et de Martin et Hockey (1993) pour 14 espèces d'oiseaux limicoles ainsi que de Dierschke *et al.* (1999a) pour *Calidris alpina.* Une seringue munie d'une sonde en plastique de 4 mm de diamètre était insérée directement dans l'œsophage de l'oiseau jusqu'à son estomac. Ensuite, 10 ml d'eau distillée étaient injectés afin de provoquer la régurgitation des éléments contenus dans l'appareil gastrique (Martin et Hockey, 1993 ; Dierschke *et al.*, 1999a). L'utilisation d'eau de mer ou d'eau distillée ne semble entraîner aucune conséquence sur les prélèvements (Martin et Hockey, 1993). L'animal était retourné et le produit de sa régurgitation était collecté dans un pilulier ensuite stocké au frais. Une fois au laboratoire, la moitié de chaque contenu stomacal (Tableau II.4, n = 82) a été préservé dans du formol à 4% dilué dans de l'eau de mer (Wilson *et al.*, 1985 ; Ryan et Jackson, 1986 ; Martin et Hockey, 1993) (l'autre moitié étant utilisée dans d'autres analyses ; cf Chapitre III.3).

Mois	Période 1	Mois	Période 2
Septembre 2011	16	Octobre 2012	8
Janvier 2012	6	Novembre 2012	16
Mars 2012	2	Décembre 2012	7
Avril 2012	2	Janvier 2013	1
Mai 2012	20	Février 2013	2
		Mars 2013	2

Tableau II.4: Nombre de contenus stomacaux (n=82) prélevés lors des nuits de captures réalisées de septembre 2011 à mai 2012 (période 1, n=46) et d'octobre 2012 à mars 2013 (période 2, n=36).

Pour l'interprétation des résultats, les périodes de capture ont été divisées en fonction du cycle de migration des oiseaux limicoles dans la Baie de Bourgneuf et des prélèvements réalisés. La période 1 a été divisée en trois phases: post-nuptiale (septembre 2011), hivernage des oiseaux dans la baie (janvier 2012) et pré-nuptiale (mars, avril et mai 2012). La période 2 a été divisée en : post-nuptiale (octobre et novembre 2012) et hivernage (décembre à mars 2013) considérant le peu d'échantillons obtenus durant l'hiver 2012/13. En phase post-nuptiale, les oiseaux arrivent de leurs sites de nidification situés au nord de l'Europe, font seulement une escale dans la Baie au cours de leur migration vers le sud ou y hivernent. En phase pré-nuptiale, les oiseaux se préparent pour leur départ de la baie ou sont uniquement en halte migratoire vers leurs sites de nidification.

Échantillonnage et traitement de proies potentielles du bécasseau variable en Baie de Bourgneuf

Afin de reconstituer le régime alimentaire des bécasseaux variables à partir des fragments présents dans les contenus stomacaux, des relations allométriques entre la taille entière des proies connues pour être présentes dans leur régime alimentaire et des détails de leur morphologie ont été déterminées. La macrofaune reconnue comme proie potentielle du bécasseau variable à partir des données de la littérature (Tableau I.3) a été échantillonnée manuellement au tamis (1 mm de maille) sur la vasière de La Coupelasse (Figure II.7) en septembre 2012. Les prélèvements ont été réalisés dans les premiers centimètres de vase précédant la zone anoxique et accessibles par le bec de l'oiseau. Les différentes espèces récoltées ont été placées dans des piluliers pour être déterminées et analysées ultérieurement au laboratoire.

Afin de construire les relations allométriques (Tableau II.5), différentes mesures ont été prises sur les organismes entiers (Figure II.8):

- la largeur du 10^{ième} sétigère (WS10) chez *Nephtys hombergii* (annélide polychète) (Figure II.8A),

- la L3 ou la longueur du prostomium, du péristomium et du 1er sétigère de *Hediste diversicolor* (annélide polychète) (Figure II.8B) (Gillet, 1990),

- la taille de la charnière (de l'apex au bord des dents) de *Macoma balthica* (L_{charnière}) (Figure II.8C),

- la taille du premier tour de spire de Peringia ulvae (L_{tour de spires}) (Figure II.8D).



Figure II.8 : Localisations et mesures réalisées sur les organismes entiers prélevés à La Coupelasse. A : *Nephtys hombergii* avec localisation de la WS10, B : *Hediste diversicolor* avec localisation de la L3, C : valves de *Macoma balthica* avec les mesures de la taille de la charnière, D : *Peringia ulvae* avec la mesure du premier tour de spire.

Les individus prélevés ont ensuite été placés dans un bain de pepsine porcine et d'acide chlorhydrique comme décrit dans Scheiffarth (2001). Cette technique a été utilisée afin de simuler la digestion des organismes de façon accélérée. Elle permet de récupérer uniquement les « parties dures » qui sont les seuls restes observables dans les régurgitations. Il s'agit des mâchoires et des dents des annélides polychètes, des charnières des bivalves et des restes de coquilles pour les gastéropodes. Les longueurs maximales (a) des dents de *Nepthys hombergii* (L_{dent}) ont été mesurées (Figure II.9A). Les mâchoires de *Hediste diversicolor* (L_{mâchoire})

observées dans les différents échantillons ont été mesurées de la dent proximale à l'extrémité distale de la mâchoire (b) (Figure II.9B). En ce qui concerne les mollusques, les largeurs des charnières de *Macoma balthica* ont été considérées (cf Figure II.8C) et le premier tour de spire a été mesuré sur les restes d'*Peringia ulvae* comme pour les individus entiers (cf Figure II.8D).



Figure II.9 : A : Dent de *Nephtys hombergii* (a : longueur maximale), B : mâchoire de *Hediste diversicolor* (b : mesure de la dent proximale à l'extrémité distale) observées au microscope.

Tableau II.5: Relation entre les différents éléments retrouvés (en mm) dans les contenus stomacaux et les longueurs totales (Ltot) de chaque espèce de proies observées ($L_{machoire}$ = longueur de la dent proximale à l'extrémité distale de la mâchoire, L_{dent} = longueur maximale de la dent, $L_{charnière}$ = longueur de l'apex au bord des dents de la charnière, $L_{tour de spire}$ = longueur du premier tour de spire).

Espèces	Régressions	R ²	n
Hediste diversicolor	$L3 = 0,9415 * L_{machoire}^{0,273}$	0,50	33
	Log(Ltot) = 1,5 + 1,42 * Log(L3)	0,93	15
Nephtys hombergii	WS10 = 0,2496 * $e^{(0,2862 * L_{dent})}$	0,74	27
	Log(Ltot) = 1,45 + 1,04 * Log(WS10)	0,70	97
Macoma balthica	Ltot = 16,365 * L _{charnière} ^{10,8627}	0,96	29
Peringia ulvae	$Ltot = 2,068 * 1^{er} L_{tour de spire} - 0,5372$	0,86	48

Analyse des contenus stomacaux par la méthode des points

La contribution volumétrique des contenus a été estimée en utilisant la méthode des points (Swynnerton et Worthington, 1940; Mathot *et al.*, 2010). Cette technique présente des avantages par rapport aux autres méthodes de quantification des contenus stomacaux (comme la pesée des proies). En effet, cette méthode est simple et les résultats ne sont pas influencés par la présence de nombreux petits organismes ou de proies de masse importante (Hynes, 1950). La moitié de chaque

contenu stomacal a été placée dans une cuve de Dollfus qui comprend 200 cellules de 5 mm de côté ; la moitié de ces cellules a été observée à la loupe binoculaire (grossissement x30). Trois catégories ont été considérées : les invertébrés, les sédiments et les « Autres » qui comprenaient à la fois des débris de macroalgues et de phanérogames. À la manière de Mathot *et al.* (2010), un nombre de points est attribué en fonction de la contribution de chaque élément (fragment de proies, grains de sédiment, débris végétaux) au volume total : ce nombre correspond au nombre d'éléments dans chaque cellule. La somme de la contribution volumétrique de chaque élément a été rapportée au volume initial en multipliant par quatre afin d'obtenir la contribution volumétrique de chaque élément à l'ensemble du contenu stomacal.

Les fragments des parties non digérables, comme par exemple les mâchoires de polychètes et les charnières de bivalves, ont été utilisés pour identifier les proies incomplètes jusqu'au plus bas niveau taxonomique possible (Hayward et Ryland, 1995). Chaque pièce a également été photographiée et mesurée à l'aide du logiciel d'analyse et de traitement d'images LUCIA G[®]. Tous les contenus stomacaux ont été analysés par le même observateur. Enfin, une estimation de la quantité de grains de sédiment a été effectuée par comptage à la loupe binoculaire.

Analyses statistiques

Après vérification de la normalité des données et de l'hétérogénéité de la variance, des ANOVA à deux facteurs ont été utilisées pour tester les différences de régimes alimentaires entre les deux périodes de captures et entre les phases de la migration.

II.3.3. Résultats

Contributions des catégories dominantes des contenus stomacaux

Les proies invertébrées représentaient $18,8 \pm 6,0$ à $55,6 \pm 21,9$ % du volume stomacal des bécasseaux variables capturés en Baie de Bourgneuf (Tableau II.6). Les invertébrés identifiés appartenaient majoritairement à deux clades : les mollusques avec les bivalves (*Macoma balthica* et *Scrobicularia plana*) et les gastéropodes (*Peringia ulvae*), et les annélides polychètes (*Hediste diversicolor* et *Nephtys hombergii*).

Tableau II.6 : Contributions volumétriques moyennes (% points ± E.T.¹) des différents éléments présents dans les contenus stomacaux de bécasseaux variables échantillonnés en Baie de Bourgneuf (France) entre septembre 2011 et mai 2012 (période 1) et entre octobre 2012 et mai 2013 (période 2).

			Contribution volumétrique (moyenne ± E.C. ¹)								
			Invertébrés								
			Sédiment	Annélides Mollusques			Tatal	Autres ²			
Période	Phase de migration	Ν		Hediste	Nephtys	Total	bivalves	gastéropodes	Total	lotal	
	Post-nuptiale	16	53,3 ± 9,1	7,6 ± 3,9	2,3 ± 1,7	9,9 ± 5,1	31,0 ± 7,0	$0,8 \pm 0,5$	31,8 ± 7,0	44,7 ± 9,4	2,0 ± 1,1
Période 1	Hivernage	6	44,0 ± 21,8	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	55,6 ± 21,9	$0,2 \pm 0,1$	55,8 ± 21,9	55,6 ± 21,9	$0,4 \pm 0,3$
	Pré-nuptiale	24	71,1 ± 5,9	0,6 ± 0,2	1,1 ± 0,3	1,7 ± 0,3	16,7 ± 6,2	0,5 ± 0,1	17,2 ± 6,2	18,8 ± 6,0	10,1 ± 1,3
Dáriada 2	Post-nuptiale	24	42,3 ± 5,1	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,1	52,6 ± 5,5	$0,4 \pm 0,2$	$53,0 \pm 5,4$	53,5 ± 5,3	$4,2 \pm 0,4$
Periode 2	Hivernage	12	37,4 ± 10,0	0,2 ± 0,1	0 ± 0	0,2 ± 0,1	62,3 ± 10,0	0 ± 0	62,3 ± 10,0	52,6 ± 10,0	10,0 ± 2,2

¹ E.T. : Écart-type ² Autres : Fragments de macroalgues et de phanérogames

Les mollusques représentaient la contribution la plus importante au cours des deux périodes de capture. Parmi ceux-ci les bivalves étaient majoritaires, représentant jusqu'à 62,3% (Tableau II.6). Les annélides, quant à eux, participaient pour presque 10% aux contenus stomacaux lors de la première période, en phase post-nuptiale, mais ne dépassaient pas autrement les 1,7%. La nature des invertébrés composant le régime alimentaire des bécasseaux variables diffèrait entre les périodes et entre les phases de migration (Tableau II.7, Figure II.10). La contribution des mollusques à la composition du régime alimentaire des oiseaux variait de façon significative entre les différentes phases (F_{1, 77} = 3,96 ; P = 0,023). La contribution des annélides à la composition du régime alimentaire des oiseaux variait de façon hautement significative entre les deux périodes (F_{1, 77} = 13,06 ; P < 0,001) et de façon significative entre les différentes phases de migration (F_{1, 77} = 3,87 ; P = 0,025).

Tableau II.7: Résultats statistiques des ANOVA pour les contributions relatives des mollusques et des annélides dans les invertébrés ingérés par les bécasseaux variables en fonction de la période et de la phase de migration (ddl : degré de liberté, SCE : somme des carrés des écarts, F : statistique de Fisher, P : probabilité, ns : non significatif, * significatif à P<0,05, ** hautement significatif à P<0,01).

	ddl	SCE	F	Р	
Source de variation : In (proportion annélides +1)					
Période	1	29.77	13.06	<0.001	**
Phase de migration	2	17.67	3.87	0.025	*
Résiduelle	77	175.48			
Source de variation : In (proportion mollusques +1)					
Période	1	0.88	0.41	0.52	ns
Phase de migration	2	17.05	3.96	0.023	*
Résiduelle	77	165.58			



Figure II.10 : Contribution des mollusques, des annélides et des «Autres» au volume stomacal occupé par les invertébrés chez les bécasseaux variables capturés en Baie de Bourgneuf. La catégorie « Autres » inclut des foraminifères, des nématodes et des fragments d'invertébrés non identifiés.

À leur arrivée et en période de départ vers leurs sites de reproduction, le composant majeur des contenus stomacaux des bécasseaux variables était le sédiment (respectivement 53,3% et 71,1%) comprenant des particules minérales, des débris de macroalgues et des détritus organiques. Mais pendant la phase d'hivernage des deux périodes et pendant la phase post-nuptiale de la période 2, le sédiment représentait moins de 50% des contenus stomacaux des oiseaux capturés.

Il n'y avait pas de différence significative entre les proportions de sédiment dans les contenus stomacaux des oiseaux dans la baie entre les deux périodes d'une part (P = 0,58) et les différentes phases d'autre part (P = 0,37).

Classes de taille des proies ingérées par le bécasseau variable

À partir des restes observés dans les contenus stomacaux et des relations allométriques respectives (Tableau II.5), les tailles des proies du bécasseau variable ont été déterminées.



Figure II.11 : Distribution des classes de tailles des annélides polychètes *Hediste diversicolor* (n=65) dans les contenus stomacaux des bécasseaux variables capturés en Baie de Bourgneuf.

Pour les annélides polychètes (Figure II.11), la taille moyenne des *Hediste diversicolor* ingérés par les oiseaux était de $21,1 \pm 0,2$ mm et celle des *Nephtys hombergii* (n=5) de 6,7 ± 0,0 mm. Les « restes durs » observés dans les contenus stomacaux montraient que les annélides *Hediste diversicolor* ingérés par les bécasseaux variables mesuraient entre 14 et 29 mm (Figure II.11). Les individus de 20 mm étaient les plus fréquents. Les restes des *Nephtys hombergii* observés dans les contenus stomacaux correspondaient à des individus dont la taille était inférieure à celle des *H. diversicolor*. Tous les individus ingérés mesuraient 6 mm.



Figure II.12 : Distribution des classes de tailles des mollusques : *Peringia ulvae* (n=20) et *Macoma balthica* (n=68), dans les contenus stomacaux des bécasseaux variables capturés en Baie de Bourgneuf.

En ce qui concernait les mollusques (Figure II.12), la taille moyenne des *Peringia ulvae* ingérées par les oiseaux étaient de 0,97 \pm 0,2 mm et celle des *Macoma balthica* de 5,9 \pm 2,9 mm. Les bécasseaux variables avaient ingéré des petites hydrobies dont la taille variait de 0 à 2 mm et dont la majorité avait une taille inférieure à 1 mm (Figure II.12). La taille des *Macoma balthica* ingérés variait de 2 à 14 mm et les plus fréquemment retrouvés dans les contenus stomacaux des oiseaux avaient une taille comprise entre 3 et 4 mm (Figure II.12).

II.3.4. Discussion

L'observation des contenus stomacaux a fourni des informations sur le régime alimentaire des bécasseaux variables en alimentation de nuit sur les vasières intertidales de la Baie de Bourgneuf. Martin et Hockey (1993) avaient précédemment conclu que la méthode de régurgitation par lavage était suffisamment représentative pour donner de bonnes indications sur l'importance relative de chaque type de proie. La méthode de reconstitution du régime alimentaire à partir des contenus stomacaux a donné des résultats similaires à celle des fientes traitées précédemment (Chapitre II.2). Dans les deux cas, les mollusques et les annélides polychètes dominent dans l'alimentation du bécasseau variable. Trois proies, Hediste diversicolor, Macoma balthica et Peringia ulvae, avaient déjà été identifiées comme majeures dans le régime alimentaire du bécasseau variable dans l'estuaire du Severn (Worrall, 1984). En Baie de Bourgneuf, Nephtys hombergii est aussi présente. Les bivalves apparaissent comme ses principales proies dans la baie durant les deux périodes de capture (de septembre 2011 à mai 2012 et d'octobre 2012 à mars 2013) et aux différentes phases (post-nuptiale, hivernage dans la baie et pré-nuptiale). Au contraire, les hydrobies P. ulvae connues pour leur contribution importante à son alimentation en Baie de Bourgneuf (Drouet et al., en préparation b) (II.2.) ne dominent pas dans les contenus stomacaux. Les régurgitations étant réalisées sur des individus dont le temps de digestion est très court (entre 15 et 20 minutes (Lifjeld, 1983)) et capturés de nuit à marée montante, les contenus stomacaux reflètent ce qu'ils ont mangé récemment sur les vasières pendant la nuit. Il a été montré que le comportement alimentaire du bécasseau variable était différent le jour par rapport à la nuit (Mouritsen, 1994). Cet oiseau utiliserait préférentiellement le picorage en journée, et le sondage la nuit, ce qui se traduirait par l'ingestion de proies de natures différentes.

Nos résultats montrent que la taille des *N. hombergii* ingérés par le bécasseau variable en Baie de Bourgneuf est bien en-dessous de celle des *N. hombergii* ingérés par ce même oiseau en mer des Wadden (jusqu'à 60 mm) (Folmer, 2012). Les annélides *H. diversicolor* ingérés par le bécasseau variable mesurent entre 15 et 29 mm en Baie de Bourgneuf. Cette gamme de taille concorde avec celle observée pour les *H. diversicolor* ingérés par le bécasseau variable de l'estuaire du Tage - Portugal (9,1 - 66,4 mm) (Santos *et al.*, 2005). De même, la taille (inférieure à 2 mm)

97

des hydrobies ingérées en Baie de Bourgneuf est semblable à celle des hydrobies ingérées dans le même estuaire (de 0,8 à 3,4 mm - Santos *et al.*, 2005). La même observation a été faite concernant la gamme de taille des bivalves *M. balthica* (de 2 à 14 mm) ingérés en Baie de Bourgneuf, proche elle aussi de celle des bivalves *Scrobicularia plana* (de 2,3 à 12,4 mm) (Santos *et al.*, 2005).

D'autre part, des modifications dans le comportement des proies s'observent en fonction de la saison, elles diminuent leur activité avec la chute de la température du substrat (Dierschke et al., 1999a). Durant les mois d'hiver, ces changements de comportements peuvent modifier la composition du régime alimentaire de certains oiseaux limicoles comme le chevalier gambette *Tringa totanus* (Goss-Custard, 1969) et la barge rousse Limosa lapponica (Smith, 1975) mais également celui du bécasseau variable Calidris alpina (Worrall, 1984). En effet, dans la présente étude, des variations dans les contributions des invertébrés ingérés par les bécasseaux variables sont observées entre les phases de migration traitées au cours de l'année. Dans l'estuaire de la Severn, bien que H. diversicolor soit la proie la plus ingérée quelle que soit la saison, la contribution de *P. ulvae* augmente en milieu d'hiver (Worrall, 1984). Dans la présente étude nous observons aussi une variation de la composition du régime alimentaire du bécasseau variable au cours des différentes phases, donc des saisons. En Baie de Bourgneuf, les mollusques sont majoritaires dans la composition du régime alimentaire tout au long de l'année et plus particulièrement en phase d'hivernage. Cependant, nous pouvons noter que durant la première période de capture, la contribution des annélides est plus élevée en phase pré-nuptiale traduisant peut-être un régime alimentaire différent avant de quitter la Baie de Bourgneuf. Ceci peut s'expliquer par leur besoin d'accumuler des réserves importantes en préparation de leur migration vers le Nord. Les annélides ont une valeur énergétique plus élevée, l'absence de coquille facilitant leur ingestion et leur digestion par les oiseaux.

Systématiquement, l'estomac des bécasseaux variables contenait du sédiment. La proportion de celui-ci était inférieure ou égale à 50% du volume stomacal total sauf en phase pré-nuptiale lorsque les oiseaux limicoles quittent la Baie de Bourgneuf pour leurs sites de nidification. Lors de cette phase, des bécasseaux variables, hivernant plus au Sud, seulement de passage dans la baie sur leur voie de migration, ont pu être capturés. Alors, leur contenu stomacal ne reflétait pas forcément celui des oiseaux ayant passé tout l'hiver dans la baie. Comme précisé

98

dans Mathot *et al.* (2010), cette quantité de sédiment, ne donnant aucun apport nutritionnel aux oiseaux, n'a que très rarement été prise en compte dans les études précédentes sur les contenus stomacaux du bécasseau variable (Bengston et Svensson, 1968). Au Canada, Mathot *et al.* (2010) ont montré que le sédiment (> 40%) était le composant majoritaire du volume stomacal du bécasseau variable (invertébrés < 25%) et pouvait être utilisé comme un indice d'ingestion du microphytobenthos par broutage du biofilm. Dans la présente étude, nous avons observé des pourcentages comparables (de 37,4 et 71,1% en fonction des différentes phases). Cette étude a donc confirmé la nature et la dominance des proies dans le régime alimentaire des bécasseaux variables en Baie de Bourgneuf et la présence d'une part importante de sédiment (particules minérales, débris de microalgues et détritus organiques) dans leurs contenus stomacaux.

II.4. Conclusion

Malgré des fluctuations d'effectif notables depuis le début des années 1990, les baies de Bourgneuf et Marennes-Oléron sont parmi les plus importants sites de migration et d'hivernage sur la côte atlantique française pour le bécasseau variable (Bocher *et al.*, 2014a). Ce chapitre a permis de mieux comprendre pourquoi ces deux baies attirent autant d'oiseaux limicoles en hivernage. En effet, la richesse en macrofaune présente au niveau des vasières intertidales explique l'attractivité de ces deux baies.

Les résultats de ce chapitre, relatifs au comportement de sélection alimentaire du bécasseau variable, ont pu être comparés à ceux précédemment synthétisés dans le chapitre I pour d'autres sites d'Europe de l'Ouest. Le bécasseau variable est connu pour son comportement alimentaire flexible et opportuniste en réponse à la disponibilité locale des proies (Skagen et Oman, 1996 ; Dierschke *et al.,* 1999a ; Davis et Smith, 2001 ; Long et Ralph, 2001 ; Elner *et al.,* 2005 ; Santos *et al.,* 2005 ; Bocher *et al.,* 2014b). L'analyse des fientes et des contenus stomacaux a montré que les mollusques et les annélides polychètes présents en forte biomasse dans les deux baies étudiées dominent leur alimentation.

À partir de l'analyse de fécès, le régime alimentaire du bécasseau variable a été reconstruit et comparé aux stocks de proies disponibles et accessibles en baies de Bourgneuf et de Marennes-Oléron. Les abondances en macrofaune benthique disponible et accessible déterminées sur les deux sites prospectés ont montré que les hydrobies représentent les plus importantes biomasses sur les deux sites. Ce petit gastéropode est un composant majeur de l'alimentation du bécasseau variable suivi par les bivalves, Macoma balthica et Scrobicularia plana. Les annélides polychètes, Hediste diversicolor et Nephtys hombergii, participent soit minoritairement, soit au contraire entièrement et exclusivement à leur alimentation.

Si l'analyse des fragments observés dans les contenus stomacaux de bécasseaux variables capturés en Baie de Bourgneuf a confirmé la nature de leurs proies dominantes. La reconstitution de leur régime alimentaire a cependant montré des divergences dans les proportions de chacune des proies retrouvées. En effet, les bivalves semblent dominer tout au long de la période d'hivernage alors que les hydrobies n'ont qu'une place minime dans les régurgitations. Ces différences seraient à mettre en relation avec le moment de la journée pendant lequel les

101

prélèvements de fientes et de contenus stomacaux ont été effectués. Les fientes ont été collectées de jour sur les vasières intertidales en même temps que les carottes de sédiment. Les contenus stomacaux ont été obtenus par régurgitation d'oiseaux capturés de nuit. Or, comme déjà signalé plus haut, plusieurs études mettent en évidence des différences dans le comportement alimentaire de différentes espèces d'oiseaux limicoles entre le jour et la nuit (Robert et McNeil, 1989 ; Mouritsen, 1994 ; McNeil et Rompre, 1995 ; Dodd et Colwell, 1996 ; 1998 ; Rojas *et al.*, 1999ab ; Sitters *et al.*, 2001 ; Kuwae, 2007).

Dans les mêmes conditions, en hiver, d'autres études montrent que les oiseaux limicoles passent plus de temps à s'alimenter (Goss-Custard, 1969; Puttick, 1979; Baker, 1981; Pienkowski, 1982; Maron et Myers, 1985). L'hiver, sur certains sites, à cause des courtes journées rencontrées aux latitudes tempérées, les oiseaux limicoles sont aussi obligés de s'alimenter de nuit pour satisfaire leurs besoins énergétiques (Goss-Custard, 1969 ; Goss-Custard et al., 1977 ; Evans, 1987). Mais sur d'autres sites, ce n'est pas le cas, comme par exemple dans le Nord de la Baie de Humbolt en Californie (Dodd et Colwell, 1998). La part de l'alimentation nocturne n'est donc pas la même pour toutes les espèces d'oiseaux limicoles. Le bécasseau variable utilise préférentiellement le sondage pendant la nuit et passe probablement d'un mode de recherche alimentaire visuel en journée à un mode tactile la nuit (Mouritsen, 1994). Une augmentation de l'activité de surface des invertébrés benthiques dont les polychètes Nereis spp. a été observée de nuit (Dugan, 1981; Evans, 1987 ; Last et Olive, 1999 ; 2004), alors que *P. ulvae* est moins active de nuit et s'enfoncerait dans les trois premiers centimètres du substrat (Goss-Custard, 1969). Ceci pourrait expliquer la faible proportion d'hydrobies retrouvées dans les contenus stomacaux et les différences observées dans la reconstitution du régime alimentaire par rapport aux résultats obtenus à partir de l'analyse des fientes.

La reconstitution du régime alimentaire des bécasseaux variables à partir des contenus stomacaux nous a permis de mettre en évidence ses variations au cours de l'année. Ce résultat pourrait être confirmé par l'étude de la variabilité des stocks de macrofaune en Baie de Bourgneuf au cours des saisons.

Notre étude montre aussi que le sédiment n'est généralement pas majoritaire en volume dans l'estomac du bécasseau variable capturé de nuit en Baie de Bourgneuf. Cependant les contributions observées sont du même ordre de grandeur que celles observées par Mathot *et al.* (2010) en Colombie Britannique ce qui permet de

102

supposer que le broutage du biofilm fait partie du comportement alimentaire du bécasseau variable en Baie de Bourgneuf. Mais cette dernière étude a été réalisée sur des oiseaux tués en journée sur les vasières. Les deux méthodes indirectes utilisées, de reconstitution à partir des restes digestifs, ne donnent qu'une image instantanée du régime alimentaire du bécasseau variable en Baie de Bourgneuf. D'autres méthodes d'évaluation plus intégratives du régime alimentaire peuvent être

utilisées pour étudier le comportement alimentaire du bécasseau variable et préciser la place du microphytobenthos. C'est pourquoi dans le chapitre suivant, nous nous sommes tout d'abord intéressés à l'utilisation spatiale des vasières intertidales de la Baie de Bourgneuf par le bécasseau variable en relation avec la présence d'importantes biomasses de microphytobenthos et d'invertébrés benthiques. Puis nous avons utilisé le traçage des isotopes stables naturels du carbone et de l'azote pour positionner le microphytobenthos par rapport aux autres sources d'alimentations potentielles du bécasseau variable durant son séjour dans la Baie de Bourgneuf.

Chapitre III. Comportement trophique du bécasseau variable sur les vasières intertidales de la Baie de Bourgneuf : relation avec la présence de microphytobenthos

III.1. Introduction

Les écosystèmes côtiers turbides sont caractérisés par de larges étendues de vasières intertidales et une production macrophytique et phytoplanctonique limitée. Les caractéristiques propres aux vasières intertidales favorisent la formation de biofilms à leur surface, constitués de microorganismes eucaryotes unicellulaires photosynthétiques et de cyanobactéries se développant dans une matrice mucilagineuse, appelés microphytobenthos (MacIntyre et al., 1996). La présence de ce biofilm microphytobenthique induit leur classement parmi les écosystèmes marins les plus productifs avec une production primaire pouvant dépasser 300 g C.m⁻².an⁻¹ et les place à la base de nombreuses chaînes trophiques marines (MacIntyre et al., 1996; Underwood et Kromkamp, 1999). Les habitats pélagiques et benthiques interagissent par des procédés physiques, tels la sédimentation et la remise en suspension des particules, qui influencent le comportement des organismes (Blanchard et al., 1998) ainsi que les relations trophiques entre faune benthique et pélagique. Les sédiments vaseux fournissent ainsi un habitat pour une abondante biomasse de macrofaune benthique. Les invertébrés benthiques de ces zones intertidales constituent un important lien dans les flux d'énergie entre les producteurs primaires et les grands consommateurs de l'ichthyofaune benthique et de l'avifaune limicole (McDermott, 1983; Baird et al., 1985; Reise, 1985; DeLancey, 1989; Edgar et Shaw, 1995).

La préservation des vasières intertidales représente donc un intérêt écologique majeur pour les populations locales dépendantes des écosystèmes côtiers mais aussi pour des espèces d'oiseaux limicoles les occupant seulement une partie de l'année. En hivernage sur nos côtes, ils se nourrissent par picorage et sondage du sédiment (Sutherland *et al.*, 2000) principalement de poissons, de végétaux et surtout de macro- et méiofaune benthiques présents au niveau des vasières intertidales (Worral, 1984 ; Colwell et Landrum, 1993). La distribution des oiseaux limicoles dans les baies a souvent été corrélée positivement avec celle de leurs espèces de proies benthiques (Colwell et Landrum, 1993 ; Yates *et al.*, 1993 ; Kaletja et Hockey, 1994 ; Ribeiro *et al.*, 2004 ; Spruzen *et al.*, 2008 ; Quaintenne *et al.*, 2011 ; 2013). La relation entre les densités de proies et de bécasseaux variables en alimentation a déjà été mise en évidence dans cette thèse le long du littoral atlantique français, en baies de Bourgneuf et de Marennes-Oléron (Drouet *et al.*, en

107

préparation b, Chapitre II). Cependant la découverte d'un nouveau mode d'alimentation chez le bécasseau d'Alaska (*Calidris mauri*): le broutage du biofilm microphytobenthique, bouleverse la place de ces oiseaux dans les chaînes trophiques, en les plaçant comme consommateurs de producteurs primaires (Kuwae *et al.*, 2008 ; 2012; Beninger *et al.*, 2011). Le comportement alimentaire de ces oiseaux sur leur halte de migration et leur zone d'hivernage n'est donc pas encore complètement résolu.

Comprendre comment les animaux sélectionnent leur habitat est une donnée fondamentale qui permettra la préservation de ces habitats et la conservation des espèces qui les fréquentent (Jonzén, 2008). Les oiseaux limicoles sélectionnent leurs sites d'hivernage ou de migration en fonction de la disponibilité des proies mais aussi de la sécurité des reposoirs et du faible dérangement (Myers et al., 1980 ; Ens et al., 1990 ; 1992 ; 1994). Le comportement alimentaire des oiseaux limicoles est influencé par les saisons (Goss-Custard et al., 1977; Zwarts et al., 1990; Piersma et al., 1994), la marée (Burger et al., 1977; Connors et al., 1981; Engelmoer, 1982; Burger, 1984 ; Piersma et al., 1993a ; Hötker, 1995 dans Ntiamoa-Baidu et al., 1998) et les perturbations anthropiques (Burger et Gochfeld, 1991; Koolhaas et al., 1993). La distribution spatiale des oiseaux limicoles au niveau d'un site particulier dépend de facteurs biotiques tels que les compétitions inter- ou intra-spécifiques (Goss-Custard et al., 2002) et de facteurs abiotiques, tels que la nature du sédiment (Myers et al., 1980; Grant, 1984), la distance entre la zone d'alimentation et le reposoir (Dias et al., 2006a), ou encore les dérangements anthropiques (Triplet et al., 1999). Connaître la distribution des oiseaux limicoles dans leur habitat est donc un élément important à prendre en compte pour mieux comprendre leur comportement alimentaire.

L'alimentation restant l'exigence principale pour la survie d'un animal, l'accessibilité aux sources de nourriture et leur disponibilité sont des critères importants dans le choix d'un habitat (Piersma, 2006). Le régime alimentaire du bécasseau variable varie en fonction des proies accessibles et disponibles dans son habitat (Drouet *et al.*, en préparation b, Chapitre 2). Il sélectionne ses aliments de manière opportuniste et il est capable de s'alimenter dans des habitats très variés, aussi bien terrestres que côtiers. En Baie de Bourgneuf, aucune étude sur le régime alimentaire du bécasseau variable n'avait encore été menée avant cette thèse. Pour déterminer son

108

régime alimentaire, nous avons utilisé le traçage des isotopes stables naturels du carbone et de l'azote.

En effet, le suivi des déviations des rapports isotopiques des isotopes stables du carbone (¹³C/¹²C) et de l'azote (¹⁵N/¹⁴N) a un large éventail d'applications en écologie (Peterson et Fry, 1987; Rundel et al., 1989; Kelly, 2000; Michener et Lajtha, 2008; Wolfsberg et al., 2010), et l'une d'elles est l'écologie trophique des animaux sauvages. L'analyse isotopique est utilisée en écologie animale depuis les années 70 et son utilisation pour l'étude des oiseaux sauvages et des mammifères n'a cessé d'augmenter depuis. Les rapports isotopiques du carbone sont utilisés pour déterminer les sources d'alimentation des consommateurs, à cause de la relation étroite entre le ratio ¹³C/¹²C des sources alimentaires et celui des consommateurs (DeNiro et Epstein, 1978; 1981). Les ratios ¹⁵N/¹⁴N sont appliqués dans l'investigation de la structure des réseaux trophiques, en raison d'un enrichissement grand et constant en ¹⁵N entre chaque niveau trophique (DeNiro et Epstein, 1981; Minagawa et Wada, 1984). Ce type d'analyse, utilisé couramment pour identifier les sources de nourriture des animaux à partir de la composition isotopique de leurs tissus, permet de prendre en compte l'assimilation réelle sur une période connue. En effet, le temps de renouvellement isotopique des tissus des consommateurs varie en fonction du taux métabolique propre à chaque tissu (Tieszen et al., 1983). L'analyse des isotopes stables permet d'intégrer des informations sur différentes périodes de temps (e.g. jours, semaines, mois, années - Hobson et Clark, 1992). L'évaluation des variations temporelles et géographiques dans les régimes trophiques des oiseaux côtiers par la méthode des isotopes stables représente une avancée significative dans l'utilisation de ces oiseaux comme « bio-indicateur » de l'état de santé des écosystèmes marins (Hobson et al., 1994). L'analyse de l'ensemble des maillons du réseau trophique permet de retracer l'itinéraire du carbone et de l'azote des producteurs primaires aux prédateurs supérieurs et ainsi de reconstituer le réseau trophique à différentes échelles de temps.

Le premier objectif de ce troisième chapitre est la compréhension du mode d'utilisation des vasières intertidales de la Baie de Bourgneuf par le bécasseau variable à marée basse. Pour l'atteindre, la distribution spatiale du bécasseau a été étudiée sur deux sites (Lyarne et La Coupelasse) présentant deux types de biofilms microphytobenthiques différents. Nous avons effectué des comptages d'oiseaux limicoles mensuellement de novembre 2011 à mai 2012 et d'octobre 2012 à mai 2013. L'article accepté dans le journal "Journal of Ornithology" s'intitule : "Utilisation of intertidal mudflats by the Dunlin, *Calidris alpina*, in relation to microphytobenthos biofilms". Il traite de l'influence des mois, de la marée descendante, de la macrofaune et du type d'assemblage microphytobenthique sur la répartition de *Calidris alpina* en hivernage sur deux sites de la Baie de Bourgneuf.

Le deuxième objectif de ce chapitre est la caractérisation du régime alimentaire du bécasseau variable sur les vasières de la Baie de Bourgneuf grâce à la comparaison des déviations isotopiques de ses sources d'alimentation potentielles, avec celles de ses compartiments biologiques (tissus ou organes), puis avec celles de ses contenus stomacaux.

III.2. Utilisation of intertidal mudflats by the Dunlin, *Calidris alpina*, in relation to microphytobenthos biofilms

Sigrid Drouet, Vincent Turpin, Laurent Godet, Bruno Cognie, Richard P. Cosson Priscilla Decottignies

Article publié dans le journal "Journal of Ornithology" 156: 75-83 (2015)

Abstract

The small-scale spatial distribution of Dunlin *Calidris alpina* staging and wintering in Bourgneuf Bay (France) was investigated on two different mudflats colonized by either epipsammic or epipelic dominated microphytobenthos assemblages. Shorebird counts were conducted monthly at ebb tide from November 2011 to May 2012 and from October 2012 to May 2013. Multiple linear regressions followed by hierarchical partitioning of variance showed that microphytobenthos biomass was not a significant factor to explain Dunlin densities. However, on epipelic dominated mudflats, Dunlins did not show their typical "tide follower" behaviour and instead significantly selected the highest microphytobenthos biomass zones. Studying the influence of biomasses of putative macrofauna preys, a negative significant relation was found between the biomass of a gastropod, *Retusa obtusa* and Dunlin densities. This paper provides an addition to the emerging field of biofilm feeding in small shorebird species.

III.2.1. Introduction

Intertidal mudflats are major feeding areas for staging and wintering shorebirds (e.g. Smit and Piersma, 1989; Van de Kam et al., 2004). Their cyclic exposure allows predictable access to food resources (Burger, 1984; Colwell, 1993; Zwarts and Wanink, 1993). At certain times of the year, shorebirds can be several tens of thousands to feed on the same mudflat ecosystem. Thus, even if there are very few studies on that topic, they obviously play an important role in food web fluxes (Moreira, 1997). They are typically considered as predators of benthic macroinvertebrates (e.g. Yates et al., 1993; Dierschke et al., 1999a; Rosa et al., 2007; Jing et al., 2007). However, the discovery that small sandpipers can feed by grazing microphytobenthos biofilms questioned the position of shorebirds in food webs and highlighted missing direct trophic links between small sandpipers and microphytobenthos (Kuwae et al., 2008; Mathot et al., 2010; Beninger et al., 2011; Kuwae et al., 2012, Quinn and Hamilton, 2012). Despite phylogenetic data suggesting that biofilm feeding by shorebirds is widespread on intertidal mudflat ecosystems (Kuwae et al., 2012), this phenomenon remains poorly understood. For example, Beninger et al. (2011) demonstrated that a downward trophic shift occurs in the Western Sandpiper *Calidris mauri* during breeding migration: they do not use biofilms as their main food source throughout their distribution range.

Individuals of shorebird species adjust their foraging behaviour from one location to another according to environmental variations, e.g. prey abundance, prey size or sediment characteristics (e.g. Baker and Baker, 1973; Van de Kam *et al.*, 2004; Dias *et al.*, 2009; Kuwae *et al.*, 2010). Moreover, the distribution of feeding shorebirds on intertidal areas is positively correlated with the density and/or availability of their preys (e.g. Meire and Kuyken, 1984; Yates *et al.*, 1993; Finn *et al.*, 2008). Shorebird behaviour and foraging habitat are dependent on tidal variations: their use of intertidal areas changes in response to the moving water line (e.g. Burger *et al.*, 1977; Nehls and Tiedemann, 1993; Burton *et al.*, 2004; Van de Kam *et al.*, 2004; Dias *et al.*, 2006b; Granadeiro *et al.*, 2006; Rosa *et al.*, 2007). A good knowledge of their use of intertidal areas from a large scale (wintering, stopover and breeding sites) to a small one (intertidal feeding areas within a site) is required for their management and their conservation within the flyways (Nehls and Tiedemann, 1993; Moreira *et al.*, 2001; Puersma, 2002).

Bourgneuf Bay is located at a central position on the East-Atlantic flyway (Delany *et al.*, 2009) and is a site of international importance for migrant or wintering shorebirds in France (Deceuninck and Mahéo, 2000; Mahéo and Le Dréan-Quénec'hdu, 2012). The most abundant wader in this site is the Dunlin *Calidris alpina*, which is one of the most abundant shorebird species in the world and the most abundant of the flyway (Smit and Piersma, 1989; Van de Kam *et al.*, 2004; Delany *et al.*, 2009). This species displays a great flexibility in foraging behaviour (Baker and Baker, 1973; Dierschke *et al.*, 1999a; Kuwae *et al.*, 2010; 2012). They select opportunistically a variety of benthic macroinvertebrates (for references see Nehls and Tiedeman, 1993; Dierschke *et al.*, 2012). However, nothing is known about their feeding ecology in Bourgneuf Bay.

Bourgneuf Bay is colonized by high biomasses of diatom dominated microphytobenthos biofilms which are permanently present on the intertidal areas (Méléder *et al.*, 2005; 2013). These biofilms represent a significant part of primary consumer diets (Decottignies *et al.*, 2007). This ecosystem is also characterized by the occurrence of two distinct microphytobenthos assemblages (Méléder *et al.*, 2003,

2005; 2007; 2013). The first one consists of epipelic diatoms which grow on muddy sediments and migrate vertically at low tide (e.g. Jesus *et al.*, 2009). They form brownish biofilms at the mudflat surface and are available as food resource to grazers, e.g. mullets or mudsnails (e.g. Cartaxana *et al.*, 2003; Carpentier *et al.*, 2014). Conversely, the second assemblage is dominated by small epipsammic diatoms which grow in mixed sediments (muddy-sandy to sandy-muddy) and are fixed to sediment particles that precludes their migration to the mudflat surface (e.g. Jesus *et al.*, 2009). Bourgneuf Bay therefore appears as a relevant site to investigate any eventual correlation between microphytobenthos and Dunlin distributions. In the present study, we assessed Dunlin use of intertidal mudflats at a site

dominated by epipsammic diatoms and a site dominated by epipelic diatoms. We examined if microphytobenthos and/or macrofauna availability can explain Dunlin distribution with respect to tidal and seasonal changes.

III.2.2. Materials and methods

Study sites

Bourgneuf Bay is situated along the French Atlantic coast (46°53'- 47°08' N, 1°55'- 2°23' W), south of the Loire estuary. The total surface area is 340 km², of which 100 km² are intertidal mudflats.

Satellite image analysis has shown that the microphytobenthos spatial structure did not vary in this bay for more than three decades (1986-2011 - Méléder *et al.*, 2013). Shorebird counts and macrofauna sampling were performed on Lyarne and La Coupelasse mudflats, both strongly colonized by microphytobenthos (Figure III.1). Lyarne sediments are mixed (muddy-sandy to sandy-muddy) and dominated by epipsammic diatoms, whereas the La Coupelasse sediments are muddy and mostly covered by epipelic dominated microphytobenthos biofilms (Méléder *et al.*, 2003; 2005; 2013).



Figure III.1: Location of the two studied mudflats in Bourgneuf Bay: \diamond Lyarne (epipsammic dominated microphytobenthos) and \blacklozenge La Coupelasse (epipelic dominated microphytobenthos). Grey shading: intertidal flats; black shading: rocky substrates.

Figure III.1 : Localisation des deux vasières étudiées dans la Baie de Bourgneuf: \diamond Lyarne (les espèces épipsammiques dominent le microphytobenthos) et \blacklozenge La Coupelasse (les espèces épipeliques dominent le microphytobenthos). Les parties en gris clair représentent la zone intertidale et les parties en noir les rochers.

Spatial estimation of the microphytobenthos biomass

Analysis of microphytobenthos spatial distribution was performed using SPOT satellite imagery acquired March 28, 2013 (Figure III.2). Atmospheric corrections were done using the ENVI 4.7 FLAASH module integrating the MODRAN4 atmospheric model. Microphytobenthos biomass was estimated using the Normalized Difference Vegetation Index (NDVI; Tucker, 1979) calculated in calibrated reflectance images (R), using red (R_{red} : 610-680 nm) and near-infrared (R_{NIR} : 780-890 nm) SPOT spectral bands: NDVI = (R_{NIR} - R_{red})/(R_{NIR} + R_{red}). In Bourgneuf Bay, previous microphytobenthos mappings established that this index differentiates well macrophytes from microalgae using radiometric threshold values between 0 and 0.3 (Méléder *et al.*, 2003). Low NDVI values (<0.15) correspond to a low microphytobenthos biomass.



Figure III.2: Delimitation of the six counting zones at Lyarne (epipsammic dominated microphytobenthos) and La Coupelasse (epipelic dominated microphytobenthos) mudflats. In the field, counting zones were materialized by plastic poles. A, B, and C: three bathymetric belts with low (1) or high (2) microphytobenthos biomasses. Blue lines stand for bathymetric levels. The Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) is used as a proxy of the microphytobenthos biomass. Green dots: macrofauna sampling stations considered on a systematic sampling grid (250 m intervals - 174 points).

Figure III.2 : Délimitation des six zones de comptages sur les vasières de Lyarne (les espèces épipsammiques dominent le microphytobenthos) et de La Coupelasse (les espèces épipéliques dominent le microphytobenthos). Sur le terrain, les zones de comptages ont été matérialisées avec des piquets en plastique. A, B, et C indiquent les trois ceintures bathymétriques présentant de faibles (1) ou de fortes (2) biomasses microphytobenthiques. Les lignes bleues représentent les niveaux bathymétriques. L'indice de végétation normalisé (NDVI) est utilisé comme un proxy de la biomasse microphytobenthique. Les points verts représentent les stations d'échantillonnage de la macrofaune considérées sur une grille d'échantillonnage systématique (intervalles de 250 m - 174 points).

Dunlin counts on mudflats at ebb tide

Dunlin counts were performed monthly at neap tides from November 2011 to May 2012 and from October 2012 to May 2013. In order to assess the tidal variations in their spatial distribution, birds were counted at each site on three bathymetric belts (A, B and C) divided in two parts (low (1) and high (2) microphytobenthos biomass), which makes a total of six counting zones per site (Figure III.2). These counting zones were delineated with plastic poles of different colors. The total monitored areas

accounted for almost 0.6 km² at Lyarne and 0.3 km² at La Coupelasse. Counts began at ebb tide, when the upper bathymetric belt was fully exposed, and lasted for five hours with 1 h intervals between each. All counts were performed under favorable weather conditions (no rain, mist or fog), sufficient brightness (between 10 AM and 5 PM) and by the same observer with an x30 Kite sp-ED-80 telescope. In front of each mudflat area, the viewpoint was located far enough to avoid any bird disturbance. The activities of Dunlin (feeding or other) were recorded. The observed bird numbers were expressed as individuals per km² (density).

Spatial distribution of the benthic macrofauna biomass

Benthic macrofauna was sampled in December 2011 at 41 stations (Figure III.2) using a systematic sampling grid (250 m intervals - 174 stations) which allowed to describe food availability and diet selection (Drouet et al., in preparation). Most stations were sampled on foot at low tide (56%) and the others by boat during high tide. At each station sampled on foot, one sediment core of 15 cm of diameter and 20 to 25 cm of depth was collected. The upper 4 cm was separated from the rest of the core to select accessible preys for Dunlin (Van Gils and Piersma, 2004). The two parts were then separately sieved using a 1 mm square mesh. The mudsnail, Peringia ulvae, a small gastropod which is abundant on these mudflats, was also sampled by taking an additional core of 7 cm of diameter at 4 cm depth and sieved with a 0.5 mm square mesh. At the stations sampled by boat, two sediment cores of 10 cm and 25 to 40 cm of depth were collected. One core was sieved with a 1 mm square mesh and the other with a 0.5 mm square mesh for sampling mudsnails. The collected material was stored in plastic bags and frozen at -20°C for further analysis, except worms that were immediately fixed and stored in plastic tubes with 70° alcohol. At the laboratory, molluscs and annelids were identified to species level, counted and measured (maximum length) to the nearest millimeter. The ash-free dry mass of mollusc flesh (separated from its shell) was determined with a precision of 0.1 mg. To take into account damaged annelids (due to manipulation and sieving), various individual measurements (width or anterior segment length) allowed to establish allometric relationships between the body length or width and biomass of corresponding individual. In this study, only the most representative species of the macrofauna community (occurrence > 1%) were considered.

Statistical analyses

To determine if the presence of Dunlin differed between both sites (Lyarne and La Couplasse) and between both counting periods (2011-2012 and 2012-2013), a Twoway ANOVA was conducted with Dunlin density using SigmaStat 3.1 software. Data normality and equal variance were tested (p<0.05) before carrying out the Two-way ANOVA.

For each 1 h count, we have also calculated a spatial selection rate 'y' as follow: y = (observed number – theoretical number) / theoretical number (Godet *et al.*, 2009). The theoretical numbers were obtained from the total number of counted birds throughout the whole area and the surface area (as percentage of the total surface) of each habitat (low or high microphytobenthos biomass), following the hypothesis of a perfectly homogeneous spatial distribution of individuals, such as: theoretical number = total number × (% of surface area with low or high microphytobenthos biomass). 'y' is positive when birds are present in higher numbers than expected, and conversely. 'y'-values were compared between sites by using a mixed model analysis of variance (ANOVA) with the software R 3.0.2 including the lme4 1.0-5 package which considers counting as a random factor and habitat as a fixed factor. This model was applied to the data of the two sites pooled together and then successively to each site.

Lastly, multiple linear regressions followed by hierarchical partitioning of variance (MacNally, 2000) were used to assess microphytobenthos and benthic macrofauna respective contributions species to Dunlin presence (R 3.0.2 with the package hier.part 1.0-4). This was done for the two sites pooled together and for each site. Maximum Dunlin densities during the months of November, December and January for each of the six zones of each site were used as dependent variables and microphytobenthos biomass and the most abundant benthic macrofauna species were used as independent variables.

III.2.3. Results

Dunlin distribution on intertidal mudflats

Dunlin densities (Figure III.3) showed no statistical difference between the two sites for the same counting period (P=0.578, F=0.318, 2-way ANOVA), but showed a significant statistical difference between counting periods (P<0.001, F=15.926, Two-way ANOVA). Holm-Sidak *a posteriori* test showed significant differences in Lyarne and La Coupelasse Dunlin densities between counting periods (2011-2012 vs. 2012-2013: t=3.221, p=0.004 and t=2.423, p=0.023, respectively). Dunlin densities were three times higher during the second period (2012-2013) than during the first one (2011-2012 - Figure III.3).



Figure III.3: Dunlin *Calidris alpina* densities on Lyarne (epipsammic dominated microphytobenthos) and La Coupelasse (epipelic dominated microphytobenthos) mudflats during the two counting periods (2011-2012 and 2012-2013).

Figure III.3 : Densités de bécasseaux variables *Calidris alpina* sur les vasières de Lyarne (les espèces épipsammiques dominent le microphytobenthos) et de La Coupelasse (les espèces épipeliques dominent le microphytobenthos) sur les deux périodes de comptage (2011-2012 et 2012-2013).



Figure III.4: Variations of mean Dunlin *Calidris alpina* densities during ebb and low tide on the three bathymetric belts (A, B and C) of the two studied mudflats, Lyarne (epipsammic dominated microphytobenthos) and La Coupelasse (epipelic dominated microphytobenthos). Belt A is the nearest to the shoreline and belt C the furthest. The error bars stand for confidence intervals (95%). LT: Low tide.

Figure III.4 : Variations des densités moyennes de bécasseaux variables *Calidris alpina* pendant la marée descendante et à marée basse sur les trois ceintures bathymétriques (A, B et C) des deux vasières étudiées, Lyarne (les espèces épipsammiques dominent le microphytobenthos) et La Coupelasse (les espèces épipeliques dominent le microphytobenthos). La ceinture A est la plus proche de la côte et la ceinture C la plus éloignée. Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance. LT: marée basse.

All individuals observed during counts were foraging regardless of the site or the tidal cycle time. At Lyarne a higher ratio of Dunlins left the highest bathymetric belt (A) during the first observation hour, i.e. 37% of the initial number vs. 7% (Lyarne and La Coupelasse, respectively – Figure III.4). Conversely, the highest ratio of Dunlin which left the bathymetric belt A during the second hour of observation was observed at La

Coupelasse (82% vs. 43%). This massive departure coincided with the arrival of oyster farmers and fishermen. At the beginning of the third hour, belt A was used by less than 50% of the number present at the first count. Generally, when the number of birds in the belt A decreased, it increased in area B before falling. In belt C, density increased from the moment it was uncovered by the tide until the end of counting. However, in La Coupelasse the majority of the birds (>60%) were still using belt A and B at the fourth and fifth hours. Throughout the emersion period total bird numbers decreased by a factor of 2.0 and 3.5 at Lyarne and La Coupelasse, respectively.

Influence of the microphytobenthos distribution on Dunlin spatial distribution

Spatial selection rates did not show any Dunlin preference for zones with low or high microphytobenthos biomasses when data from both sites were pooled (y, $t_{386} = -1.61$, P = 0.11, Figure III.5). However, when analysing the sites separately, Dunlins at La Coupelasse significantly selected high microphytobenthos biomass zones (y, $t_{188} = -2.16$, P = 0.032 - Table III.1 and Figure III.5) whereas at Lyarne they did not show any preference.

Table III.1: Results of the mixed model analysis of variance (ANOVA) for the comparisons between spatial selection rates ('y') by habitat (low or high microphytobenthos biomass). df: degree of freedom; *t*: t-test value; *P*: p-value.

Tableau III.1 : Taux de sélection spatiale ('y') comparés	s par le modèle mixte d'analyse de variance
(ANOVA) à l'habitat considéré (faible ou forte biomasse r	microphytobenthique). Df : degrés de liberté ;
t : valeur du test t ; P : p-valeur.	

Sites	Factor	df	t	Р
Both sites	Habitat	386	-1.61	0.11 (ns)
Lyarne	Habitat	198	1.52	0.13 (ns)
La Coupelasse	Habitat	188	-2.16	0.032 (★)



Figure III.5: Mean spatial selection rate (*y*) of habitat by Dunlin *Calidris alpina* either considering the two sites together or each site separately. The spatial selection rates were compared by mixed model analysis of variance (ANOVA). Low MPB and high MPB: low and high microphytobenthos biomass, respectively; ns: no significant difference; \star : significant difference (P < 0.05). Vertical bars represent the confidence intervals (95%).

Figure III.5 : Taux de sélection spatiale ('y') moyen de l'habitat par les bécasseaux variables *Calidris alpina*, en tenant compte des deux sites réunis et de chacun des deux sites séparément. Les taux de sélection spatiale ont été comparés par le modèle mixte d'analyse de variance (ANOVA). Low MPB : faible biomasse microphytobenthique ; high MPB : forte biomasse microphytobenthique ; ns : pas de différence significative ; \star : différence significative (P < 0,05). Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance (95%).

Influence of microphytobenthos and benthic macrofauna biomasses on Dunlin spatial distribution

Multiple linear regressions did not detect positive relationship between available macrofauna biomass and Dunlin density (Figure III.6). However, when considering both sites together, *Retusa obtusa* biomasses significantly explained almost 40% of total variance, i.e. *R. obtusa* biomass was inversely related to that of Dunlins (38%, Z score = 1.59, P < 0.05).



Figure III.6: Contribution (%) of macrofauna species and microphytobenthos biomasses in the relative Dunlin *Calidris alpina* density at both sites, Lyarne (epipsammic dominated microphytobenthos) and La Coupelasse (epipelic dominated microphytobenthos). Multiple linear regressions followed by hierarchical partitioning of variance were used. The grey bar indicates that there was a significant difference (P < 0.05), while black bars, indicate no differences (P > 0.05). Mac: *Macoma balthica*; Scr: *Scrobicularia plana;* Hyd: *Peringia ulvae*; Ret: *Retusa obtuse*; Hed: *Hediste diversicolor*, Nep: *Nephtys hombergii*; MPB: microphytobenthos.

Figure III.6 : Contribution (%) des biomasses de macrofaune et de microphytobenthos à la densité relative de bécasseaux variables *Calidris alpina* observée pour les deux sites réunis, pour Lyarne (les espèces épipsammiques dominent le microphytobenthos) et pour La Coupelasse (les espèces épipéliques dominent le microphytobenthos). Des régressions linéaires multiples suivies de partitionnement hiérarchique de la variance ont été utilisées. La barre grise indique qu'il existe une différence significative (P < 0.05), alors que pour les barres noires, non (P > 0.05). Mac : *Macoma balthica* ; Scr : *Scrobicularia plana* ; Hyd : *Peringia ulvae* ; Ret : *Retusa obtusa* ; Hed : *Hediste diversicolor* ; Nep : *Nephtys hombergii* ; MPB : microphytobenthos.
III.2.4. Discussion

During our study, a difference in Dunlin numbers was observed between the two successive periods, with three times less Dunlin per km² during the first period (2011-2012). The inter-annual variation of Dunlin density in Bourgneuf Bay was higher than what was previously reported in France (Deceuninck and Mahéo, 2000; Mahéo and Le Dréan-Quénec'hdu, 2012). The low temperatures recorded in January and February 2012 (18 days below 0°C for both months, reaching -8°C) could explain such a difference. Mudflats remained frozen during this cold snap, limiting food availability to shorebirds (Zwarts and Wanink, 1993) and increasing their energy requirements (Kelly *et al.*, 2002). This is known to trigger the departure of shorebirds from usual wintering sites towards more southern ones. However, the phenology of their migration observed during our study was in accordance with data reported at national scale by Bocher *et al.* (2014a).

Shorebirds rest on roosts at high tide and feed on mudflats at low tide (Piersma et al., 1993; Van de Kam et al., 2004; Van Gils et al., 2006). Intertidal areas are not exploited homogeneously in time and space by shorebirds which adjust their foraging to maximize their food intake (e.g. Zwarts and Wanink, 1993; Kuwae et al., 2010). Shorebirds are known to be abundant on mudflats for the 6 hour period around low tide, as long as these mudflats remain emerged (Burger et al., 1977). However, we showed a decreased Dunlin frequency on both study sites during ebb tides. This is probably linked with their dispersion over the entire mudflats of Bourgneuf Bay similarly to was noticed by Le Dréan-Quénec'hdu et al. (1995) in Mont Saint-Michel Bay. Furthermore, numerous studies showed that emerged habitats are more or less attractive to different species of shorebirds, depending on prey availability, physical nature of the substrate and tidal cycle time (e.g. Burger et al., 1977; Meire and Kuyken, 1984; Yates et al., 1993; Nehls and Tiedemann, 1993; Burton et al., 2004; Dias et al., 2006b; Granadeiro et al., 2006; Rosa et al., 2007; Finn et al., 2008). Dunlin is typically defined as a "follower" which intensively uses the intertidal area during the relatively brief phase of tidal passage, i.e. during the tidal cycle, Dunlins follow the water and feed near the tidal line (Nehls and Tiedemann ,1993; Dierschke et al., 1999a; Burton et al., 2004; Dias et al., 2006b; Granadeiro et al., 2006). This zone is assumed to be attractive to Dunlins due to the presence of easily penetrable sediment offering more active and harvestable preys (Kelsey and Hassall, 1989;

Mouritsen and Jensen, 1992; Rosa *et al.*, 2007). Results from the mudflat colonized by epipsammic dominated microphytobenthos (Lyarne) are consistent with this way of using the exposed mudflat. However, the most frequently used bathymetric belt on the epipelic dominated mudflat was not the one recently exposed by the ebb tide. Instead, in La Coupelasse, Dunlins lingered in the belts exposed after several hours, despite the disturbance induced by oyster farmers and fishermen in this site.

On this mudflat, Dunlins significantly selected the zone covered by high microphytobenthos biomass. Burton (1974) reported that Dunlins localize their preys by probing tests but also by visual search. Since epipelic dominated biofilms exhibit a strong golden-brownish coloration at the sediment surface, it is possible that the biofilm colour works as a visual clue in Dunlin feeding behaviour. Microphytobenthos biofilm grazing has been described in several Calidrinae species including Dunlin (Kuwae et al., 2008; Mathot et al., 2010; Beninger et al., 2011; Kuwae et al., 2012; Quinn and Hamilton, 2012) and can contribute up to ca. 25% to the diet of Dunlin at the Boundary Bay intertidal sandflat (BC, Canada - Kuwae et al., 2012). Thus, microphytobenthos distribution could partially explain Dunlin distribution on Bourgneuf Bay mudflats being a direct food source. Additionaly, microphytobenthos biomass can be an important factor structuring the macrobenthic communities (Van der Wal et al., 2008). Therefore, Dunlins could be attracted by the biofilm colour which indirectly could be an indication of high macrofauna biomass. However, our study only detected a negative relationship between the densities of the small gastropod mollusc Retusa obtusa and Dunlin densities in Bourgneuf Bay. Unlike specialized shorebirds such as Calidris canutus which only feed on marine molluscs (Van Gils et al., 2005) Dunlins select their food in a more opportunistic way (Dierschke et al., 1999a). Their dietary flexibility at global and local scales allows them exploiting different wetland habitats during their migration, e.g. coastal intertidal habitats, rocky shores or lands with unpredictable feeding conditions and highly diverse preys (Skagen and Oman, 1996; Dierschke et al., 1999a; Davis and Smith, 2001). As far as we know, *R. obtusa* is only mentioned as part of Dunlin diet in the Wash Estuary (Le V. dit Durell and Kelly, 1990; Yates et al., 1993). We also did not find any *R. obtusa* in Dunlin stomachs or droppings whereas *Peringia ulvae* was very abundant (Drouet et al., in preparation and unpublished data). P. ulvae is known to be a favorite prey of *R. obtusa* (Berry et al., 1992), thus, in zones where *R. obtusa* is

abundant, *P. ulvae* will be greatly subject to predation. Therefore, these zones could be less attractive to Dunlin.

Our study supports that the use of intertidal mudflats by shorebirds varies greatly in time and space. We suggest that the spatial distribution of Dunlin on the mudflats of Bourgneuf Bay is related partly to the development of different types of microphytobenthic biofilms.

Contenu synthétique de l'article

Nous avons étudié la distribution spatiale à marée basse du bécasseau variable *Calidris alpina* en hivernage et/ou de passage dans la Baie de Bourgneuf, sur deux vasières colonisées par des assemblages microphytobenthiques différents (l'une dominée par un assemblage épipélique et l'autre dominée par un assemblage épipsammique). L'influence des mois de comptages, du moment au cours de la marée descendante. de la macrofaune et du type d'assemblage microphytobenthique sur la distribution spatiale à petite échelle du bécasseau variable a été évaluée. Pour cette étude, des comptages d'oiseaux limicoles ont été réalisés mensuellement à marée descendante de novembre 2011 à mai 2012 et d'octobre 2012 à mai 2013 sur ces deux vasières. Les comptages mettent en évidence que les plus fortes abondances d'oiseaux sont observées en décembre et janvier. Les régressions linéaires multiples suivies de partitionnement hiérarchique de la variance ont montré que la biomasse de microphytobenthos n'était pas un facteur expliquant significativement les densités de bécasseaux variables observées. Toutefois, sur la vasière dominée par du microphytobenthos épipélique, le bécasseau variable n'a pas, comme à son habitude, suivi la ligne d'eau lors du jusant mais a privilégié la zone où les biomasses de microphytobenthos étaient les plus importantes. Ceci n'a pas été observé sur la vasière dominée par du microphytobenthos épipsammique. En étudiant l'influence des biomasses de la macrofaune, comprenant ses proies présumées, une unique relation négative a été trouvée entre la biomasse d'une espèce de la macrofaune, un petit gastéropode, Retusa obtusa et la densité de bécasseau variable. L'article présenté ci-dessus complète les investigations récentes menées sur la place du biofilm dans l'alimentation des petites espèces d'oiseaux limicoles.

III.3. Étude du régime alimentaire du bécasseau variable en Baie de Bourgneuf par l'analyse des isotopes stables du carbone et de l'azote

Cette partie du manuscrit fera également l'objet d'un article. Elle est donc présentée sous la même forme et comporte des redites au niveau des généralités et des matériels et méthodes.

III.3.1. Introduction

Les vasières intertidales sont des zones de productivité primaire élevée (Colijn et de Jonge, 1984 ; de Jonge et Colijn, 1994). Elles sont fréquentées par de nombreuses espèces d'oiseaux limicoles, notamment en tant qu'étapes au cours de leurs longues migrations (Piersma et Jukema, 1990). Les oiseaux limicoles migrateurs sont des consommateurs importants de la production marine côtière au niveau de ces vasières intertidales où leurs densités peuvent être considérables (Butler *et al.*, 1987 ; Mawhinney *et al.*, 1993). Les oiseaux limicoles sont ainsi des indicateurs importants du statut environnemental de ce type d'écosystème (Piersma et Lindström, 2004 ; Huettmann et Czech, 2006).

Les bécasseaux du genre *Calidris* se nourrissent dans les zones humides et les habitats aquatiques peu profonds de leurs aires de reproduction dans les latitudes sub-polaires et de leurs zones d'hivernage qui se situent le long des côtes tempérées à tropicales (Alerstam, 1990; Wilson, 1994). Le bécasseau variable *Calidris alpina* est un oiseau limicole qui utilise les côtes françaises comme site d'hivernage ou seulement comme halte migratoire durant leur migration (Greenwood, 1984 ; Bocher *et al.*, 2014a). Il se nourrit principalement de végétaux, de méiofaune benthique et surtout de macrofaune (annélides, bivalves, gastéropodes et crustacés) présents au niveau des vasières intertidales (Worral, 1984 ; Eldridge, 1992 ; Colwell et Landrum, 1993 ; Yates *et al.*, 1993 ; Jing *et al.*, 2007). À ceci, de récents travaux ajoutent le biofilm microphytobenthique (Elner *et al.*, 2015 ; Kuwae *et al.*, 2008 ; 2010 ; 2012 ; Mathot *et al.*, 2010 ; Beninger *et al.*, 2011 ; MacDonald *et al.*, 2012 ; Quinn et Hamilton, 2012).

La Baie de Bourgneuf, écosystème côtier turbide, située au sud de l'estuaire de la Loire, présente une forte biomasse en microphytobenthos. Cette Baie accueille chaque hiver entre 12 000 et 13 000 bécasseaux variables (Bocher *et al.*, 2014a). La situation de la Baie, qui à marée basse est une immense vasière, en fait une zone

d'alimentation privilégiée pour les bécasseaux variables qui affectionnent particulièrement les vasières intertidales en sortie d'estuaire (Mahéo *et al.,* 2002).

Différentes méthodes indirectes comme l'analyse des fientes ou des contenus stomacaux sont couramment utilisées pour décrire les régimes alimentaires et contribuer à définir les niches trophiques (Colwell, 2010). Ce type d'analyse a été illustré dans le chapitre précédent. Une autre approche indirecte complémentaire à ces méthodes a été utilisée. Il s'agit de l'analyse de marqueurs trophiques dans les tissus des consommateurs et de leurs proies (Layman *et al.*, 2012).

Le principe de cette technique repose sur l'existence d'une relation étroite entre les déviations des rapports des isotopes stables du carbone (¹³C/¹²C) et de l'azote (¹⁵N/¹⁴N) chez les consommateurs et celles de leur nourriture (De Niro et Epstein, 1978 ; 1981). Les déviations isotopiques des producteurs primaires (phytoplancton, microphytobenthos, macroalgues, phanérogames, végétaux terrestres...) sont conservées au cours des processus de transfert entre les différents maillons du réseau trophique et de dégradation, avec un enrichissement prévisible. Celui-ci est de l'ordre de 1‰ pour le carbone et de 2 à 5‰ pour l'azote (De Niro et Epstein, 1978 ; Kelly, 2000). La variation de la déviation du ¹³C renseigne sur l'origine du carbone présent dans les protéines de l'organisme étudié. La déviation isotopique du ¹⁵N fournit un bon outil de comparaison du niveau trophique relatif des différents consommateurs vivants dans un même écosystème. L'étude des déviations des isotopes stables du carbone et de l'azote apporte aussi des informations sur une échelle de temps plus ou moins grande selon la vitesse de renouvellement des protéines cellulaires des tissus analysés. Il est donc possible d'obtenir des informations sur le régime alimentaire des organismes étudiés sur des périodes allant de plusieurs jours à plusieurs semaines (Hobson et Clark, 1992). Chez les oiseaux, cette méthode permet de déterminer rétrospectivement leur régime alimentaire sur différents sites fréquentés lors de leur migration (e.g. Dalerum et Angerbjörn 2005 ; Podlesak et al., 2005 ; Beninger et al., 2011) et d'éventuels changements lors de celle-ci (Rubenstein et Hobson, 2004).

Dans notre étude, le régime alimentaire du bécasseau variable présent en Baie de Bourgneuf en hivernage ou en migration a été étudié à l'aide du traçage des isotopes stables naturels du carbone et de l'azote. Une attention toute particulière a été portée à la participation du microphytobenthos dans celui-ci. Des bécasseaux variables ont été capturés, leurs contenus stomacaux et du sang (hématies et plasma) leur ont été

128

prélevés ainsi que, en cas de mort accidentelle lors de la capture, différents tissus (muscles pectoraux, foie et reins).

III.3.2. Matériels et Méthodes

Échantillonnage effectué sur les oiseaux

Des autorisations ont été obtenues auprès des préfectures de Loire-Atlantique (44) (dérogations relatives à des espèces N°58/2011 et N°23/2012) et de Vendée (85) (arrêté N°12/DDTM85/575-SERN-TNDL) pour capturer les oiseaux et prélever des échantillons biologiques. Les oiseaux ont été capturés à marée montante (coefficient \approx 80), alors qu'ils regagnaient des reposoirs. Les campagnes d'échantillonnages ont été réparties sur deux périodes d'hivernage (de septembre 2011 à mai 2012 et d'octobre 2012 à mars 2013) à raison d'une ou deux nuit(s) par mois, étant donné qu'elles devaient être des nuits sans lune, sans vent (< 30 km.h⁻¹), sans pluie avec une pression atmosphérique proche de 1000 hPa. Les conditions météorologiques (pluies et vents) n'ont pas permis de capturer des oiseaux à chaque sortie et même certaine fois d'effectuer les sorties (Tableau III.2). La première nuit de capture a été réalisée sur la Lagune du Dain (85), les suivantes sur le reposoir du Collet (Figure III.7).

Dates de	Nombre de bécasseaux	
capitiles	valiables captules	
28/09/2011	34	
28/01/2012	12	
24/03/2012	4	
22/04/2012	2	
19/05/2012	21	
15/10/2012	8	
12/11/2012	16	
10/12/2012	8	
09/01/2013	1	
09/02/2013	2	
09/03/2013	2	
Totaux	109	

Tableau III.2 : Nombre de bécasseaux variables capturés en Baie de Bourgneuf entre 2011 et 2013



Figure III.7 : Situation géographique de la Baie de Bourgneuf et des sites de prélèvements : Lyarne \blacklozenge , le reposoir du Collet \blacktriangle , La Coupelasse \diamondsuit et la lagune du Dain \triangle . Les parties en gris clair représentent la zone intertidale et les parties en noir les rochers.

Les dispositifs de captures utilisés étaient des filets japonais mesurant chacun 12 mètres de long sur 2,5 mètres de haut et présentant des mailles de 16 mm ainsi que quatre poches longitudinales. Ces filets ont été déployés environ trois heures avant la marée haute à l'aide de perches sur environ 80 mètres perpendiculairement à la ligne d'eau afin que les oiseaux s'emmaillent en suivant le flot au bord de l'eau. Les filets ont été relevés toutes les 30 minutes jusqu'à l'heure de pleine mer. Différentes mesures biométriques (masse corporelle et tailles du bec, de l'aile et du tarse replié) ont été effectuées. Des prises de sang ont été réalisées à la jugulaire droite ; le volume maximal prélevé était de 1% de la masse de l'animal. Les contenus stomacaux ont été insérée directement dans l'œsophage de l'oiseau jusqu'à son estomac. Dix cm³ d'eau distillée étaient injectés afin de récupérer la régurgitation (Martin et Hockey, 1993 ; Dierschke *et al.*, 1999a). Tous les échantillons ont été stockés au frais jusqu'au laboratoire. En cas de mort accidentelle lors de leur

capture, les bécasseaux variables étaient gardés au frais jusqu'à leur dissection au laboratoire. Différents organes étaient alors isolés : les muscles pectoraux, le foie et les reins. Le sang, les contenus stomacaux et les différents organes disséqués sont appelés par la suite : « compartiments physiologiques ».

Échantillonnage des sources de matière organique de l'écosystème de la Baie de Bourgneuf

Les ressources trophiques intertidales potentielles du bécasseau variable ont été prélevées sur deux sites chaque mois, concomitamment à la capture des oiseaux : la vasière de Lyarne, au nord du reposoir du Collet, et la vasière de la Coupelasse, au sud du reposoir (Figure III.7). Ces deux vasières présentent des types de sédiment et des assemblages microphytobenthiques différents (cf Figure III.2), caractéristiques des vasières de la Baie de Bourgneuf. La vasière de Lyarne présente un sédiment mixte (de vaso-sableux à sablo-vaseux) et est colonisée par du microphytobenthos de type épipsammique. La vasière de La Coupelasse présente un sédiment vaseux et est colonisée par du microphytobenthos de type épipélique (Méléder *et al.*, 2005).

La macrofaune (mollusques et annélides) a été collectée en utilisant un tamis (maille 1 mm). La méiofaune a été prélevée par « pompage-carottage » à l'aide d'une seringue de 60 mL de 3 cm de diamètre pour une hauteur de 3,5 cm environ. Trois carottes ont été prélevées sur chaque site et cumulées dans un même pilulier, soit un volume de vase prélevé de 75 cm³. Les macroalgues ont été prélevées directement sur l'estran. Du sédiment a été raclé sur environ 1 m² (épaisseur de 2 à 5 mm environ) à marée basse sur les vasières. Environ 15 litres d'eau de mer ont été prélevés à la Guérinière (85), du côté de l'île de Noirmoutier ouvert sur le large, (salinité moyenne 36,4) dans des bidons propres (Figure III.7).

Préparation des échantillons

De retour au laboratoire, les échantillons de sang ont été centrifugés pour séparer les hématies du plasma, ces deux sous-échantillons étant ensuite séchés à l'étuve (60°C) pendant au moins 48h. Les contenus stomacaux ont été, pour moitié (5 cm³), fixés dans du formol (4%) dilué à l'eau de mer filtrée afin d'être analysés visuellement (cf Chapitre II) et pour moitié, séchés à l'étuve (60°C) 72h minimum puis acidifiés

avec 25 µL d'HCl 25%. Les différents organes, i.e. les muscles pectoraux, le foie et les reins, prélevés sur neuf bécasseaux variables ont été congelés et lyophilisés (70h).

En ce qui concerne la macrofaune, les organismes entiers ont été préparés pour les analyses isotopiques après une nuit passée dans de l'eau de mer filtrée. Il s'agit de mollusques bivalves *Scrobicularia plana, Macoma balthica, Ruditapes philippinarum,* de gastéropodes *Peringia ulvae*, et d'annélides *Hediste diversicolor* et *Nephtys hombergii*. Les mollusques débarrassés de leurs épibiontes éventuels, et les annélides ont été mesurés puis congelés. Par la suite, les corps des bivalves et des gastéropodes ont été séparés de leurs coquilles. L'opercule des gastéropodes a été éliminé. Une cinquantaine d'hydrobies ont été disséquées et trois individus de chacune des autres espèces ont été préparés, par site et pour chaque mois de prélèvement. Les mollusques et les annélides ont ensuite été brièvement passés dans de l'acide (HCl 1N) afin de supprimer les restes éventuels de coquille et autres sources de carbonates, puis rincés à l'eau ultrapure et séchés à l'étuve (60°C) pendant au moins 72h. Il en a été de même pour les macroalgues (vertes, brunes et rouges) débarrassées de leurs épibiontes.

Un protocole d'extraction de la méiofaune a été mis au point à partir des études de Heip *et al.* (1974) et Keller (1985). L'échantillon de vase a été placé sur deux tamis superposés : un tamis de 1 mm et un tamis de 63 µm. Après un rinçage à l'eau ultrapure, le refus de ce dernier a été placé dans une colonne de décantation. Cinq décantations ont été nécessaires, pour chacune, le décanteur a été retourné dix fois puis laissé à décanter 15 secondes avant de prélever le surnageant. Les surnageants ont alors été placés dans des tubes de centrifugation à environ ¼ du tube et complétés avec du Ludox HS-40 de densité 1,15, puis bien homogénéisés avant d'être centrifugés à 1300 tr/min pendant 8 min. Le surnageant a une nouvelle fois été récupéré sur un tamis de 63 µm et rincé à l'eau ultrapure. Il a alors été mis dans une cuve de Dolfus et observé à la loupe binoculaire. Les copépodes et les nématodes ont été isolés, placés directement dans des capsules et séchés.

Au laboratoire, le sédiment a été étalé dans des plateaux sur 1 à 2 cm d'épaisseur. Le lendemain, à l'heure de la marée basse, les 2 mm supérieurs du sédiment, où les cellules du microphytobenthos avaient migré, ont été prélevés soigneusement et mis à sécher en étuve à 60°C. Au bout de 72h, ce sédiment a pu être homogénéisé et mis en poudre. Seulement 40 mg de poudre ont alors été pesés et 25µl d'acide (HCl

132

25%) leur ont été ajoutés à deux reprises après séchage pour éliminer les carbonates, avant séchage final à l'étuve à 60°C. Tous les échantillons ont été réduits en poudre.

Les échantillons d'eau ont été filtrés, dès le retour au laboratoire, jusqu'à quasi colmatage sur filtre GF/F préalablement calciné (4h à 450°C). Les filtres ont été brièvement acidifiés (HCI 1N) et rincés à l'eau distillée, puis séchés en étuve à 60°C.

Détermination des déviations des isotopes stables par spectrométrie de masse

Tous les échantillons mis en poudre ont été pesés à ± 0,01 mg près. Environ 1 mg de chaque poudre a été mis dans des capsules ultra-propres en étain (5x8 mm), sauf pour le sédiment où environ 15 mg ont été nécessaires et pour les filtres où les ³/₄ du colmatage ont été prélevés à la surface du filtre pour être encapsulés. Les analyses ont été effectuées avec un analyseur élémentaire (Flash EA 1112, option « Zero Blank », Thermo Scientific[®], Milan, Italie) couplé à un spectromètre de rapports isotopiques (Delta V Advantage connecté simultanément par l'interface Conflo IV, Thermo Scientific[®], Bremen, Germany) au Centre Commun d'Analyse (CCA) de l'Université de La Rochelle .

Les résultats ont été exprimés en pour mille (‰) et avec la notation delta (δ) :

 $\delta_{\text{isotope}} = ((R_{\text{\acute{e}chantillon}}/R_{\text{\acute{e}talon}}) - 1) \times 1000$

où $\delta_{isotope}$ est la déviation isotopique (δ^{13} C ou δ^{15} N) de l'échantillon par rapport à un étalon (ou "*standard*"). L'étalon international pour l'analyse du rapport isotopique du carbone (13 C/ 12 C) est la Pee Dee Belemnite (PDB). La bélemnite est un fossile calcaire du Crétacé trouvé à Pee Dee en Caroline du Sud (États-Unis) (Craig, 1957). L'étalon international pour l'analyse du rapport isotopique de l'azote (15 N/ 14 N) est le diazote (N₂) atmosphérique (Ehleringer et Rundel, 1989). R est le rapport de l'isotope lourd sur l'isotope léger (13 C/ 12 C ou 15 N/ 14 N) dans l'échantillon ou l'étalon. Des échantillons certifiés (acétanilides) dont les déviations isotopiques sont connues, ont été analysés avec les échantillons à raison de deux certifiés tous les 20 échantillons inconnus, et trois "blancs" ont été analysés au début de chaque série d'analyse. La précision analytique de la mesure était inférieure à 0,08‰ pour l'azote. Les δ^{13} C et δ^{15} N ont été exprimées en moyennes plus ou moins l'écart-type.

Vitesse de renouvellement tissulaire

Comme mentionné plus haut, les déviations isotopiques des tissus varient en fonction du métabolisme de ceux-ci et en particulier de la vitesse de renouvellement de leurs protéines cellulaires. Par conséquent, différents tissus prélevés sur un même animal peuvent refléter son régime alimentaire à différentes périodes (Teiszen *et al.*, 1983 ; Bauchinger et McWilliams, 2009). En d'autres termes, les déviations isotopiques de tissus dont les vitesses de renouvellement sont distinctes, peuvent correspondre à des régimes alimentaires intégrés sur différentes échelles de temps (Hesslein *et al.*, 1993 ; Dalerum et Angerbjörn, 2005 ; Wolf *et al.*, 2009). Les tissus dont les vitesses de renouvellement sont els vitesses de renouvellement un régime alimentaire récent, tandis que les tissus dont les vitesses de renouvellement sont plus faibles, comme les hématies et les cellules musculaires, reflètent un régime alimentaire plus ancien (Hobson et Clark, 1993 ; Ogden *et al.*, 2004).

Les contenus stomacaux reflètent ce qui a été ingéré juste avant la capture de l'animal. La littérature attribue au plasma, au foie et aux reins d'oiseaux de petite taille, des vitesses de renouvellement respectives de 0,4 à 1,7 jours, de 2,6 jours et de 7 jours (Hobson et Clark, 1992; Pearson et al., 2003; Boecklen et al., 2011). Leurs déviations isotopiques respectives reflètent donc ce que les oiseaux ont ingéré quelques jours avant leur capture. Pour les cellules musculaires et les hématies, les vitesses de renouvellement sont respectivement de 12,4 et 29,8 jours (Hobson et Clark, 1992; 1993). Leurs déviations isotopiques respectives reflètent ce que les oiseaux ont ingéré quelques semaines auparavant. Nous avons retenu une fenêtre de 1 à 7 jours pour le temps de renouvellement du foie, des reins et du plasma, et une fenêtre de 10 à 30 jours pour celui des cellules musculaires et des hématies. À partir de là et compte tenu de nos connaissances sur les voies de migration du bécasseau variable (Greenwood, 1984), la déviation isotopique des contenus stomacaux reflète leur régime alimentaire dans la Baie de Bourgneuf. Celles du foie, des reins et du plasma réflètent leur régime alimentaire sur des haltes situées plus au nord ou plus au sud, 1 à 7 jours avant leur capture. Celles des cellules musculaires et des hématies réflètent leur régime alimentaire sur d'autres sites d'hivernage ou de nidification dans la fenêtre des 10 à 30 jours précédants leur capture.

Reconstruction du régime alimentaire du bécasseau variable

Les facteurs d'enrichissement trophique en ¹³C ou ¹⁵N ont été soustraits des déviations isotopiques mesurées dans les tissus des bécasseaux variables avant leur utilisation dans le modèle mathématique permettant de reconstruire leur régime alimentaire (cf ci-après). Ces facteurs, tirés de la littérature, ont été obtenus par des études menées sur des bécasseaux variables gardés en captivité : 1,9 et 3,1‰ pour les muscles pectoraux, 1,1 et 4‰ pour le foie, 1,3 et 4‰ pour les reins, 0,5 et 3,3‰ pour le plasma et 1,5 et 3‰ pour les hématies, respectivement pour ¹³C et ¹⁵N (Ogden *et al.*, 2004).

Les distances au carré des voisins les plus proches (NND² pour « squared Nearest Neighbor Distances », Lubetkin et Simenstad, 2004) ont été calculées pour déterminer si les écarts observés entre les déviations isotopiques des sources potentielles étaient significatifs ou non. Lorsque les écarts n'étaient pas significatifs, les déviations isotopiques des sources comparées ont été moyennées. C'est le cas pour ce qui concerne les deux annélides Hediste diversicolor et Nephtys hombergii (p<0,03) dont l'habitat et le mode d'alimentation sont semblables. Il en est de même pour les mollusques bivalves Scrobicularia plana et Macoma balthica (p<0,02) qui présentent eux aussi des habitats et des habitudes alimentaires similaires (suspensivores à marée haute et déposivores à marée basse). Un compartiment annélides pour Lyarne et la Coupelasse et un compartiment « bivalves » pour Lyarne ont donc été retenus. Un compartiment « bivalves » pour La Coupelasse constitué de palourdes uniquement a été considéré. Le logiciel SigmaStat 3.11.0 a été utilisé pour réaliser des ANOVA à un facteur sur les déviations isotopiques de ¹³C et ¹⁵N des différents compartiments physiologiques après vérifications de la normalité et de l'homogénéité des variances.

Le modèle de mélange SIAR version 4.2 (Stable Isotope Analysis in R ; Parnell *et al.*, 2008 ; 2010) a été utilisé afin d'estimer la contribution relative de chacune des sources alimentaires potentielles du bécasseau variable à son régime alimentaire. SIAR est un progiciel gratuit de R conçu pour résoudre les modèles de mélange pour les données d'isotopes stables. À partir des déviations isotopiques de ¹³C et ¹⁵N des sources alimentaires, ce logiciel va déterminer la composition du régime alimentaire la plus probable expliquant les déviations isotopiques de ¹³C et ¹⁵N du consommateur. Dans notre étude, uniquement les compositions isotopiques des

contenus stomacaux ont été utilisées. Comme les copépodes n'avaient pas été identifiés dans les contenus stomacaux des bécasseaux variables décédés lors des captures (cf Chapitre II.3.), et que nous n'avions pas de données relatives aux copépodes pour les mois de mai à La Coupelasse et d'octobre à Lyarne, cette source potentielle n'a pas été prise en compte dans la reconstruction du régime alimentaire. Compte tenu aussi de l'ignorance de l'origine géographique des bécasseaux échantillonnés (notamment la localisation exacte de leur dernier lieu de nutrition en Baie de Bourgneuf), les résultats obtenus avec le modèle SIAR, i.e. contribution au régime de chacune des sources alimentaires potentielles à Lyarne et à La Coupelasse, ont été moyennés pour obtenir une image moyenne du régime alimentaire.

III.3.3. Résultats

III.3.3.a. Variabilité des déviations isotopiques des bécasseaux variables sur la période d'échantillonnage

En septembre 2011 (Figure III.8), les valeurs des δ^{13} C et δ^{15} N des compartiments physiologiques des bécasseaux variables se situaient entre -20 et -13‰ pour ¹³C et entre 9 et 16‰ pour ¹⁵N, à l'exception des valeurs des contenus stomacaux qui étaient plus dispersées, avec par exemple des δ^{15} N qui s'étalaient de 6 à 11‰. Plus généralement, il a été observé une séparation des compartiments physiologiques des oiseaux liés à leurs δ^{15} N. Par exemple, les hématies, les cellules musculaires et les contenus stomacaux présentaient des δ^{15} N plus faibles que celles des plasmas. En janvier 2012 (Figure III.8), un resserrement des valeurs de δ^{13} C et δ^{15} N des compartiments physiologiques a été observé entre -14 et -13‰ et 13 et 14‰ respectivement, à l'exception de celles des contenus stomacaux. Les $\delta^{15}N$ de ces derniers présentaient des valeurs homogènes, plus faibles que celles des autres compartiments. Un même individu présentait une δ^{13} C la plus négative et une δ^{15} N la plus basse respectivement pour son plasma, ses hématies et son contenu stomacal. Les données de mars et avril 2012 étaient relatives à seulement deux bécasseaux variables capturés. Là encore, les $\delta^{15}N$ des plasmas et des hématies étaient plus élevées que celles des contenus stomacaux. La composition des hématies était intermédiaire comme en septembre 2011, également période post-nuptiale.

En mai 2012, les valeurs des δ^{13} C et δ^{15} N étaient regroupées par compartiment. Les contenus stomacaux présentaient les valeurs les plus négatives pour les δ^{13} C et les plus basses pour les δ^{15} N. Les δ^{15} N des plasmas étaient les plus élevées. Les δ^{13} C des hématies étaient les moins négatives.

En octobre 2012, les valeurs des δ^{13} C et δ^{15} N des contenus stomacaux étaient très dispersées. Les δ^{13} C des hématies et des plasmas étaient homogènes. Les δ^{15} N des plasmas étaient plus élevées que celles des contenus stomacaux.

En novembre 2012, les valeurs des δ^{13} C et δ^{15} N étaient groupées. Un premier groupe correspondait aux valeurs observées pour les hématies et les plasmas. Un deuxième groupe était formé par les valeurs des contenus stomacaux dont les δ^{15} N étaient plus faibles que celles des compartiments du premier groupe. En décembre 2012, les hématies et les plasmas présentaient des δ^{13} C et δ^{15} N très homogènes et regroupées. Par opposition, les δ^{15} N des contenus stomacaux étaient moins groupées et les δ^{13} C étaient très dispersées. En cette période hivernale, la même tendance qu'en janvier 2012 était observée, à savoir une variabilité faible des compositions isotopiques des tissus.

En février et mars 2013, seulement quatre bécasseaux variables ont été capturés dont les valeurs des δ^{13} C et δ^{15} N des différents compartiments étaient assez dispersées.



Figure III.8 : δ13C et δ15N (‰) des compartiments physiologiques des bécasseaux variables capturés aux mois de septembre 2011, de janvier, mars, avril, mai, octobre, novembre et décembre 2012, et de février et mars 2013. ● hématies ; ■ plasma ; × contenus stomacaux ; - muscles pectoraux ; ◆ foie ; ▲ reins

III.3.3.b. Analyse graphique des positions relatives des δ^{13} C et δ^{15} N des sources alimentaires potentielles du bécasseau variable et de ses compartiments physiologiques

Parmi le jeu de données récoltées, nous avons choisi de présenter trois mois représentatifs du cycle de migration des bécasseaux variables. Le mois de mai représente la période pré-nuptiale pour la population. Le mois d'octobre représente la période post-nuptiale. Le mois de décembre reflète la période d'hivernage des bécasseaux variables dans la Baie de Bourgneuf. Dans les figures III.9, III.10 et III.11, les δ^{13} C et δ^{15} N des sources d'alimentation potentielles, des hématies, du plasma, des cellules musculaires, du foie, des reins et des contenus stomacaux correspondaient aux mois de mai, octobre et décembre 2012. Les déviations isotopiques des compartiments physiologiques représentées graphiquement ont été obtenues en soustrayant leurs enrichissements trophiques propres et sont appelées par la suite déviations isotopiques corrigées. Par contre aucune correction n'a été apportée aux déviations isotopiques des contenus stomacaux. En effet, celles-ci résultent des déviations propres à chaque source alimentaire ingérée par l'oiseau et non encore métabolisée. Il n'y a donc pas d'enrichissement à prendre en compte. Les représentations graphiques vont nous permettre de proposer des hypothèses sur la composition du régime alimentaire des bécasseaux variables en Baie de Bourgneuf aux trois périodes retenues.

En mai 2012 (Figure III.9), la position des δ^{13} C des deux biofilms et des algues brunes et rouges était entre -17 et -19‰, par opposition aux algues vertes dont la position est plus étonnante. En ce qui concernait les sources de nourriture potentielles d'origine animale, on pouvait distinguer deux groupes. Un premier, constitué par les copépodes, les bivalves des deux sites et les nématodes de Lyarne (ném V) présentait des valeurs de δ^{13} C assez négatives (-15,5 à -17,5 ‰). Le deuxième, dont les δ^{13} C étaient plus faibles (aux environs de -13 ‰), était constitué par les annélides et les hydrobies des deux sites et les nématodes de La Coupelasse (ném S). La δ^{13} C de la matière organique en suspension (MOP) occupe sur le graphique une position intermédiaire entre celles des deux groupes d'animaux.



Figure III.9 : Déviations isotopiques (δ^{13} C et δ^{15} N en ‰) moyennes et écart-types des compartiments physiologiques des bécasseaux variables capturés (n=17, dont 2 morts) et de leurs sources potentielles de nourriture en mai 2012. Les déviations isotopiques des tissus des bécasseaux variables ont été diminuées de leur facteur d'enrichissement trophique en ¹³C et ¹⁵N respectif : 1,5 et 3,0‰ pour les hématies, 0,5 et 3,3‰ pour le plasma, 1,9 et 3,1‰ pour les muscles pectoraux, 1,1 et 4‰ pour le foie et 1,3 et 4,0‰ pour les reins (Ogden *et al.*, 2004). S : prélèvements sur la vasière vaso-sableuse à sablo-vaseuse de Lyarne ; V : prélèvements sur la vasière vaseuse de La Coupelasse ; MOP : Matière Organique Particulaire; AV : algue verte ; AB : algue brune ; AR : algue rouge ; annèl : annélides ; biv : bivalves ; hyd : hydrobies ; cop : copépodes ; ném : nématodes. Le biofilm S contient du microphytobenthos épipélique et le biofilm V du microphytobenthos épipsammique.

Les deux biofilms présentaient les valeurs de δ^{15} N les plus faibles avec une nette différence entre elles, la très faible valeur du biofilm de Lyarne (biofilm S) étant très à l'écart de toutes les autres valeurs portées sur le graphique. Dans l'échelle des δ^{15} N, une zone moyenne était occupée par les valeurs relatives aux copépodes, bivalves, nématodes et hydrobies. Les $\delta^{15}N$ les plus élevées sont observées pour les annélides, ceux de Lyarne (annél S) se situant au dessus de ceux de La Coupelasse (annél V), ce qui était aussi le cas pour les nématodes (ném S > ném V). La valeur de δ^{15} N pour la MOP était inférieure à celle des organismes animaux et proche de celle du biofilm de Lyarne. Sur le même graphique, la position des δ^{13} C movennes des contenus stomacaux était proche de celles des biofilms, des algues brunes et rouges et des copépodes de Lyarne (cop S). Elle était bien séparée des positions des autres compartiments physiologiques des bécasseaux variables dont les δ^{13} C corrigées moyennes étaient moins négatives. La projection des valeurs corrigées du plasma était située entre les projections des valeurs des bivalves et annélides des deux sites, des nématodes et hydrobies de La Coupelasse. La position de la valeur corrigée du foie était proche de celles des valeurs des hydrobies des deux sites et des nématodes de Lyarne. Les représentations graphiques des déviations isotopiques corrigées des reins, des hématies et des muscles pectoraux étaient éloignées de celles des sources alimentaires potentielles présentes sur les vasières de la Baie de Bourgneuf, à l'exception de la projection relative aux muscles pectoraux qui était proche de la position des déviations isotopiques de la MOP. La position de la moyenne des δ^{15} N corrigées des muscles pectoraux se situait au dessous des projections des moyennes des autres compartiments. À l'inverse, celle de la moyenne des δ^{15} N corrigées du plasma se situait au dessus.

En octobre 2012, aucun individu n'est mort pendant les captures. Seules les déviations isotopiques corrigées des hématies, du plasma et celles des contenus stomacaux étaient disponibles (Figure III.10). Les valeurs des δ^{13} C des biofilms et de la MOP étaient très négatives. Les algues vertes présentaient des valeurs de δ^{13} C très peu négatives, à l'inverse de celles des algues rouges qui étaient très négatives, les algues brunes présentaient quant à elles un positionnement médian. Parmi les sources potentielles de nourriture d'origine animale, les nématodes de Lyarne présentaient les valeurs de δ^{13} C les plus négatives. Pour les autres organismes animaux, les valeurs de δ^{13} C s'étalaient entre -15 et -13 ‰. Au sein de ce groupe, les bivalves des deux sites présentaient les valeurs les plus négatives alors que les annélides de ces mêmes sites présentaient les valeurs les moins négatives. Les valeurs de δ^{15} N augmentaient des copépodes, nématodes et hydrobies de La Coupelasse jusqu'aux annélides des deux sites en passant par les bivalves des deux sites, les nématodes et les hydrobies de Lyarne. Les annélides de La Coupelasse présentaient les δ^{15} N les plus élevées. Les moyennes des déviations isotopiques δ^{13} C et δ^{15} N des contenus stomacaux sont associées à de si grands écart-types que sur le graphique leur projection voisine les positions de presque la totalité des sources potentielles de nourriture. Seules les positions des biofilms en sont éloignées. La position des nématodes de Lyarne était très proche de celle de la moyenne des déviations isotopiques corrigées des hématies.



Figure III.10 : Déviations isotopiques (δ^{13} C et δ^{15} N en ‰) moyennes et écart-types des compartiments physiologiques des bécasseaux variables capturés (n=5) et de leurs sources potentielles de nourriture en octobre 2012. Les déviations isotopiques des tissus des bécasseaux variables ont été diminuées de leur facteur d'enrichissement trophique en ¹³C et ¹⁵N respectif : 1,5 et 3,0‰ pour les hématies, 0,5 et 3,3‰ pour le plasma (Ogden *et al.*, 2004). S : prélèvements sur la vasière vaso-sableuse à sablo-vaseuse de Lyarne ; V : prélèvements sur la vasière vaseuse de La Coupelasse ; MOP : Matière Organique Particulaire; AV : algue verte ; AB : algue brune ; AR : algue rouge ; annèl : annélides ; biv : bivalves ; hyd : hydrobies ; cop : copépodes ; ném : nématodes. Le biofilm S contient du microphytobenthos épipélique et le biofilm V du microphytobenthos épipsammique.

En décembre 2012 (Figure III.11), les valeurs correspondant aux biofilms apparaissaient aux deux extrêmités de l'axe des δ^{13} C, le biofilm de La Coupelasse à l'extrêmité la plus négative et le biofilm de Lyarne à l'extrêmité opposée. Les δ^{13} C de la MOP et des algues rouges étaient très négatives elles aussi, proches de la position du biofilm de La Coupelasse. Par rapport à l'axe des δ^{13} C, les algues rouges et les algues vertes occupaient des positions très distantes, les algues brunes étaient en position intermédiaire avec des valeurs plus négatives que celles des algues vertes, -16 et -11 ‰, respectivement. Les valeurs des δ^{13} C des autres sources potentielles de nourriture se situaient entre -15 et -17 ‰, sauf celles des hydrobies de Lyarne et des annélides de la Coupelasse. Les positions des $\delta^{15}N$ des sources potentielles de nourriture étaient relativement groupées entre 9,5 et 11,5 ‰. N'étaient pas positionnés dans ce groupe les deux biofilms, la MOP, les copépodes de La Coupelasse et dans une moindre mesure les algues rouges dont les valeurs de δ^{15} N étaient très faibles. Par ailleurs, les δ^{15} N des annélides de La Coupelasse et des algues vertes étaient élevées, 12,5 et 14 % respectivement. Parmi les sources potentielles de nourriture d'origine animale, les annélides présentaient la plus forte δ^{15} N. La position graphique des moyennes des déviations isotopiques des contenus stomacaux se situait entre celles du biofilm de Lyarne et celles de toutes les autres sources. Inversement, les positions des moyennes relatives aux autres compartiments physiologiques étaient très proches de celles des déviations isotopiques de la plupart des sources potentielles de nourriture, à l'exception cependant, des deux biofilms, des copépodes et annélides de La Coupelasse, des hydrobies de Lyarne et des algues rouges ou vertes.



Figure III.11 : Déviations isotopiques (δ^{13} C et δ^{15} N en ‰) moyennes et écart-types des compartiments physiologiques des bécasseaux variables capturés (n=8, dont 2 morts) et de leurs sources potentielles de nourriture en décembre 2012. Les déviations isotopiques des tissus des bécasseaux variables ont été diminuées de leur facteur d'enrichissement trophique en ¹³C et ¹⁵N respectif : 1,5 et 3,0‰ pour les hématies, 0,5 et 3,3‰ pour le plasma, 1,9 et 3,1‰ pour les muscles pectoraux, 1,1 et 4‰ pour le foie et 1,3 et 4,0‰ pour les reins (Ogden *et al.*, 2004). S : prélèvements sur la vasière vaso-sableuse à sablo-vaseuse de Lyarne ; V : prélèvements sur la vasière vaseuse de La Coupelasse ; MOP : Matière Organique Particulaire; AV : algue verte ; AB : algue brune ; AR : algue rouge ; annèl : annélides ; biv : bivalves ; hyd : hydrobies ; cop : copépodes ; ném : nématodes. Le biofilm S contient du microphytobenthos épipélique et le biofilm V du microphytobenthos épipsammique.

III.3.3.c. Reconstruction du régime alimentaire par le modèle SIAR

La participation des différentes sources potentielles de nourriture était différente à chaque période du cycle annuel de présence des bécasseaux variables en Baie de Bourgneuf (Tableau III.3).

Tableau III.3 : Participation (%) de différentes sources potentielles de nourriture au régime alimentaire
du bécasseau variable en Baie de Bourgneuf d'après le modèle SIAR. AV : algue verte ; AB : algue
brune ; AR : algue rouge ; S : prélèvements sur la vasière vaso-sableuse à sablo-vaseuse de Lyarne ;
V : prélèvements sur la vasière vaseuse de La Coupelasse.

Sources		Mai 2012	Octobre 2012	Décembre 2012
	S	15	7	9
Biofilms	V	13	8	6
	total	28	15	15
	AV	2	9	9
Maaraalauaa	AB	17	7	6
Macroalyues	AR	6	11	17
	total	25	27	32
	S	3	9	6
Nématodes	V	15	5	8
	total	18	14	14
	S	4	8	9
Hydrobies	V	10	6	2
	total	14	14	11
	S	3	8	8
Bivalves	V	2	9	11
	total	5	17	19
	S	8	3	1
Annélides	V	2	10	8
	total	10	13	9
Total		100	100	100

En mai 2012, il existait des différences notables entre la participation des nématodes, des hydrobies et des annélides au régime alimentaire du bécasseau variable selon le site considéré. À Lyarne, les nématodes et les hydrobies avaient une participation plus faible qu'à La Coupelasse. Pour les annélides, on observait l'inverse. Lorsqu'on additionnait les participations relatives des différentes sources potentielles aux deux sites, il apparaissait que les biofilms étaient majoritaires (environ 28%), puis les macroalgues (environ 25%) avec une plus forte participation des macroalgues brunes (environ 17% des 24% totaux). Suivaient les nématodes (environ 18%) et les hydrobies (14%). Les annélides et les bivalves présentaient des taux plus faibles, 10% et 5%, respectivement à cause de la disparité des pourcentages de participation observés entre les deux sites.

En octobre 2012, il y avait moins de différence entre les pourcentages de participation des différentes sources entre Lyarne et La Coupelasse sauf pour les nématodes à La Coupelasse et les annélides à Lyarne pour lesquels les valeurs étaient faibles, environ 5% et 3% respectivement. La participation des macroalgues était majoritaire (environ 27%) dont une très forte proportion de macroalgues rouges, environ 11%. Suivaient ensuite les bivalves (environ 17%). Les participations des

biofilms, des nématodes, des hydrobies et des annélides étaient proches, entre 13 et 15% environ.

En décembre 2012, comme en Mai, il existait des différences notables entre la participation des hydrobies, des bivalves et des annélides au régime alimentaire du bécasseau variable selon le site considéré. Globalement, les macroalgues étaient encore majoritaires (environ 32%) avec une dominance des macroalgues rouges (environ 17% de ces 32%). Venaient ensuite les bivalves (environ 19%), les biofilms et les nématodes (respectivement environ 15% et 14%). Les hydrobies et les annélides étaient minoritaires avec environ 11% et 9% de participation au régime alimentaire.

III.3.4. Discussion

Dans la présente étude, la comparaison des déviations isotopiques (δ^{13} C et δ^{15} N) des sources d'alimentation potentielles du bécasseau variable avec celles de ses compartiments biologiques (tissus ou organes) et de ses contenus stomacaux a permis de caractériser son régime alimentaire en Baie de Bourgneuf.

Les projections graphiques des δ^{13} C et δ^{15} N de l'ensemble des tissus et des contenus stomacaux des bécasseaux variables échantillonnés au cours des dix mois de notre étude (Figure III.8) résultaient en nuages de points correspondant à ces différents compartiments, ce qui traduit une certaine homogénéité entre les régimes alimentaires des bécasseaux échantillonnés à une date donnée.

Dans cette discussion, nous nous limiterons au plasma, aux hématies et aux contenus stomacaux pour lesquels des données existent pour chaque date. Quelque soit le mois, les contenus stomacaux présentaient des valeurs de δ^{15} N inférieures à celles du plasma et des hématies. En effet, l'analyse des déviations isotopiques des contenus stomacaux ne donne, comme l'analyse visuelle des restes digestifs, qu'une image instantanée de ce qui a été ingéré quelques dizaines de minutes avant la capture et qui ne sera pas forcément assimilé. Les déviations isotopiques du plasma ou des hématies correspondent à des aliments assimilés qui ont été ingérés respectivement quelques jours et plus d'une semaine avant la capture des bécasseaux, étant donné la vitesse de renouvellement de ces tissus (Hobson et Clark, 1992 ; 1993 ; Boecklen *et al.*, 2011). Beninger *et al.* (2011) ont tiré profit de telles différences pour étudier le changement de régime alimentaire du bécasseau

d'Alaska au cours de sa migration. Ne sachant pas depuis combien de temps les bécasseaux variables capturés étaient présents dans la baie et leur dernier site d'alimentation, nous ne pouvons qu'évoquer la variabilité dans le régime alimentaire des bécasseaux variables en hivernage et présents depuis plusieurs jours dans la Baie de Bourgneuf, et également des oiseaux arrivés récemment dans la baie (provenant d'autres sites d'accueil, d'hivernage, de nidification). L'étude de Bocher *et al.* (2014b) a également montré des changements dans le régime alimentaire des bécasseaux variables sur d'autres vasières le long de la côte atlantique française entre les périodes de migration et d'hivernage.

En ce qui concerne les sources de carbone, une différence nette n'apparaît qu'au mois de mai 2012 entre les contenus stomacaux et les deux autres compartiments. Les valeurs de δ^{13} C observées pour ces contenus stomacaux étant très négatives, on peut supposer que les aliments ingérés dans les dizaines de minutes précédant la capture étaient majoritairement des producteurs primaires. Cette hypothèse peut être appuyée par la représentation graphique des δ^{13} C et δ^{15} N corrigées des sources potentielles de nourriture par rapport aux δ^{13} C et δ^{15} N des contenus stomacaux (Figure III.9) où il est à noter la proximité des valeurs de δ^{13} C relatives aux biofilms et de celles des contenus stomacaux. La même remarque est à faire pour le positionnement des macroalgues brunes et rouges par rapport aux contenus stomacaux. D'après SIAR, biofilms et macroalgues (toutes confondues) participent pour 52% au régime alimentaire des bécasseaux à cette date. Inversement, les positions des bivalves sur le graphe (Figure III.9) pourraient laisser supposer leur forte représentation dans le régime alimentaire, or c'est le contraire qui ressort du modèle SIAR, ce qui est surprenant et difficile à expliquer.

En octobre 2012, les écarts-types à la moyenne des δ^{13} C et δ^{15} N des contenus stomacaux sont très grands (Figure III.10). Les sources potentielles d'alimentation à fortes δ^{13} C comme les macroalgues rouges, les biofilms, les bivalves, et les nématodes semblent intervenir majoritairement dans le régime alimentaire des bécasseaux variables selon SIAR.

En décembre 2012, les bécasseaux capturés semblent là aussi s'être alimentés récemment majoritairement de macroalgues (surtout les rouges) et de bivalves. La participation des biofilms au régime n'est pas non plus négligeable (environ 15%) du même ordre que celle des nématodes (14%).

Au cours de ces trois mois la composante majoritaire du régime alimentaire du bécasseau variable a changé passant du biofilm en mai aux macroalgues en octobre et décembre. Ces deux derniers mois, les bivalves prennent aussi une part plus importante que les biofilms dans le régime du bécasseau. Les nématodes se maintiennent autour de 14% à 18% durant ces trois mois, et les hydrobies autour de 11% à 14%. Si on replace ces résultats par rapport à la migration du bécasseau, on constate que, de passage vers des sites d'hivernage plus au Sud ou à leur arrivée en automne (octobre) dans la Baie de Bourgneuf, ils se nourrissent principalement de macroalques et de bivalves. L'hiver (décembre), macroalques et bivalves dominent encore leur régime alimentaire. Au moment de leur départ de la baie ou de passage lors de leur migration vers les zones de reproduction septentrionales (mai), c'est le biofilm qui devient majoritaire dans leur régime alimentaire devant les macroalgues et les nématodes. Ce résultat peut être mis en relation avec les fortes biomasses de biofilms microphytobenthiques observées au cours du printemps et de l'été en Europe du Nord par de Jong et de Jonge (1995) et Underwood et Kromkamp (1999). Par conséquent, les bécasseaux variables ont accès à cette période à de grandes quantités de biofilm pouvant leur fournir une source de nourriture et d'énergie non négligeable. En effet, en préparation de leur migration vers leurs sites de reproduction, la riche teneur en glucides de ces biofilms (Characklis et Marshall, 1990 ; Smith et Underwood, 2000) peut leur fournir plus d'énergie plus rapidement que la simple alimentation sur des éléments de la macrofaune à forte teneur en protéines (Beninger et al., 2011).

De récentes études ont mis en évidence la place du biofilm dans le régime alimentaire des bécasseaux. Chez le bécasseau d'Alaska, *Calidris mauri*, le biofilm contribuerait entre 45 et 59% (Kuwae *et al.*, 2008) et même jusqu'à plus de 70% (Beninger *et al.*, 2011) à son régime alimentaire. L'étude de Kuwae *et al.* (2012) a montré que la contribution du biofilm au régime alimentaire du bécasseau à col roux, *Calidris ruficollis*, pouvait même atteindre jusqu'à 114%. Cependant pour le bécasseau variable, la même étude avait montré qu'entre 2 et 14% seulement du biofilm contribuait à son régime alimentaire. Nos résultats ont montré que sur la période étudiée le biofilm contribue entre 15% et 28% au régime alimentaire du bécasseau variable en Baie de Bourgneuf.

Par contre, lors de cette dernière approche, les annélides n'apparaissent pas comme une source d'alimentation privilégiée par les bécasseaux variables. Les annélides représentaient pourtant une part importante de leur régime alimentaire que ce soit à travers l'étude des fientes (Chapitre II.2.) ou des contenus stomacaux (Chapitre II.3.). La place prédominante des macroalgues, en automne et en hiver dans leur régime alimentaire est d'autant plus étonnante car elles n'ont jamais été identifiées comme source d'alimentation pour ces oiseaux dans la littérature.

III.4. Conclusion

Dans un premier temps, la distribution spatiale du bécasseau variable *Calidris alpina alpina* en hivernage sur deux vasières intertidales de la Baie de Bourgneuf a permis de déterminer leur comportement de recherche de nourriture sur deux sites présentant des types de biofilms microphytobenthiques différents. Ceci a été possible en tenant compte des mois, de la marée descendante, de la macrofaune et du type d'assemblage microphytobenthique. Dans un second temps, leur régime alimentaire a pu être évalué en utilisant la méthode du traçage isotopique naturel du carbone et de l'azote.

L'analyse des comptages a montré que les bécasseaux variables semblent sélectionner préférentiellement la zone recouverte par de fortes biomasses de microphytobenthos épipélique (Drouet et al., 2015). En effet, la composition isotopique des contenus stomacaux était proche du biofilm épipélique suggérant l'ingestion de ce biofilm par ces oiseaux en mai 2012. Mais en décembre 2012, les valeurs isotopiques des contenus stomacaux en carbone ont montré l'ingestion de biofilm épipsammique. La place du biofilm dans leur régime alimentaire en Baie de Bourgneuf n'est donc pas encore bien définie. Cependant la reconstitution du régime alimentaire du bécasseau variable en Baie de Bourgneuf par le modèle SIAR a montré que sur la période étudiée le biofilm y contribue entre 15% et 28%. Le broutage du biofilm a été prouvé pour des espèces d'oiseaux limicoles parmi les plus petits : le bécasseau d'Alaska Calidris maurii fréquentant quelques sites de la côte Pacifique (Kuwae et al., 2008; 2012) et aussi le bécasseau semi palmé Calidris pusilla dans la Baie de Fundy (côte Atlantique du Canada) (Mac Donald et al., 2012 ; Quinn et Hamilton, 2012), comme cités précédemment. Comme pour d'autres espèces d'oiseaux limicoles, le biofilm est donc une source potentielle d'alimentation pour le bécasseau variable qu'il ne faut pas négliger et dont il faut tenir compte dans l'étude de son comportement trophique sur les vasières intertidales. D'autant qu'à la surface des vasières intertidales, le biofilm microphytobenthique constitue un système de production primaire efficace (Underwood et Kromkamp, 1999) et forme une structure biogénique temporellement dynamique et riche en éléments nutritifs (Decho, 2000). Le microphytobenthos représente donc une importante source de carbone pour les organismes benthiques hétérotrophes (Herman et al., 1999). Ce biofilm constitue une ressource alimentaire majeure pour de nombreuses espèces de

151

la macrofaune comme des mollusques bivalves suspensivores (Herman *et al.*, 1999 ; Decottignies *et al.*, 2007), des gastéropodes brouteurs (Pascal *et al.*, 2008) ou encore des annélides polychètes (Rossi et Middelburg, 2011 ; Van Colen *et al.*, 2010). Ces organismes étant des proies potentielles du bécasseau variable, le biofilm occupe ainsi une position centrale dans le réseau trophique des vasières intertidales et donc du bécasseau variable en servant de nourriture à ses proies et en étant une source alimentaire potentielle directe.

Les résultats isotopiques ont permis d'évaluer la contribution des différentes ressources alimentaires potentielles prélevées dans la Baie de Bourgneuf dans le régime alimentaire des bécasseaux variables. Ils ont démontré des changements alimentaires au cours du cycle de migration de ces oiseaux. En automne, les bécasseaux variables, quittant leur zone de nidification circumpolaire holarctique, arrivent en Baie de Bourgneuf. Une partie reste y passer l'hiver et une autre migre vers des sites d'hivernage plus au sud (cf Bocher et al., 2014a, Chapitre I). Ils peuvent alors présenter des compositions isotopiques reflétant leur alimentation sur des sites plus au nord. Leur régime alimentaire est constitué aussi bien de producteurs primaires que de consommateurs primaires. En hiver, les oiseaux sont bien installés dans la Baie de Bourgneuf. Leur régime alimentaire est stable et leurs compositions isotopiques reflètent ce qu'ils mangent effectivement sur les vasières de la baie : des producteurs primaires et des consommateurs primaires. Pendant la période d'hivernage, leurs proies prédominantes étaient les macroalgues et les bivalves. Au printemps, les oiseaux présents dans la Baie de Bourgneuf y ont passé l'hiver et commencent à partir pour leurs sites de nidification ou sont juste en passage dans la baie pendant cette migration. Ils se sont nourris de producteurs primaires, de consommateurs primaires dans la baie ainsi que sur d'autres sites d'hivernage qu'ils ont fréquentés plusieurs jours avant leur capture.

À partir de notre jeu de données, dresser le réseau trophique des vasières intertidales de la Baie de Bourgneuf des producteurs primaires, les biofilms microphytobenthiques, aux consommateurs secondaires, les bécasseaux variables, en considérant tous les maillons intermédiaires permettrait d'obtenir une vision globale de cet écosystème. Pour ce faire, des analyses isotopiques complémentaires pourraient être réalisées sur d'autres maillons trophiques de cet écosystème. Ce travail aboutirait à une meilleure connaissance de l'environnement essentiel que

152

constitue la Baie de Bourgneuf pour les bécasseaux variables pendant leur hivernage et migration.

Dans le chapitre suivant, nous avons choisi d'étudier l'action fertilisante possible de l'apport de nutriments produits par les fientes de bécasseaux variables sur une espèce de diatomée du biofilm microphytobenthique se développant à la surface des vasières intertidales de la Baie de Bourgneuf.

Chapitre IV. Aperçu de la fertilisation possible des vasières par les fientes du bécasseau variable

IV.1. Introduction

Les oiseaux limicoles sont des composants majeurs de la faune des environnements aquatiques tels que les zones intertidales, les lagunes côtières, les marécages, les marais et les milieux estuariens (par exemple, Hurlbert et Chang, 1983). Leur régime alimentaire comprend un large spectre de nourriture accessible, des poissons aux invertébrés et des plantes vasculaires aux microalgues. En particulier, l'impact de ces oiseaux limicoles sur leurs proies dans les régions tropicales peut expliquer une grande partie de la variabilité observée au niveau des communautés benthiques qu'on y rencontre (Mercier et McNeil, 1994). En effet, ces importants prédateurs modifient les biomasses, la taille et la structure en âge de celles-ci (par exemple, Schneider et Harrington, 1981; Quammen, 1981 ; Weber et Haig, 1997) et par là même la dynamique d'écosystèmes aquatiques entiers (par exemple, Hurlbert et Chang, 1983). Cependant l'apport de nutriments produits par leurs excréments peut aussi avoir des effets positifs sur ceux-ci.

Plusieurs auteurs ont étudié l'impact et l'importance des fientes d'oiseaux dans les écosystèmes côtiers, terrestres et aquatiques (par exemple Golovkin, 1967 ; Leentvaar, 1967 ; Bosman et Hockey, 1986 ; Bosman *et al.*, 1986 ; Powell *et al.* 1989 ; Wootton, 1991 ; Marion *et al.*, 1994 ; Loder *et al.*, 1996 ; Keatley *et al.*, 2009 ; Gwiazda *et al.*, 2010 ; Signa *et al.*, 2012). En effet, les oiseaux aquatiques jouent un rôle important dans l'apport de grandes quantités de nutriments (principalement le phosphore et l'azote) dans les écosystèmes côtiers et marins via la production de guano que ce soit au niveau des reposoirs, des zones d'alimentation ou de nidification (Powell *et al.*, 1989).

Au sein des réseaux trophiques, deux grands mécanismes co-existent pour maintenir un équilibre dynamique au sein des communautés : la régulation des ressources par leurs consommateurs appelée « top-down » et le contrôle des consommateurs par les ressources nutritives disponibles appelé « bottom-up ». Les oiseaux peuvent donc influencer la structure des communautés via la prédation et/ou via l'apport de nutriments dans le milieu (Hairston *et al.*, 1960 ; Odum, 1969). Cependant, il existe également des preuves d'effets mixtes, notamment sur les environnements à substrat meuble, incluant à la fois les interactions proies/prédateurs et aussi la limitation en nutriments (Foreman *et al.*, 1995). Dans ce dernier chapitre, nous nous sommes intéressés à la rétroaction possible entre les oiseaux limicoles et les

157

microalgues du microphytobenthos. Le but de notre étude était de déterminer s'il existe un effet fertilisant des fientes d'oiseaux limicoles sur les microalgues du microphytobenthos. Pour cela nous avons cultivé la diatomée *Entomoneis palusoda*, composante de certains biofilms microphytobenthiques, sur différents milieux enrichis avec des fientes de bécasseau variable, *Calidris alpina*. Cette étude est présentée sous la forme d'un article soumis dans "Journal of Experimental Marine Biology and Ecology" et intitulé: "Growth and biochemical composition of a microphytobenthic diatom (*Entomoneis paludosa*) exposed to shorebird (*Calidris alpina*) droppings".
IV.2. Growth and biochemical composition of a microphytobenthic diatom (*Entomoneis paludosa*) exposed to shorebird (*Calidris alpina*) droppings

Thierry Jauffrais, Sigrid Drouet, Vincent Turpin, Vona Méléder, Bruno Jesus, Bruno Cognie, Patrick Raimbault, Richard P. Cosson, Priscilla Decottignies, Véronique Martin Jézéquel

Article en préparation pour le journal "Journal of Experimental Marine Biology and Ecology"

Abstract

Intertidal mudflats are important feeding areas for migrating and wintering shorebird species. Partial release of organic and inorganic nutrients through bird excretion may enrich the nutrients flow of mudflat ecosystems, especially in areas with a low flushing rate. The objective of the present work was to experimentally evaluate the effect of Dunlin droppings on the microphytobenthic diatom, Entomoneis paludosa (W. Smith) Reimer, and to assess shorebird fertilizing effects on mudflat primary producers. Different nutritional conditions were tested to investigate the impact on: growth rate, biomass, elemental (CHN) and biochemical composition (lipids, proteins, carbohydrates, pigments) of E. paludosa in culture. Artificial seawater with or without F/2 based culture medium was enriched with different nitrate concentration (50 or 882 µM) an/or bird dropping extract. The faeces extracts contained inorganic nitrogen (9.1 µM-NH4), inorganic phosphorus (8.2 µM-PO4) and traces of silicate (0.2 µM-Si). Organic nitrogen was also present in the form of urea (16 µM-N) and other dissolved organic nitrogen (120 µM-N). E. paludosa was able to grow (up to 6.8 cell divisions in 9 days) on artificial seawater enriched only with bird dropping extracts. Furthermore, a significant growth rate increase (+0.1 to 0.2 day-1) and higher biomasses were obtained when faeces extract was added to an organic medium enriched with 50 µM -NO3. Contrastingly, no growth rate or biomass changes were observed when nitrate was added in a culture containing the faeces extract. Moreover, the addition of faeces extract to a culture medium containing 50µM-NO3 significantly increased the concentration in proteins and decreased the concentration in carbohydrates, compared to the same culture medium without the extract addition. Consequently, major or trace nutrients added by the bird droppings had an effect in E. paludosa final biochemical composition. Pigments content per cell also increased with the addition of bird dropping extract, whereas light-harvesting accessory pigment and photoprotective pigments ratios to chlorophyll a were unaffected. The good nutritional enrichment by faeces extract was reflected by high cellular nitrogen and carbon contents in this culture condition, close to those obtained when cells were grown in the F/2 enrichment. This study showed that shorebird droppings, through the addition of dissolved material, can affect microphytobenthic diatom growth and biochemical composition, by enriching phosphorus and nitrogen fluxes (ammonium, urea and other dissolved organic nitrogen).

V.2.1. Introduction

Microphytobenthic biofilms are often the main primary producers of intertidal flats. Microphytobenthos (MPB) assemblages can be composed of benthic microalgae, cyanobacteria and photosynthetic bacteria (MacIntyre et al., 1996). However, microphytobenthic mudflat assemblages are most often dominated by benthic diatoms that accumulate in the upper sediment layers (first millimeters) (Méléder et al., 2007; Ribeiro et al., 2013). Microphytobenthos is considered as a major contributor to mudflats primary production providing up to 1g of C m⁻² dav⁻¹ (Underwood and Kromkamp, 1999) and is an important energy source for secondary producers (Blanchard et al., 2001), such as deposit and suspension feeders (Austen et al., 1999; Kang et al., 1999; Pinckney et al., 2003; Riera, 2010). Intertidal mudflats are also important feeding areas for migrating and wintering shorebird species strongly supported by MPB at the base of their trophic chain (Kuwae et al., 2012). Allochthonous nutrient inputs (e.g. from fertilizer, sewage, fish, or birds) may have significant effects in food web and ecosystems (Polis et al., 1997; Polis et al., 2004). Bird dropping (guano) deposition adds inorganic and organic matter to coastal sediments. These natural guano depositions are recognized as important organic and inorganic nutrient sources for intertidal primary producers nearby seabird breeding colonies off the west coast of South Africa (Bosman and Hockey, 1986; Bosman et al., 1986). Droppings of several birds (e.g. Fulmarus glacialis, Eudyptes chrysolophus, Larus michahellis) were shown to increase natural concentrations of nitrogen, phosphorus, carbon, and some trace elements (e.g., As, Cd, Cr, Cu, K, Ni, Pb, V, Zn) (Brimble et al., 2009; Signa et al., 2012; Signa et al., 2013); which can be essential elements for autotrophic or heterotrophic microalgal growth. Nutrients released from bird excretion may affect local nutrient fluxes in coastal ecosystems (Bosman and Hockey, 1986; Golovkin, 1967), and increases in guano nutrient loads may impact some ecosystems, e.g. lakes, tidal pools, reservoirs or bays with low flushing rates (Gwiazda et al., 2010; Keatley et al., 2009; Loder et al., 1996; Marion et al., 1994). Namely, guano nutrient inputs can affect diatom assemblage and diversity induced by changes in water quality (nutrients, pH), i.e. eutrophication (Keatley et al., 2009). They can also increase macroalgae and phytoplankton biomass (Bosman et al., 1986; Gwiazda et al., 2010).

Calidris alpina is present along most of the European coastlines and it is amongst the shorebirds that could have an impact on mudflat primary production. In intertidal

coastal habitats C. alpina mainly feeds on marine polychaetes, molluscs, crustaceans (Davidson, 2009; Dierschke et al., 1999a; Dierschke et al., 1999b; Durell and Kelly, 1990; Mouritsen, 1994) but is also able to feed on microphytobenthic biofilm (Elner et al., 2005; Kuwae et al., 2012; Mathot et al., 2010). Thus, a direct nutrient loop between some shorebirds and microphytobenthic biofilms can exist. Particularly, guano nutrients may have an effect on microphytobenthic diatoms that are capable of assimilating organic and inorganic nitrogen (Allen *et al.*, 2011; Linares and Sundback, 2006; Sundback et al., 2011) and organic carbon compounds (Admiraal and Peletier, 1979). Studies about the effect of guano nutrient loadings have been mainly focused on rocky coastal areas, near nesting sites or on closed areas such as lakes, reservoirs, or tidal pools rates (Gwiazda et al., 2010; Keatley et al., 2009; Loder et al., 1996; Marion et al., 1994). To our knowledge no studies were carried out on the effect of shorebird droppings on primary production on mudflat ecosystems, which are well known to be shorebird feeding areas. The objective of the current work was to evaluate the effect of Dunlin, C. alpina, droppings, in particular as a potential source of nitrogen, on the growth and biochemical composition of a pennate diatom *E. paludosa*. Diatoms which are commonly found in mudflat microphytobenthos (Meleder et al., 2007; Ribeiro et al., 2003; Ribeiro et al., 2013; Sabbe, 1997). We thus carried out experiments in controlled systems using a benthic diatom strain isolated from a mudflat of the French Atlantic Coasts and grown with different bird dropping enrichments.

IV.2.2. Materials and method

Sampling site

Calidris alpina droppings were collected at La Coupelasse, a mudflat located in Bourgneuf Bay (47°01N, 2°02W, Figure IV.1). The bay is situated on the Atlantic French coast and is characterized by 100 km² of intertidal mudflats. It is one of the five French main wintering wader sites, harboring each year 30,000 birds including 19,000 Dunlin (Mahéo and Le Dréan-Quénec'hdu, 2013; Wetlands International, 2012). Major inorganic nutrients (N, P or Si) usually limit this area of primary production during spring and summer before nutrient replenishment in autumn and winter due to runoff (Barille-Boyer *et al.*, 1997).



Figure IV.1: Location of Bourgneuf Bay, the star indicates the place where the bird droppings and *Entomoneis paludosa* strain were collected; the intertidal area is represented in light grey.

Figure IV.1 : Localisation de la Baie de Bourgneuf, l'étoile indique le site de prélèvement des fientes de bécasseaux variables et de la souche d'*Entomoneis paludosa* ; la zone intertidale est représentée en gris clair.

Entomoneis paludosa

Entomoneis paludosa (W. Smith) Reimer, strain NCC 18.2 (Nantes Culture Collection) was isolated from Bourgneuf Bay intertidal sediments (France, Figure IV.1). The diatom was maintained in 400 mL batch cultures (500 mL Erlenmeyer flask containing 400 ml of culture medium) at 17° C, salinity of 35, photon flux density (PFD) of 90 μ mol m⁻² s⁻¹ using cool light fluorescent lamp (Lumix day light, L30W/865, Osram) and a photoperiod of 14:10 h Light:Dark. This stock-culture was kept in exponential growth phase by weekly transferring an inoculum into fresh, autoclaved artificial seawater medium (ASW) enriched with nutrients as described in Wolfstein and Stal (2002) and vitamins as F/2 (Guillard, 1975; Guillard and Ryther, 1962).

Faeces extract

Fresh Dunlin droppings and sediments were collected in February 2013 at La Coupelasse (Figure IV.1), put in Eppendorf vials (1.5 mL) previously washed with MeOH, frozen with liquid nitrogen and stored at -80°C in the laboratory. Before use, the guano or the sediment were prepared as follow: samples were dried (70°C, 48h) and ground to a thin powder. The faeces extract was made with 7.5 g of guano powder (75 droppings) solubilised in 30 mL of MilliQ water over night (12 h, 5°C) using a magnetic stirrer. After centrifugation (3000 g, 30 min, 5°C) the supernatant was filtered (0.22 μ m) and frozen (-80°C) as a stock-solution. The culture enrichments were made using 3mL of this faeces extract stock-solution in 1 L of medium (see Table IV.1).

Experimental set up

To test the effect of shorebird droppings on diatom growth and biochemical composition, aliquots (1 mL) of *E. paludosa* stock culture were inoculated in triplicates in 500 mL aerated Erlenmeyer flasks (Pyrex) filled with 400 mL of medium based on autoclaved ASW and incubated in conditions similar to the stock culture. The initial cell concentration was equal to 1400 ± 380 cell mL⁻¹ for all culture conditions. Four nutritional enrichments of different nitrates concentrations and/or faeces extract were used (cultures FE, MFE, M50FE and M50 in Table IV.1) and two controls (ASW and M882=ASW with F/2 based culture medium, in Table IV.1). Microalgal growth was monitored until reaching the stationary phase of growth. Microalgae were sampled daily and fixed with lugol before counting. Samples for biochemical and nutrients analyses were collected at the end of the experiment at the beginning of the stationary phase of growth.

Microalgal cells count

Cell counts were made in triplicate, using a Nageotte haemocytometer and an optical microscope (x400), after sample sonication (Elma, S30 Elmasonic) for 5 min to avoid cellular aggregation.

Average growth rates were estimated during logarithmic growth phase following:

 $\mu = (LnC_t - LnC_0) / t$ (1)

Where C₀ was the initial cell concentration and C_t the cell concentration (cells mL⁻¹) after t days (Guillard, 1973). Maximum growth rate (μ_{max} in day⁻¹), maximum cell concentration ($\alpha = \log(C_t/C_0)$ with C_t in cell mL⁻¹) and latency time (λ in day, if present) were determined after fitting a Gompertz model using MatLab software:

$$F(t) = \alpha x \exp(-\exp((\mu_{\max} x \exp(1))/(\alpha x (\lambda - t) + 1)))$$
(2)

Table IV.1: Microalgal media composition for the different experimental conditions (FE: Faeces Extract, MFE: medium + FE, M50FE: medium + 50μ M N + FE, M50: medium + 50μ M N, M882: medium + 882μ M N).

Tableau IV.1 : Composition des milieux de culture des microalgues dans les différentes conditions expérimentales (FE : extrait de féces, MFE : milieu de culture moyen + FE, M50FE : milieu de culture moyen + 50 μ M N + FE, M50 : milieu de culture moyen + 50 μ M N, M882 : milieu de culture moyen + 882 μ M N).

Elements	Molar concentration in final medium (M)	ASW	FE	MFE	M50FE	M50	M882
NaCl	4.12 x 10 ⁻¹	+	+	+	+	+	+
Na₂SO₄	2.25 x 10 ⁻²	+	+	+	+	+	+
MgCl ₂ , 6H ₂ O	4.28 x 10 ⁻²	+	+	+	+	+	+
KCI	7.24 x 10 ⁻³	+	+	+	+	+	+
CaCl ₂ , 2H ₂ O	1.09 x 10 ⁻²	+	+	+	+	+	+
NaSiO ₃ , 9H ₂ O	1.15 x 10 ⁻⁴	-	-	+	+	+	+
NaH ₂ PO ₄ , H ₂ O	3.62 x 10 ⁻⁵	-	-	+	+	+	+
NaHCO ₃	2.12 x 10 ⁻³	-	-	+	+	+	+
H ₃ BO ₃	1.78 x 10 ⁻⁴	-	-	+	+	+	+
KBr	1.25 x 10 ⁻⁵	-	-	+	+	+	+
SrCl ₂ , 6H ₂ O	3.75 x 10 ⁻⁵	-	-	+	+	+	+
Trace metal solution	(F/2)*+Yerseke	-	-	+	+	+	+
Vitamin solution	(F/2)*	-	-	+	+	+	+
NaNO ₃	Μ	0	0	0	5 x 10 ⁻⁵	5 x 10⁻⁵	8.82 x 10 ⁻⁴
FE composition	concentration in final medium						
NH4-N	μΜ-Ν	-	9.1 ± 1.2	9.1 ± 1.2	9.1 ± 1.2	-	-
NO2-N	μM-N	-	<lod< th=""><th><lod< th=""><th><lod< th=""><th>-</th><th>-</th></lod<></th></lod<></th></lod<>	<lod< th=""><th><lod< th=""><th>-</th><th>-</th></lod<></th></lod<>	<lod< th=""><th>-</th><th>-</th></lod<>	-	-
NO3-N	μM-N	-	<lod< th=""><th><lod< th=""><th><lod< th=""><th>-</th><th>-</th></lod<></th></lod<></th></lod<>	<lod< th=""><th><lod< th=""><th>-</th><th>-</th></lod<></th></lod<>	<lod< th=""><th>-</th><th>-</th></lod<>	-	-
Urea-N	μM-N	-	16 ± 2.2	16 ± 2.2	16 ± 2.2	-	-
DON**	µM-N	-	120 ± 0.7	120 ± 0.7	120 ± 0.7	-	-
DOC	μМ-С	-	416 ± 7	416 ± 7	416 ± 7	-	-
PO4-P	µM-P	-	8.2 ± 1.1	8.2 ± 1.1	8.2 ± 1.1	-	-
Si	µM-Si	-	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0	-	-
Initial inorganic N/P ratio		0	1.1	0.2	1.3	1.4	24.4
Initial total N/P ratio		0	17.7	3.3	4.4	1.4	24.4

*Guillard and Ryther 1962, Guillard 1975

** Without urea

Biochemical analyses

Particulate carbon and nitrogen: 10 mL of culture were filtered through precombusted Whatman GF/C glass filters and dried at 70°C for 48 h. Particulate nitrogen and carbon, were determined by elemental analysis (Thermo Scientific FLASH 2000 Series CHNS Analyzer). Cellular nitrogen (QN) and carbon (QC) quotas were calculated on the basis of the mean cell concentration. The analyses were performed both on dry faeces (3 mg) and sediment.

Carbohydrates: 10 mL of culture were centrifuged and using the algal pellet, diatom carbohydrate content was determined according to the sulphuric acid colorimetric method (Dubois *et al.*, 1956), based on phenolphthalein absorbance at 490 nm.

Proteins: the extraction was adapted from Marchetti *et al.* (2013). Samples (10 mL of culture) were centrifuged (2500 *g*, 5°C, 30 min) to remove the culture medium and the algal pellet was stored at -80° C until protein extraction. The pellet was resuspended in 0.5 mL of acetone (100%), put in an iced bath for 30 min for protein precipitation and centrifuged (15000 *g*, 5°C, 10 min) to collect the protein pellet. Proteins were then rinsed twice with 70 % acetone (2.5:1, v/v) and solubilised in 0.5 mL of ultra-pure water. Solubilised proteins were quantified using a BCA protein assay kit (Pierce) based on alkaline copper colorimetric quantification at 562 nm (Lowry *et al.*, 1951).

Lipids: samples (50 mL of culture) were centrifuged (2500 *g*, 5°C, 30 min) and pellets were stored at -20° C until extraction. Lipids were extracted from the pellet with 1 mL chloroform:methanol (2:1v/v) (Folch *et al.*, 1957) and stored at -20° C over night. The Bligh and Dyer's method (1959) was then used, in which dichloromethane and ethanol were replaced by chloroform and methanol in the same solvent mixing proportion (1:2v/v). Hence, 1 mL of CHCl₃ and 0.9 mL of water were added to 1 mL of Folch extract. After centrifugation, the organic phase was recovered in a preweighed haemolysis tube. The water/methanol phase was rinsed twice with 1 mL CHCl₃ to collect the residual organic phase, which was then added to the previous organic fraction. The whole organic phase was then dried under nitrogen flow, stored in a desiccator for 24 h and weighed.

Pigments: analyses were performed by high-performance liquid chromatography (HPLC) using an Ultimate 3000 RS (Dionex) following an adaptation of Mantoura and Llewellyn (1983). Briefly, 10 mL of culture were centrifuged (2500 g, 5°C, 30 min), the supernatant was discarded and the algal pellet was stored at -80°C until analysis. For

the analysis, the algal pellet was suspended in 0.5 mL of methanol at 95% (MeOH:H₂O v/v) with 2% of ammonium acetate. The sample was transferred and agitated in an Eppendorf (2 mL vials), subsequently maintained at -20°C for 15 min, and finally centrifuged (15000 g, 5°C, 10 min). The supernatant was collected and the pellet resuspended again with 0.5 mL methanol: ammonium acetate solution. This operation was repeated three times for a complete pigment extraction, and the three pigments extracts were pooled. Before HPLC analysis, 0.5 mL of the pigment extracts (1.5mL) was diluted in a HPLC vial with 0.5 mL of ammonium acetate (1 M) to optimise pigment elution and 100µL were injected. The chromatographic analysis is described in Meleder et al. (2003). The different pigments were identified using their absorption spectra between 400 and 800 nm measured with a photodiode-array detector. The quantification was carried out at 440 nm by comparison with pigments standards (DHI, Denmark). In addition to chlorophyll a, the main diatom pigments were also quantified, i.e. chlorophyll *c*, fucoxanthin, diadinoxanthin, diatoxanthin and β -carotene. For some of these pigments, concentrations were given as the sum of their different chemical forms: chlorophyll a = chl a + allomer + epimer, chlorophyll c =Chl c1 + Chl c2, fucoxanthin = fucoxanthin + by-products.

Nutrients analyses

All dissolved nutrients were analyzed after filtering the culture media with Nuclepore polycarbonate filters (2 μ m). The concentration of nitrates, nitrites, silicates and phosphates in the culture medium were determined using a continuous-flow auto-analyser (SKALAR) and standard chemical methods (Strickland and Parsons, 1972). Ammonium and urea were quantified from freshly filtered samples of culture medium using respectively the indophenol-blue method adapted for seawater (Koroleff, 1970) and the diacetylmonoxime thiosemicarbazide method (Mulvenna and Savidge, 1992) modified for room temperature reaction (Goeyens *et al.*, 1998). Dissolved organic nitrogen and carbon were analysed using a wet oxidation technique associated to automated colorimetry as described in Raimbault *et al.* (1999).

Data analysis

All data are expressed as mean ± standard deviation (SD). Statistical differences were tested using one-way analysis of variance (ANOVA) or with Kruskal–Wallis

tests when homoscedasticity and normality were not observed. When necessary, a Fisher's least significant difference procedure or a box-and-whisker plot was applied. Differences were considered significant at p < 0.05. Linear regression analyses were used to assess relationship between data expressed in per cell or in particulate carbon basis. Statistical analyses were carried out using Statgraphics Centurion XV.I (StatPoint Technologies, Inc.).

IV.2.3. Results

Bird dropping composition

The faeces dry extract used in the experiments was composed of $0.78 \pm 0.24\%$ nitrogen, 9.67 \pm 3.48% carbon and 0.47 \pm 0.11% hydrogen, whereas dry sediment was composed of 0.04 \pm 0.01% nitrogen, 7.89 \pm 0.25% carbon and 0.41 \pm 0.11% hydrogen.

When the dry faeces extract was used to enrich sea water (media with FE), 9.1 μ M-N of inorganic nitrogen were added as ammonia, being the dominant N-form; whereas nitrites and nitrates were not detected (Table IV.1). Organic nitrogen was also quantified as urea (16 μ M-N) and as other unidentified DON compounds (120 ± 0.7 μ M-N). Dissolved inorganic phosphate was detected in the form of ortho-phosphate (8.2 μ M-P) and Si was only found as a trace element (Table IV.1).

Growth performances

At the beginning of the experiment, the inorganic N/P ratio calculated on a molar basis for each culture condition was very low (Table IV.1), and only the ratio calculated for the M882 condition (12.2) was close to the Redfield value (16) which is considered the good elemental condition for growth (Table IV.1). Adding organic to inorganic nitrogen increased the N/P ratio in the FE condition to 17.7 which was close to the value found in M882 condition. Bird dropping extract added to the artificial sea water (FE condition) was sufficient to sustain several microalgal cell divisions (6.78 \pm 0.24) and allowed the culture to reach a biomass of 1.4 10⁵ cell mL⁻¹ whereas no growth was observed in pure artificial sea water (ASW condition) (Figure IV.2 and Table IV.2).



Figure IV.2: Growth curves of *E paludosa*. Left: Gompertz model fitted to cell concentration as a function of time. Right: *E. paludosa* concentration $(x10^5 \text{ cell mL}^{-1})$ as a function of time. (FE: Faeces Extract, MFE: medium + FE, M50FE: medium + 50µM N + FE, M50: medium + 50µM N, M882: medium + 882µM N), n=3.

Figure IV.2 : Courbes de croissance d'*Entomoneis paludosa*. À gauche: modèle de Gompertz ajusté à la concentration cellulaire en fonction du temps. À droite: concentration de *E. paludosa* (x10⁵ cell.mL⁻¹) en fonction du temps. (FE : extrait de féces, MFE : milieu de culture moyen + FE, M50FE : milieu de culture moyen + 50 μ M N + FE, M50 : milieu de culture moyen + 50 μ M N, M882 : milieu de culture moyen + 882 μ M N), n = 3.

Adding faeces extract to culture medium had a significant positive effect on *E. paludosa* growth. Microalgal growth rates (μ and μ_{max}) increased from 0.1 to 0.2 day⁻¹ (Table IV.2) in cultures where bird dropping extract was added to the medium (MFE and M50FE conditions) compared to the cultures without faeces extract but with nitrate as unique nitrogen source (M50 and M882 conditions). Although growth rates increased in faeces enriched conditions the maximal biomass and the number of cell divisions were dependent on the presence of trace elements and on total nitrogen concentration. The highest nitrogen enrichment (M882 condition) resulted in the highest biomass and the addition of faeces extract media already enriched with nitrogen also increased significantly the algal biomass, as observed between M50 and M50FE conditions (Table IV.2).

Table IV.2: General growth characteristics of *Entomoneis paludosa* grown under the different experimental conditions (symbols as in table IV.1). Values with the same letter (a, b or c) are not significantly different (P > 0.05).

Tableau IV.2 : Caractéristiques générales de la croissance d'Entomoneis paludosa cultivé dans les
différentes conditions expérimentales (symboles similaires au tableau IV.1). Les valeurs avec la même
lettre (a, b ou c) ne sont pas significativement différentes (P > 0,05).

	Maximum growth	Mean growth	Number of	Maximal biomass
	rate µ _{max} (day ')*	rate µ (day)	division	(10° cell.mL ')
ASW	-	-	-	-
FE	0.74 (0.58, 0.89)	0.64 ± 0.04 c	6.78 ± 0.24 c	1.40 ± 0.21 d
MFE	1.67 (1.28, 2.06)	1.34 ± 0.01 a	8.31 ± 0.27 a	4.20 ± 0.93 bc
M50FE	1.78 (1.46, 2.10)	1.33 ± 0.04 a	8.22 ± 0.35 a	4.32 ± 0.13 b
M50	1.55 (1.25, 1.85)	1.15 ± 0.06 b	7.72 ± 0.20 b	3.40 ± 0.68 c
M882	1.41 (1.24, 1.58)	1.13 ± 0.04 b	8.64 ± 0.08 a	5.67 ± 0.32 a
p-value**	-	0.021	0.001	0.000

* μ_{max} is calculated using the Gompertz model and is presented with its range of confidence at 95% **The p-value is considered significant when P < 0.05, n=3

Biochemical composition

A significant correlation was found between values calculated as pg cell⁻¹ and g g⁻¹C for proteins (p<0.001, adjusted R²=0.94, n=15); lipids (p<0.05, adjusted R²=0.43, n=15); and carbohydrates (p<0.001, adjusted R²=0.83, n=15). Addition of bird droppings to the culture medium did not had a significant effect on cellular carbon quota (QC) (p=0.085, Figure 3A), i.e. 30 pgC cell⁻¹<Qc< 46 pgC cell⁻¹. Thus, no effects due to cell cycle or cell size were observed in this experiment and we focused the results and discussion in the per-cell units data. Cellular nitrogen quota (QN, Figure IV.3B) showed significant differences between the treatments (p=0.01) and three culture conditions showed significant lower nitrogen concentrations (pgN cell⁻¹: 2.9 ± 0.8 (MFE), 3.9 ± 0.6 (M50FE) and 1.8 ± 0.9 (M50)) compared to culture enriched solely with faeces extract (FE, 6.2 ± 0.6 pgN cell⁻¹) and to cultures enriched with a high nitrogen concentration (882 µM-N; 7.7 ± 0.7 pgN cell⁻¹). The same pattern was observed when nitrogen concentrations were expressed per carbon (Figure IV.3C).

Table IV.3: Cellular quota in protein, lipid, and carbohydrate of *Entomoneis paludosa* expressed in pg cell⁻¹ and in per carbon $(x10^3 \text{ g.g}^{-1})$ as a function of the different experimental conditions (symbols as in table IV.1) at the end of the experiment. Values with the same letter are not significantly different (P>0.05).

Tableau IV.3: Concentration cellulaire en protéines, lipides, et glucides d'*Entomoneis paludosa* à la fin de l'expérience, exprimée en pg.cell⁻¹ et par carbone (x10³ g.g⁻¹) dans les différentes conditions expérimentales (symboles similaires au tableau IV.1). Les valeurs avec la même lettre (a, b ou c) ne sont pas significativement différentes (P > 0,05).

pg.cell ⁻¹	FE	MFE	M50FE	M50	M882	P-value*
Proteins	22.9 ± 6.1 b	14.9 ± 2.6 c	21.1 ± 2.4 b	7.70± 0.97 d	46.2 ± 1.9 a	0.015
Lipids	89.9 ± 6.8 a	43.8 ± 2.8 b	48.2 ± 5.2 b	44.8 ± 5.9 b	48.8 ± 2.9 b	0.038
Carbohydrates	39.6 ± 18.5 d	66.9 ± 3.3 c	87.3 ± 9.3 b	116.3 ± 5.4 a	40.9 ± 5.6 d	0.000
g.g ⁻¹						
Proteins	0.50 ±0.13 b	0.46 ± 0.03 b	0.55 ± 0.08 b	0.27 ± 0.12 c	1.05 ± 0.09 a	0.020
Lipids	1.98 ± 0.15	1.36 ± 0.21	1.27 ± 0.34	1.60 ± 0.49	1.07 ± 0.02	0.063
Carbohydrates	0.87 ± 0.40 c	2.09 ± 0.30 b	2.28 ± 0.36 b	4.04 ± 1.07 a	0.89 ± 0.05 c	0.000
*The p-value is considered significant when $P < 0.05$, n=3						

Microalgae final protein concentrations varied according to the culture conditions, from 7.7 to 46.2 pg cell⁻¹ (p=0.015, Table IV.3). Protein content was affected by the amount of nitrogen added at the beginning of the experiment, e.g. the highest protein concentration was obtained in diatoms grown in the cultures with the highest nitrogen concentration (882µM-N, Table IV.3). Lipid contents were significantly different among the experimental conditions (p=0.038); however, observed differences were mainly due to FE condition that already contained a higher lipid quota, whereas lipid composition in the other four conditions showed no differences (Table IV.3). Carbohydrate contents also showed significant differences, from 39.6 to 116.3 pg cell⁻¹ (p<0.001) between the culture conditions (Table IV.3). In particular, the highest values were obtained for cells grown in MFE, M50FE and M50 conditions with significant differences (p<0.05) between the three cultures.

Pigments composition

Significant differences were observed for chlorophyll *a*, fucoxanthin, chlorophyll *c*, diadinoxanthin, diatoxanthin and total pigment quota on a per-cell basis, but not for β -carotene concentration (Table IV.4). Initial nitrogen concentration was the main factor that affected pigment per cell concentrations, similarly to what was observed for proteins (i.e. Table IV.1, IV.3 and IV.5) with M882 condition showing the highest pigment concentration per cell (Table IV.4). Total pigment content also showed significant differences between M50 and M50FE conditions 0.84 and 2.04 pg cell⁻¹, respectively. Light harvesting and photo-protective pigment ratios ((fuco+Chl *c*)/Chl *a*

and (Dd+Dt)/Chl *a*, respectively) showed no significant differences (p = 0.20 and p = 0.11, respectively, Table IV.4).

Table IV.4: Pigments quota of *Entomoneis paludosa*, expressed in pg cell⁻¹ and in per carbon (x10³ g.g⁻¹), ratio in g.g⁻¹ for the different experimental conditions (symbols as in table IV.1).

Tableau IV.4: Concentration pigmentaire d'*Entomoneis paludosa* dans les différentes conditions expérimentales (symboles similaires au tableau IV.1), exprimée en pg.cell⁻¹, par carbone (x10³ gg⁻¹) et en g.g⁻¹ pour les ratios.

pg.cell ⁻¹	FE	MFE	M50FE	M50	M882	P-value
Chl a	1.36 ± 0.60 b	0.89 ± 0.18 bc	1.19 ± 0.12 bc	0.49 ± 0.24 c	3.33 ± 0.63 a	0.039
Fuco	0.66 ± 0.11 b	0.39 ± 0.08 b	0.61 ± 0.22 b	0.25 ± 0.01 b	2.11 ± 0.2 a	0.030
Chl c2	0.16 ± 0.03 b	0.05 ± 0.02 b	0.12 ± 0.02 b	0.03 ± 0.01 b	0.57 ± 0.2 a	0.023
Diadino	0.16 ± 0.02 b	0.07 ± 0.01 cd	0.11 ± 0.02 bc	0.05 ± 0.02 d	0.35 ± 0.06 a	0.024
βε Caro	0.06 ± 0.06	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.03 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.131
Diato	0.008 ± 0.001 b	0.004 ± 0.001 b	0.003 ± 0.002 b	<lod< td=""><td>0.06 ± 0.03 a</td><td>0.039</td></lod<>	0.06 ± 0.03 a	0.039
Total	2.41 ± 0.81 b	1.42 ± 0.29 bc	2.04 ± 0.29 b	0.84 ± 0.36 c	6.59 ± 1.58 a	0.031
x10 ³ g.g ⁻¹						
Chl a	29.72 ± 12.46	27.34 ± 4.76	31.05 ± 3.9	18.33 ± 13.79	75.47 ± 10.75	0.174
Fuco	14.57 ± 2.25	12.14 ± 2.54	15.64 ± 0.99	9.15 ± 5.32	47.82 ± 12.30	0.090
Chl c2	3.62 ± 0.63 b	1.69 ± 0.53 b	3.09 ± 0.18 b	1.19 ± 0.66 b	12.92 ± 3.96 a	0.031
Diadino	3.42 ± 0.38 b	2.28 ± 0.33 c	2.82 ± 0.20 cb	1.77 ± 1.13 c	7.93 ± 0.95 a	0.026
βε Caro	1.29 ± 1.24	0.27 ± 0.47	0.18 ± 0.31	0.94 ± 0.78	4.07 ± 0.21	0.132
Diato	0.17 ± 0.02 b	0.11 ± 0.04 b	0.07 ± 0.06 b	<lod< td=""><td>1.02 ± 0.52 a</td><td>0.030</td></lod<>	1.02 ± 0.52 a	0.030
Total	52.79 ± 16.40	43.84 ± 8.25	52.84 ± 4.85	31.39 ± 21.67	149.24 ± 28.70	0.129
g.g ⁻¹						
(Fuco+Chl c) /Chl a	0.66 ± 0.17	0.50 ± 0.03	0.61 ± 0.04	0.62 ± 0.14	0.80 ± 0.10	0.200
(Dd+Dt)/Chl a	0.13 ± 0.03	0.09 ± 0.002	0.09 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.12 ± 0.002	0.111

*The p-value is considered significant when P<0.05, n=3

Table IV.5: Concentration in macronutrients for all conditions at the end of the experiment (symbols as in table IV.1).

Tableau IV.5: Concent	ration en macronutrin	nents (µM) mesı	urée à la fin de	l'expérience	et dans les
différentes conditions ex	xpérimentales (symbo	les similaires au	tableau IV.1).		

Final Concentration (µM)	FE	MFE	M50FE	M50	M882
NH ₄ -N	1.7 ± 0.4	<lod< td=""><td>0.1 ± 0.1</td><td><lod< td=""><td>6.5 ± 2.5</td></lod<></td></lod<>	0.1 ± 0.1	<lod< td=""><td>6.5 ± 2.5</td></lod<>	6.5 ± 2.5
NO ₂ -N	<lod< td=""><td><lod< td=""><td><lod< td=""><td><lod< td=""><td>4.0 ± 1.1</td></lod<></td></lod<></td></lod<></td></lod<>	<lod< td=""><td><lod< td=""><td><lod< td=""><td>4.0 ± 1.1</td></lod<></td></lod<></td></lod<>	<lod< td=""><td><lod< td=""><td>4.0 ± 1.1</td></lod<></td></lod<>	<lod< td=""><td>4.0 ± 1.1</td></lod<>	4.0 ± 1.1
NO ₃ -N	<lod< td=""><td><lod< td=""><td><lod< td=""><td>1.2 ± 1.6</td><td>631.5 ± 115.5</td></lod<></td></lod<></td></lod<>	<lod< td=""><td><lod< td=""><td>1.2 ± 1.6</td><td>631.5 ± 115.5</td></lod<></td></lod<>	<lod< td=""><td>1.2 ± 1.6</td><td>631.5 ± 115.5</td></lod<>	1.2 ± 1.6	631.5 ± 115.5
Urea-N	4 ± 0.4	1.1 ± 0.3	1.7 ± 0.1	0.3 ± 0.4	19.5 ± 29.3
DON*	74 ± 8	79 ± 13	94 ± 13	41 ± 2.3	184 ± 49.5
DOC	1198 ± 88	1362 ± 480	1491 ± 360	369 ± 42	859 ± 93
PO4-P	1.8 ± 0.5	45.8 ± 7.6	46.9 ± 3.6	42.8 ± 0.4	37.2 ± 5.5
Si	< LOD	< LOD	0.8 ± 0.7	0.4 ± 0.3	0.9 ± 0.6
Inorganic N/P ratio	0.9	0	0	0	17.4
Total N/P ratio	44.3	1.7	2	1	22.7

* Without urea



Figure IV.3: Cellular quota of *Entomoneis paludosa* as a function of the different experimental conditions at the end of the experiment. A: carbon (QC); B: nitrogen (QN); C: nitrogen quota percarbon (QN/QC). Values with the same letter are not significantly different (P>0.05), n=3.

Figure IV.3: Concentration cellulaire d'*Entomoneis paludosa* mesurée dans les différentes conditions expérimentales (symboles similaires au tableau IV.1) à la fin de l'expérience. A : carbone (QC) ; B : azote (QN) ; C : ratio azote sur carbone (QN/QC). Les valeurs avec la même lettre (a, b ou c) ne sont pas significativement différentes (P > 0,05), n = 3.

IV.2.4. Discussion

In the present study *E. paludosa*, a benthic diatom representative of the main life form inhabiting muddy sediments was grown in different culture media enriched with faecal extracts from bird dropping. The objective was to determine if Dunlin droppings have a fertilizing effect on microphytobenthos growth, biomass and biochemical composition and to evaluate the potential impact of wintering shorebirds on Bourgneuf Bay mudflats primary producers. Adding Dunlin faecal extracts to *E. paludosa* growth media showed significant effects on growth, biomass and biochemical composition.

Growth

The Dunlin dropping extract used for our experimental enrichments was prepared as in Loder et al. (1996), a study designed to follow the dynamics of ammonia in rockpools near gull rookeries. Similarly to Loder et al. (1996) almost all inorganic nitrogen in the extract was found in the form of ammonia. However, urea and other DON compounds known to be assimilated by some diatom species were also detected in the faeces extract (Antia et al., 1991; Linares, 2006; Linares and Sundback, 2006; Sundback et al., 2011). In our experiment, E. paludosa grew under all nutritional conditions tested, with a similar growth rate than in a previous study (µ = 1.71, in Barnett et al. (2014), except in the control medium (artificial sea water) that contained no micro- or macronutrients (ASW, see Table IV.1). It was noticeable that the addition of faeces extract to artificial seawater (FE condition) was sufficient to sustain a growth up to 6.8 cell divisions (Table IV.2) which is close to the maximum of 8.6 cellular divisions obtained with the enriched culture medium used to maintain our stock-culture (M882, see Table IV.1). This result supports the hypothesis that shorebird droppings could have a fertilizing effect on microphytobenthic assemblages. Furthermore, addition of bird droppings to culture medium (Table IV.1) increased both the growth rate and to a smaller extent the maximal biomass, as observed between M50 and M50FE conditions, Table IV.2, Figure IV.2), showing that Dunlin faecal extracts can boost diatom growth even under high nutrient conditions. Diatoms can use ammonia, urea and DON as nitrogen sources (Admiraal and Peletier, 1979; Antia et al., 1991; Linares, 2006; Linares and Sundback, 2006; Sundback et al., 2011), thus the observed increased growth rates can be explained

by the presence of these multiple nitrogen sources when faeces extract was added to the media in the MFE and M50FE culture conditions, whereas the other culture media (M50 and M882 conditions) contained only nitrate as N source. Furthermore, guano can also be a source of trace elements (Brimble et al., 2009; Signa et al., 2012; Signa et al., 2013). Some of these elements are required for algal growth (Ho et al., 2003; Twining and Baines, 2013) but can also limit growth and primary production at high concentration (e.g. Se, Fe, Mn, Co (Mitrovic et al., 2004; Saito et al., 2002; Ushizaka et al., 2011)). In our experiments, some of these elements could have enhanced growth rate during the exponential growth phase. However, adding faeces extract to artificial sea water (FE condition) did not allow E. paludosa to reach a biomass equivalent to that measured in the others cultures conditions, suggesting that faeces extract lack some nutritional elements needed to sustain high productivity. Because diatoms are known to have high silica requirements (Martin-Jezequel et al., 2000) and faeces extract contained low silica concentrations (0.2 µM-Si, Table IV.1), it is very likely that *E. paludosa* growing solely with faeces extract was silica limited (see Table IV.5). Contrary to silica, phosphorus was not found to be limited even in the FE condition which had the lowest initial concentration (8.9 µM-P, Table IV.1) and a phosphates residue at the end of the experiment (1.8 µM-P, Table IV.5).

Biochemical composition

Biochemical composition is an indicator of the diatom physiological status since some nutritional deficiencies can modify this composition in a predictable way. Algal cell are mainly constituted of proteins, lipids and carbohydrates (Brown *et al.*, 1997) and when diatoms are not limited in major nutrients, proteins should be the major cellular component (±50% ash free dry weight (AFDW)) followed either by lipids (±20-30% AFDW) or by carbohydrates (±20-30% AFDW) (Brown *et al.*, 1997; Parsons *et al.*, 1961; Scholz and Liebezeit, 2013). Conversely, algae grown in nitrogen limited media show a decrease in protein content (-25%) (Guerrini *et al.*, 2000; Harrison *et al.*, 1990; Jiang *et al.*, 2012) and an increase in carbohydrate or lipid fractions (up to 50-60% AFDW for both) (Guerrini *et al.*, 2000; Jiang *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2011). In our study, the culture enriched with 882 µM of nitrate (M882) could be considered similar to a non N- and P- limited condition at our sampling day (Table IV.5) where

protein contents exceeded (> 2x) those of cells in the other cultures. However, in comparison to other studies (Brown *et al.*, 1997; Marshall Darley, 1977; Rios *et al.*, 1998), proteins were not the major components and a quite equivalent relative proportion of proteins (34%), lipids (36%) and carbohydrates (30%) were measured (Culture condition M882, Figure IV.4). In all the other tested nutritional conditions the protein content was lower (7-15%) than usually found in diatoms (\pm 50%) (Brown *et al.*, 1997; Marshall Darley, 1977; Rios *et al.*, 1998). These results are in accordance with the low concentrations of available nitrogen measured at the end in these conditions (Table IV.5) as nitrogen limitation is known to reduce protein content (Cook *et al.*, 2007; Corzo *et al.*, 2000; Guerrini *et al.*, 2000; Jiang *et al.*, 2012).



Figure IV.4: Relative biochemical expressed composition (%) of *Entomoneis paludosa* as a function of the different experimental conditions. Black: proteins, grey: lipids, white: carbohydrates, (FE: Faeces Extract, MFE: medium + FE, M50FE: medium + 50μ M N + FE, M50: medium + 50μ M N, M882: medium + 882μ M N).

Figure IV.4 : Composition biochimique relative (%) d'*Entomoneis paludosa* dans les différentes conditions expérimentales. Noir : protéines, gris : lipides, blanc : glucides (FE : extrait de féces, MFE : milieu de culture moyen + FE, M50FE : milieu de culture moyen + 50 μ M N + FE, M50 : milieu de culture moyen + 50 μ M N, M882 : milieu de culture moyen + 882 μ M N).

Entomoneis paludosa cellular C/N ratio was in the range of what was measured in other diatom species, i.e. between 3 and 43.5 in N-non limited and N-limited conditions respectively (reviewed in Marshall Darley (1977) and in Rios *et al.* (1998)). In the present study, the cellular C/N ratio varied from 6 to 7.4 for the non N-limited conditions (M882 and FE) and from 10 to 17 for the N-limited conditions (M50, M50FE, MFE). Nitrogen deficiency seemed thus to affect the nitrogen cellular quota

(QN) but had no apparent effect on the carbon cellular quota (QC) of *E. paludosa*. It resulted in the low protein content with either a very high carbohydrate content (53 to 67%) in MFE, M50 and MFE50 culture conditions, or a high lipid content (59%) in FE culture condition (Table IV.3 and Figure IV.4). These results were consistent with earlier observations on nitrogen limitation in microalgae (Cook et al., 2007; Corzo et al., 2000; Guerrini et al., 2000; Jiang et al., 2012). Furthermore, low silicate concentrations were measured at the end of the experiment. A concentration below 1µM-Si was found for diatoms grown under M50FE, M50 and M882 conditions, and Si concentration was below the detection limit in cultures grown with faeces extract (FE and MFE conditions). Thus, the interaction between silicon and nitrogen limitations could have amplified the biochemical shift between the three main cell components and affected the production of either carbohydrates or lipids. This biochemical shift was larger in diatoms grown in medium enriched with bird dropping extract (FE condition), where the highest lipid cellular ratio was observed. High lipid quotas were also measured in other studies focusing on diatom silicate limitation (Piepho et al., 2012; Taguchi et al., 1987; Wainman and Smith, 1997; Yu et al., 2009), thus it is very likely that Si limitation amplified cell lipid production in diatoms growing under FE condition, a medium with an extremely low silicate concentration (Table IV.5).

The comparison of the biochemical composition of *E. paludosa* grown under M50FE and M50 conditions showed that adding bird dropping extract significantly increased the protein cellular quota and decreased the carbohydrate cellular quota (Table IV.3). Under the M50 condition solely nitrates were available as nitrogen source for growing diatom, whereas under M50FE ammonia, urea and DON were available (Table IV.1). Consequently, these other nitrogen sources or some trace elements present in faeces extracts affected *E. paludosa* biochemical composition, as already observed for other diatoms, e.g. *Ditylum brightwellii* (Marshall Darley, 1977). Adding faeces extract to the culture medium resulted in another metabolic regulation of *Entomoneis* growth: a four fold increase in dissolved organic carbon (DOC) produced by the algae at the end of the experiment (Table IV.5). This effect could have a role on biofilm formation and microalgal cell protection against environmental stress (review in Decho (2000) and in Underwood and Paterson (2003)) as DOC is partially composed of EPS (Biddanda and Benner, 1997).

Pigment content and ratios are also indicators diatom physiological status (Geider et al., 1993; Kulk et al., 2013; Van Leeuwe et al., 2008). Six common diatom lipophilic pigments were detected in *E. paludosa*. They are similar to those found by Meleder et al. (2013) and Barnett et al. (2014) for the same species, two chlorophylls (chlorophyll a, chlorophyll c_1+c_2) and four carotenoids (fucoxanthin, diadinoxanthin, diatoxanthin and β -carotene). The pigment qualitative composition did not vary but total pigment content per cell showed significant differences between growing conditions according to initial nitrogen availability (Table IV.4) and cells growing in the M882 condition had the highest pigment concentration. This is consistent with previous studies (Geider et al., 1993; Kulk et al., 2013) where nitrogen availability affected total chlorophyll a cellular content. However, in our study, the lightharvesting pigments ratio chl c+fucoxanthin/chl a was unaffected by nitrogen limitation (Table IV.4). Unlike Geider et al. (1993), we did not observed any increase of the photo-protective pigment ratio diatoxanthin+diadinoxanthin/chl a resulting from nutrient limitation. That could be explained by the light intensity used in our experiment which was much lower (90 μ mol m⁻² s⁻¹) than the 250 μ mol m⁻² s⁻¹ used by Geider et al. (1993).

IV.2.5. Conclusion

Bird dropping extract induced a substantial growth of *E. paludosa* in artificial sea water (up to 6.8 cell divisions). Furthermore, adding dropping extract to growth media containing all major and traces nutrients lead to a significant increase of growth rates (+0.1 to 0.2 day⁻¹) and a slight biomass increase (+92 10^5 cell mL⁻¹). Nutrients or trace elements present in the faeces also had an effect on *E. paludosa* biochemical composition, regulating both nitrogen and carbon contents and their allocation between protein, lipid and carbohydrate molecules. However, this did not seem to affect the photosynthetic apparatus and the light-harvesting pigments to chlorophyll *a* ratios or the photo-protective pigments to chlorophyll *a* ratios, which were both unchanged by the addition of bird dropping extract.

Dunlin droppings have the potential to enhance diatom growth either by diversifying available nitrogen sources for growth or by adding essential trace elements. Therefore, given the high Dunlin densities observed annually in Bourgneuf Bay, we hypothesize that they play a role regarding the development of microphytobenthic biofilms in this bay. Recently, in the same mudflats, it was also shown that Dunlin seemed to feed preferentially in areas exhibiting high microphytobenthic biofilm concentrations (Drouet *et al.*, 2015). All these observations suggest that there is a strong interaction between Dunlin and microphytobenthic biofilms in this bay and that Dunlin dropping could contribute to a bottom-up control of microphytobenthos assemblages by supplying nutrients required for growth. However, with current data this hypothesis remains speculative and further *in situ* research is still required.

This study underlines the fertilizing effect of Dunlin droppings on microphytobenthos growth, biomass and biochemical composition, and raises the question of shorebird impact on mudflat primary producers.

Contenu synthétique de l'article

De par leurs producteurs primaires et secondaires, les vasières intertidales sont des zones d'alimentation importantes pour de nombreuses espèces d'oiseaux migrateurs et hivernants. Les fientes de ces oiseaux fournissent un apport de nutriments organiques et inorganiques qui peuvent enrichir les flux de nutriments des écosystèmes des vasières intertidales, en particulier dans des zones présentant un faible taux de renouvellement d'eau. L'objectif du travail présenté ci-dessous est d'évaluer expérimentalement l'effet potentiel des fientes de bécasseaux variables sur une espèce de microalque du microphytobenthos Entomoneis paludosa et de déterminer l'effet fertilisant des oiseaux limicoles sur les producteurs primaires des vasières intertidales. La croissance, la biomasse, les compositions élémentaire (CHN) et biochimique (lipides, protéines, glucides, pigments) de E. paludosa aussi bien que l'azote organique et inorganique dissous ont été suivis dans l'expérimentation. La concentration en azote inorganique ajouté au milieu de culture moyen enrichi en extrait de fientes d'oiseaux était égale à 9,1 µM-N, avec presque toutes les formes d'azote inorganique présentes comme par exemple l'ammoniaque. L'azote organique a également été mesuré à travers l'urée (16 \pm 2 μ M-N) et d'autres d'azote organique dissous (120 ± 1 μM-N). La microalque formes microphytobenthique E. paludosa a été capable de croître dans l'eau de mer artificielle enrichie seulement en extrait de fientes d'oiseaux (avec plus de 6,8 divisions cellulaires). En outre, cette étude a montré que l'ajout d'extrait de fientes au milieu de culture moyen avait un effet significatif sur le taux de croissance des microalques avec une augmentation de l'ordre de 0,1 à 0,2 par jour dans les deux conditions où l'extrait de fientes a été ajouté. Les résultats sur la composition biochimique de *E. paludosa* ont montré que l'ajout d'extraits de fientes au milieu de culture moven contenant 50 µM-NO₃ augmente significativement le quota cellulaire en protéines et pigments totaux, tandis que les quotas de glucides diminuent significativement comparés au même milieu de culture sans ajout de l'extrait de fientes. Par conséquent, l'azote ou les éléments traces présents grâce à l'extrait de fientes d'oiseaux ont un effet sur la composition biochimique de E. paludosa. Cependant, l'ajout d'extraits de fientes n'a pas eu d'effet sur les ratios de pigments accessoires (chlorophylle c et fucoxanthine)/chlorophylle a et de pigments photoprotecteurs du cycle des xanthophylles/chlorophylle a. L'ajout de nutriments par les fientes de limicoles, dans un écosystème type vasière intertidale, pourrait enrichir les flux de nutriments en azote (ammoniaque, urée et autres sources d'azote organique dissous) et en phosphore, et également affecter la croissance et la composition biochimique du microphytobenthos.

IV.3. Conclusion

L'étude présentée dans ce dernier chapitre a fourni des informations préliminaires sur l'effet fertilisant potentiel des fientes d'oiseaux limicoles sur la croissance, la biomasse et la composition biochimique d'une espèce du microphytobenthos. Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence l'effet des fientes de bécasseaux variables sur une microalgue microphytobenthique *Entomoneis paludosa* en milieu clos.

Les fientes de bécasseaux variables ajoutées au milieu de culture moyen ont apporté des sources de nutriments inorganiques et organiques tels que l'ammoniaque, l'urée et l'azote organique dissous. Ces sources d'azote sont connues pour être assimilées par des espèces de microalgues (Glibert *et al.*, 2006 ; Jauffrais *et al.*, 2013) et notamment par des microalgues du microphytobenthos (Linares, 2006 ; Linares et Sundback, 2006 ; Sundback *et al.*, 2011). Il a été montré ici que *E. paludosa* est capable de croître (6,8 divisions cellulaires) dans une solution d'eau de mer artificielle enrichie seulement en extrait de fientes de bécasseaux variables et de produire jusqu'à 1,4.10⁵ cellules.mL⁻¹.

De plus, l'enrichissement en fientes du milieu de culture moyen contenant 50 μ M d'azote (M50) a augmenté le taux de croissance et la biomasse maximale de *E. paludosa*. Ces deux résultats mettent en évidence l'effet fertilisant potentiel des fientes d'oiseaux limicoles sur *E. paludosa*, qui peut être expliqué par l'utilisation d'ammoniaque, d'urée et d'azote organique dissous comme source alternative d'azote par les microalgues dans les conditions expérimentales utilisées : milieu de culture moyen enrichi en extrait de fientes.

La composition biochimique de *E. paludosa* a été analysée au début de la phase stationnaire de croissance. La quantité de protéines était faible dans les différentes conditions testées excepté celle réalisée avec le milieu de culture moyen contenant 882 μ M d'azote (M882). Mais une augmentation en lipides et en glucides a été observée. En effet, les conditions expérimentales (FE contenant seulement l'extrait de fientes dans l'eau de mer artificielle, M50 contenant le milieu de culture moyen supplémenté de 50 μ M d'azote, M50FE contenant le milieu de culture moyen supplémenté de 50 μ M d'azote enrichi en extrait de fientes ou MFE contenant le milieu de culture moyen supplémenté de 50 μ M d'azote enrichi en extrait de fientes) présentent de faibles concentrations en azote disponible à la fin de l'étude. Ces conditions peuvent alors être considérées comme limitées en azote par rapport à la condition M882. En effet, la limitation en azote entraîne une diminution de la quantité de protéines produites

par les microalgues (Harrison *et al.*, 1990 ; Guerrini *et al.*, 2000 ; Jiang *et al.*, 2012) et une augmentation de la quantité de glucides et de lipides (Corzo *et al.*, 2000 ; Guerrini *et al.*, 2000 ; Cook *et al.*, 2007 ; Jiang *et al.*, 2012). D'autant plus qu'une faible concentration en silicate est relevée chez *E. paludosa* à la fin de l'expérimentation. Cette limitation en silicate amplifie la production de glucides et de lipides (Taguchi *et al.*, 1987 ; Wainman et Smith, 1997, Yu *et al.*, 2009 ; Piepho *et al.*, 2012). Une forte concentration cellulaire en lipides a été mesurée chez les microalgues exposées à l'extrait de fientes (FE). L'enrichissement en fientes du milieu de culture augmente significativement la quantité de protéines et diminue celle de glucides produite par les microalgues.

Un autre résultat a montré que la quantité de carbone organique dissous (COD) produit par *E. paludosa* a été multipliée par quatre à la fin de l'expérimentation lorsqu'elle pousse dans un milieu de culture moyen enrichi en fientes. Cette forme de COD pourrait être composé principalement par des glucides qui rentrent en jeu dans la stabilisation du sédiment des vasières, dans la formation des biofilms microphytobenthiques et dans la protection des microalgues contre les stress environnementaux en milieu naturel (Decho, 2000 ; Underwood et Paterson, 2003).

Six pigments lipophiles ont été retrouvés chez *E. paludosa* (Méléder *et al.*, 2013) : deux chlorophylles (chlorophylle *a* et chlorophylle c_1+c_2) et quatre caroténoïdes (fucoxanthine, diadinoxanthine, diatoxanthine et β carotène). L'azote disponible dans les différentes conditions testées est un facteur connu comme affectant la composition pigmentaire des diatomées (Kulk *et al.*, 2013). Mais aucun de nos résultats n'a permis de vérifier cela. Cependant, un effet sur la qualité et la quantité de pigments a pu être observé lorsque le milieu de culture M50 a été enrichi en fientes (M50 vs M50FE). Ceci pourrait être dû à l'enrichissement en azote organique et inorganique par l'ajout d'extrait de fientes au milieu de culture.

La présente étude a donc permis d'apporter quelques données sur la composition biochimique de *E. paludosa*. Ces informations sur la composition biochimique des microalgues sont importantes pour comprendre le fonctionnement des chaînes trophiques et le rôle des producteurs secondaires benthiques (Brown *et al.*, 1997). Ceci prend toute son importance dans les écosystèmes type vasières où le microphytobenthos est l'une des principales sources de nourriture pour la macrofaune benthique, déposivore et suspensivore (Barillé *et al.*, 1997; Austen *et al.*, 1999; Blanchard *et al.*, 2001; Pinckney *et al.*, 2003; Riera, 2010). Il est donc utile d'étudier les flux de matières entre les différents compartiments trophiques et

notamment les liens existants entre les compartiments primaires (microalgues) et les compartiments secondaires (limicoles) dans ces écosystèmes.

Cette étude sur la croissance et la composition biochimique de E. paludosa, qui est une diatomée commune des vasières de la Baie de Bourgneuf, a montré que les fientes de bécasseaux variables améliorent la croissance des diatomées, modifient leur composition biochimique et augmentent leur production de COD. Il existe donc un effet fertilisant des fientes d'oiseaux limicoles sur les microalgues du microphytobenthos. Les oiseaux limicoles peuvent donc contrôler la structure des environnements à substrat meuble telles que les vasières intertidales par un contrôle top-down via les interactions proies/prédateurs et également par un contrôle bottomup via la limitation en nutriments (Foreman et al., 1995). Cependant, la réponse possible des écosystèmes type vasières aux apports de nutriments provenant des fientes d'oiseaux limicoles ne peut pas être généralisée car de nombreux facteurs influent sur la chimie de l'eau et donc sur la production primaire des vasières. Néanmoins, sachant que la Baie de Bourgneuf produit 10 000 tonnes par an d'huîtres creuses Crassostrea gigas (CNC, 2010) et que plus de 30 000 oiseaux limicoles y sont présents chaque hiver (Mahéo et Le Dréan-Quénec'hdu, 2013), nous pouvons donc émettre l'hypothèse que le mucus, les fèces et les pseudofèces des suspensivores (Cognie et Barillé, 1999) ainsi que les fientes d'oiseaux limicoles (la présente étude) peuvent jouer un rôle dans les flux de nutriments et la production primaire du microphytobenthos dans la baie. Des investigations supplémentaires sur l'effet des fientes d'oiseaux limicoles sur d'autres espèces de microalgues du microphytobenthos présentes dans la Baie de Bourgneuf, aussi bien isolées que mélangées, et des expérimentations directement en milieu naturel ou dans des enceintes de simulation des marées permettraient de pousser notre réflexion sur ce sujet.

Conclusion générale

Dans cette thèse, nous nous sommes focalisés sur le comportement du bécasseau variable Calidris alpina en hivernage sur les vasières intertidales en France et plus particulièrement dans la Baie de Bourgneuf. Une telle recherche n'avait encore jamais été menée dans notre pays sur cette espèce. L'étude de son comportement à différentes échelles à l'aide de différentes méthodes a permis d'obtenir les premières connaissances sur son mode de vie et sa place dans l'écosystème de la Baie de Bourgneuf. Le bécasseau variable est l'oiseau limicole le plus abondant sur la voie de migration Est-Atlantique dans les habitats côtiers (Delany et al., 2009) ce qui le rend intéressant comme modèle d'étude. En effet, le long des côtes françaises, il représente 23% du nombre d'hivernants en Europe de l'Ouest avec un effectif moyen de 312 000 individus ces dix dernières années (Bocher et al., 2014a). Cet effectif en fait un bon témoin de l'attractivité des sites d'hivernage métropolitains. Malgré les 6 460 km de côtes, la moitié de ces oiseaux est concentrée sur seulement huit sites. Ces zones de halte, lors de leur migration, ou d'hivernage correspondent aux baies situées entre les estuaires de la Loire et de la Gironde (Bocher et al., 2014a). La Baie de Bourgneuf, le site d'étude choisi parmi celles-ci, accueille entre 12 000 et 13 000 bécasseaux variables chaque hiver, ce qui en fait un site d'importance internationale pour cette espèce (Bocher et al., 2014a).

Pour étudier l'utilisation des vasières intertidales de la Baie de Bourgneuf par le bécasseau variable et y déterminer son régime alimentaire, plusieurs méthodes alternatives et complémentaires ont été utilisées :

- une estimation de ses capacités morpho-anatomiques à l'ingestion du biofilm,

- des observations directes sur le terrain (comptages d'oiseaux à marée basse),

- la reconstruction de son régime alimentaire à partir de ses fientes et de ses contenus stomacaux,

- la comparaison des déviations isotopiques (δ^{13} C et δ^{15} N) de ses tissus et contenus stomacaux avec celles de ses sources potentielles de nourriture.

En premier lieu, les comptages de bécasseaux variables réalisés sur les vasières intertidales de Lyarne et de La Coupelasse ont permis de comprendre comment il se comporte dans la Baie de Bourgneuf. Cette partie a confirmé son rythme de vie tidal. Il suit le jusant durant le cycle de la marée en s'alimentant dans la zone découverte en dernier par la mer, ce qui lui permet de s'alimenter plus facilement dans un sédiment plus pénétrable (Kelsey et Hassall, 1989 ; Mouritsen et Jensen, 1992 ;

Nehls et Tiedemann ,1993 ; Dierschke *et al.*, 1999a ; Burton *et al.*, 2004 ; Dias *et al.*, 2006b ; Granadeiro *et al.*, 2006 ; Rosa *et al.*, 2007). Il s'agissait également d'une première approche permettant de déterminer l'influence de la présence du biofilm microphytobenthique et de la macrofaune sur sa distribution. Les données ont montré qu'il semble sélectionner préférentiellement la zone recouverte par de fortes biomasses de microphytobenthos épipélique (Drouet *et al.*, 2015). Nous n'avons pas pu mettre en évidence l'influence de la nature ou de l'abondance de la macrofaune sur la répartition du bécasseau variable sur les deux vasières étudiées.

Pourtant la distribution des oiseaux limicoles (Wolff, 1969; Colwell et Landrum, 1993) et leur comportement alimentaire (Estrella *et al.*, 2007; Kuwae *et al.*, 2010) sont déterminés en grande partie par la disponibilité de leurs proies. Cette dernière est connue comme une variable critique influençant la répartition des bécasseaux variables dans la recherche de nourriture (Goss-Custard *et al.*, 1991). L'étude présentée dans le chapitre II a permis de déterminer l'importance des principales proies disponibles et accessibles dans l'alimentation du bécasseau variable en hivernage dans la Baie de Bourgneuf. La reconstruction de son régime alimentaire à partir des fientes et des contenus stomacaux a permis de cerner ses sources d'alimentation et de les comparer à celles qu'il exploite dans d'autres baies.

D'autre part, l'utilisation des analyses isotopiques a l'avantage de donner des informations sur le régime alimentaire sur des périodes allant de quelques jours à plusieurs semaines (Hobson et Clark, 1992) sur différents sites le long d'une route de migration (e.g. Dalerum et Angerbjörn 2005, Podlesak *et al.*, 2005) et d'en connaître les changements liés à la migration (Rubenstein et Hobson, 2004). Les déviations isotopiques du carbone et de l'azote des tissus et des contenus stomacaux des bécasseaux variables capturés ont été comparées à celles des sources alimentaires potentielles sur différents mois pour identifier les changements alimentaires au cours des saisons de migration.

Les résultats obtenus dans cette thèse ont permis de mieux cerner le régime alimentaire du bécasseau variable en Baie de Bourgneuf confirmant qu'il s'agit d'un petit oiseau limicole présentant une grande plasticité alimentaire, et qui pourrait être qualifié d'opportuniste puisqu'il est capable de s'adapter à la disponibilité locale des proies (Skagen et Oman, 1996 ; Dierschke *et al.*, 1999a ; Davis et Smith, 2001 ; Long et Ralph, 2001 ; Elner *et al.*, 2005, Santos *et al.*, 2005 ; Bocher *et al.*, 2014b). La reconstruction de son régime alimentaire à partir des fientes a montré qu' *Peringia ulvae* est un composant majeur de son alimentation suivi par les bivalves, *Macoma*

balthica et Scrobicularia plana. Les annélides polychètes, Hediste diversicolor et Nephtys hombergii, participent soit minoritairement, soit au contraire entièrement et exclusivement à son alimentation. L'analyse des contenus stomacaux a permis de mettre en évidence des divergences dans les proportions de chacune des proies retrouvées en fonction de la saison. En effet, les bivalves dominent tout au long de la période d'hivernage et les hydrobies sont alors minoritaires. Ce résultat a pu être expliqué par le fait que les fientes ont été prélevées de jour sur la vasière et les contenus stomacaux récupérés lors des nuits de capture. Le bécasseau variable a un comportement alimentaire différent entre le jour et la nuit privilégiant le sondage pendant la nuit (Mouritsen, 1994). Un comportement alimentaire généraliste permet à cet oiseau de s'adapter à la disponibilité fluctuante des ressources alimentaires en fonction des sites qu'il fréquente en hivernage, en halte migratoire et en nidification. Ce caractère opportuniste se traduit par des difficultés pour déterminer exactement son régime alimentaire car ses sources alimentaires sont très variées comme il a été montré dans cette thèse et dans la littérature. Cette plasticité de la stratégie d'alimentation du bécasseau variable répond parfaitement aux exigences de son statut de long-migrant. Alors que sur les sites d'hivernage, la diminution des ressources en hiver diminue l'apport énergétique des individus qui ont alors plus de mal à faire face au coût de la thermorégulation (Zwarts et Wanink, 1991). Dans les régions d'hivernage situées en zones tempérées, cette incertitude sur la disponibilité et l'abondance des ressources alimentaires se traduit par une augmentation de la masse corporelle (réserves de graisse) du bécasseau variable au milieu de l'hiver comme observée chez d'autres oiseaux limicoles. Pour assurer sa survie hivernale, l'oiseau est obligé d'optimiser son temps de recherche alimentaire. Amorcé en début d'hivernage, ce pic de masse corporelle disparait passés les mois les plus sévères, c'est-à-dire après janvier (Davidson, 1981 ; Piersma et Davidson, 1992). A la veille de leur migration de printemps les bécasseaux variables augmentent leur temps de recherche alimentaire pour maximiser leur accès à des sources de nourriture plus énergétiques qu'ils stockent sous forme de graisse, qui permettent également l'augmentation de leur masse musculaire, et dans le but de pallier à un manque de ressources éventuel sur leur future aire de nidification (Evans, 1991). Le pic de masse corporelle noté en hiver est donc plus faible que celui observé en période prémigratoire (Piersma, 1994).

De nombreuses études ont montré l'impact de la prédation des oiseaux limicoles sur les stocks de proies invertébrées. La prédation peut réduire l'abondance et la

biomasse des proies (Schneider et Harrington, 1981 ; Kent et Day, 1983 ; Quammen, 1984 ; Székely et Bamberger, 1992 ; Mercier et McNeil, 1994), réduire leur taille moyenne (Kent et Day, 1983; Rafaelli et Milne, 1987; Wilson, 1989) ou au contraire favoriser leur expansion de manière indirecte en se nourrissant de leurs prédateurs (Kent et Day, 1983 ; Wilson, 1989 ; Daborn et al., 1993). Le bécasseau variable étant l'espèce la plus abondante des vasières intertidales de la Baie de Bourgneuf et des côtes françaises en période d'hivernage, son impact sur les stocks de macrofaune et de ce type d'écosystèmes en général n'est donc pas négligeable. Cette thèse s'est également proposée d'examiner le rôle du biofilm dans l'alimentation et la distribution du bécasseau variable en Baie de Bourgneuf au vu des récentes publications traitant du rôle de celui-ci dans l'écologie alimentaire des oiseaux limicoles sur les vasières intertidales (Elner et al., 2005; Kuwae et al., 2008; Mathot et al., 2010; Beninger et al., 2011; Kuwae et al., 2012; MacDonald et al., 2012; Quinn et Hamilton, 2012). Certains se sont intéressés à la collecte de preuves de la consommation du biofilm par les oiseaux limicoles (Elner et al., 2005; Kuwae et al., 2008; Beninger et al., 2011; MacDonald et al., 2012; Quinn et Hamilton, 2012) alors que d'autres ont voulu quantifier la place du biofilm dans leur alimentation (Mathot et al., 2010; Kuwae et al., 2012). Dans notre étude, le bécasseau variable C. alpina alpina capturé en Baie de Bourgneuf possède au niveau de son bec et de sa langue les mêmes adaptations morphologiques (épines de kératine, papilles et denticules) que d'autre Calidridés (C. a. pacifica, C. a. hudsonia, C. mauri, C. pusilla, C. ruficollis) qui leur permettent de brouter le biofilm microphytobenthique et l'ensemble de la matière organique qui lui est associée (Elner et al., 2005 ; Kuwae et al., 2008 ; Mathot et al., 2010 ; Beninger et al. 2011 ; Kuwae et al., 2012 ; Mac Donald et al., 2012 ; Quinn et Hamilton, 2012). Le bécasseau variable serait donc potentiellement capable de s'alimenter de biofilm grâce à des adaptations évolutives au niveau de leur cavité orale. La découverte du fait que les limicoles se nourrissent par broutage du biofilm microphytobenthique, qui est un producteur primaire, remet en cause la place des oiseaux limicoles dans les écosystèmes en les rendant compétiteurs trophiques des invertébrés benthiques communément rencontrés sur les vasières intertidales comme brouteurs de biofilm (Kuwae et al., 2008; Kuwae et al., 2012; Beninger et al., 2011), par exemple les petits gastéropodes Peringia ulvae. Dans ce contexte, le comportement du bécasseau variable sur les vasières intertidales en période d'hivernage vis-à-vis du biofilm microphytobenthique n'est donc pas à négliger. Ce petit oiseau limicole est donc un prédateur (consommateur secondaire) mais

potentiellement aussi un brouteur du biofilm microphytobenthique (consommateur primaire). Les oiseaux, via la prédation et le broutage du biofilm, peuvent donc réguler la structure des diverses communautés benthiques des écosystèmes type vasières intertidales par un mécanisme "top-down" (Hairston *et al.*, 1960; Odum, 1969).

Par ailleurs, dans le dernier chapitre, nous nous sommes interrogés sur la contribution du bécasseau variable à l'enrichissement d'une vasière en matière organique ou inorganique assimilable via sa production de fientes. Les fientes du bécasseau variable apportent une source de nutriments inorganiques et organiques tels que l'ammoniaque, l'urée et l'azote organique dissous. Ces fientes améliorent la croissance, modifient la composition biochimique et augmentent la production de carbone organique dissous d'une diatomée commune des vasières de la Baie de Bourgneuf, *Entomoneis paludosa*, en condition expérimentale. L'effet fertilisant des fientes de bécasseaux variables sur les microalgues du microphytobenthos a donc été mis en évidence dans ce travail de recherche. Le bécasseau variable participerait donc également à un contrôle "bottom-up" des communautés benthiques via l'ajout de nutriments dans le milieu.

L'importance et la contribution des deux mécanismes combinés, "top-down" et "bottom-up", ont été mises en évidence pour les milieux à substrat meuble tels que les vasières intertidales (Foreman *et al.*, 1995). Les résultats obtenus dans cette thèse permettent de proposer un schéma conceptuel (Figure 5, ci-dessous) positionnant le bécasseau variable dans le réseau trophique des vasières intertidales de la Baie de Bourgneuf. Le bécasseau variable impacte les communautés benthiques (macrofaune/méiofaune et microphytobenthos) à travers la prédation sur les stocks de proies, le broutage potentiel du biofilm et l'excrétion de nutriments organiques et inorganiques.



Figure 5 : Représentation schématique du réseau trophique des vasières intertidales de la Baie de Bourgneuf (modifiée d'après Cognie et Decottignies).

Le bécasseau variable comme d'autres long-migrants se caractérise par un faible taux de reproduction, une importante longévité et un fort dimorphisme sexuel (Piersma et Baker, 2000). Ces caractéristiques le rendent vulnérable face aux modifications ou dégradations de ses habitats (Goss-Custard, 1977 ; Evans *et al.*, 1979 ; Lambeck *et al.*, 1989 ; Goss-Custard *et al.*, 1995 ; Burton *et al.*, 1995). L'état de santé des vasières intertidales fréquentées par cet oiseau limicole en période d'hivernage n'est donc pas à négliger pour sa préservation future. Il s'agit d'espaces naturels d'importance écologique primordiale pour cette espèce, fidèle à ce type d'habitat. Pour les oiseaux limicoles en général, la perte de ce type d'habitat entraîne leur redistribution et une augmentation de leurs effectifs sur les aires d'hivernage restantes (Sutherland et Goss-Custard, 1991). La compétition entre les oiseaux en

est alors accentuée à cause de la diminution des ressources disponibles couplée à l'intensification des interactions entre eux.

Le changement climatique global modifie certains écosystèmes, comme les zones humides, partout sur la planète. Le réchauffement a déjà obligé des populations d'oiseaux à modifier leurs aires de distribution, leurs stratégies migratoires, leurs adaptations au milieu et leurs interactions interspécifiques (Archaux, 2003). L'élévation du niveau actuel de la mer liée au réchauffement climatique (Crooks, 2004) affecte l'étendue et la qualité des habitats intertidaux côtiers aujourd'hui (Galbraith et al., 2002) et dans le futur (Austin et Rehfisch, 2003). De plus, l'attractivité des littoraux comme interfaces majeures dans le cadre de la mondialisation est à prendre en compte dans la gestion des zones côtières et plus particulièrement des zones humides. À la variété des activités traditionnelles liées aux ressources littorales (pêches, aquaculture, marais salants, cultures maraîchères bénéficiant de spécificités climatiques) s'ajoutent des activités portuaires et industrielles croissantes. La poldérisation compromet la préservation de la biodiversité, les équilibres biologiques et les paysages littoraux. Ces zones, de plus en plus convoitées sont en constant recul dans le monde entier à cause du manque d'espace occasionnant de nombreux conflits d'usage. Or les zones humides tels que les estuaires, les marais et les vasières intertidales accueillent la majorité des oiseaux limicoles hivernants sur les côtes. Le devenir de ces espèces en hivernage en milieu côtier est donc aussi menacé (Piersma et Lindström, 2004). En tant que prédateurs au sein des écosystèmes de type vasière intertidale, ils sont considérés comme de bons bio-indicateurs de la qualité des zones estuariennes et des baies littorales. La proposition de Piersma et Lindström (2004) de les considérer comme intégratives du changement environnemental des sentinelles global est particulièrement pertinente dans le contexte actuel. Il apparaît donc primordial de mieux cerner les processus impliqués dans la sélection de l'habitat par les oiseaux limicoles pour leur conservation et celle des zones humides littorales dont ils dépendent.

La ressource alimentaire disponible est le principal déterminant de l'abondance hivernale et de la distribution du bécasseau variable. La préservation des aires d'accueil offrant les stocks de proies nécessaires à leur survie est donc indispensable. Les plus fortes densités d'oiseaux limicoles vont de pair avec le fort potentiel nutritionnel de ces sites. Le rôle du bécasseau variable dans les écosystèmes à vasières intertidales est renforcé par la capacité qu'il possède de

pouvoir brouter le biofilm microphytobenthique en plus de son alimentation déjà connue constituée des éléments de la macrofaune.

De nombreux espaces protégés (ZPS⁵, RNN⁶, RN⁷, RC⁸, RCFS⁹, RCM¹⁰) accueillent les oiseaux limicoles migrateurs sur les côtes françaises et les directives de protection (Directives « Habitats » et « Oiseaux », plans d'actions locaux...) semblent efficaces au vu des effectifs croissants de bécasseaux variables observés sur les dernières décennies. Cependant à l'échelle mondiale, l'espèce est toujours en déclin ce qui nécessite la poursuite des efforts. Son utilisation comme bio-indicateur des impacts de l'anthropisation et plus largement des changements globaux de l'état des zones humides prend toute son importance dans le cadre d'un développement durable choisi et non subi.

Quantifier les «bénéfices» apportés par l'écosystème des vasières intertidales de la Baie de Bourgneuf en unité monétaire permettrait de responsabiliser les nombreux acteurs locaux (ostréiculteurs, pêcheurs...) qui sont les premiers à appliquer les mesures de préservations sur le terrain. Souvent ces mesures sont vécues comme des contraintes qui alourdissent les conditions de travail sur le court-terme mais qui sont mises en application pour préserver les ressources à long-terme. D'autres acteurs sont associés aux démarches mises en place : plaisanciers, pêcheurs à pied, touristes. La sensibilisation du grand public aux questions environnementales peut passer par un oiseau comme le bécasseau variable. En effet, l'oiseau a un côté attrayant, facile d'accès et il est visible dans le paysage. Ces qualités en font donc également un exemple concret pouvant susciter l'intérêt, permettre une meilleure sensibilisation et entraîner une prise de conscience. Au-delà de préserver une seule espèce, c'est la globalité de son environnement qu'il faut prendre en compte pour optimiser sa protection dans une démarche de développement durable. Les collectivités locales et plus généralement les pouvoirs politiques ont aussi un rôle à jouer dans la diffusion et la mise en place de moyens sur le terrain pour y parvenir (zones de protection, campagnes de sensibilisation, panneaux descriptifs et informatifs).

Dans cette perspective globale, effectuer des campagnes d'échantillonnages plus affinées des différents compartiments trophiques, pluridisciplinaires et

⁵ Zone de Protection Spéciale

⁶ Réserve Naturelle Nationale

⁷ Réserve Naturelle

⁸ Réserve de Chasse

⁹ Réserve de Chasse et de Faune Sauvage

¹⁰ Réserve de Chasse Maritime

simultanément, serait essentiel. La prise en compte des compartiments microphytobenthique, phytoplanctonique, macrobenthique et de l'avifaune, permettrait d'évaluer les fonctions biologiques et écologiques de cet écosystème. L'étude de l'alimentation du bécasseau variable réalisée dans cette thèse est applicable à d'autres espèces d'oiseaux limicoles présents dans la Baie de Bourgneuf en période d'hivernage. La technique de capture des oiseaux devrait être perfectionnée. Ceci permettrait d'obtenir une base de données conséquente et représentative des sous-espèces du bécasseau variable afin de déterminer les différences éventuelles existant dans leur comportement alimentaire.



Photo : Christian Chauvet (Université de Nantes).
Bibliographie

- Admiraal W. & Peletier H. 1979. Influence of organic compounds and light limitation on the growth rate of estuarine benthic diatoms. British Phycological Journal 14(3): 197-206.
- Alerstam T. 1990. Bird migration. Cambridge University Press, UK.
- Allen A.E., Dupont C.L., Obornik M., Horak A., Nunes-Nesi A., McCrow J.P., Zheng H., Johnson D.A., Hu H.H., Fernie A.R. & Bowler C. 2011. Evolution and metabolic significance of the urea cycle in photosynthetic diatoms. Nature 473(7346): 203-207.
- Antia N.J., McAllister C.D., Parsons T.R., Stephens K. & Strickland J.D.H. 1963. Further measurments of primary production using a large-volume plastic sphere. Limnology and Oceanography 8(2): 166-183.
- Archaux F. 2003. Avifaune et changement climatique. Bird and climate change. Vie et Milieu 53: 33-41.
- Austen I., Andersen T.J. & Edelvang K. 1999. The influence of benthic diatoms and invertebrates on the erodibility of an intertidal mudflat, the Danish Wadden Sea. Estuarine, Coastal and Shelf Science 49(1): 99-111.
- Austin G., Collier M., Calbrade N., Hall C. & Musgrove A. 2008. Waterbirds in the UK 2006/07: The Wetland Bird Survey. BTO/RSPB/JNCC, Thetford, UK.
- Austin G. & Rehfisch M.M. 2003. The likely impact of sea level rise on waders (*Charadrii*) wintering on estuaries. Journal for Nature Conservation 11: 43-58.

-B-

- Backwell P.R.Y., O'hara P.D. & Christy J.H. 1998. Prey availability and selective foraging in shorebirds. Animal Behaviour 55(6): 1659-1667.
- Baird D., Evans P.R., Milne H. & Pienkowski M. W. 1985. Utilization by shorebirds of benthic invertebrate production in intertidal areas. Oceanography and Marine Biology 23: 573-597.
- Baize D. 1988. Guide des analyses courantes en pédologie. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France.
- Baker J.M. 1981. Winter feeding rates of Redshank (*Tringa totanus*) and Turnstone (*Arenaria interpres*) on a rocky shore. Ibis 123: 85-87.
- Baker M.C. & Baker A.E.M. 1973. Niche relationships among six species of shorebirds on their wintering and breeding ranges. Ecological Monographs 43: 193-212.
- Baker H., Stroud D.A., Aebischer N.J., Cranswick P.A., Gregory R.D., McSorley C.A., Noble D.G. & Rehfisch M.M. 2006. Population estimates of birds in Great Britain and the United Kingdom. British Birds 99: 25-44.
- Banks A.N., Collier M.P., Austin G.E., Hearn R.D. & Musgrove A.J. 2006. Waterbirds in the UK 2004/05: The Wetland Bird Survey. BTO/WWT/RSPB/JNCC, Thetford, UK.
- Barbarino E. & Lourenco S.O. 2005. An evaluation of methods for extraction and quantification of protein from marine macro- and microalgae. Journal of Applied Phycology 17(5): 447-460.

- Barillé-Boyer A.-L., Haure J. & Baud J.P. 1997. L'ostréiculture en Baie de Bourgneuf. Relation entre la croissance des huîtres *Crassostrea gigas* et le milieu naturel: synthèse de 1986 à 1995. IFREMER report DRV/RA/RST97.
- Barillé L., Prou J., Héral M. & Razet D. 1997. Effects of high natural seston concentrations on the feeding, selection, and absorption of the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 212(2): 149-172.
- Barrett R.T., Camphuysen K.C.J., Tycho Anker-Nilssen, Chardine J.W., Furness R.W., Garthe S., Hüppop O., Leopold M.F., Montevecchi W.A. & Veit R.R. 2007. Diet studies of seabirds: a review and recommendations. ICES Journal of Marine Science 64(9): 1675-1691.
- Bauchinger U. & McWilliams S. 2009. Carbon turnover in tissues of a passerine bird: allometry, isotopic clocks, and phenotypic flexibility in organ size. Physiological and Biochemical Zoology 82(6): 787-797.
- Bengston S.-A. & Svensson B. 1968. Feeding habits of *Calidris alpina* L. and *C. minuta* Leisl. (*Aves*) in relation to the distribution of marine shore invertebrates. Oikos 19: 152-157.
- Beninger P.G., Elner R.W., Morançais M. & Decottignies P. 2011. Downward trophic shift during breeding migration in the shorebird *Calidris mauri* (Western sandpiper). Marine Ecology Progress Series 428: 259-269.
- Berry A.J. 1988. Annual cycle in *Retusa obtusa* (Montagu) (*Gastropoda*, *Opistobranchia*) of reproduction, growth and predation upon *Hydrobia ulvae* (Pennant). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 117: 197-209.
- Berry A.J., Radhakrishnan K.V. & Coward K. 1992. Is seasonal breeding in *Retusa* obtusa (Montagu) (Gastropoda: Opisthobranchia) merely the consequence of seasonal breeding in its prey, the mudsnail *Hydrobia ulvae* (Pennant)? Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 159: 179-189.
- Bertness M.D. 1999. The ecology of Atlantic shorelines. Sunderland, Massachusetts, USA.
- Beukema J.J. 1982. Annual variation in reproductive success and biomass of the major macrozoobenthic species living in a tidal flat area of the Wadden Sea. Netherlands Journal of Sea Research 16: 37-45.
- Biddanda B. & Benner R. 1997. Carbon, nitrogen, and carbohydrate fluxes during the production of particulate and dissolved organic matter by marine phytoplankton. Limnology and Oceanography 42(3): 506-518.
- Blanchard G.F., Guarini J.M., Bacher C. & Huet V. 1998. Contrôle de la dynamique à court terme du microphytobenthos intertidal par le cycle exondationsubmersion. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Série III -Sciences de la Vie 321(6): 501-508.
- Blanchard G.F., Guarini J.M., Orvain F. & Sauriau P.G. 2001. Dynamic behaviour of benthic microalgal biomass in intertidal mudflats. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 264(1): 85-100.
- Blew J. & Südbeck P. 2005. Migratory waterbirds in the Wadden Sea 1980–2000. Wadden Sea Ecosystem No. 20. Common Wadden Sea Secretariat, Trilateral Monitoring and Assessment Group, Joint Monitoring Group of Migratory Birds in the Wadden Sea, Wilhelmshaven, Germany.

- Blew J., Günther K., Hälterlein B., Kleefstra R., Laursen K. & Scheiffarth G. 2013. Trends of Migratory and Wintering Waterbirds in the Wadden Sea 1987/1988 -2010/2011. Wadden Sea Ecosystem No. 31. Common Wadden Sea Secretariat, Joint Monitoring Group of Migratory Birds in the Wadden Sea, Wilhelmshaven, Germany.
- Bligh E.G. & Dyer W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37(8): 911-917.
- Bocher P., Drouet S., Mahéo R., Le Dréan-Quénec'hdu S., Guyot T. & Caillot E. 2014a. Distribution, phenology and long term trend of Dunlin *Calidris alpina* in France. Wader Study Group Bulletin 121(1):23-32.
- Bocher P., Piersma T., Dekinga A., Kraan C., Yates M.G., Guyot T., Folmer E.O. & Radenac G. 2007. Site- and species-specific distribution patterns of molluscs at five intertidal soft-sediment areas in northwest Europe during a single winter. Marine Biology 151: 577-594.
- Bocher P., Quaintenne G., Delaporte P., Goulevant C., Deceuninck B. & Caillot E. 2012. Distribution, phenology and long term trend of Red knots *Calidris canutus* wintering or staging in France. Wader Study Group Bulletin 119: 17-25.
- Bocher P., Robin F., Deceuninck B. & Caillot E. 2013. Distribution, phenology and long-term trends in Black-tailed Godwits *Limosa limosa* wintering in coastal France. Acta Ornithologica 48(2): 141-150.
- Bocher P., Robin F., Kojadinovic J., Delaporte P., Rousseau P., Dupuy C. & Bustamante P. 2014b. Trophic resource partitioning within a shorebird community feeding on intertidal mudflats habitats. Journal of Sea Research http://dx.doi.org/10.1016/j.seares.2014.02.011.
- Boecklen W.J., Yarnes C.T., Cook B.A. & James A.C. 2011. On the use of stable isotopes in trophic ecology. Annual Reviews of Ecology, Evolution, and Systematics 42: 411-440.
- Boland H. & Crowe O. 2004-2006. Irish wetland bird survey: Results of waterbird monitoring in the Republic of Ireland, Rockingham House, Newcastle, Co. Wicklow, Ireland.
- Boland H. & Crowe O. 2007. Irish wetland bird survey: Results of waterbird monitoring in Ireland in 2005/06. Irish Birds 8: 167-178.
- Boland H. & Crowe O. 2012. Irish wetland bird survey: waterbird status and distribution 2001/02-2008/09. BirdWatch Ireland, Kilcoole, Co. Wicklow, Ireland.
- Bonaccorsi G. 1999. Bécasseau variable *Calidris alpina*, oiseaux menacés et à surveiller en France, listes rouges et recherche de priorités, populations, tendances. Société d'Etudes Ornithologiques de France / Ligue pour la Protection des Oiseaux (Eds), N°95, Paris, France.
- Bosman A.L., Du Toit J.T., Hockey P.A.R. & Branch G.M. 1986. A field experiment demonstrating the influence of seabird guano on intertidal primary production. Estuarine, Coastal and Shelf Science 23: 283-294.
- Bosman A.L. & Hockey P.A.R. 1986. Seabird guano as a determinant of rocky intertidal community structure. Marine Ecology Progress Series 32(2-3): 247-257.

- Brimble S.K., Blais J.M., Kimpe L.E., Mallory M.L., Keatley B.E., Douglas M.S.V. & Smol J.P. 2009. Bioenrichment of trace elements in a series of ponds near a northern fulmar (*Fulmarus glacialis*) colony at Cape Vera, Devon Island. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 66(6): 949-958.
- Brown M.R., Jeffrey S.W., Volkman J.K. & Dunstan G.A. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. Aquaculture 151(1-4): 315-331.
- Buehler D.M. & Baker A.J. 2005. Population divergence times and historical demography in Red Knots and Dunlins. The Condor 107: 497-513.
- Burger J. 1984. Abiotic factors affecting migrant shorebirds. Shorebirds: migration and foraging behaviour. Behaviour of Marine Animal 6. Burger J. & Olla B.L. (Eds), Plenum Press, New York, USA. pp. 1-72.
- Burger J. & Gochfeld M. 1991. Human activity influence and diurnal and nocturnal foraging of Sanderlings (*Calidris alba*). The Condor 93: 259-265.
- Burger J., Howe M.A., Hahn D.C. & Chase J. 1977. Effects of tide cycles on habitat selection and habitat partitioning by migrating shorebirds. The Auk 94: 743-758.
- Burton N.H.K., Evans P.R. & Robinson A. 1995. Effects on shorebird numbers of disturbance, the loss of a roost site and its replacement by an artificial island at Hartlepool, Cleveland. Biological Conservation 77: 193-201.
- Burton N.H.K., Musgrove A.J. & Rehfisch M.M. 2004. Tidal variation in numbers of waterbirds: how frequently should birds be counted to detect change and do low tide counts provide a realistic average? Bird Study 51:48-57.
- Burton P.J.K. 1974. Feeding and the feeding apparatus in waders: A study of anatomy and adaptation in the *Charadrii*. Trustees of the British Museum (Ed), London, UK.
- Butler R.W., Kaiser G.W. & Smith G.E.J. 1987. Migration chronology, length of stay, sex ratio, and weight of Western Sandpipers, (*Calidris mauri*) on the south coast of British Columbia. Journal of Field Ornithology 58: 103-111.

-C-

- Cabral J.A., Pardal M.Â., Lopes R.J., Murias T. & Marques J.C. 1999. The impact of macroalgal blooms on the use of intertidal area and feeding behaviour of waders (*Charadrii*) in the Mondego estuary (West Portugal). Acta Oecologica 20(4): 417-427.
- Caillot E. & Elder J.-F. 2000-2012. Synthèses annuelles, dénombrements mensuels des limicoles côtiers. Observatoire des limicoles côtiers RNF. Report RNF, France.
- Calbrade N.A., Holt C.A., Austin G.E., Mellan H.J., Hearn R.D., Stroud D.A., Wotton S.R. & Musgrove A.J. 2010. Waterbirds in the UK 2008/09: The Wetland Bird Survey. BTO/RSPB/JNCC in association with WWT, Thetford, UK.
- Cannuel R. & Beninger P.G. 2006. Gill development, functional and evolutionary implications in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Bivalvia: Ostreidae). Marine Biology 149(3): 547-563.

- Carpentier A., Como S., Dupuy C., Lefrançois C. & Feunteun E. 2014. Feeding ecology of *Liza* spp. in a tidal flat: Evidence of the importance of primary production (biofilm) and associated meiofauna. Journal of Sea Research 92: 86-91.
- Cartaxana P., Jesus B. & Brotas V. 2003 Pheophorbide and pheophytin a-like pigments as useful markers for intertidal microphytobenthos grazing by *Hydrobia ulvae*. Estuarine, Coastal and Shelf Science 58: 293-297.
- Cattrijsse A. & Hampel H. 2006. European intertidal marshes: a review of their habitat functioning and value for aquatic organisms. Marine Ecology Progress Series 324: 293-307.
- Characklis W.G. & Marshall K.C. 1990. Biofilms. Wiley, New York, USA.
- CNC 2010. L'ostréiculture française aujourd'hui. Rapport du Comité National de la Conchyliculture. Paris, France.
- Cognie B. & Barillé L. 1999. Does bivalve mucus favour the growth of their main food source, microalgae? Oceanologica Acta 22(4): 441-450.
- Colijn F. & de Jonge V.N. 1984. Primary production of microphytobenthos in the Ems-Dollard Estuary. Marine ecology progress series 14(2): 185-196.
- Colwell M.A. 1993. Shorebird community patterns in a seasonally dynamic estuary. The Condor 95:104-114.
- Colwell M.A. & Landrum S.L. 1993. Nonrandom shorebird distribution and fine-scale variation in prey abundance. The Condor 95(1): 94-103.
- Colwell M.A. 2010. Shorebird ecology, conservation and management. University of California Press, Berkeley, Los Angeles, USA.
- Connors P.G., Connors C.S. & Smith K.G. 1981. Shorebird littoral zone ecology of the Alaskan Beaufort coast. Final Report. Environmental Assessment of the Alaskan Continental Shelf.
- Convention de Ramsar 1971. Convention on Wetlands of International Importance especially as Waterfowl Habitat. Consulté le 10/04/2014, sur le site web: http://www.ramsar.org/cda/en/ramsar-documents-texts-conventionon/main/ramsar/1-31-38%5E20671_4000_0__.
- Cook P.L.M., Veuger B., Boer S. & Middelburg J.J. 2007. Effect of nutrient availability on carbon and nitrogen incorporation and flows through benthic algae and bacteria in near-shore sandy sediment. Aquatic Microbial Ecology 49(2): 165-180.
- Corlay J.P. & Robert J.M. 1986. Les cultures marines en Baie de Bourgneuf. Cahier Nantais, n°27, Institut de Géographie, Nantes: 103-169.
- Corzo A., Morillo J.A. & Rodriguez S. 2000. Production of transparent exopolymer particles (TEP) in cultures of *Chaetoceros calcitrans* under nitrogen limitation. Aquatic Microbial Ecology 23(1): 63-72.
- Costa L. & Rufino R. 1997. Mid-winter waterfowl counts in Portugal January 1997. Airo 8: 25-32.
- Craig H. 1957. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrophotometric analysis of CO₂. Geochimica et Cosmochimica Acta 12: 133-149.
- Cramp S.L., Simmons K.E.L., Snow D.W. & Perrins C.M. 1998. The complete Birds of the Western Palearctic on CD-ROM. Oxford University Press, London, UK.

Crooks S. 2004. The effect of sea-level rise on coastal geomorphology. Ibis 146: 18-20.

Crowe O., Boland H. & Walsh A. 2011. Irish wetland bird survey: results of waterbird monitoring in Ireland in 2009/10. Irish Birds 9: 229-240.

-D-

- Daborn G.R., Amos C.L., Brylinsky M., Christian H., Drapeau G., Faas R.W., Grant J., Long B., Paterson D.M., Perillo G.M.E. & Piccolo M.C. 1993. An ecological cascade effect-migratory birds affect stability of intertidal sediments. Limnology and Oceanography. 38: 225-231.
- Dalerum F. & Angerbjörn A. 2005. Resolving temporal variation in vertebrate diets using naturally occurring stable isotopes. Oecologia 144: 647-658.
- Davidson N.C. 1981. Survival of shorebirds (*Charadrii*) during severe weather: the role of nutritional reserves. Feeding and survival strategies of estuarine organisms. N.V. Jones & Wolf W.J. (Eds), Plenum Press, New York, USA.
- Davidson P.E. 1971. Some foods taken by waders in Morecambe Bay, Lancashire. Bird Study 18: 177-186.
- Davis C.A. & Smith L.M. 2001. Foraging strategies and niche dynamics of coexisting shorebirds at stopover sites in the southern Great Plains. The Auk 118: 484-495.
- Deceuninck B. & Mahéo R. 2000. Synthèse des dénombrements et analyse des tendances des limicoles hivernants en France. 1978-1999. LPO-BirdLife France/Wetlands International/DNP.
- Deceuninck, B., Mahéo, R. & Gabillard, F. 2008. Wader population estimates in France resulting from the 1997/98 Non-Estuarine Coastal Waterbird Survey. In: Burton N.H.K. *et al.* (Eds) The European Non-Estuarine Coastal Waterbird Survey. International Wader Studies 18. International Wader Study Group, Thetford, UK. pp 23–30.
- Decho A.W. 2000. Microbial biofilms in intertidal systems: an overview. Continental Shelf Research 20(10-11): 1257-1273.
- Decottignies P. 2006. Mécanismes d'alimentation et régimes trophiques de deux mollusques suspensivores invasifs en Baie de Bourgneuf, *Crassostrea gigas* et *Crepidula fornicata*: comparaison et implications. Thèse de biologie et écologie côtières, Université de Nantes, France.
- Decottignies P., Beninger P.G., Rincé Y., Robins R.J. & Riera P. 2007. Exploitation of natural food sources by two sympatric, invasive suspension-feeders, *Crassostrea gigas* and *Crepidula fornicata*. Marine Ecology Progress Series 334:179-192.
- de Jonge V.N. & Colijn F. 1994. Dynamics of microphytobenthos in the Ems Estuary. Marine Ecology Progress Series 104: 185-186.
- de Jong D.J. & de Jonge V.N. 1995. Dynamics and distribution of microphytobenthic chlorophyll-a in the Western Scheldt Estuary (SW Netherlands). Hydrobiologia 311 (1-3): 21-30.
- Dekinga A. & Piersma T. 1993. Reconstructing diet composition on the basis of faeces in a mollusc-eating wader, the Knot *Calidris canutus*. Bird Study 40: 144-156.

- DeLancey L.B. 1989. Trophic relationship in the surf zone during the summer at Folly Beach, South Carolina. Journal of Coastal Research 5(3): 477-488.
- Delany S., Reyes C., Hubert E., Pihl S., Rees E., Haanstra L. & Van Strien A. 1999. Results from the International Waterbird Census in the Western Palearctic and Southwest Asia 1995 and 1996. Wetlands International Publication No. 54, Wageningen, The Netherlands.
- Delany S. & Scott D. 2002. Waterbird population estimates -Third Edition. Wetlands International Global Series, Wageningen, The Netherlands.
- Delany S., Scott D., Dodman T. & Stroud D. (Eds) 2009. An atlas of wader populations in Africa and Western Eurasia. Wetlands International and Wader Study Group, Wageningen, The Netherlands.
- del Hoyo J., Elliott A. & Sargatal J. (Eds) 1996. Handbook of the birds of the world. Vol. 3. Lynx Editions, Barcelona, Spain.
- DeNiro M.J. & Epstein S. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. Geochimica et Cosmochimica Acta 42: 495-506.
- DeNiro M.J. & Epstein S. 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. Geochimica et Cosmochimica Acta 45: 341-351.
- Dewar J. M., 1909. Notes on the feeding-habits of the Dunlin *Tringa alpina*. Zoologist, 13: 1-14.
- Dias M.P., Granadeiro J.P., Lecoq M., Santos C.D. & Palmeirim J.M. 2006a. Distance to high-tide roosts constrains the use of foraging areas by Dunlins: implications for the management of estuarine wetlands. Biological Conservation 131: 446-452.
- Dias M.P., Granadeiro J.P., Martins R.C. & Palmeirim J.M. 2006b. Estimating the use of tidal flats by waders: inaccuracies due to the response of birds to the tidal cycle. Bird Study 53:32-38.
- Dias M.P., Granadeiro J.P. & Palmeirim J.M. 2009. Searching behaviour of foraging waders: does feeding success influence their walking? Animal Behaviour 77:1203-1209.
- Dierschke V., Kube J., Probst S. & Brenning U. 1999a. Feeding ecology of Dunlins *Calidris alpina* staging in the southern Baltic Sea, 1. Habitat use and food selection. Journal of Sea Research 42(1): 49-64.
- Dierschke V., Kube J. & Rippe H. 1999b. Feeding ecology of Dunlins *Calidris alpina* staging in the southern Baltic Sea, 2. Spatial and temporal variations in the harvestable fraction of their favourite prey *Hediste diversicolor*. Journal of Sea Research 42(1): 65-82.
- Dodd S.L. & Colwell M.A. 1996. Seasonal variation in diurnal and nocturnal distributions of nonbreeding shorebirds at North Humboldt Bay, California. The Condor 98: 196-207.
- Dodd S.L. & Colwell M.A. 1998. Environmental correlates of diurnal and nocturnal foraging patterns of nonbreeding shorebirds. Wilson Bulletin 110(2): 182-189.
- Drouet S., P. Decottignies, Turpin V., Godet L., Cognie B. & Cosson R.P. 2015. Utilisation of intertidal mudflats by the Dunlin, *Calidris alpina*, in relation to microphytobenthos biofilms. Journal of Ornithology 156: 75-83.

- Drouet S., Decottignies P., Turpin V., Gourlay P., Cosson R.P. en préparation a. Bill and tongue structure of Dunlin (*Calidris alpina alpina*): relationship with its feeding ecology.
- Drouet S., Quaintenne G., Decottignies P., Turpin V., Guyot T., Cosson R.P., Philippe A. & Bocher P. en préparation b. Contrasting prey availability and selection by Dunlin Calidris alpina in two bays on the French Atlantic coast. Bird Study.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A. & Smith F. 1956. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28(3): 350-356.
- Dubois P.J., Le Maréchal P., Olioso G. & Yesou P. 2000. Inventaire des Oiseaux de France. Avifaune de la France métropolitaine. Paris, France.
- Dugan P.J. 1981. The importance of nocturnal foraging in shorebirds: a consequence of increased invertebrate prey activity. In: Jones N.V. & Wolff W.J. (Eds) Feeding and survival strategies of estuarine organisms. Plenum Press, London, UK.

-E-

- Edgar G.J. & Shaw C. 1995. The production and trophic ecology of shallow-water fish assemblages in southern Australia III. General relationships between sediments, seagrasses, invertebrates and fishes. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 194(1): 107-131.
- Ehleringer J.R. & Rundel P.W. 1989. Stable Isotopes: history, units, and instrumentation. In: Rundel P.W., Rundel J.R. & Nagy K.A. (Eds) Stable isotopes in ecological research. Springer-Verlag, New York, USA. pp 1-16.
- Ehlert W. 1964. Zur Ökologie und Biologie der Ernährung einiger Limikolen-Arten. Journal of Ornithology 105: 1-53.
- Eldridge J. 1992. 13.2.14 Management of Habitat for Breeding and Migrating Shorebirds in the Midwest. Waterfowl Management Handbook. Paper 11.
- Elner R.W., Beninger P.G., Jackson D.L. & Potter T.M. 2005. Evidence of a new feeding mode in Western Sandpiper (*Calidris mauri*) and Dunlin (*Calidris alpina*) based on bill and tongue morphology and ultrastructure. Marine Biology 146: 1223-1234.
- Elner R. W. & Seaman D.A. 2003. Calidrid conservation: unrequited needs. Wader Study Group Bulletin 100: 30-34.
- Engelmoer M. 1982. Distribution and feeding of waders at low tide. In: Altenburg W., Engelmoer M., Mes R. & Piersma T. (Eds) Wintering Waders on the Banc d'Arguin, Mauritania. Stichting Veth tot steun aan Waddenonderzoek, Leiden, The Netherlands.
- Engelmoer M. & Roselaar C.S. 1998. Geographical variation in waders. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Ens B.J., Kersten M., Brenninkmeijer A. & Hulscher J.B. 1992. Territory quality, parental effort, and reproductive success of Oystercatchers (*Haematopus ostralegus*). Journal of Animal Ecology 61: 703-715.

- Ens B.J., Piersma T. & Drent R.H. 1994. The dependence of waders and waterfowl migrating along the East Atlantic Flyway on their coastal food supplies: What is the most profitable research programme? Ophelia 6(Suppl.): 127-151.
- Ens B.J., Piersma T., Wolff W.J. & Zwarts L. 1990. Homeward bound: Problems waders face when migrating from the Banc d'Arguin, Mauritania, to their northern breeding grounds in spring. Ardea 78: 1-16.
- Estrella S.M., Masero J.A. & Pérez-Hurtado A. 2007. Small-prey profitability: field analysis of shorebirds'use of surface tension of water to transport prey. The Auk 124(4): 1244-1253.
- Evans A.D. 1987. Relative availability of the prey of wading birds by day and by night. Marine Ecology Progress Series 37:103-107.
- Evans P.R. 1976. Energy balance and optimal foraging strategies in shorebirds: some implications for their distributions and movements in the non-breeding season. Ardea 64: 117-139.
- Evans P.R., Herdson D.M., Knights P.J. & Pienkowski M.W. 1979. Short-term effects on reclamation of part of Seal Sands, Teesmouth, on wintering waders and shelduck. I. Shorebird diets, invertebrate densities, and the impact of predation on the invertebrates. Oecologia 41: 183-206.
- Evans P.R. 1991. Seasonal and annual patterns of mortality in migratory shorebirds: some conservation implications. In: Perrins C.H., Lebreton J.-D. & Herons G.J.M. (Eds) Bird Population Studies: Relevance to Conservation and Management. Oxford University Press, Oxford, UK. pp 346-359.
- Evans P.R. & Smith P.C. 1975. Studies of shorebirds at Lindisfarne, Northumberland.2. Fat and pectoral muscles as indicators of body composition in the Bar-tailed Godwit. Wildfowl 26: 37-46.
- Eybert M.-C., Geslin T., Questiau S. & Feunteun E. 2003. Shorebird community variations indicative of a general perturbation in the Mont-Saint-Michel Bay (France). Comptes Rendus Biologies 326 (1): 140-147.

-F-

- FAO 2009. Profil sur le changement climatique. Consulté le 10/04/2014, sur le site web : http://www.fao.org/climatechange/fr.
- Finn P.G., Catterall C.P. & Driscoll P.V. 2008. Prey versus substrate as determinants of habitat choice in a feeding shorebird. Estuarine, Coastal and Shelf Science 80: 381-390.
- Folch J., Lees M. & Stanley G.H.S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues Journal of Biological Chemistry 226(1): 497-509.
- Folmer E.O. 2012. Self-organisation on mudflats. Thèse de mathématiques et sciences naturelles. University of Groningen, The Netherlands.
- Foreman K., Valiela I. & Sardà R. 1995. Controls of benthic marine food webs. Scientia Marina 59(Supl. 1): 119-128.
- Forster R.M. & Martin-Jezequel V.R. 2005. Photophysiological variability of microphytobenthic diatoms after growth in different types of culture conditions. Phycologia 44(4): 393-402.

- Fransson T., Kolehmainen T., Jansson L. & Wenninger T. 2010. EURING list of longevity records for European birds. Consulté le 11/07/2014, sur le site web: http://www.euring.org/data_and_codes/longevity.htm.
- Friedrich H. 1938. Polychaeta. In: Grimpe G. et Wagler, E. (Eds) Tierwelt der Nordund Ostsee, VIb: 1-201. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig, Deutschland.

-G-

- Galbraith H., Jones R., Park P., Clough J., Herrod-Julius S., Harrington B. & Page G. 2002. Global climate change and sea level rise: potential losses of intertidal habitat for shorebirds. Waterbirds 25: 173-183.
- Garcia-Arberas L. & Rallo A. 2002. Life cycle, demography and secondary production of the polychaeta *Hediste diversicolor* in a non-polluant estuary in the Bay of Biscay. Marine Ecology-Pubblicazioni Della Stazionz Zoologica Di Napoli I 23: 237-251.
- Geider R.J., Laroche J., Greene R.M. & Olaizola M. 1993. Response of the photosynthetic apparatus of *Phaeodactylum tricornutum* (*Bacillariophyceae*) to nitrate, phosphate, or iron starvation. Journal of Phycology 29(6): 755-766.
- Géroudet P. 2008. Limicoles, Gangas et Pigeons d'Europe. Paris, France.
- Gerritsen A.F.C. & Van Heezik Y.M. 1984. Substrate preference and substrate related foraging behaviour in three *Calidris* species. Netherlands Journal of Zoology 35(4): 671-692.
- Gerritsen A.F.C. & Meiboom A. 1986. The role of touch in prey density estimation by *Calidris alba*. Netherlands Journal of Zoology 36: 530-562.
- Gill F. & Donsker D. (Eds) 2014. IOC World Bird List (v 4.1), doi 10.14344/IOC.ML.4.1
- Gillet P. 1990. Biomasse, production et dynamique des populations de *Nereis diversicolor* (annélide polychète) de l'estuaire de la Loire (France). Acta Oecologica 13: 361-371.
- Glibert P., Harrison J., Heil C. & Seitzinger S. 2006. Escalating worldwide use of urea
 A global change contributing to coastal eutrophication. Biogeochemistry 77(3): 441-463.
- Godet L., Jaffré M. & Devictor V. 2011. Waders in winter: long-term changes of migratory bird assemblages facing climate change. Biology Letters 07: 714-717.
- Godet L., Toupoint N., Fournier J., Mao P.L., Retière C. & Olivier F. 2009. Clam farmers and Oystercatchers: Effects of the degradation of *Lanice conchilega* beds by shellfish farming on the spatial distribution of shorebirds. Marine Pollution Bulletin 58:589-595.
- Goeyens L., Kindermans N., Abu Yusuf M. & Elskens M. 1998. A room temperature procedure for the manual determination of urea in seawater. Estuarine Coastal and Shelf Science 47(4): 415-418.
- Golovkin A.N. 1967. The effect of colonial sea birds on development of the phytoplankton. Oceanology 7: 521-529.
- Goss-Custard J.D. 1969. The winter feeding ecology of the Redshank, *Tringa totanus*. Ibis 111: 338-356.

- Goss-Custard J.D. 1977. The ecology of the Wash III. Density-related behaviour and the possible effects of a loss of feeding grounds on wading birds (*Charadrii*). Journal of Applied Ecology 14: 721-739.
- Goss-Custard J.D., Jenyon R.A., Jones R.E., Newbery P.E. & Williams R. 1977. The ecology of the Wash. II. Seasonal variation in the feeding conditions of wading birds (*Charadrii*). Journal of Applied Ecology 14: 701-719.
- Goss-Custard J.D., Stillman R. A., West A.D., Caldow R.W.G. & Mcgrorty S. 2002. Carrying capacity in overwintering migratory birds. Biological Conservation 105: 27-41.
- Goss-Custard J.D., Warwick R.M., Kirby R., Mcgrorty S., Clarke R.T., Pearson B., Rispin W.E., Le V. dit Durell S.E.A. & Rose R.J. 1991. Towards predicting wading bird densities from predicted prey densities in a post-barrage Severn Estuary. Journal of Applied Ecology 28: 1004-1026.
- Goss-Custard J.D., Caldow R.W., Clarke R.T., Le V. dit Durell S.E.A., Urfi J. & West Y.D. 1995. Consequences of habitat loss and change to populations of wintering migratory birds: predicting the local and global effects from studies of individuals. Ibis 137: S56-S66.
- Gottschaldt K.-M. 1985. Structure and function of avian somatosensory receptors. Academic Press, London, UK.
- Granadeiro J.P., Dias M.P., Martins R.C. & Palmeirim J.M. 2006. Variation in numbers and behaviour of waders during the tidal cycle: implications for the use of estuarine sediment flats. Acta Oecologica 29:293-300.
- Granadeiro J.P., Santos C.D., Dias M.P., Palmeirim J.M. 2007. Environmental factors drive habitat partitioning in birds feeding in intertidal flats: implications for conservation. Hydrobiologia 587: 291-302.
- Grant J. 1984. Sediment microtopography and shorebird faraging. Marine Ecology Progress Series 19: 293-296.
- Greenwood J.G. 1984. Migration of Dunlin *Calidris alpina*: a worlwide overview. Ringing and Migration 5: 35-39.
- Greenwood J.G. 1986. Geographical variation and taxonomy of the Dunlin *Calidris alpina* (L.). Bulletin of the British Ornithologists'Club 106: 43-56.
- Guerrini F., Cangini M., Boni L., Trost P. & Pistocchi R. 2000. Metabolic responses of the diatom *Achnanthes brevipes* (*Bacillariophyceae*) to nutrient limitation. Journal of Phycology 36(5): 882-890.
- Gerritsen A.F.C. 1988. Feeding techniques and the anatomy of the bill in Sandpipers (*Calidris*). Thèse de biologie, Leyde, Pays-Bas.
- Guillard R.R.L. 1973. Division rates. In: Stein J.R. (Ed) Handbook of phycological methods. Cambridge University Press, Cambridge, UK. pp 289-312.
- Gwiazda R., Jarocha K. & Szarek-Gwiazda E. 2010. Impact of a small cormorant (*Phalacrocorax carbo sinensis*) roost on nutrients and phytoplankton assemblages in the littoral regions of a submontane reservoir. Biologia 65(4): 742-748.

-H-

Hairston N.G., Smith F.E. & Slobodkin L.B. 1960. Community structure, population control and competition. American Naturalist 94: 421-425.

Hale W.G. 1980. Waders. Collins (Ed), London, UK.

- Hall L.S., Krausman P.R. & Morrison M.L. 1997. The habitat concept and a plea for standard terminology. Wildlife Society Bulletin 25: 173-182.
- Haramis G.M., Link W.A., Osenton P.C., Carter D.B., Weber R.G., Clark N.A., Teece M.A. & Mizrahi D.S. 2007. Stable isotope and pen feeding trial studies confirm the value of horseshoe crab *Limulus polyphemus* eggs to spring migrant shorebirds in Delaware Bay. Journal of Avian Biology 38(3): 367-376.
- Harrison P.J., Thompson P.A. & Calderwood G.S. 1990. Effects of nutrient and light limitation on the biochemical composition of phytoplankton. Journal of Applied Phycology 2(1): 45-56.
- Hartmann-Schröder G. 1971. *Annelida*, Borstenwürmer, *Polychaeta*. In: Gustav Fisher Verlag (Ed) Die Tierwelt Deutschlands und der angrenzenden Meeresteile. Jena, Deutschland. 58: 1-594.
- Haure J., Sauriau P.G. & Baud J.P. 1996. Effets du vent sur la remise en suspension particulaire en Baie de Bourgneuf: conséquences sur la croissance de *Crassostrea gigas*. Journal de Recherche Océanographique 11: 21-30.
- Haure J. & Baud J.P. 1995. Approche de la capacité trophique dans le bassin ostréicole (Baie de Bourgneuf). Rapports internes de la Direction des Ressources Vivantes de l'Ifremer. Bouin, France.
- Hayward P.J. & Ryland J.S. (Eds) 1995. Handbook of the marine fauna of North-West Europe. Oxford University Press, New York, USA.
- Heip C., Smol N. & Hautekiet W. 1974. A rapid method of extracting meiobenthic nematods and copepods from mud and detritus. Marine Biology 28: 79-81.
- Heisslein R.H., Hallard K.A. & Ramlal P. 1993. Replacement of sulfur, carbon and nitrogen in tissue of growing broad whitefish (*Coregonus nasus*) in response to a change in diet traced by δ^{34} S, δ^{13} C, and δ^{15} N. Canadian Journal of Fisheries and Aquatical Science 50: 2071-2076.
- Helfman G.S. & Winkelman D.L. 1991. Energy trade-offs and foraging mode choice in American Eels. Ecology 72(1): 310-318.
- Herman P.M.J., Middelburg J.J., Van de Koppel J. & Heip C.H.R.1999. The ecology of estuarine macrobenthos. Advances in Ecological Research 29: 195-240.
- Ho T.Y., Quigg A., Finkel Z.V., Milligan A.J., Wyman K., Falkowski P.G. & Morel F.M.M. 2003. The elemental composition of some marine phytoplankton. Journal of Phycology 39(6): 1145-1159.
- Hobson K.A. & Clark R.G. 1992. Assessing avian diets using stable isotopes I: turnover of ¹³C in tissues. The Condor 94: 181-188.
- Hobson K.A. & Clark R.G. 1993. Turnover of ¹³C in cellular and plasma fractions of blood: implications for non-destructive sampling in avian dietary studies. The Auk 110: 638-641.
- Hobson K.A., Piatt J.F. & Pitocchelli J. 1994. Using stable isotopes to determine seabird trophic relationships. Journal of Animal Ecology 786-798.
- Höfmann H. & Hoerschelmann H. 1969. Nahrungsuntersuchungen bei Limikolen durch Mageninhaltsanalysen. Corax 3: 7-22.

- Holt C.A., Austin G.E., Calbrade N.A., Mellan H.J., Hearn R., Stroud D.A., Wotton S.R. & Musgrove A.J. 2012. Waterbirds in the UK 2010/11: The Wetland Bird Survey. British Trust for Ornithology, Royal Society for the Protection of Birds and Joint Nature Conservation Committee in association with Wildfowl and Wetlands Trust, Thetford, UK.
- Holt C.A., Austin G.E., Calbrade N.A., Mellan H.J., Mitchell C., Stroud D.A., Wotton S.R. & Musgrove A.J. 2011. Waterbirds in the UK 2009/10: The Wetland Bird Survey. BTO/RSPB/JNCC, Thetford, UK.
- Holt C.A., Austin G.E., Calbrade N.A., Mellan H.J., Thewlis R.M., Hall C., Stroud D.A., Wotton S.R. & Musgrove A.J. 2009. Waterbirds in the UK 2007/08: The Wetland Bird Survey. TO/WWT/RSPB/JNCC, Thetford, UK.
- Hötker H. 1995. Aktivitätsrhythmus von Brandgänsen (*Tadorna tadorna*) und Watvögeln (*Charadrii*) and der Nordseeküste. Journal of Ornithology 136: 105-126.
- Hornman M., Van Roomen M., Hustings F., Koffijberg K., Van Winden E. & Soldaat L. 2012. Populatie trends van overwinterende en doortrekkende watervogels in Nederland in 1975-2010. Limosa 85: 97-116.
- Huettmann F. & Czech B. 2006. The steady state economy for global shorebird and habitat conservation. Endangered Species Research 2: 89-92.
- Hurlbert S.H. & Chang C.C.Y. 1983. Ornitholimnology: Effects of grazing by the Andean Flamingo (*Phoenicoparrus andinus*). Proceedings of the National Academy of Sciences 80: 4766-4769.
- Hynes H.B.N. 1950. The food of fresh-water stickle-backs (*Gasterosteus aculeatus* and *Pygosteus pungitius*), with a review of methods used in studies of the food of fishes. Journal of Animal Ecology 19: 36-58.

-J-

- Jauffrais T., Drouet S., Turpin V., Méléder V., Jesus B., Cognie B., Raimbault P., Cosson R.P., Decottignies P. & Martin Jézéquel V. en préparation c. Growth and biochemical composition of a microphytobenthic diatom (*Entomoneis paludosa*) exposed to shorebird (*Calidris alpina*) droppings Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.
- Jauffrais T., Séchet V., Herrenknecht C., Truquet P., Véronique S., Tillmann U. & Hess P. 2013. Effect of environmental and nutritional factors on growth and azaspiracid production of the dinoflagellate *Azadinium spinosum*. Harmful Algae 27: 138-148.
- Jesus B., Brotas V., Ribeiro L., Mendes C.R., Cartaxana P. & Paterson D.M. 2009. Adaptations of microphytobenthos assemblages to sediment type and tidal position. Continental Shelf Research 29: 1624-1634.
- Jiang Y.L., Yoshida T. & Quigg A. 2012. Photosynthetic performance, lipid production and biomass composition in response to nitrogen limitation in marine microalgae. Plant Physiology and Biochemistry 54: 70-77.
- Jing Z., Kai J., Xiaojing G. and Zhijun M. 2007. Food supply in intertidal area for shorebirds during stopover at Chongming Dongtan, China. Acta Ecologica Sinica 27:2149-2159.
- Jonzén N. 2008. Habitat selection: implications for monitoring, management, and conservation. Israel Journal of Ecology and Evolution 54: 459-471.

Jourdan A.J.L. 1834. Dictionnaire raisonné, étymologique, synonymique et polyglotte, des termes usités dans les sciences naturelles. J.-B. Baillière (Ed), Paris, France.

-K-

- Kaletja B. & Hockey P.A.R. 1994. Distribution of shorebirds at the Berg River estuary, South Africa, in relation to foraging mode, food supply and environmental features. Ibis 136: 233-239.
- Keatley B.E., Douglas M.S.V., Blais J.M., Mallory M.L. & Smol, J.P. 2009. Impacts of seabird-derived nutrients on water quality and diatom assemblages from Cape Vera, Devon Island, Canadian High Arctic. Hydrobiologia 621: 191-205.
- Keller M. 1985. Distribution quantitative de la méiofaune dans l'aire d'épandage de l'égout de Marseille. Marine Biology 89: 293-302.
- Kelly J.E. 2000. Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. Canadian Journal of Zoology 78: 1-27.
- Kelly J.P. 2001. Hydrographic correlates of winter Dunlin abundance and distribution in a temperate estuary. Waterbirds 24: 309-322.
- Kelly J.P., Warnock N., Page G.W. & Weathers W.W. 2002. Effects of weather on daily body mass regulation in wintering Dunlin. The Journal of Experimental Biology 205:109-120.
- Kelsey M.G. & Hassall M. 1989. Patch selection by Dunlin on a heterogeneous mudflat. Ornis Scandinavica 20: 250-254.
- Kent A.C. & Day R.W. 1983. Population dynamics of an infaunal polychaete: the effect of predators and an adult recruit interaction. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 73: 185-203.
- Kersten M. & Piersma T. 1986. High levels of energy expenditure in shorebirds; metabolic adaptations to an energetically expensive way of life. Ardea 75: 175-187.
- Kohler S., Bonnevie B., Mcquaid C. & Jaquemet S. 2009. Foraging ecology of an endemic shorebird, the African Black Oystercatcher (*Haematopus moquini*) on the south–east coast of South Africa. Estuarine Coastal and Shelf Science 84(3): 361-366.
- Koolhaas A., Dekinga A. & Piersma T. 1993. Disturbance of foraging Knots by aircraft in the Dutch Wadden Sea in August-October 1992. Wader Study Group Bulletin 68: 20-22.
- Kooloos J.G.M., Kraaijeveld A.R., Langenbach G.E.J. & Zweers G.A. 1989. Comparative mechanics of filter in Anas platyrhynchos, *Anas clypeata* and *Ayhthya fuligula (Aves, Anseriformes)*. Zoomorphology 108: 269-290.
- Koroleff F. 1970. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. Information on Techniques and Methods for Seawater Analysis. International Council for the Exploration of the Sea. pp 19-22.
- Kraan C., Piersma T., Dekinga A., Koolhaas A. & Van Der Meer J. 2007. Dredging for edible cockles (*Cerastoderma edule*) on intertidal flats: short-term consequences of fisher patchchoice decisions for target and non-target benthic fauna. ICES Journal of Marine Science 64: 1735-1742.

- Krebs C.J. 2009. Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance. Collins (Ed), New York, USA.
- Kulk G., Van de Poll W.H., Visser R.J.W., Buma A.G.J. 2013. Low nutrient availability reduces high-irradiance-induced viability loss in oceanic phytoplankton. Limnology and Oceanography 58(5): 1747-1760.
- Kuwae T. 2007. Diurnal and nocturnal feeding rate in Kentish plovers *Charadrius alexandrinus* on an intertidal flat as recorded by telescopic video systems. Marine Biology 151: 663-673.
- Kuwae T., Beninger P. G., Decottignies P., Mathot K. J., Lund D. R. & Elner R. W. 2008. Biofilm grazing in a higher vertebrate: the Western Sandpiper, *Calidris mauri*. Ecology 89(3): 599-606.
- Kuwae T., Miyoshi E., Hosokawa S., Ichimi K., Hosoya J., Amano T., Moriya T., Kondoh M., Ydenberg R.C. & Elner R. W. 2012. Variable and complex food web structures revealed by exploring missing trophic links between birds and biofilm. Ecology Letters15:347-356. doi: 10.1111/j.1461-0248.2012.01744.x.
- Kuwae T., Miyoshi E., Sassa S. & Watabe Y. 2010. Foraging mode shift in varying environmental conditions by Dunlin *Calidris alpina*. Marine Ecology Progress Series 406: 281-289.

-L-

- Lambeck R.H.D., Sandee A.J.J. & Wolf L.D. 1989. Long-term patterns in the wader usage of an intertidal flat in the Oosterschelde (SW Netherlands) and the impact of the closure of an adjacent estuary. Journal of Applied Ecology 26: 419-431.
- Last K.S. & Olive P.J.W. 1999. Photoperiodic control of growth and segment proliferation by *Nereis* (*Neanthes*) *virens* in relation to state of maturity and season. Marine Biology 134: 191-199.
- Last K.S. & Olive P.J.W. 2004. Interaction between photoperiod and an endogenous seasonal factor in influencing the diet locomotor activity of the benthic polychaete *Nereis virens* Sars. Biological Bulletin 206: 103-112.
- Laursen K. & Frikke J. 2006. Assessment of sustainable management of staging waterbirds in the Danish Wadden Sea. Wildfowl 56: 152-171.
- Layman, C.A., Araujo M.S., Boucek R., Harrison E., Jud Z.R., Matich P., Hammerschlag-Peyer C.M., Rosenblatt A.E., Vaudo J.J., Yeager L.A., Post D.
 & Bearhop S. 2012. Applying stable isotopes to examine food web structure: An overview of analytical tools. Biological Reviews 87: 542-562.
- Le Dréan-Quénec'hdu S. 1999. Paramètres influençant la répartition des limicoles: sédiments et parasites. Thèse de biologie, Université de Rennes I, France.
- Le Dréan-Quénec'hdu S., Mahéo R. & Boret P. 1995. Mont Saint Michel Bay: spatial distribution of major wader species. Wader Study Group Bulletin 77:55-61.
- Leentvaar P. 1967. Observations in guanotrophic environments. Hydrobiologia 29: 441-489.
- Lemoine N., Schaefer H.-C. & Böhning-Gaese K. 2007. Species richness of migratory birds is influenced by global climate change. Global Ecology and Biogeography 16: 55-64.

- Le V. dit Durell S.E.A. 2000. Individual feeding specialisation in shorebirds: population consequences and conservation implications. Biological Reviews 75(4): 503-518.
- Le V. dit Durell S.E.A. & Kelly C.P. 1990. Diets of Dunlin *Calidris alpina* and Grey Plover *Pluvialis squatarola* on the Wash as determined by dropping analysis. Bird Study 37(1): 44-47.
- Leyer J., Robin F., Delaporte P., Goulevant C., Joyeux E., Meunier F., Bocher P. & Piersma T. 2009. Northward migration of Afro-Siberian Knots *Calidris canutus canutus*: High variability in Red Knot numbers visiting stopover sites on French Atlantic coast (1979-2009). Wader Study Group Bulletin 116(3): 145-151.
- Lifjeld J. 1983. Stomach content analyses of the Dunlin *Calidris alpina* : Bias due to differential digestibility of prey items. Series C Cinclus 6: 43-46.
- Lima S.L. 1986. Predation risk and predictable feeding conditions: Determinants of body mass in birds. Ecology 67: 377-385.
- Linares F. 2006. Effect of dissolved free amino acids (DFAA) on the biomass and production of microphytobenthic communities. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 330(2): 469-481.
- Linares F. & Sundback K. 2006. Uptake of dissolved free amino acids (DFAA) by microphytobenthic communities. Aquatic Microbial Ecology 42(2): 175-186.
- Lindeboom H.J. 1984. The nitrogen pathway in a penguin rookery. Ecology 65: 269-277.
- Lindström Å., Kvist A., Piersma T., Dekinga A. & Dietz M.W. 2000. Avian pectoral muscle size rapidly tracks body mass changes during flight, fasting and fuelling. Journal of Experimental Biology 203: 913-919.
- Little C. 2000. The biology of soft shores and estuaries. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Loder T.C., Ganning B. & Love J.A. 1996. Ammonia nitrogen dynamics in coastal rockpools affected by gull guano. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 196(1-2): 113-129.
- Long L.L. & Ralph C.J. 2001. Dynamics of habitat use by shorebirds in estuarine and agricultural habitats in Northwestern California. The Wilson Bulletin 113(1): 41-52.
- Lopes R.J., Marques J.C. & Wennerberg L. 2006. Migratory connectivity and temporal segregation of Dunlin (*Calidris alpina*) in Portugal: evidence from morphology, ringing recoveries and mtDNA. Journal of Ornithology 147: 385-394.
- Lourenço P.M., Granadeiro J.P. & Palmeirim J.M. 2005. Importance of drainage channels for waders foraging on tidal flats: relevance for the management of estuarine wetlands. Journal of Applied Ecology 42: 477-486.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. & Randall R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry 193(1): 265-275.
- LPO 2010. Base de données des dénombrements d'oiseaux d'eau Wetlands International réalisés à la mi-janvier. 1977-2010. LPO-Birdlife France, Rochefort, France.

Lubetkin S.C. & Simenstad C.A. 2004. Multi-source mixing models to quantify food web sources and pathways. Journal of Applied Ecology 41: 996-1008.

-M-

- MacDonald E.C., Ginn M.G. & Hamilton D.J. 2012. Variability in foraging behavior and implications for diet breadth among Semipalmated Sandpipers staging in the upper Bay of Fundy. The Condor 114:135-144.
- MacIntyre H.L., Geider R.J. & Miller D.C. 1996. Microphytobenthos: the ecological role of the "Secret Garden" of unvegetated, shallow-water marine habitats, 1. Distribution, abondance and primary production. Estuaries 19(2A): 186-201.
- MacLean I.M.D., Austin G.E., Rehfisch M.M., Blew J.A.N., Crowe O., Delany S., Devos K., Deceuninck B., Günther K., Laursen K., Van Roomen M. & Wahl J. 2008. Climate change causes rapid changes in the distribution and site abundance of birds in winter. Global Change Biology 14: 2489-2500.
- MacLean S.F. & Holmes R.T. 1971. Bill lengths, wintering areas, and taxonomy of North America Dunlins, *Calidris alpina*. The Auk 88: 893-901.
- MacNally R. 2000. Regression and model-building in conservation biology, biogeography and ecology: The distinction between – and reconciliation of – 'predictive' and 'explanatory' models. Biodiversity and Conservation 9:655-671.
- Mahéo R. 2010. Limicoles séjournant en France (Janvier) 1977-2010. Wetlands International/ONCFS/Université de Rennes, France.
- Mahéo R. 2013. Limicoles séjournant en France (Janvier) 1977-2013. Wetlands International/ONCFS/Université de Rennes, France.
- Mahéo G., Guillot S., Blichert-Toft J., Rolland Y. & Pêcher A. 2002. A slab break-off model for the Neogene thermal evolution of South Karakoram and South Tibet. Earth and Planetary Science Letters 195: 45-58.
- Mahéo R. & Le Dréan-Quénec'hdu S. 2012. Limicoles séjournant en France (Littoral), 35^{ème} contribution française aux dénombrements internationaux des oiseaux d'eau organisés (limicoles côtiers) organisés par Wetlands International. Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS), France.
- Mahéo R. & Le Dréan-Quénec'hdu S. 2013. Limicoles séjournant en France (littoral). Janvier 2013. Wetlands International/ONCFS, France.
- Mann K. 1982. Kelp, sea urchins and predators: a review of strong interactions in rocky subtidal systems of eastern Canada, 1970-1980. Netherlands Journal of Sea Research 16: 414-423.
- Mantoura R.F.C. & Llewellyn C.A. 1983. The rapid determination of algal chlorophyll and carotenoid pigments and their breakdown products in natural waters by reversephase high-performance liquid chromatography. Analytica Chimica Acta 151: 297-314.
- Marchetti J., Bougaran G., Jauffrais T., Lefebvre S., Rouxel C., Saint-Jean B., Lukomska E., Robert R. & Cadoret J.P. 2013. Effects of blue light on the biochemical composition and photosynthetic activity of *Isochrysis* sp. (T-iso). Journal of Applied Phycology 25(1): 109-119.

- Marion L., Clergeau P., Brient L. & Bertru G. 1994. The importance of aviancontributed nitrogen (N) and phosphorus (P) to lake Grand-Lieu, France. Hydrobiologia 279: 133-147.
- Maron J.L. & Myers J.P. 1985. Seasonal changes in feeding success, activity patterns, and weights of nonbreeding Sanderlings (*Calidris alba*). The Auk 102: 580-586.
- Marshall Darley W. 1977. Biochemical composition. In: Werner D. (Ed.) The biology of diatoms. University of California press, Berkeley and Los Angeles, USA. pp 198-223.
- Marti R. & Del Moral J.C. 2002. Evolución de las poblaciones de aves acuáticas en España 1980-2000. SEO Birdlife/ Ministerio de Medio Ambiente. Madrid, Spain.
- Martin G. 1990. Birds by night. Poyser T. and A.D. (Ed), London, UK.
- Martin A. P. & Hockey P.A.R. 1993. The effectiveness of stomach-flushing in assessing wader diets. Wader Study Group Bulletin 67: 79-80.
- Mathivat-Lallier M.H. & Cazaux C. 1989. Dynamique et reproduction de *Nephtys hombergii* (Annélide Polychète) dans le bassin d'Arcachon. Cahier de Biologie Marine 30: 437-486.
- Mathot K.J. & Elner R.W. 2004. Evidence for sexual partitioning of foraging mode in Western Sandpipers (*Calidris mauri*) during migration. Canadian Journal of Zoology 82: 1035-1042.
- Mathot K.J., Lund D.R. & Elner R.W. 2010. Sediment in stomach contents of Western Sandpipers and Dunlin provide evidence of biofilm feeding. Waterbirds 33(3): 300-306.
- Mawhinney K.M., Hicklin P.W. & Boates J.S. 1993. A re-evaluation of the numbers of migrant Semipalmated Sandpipers, *Calidris pusilla*, in the Bay of Fundy during fall migration. Canadian Field Naturalist 107(1):19-23.
- McDermott J.J. 1983. Food web in the surf zone of an exposed sandy beach along the mid-Atlantic coast of the United States. In: McLachlan A. & Erasmus T. (Eds) Sandy beaches as ecosystems. Springer Netherlands. pp 529-538.
- McLusky D.S. 1989. The Estuarine Ecosystem (Second Edition). Blackie and Son Ltd. (Eds), Glasgow and London, UK.
- McNamara J.M. & Houston A.I. 1990. The value of fat reserves and the tradeoff between starvation and predation. Acta Biotheoretica 38(1): 37-61.
- McNeil R., Drapeau P. & Goss-Custard J.D. 1992. The occurence and adaptative significance of nocturnal habits in waterfowl. Biological Reviews 67: 381-419.
- McNeil R. & Rompre G. 1995. Day and night feeding territoriality in Willets *Catoptrophorus semipalmatus* and Whimbrel *Numenius phaeopus* during the non-breeding season in the tropics. Ibis 137(2): 169-172.
- Meire P.M. & Kuyken E. 1984. Relations between the distribution of waders and the intertidal benthic fauna of the Oosterschelde, Netherland. In: Evans P.R., Goss-Custard J.D. & Hale W. (Eds) Coastal Waders and Waterfowl in Winter. Cambridge University Press, UK. pp 57-68.

- Méléder V., Barillé L., Rincé Y., Morançais M., Rosa P. & Gaudin P. 2005. Spatiotemporal changes in microphytobenthos structure analysed by pigment composition in a macrotidal flat (Bourgneuf Bay, France). Marine Ecology Progress Series 297: 83-99.
- Méléder V., Launeau P., Barillé L. & Rincé Y. 2003. Cartographie des peuplements du microphytobenthos par télédétection visible-infrarouge dans un écosystème conchylicole. C R Biologies 326:377-389.
- Méléder V., Launeau P., Kazémipour F. & Barillé L. 2013. Microphytobenthos assessment by hyperspectral remote sensing: the first temporal survey (2002 to 2011). In: 8th EARSeL SIG Imaging Spectroscopy Workshop, Nantes, France, 8-10 April 2013.
- Méléder V., Laviale M., Jesus B., Mouget J.L., Lavaud J., Kazemipour F., Launeau P. & Barillé L. 2013. In vivo estimation of pigment composition and optical absorption cross-section by spectroradiometry in four aquatic photosynthetic micro-organisms. Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology 129: 115-124.
- Méléder V., Rincé Y., Barillé L., Gaudin P. & Rosa P. 2007. Spatiotemporal changes in microphytobenthos assemblages in a macrotidal flat (Bourgneuf Bay, France). Journal of Phycology 43(6): 1177-1190.
- Meltofte H., Blew J., Frikke J., Rösner H.-U. & Smit C.J. 1994. Numbers and distribution of waterbirds in the Wadden Sea: results and evaluation of 36 simoultaneous counts in the Dutch-German-Danish Wadden Sea Wader Study Group Bulletin/ IRWB. 1980-1991. pp 1-182.
- Meltofte H., Piersma T., Boyd H., Mccaffery B., Ganter B., Golovnyuk V.V., Graham K., Gratto-Trevor C.L., Morrison R.I.G., Nol E., Rösner H.-U., Douglas S., Schekkerman H., Soloviev M.Y., Tomkovich P.S., Tracy D.M., Tulp I. & Wennerberg L. 2007. Effects of climate variation on the breeding ecology of Arctic shorebirds. Meddelelser om Grønland Bioscience 59. Danish Polar Center (Ed), Copenhagen, Denmark.
- Mercier F. & Mcneil R. 1994. Seasonal variations in intertidal density of invertebrate prey in a tropical lagoon and effects of shorebirds predation. Canadian Journal of Zoology 72: 1755-1763.
- Michener R. & Lajtha K. (Eds) 2008. Stable isotopes in ecology and environmental science Second Edition. John Wiley and Sons, Victoria, Australia.
- Minagawa M. & Wada E. 1984. Stepwise enrichment of ¹⁵N along food chains: Further evidence and the relation between δ^{15} N and animal age. Geochimica et Cosmochimica Acta 48: 1135-1140.
- Mitrovic S.M., Amandi M.F., McKenzie L., Furey A. & James K.J. 2004. Effects of selenium, iron and cobalt addition to growth and yessotoxin production of the toxic marine dinoflagellate *Protoceratium reticulatum* in culture. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 313(2): 337-351.
- Moreira F. 1997. The importance of shorebirds to energy fluxes in a food web of a south european estuary. Estuarine Coastal and Shelf Science 44: 67-78.
- Moreira F. 1999. On the use by birds of intertidal areas of the Tagus estuary: implications for management. Aquatic Ecology 33:301-309.
- Mouritsen K.N. 1994. Day and night feeding in Dunlins *Calidris alpina*: choice of habitat, foraging technique and prey. Journal of Avian Biology 25: 55-62.

- Mouritsen K.N. & Jensen K.T. 1992. Choice of microhabitat in tactile foraging Dunlins *Calidris alpina*: the importance of sediment penetrability. Marine Ecology Progress Series 85: 1-8.
- Mouritsen K.N. & Poulin R. 2002. Parasitism, community structure and biodiversity in intertidal ecosystems. Parasitology 124: S101-S117.
- Mukherjee A. & Borad C.K. 2001. Effects of waterbirds on water quality. Hydrobiologia 464(1-3): 201-205.
- Mulvenna P.F. & Savidge G. 1992. A modified manual method for the determination of urea in sea water using diacetylmonoxime reagent. Estuarine Coastal and Shelf Science 34(5): 429-438.
- Musgrove A.J., Collier M.P., Banks A.N., Calbrade N.A., Hearn R.D. & Austin G.E. 2007. Waterbirds in the UK 2005/06: The Wetland Bird Survey. BTO/WWT/RSPB/JNCC, Thetford, UK.
- Myers J.P., Williams S.L. & Pitelka F.A. 1980. An experimental analysis of prey availability for Sanderling (*Aves: Scolopacidae*) feeding on sandy beach crustaceans. Canadian Journal of Zoology 58(9): 1564-1574.

-N-

- Nebel S. 2005. Latitudinal clines in bill length and sex ratio in a migratory shorebird: a case of resource partitioning? Acta Oecologica 28: 33-38.
- Nebel S., Jackson D.L. & Elner R.W. 2005. Functional association of bill morphology and foraging behaviour in calidrid sandpipers. Animal Biology 55(3): 235-243.
- Nebel S. & Thompson G.J. 2005. Foraging behaviour of Western Sandpipers changes with sediment temperature: implications for their hemispheric distribution. Ecological Research 20: 503-507.
- Nehls G. & Tiedemann R. 1993. What determines the densities of feeding birds on tidal flats? A case study on Dunlin, *Calidris alpina*, in the Wadden sea. Netherlands Journal of Sea Research 31(4): 375-384.
- Ntiamoa-Baidu Y., Piersma T., Wiersma P., Poot M., Battley P. & Gordon C. 1998. Water depth selection, daily feeding routines and diets of waterbirds in coastal lagoons in Ghana. Ibis 140: 89-103.
- Nybakken J.W. 1993. Marine biology: an ecological approach. (Third Edition), Harper Collins College Publishers, New York, USA.

-0-

Odum E.P. 1969. The strategy of ecosystem development. Science 164: 262-270.

- Ogden L.J.E., Hobson K.A. & Lank D.B. 2004. Blood isotopic (δ¹³C and δ¹⁵N) turnover and diet-tissue fractionation factors in captive Dunlin (*Calidris alpina pacifica*). The Auk 121(1): 170-177.
- Olive P.J.W. 1977. The life-history and population structure of the polychaetes *Nephtys caeca* and *Nephtys hombergii* with special reference to the growth rings in the teeth. Journal of Marine Biology Assoc. UK 57: 133-150.

ONU 2012. L'avenir que nous voulons. Sommet de la Terre, 5ième édition. Conférence des Nations Unies sur le développement durable. Rio de Janeiro, Brésil. Consulté le 10/04/2014, sur le site web : https://rio20.un.org/sites/rio20.un.org/files/a-conf.216-l-1_french.pdf.pdf.

-P-

- Pannekoek J. & Van Strien A. 2005. TRIM 3.0 for Windows (Trends and Indices for Monitoring data, 2005). Statistics Netherlands, Voorburg, The Netherlands.
- Parnell A., Inger R., Bearhop S. & Jackson A.L. 2008. SIAR: Stable isotope analysis in R. PLOS one 5(3) e9672.
- Parnell A.C., Inger R., Bearhop S. & Jackson A.L. 2010. Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. PLoS ONE 5(3): e9672.
- Parsons T.R., Stephens K. & Strickland J.D.H. 1961. On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 18(6): 1001-1016.
- Pascal P.-Y., Dupuy C., Richard P., Haubois A.-G. & Niquil N., 2008. Influence of environment factors on bacterial ingestion rate of the deposit-feeder *Hydrobia ulvae* and comparison with meiofauna. Journal of Sea Research 60: 151-156.
- Pearson S.F., Levey D.J., Greenberg C.H. & Del Rio C.M. 2003. Effects of elemental composition on the incorporation of dietary nitrogen and carbon isotopic signatures in an omnivorous songbird. Oecologia 135: 516-523.
- Perez-Hurtado A., Goss-Custard J.D. & Garcia F. 1997. The diet of wintering waders in Cadiz Bay, southwest Spain. Bird Study 44: 45-52.
- Peters K.A. & Otis D.L. 2007. Shorebird roost-site selection at two temporal scales: is human disturbance a factor? Journal of Applied Ecology 44: 196-209.
- Peterson B.J. & Fry B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. Annual Reviews of Ecological Systems 18: 293-320.
- Pienkowski M.W. 1982. Diet and energy intake of Grey and Ringed Plovers, *Pluvialis squatarola* and *Charadrius hiaticula*, in the non-breeding season. Journal of Zoology 197: 511-549.
- Pienkowski M.W. 1983. Surface activity of some intertidal invertebrates in relation to temperature and foraging behaviour of their shorebird predators. Marine Ecology Progress Series 11:141-150.
- Pienkowski M.W. & Dick J.A. 1975. The migration and wintering of Dunlin *Calidris alpina* in north-west Africa. Ornis Scandinavia 6: 151-167.
- Pienkowski M.W., Ferns P.N., Davidson N.C. & Worral D.H. 1984. Balancing the budget: measuring the energy intake and requirements of shorebirds in the field. In: Evans P.R., Goss-Custard J.D. & Hale W.G. (Eds) Coastal Waders and Wildfowl in Winter. Cambridge University Press, UK. pp 29-56.
- Piepho M., Martin-Creuzburg D. & Wacker A. 2012. Phytoplankton sterol contents vary with temperature, phosphorus and silicate supply: a study on three freshwater species. European Journal of Phycology 47(2): 138-145.
- Piersma T. 1994 Close to the edge: energetic bottlenecks and the evolution of migratory pathways in Knots. Uitgeverij Het Open Boek. Den Burg, Texel, The Netherlands.

- Piersma T. 2006. Understanding the numbers and distribution of waders and other animals in a changing world: habitat choice as the lock and the key. Stilt 50: 3-14.
- Piersma T. 2007. Using the power of comparison to explain habitat use and migration strategies of shorebirds worldwide. Journal of Ornithology 148(Supplement 1): 45-59.
- Piersma T. 2012. What is habitat quality? Dissecting a research portfolio on shorebirds. In: Fuller R. (Ed) Birds and habitat: relationships in changing landscapes. Cambridge University Press, UK. pp 383-407.
- Piersma T. & Baker A.J. 2000. Life history characteristics and the conservation of migratory shorebirds. In: Gosling L.M. & Sutherland W.J. (Eds) Behaviour and Conservation. Cambridge University Press, UK. pp 105-124.
- Piersma T. & Davidson N.C. 1992 The migrations and annual cycles of five subspecies of Knots in perspective. Wader Study Group Bulletin 64(Suppl.): 187-197.
- Piersma T., De Goeij P. & Tulp I. 1993a. An evaluation of intertidal feeding habitats from a shorebird perspective: towards relevant comparisons between temperate and tropical mudflats. Netherlands Journal of Sea Research 31: 503-512.
- Piersma T., Hoekstra R., Dekinga A., Koolhaas A., Wolf P., Battley P. & Wiersma P. 1993b. Scale and intensity of intertidal habitat use by Knots *Calidris canutus* in the Western Wadden Sea in relation to food, friends and foes. Netherlands Journal of Sea Research 31: 331-357.
- Piersma T. & Jukema J. 1990. Budgeting the flight of a long-distance migrant: changes in nutrient reserve levels of Bar-Tailed godwits at successive spring staging sites. Ardea 78(2): 315-337.
- Piersma T. & Lindström Å. 2004. Migrating shorebirds as integrative sentinels of global environmental change. Ibis 146: 61-69.
- Piersma T., Van Aelst R., Kurk K., Berkhoudt H. & Maas L.R.M. 1998. A new pressure sensory mechanism for prey detection in birds: the use of principles of seabed dynamics? Proceedings of the Royal Society B 265(1404): 1377-1383.
- Piersma T., Van Gils J. & Wiersma P. 1996. In: del Hoyo J., Elliott A. & Sargatal J., Handbook of the birds of the world (Vol. 3). Lynx (Ed), Barcelona, Spain.
- Piersma T., Verkuil Y. & Tulp I. 1994. Resources for long-distance migration of Knots *Calidris canutus islandica* and *C. c. canutus*: How broad is the temporal exploitation window of benthic prey in the Western and Eastern Wadden Sea. Oikos 71: 393-407.
- Podlesak D.W., Mac Williams S.R. & Hatch K.A. 2005. Stable isotopes in breath, blood, feces and feathers can indicate intra-individual changes in the diet of migratory songbirds. Oecologia 142: 501-510.
- Polis G.A., Anderson W.B. & Holt R.D. 1997. Toward an integration of landscape and food web ecology: The dynamics of spatially subsidized food webs. Annual Reviews of Ecological Systems 28: 289-316.
- Polis G.A., Power M.E. & Huxel G.R. 2004. Food webs at the landscape level. University of Chicago Press, USA.

- Pollitt M., Hall C., Holloway S., Hearn R., Marshall P., Musgrove A., Robinson J. & Cranswick P. 2003. The Wetland Bird Survey 2000-2001, Wildfowl and Wader Counts. BTO, WWT, RSPB and JNCC, Slimbridge, UK.
- Pomeroy L., Darley W., Dunn E., Gallagher J., Haines E. & Whitney D. 1981. Primary production. In: Pomeroy L.R. & Wiegert R.G. (Eds) The ecology of a salt marsh. Springer-Verlag, New York, USA. pp 39-67.
- Powell G.V.N., Kenworthy W.J. & Fourqurean J.W. 1989. Experimental evidence for nutrient limitation of seagrass growth in a tropical estuary with restricted circulation. Bulletin of Marine Science 44(1): 324-340.
- Prater A.J. 1976. The distribution of coastal waders in Europe and North Africa. In Proceeding 5th International Conference on the Conservation of wetlands and waterfowl. Smart, M. (Ed), Heiligenhafen, 1974, IWRB, Slimbridge, UK: 225-271.
- Prater A.J. 1981. Estuary Birds of Britain and Ireland. Poyser A.D. & T. (Eds), Calton, UK.
- Puttick G.M. 1979. Foraging behaviour and activity budgets of Curlew Sandpipers. Ardea 67: 111-122.

-Q-

- Quaintenne G. 2010. Sélection de l'habitat et des ressources trophiques chez le bécasseau maubèche *Calidris canutus*. Distribution à l'échelle européenne et particularités des sites d'hivernage français. Thèse d'océanologie biologique et environnement marin, Université de La Rochelle, France.
- Quaintenne G., Bocher P., Ponsero A., Caillot E. & Feunteun E. 2013. Contrasting benthos communities and prey selection by Red Knot *Calidris canutus* in three nearby bays on the Channel coast. Ardea 101: 87-98.
- Quaintenne G., Van Gils J.A., Bocher P., Dekinga A. & Piersma T. 2010. Diet selection in a molluscivore shorebird across Western Europe: does it show short- or long-term intake rate-maximization? Journal of Animal Ecology 79: 53-62.
- Quaintenne G., Van Gils J.A., Bocher P., Dekinga A. & Piersma T. 2011. Scaling up ideals to freedom: are densities of Red Knots across Western Europe consistent with ideal free distribution? Proceedings of the Royal Society B 278: 2728-2736.
- Quammen M.L. 1981. Use of exclosure in studies of predation by shorebird on intertidal mudflat. The Auk 98: 812-817.
- Quammen M.L. 1984. Invertebrates in intertidal mudflats: an experimental test. Ecology 65: 529-537.
- Quinn J.T. & Hamilton D.J. 2012. Variation in diet of Semipalmated Sandpipers (*Calidris pusilla*) during stopover in the upper Bay of Fundy, Canada. Canadian Journal of Zoology 90: 1181-1190.

-R-

Raffaelli D. & Milne H. 1987. An experimental investigation of the effects of shorebird and flatfish predation on estuarine invertebrates. Estuarine, Coastal and Shelf Science 24(1): 1-13.

- Raimbault P., Pouvesle W., Diaz F., Garcia N. & Sempere R. 1999. Wet-oxidation and automated colorimetry for simultaneous determination of organic carbon, nitrogen and phosphorus dissolved in seawater. Marine Chemistry 66(3-4): 161-169.
- Rapport Natura 2000 2011. Marais Breton, Baie de Bourgneuf, île de Noirmoutier et forêt de Monts Cartographie des habitats naturels et des espèces d'intérêt communautaire du Marais Breton Tome I, notice descriptive des habitats et des espèces BIOTOPE.
- Reading C.J. & McGrorty S. 1978. Seasonal variations in burying depth of *Macoma balthica* (L.) and its accessibility to wading birds. Estuarine and Coastal Marine Science 6: 135-144.
- Rehfisch M.M., Austin G.E., Armitage M.J.S., Atknison P.W., Holloway S.J., Musgrove A.J. & Pollitt M.S. 2003. Numbers of wintering waterbirds in Great and the Isle of Man (1994/95-1998/99): II. Coastal waders (*Charadrii*). Biological Conservation 112: 329-341.
- Reineking B. & Südbeck P. 2007. Seriously declining trends in migratory waterbirds: Causes-Concerns-Consequences. Proceedings of the International Workshop on 31 August 2006 in Wilhelmshaven, Germany. Wadden Sea Ecosystem No. 23. Common Wadden Sea Secretariat, Wadden Sea National Park of Lower Saxony, Institute of Avian Research, Joint Monitoring Group of Migratory Birds in the Wadden Sea, Wilhelmshaven, Germany.
- Reise K. 1985. Tidal flat ecology. Springer (Ed), Berlin, Germany.
- Ribeiro L., Brotas V., Mascarell G. & Coute A. 2003. Taxonomic survey of the microphytobenthic communities of two Tagus estuary mudflats. Acta Oecologica-International Journal of Ecology 24: S117-S123.
- Ribeiro L., Brotas V., Rincé Y. & Jesus, B. 2013. Structure and diversity of intertidal benthic diatom assemblages in contrasting shores: A case study from the Tagus Estuary. Journal of Phycology 49(2): 258-270.
- Ribeiro P.D., Iribarne O.O., Navarro D. & Jaureguy L. 2004. Environmental heterogeneity, spatial segregation of prey, and the utilization of southwest Atlantic mudflats by migratory shorebirds. Ibis 146(4): 672-682.
- Riera P. 2010. Trophic plasticity of gastropod *Hydrobia ulvae* within an intertidal bay (Roscoff, France): A stable isotope evidence. Journal of Sea Research 63: 78-83.
- Rios A.F., Fraga F., Perez F.F. & Figueiras F.G. 1998. Chemical composition of phytoplankton and particulate organic matter in the Ria de Vigo (NW Spain). Scientia Marina 62(3): 257-271.
- Robert M. & McNeil R. 1989. Comparative day and night feeding strategies of shorebird species in a tropical environment. Ibis 131(1): 69-79.
- Rodrigues A.M., Meireles S., Pereira T., Gama A. & Quintino V. 2006. Spatial patterns of benthic macroinvertebrates in intertidal areas of a Southern European estuary: the Tagus, Portugal. Hydrobiologia 555: 99-113.
- Rogers D.I., Piersma T. & Hassell C. 2006. Roost availability may constrain shorebird distribution: exploring the energetic costs of roosting and disturbance around a tropical bay. Biological Conservation 133: 225-235.
- Rojas L.M., Tai S. & McNeil R. 1993. Comparison of rod/cone ratio in three species of shorebirds having different nocturnal foraging strategies. The Auk 110(1): 141-145.

- Rojas L.M., Mcneil R., Cabana T. & Lachapelle P. 1999a. Behavioral, morphological and physiological correlates of diurnal and nocturnal vision in selected wading bird species. Brain, Behavior and Evolution 53(5-6): 227-242.
- Rojas L.M., Mcneil R., Cabana T. & Lachapelle P. 1999b. Diurnal and nocturnal visual capabilities in shorebirds as a function of their feeding strategies. Brain, Behavior and Evolution 53(1): 29-43.
- Rosa S., Granadeiro J.P., Cruz M. & Palmeirim J.M. 2007. Invertebrate prey activity varies along the tidal cycle and depends on sediment drainage: Consequences for the foraging behaviour of waders. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 353: 35-44.
- Rose P.M. & Scott D.A. 1994. Waterfowl population estimates. IWRB Publication, Slimbridge, UK.
- Rösner H.-U. & Delany S. 2009. The Dunlin *Calidris alpina*. In: Delany, S., Scott, D., Dodman, T. & Stroud, D. (Eds) An atlas of wader populations in Africa and Western Eurasia. Wetlands International, Wageningen, The Netherlands.
- Rossi F. & Middelburg J.J., 2011. Intraspecific diet shift of *Macoma balthica* during community reassembly in an estuarine intertidal flat. Estuarine and Coastal Marine Science 92: 496-501.
- Rottenborn S.C. 1996. The use of coastal agricul-tural fields in Virginia as foraging habitat by shorebirds. Wilson Bulletin 108: 783-796.
- Rubega M.A. 1996. Sexual size dimorphism in Red-necked Phalaropes and the functional significance of non-sexual bill structure variation for feeding performance. Journal of Morphology 228: 45-60.
- Rubenstein D.R. & Hobson K.A. 2004. From birds to butterflies: animal movement patterns and stable isotopes. TRENDS in Ecology and Evolution 19 No. 5.
- Rundel P.W., Ehleringer J.R. & Nagy K.A. 1989. Stable isotopes in ecological research. New York, USA.
- Ryan P.G. & Jackson S. 1986. Stomach pumping: is killing seabirds necessary? The Auk 103: 427-428.

-S-

- Saito M.A., Moffett J.W., Chisholm S.W. & Waterbury J.B. 2002. Cobalt limitation and uptake in *Prochlorococcus*. Limnology and Oceanography 47(6): 1629-1636.
- Sanchez M.I., Green A.J. & Castellanos E.M. 2005. Seasonal variation in the diet of the Redshank *Tringa totanus* in the Odiel Marshes, South-West Spain: A comparison of faecal and pellet analysis. Bird Study_52: 210-216.
- Santos C.D., Granadeiro J.P. & Palmeirim J.M. 2005. Feeding ecology of Dunlin *Calidris alpina* in a southern european estuary. Ardeola 52(2): 235-252.
- Santos C.D., Saraiva S., Palmeirim J.M. & Granadeiro J.P. 2009. How do waders perceive buried prey with patchy distributions? The role of prey density and size of patch. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 372(1-2): 43-48.
- Santos C.D., Palmeirim J.M. & Granadeiro J.P. 2010. Choosing the best foraging microhabitats: individual skills constrain the choices of Dunlins *Calidris alpina*. Journal of Avian Biology 41(1): 18-24.

- Scheiffarth G. 2001. The diet of Bar-tailed Godwits *Limosa lapponica* in the Wadden Sea: combining visual observations and faeces analyses. Ardea 89(3): 481-494.
- Schneider D. 1978. Equalization of prey number by migratory shorebirds. Nature 271: 353-354.
- Schneider D. & Harrington B.A. 1981. Timing of shorebird migration in relation to prey depletion. The Auk 98: 801-811.
- Scholz B. & Liebezeit G. 2013. Biochemical characterisation and fatty acid profiles of 25 benthic marine diatoms isolated from the Solthorn tidal flat (southern North Sea). Journal of Applied Phycology 25(2): 453-465.
- Schwartzkopff J. 1973. Mechanoreception. In: Farner D.S. & King J.R. (Eds) Avian biology, Vol. 3. Academic Press, New York, USA. pp 417-477.
- Serra L., Baccetti N., Cherubini G. & Zenatello M. 1998. Migration and moult of Dunlin *Calidris alpina* wintering in the central Mediterranean. Bird Study 45: 205-218.
- Shamoun-Baranes J., Leyrer J., Van Loon E., Bocher P., Robin F., Meunier F. & Piersma T. 2010. Stochastic atmospheric assistance and the use of emergency staging sites by migrants. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 277(1687): 1505-1511.
- Signa G., Mazzola A., Tramati C.D. & Vizzini S. 2013. Gull-derived trace elements trigger small-scale contamination in a remote Mediterranean nature reserve. Marine Pollution Bulletin 74(1): 237-243.
- Signa G., Mazzola A. & Vizzini S. 2012. Effects of a small seagull colony on trophic status and primary production in a Mediterranean coastal system (Marinello ponds, Italy). Estuarine Coastal and Shelf Science 111: 27-34.
- Sitters H.P., González P.M., Piersma T., Baker A.J. & Price D.J. 2001. Day and night feeding habitat of Red Knots in Patagonia: profitability versus safety? Journal of Field Ornithology 72(1): 86-95.
- Skagen S.K. & Oman H.D. 1996. Dietary flexibility of shorebirds in the Western Hemisphere. Canadian Field-Naturalist 110(3): 419-444.
- Smit C.J. & Piersma T. 1989. Numbers, midwinter distribution, and migration of wader populations using the East Atlantic Flyway. In: Boyd H. & Pirot J.-Y. (Eds) Flyways and Reserve Networks for Water Birds. Slimbridge: International Waterfowl Research Bureau. pp 24-63.
- Smit C.J. & Wolff W.J. 1981. Birds of the Wadden Sea, Balkema, Rotterdam, The Netherlands.
- Smith P.C. 1975. A study of the winter feeding ecology and behaviour of the Bartailed Godwit (*Limosa lapponica*). Thèse de Zoologie. University of Durham, UK.
- Smith R.V., Stafford J.D., Yetter A.P., Horath M.M., Hine C.S., Hoover J.P. & Hayward M. 2012. Foraging ecology of fall migrating shorebirds in the Illinois River Valley. PLoS ONE 7(9): Special section p1.
- Smith D.J. & Underwood G.J.C. 2000. The production of extracellular carbohydrates by estuarine benthic diatoms: the effects of growth phase and light and dark treatment. Journal of Phycology 36: 321-333.

- Snow D.W. & Perrins C.M. 1998. Birds of the Western Palearctic. Concise Edition, Vol. 1. Non-Passerines. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Soikkeli M. 1966. On the variation in bill- and wing-length of the Dunlin (*Calidris alpina*) in Europe. Bird Study 13: 256-269.
- Solomon M.E. 1949. The natural control of animal populations. Journal of Animal Ecology 18: 1-35.
- Spruzen F.L., Richardson A.M. & Woehler E.J. 2008. Influence of environmental and prey variables on low tide shorebird habitat use within the Robbins Passage wetlands, Northwest Tasmania. Estuarine, Coastal and Shelf Science 78(1): 122-134.
- Stephens D.W. & Krebs J.R. 1986. Foraging Theory. Princeton University Press, USA.
- Stillman R. A., West A.D., Goss-Custard J.D., Mcgrorty S., Frost N.J., Morrisey D.J., Kenny A.J. & Drewitt A.L. 2005. Predicting site quality for shorebird communities: a case study on the Humber estuary, UK. Marine Ecology Progress Series 305: 203-217.
- Strickland J.D.H. & Parsons T.R. 1972. A practical handbook of sea water analysis. Bulletin Fisheries Research Board of Canada 167: 1-311.
- Stroud D.A., Davidson N.C., West R., Scott D.A., Haanstra L., Thorup O., Ganter B.
 & Delany S. 2004. Status of migratory wader populations in Africa and Western Eurasia in the 1990s. International Wader Study Group 15: 1-259.
- Sundback K., Lindehoff E. & Graneli E. 2011. Dissolved organic nitrogen: an important source of nitrogen for the microphytobenthos in sandy sediment. Aquatic Microbial Ecology 63(1): 89-100.
- Sundback K., Linares F., Larson F., Wulff A. & Engelsen A. 2004. Benthic nitrogen fluxes along a depth gradient in a microtidal fjord: The role of denitrification and microphytobenthos. Limnology and Oceanography 49(4): 1095-1107.
- Sutherland W.J. & Goss-Custard J.D. 1991. Predicting the consequence of habitat loss on shorebird populations. Acta XX Congressus Internationalis Ornithologici: 2199-2207.
- Sutherland T.F., Sheperd P.C.F. & Elner R.W. 2000. Predation on meiofaunal and macrofaunal invertebrates by Western Sandpipers (*Calidris mauri*): evidence for dual foraging modes. Marine Biology 137: 983-993.
- Svensson L. 2010. Le guide ornitho, les 500 espèces d'Europe en 4000 dessins. Delachaux et Niestlé (Eds), Paris, France.
- Swynnerton G.H. & Worthington E.B. 1940. Note on the food of fish in Haweswater (Westmorland). Journal of Animal Ecology 9(2): 183-187.
- Székely T. & Bamberger Z. 1992. Predation of waders (*Charadrii*) on prey populations: an exclosure experiment. Journal of Animal Ecology 61: 447-456.

-T-

- Taguchi S., Hirata J.A. & Laws E.A. 1987. Silicate deficiency and lipid synthesis of marine diatoms. Journal of Phycology 23(2): 260-267.
- Thorup O. (Ed) 2006. Breeding waders in Europe 2000. International Wader Studies 14. International Wader Study Group, UK.

- Tieszen L.L., Boutton T.W., Tesdahl K.G. & Slade N.A. 1983. Fractionation and turnover of stable carbon isotops in animal tissues: implications for δ¹³C analysis of diet. Oecologia 57: 32-37.
- Triplet P., Basquet S., Lengignon A., Oget E. & Fagot C. 1999. Effets de dérangements sur l'huîtrier-pie (*Haematopus ostralegus*) en Baie de Somme. Gibier Faune Sauvage, Game Wildlife 16: 45-64.
- Triplet P., Le Dréan-Quénec'hdu S. & Mahéo R. 2006. Dunlin *Calidris alpina* overwintering in France: Variation in population size and spatial distribution. Alauda 74 (3): 311-322.
- Tucker C.J. 1979. Red and photographic infrared linear combinations for monitoring vegetation. Remote Sensing of Environment 8:127-150.
- Twining B.S. & Baines S.B. 2013. The trace metal composition of marine phytoplankton. Annual Review of Marine Science Vol. 5: 191-215.

-U-

- Underwood G.J.C. & Kromkamp J. 1999. Primary production by phytoplankton and microphytobenthos in estuaries. Advances in Ecological Research 29: 93-153.
- Underwood G.J.C. & Paterson D.M. 2003. The importance of extracellular carbohydrate production by marine epipelic diatoms. In: Callow J.A. (Ed) Advances in Botanical Research, Vol. 40. Academic Press, London, UK. pp 183-240.
- Ushizaka S., Kuma K. & Suzuki K. 2011. Effects of Mn and Fe on growth of a coastal marine diatom *Talassiosira weissflogii* in the presence of precipitated Fe(III) hydroxide and EDTA-Fe(III) complex. Fisheries Science 77(3): 411-424.

-V-

Valiela I. 1995. Marine ecological processes. Springer, New York, USA.

- Van Colen C., Montserrat F., Vincx M., Herman P.M.J., Ysebaert T., Degraer S., 2010. Macrobenthos recruitment success in a tidal flat: feeding trait dependent effects of disturbance history. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 385: 79-84.
- Van de Kam J., Ens B.J., Piersma T. & Zwart L. 2004. Shorebirds: An illustrated behavioural ecology. KNNV Publishers, Utrecht, The Netherlands.
- Van den Bergh E., Ysebaert T. & Meire P. 2005. Water bird communities in the lower Zeescheldle: long-term changes near an expanding harbour. Hydrobiology 540: 237-258.
- Van der Wal D., Herman P.M.J., Forster R.M., Ysebaert T., Rossi F., Knaeps E., Plancke Y.M.G. & Ides S.J. 2008. Distribution and dynamics of intertidal macrobenthos predicted from remote sensing: response to microphytobenthos and environment. Marine Ecology Progress Series 367: 57-72.
- Van Gils J.A. & Piersma T. 2004. Digestively constrained predators evade the cost of interference competition. Journal of Animal Ecology 73:386-398.
- Van Gils J.A., de Rooij S.R., Van Belle J., Van der Meer J., Dekinga A., Piersma T. & Drent R. 2005. Digestive bottleneck affects foraging decisions in Red Knots *Calidris canutus*. I. Prey choice. Journal of Animal Ecology 74: 105-119.

- Van Gils J.A., Spaans B., Dekinga A. & Piersma T. 2006. Foraging in a tidally structured environment by Red Knots (*Calidris canutus*): ideal, but not free. Ecology 87: 1189-1202.
- Van Roomen M., Van Winden E., Koffijberg K., Ens B., Hustings F., Kleefstra R., Shchoppers J., Van Turnhout C., SOVON Ganzen-en Zwanenwerkgroep & Soldaat L. 2006. Watervogels in Nederland in 2004/2005. RIZA-rapport BM06.14/SOVON-monitoringrapport 2006/02. SOVON, Beek-Ubbergen, The Netherlands.
- Velasco T. & Alberto L.J. 1993. Numbers, main localities and distribution maps of waders wintering in Spain. Wader Study Group Bulletin 70: 33-41.
- Venter O., Brodeur N.N., Nemiroff L., Belland B., Dolinsek I.J. & Grant J.W.A. 2006. Threats to endangered species in Canada. BioScience 56 No. 11: 903-910.
- Verkuil Y. 1996. Stomach-pumping of waders does not necessarily provide more information on diet than faecal analysis. Wader Study Group Buletin 79: 60-63.
- Vielliard J. 1973. Autoécologie comparée du bécasseau variable. Alauda 41: 1-33.
- Von Bolze G. 1968. Anordnung und Bau der herbstschen Köperchen in Limicolenschnäbeln im Zusammenhang mit der Nahrungsfindung. Zoologischer Anzeiger 181:313-343.

-W-

- Wainman B.C. & Smith R.E.H. 1997. Can physicochemical factors predict lipid content in phytoplankton? Freshwater Biology 38(3): 571-579.
- Warwick R.M. 1975. Macrofauna production in an estuarine mudflat. Journal of Marine Biology Assoc. UK 55: 1-18.
- Weber L.M. & Haig S.M. 1997. Shorebird prey interactions in South Carolina coastal soft sediments. Canadian Journal of Zoology 75: 245-252.
- Wenink P.W., Baker A.J., Rosner H.U. & Tilanus M.G.J. 1996. Global mitochondrial DNA phylogeography of holarctic breeding Dunlins (*Calidris alpina*). Evolution 50: 318-330.
- Wenink P.W., Baker A.J. & Tilanus M.G. 1993. Hypervariable-control-region sequences reveal global population structuring in a long-distance migrant shorebird, the Dunlin (*Calidris alpina*). Proceedings of the National Academy of Sciences 90: 94-98.
- Wennerberg L. 2001. Breeding origin and migration pattern of Dunlin (*Calidris alpina*) revealed by mitochondrial DNA analysis. Molecular Ecology 10: 1111-1120.
- Wetlands International 2006. Waterbird population estimates Fourth Edition. Wetlands International. Wageningen, The Netherlands.
- Wetlands International 2012. Waterbird population estimates, Fifth Edition. Summary report. Wetlands International, Wageningen, The Netherlands.
- Williams G.C. 1966. Adaptation and natural selection. Princeton University Press, USA.
- Wilson R.P., La Cock G., Wilson P.-P. & Mollagee F. 1985. Differential digestion of anchovy and squid in Jackass Penguins. Ornis Scandinavica 16: 77-79.

- Wilson W.H. 1989. Predation and the mediation of intraspecific competition in an infaunal community in the Bay of Fundy. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 132: 221-245.
- Wilson W.H. 1994. Western sandpiper (*Calidris mauri*). In: Poole A. & Gill F. (Eds) The birds of North America, No. 90. The Academy of Natural Sciences, Philadelphia, USA.
- Witter M.S. & Cuthill I.C. 1993. The ecological costs of avian fat storage. Philosophical Transactions of the Royal Society London B 340: 73-90.
- Witter M.S., Cuthill I.C. & Bonser R.H.C. 1994. Experimental investigations of massdependent predation risk in the European Starling, *Sturnus vulgaris*. Animal Behaviour 48: 201-222.
- Wolf N., Carleton S.A. & Martinez Del Rio C. 2009. Ten years of experimental animal isotopic ecology. Functional Ecology 23: 17-26.
- Wolff W.J. 1969. Distribution of non-breeding waders in an estuarine area in relation to the distribution of their food organisms. Ardea 57: 1-28.
- Wolfsberg M., Van Hook W.A. & Paneth P. 2010. Isotope effects in the chemical, geological and bio sciences. Springer (Ed), New York, USA.
- Wolfstein K. & Stal L.J. 2002. Production of extracellular polymeric substances (EPS) by benthic diatoms: effect of irradiance and temperature. Marine Ecology Progress Series 236: 13-22.
- Wootton J.T. 1991. Direct and indirect effects of nutrients on intertidal community structure variable consequences of seabird guano. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 151(2): 139-153.
- Worrall D.H. 1984. Diet of the Dunlin *Calidris alpina* in the Severn Estuary. Bird Study 31(3): 203-212.

-Y-

- Yates M.G., Goss-Custard J.D., Mac Grorty S., Lakhani K.H., Le V. dit Durell S.E.A., Clarke R.T., Rispin W.E., Moy I., Yates T., Plant R.A. & Frost A.J. 1993. Sediment characteristics, invertebrate densities and shorebird densities on the inner banks of the Wash. Journal of Applied Ecology 30: 599-614.
- Ysebaert T., Meininger P.L., Meire P., Devos K., Berrevoets C.R., Strucker R.C.W. & Kuijken E. 2000. Waterbird communities along the estuarine salinity gradient of Schelde Estuary, NW-Europe. Biodiversity and Conservation 9: 1275-1296.
- Yu E.T., Zendejas F.J., Lane P.D., Gaucher S., Simmons B.A. & Lane T.W. 2009. Triacylglycerol accumulation and profiling in the model diatoms *Thalassiosira pseudonana* and *Phaeodactylum tricornutum* (Baccilariophyceae) during starvation. Journal of Applied Phycology 21(6): 669-681.

-Z-

- Zann R. & Straw B. 1983. A non-destructive method to determine the diet of seedeating birds. Emu 84: 40-41.
- Zwarts L. & Blomert A.-M. 1992. Why Knots *Calidris canutus* take medium-sized *Macoma balthica* when six prey species are available? Marine Ecology Progress Series 83: 113-128.

- Zwarts L., Blomert A.-M., Ens B.J., Hupkes R. & Van Spanje T.M. 1990. Why do waders reach high feeding densities on the intertidal flats of the Banc d'Arguin, Mauritania? Ardea 78(1): 39-52.
- Zwarts L., Blomert A.-M. & Wanink J.H. 1992. Annual and seasonal-variation in the food-supply harvestable by knot *Calidris canutus* staging in the Wadden Sea in late summer. Marine Ecology Progress Series 83: 129-139.
- Zwarts L., Cayford J.T., Hulscher J.B., Kersten M., Meire P. & Triplet P. 1996. Prey size selection and intake rate. In Goss-Custard, J.D. (Ed) The Oystercatcher from individuals to populations, 30-55. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Zwarts L. & Wanink J.H. 1991. The macrobenthos fraction accessible to waders may represent marginal prey. Oecologia 87: 581-587.
- Zwarts L. & Wanink J.H. 1993. How the food supply harvestable by waders in the Wadden Sea depends on the variation in energy density, body weight, biomass, burying depth and behaviour of tidal-flat invertebrates. Netherlands Journal of Sea Research 31(4): 441-476.
- Zweers G. 1985. Generalism and specialism in avian mouth and pharynx. Fortschritte der Zoologie 30: 189-201.
- Zweers G., De Jong F., Berkhoudt H. & Vanden Berge J.C. 1995. Filter feeding in Flamingos (*Phoenicopterus ruber*). The Condor 97: 297-324.
Résumé

Les vasières intertidales sont parmi les écosystèmes les plus productifs et se caractérisent par une grande biodiversité. Elles sont les zones d'accueil de nombreux limicoles en hivernage qui y trouvent la nourriture nécessaire pour subvenir à leurs besoins énergétiques. Le bécasseau variable Calidris alpina est le plus abondant des hivernants en France avec la présence chaque hiver d'environ 13 000 individus en Baie de Bourgneuf, l'un de ses principaux sites d'hivernage français. La place du microphytobenthos a été étudiée dans le régime alimentaire de C. alpina suite à la découverte récente chez certains limicoles du broutage du biofilm comme source de nourriture. L'objectif général de cette thèse a été l'étude de son comportement alimentaire en Baie de Bourgneuf par l'utilisation de méthodes complémentaires : description morpho-anatomique de sa cavité orale, des comptages d'oiseaux à marée basse, la reconstruction de son régime alimentaire à partir du contenu de ses fientes et de son estomac et par traçage isotopique naturel. Enfin, l'utilisation de ses fientes comme source de nutriment par des microalgues a été étudiée. Il a été montré que C. alpina utilise préférentiellement certaines zones de la Baie, qu'il se nourrit aussi bien de mollusques que d'annélides et que le microphytobenthos peut occuper une part prépondérante dans son régime alimentaire puisqu'il possède des adaptations morphologiques au broutage du biofilm. Nos résultats confirment que C. alpina est un opportuniste au plan nutritionnel, sensible au changement global et dont la conservation/protection s'impose compte tenu de sa place dans les réseaux trophiques intertidaux.

Mots-clés : limicoles, vasières intertidales, sélection de l'habitat, macrofaune, isotopes, réseaux trophiques

Abstract

Intertidal mudflats are among the most productive ecosystems. They are characterized by a high biodiversity. They host many wintering shorebirds as they offer them enough food ressources to provide their energy needs. The Dunlin, *Calidris alpina*, is the most abundant wintering shorebird in France. About 13,000 individuals winter in Bourgneuf Bay, one of their main wintering sites on french coasts. The discovery of a new feeding mode in small sandpipers, i.e. microphytobenthos biofilm grazing, questionned its relative importance in Dunlin diet. The general objective of this thesis was the study of Dunlin feeding behavior in Bourgneuf Bay by using complementary approaches: morpho-anatomical description of its oral cavity, bird counts at low tide, the reconstruction of its diet from the content of droppings and stomachs and natural isotopic labelling. It was shown that peculiar areas of the Bay were more attractive to feeding Dunlin. As Dunlin presents morphological adaptations allowing it to graze biofilm, microphytobenthos could occupy a predominant part in their diet that includes annelids and molluscs in Bourgneuf Bay. Our results strengthen that Dunlin is an opportunistic feeder, sensitive to global change and whose preservation and protection are required given its position in intertidal food webs.

Key-words: shorebirds, intertidal mudflats, habitat selection, macrofauna, isotopes, food webs