



## THÈSE / AGROCAMPUS OUEST

sous le label de l'Université Européenne de Bretagne

pour obtenir le diplôme de

### DOCTEUR DE L'INSTITUT SUPERIEUR DES SCIENCES AGRONOMIQUES, AGRO-ALIMENTAIRES, HORTICOLES ET DU PAYSAGE

Spécialité : Ecologie

**Ecole doctorale : VIE-AGRO-SANTE**

présentée par

**Emilie Le Luherne**

préparée à

UMR 985 ESE Agrocampus Ouest – INRA, Équipe Écologie Halieutique

---

## Impacts des marées vertes sur les habitats essentiels au renouvellement des ressources halieutiques des secteurs estuariens et côtiers

---

Soutenue le 5 juillet 2016 devant la commission d'Examen

Composition du jury :

Rachid AMARA, Professeur, Université du Littoral Côte d'Opale

Luis TITO-DE-MORAIS, Directeur de recherches, IRD

Hélène DE PONTUAL, Cadre de recherches HDR, IFREMER

Jérémy LOBRY, Ingénieur de recherche HDR, IRSTEA

Olivier LE PAPE, Professeur, Agrocampus Ouest

Élodie RÉVEILLAC, Maître de conférences, Agrocampus

Rapporteur

Rapporteur

Examinatrice

Examineur

Directeur de thèse

Co-directrice de thèse





# Table des matières

---

<b>Table des matières</b> .....	<b>i</b>
<b>Remerciements</b> .....	<b>iii</b>
<b>Résumé</b> .....	<b>vii</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>ix</b>
<b>1. Introduction générale</b> .....	<b>2</b>
1.1 Intérêts des zones côtières et estuariennes .....	2
1.2 Les marées vertes : une conséquence des perturbations anthropiques de ces écosystèmes .....	4
1.3 Objectifs de la thèse .....	8
<b>2. Réponses des communautés ichthyologiques aux marées vertes en zone intertidale côtière et estuarienne</b> .....	<b>14</b>
Introduction du chapitre .....	14
2.1 Abstract .....	15
2.2 Introduction .....	16
2.3 Materials and methods.....	18
2.4 Results .....	23
2.5 Discussion .....	34
2.6 Acknowledgements .....	40
2.7 Supplementary material .....	41
Conclusion du chapitre .....	45
<b>3. Influence des marées vertes dans une nurricerie côtière sur la sélection de l'habitat et la performance individuelle de juvéniles de poissons</b> .....	<b>48</b>
Introduction du chapitre .....	48
3.1 Abstract .....	50
3.2 Introduction .....	51
3.3 Materials and Methods .....	53
3.4 Results .....	61
3.5 Discussion .....	69
3.6 Acknowledgements .....	74
3.7 Supplementary material .....	75
Conclusion du chapitre .....	80
<b>4. Discussion générale et perspectives</b> .....	<b>82</b>

4.1 Effets des marées vertes sur l'ichtyofaune en zone intertidale – réponses de l'individu à la communauté.....	82
4.2 Limites et perspectives .....	88
4.3 Etude annexe 1 – Impacts des marées vertes à méso-échelle .....	92
4.4 Etude annexe 2 – L'influence des marées vertes sur l'aptitude à la conservation de trois espèces de poisson .....	93
<b>Bibliographie générale .....</b>	<b>95</b>
<b>Etude annexe 1 – Impacts des marées vertes sur l'ichtyofaune des systèmes estuariens.....</b>	<b>115</b>
<b>Etude annexe 2 – L'influence des marées vertes sur l'aptitude à la conservation de trois espèces de poissons .....</b>	<b>179</b>

# Remerciements

---

Le moment des remerciements est arrivé. Il marque la fin d'une grande et riche aventure jalonnée de rencontres, de découvertes, d'apprentissages et de rebondissements.

Je souhaite en premier lieu remercier tout particulièrement mes deux directeurs de thèse Olivier Le Pape et Elodie Réveillac pour m'avoir permis de réaliser ce projet. Je tiens à vous remercier pour votre accompagnement, votre disponibilité et votre dynamisme tout au long de ces 3 ½ ans de thèse. Il faut aussi souligner votre complémentarité tant d'un point de vue scientifique qu'humain qui a su faire de ce projet une aventure passionnante. Je vous remercie aussi pour votre confiance et les conseils précieux et avisés que vous m'avez prodigués ainsi que pour tous les moments mémorables passés ensemble (comme l'oubli des clés dans le camion après 24h d'échantillonnage pour n'en citer qu'un !). Je vous souhaite à tous les deux le meilleur pour vos projets et vos encadrements futurs.

Je souhaite également exprimer ma gratitude à l'ensemble des membres de mon jury de thèse, mes deux rapporteurs: Rachid Amara et Luis Tito-De-Morais ainsi que mes deux examinateurs : Hélène De Pontual et Jérémy Lobry pour avoir accepté d'évaluer mon travail, pour le temps qu'ils y ont consacré, ainsi que pour les suggestions et les remarques judicieuses qu'ils m'ont indiquées.

J'adresse tous mes remerciements à l'ensemble des personnes qui a participé à l'élaboration et à la mise en œuvre de ce projet. Je remercie ainsi les financeurs: France Filière Pêche, l'Agence de l'eau Loire et Bretagne et la Mission d'étude du parc marin du golfe normand-breton qui ont permis la réalisation de ce projet et ont suivi son évolution avec intérêt. Je tiens également à remercier Patrick Le Mao pour nous avoir permis d'établir un premier contact avec l'équipe de la Réserve Naturelle Nationale de la Baie de Saint Briec. Un grand merci aussi à Sylvain Ballu pour nous avoir fourni la cartographie des sites impactés par les marées vertes en Bretagne et pour nous avoir guidés dans le choix de nos sites d'étude. Je te remercie aussi pour ta disponibilité et tes explications (par de longs mails) sur ces phénomènes complexes que sont les proliférations de macroalgues.

Cette thèse « terrain » a nécessité de rassembler de nombreuses personnes au cours des deux années d'échantillonnage. Je tiens en premier lieu à remercier Martine Perdriau pour son engagement dans cette partie de ma thèse. Un grand merci pour avoir été présente à chaque sortie (même les nocturnes et les week-ends), pour les gâteaux et pour le temps que tu m'as accordé au laboratoire, au tri et à la préparation des échantillons.

Cette partie de ma thèse m'a aussi permis de rencontrer Alain Ponsoero et Anthony Sturbois de la Réserve Naturelle de Saint-Briec sans qui le terrain n'aurait pas été le même ! Je tiens à vous

remercier pour votre investissement dans ce projet, votre bonne humeur et pour votre motivation à toute épreuve. Je remercie aussi Cédric Jamet qui s'est rajouté à cette équipe en 2014.

Mes remerciements vont aussi à l'ensemble des personnes du pôle halieutique et plus largement de l'UMR Ecologie et Santé des Ecosystèmes pour leur participation aux missions d'échantillonnage.

J'adresse également tous mes remerciements à Laurence Murillo pour son accueil chaleureux au LIENSs de La Rochelle, sa sympathie et pour mon initiation aux dosages microchimiques.

Je tiens à remercier les différents stagiaires qui ont participé à ce projet que ce soit pour une partie intégrée à cette thèse ou une étude annexe. Merci donc à Marine et Clément pour votre participation, et non des moindres, dans l'acquisition et l'analyse des données otolitho. Je vous remercie pour les longues journées que vous avez passées à compter et mesurer les stries d'otolithes et vous félicite pour la réalisation de vos stages. Merci aussi à Héloïse pour la réalisation de son stage de DUT et pour les poissons pourris que j'ai dû sentir sous toutes les coutures à 8h du matin. Enfin, Alexis, je te félicite pour la réalisation de ton stage de M2 et te remercie pour ta bonne humeur et pour avoir été un coloc de bureau super qui m'a supportée quand j'étais en fin de thèse (ta tête du vendredi matin va me manquer). Merci à tous pour l'apport de votre pierre à l'édifice. J'espère que nos collaborations ont été aussi enrichissantes pour vous qu'elles l'ont été pour moi et je vous souhaite le meilleur pour la suite.

Je souhaite maintenant remercier du fond du cœur mes collègues et particulièrement toute l'équipe du labo d'écologie halieutique: Catherine, Sophie, Hervé, Didier, Jérôme, Marie, Etienne, Olivier et Elodie pour m'avoir accueillie et intégrée à l'équipe et au «monde de l'Halieutique». Je remercie aussi particulièrement les thésards du labo Adri, Félix, Benoit et Mathieu qui m'ont accueillie à base d'apéros et de soirées thématiques et qui m'ont initiée à la SUZE ! Un merci tout particulier à Adri, c'est pas tous les jours qu'on a un double coloc aussi top ! Merci aux différents collègues de la cellule, thésards et post-docs qui participent à cette bonne ambiance au travail et dans les soirées rennaises. Merci également aux nombreux stagiaires du labo qui ont rythmé ces années de thèse en contribuant à la bonne ambiance du labo pendant les mois d'été et qui ont participé (de grès) aux nombreuses missions de terrain. Dans le désordre, merci à vous : Anne, Alizée, Alex, Quentin, Karim, David, Léa, Zaza, Fab, Max, Chacha, Erwan, Martin, Marion, P-Y, Alexis, Aurore, Matthieu, Morgane, Shani, Mathieu ...

Un merci tout particulier à Fab (peut être qu'un jour tu préféreras le fixie de Didier à ta chère et tendre Alfa) et à Max (notre arcachonnais le plus enthousiaste du monde) pour tous les bons moments passés ensemble et pour m'avoir accompagnée pendant des nocturnes quand vous étiez stagiaire. Bon vent pour vos thèses (c'est fou ce que ça grandit vite !). Un grand merci à Erwan et

Martin (les surfeurs hippies du labo) pour nos longues discussions, vos conseils et pour ces bons moments passés à Rennes et à Belle-Île. Un grand merci aussi à TIC et TAC pour votre énergie (sauf certains vendredis), les photomontages et votre soutien pendant mes derniers mois de thèse. Merci aussi à Marion pour toutes nos discussions et les bons moments passés autour d'un thé ou d'une bière.

En dehors du travail, le soutien de certaines personnes a été essentiel pendant ces années, un grand merci donc à mes colocs Aé et Tomtom qui se sont ensuite exilés en terre normande où j'ai pu apprécier des week-ends au vert. Merci aussi à tous les rennais de souche et de passage pour les balades, les cafés/goûters, les soirées tranquilles et celles qui dégénèrent... Un énorme merci pour m'avoir changé les idées ainsi que pour m'avoir accompagnée et soutenue pendant ces années.

Un énorme merci aussi à tous les copains-copines de Ploems', de Lorient et de Groix pour les soirées, week-ends et vacances ressourçants ! On a eu du goût, pourvu que ça continue ! Un grand merci aux copines de Groix et aux Greluches pour votre soutien tout au long de la thèse.

Je remercie aussi profondément ma famille qui m'a encouragée et soutenue depuis le début ! Merci à mes parents pour m'avoir transmis le goût de la nature, de la mer et des bonnes choses et merci aussi aux frangins pour leur soutien indéfectible depuis toutes ces années ! Un grand merci à la famille de Seb pour son soutien et tous les bons moments passés ensemble ! Enfin, *last but not least*, un énorme merci à Seb pour tout !





# Résumé

---

Les écosystèmes côtiers et estuariens sont extrêmement riches d'un point de vue biologique et écologique et abritent des habitats essentiels au maintien et au renouvellement des ressources marines d'intérêt halieutique. Parmi les altérations subies par ces écosystèmes, les proliférations de macroalgues opportunistes sont l'un des signes les plus visibles de l'eutrophisation des secteurs côtiers et estuariens dans plusieurs régions du monde, et particulièrement dans le nord-ouest de la France. Les processus à l'origine de ces proliférations sont relativement bien identifiés tandis que leurs conséquences écologiques - notamment sur l'ichtyofaune - restent mal connues et peu étudiées. L'objectif de cette thèse est de caractériser les effets des marées vertes sur la fonction d'habitat halieutique essentiel au renouvellement de l'ichtyofaune des zones côtières et estuariennes par une approche multi-échelle.

Dans une première partie, les conséquences des marées vertes sur l'ichtyofaune ont été examinées à l'échelle de la communauté. Pour cette approche, un suivi de type BACI (Before-After Control-Impact) a été réalisé dans les deux types de systèmes intertidaux affectés par les marées vertes, les estrans sableux et les vasières estuariennes. Au sein de chacun de ces systèmes, nos résultats mettent en avant la similarité des communautés ichtyologiques entre le site contrôle et le site impacté avant les marées vertes, puis des divergences à partir du développement des macroalgues. Les réponses des communautés ichtyologiques face à ces proliférations sont modulées en fonction de la composition, de la densité et de la durée des blooms d'algues vertes. A de faibles densités et/ou pendant une courte période, les marées vertes n'affectent pas les communautés ichtyologiques. En revanche, à des densités importantes et/ou pendant une longue période, ces proliférations entraînent une diminution de la diversité et de la densité de l'ichtyofaune. La composition de la communauté s'en trouve affectée, avec un impact initial sur les poissons benthiques qui s'étend ensuite à l'ensemble de l'ichtyofaune jusqu'à la disparition locale de poissons pour des proliférations algales fortes.

Dans une seconde partie, les processus par lesquels cette perturbation affecte l'ichtyofaune ont été examinés par une approche à l'échelle de l'individu. Dans une nurricerie côtière de type estran sableux, cette étude s'est intéressée aux réponses des juvéniles à travers la sélection de l'habitat et la comparaison des performances physiologiques des individus dans un site contrôle et un site impacté. Les réponses de juvéniles de trois espèces de poisson appartenant à des guildes de distribution verticale différentes ont été considérées : le sprat (pélagique), le bar (démersal) et la plie (benthique). La perturbation de l'habitat entraîne une augmentation instantanée de la capacité de défense antioxydante des individus, puis des réponses physiologiques sont mises en œuvre. Ces

réponses se traduisent par une réduction de la croissance et des réserves lipidiques des juvéniles. Si la perturbation s'intensifie, l'espèce finit par disparaître localement du site affecté. En fonction des guildes, ces réponses sont mises en œuvre à partir d'intensités différentes de la perturbation, soulignant un gradient de sensibilité des espèces aux marées vertes, des espèces benthiques aux espèces démersales et pélagiques.

Au travers de ces deux approches, un impact des marées vertes sur la qualité des habitats essentiels au renouvellement des ressources d'intérêt halieutique a donc été mis en évidence, avec des conséquences modulées en fonction des caractéristiques des guildes fonctionnelles ainsi que de l'intensité et de la nature des blooms de macroalgues.

En parallèle de cette thèse, deux études ayant des problématiques annexes ont été réalisées.

Dans une première étude, les effets des marées vertes sur les communautés ichthyologiques des estuaires bretons ont été examinés à méso-échelle. Cette étude à l'échelle de la Bretagne s'est appuyée sur les échantillonnages de treize masses d'eau de transition réalisés dans le cadre de la Directive Cadre sur l'Eau (2000/60/CE) entre 2007 et 2014. La variabilité des communautés ichthyologiques liée à divers facteurs environnementaux (*i.e.* saison, écorégion, profondeur et salinité) a été préliminairement examinée et intégrée dans l'analyse des effets des marées vertes sur les communautés. Un effet négatif des marées vertes sur les communautés ichthyologiques estuariennes a été démontré à une échelle régionale avec une sensibilité plus importante des espèces benthiques à cette perturbation. De plus, l'augmentation de macroalgues vertes dans les estuaires entraîne une perte de différenciation de niche ce qui traduit une perte de stabilité de l'habitat et une potentielle modification de son fonctionnement. A l'échelle locale, l'absence de résultat semble être conditionnée par le jeu de données ichthyologiques.

Une seconde étude annexe s'est intéressée à évaluer les effets des marées vertes sur la conservation des poissons côtiers. Un suivi de la conservation de trois espèces : le rouget, la dorade grise et le maquereau, a été réalisé. La qualité et le taux de dégradation des poissons ont été évalués au travers d'analyses chimiques (ABVT, TMA), de pH et sensorielles (méthode de cotation QIM). Une analyse complémentaire a porté sur les prix de vente en criée pour explorer une transposition de la modification de la qualité des poissons sur l'attractivité des produits de la pêche. L'étude doit encore être considérée comme préliminaire. Toutefois, elle n'a pas abouti à mettre en évidence d'effet des marées vertes sur la conservation et les prix des trois espèces étudiées. Même en pêchant au cœur des proliférations, les poissons n'ont pas d'algues vertes dans leurs tractus digestifs et aucun effet néfaste n'est mesuré.

# Abstract

---

Coastal and estuarine systems are highly productive areas that provide unique biological and ecological services and shelter essential habitats to numerous fisheries resources. Among the perturbations experienced by these ecosystems, proliferations of opportunistic macroalgae, commonly known as 'green tides', are one of the most obvious signs of eutrophication in coastal and estuarine areas, worldwide, and in Northwestern France in particular. The processes underlying macroalgal proliferations are almost identified whereas their ecological consequences - especially for ichthyofauna - remain poorly understood and understudied. The objective of this thesis is to characterise the effects of green tides on the role of coastal and estuarine habitats for ichthyofauna, on both the community and the individual scales.

In a first section, we investigated the consequences of green tides on the ichthyofauna on the community scale. For this study, we implemented a BACI (Before-After Control-Impact) approach in the two types of intertidal systems, which experience green tides, *i.e.* coastal sandy beaches and estuarine mudflats. Within each system, our results reveal that fish communities are similar across control and impacted sites before the macroalgal bloom, and then diverge from the onset of macroalgal development onwards. Responses of fish communities to green tides vary according to the macroalgal species composition, density and duration of the bloom. When intertidal systems experience short proliferations and/or weak densities, green tides do not seem to impact the fish community. However, when green macroalgae develop in large quantities and/or when the proliferation lasts for long periods, green tides lead to a significant decrease in fish species diversity and density. In this case, benthic fish species are the most impacted at first, and then consequences extend to the entire ichthyofauna. High proliferations can even lead to local disappearance of fish.

In a second part, we examined the processes which affect the ichthyofauna during green tides, on the individual scale. In a coastal sandy beach nursery, we investigated marine juvenile fish responses based on habitat selection and comparison of individual performances between a control and an impacted site. Responses of three marine juvenile fish species with different vertical distribution were considered: sprat (pelagic), sea bass (demersal) and plaice (benthic). Individual antioxidant defence capacity increases instantaneously with the species perception of habitat perturbation by green tides. Then, physiological responses induce a decrease in growth and lipid storage. If the perturbation increases, juveniles locally disappear from the impacted site, as depending on the species, individuals either migrate or die locally. According to the species, these responses are

initiated at different intensities of the perturbation, which emphasises a decreasing gradient of sensibility to green tides, from benthic to demersal and pelagic species.

Based on these two complementary approaches, we evidence the effects of green tides on the quality of essential fish habitats. They are modulated by the intensity and nature of macroalgal blooms, and they are also related to the fish species habitat use and ecology.

In parallel to this thesis, two studies with peripheral issues were realised.

In a first study, the effects of green tides on fish communities were examined on a meso-scale. This study was conducted in Brittany, on the thirteen estuaries sampled by the Water Framework Directive (2000/60/CE) from 2007 to 2014. The fish community variability linked to environmental factors (*i.e.* season, ecoregion, depth and salinity) was preliminarily examined and integrated in the analysis of the effects of green tides on fish communities. This study reveals a negative influence of green tides on fish communities. Benthic species are more sensitive to this perturbation than demersal and pelagic species. The increase in green macroalgae on the estuaries leads to a loss of niche differentiation which could reveal a loss of the habitat stability and some modifications in its functioning. On a local scale, the absence of results appears to be function of the fish dataset of the WFD.

The second peripheral study evaluated the effects of green tides on the preservation of commercialised coastal fish. We realised a monitoring of the preservation for three species: the striped red mullet, the black sea-bream and the Atlantic mackerel. The quality and degradation rates of the fish were evaluated based on chemical (ABVT, TMA), pH and sensorial (QIM method) analyses. A supplementary analysis was realised on the auction sales prices to explore a transposition of the modification of fish quality on their attractiveness. The results of this study have to be considered as preliminary. Nevertheless, the study does not evidence any effects of green tides on both the preservation and the prices for the three studied species. Even fishing at the core of green macroalgae proliferations, fish do not have green macroalgae in their digestive tracts and no negative effect is recorded.

# **Introduction générale**

# 1. Introduction générale

---

## 1.1 Intérêts des zones côtières et estuariennes

### 1.1.1 Des interfaces soutenant une forte productivité

Situés à l'interface entre milieux terrestres et océaniques, les écosystèmes côtiers et estuariens sont des zones de transferts dynamiques jouant un rôle fondamental d'un point de vue biologique et écologique. Ces écotones (*i.e.* zone de transition entre deux écosystèmes) sont caractérisés par la forte variabilité de leurs conditions abiotiques le long de gradients géographiques et temporels (*i.e.* salinité, température, pH et oxygène dissous; Allen et al., 2006) ainsi que par des apports importants de nutriments et de matière organique d'origine terrigène soutenant une forte production primaire et secondaire (Largier, 1993). Ces milieux très riches et hétérogènes créent des conditions et des habitats uniques assurant de nombreuses fonctions écosystémiques (Largier, 1993; Costanza et al., 1997; Schlacher et al., 2008). Par l'association de ces conditions particulières, ces milieux peu étendus par rapport à l'océan jouent un rôle primordial dans le maintien et le renouvellement de nombreuses ressources marines (Holbrook et al., 2000; Sluka et al., 2001; Stoner, 2003).

A l'échelle de l'ichtyofaune, ces milieux remplissent diverses fonctions d'habitats essentiels : fonction de nourricerie, majoritaire, mais aussi lieu de résidence, de frayère et voie de migration (Seitz et al., 2014). Ainsi, en tenant compte de l'ensemble de ces fonctions halieutiques, 44% des espèces d'intérêt halieutique faisant l'objet d'une évaluation au niveau européen présentent une dépendance côtière et/ou estuarienne à un moment de leur cycle de vie, et ces espèces représentent 77% du tonnage des débarquements (Seitz et al., 2014).

### 1.1.2 Des écosystèmes abritant des habitats halieutiques essentiels

La fonction de nourricerie remplie par les habitats côtiers et estuariens est primordiale pour le renouvellement d'une proportion conséquente des ressources halieutiques marines. Ces ressources, dont le succès de la phase juvénile dépend des habitats de nourriceries, regroupent un ensemble d'espèces benthiques (Krygier and Pearcy, 1986; Gibson, 1994; Yamashita et al., 2001), démersales (Claridge and Potter, 1983) et pélagiques (Munk, 1993). Bien qu'il existe des disparités entre ces espèces dites nourricerie-dépendantes (*i.e.* dans leur cycle de vie et sa saisonnalité, la durée des différentes phases, les habitats préférentiels et la distribution des cohortes), leur cycle de vie est similaire dans sa forme (Fig 1.1).

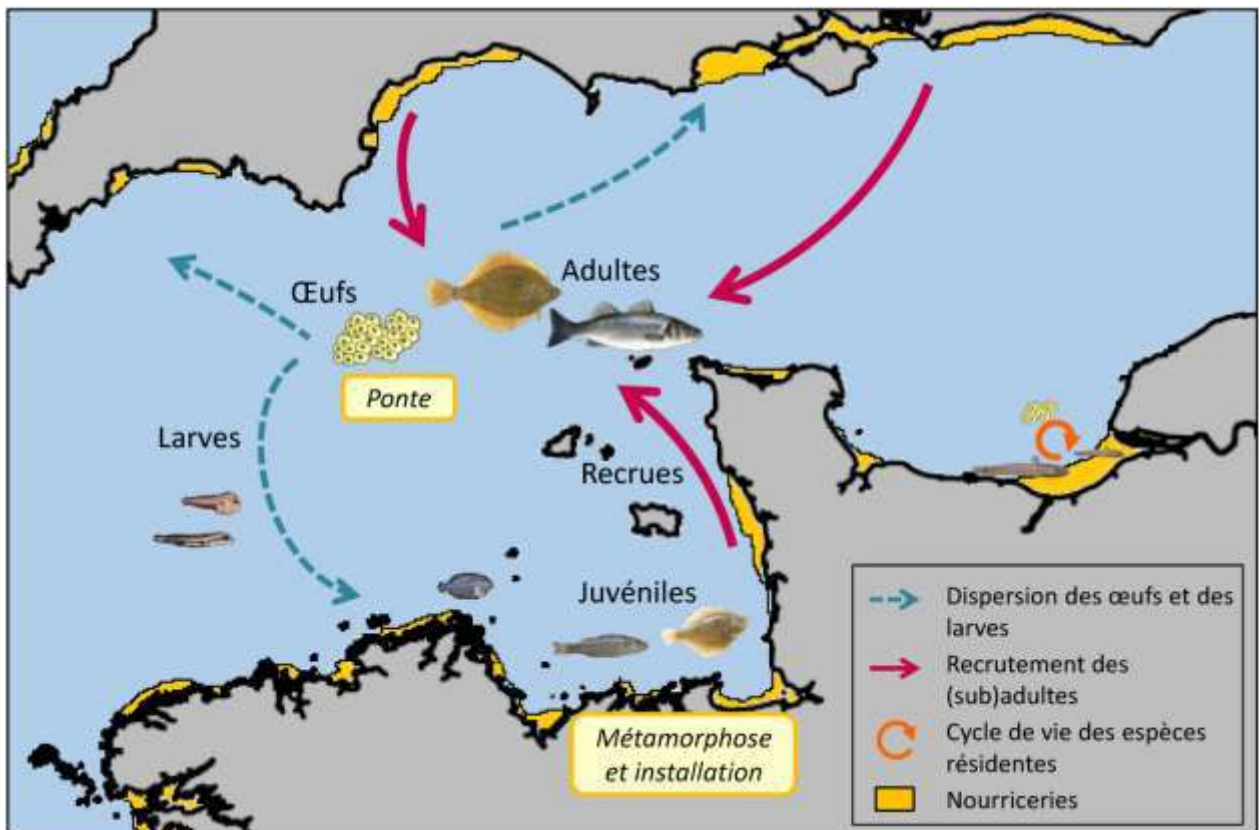


Figure 1.1 - Représentation schématique des cycles de vie d'espèces de poissons téléostéens nourricerie-dépendantes et résidentes

Les œufs pélagiques, issus de la reproduction des individus sexuellement mûres dans les zones de frayères, sont dispersés sous l'influence de la circulation hydrodynamique (Cushing, 1995). Après l'éclosion, les larves planctoniques subissent une dérive passive dans un premier temps (van der Veer et al., 2000) puis migrent de manière active dans les derniers stades de leur développement (Rijnsdorp et al., 1985; Leis and Carson-Ewart, 2003). Les larves pélagiques ayant atteint les zones côtières et estuariennes s'établissent dans ces habitats et leur métamorphose marque le passage au stade juvénile. Suivant les espèces, et en fonction de leur durée de vie, cette phase juvénile se prolonge de quelques mois à quelques années (Beck et al., 2001; Able, 2005).

Les nourriceries côtières et estuariennes sont des habitats spécifiques aux superficies restreintes qui offrent des conditions favorables à la survie et à la croissance des juvéniles, notamment des températures estivales plus élevées que dans les eaux du large, de fortes disponibilités alimentaires et une protection accrue contre les prédateurs (Gibson, 1994; Le Pape and Bonhommeau, 2015). Les juvéniles de nombreuses espèces dépendent de ces secteurs de nourricerie et profitent de leur conditions particulières en terme d'habitat et de productivité pour se développer, puis rejoignent le stock adulte plus au large à leur maturité sexuelle (*i.e.* phase de recrutement).

Le renouvellement des ressources marines résulte donc non seulement de l'importance de la biomasse féconde du stock et de la survie des stades précoces (œufs et larves pélagiques) mais aussi de la capacité des nourriceries à produire des juvéniles (van der Veer et al., 2000; Holbrook et al., 2000; Sluka et al., 2001; Stoner, 2003). Ainsi, une diminution de la superficie et/ou de la qualité de ces habitats côtiers et estuariens peut affecter la croissance et la condition des juvéniles jusqu'à accroître la mortalité de ces jeunes stades et, par conséquent, réduire le succès de recrutement et la taille des populations (Turner and Boesch, 1987; Gibson, 1994; Piet and Rijnsdorp, 1998; Able, 1999; Peterson et al., 2000; Jones et al., 2002). La dégradation des nourriceries, habitats halieutiques essentiels peu répandus et d'équilibre fragile, est, avec la pêche, l'une des principales causes de diminution des espèces du plateau continental et du potentiel d'exploitation halieutique qu'elles représentent.

## **1.2 Les marées vertes : une conséquence des perturbations anthropiques de ces écosystèmes**

### **1.2.1 Le phénomène de marées vertes**

Depuis plusieurs décennies, les systèmes estuariens et côtiers sont fortement impactés par diverses pressions et activités anthropiques (Lotze et al., 2006; Halpern et al., 2008). L'eutrophisation littorale est l'une des conséquences de cette anthropisation. L'augmentation de l'occurrence, de la durée et de l'abondance de blooms de macroalgues opportunistes dans plusieurs régions du monde est l'un des signes les plus visibles de l'eutrophisation des écosystèmes estuariens et côtiers (Fletcher, 1996; Valiela et al., 1997; Raffaelli et al., 1998; Ye et al., 2011; Smetacek and Zingone, 2013; Zhou et al., 2015). Au cours des dernières décennies, l'augmentation de cette perturbation anthropique a accru l'intérêt scientifique accordé à la caractérisation, la compréhension et la prévision de ces phénomènes de marées vertes (Teichberg et al., 2010; Perrot et al., 2014).

Les proliférations de macroalgues vertes sont des phénomènes naturels régulés par des facteurs limitants (*i.e.* lumière, température et sels nutritifs, principalement la concentration en azote) (Fig 1.2). Des apports excessifs de sels nutritifs issus des bassins versants (Merceron et al., 2007) et liés aux activités anthropiques parfois d'origine urbaine (effluents de stations d'épuration), mais le plus souvent d'origine agricole (lessivage de terres cultivées excessivement enrichies en engrais organiques ou minéraux), tendent à augmenter artificiellement la production de macroalgues vertes pendant des périodes où l'activité est normalement régulée par une faible concentration en nutriments (Fig 1.2; Fletcher, 1996; Merceron et al., 2007).



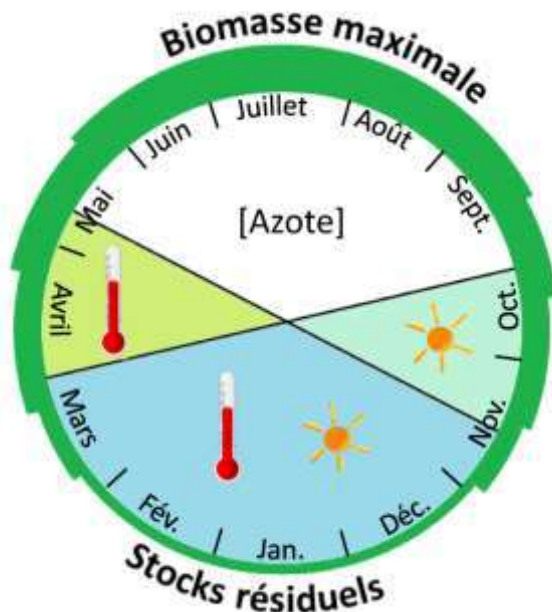


Figure 1.2 - Facteurs saisonniers limitant la prolifération des macroalgues vertes (adaptée d'après CEVA, 1998)

L'enrichissement de secteurs propices à la prolifération de macroalgues vertes tels que des zones intertidales confinées à faible pente (conditions de lumière et de température favorables à la croissance des macroalgues) avec une circulation hydrodynamique faible (permettant la rétention des sels nutritifs et/ou des macroalgues produites; Valiela et al., 1997; Raffaelli et al., 1998; Perrot et al., 2014) participe à l'augmentation du phénomène de marée verte.

La combinaison de ces facteurs nutritifs et environnementaux conduit à un développement excessif de macroalgues en zones intertidales.

Ces blooms de macroalgues vertes sont généralement dominés par des espèces opportunistes caractérisées par une forte capacité adaptative et nutritionnelle, notamment les espèces des genres *Chaetomorpha*, *Cladophora* et *Ulva* (Fletcher, 1996; Merceron et al., 2007). Ces macroalgues s'accumulent tout d'abord sur le fond et dans les premiers décimètres de la colonne d'eau puis colonisent progressivement l'ensemble de l'espace disponible au gré de l'intensification de leur prolifération (Solidoro et al., 1997).

### 1.2.2 Les marées vertes : des perturbations multiples de l'habitat

Le développement excessif de macroalgues vertes entraîne des changements multiples au sein des écosystèmes côtiers et estuariens (Hull, 1987; Fletcher, 1996; Raffaelli et al., 1998; Raffaelli, 2000). En fonction de leur nature, ces principaux changements peuvent se regrouper en trois types de perturbations survenant de façon simultanée :

- (i) Un premier type regroupe les perturbations physiques. Les macroalgues vertes prolifèrent principalement dans des habitats nus, de type vasières et estrans sableux, ce qui modifie leur complexité et leur structure (Isaksson and Pihl, 1992; Isaksson et al., 1994). Cette complexification peut s'accompagner d'une réduction de la vitesse du courant et d'une augmentation du taux de sédimentation des particules les plus fines (Hull, 1987; Fletcher, 1996), entraînant la modification de la typologie du substrat.
  
- (ii) Le second type est relatif aux perturbations chimiques. Une partie d'entre elles est engendrée par un changement de la concentration et des amplitudes journalières en oxygène dissous résultant de l'activité photosynthétique des macroalgues. Lors de développements massifs de macroalgues, des sursaturations en oxygène sont observées pendant la phase lumineuse et des déplétions surviennent pendant la phase obscure (Johnson and Welsh, 1985). Par ailleurs, les macroalgues, fraîches et sénescents, ainsi que leur flore bactérienne émettent diverses substances toxiques leur conférant des propriétés allélopathiques et anti-fouling (Magre, 1974; Johnson and Welsh, 1985; Nelson et al., 2003; Harder et al., 2004; Wang et al., 2011). Enfin, la décomposition des macroalgues entraîne la libération d'une partie des nutriments captés (Fletcher, 1996), mais aussi de quantités importantes de sulfure d'hydrogène lorsque les macroalgues sont décomposées en conditions anaérobiques (Gamenick et al., 1996; Wetzel et al., 2002). Ces différents changements des conditions chimiques de la masse d'eau peuvent engendrer des perturbations des cycles biogéochimiques (Sfriso et al., 1992; Engström-Öst and Isaksson, 2006).
  
- (iii) Le troisième type de perturbation résulte des modifications physiques et chimiques des conditions de l'habitat et comprend les perturbations des équilibres trophiques des écosystèmes (Hull, 1987; Andersen et al., 2005; Arroyo et al., 2012; Quillien et al., 2015, 2016).

### 1.2.3 Les effets des marées vertes sur les communautés

Les proliférations de macroalgues vertes en lien avec l'eutrophisation du milieu font partie des dégradations subies par les habitats côtiers et estuariens pouvant affecter les communautés, et notamment l'ichtyofaune. Les modifications physiques, chimiques et trophiques de l'habitat et leurs interactions perturbent la qualité et la capacité d'accueil de ces secteurs. Une méta-analyse des conséquences écologiques des proliférations macroalgales a permis de mettre en évidence la variabilité de leur effets en fonction de la composition, de l'intensité et de la durée des blooms (Lyons et al., 2014).

De plus, les réponses de la macrofaune apparaissent être fonction des stades de développement des espèces devant faire face aux marées vertes (Pihl and van der Veer, 1992; Wennhage and Pihl, 1994).

A de faibles densités et pour des périodes réduites, l'augmentation de la complexité de l'habitat peut faciliter le recrutement à l'échelle locale (Norkko and Bonsdorff, 1996a, 1996b; Raffaelli et al., 1998; Cardoso et al., 2004). Le bénéfice peut alors venir de l'amélioration de la capacité de refuge et de manière consécutive du taux de survie de certaines espèces (Wilson et al., 1990) notamment de la macrofaune benthique (Orr et al., 2014).

Cependant, en présence de fortes biomasses macroalgales et/ou pendant de longues périodes de proliférations, un effet négatif des mattes de macroalgues sur les communautés de la macrofaune a été démontré (Soulsby et al., 1982; Hull, 1987; Everett, 1994; Norkko and Bonsdorff, 1996a, 1996b; Norkko et al., 2000; Cardoso et al., 2004). Ces perturbations se caractérisent notamment par la modification de l'abondance et de la composition des communautés de la macrofaune benthique (Hull, 1987; Pihl et al., 2005; Andersen et al., 2005; Arroyo et al., 2012; Quillien et al., 2015, 2016). Des densités importantes de macroalgues peuvent perturber l'installation des larves, notamment d'invertébrés benthiques, en agissant comme un filtre à leur établissement sur le sédiment (Ólafsson, 1988; Bonsdorff, 1992; Bolam et al., 2000). Le déficit en oxygène (Petersen and Pihl, 1995) et la combinaison de différents types de perturbations chimiques induites par les marées vertes (*e.g.* libération de substances allélopathiques par les macroalgues et leur communauté bactérienne et de sulfure d'hydrogène lors de leur décomposition anaérobique) (Johnson and Welsh, 1985; Pihl et al., 2005; Engström-Öst and Isaksson, 2006) s'ajoutent à la complexification de l'habitat et peuvent affecter la croissance et la survie des organismes.

Ces perturbations des conditions de l'habitat peuvent avoir une incidence variable sur les organismes en lien avec leur capacité à s'échapper ou à tolérer des perturbations environnementales (Sagasti et al., 2001; MacKenzie, 2005; Wennhage and Pihl, 2007; Riedel et al., 2012).

Si un nombre conséquent de publications analyse les conséquences de blooms de macroalgues sur les invertébrés benthiques, peu d'articles s'intéressent à leurs impacts sur l'ichtyofaune (*cf.* leur faible nombre référencé dans la review de Lyons et al., 2014). Or, cette question se pose d'autant plus que les marées vertes prolifèrent du printemps à la fin de l'été en secteur tempéré (Merceron et al., 2007; Perrot et al., 2014), ce qui correspond à l'arrivée des larves et à l'établissement des juvéniles de nombreuses espèces de poissons dans les zones côtières et estuariennes (Amara, 2003; Gibson, 1994). Les effets de ces proliférations, bénéfiques ou préjudiciables, peuvent avoir des conséquences locales (Hansson and Rudstam, 1990; Jokinen et al., 2015, 2016) mais aussi à plus large échelle, en pleine mer, où la fraction adulte des populations d'espèces nourricerie-dépendantes vit

et maintient les stocks de ressources halieutiques (Seitz et al., 2014). L'augmentation des phénomènes de marées vertes à l'échelle mondiale (Ye et al., 2011; Smetacek and Zingone, 2013; Zhou et al., 2015) nécessite d'accorder de l'attention à cette perturbation anthropique et à ses conséquences sur l'ichtyofaune.

## 1.3 Objectifs de la thèse

L'objectif général de ce travail de thèse est de caractériser les effets des marées vertes sur les habitats essentiels au maintien et au renouvellement de l'ichtyofaune des zones côtières et estuariennes.

Pour répondre à cet objectif, des approches complémentaires ont été mises en œuvre pour suivre l'intégration du stress lié à cette perturbation anthropique et ses conséquences le long de l'échelle biologique. Ces analyses ont été mises en œuvre en se focalisant sur des secteurs intertidaux du nord-ouest de la France fortement affecté par ces proliférations macroalgales.

### 1.3.1 Cas d'étude : les habitats côtiers et estuariens affectés par les marées vertes dans le nord-ouest de la France

Dans le nord-ouest de la France, de nombreux habitats côtiers et estuariens sont affectés par des proliférations multi-spécifiques de macroalgues vertes opportunistes (Menesguen, 2003; Charlier et al., 2007). En fonction des morphotypes des macroalgues vertes dominant la prolifération, deux types de marées vertes peuvent être distingués : (i) à macroalgues sous forme de lame étendue flottant librement dans la colonne d'eau (*e.g.* comprenant *Ulva armoricana* et *Ulva rotundata*) et (ii) à macroalgues tubulaires et filamenteuses majoritairement accrochées au substrat (*e.g.* comprenant *Ulva compressa*, *Ulva ramulosa*, *Chaetomorpha* spp. et *Cladophora* spp.). Ces proliférations peuvent s'établir de façon distincte ou conjointe dans les deux types de systèmes affectés par les marées vertes, les estrans sableux et les vasières estuariennes.

Dans cette région, plus d'une cinquantaine de systèmes de type estrans sableux et d'une trentaine de vasières estuariennes sont impactées chaque année par ces proliférations depuis les années 70 (Merceron et al., 2007; Perrot et al., 2014). Parmi l'ensemble des secteurs touchés par ces proliférations, deux zones d'étude impactées chaque année ont été sélectionnées. Chacune correspond à l'un des types d'habitats faisant face à ces proliférations : la baie de Saint-Brieuc pour les estrans sableux et la Rance pour les vasières estuariennes.

Ces deux zones d'étude sont caractérisées par des marées semi-diurnes à marnage macrotidal (d'environ 8 m), de larges estrans confinés avec une pente faible et un faible hydrodynamisme (*i.e.*

un courant résiduel faible après la suppression de l'effet cyclique de la marée; Menesguen, 2003; Menesguen and Salomon, 1988). L'association de ces caractéristiques physiques à des apports de nutriments importants, notamment en azote (Perrot et al., 2014), favorise l'installation, le développement et le maintien de macroalgues vertes dans ces zones intertidales. D'après l'indice d'évaluation de la qualité des masses d'eau de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) basé sur la prolifération d'algues vertes, les sites affectés sont en mauvais état écologique pour le fond de baie de Saint-Brieuc et en état moyen pour les sites impactés de l'estuaire de la Rance (Rossi, 2011).

### 1.3.2 Démarche adoptée

Ces travaux de thèse se sont articulés autour de deux échelles d'organisation biologique - la communauté et l'individu - afin d'appréhender et de caractériser les réponses de l'ichtyofaune intertidale face aux marées vertes dans les zones côtières et estuariennes.

Une première partie (Chapitre 2) s'est penchée sur les effets des marées vertes sur les communautés ichtyologiques en zone intertidale côtière et estuarienne. Pour ce faire, un suivi saisonnier des communautés de poissons et des proliférations de macroalgues a été réalisé à une échelle locale dans un site contrôle et un site impacté pour les deux types d'habitats affectés par les marées vertes : les estrans sableux et les vasières estuariennes. Dans ces secteurs, les caractéristiques des communautés ichtyologiques des stades larvaires d'une part et des stades juvéniles et adultes d'autre part ont été examinées par une approche de type BACI (Before-After Control-Impact) combinant la prise en compte de facteurs de variation spatiaux et temporels. Les conséquences des marées vertes sur la composition spécifique des communautés ichtyologiques installées (*i.e.* incluant les stades juvéniles et adultes) ont ensuite été analysées dans chacun des secteurs. Un suivi plus fin des effets des marées vertes sur ces communautés a finalement été réalisé au travers d'analyses des réponses de l'ichtyofaune distribuée en différentes guildes fonctionnelles présentes dans ces habitats. Dans cet objectif, les espèces ont été classées par guildes de distribution verticale (pélagique, démersale et benthique) et guildes écologiques (juvénile marine et résidente).

Le Chapitre 3 traite ensuite de l'influence des marées vertes impactant une nurricerie côtière sur la sélection de l'habitat et les performances individuelles des juvéniles d'espèces pélagique, démersale et benthique. Ce chapitre s'est intéressé aux processus par lesquels les marées vertes affectent l'ichtyofaune, avec un focus sur la zone d'estran sableux (représentée par la baie de Saint-Brieuc) ainsi que sur la fonction de nurricerie assurée par cet habitat pour les stades juvéniles. Les réponses de trois espèces de poissons au stade juvénile ont été examinées dans un site contrôle et un site impacté. Les espèces analysées ont été choisies en fonction de leur appartenance à différentes

guildes de distribution verticale afin de tester l'effet de l'utilisation de l'habitat sur leurs réponses. Le sprat européen *Sprattus sprattus* (Linnaeus, 1758) a ainsi été sélectionné pour la guildes pélagique; le bar européen *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) pour la guildes démersale et la plie européenne *Pleuronectes platessa* Linnaeus, 1758, pour la guildes benthique. Pour pouvoir apprécier une réponse globale des effets des marées vertes à l'échelle individuelle, une approche multi-indice a été mise en œuvre, considérant plusieurs niveaux d'intégration de la perturbation. Dans un premier temps, la sélection de l'habitat pour chacune des espèces a été examinée par l'analyse combinée de leurs densités et des signatures isotopiques spécifiques à chacun des habitats. Ensuite, les ajustements physiologiques des individus ont été considérés à travers l'analyse de réponses instantanées (capacité de défense antioxydante), ou mises en place à court terme (taux de lipides musculaires, taux de croissance journalière) et à moyen terme (indice de condition sur critères morphométriques).

Dans le prolongement, des analyses menées à une échelle locale (*i.e.* échelle d'une plage ou d'une vasière), particulièrement adaptée pour l'analyse des effets d'une perturbation sur des juvéniles de poissons (Gilliers, 2004), une étude annexe s'est attachée à explorer les effets des marées vertes à méso-échelle. Cette étude à l'échelle de la Bretagne s'est appuyée sur les échantillonnages des masses d'eau de transition de fonds meubles réalisés dans le cadre de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE MET - directive 2000/60/CE). Ces suivis procurent des informations standardisées sur les communautés ichthyologiques d'estuaires bretons ayant des proliférations de macroalgues vertes contrastées. Dans un premier temps, ces données ichthyologiques ont été standardisées en fonction de divers facteurs environnementaux (*i.e.* saison, écorégion, profondeur et salinité) pouvant modifier les communautés. Suite à cette intégration des paramètres environnementaux, un couplage des données ichthyologiques avec des proxies de la prolifération des macroalgues vertes (*i.e.* les taux de couverture de macroalgues vertes et les biomasses de macroalgues par trait de chalut) ont permis d'examiner les effets des marées vertes sur les communautés ichthyologiques à trois échelles d'analyse différentes, de l'estuaire au trait de chalut (Annexe 1).

Une seconde étude annexe s'est intéressée à l'influence des marées vertes sur l'aptitude à la conservation de trois espèces de poissons commercialisées. Cette étude, périphérique à la thèse et présentée en annexe, a été menée suite à la prise de connaissance du ressenti de professionnels de l'aval de la filière des produits de la mer, faisant état d'une altération de la chair et d'une conservation moindre des espèces de poissons dont le système digestif est rempli de macroalgues vertes. Trois espèces considérées par les professionnels comme impactées (rouget, dorade grise, maquereau) ont été étudiées pour vérification. Ce travail a évalué la qualité sensorielle et les propriétés nutritives des poissons à partir d'analyses chimiques (dosages ABVT et TMA et mesures du

pH) et sensorielles (méthode de cotation QIM). En complément, une analyse des prix de vente en criée de ces espèces a été réalisée pour examiner si le ressenti des professionnels se traduisait en termes d'attractivité des produits de la pêche. Pour chacun de ces travaux, une approche de type BACI a été mise en place, comparant des individus provenant d'une zone impactée et d'une zone témoin, avant et pendant les marées vertes (Annexe 2).





**Chapitre 2**  
**Réponses des communautés**  
**ichtyologiques aux marées vertes en**  
**zone intertidale côtière et**  
**estuarienne**

## 2. Réponses des communautés ichthyologiques aux marées vertes en zone intertidale côtière et estuarienne

---

### Introduction du chapitre

Les écosystèmes côtiers et estuariens sont des zones extrêmement productives qui abritent des habitats essentiels au maintien et au renouvellement des ressources marines d'intérêt halieutique (Elliott and Dewailly, 1995; Beck et al., 2001; Seitz et al., 2014). Parmi les altérations subies par ces écosystèmes, les proliférations de macroalgues opportunistes sont l'un des signes les plus visibles de l'eutrophisation, particulièrement dans le nord-ouest de la France (Merceron et al., 2007; Perrot et al., 2014). Ces proliférations massives de macroalgues vertes (*i.e.* *Chaetomorpha* spp., *Cladophora* spp. et *Ulva* spp.) perturbent les conditions abiotiques et biotiques des systèmes impactés (Fletcher, 1996; Raffaelli et al., 1998). Dans les secteurs tempérés, le synchronisme de ces proliférations algales avec la colonisation des zones côtières et estuariennes par de nombreuses espèces de poissons interroge sur les répercussions de ces perturbations sur l'ichtyofaune intertidale.

Dans ce chapitre, nous proposons une analyse des conséquences des marées vertes sur les communautés ichthyologiques intertidales en s'appuyant sur un suivi saisonnier dans les deux types d'habitats affectés par les marées vertes, les estrans sableux et les vasières estuariennes. Cette analyse a été réalisée sur un site contrôle et un site impacté dans la baie de Saint-Brieuc pour les estrans sableux et la Rance au titre des vasières estuariennes.

Dans ces secteurs, les caractéristiques des communautés ichthyologiques des stades larvaires d'une part et des stades juvéniles et adultes d'autre part ont été examinées par une approche de type BACI (Before-After Control-Impact) combinant la prise en compte de facteurs de variation spatiaux et temporels. Les conséquences des marées vertes sur l'abondance, la composition spécifique et la diversité fonctionnelle des communautés ichthyologiques ont ensuite été analysées dans chacun des secteurs.

## Fish community responses to green tides in shallow estuarine and coastal areas

Article published in *Estuarine Coastal and Shelf Science*

Le Luherne, E., Réveillac, E., Ponsero, A., Sturbois, A., Ballu, S., Perdriau, M., Le Pape, O., 2016. Fish community responses to green tides in shallow estuarine and coastal areas. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 175, 79-92. doi:10.1016/j.ecss.2016.03.031

Le Luherne E.<sup>1\*</sup>, Réveillac E.<sup>1</sup>, Ponsero A.<sup>2</sup>, Sturbois A.<sup>2,3</sup>, Ballu S.<sup>4</sup>, Perdriau M.<sup>1</sup> and Le Pape O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *AGROCAMPUS OUEST, UMR985 ESE Ecologie et santé des écosystèmes, F-35042 Rennes, France*

<sup>2</sup> *Réserve Naturelle Nationale de la baie de Saint-Brieuc, site de l'étoile, F -22120 Hillion, France*

<sup>3</sup> *Vivarmor Nature, 10 boulevard Sévigné, F-22000 Saint-Brieuc, France*

<sup>4</sup> *Centre d'Etude et de Valorisation des Algues (CEVA), Presqu'île de Pen Lan BP3, F-22610 Pleubian, France*

\* Corresponding author: emilie.leluherne@agrocampus-ouest.fr

### 2.1 Abstract

All over the world, numerous bays and estuarine systems that are known to shelter essential fish habitats are experiencing proliferations of green macroalgae known as green tides. Although the processes that enhance green tides in response to nutrient enrichment are well known, their consequences for ecological communities - especially for ichthyofauna - remain poorly studied. To estimate these consequences, this analysis focused on the two types of shallow systems that are experiencing green tides: sandy beaches and estuarine mudflats. In these two systems, macroalgae proliferation and fish community were surveyed along seasonal cycles at control and impacted sites that shared similar physico-chemical parameters and sediment structure. To analyse the consequences of green tides on the fish community, a Before-After Control-Impact approach was used. This approach reveals no difference between fish communities at the control and impacted sites before the macroalgal bloom. Then, it underlines an influence of green tides on the fish community, and this influence varies according to the composition, density and duration of the macroalgal bloom. Indeed, when intertidal systems experienced short proliferation and/or weak density, green tides did not seem to impact the fish community. However, when green macroalgae

proliferated in large quantities and/or when the proliferation lasted for long periods, the fish community was significantly affected. These modifications in the fish community led to a significant decrease in fish species diversity and density until fish disappeared from impacted sites at high proliferations. Furthermore, the response of fish species to green tides differed according to their functional guilds. Negative consequences for benthic and marine juvenile fish species were beginning at low proliferations, whereas for pelagic fish species they occurred only at high proliferations. Thus, green tides significantly affect fish habitat suitability because they lead to changes in the composition of the fish community and eventually to the local disappearance of fish at high proliferations.

**Keywords:** fish community; sandy beaches and estuarine mudflats; green tides; macroalgae; nursery

## 2.2 Introduction

Temperate coastal areas and estuaries are known to be highly productive systems that shelter essential habitats such as nursery grounds and feeding-breeding habitats for various fish species (Elliott and Dewailly, 1995; Beck et al., 2001). In addition to resident species, many fish gather in estuarine and coastal nurseries during their first years of life (Miller et al., 1984; Lenanton and Potter, 1987; Dorel et al., 1991); such fish include benthic (Krygier and Pearcy, 1986; Gibson, 1994; Le Pape et al., 2003), demersal (Claridge and Potter, 1983) and pelagic (Munk, 1993). The combination of high summer temperature in the coastal shelf and large food availability (Gibson, 1994; Le Pape and Bonhommeau, 2015) provides a highly suitable habitat for the settlement and growth of numerous fish species (Beck et al., 2001; Able, 2005; Trimoreau et al., 2013). The capacity of these habitats to sustain juvenile growth and other functions for ichthyofauna plays a key role in the renewal of marine fish species (Holbrook et al., 2000; Sluka et al., 2001; Stoner, 2003). However, these restricted and sensitive habitats are threatened by numerous anthropogenic pressures (Halpern et al., 2008), which could modify their quality and carrying capacity (Vasconcelos et al., 2013).

Among other anthropogenic disturbances, coastal and estuarine habitats suffer from excessive proliferations of green macroalgae. Green macroalgae proliferate in nutrient (especially nitrogen) enriched intertidal flats (Hull, 1987) and shallow sublittoral areas with a slight slope and low residual hydrodynamic conditions (*i.e.* after removing cyclic tidal circulation) (Valiela et al., 1997; Raffaelli et al., 1998; Perrot et al., 2014). These massive proliferations of green macroalgae (*i.e.* *Chaetomorpha* spp., *Cladophora* spp. and *Ulva* spp.), called green tides, have increased worldwide in occurrence, abundance and duration (Fletcher, 1996; Lehvo and Bäck, 2001; Ye et al., 2011; Smetacek and

Zingone, 2013; Zhou et al., 2015). In temperate latitudes, they occur during the spring-summer period (Fletcher, 1996; Merceron et al., 2007) at the same time as the settlement of many coastal and estuarine nursery dependent fish species (Amara et al., 2000; Amara, 2003). Green tides may thus affect ichthyofauna, and there are possible consequences both on the local scale (Hansson and Rudstam, 1990; Jokinen et al., 2015) and in the open sea, where the adult population of estuarine and coastal nursery-dependent fish species lives and sustains fisheries (Seitz et al., 2014). Indeed, green tides lead to major changes in habitat conditions (Fletcher, 1996; Raffaelli et al., 1998), modifying habitat structure (Isaksson et al., 1994), biogeochemical cycles (Sfriso et al., 1992), invertebrate communities (Quillien et al., 2015), trophic webs and ecosystem processes (Raffaelli et al., 1998). Furthermore, these consequences are modulated according to the composition, intensity and duration of the bloom (Lyons et al., 2014). Several studies on invertebrate species have revealed a positive influence of low patchy macroalgae development (Wilson et al., 1990; Norkko and Bonsdorff, 1996a, 1996b; Bolam et al., 2000) and a negative influence of large and/or long-term proliferations (Norkko et al., 2000; Cardoso et al., 2004; Quillien et al., 2015). However, few studies have considered fish communities (reviews in Raffaelli et al., 1998; Lyons et al., 2014). Biotic and abiotic modifications linked to macroalgal proliferation might thus affect habitat suitability and may influence (as is the case for invertebrate organisms) fish settlement potential and survival. Fish response to these habitat modifications could differ in accordance with species-specific capacity to move or to tolerate environmental pressures (Sagasti et al., 2001; MacKenzie, 2005; Wennhage and Pihl, 2007; Riedel et al., 2012).

In Northwestern France (Fig 2.1), numerous sheltered bays and estuarine systems experience multi-specific proliferations of green macroalgae (Morand and Briand, 1996; Charlier et al., 2007; Perrot et al., 2014). These blooms are composed of green macroalgae developing in free-floating expanded blade forms (*e.g. Ulva armoricana* and *Ulva rotundata*) or filamentous forms hung on the substrate (*e.g. Ulva intestinalis*, *Ulva compressa*, *Ulva ramulosa*, *Chaetomorpha* spp. and *Cladophora* spp.). Our purpose was to analyse, on a local scale, the structure of teleost fish communities in intertidal areas and their changes during green tides. This analysis was performed at control and impacted sites in the two types of ecosystems impacted by green tides: sandy beaches and estuarine mudflats. Fish communities (including larvae, juveniles and adults) were thus surveyed with respect to green tide phenological development across seasonal cycles according to temporal and spatial factors based on a Before-After Control-Impact (BACI) procedure (Parker and Wiens, 2005; Fleeger et al., 2008). Patterns in fish species composition, species richness, density and distribution by functional guilds (position in the water column and the use of intertidal and shallow areas during the life cycle; Elliott and Dewailly, 1995; Delpech et al., 2010) were thus investigated in relation to macroalgal blooms.

## 2.3 Materials and methods

### 2.3.1 Studied areas

The study was performed in Northwestern France in the Bay of Saint Briec and the Rance estuary. Each of these areas is representative of a type of intertidal system suffering from green tides: *i.e.* coastal sandy beaches and estuarine mudflats (Fig 2.1; Charlier et al., 2007; Rossi, 2011).

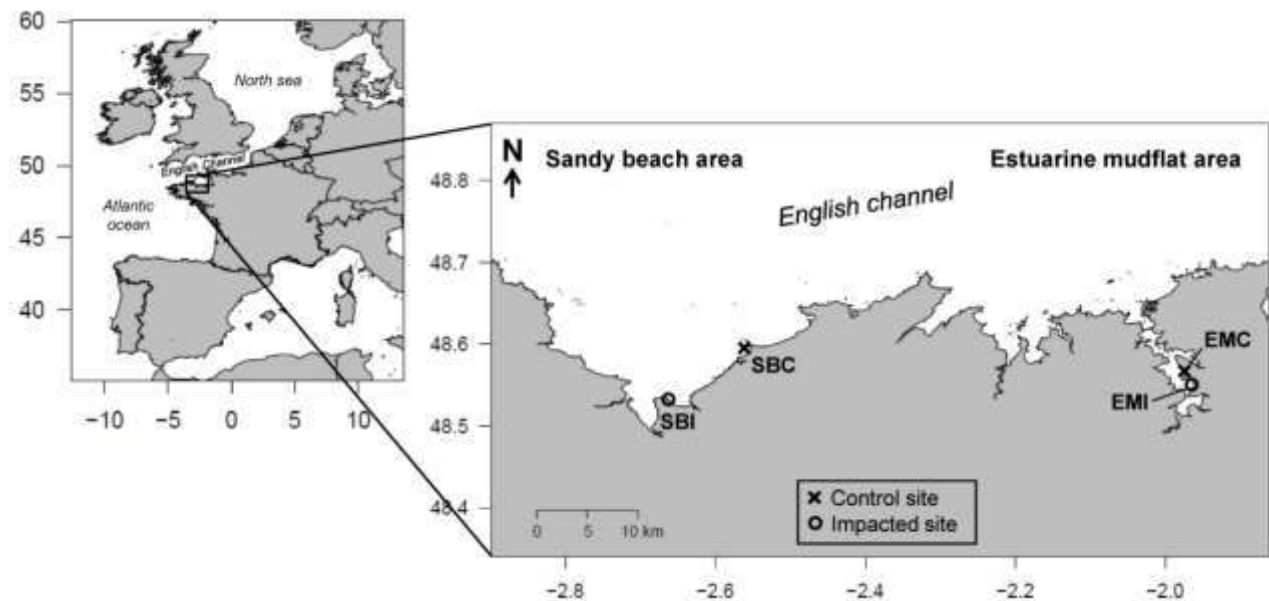


Figure 2.1- Location of the studied sites in sandy beach (SB) and estuarine mudflat (EM) areas in Northwestern France with their respective control (C) and impacted (I) sites

These areas are characterised by wide foreshores and semi-diurnal tides with a mean tidal amplitude of 8 m. Within each area, intertidal zones gather all of the conditions for proliferations of green macroalgae such as wide sheltered flats with a slight slope, low residual hydrodynamic circulation and large amounts of nutrient loadings from the watershed (Perrot et al., 2014). These zones affected by green tides are surveyed by the EU Water Framework Directive (WFD) to track the proliferation of macroalgae.

According to the macroalgae index used in that survey, the quality status of impacted zones are defined as poor in the Bay of Saint Briec (including sandy beaches that for decades have been the most heavily impacted in Northwestern France; Charlier et al., 2007) and moderate in the Rance estuary (Rossi, 2011).

A control and an impacted site were chosen in each area to compare spatiotemporal patterns in ichthyofauna. The control and impacted sites were selected based on their proximity (< 10 km) to enable comparison with regard to larval supply and juvenile settlement. Moreover, sites of each area

have a similar sediment structure, thus enabling a comparison of fish habitat suitability, especially for demersal and benthic fish species. In the sandy beach area, the studied sites are referred to as Sandy Beach Control (SBC) and Sandy Beach Impacted (SBI) (Fig 2.1) and were surveyed during two seasonal cycles, in 2013 and 2014. The estuarine mudflat area was added to the sampling design in 2014 with Estuarine Mudflat Control (EMC) and Estuarine Mudflat Impacted (EMI) as the studied sites (Fig 2.1).

### 2.3.2 Field sampling design

Sampling was performed in 2013 and 2014 during the spring-autumn season from April until the end of October. This sampling period was delineated in accordance with both the proliferation cycle of green tides (Fletcher, 1996; Merceron et al., 2007) and the colonisation of shallow intertidal areas by resident and marine juvenile fish (Amara et al., 2000; Amara, 2003), which started before and ended after their maximum occurrences in coastal areas.

Within each area, the control and impacted sites were sampled one after the other twice per month during the daytime (mainly in the morning) and 1.5 to 3 hours after the high tide (*i.e.* early to mid-ebb tide) at medium tidal coefficients (between 50 and 90, *i.e.* between spring and neap tides). Six successive hauls of 25 m were performed in the shallow upper part of the intertidal zone (depth in m: [0.4-0.7]) simultaneously with two different fishing gears. Juvenile and adult fish were sampled using a trawl net of 8 m in length and 4 m in width (mesh of 8 mm), which was towed by two people (Quiniou, 1986). Simultaneously, fish larvae were sampled with a plankton net (1.25 m in length and 0.6 m in width, mesh of 1 mm), which was towed by one person. Samples were stored in coolers until further treatment at the laboratory. For each trawl sample, measures of temperature (°C), salinity, pH and dissolved oxygen concentration ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) were achieved using a multiparameter probe (Hanna HI 9828/4-02). The biomass of macroalgae (no seagrasses or other plants were present at the study sites) was measured in wet weight after at least one minute of draining for each trawl sample. The macroalgae composition was determined in the field by the estimation of the percentages of 4 groups of macroalgae (identified by either species level or general morphology): 1 - green macroalgae exclusively composed of expanded blade *Ulva* spp.; 2- filamentous green macroalgae (including filamentous *Ulva* spp., *Chaetomorpha* spp. and *Cladophora* spp.); 3- *Pylaiella littoralis*; and 4- "other macroalgae" (primarily composed of *Fucus* spp.).

Sediment structure (granulometry and distribution into sediment classes; Le Pape et al., 2003) was examined at each site in both areas during the first sampling date of the surveys using cores located at the beginning of each trawl haul.

In addition, the effects of nycthemeral and tidal cycles on physico-chemical parameters, macroalgae density and fish community were analysed based on an additional 24 h survey conducted in late spring of 2014 (5-6 June). For this additional survey, sampling was performed in the sandy beach area simultaneously at both sites at a medium density of green macroalgae. Three successive trawl hauls were performed each hour using the trawl net with the same protocol as described above.

### 2.3.3 Preliminary analyses

Fish (juvenile and adult from the trawl net) and fish larvae (from the plankton net) were identified at the species level and counted. The sampling distance (25 m) represented a compromise between sufficient fish catchability and the prevention of clogged trawl and plankton nets during high macroalgae proliferations. This distance led to small sampled surfaces, inducing a weak amount of catches and zero-inflated data. To offset the sparse occurrence of fish in trawl hauls and to assess a representative snapshot of the community at the sampling date, the six successive trawl hauls were pooled per date and considered as a unique sample unit for each sampling date. At each sampling date, the number of fish captured was summed per species (*i.e.* separately for fish larvae and fish) and a mean of the environmental variables was calculated. Patterns in fish larvae and fish communities as well as macroalgae densities ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$  in wet weight) and physico-chemical parameters were thus analysed per date and per site; hereafter, it is defined as the “sample unit”.

### 2.3.4 Fish community analyses

#### 2.3.4.1 Selected indicators of the ecological status of the fish community

The total density of fish ( $\text{number}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) was the first indicator retained to analyse fish habitat suitability (Delpech et al., 2010). Species richness was then selected as the most appropriate indicator for the analysis of fish diversity. Indeed, this index is adapted to a low number of species in sample units (Nicolas et al., 2010a; Pasquaud et al., 2015), and its value decreases with the increase in habitat degradation (Hughes et al., 1982; Gibson, 1994; Delpech et al., 2010).

In addition, the functional composition of the fish community was analysed. Fish species were classified into three classes of vertical distribution guilds - pelagic, demersal and benthic - according to their spatial occupation of the habitat (Elliott and Dewailly, 1995; Delpech et al., 2010; Nicolas et al., 2010b; Table 2.1 and Table 2.2). Next, fish species were categorised into two types of ecological guilds - marine juvenile and resident - that described their use of estuaries and enclosed bays during the life cycle (Elliott and Dewailly, 1995; Delpech et al., 2010; Nicolas et al., 2010b; Table 2.1 and Table 2.2). The respective fish densities in these five guilds were then analysed.



Table 2.1 - Ecological and vertical distribution guilds for coastal fish (adapted from Elliott and Dewailly, 1995)

Criterion	Guild	Definition
Vertical distribution	Pelagic	Species living in the water column
	Demersal	Species living in the water layer just above the bottom
	Benthic	Species living on the substratum
Ecology	Marine juvenile	Species using the shallow coastal waters and estuaries primarily as nursery ground
	Resident	Species spending their entire lives in shallow coastal waters and estuaries

Table 2.2 - Classification of the fish species into vertical distribution and ecological guilds, and their occurrence at the studied sites (O: sampled only at the larval stage; +: sampled only once; and X: sampled more than once)

Species	Vertical distribution guild	Ecological guild	Sandy beach		Estuarine mudflat	
			SBC	SBI	EMC	EMI
<i>Ammodytes tobianus</i>	Demersal	Resident	+			
<i>Atherina presbyter</i>	Pelagic	-	X	X	X	X
<i>Buglossidium luteum</i>	Benthic	Juvenile	X	X	X	
<i>Callionymus lyra</i>	Demersal	Resident	+			
<i>Chelon labrosus</i>	Demersal	Resident	X	X		
<i>Ciliata mustela</i>	Demersal	Resident	+			
<i>Cyclopterus lumpus</i>	Benthic	Juvenile	+			
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Demersal	Juvenile	X	X	X	X
<i>Diplodus sargus</i>	Demersal	Juvenile	X			
<i>Echiichthys vipera</i>	Benthic	Resident	X	O		
<i>Gobius niger</i>	Demersal	Resident			+	
<i>Gobius paganellus</i>	Demersal	Resident			+	
<i>Hyperoplus immaculatus</i>	Demersal	Juvenile	+			
<i>Lipophrys pholis</i>	Demersal	Resident			O	
<i>Liza aurata</i>	Demersal	Resident	X	X	X	X
<i>Mullus surmuletus</i>	Demersal	Resident			+	
<i>Pegusa lascaris</i>	Benthic	Juvenile	X			
<i>Pleuronectes platessa</i>	Benthic	Juvenile	X	X	X	
<i>Pomatoschistus microps</i>	Demersal	Resident	X	X	X	X
<i>Pomatoschistus minutus</i>	Demersal	Resident	X	X	X	
<i>Pomatoschistus pictus</i>	Demersal	Resident	X	X	X	
<i>Scophthalmus rhombus</i>	Benthic	Juvenile	X	X	X	
<i>Solea solea</i>	Benthic	Juvenile	X	X	X	
<i>Spinachia spinachia</i>	Demersal	Resident			+	
<i>SpondylIOSoma cantharus</i>	Demersal	Juvenile	X		X	
<i>Sprattus sprattus</i>	Pelagic	-	X	X	X	X
<i>Symphodus melops</i>	Demersal	Resident	X	X	X	
<i>Trigla lucerna</i>	Demersal	Juvenile	X			

#### 2.3.4.2 Statistical analyses

Fish densities (total and classified into guilds) had previously been standardised using a logarithmic transformation ( $\log_{10}(x+1)$ ) (Legendre and Legendre, 1998) to respect the application conditions for the further statistical analyses. Preliminary and *post hoc* analyses demonstrated that species richness and log-transformed densities could be analysed using linear models and related tests, including a BACI test, without contraindication. Their significance for statistical analyses was determined at the  $\alpha = 0.05$  level, and all of the statistical analyses were performed using R version 3 (R Development Core Team, 2012).

##### ***Fish community during seasonal cycles of green tides: a Before-After Control-Impact (BACI) approach***

Within each area, and for the two studied years in the sandy beach area, a Before-After Control-Impact (BACI) approach was applied to study the impacts of green tides on the fish community. We analysed differences in the communities of both fish larvae (species richness and log-transformed density) and fish (species richness and log-transformed density, both total and classified into guilds; Table 2.2) between the control and impacted sites during the seasonal cycle (*i.e.* along non-impacted and impacted successive periods). The BACI-type ANOVA is adapted to detect impacts between control and impacted sites over time because it incorporates both temporal and spatial variations (Parker and Wiens, 2005; Fleeger et al., 2008). However, a BACI analysis requires separation of the “before” and “after” periods. In this study, the “after” period was determined by the presence of green macroalgae at the impacted sites. When contrasts in proliferation were inadequately marked during the seasonal cycle (*e.g.* when the period “before” was restricted to one date), ANOVA analyses were alternatively used to compare patterns in the descriptors of the fish community between sites during the green tide.

##### ***Fish community during green tides***

Fish response to an increase in green macroalgae density was analysed using fish density at SBI and combining the two years of the survey during green tides (the low contrast in green macroalgae densities at EMI prevented us from performing a similar analysis at that site). This response was assessed using a linear regression model with log-transformed fish density as the response variable and green macroalgal biomass as the explanatory variable (see the results section for *post hoc* validation of this modelling option).

In addition, the influence of tidal and daily cycles on surveyed parameters was analysed based on the 24 h survey cycle using ANOVA tests.

### 2.3.5 Analysis of specific composition of the fish community during green tides

The modification of fish assemblage in response to green tides was examined in each area using an unconstrained ordination method: the non-metric multi-dimensional scaling (MDS) (Clarke, 1993; Dixon and Palmer, 2003). For this analysis, we used the Bray-Curtis dissimilarity index (Bray and Curtis, 1957) to quantify contrasts between sample units in terms of fish species density (not log-transformed) during green tides. Within each area, a selection of fish species was preliminarily realised to exclude scarce species that could lead to difficulties in MDS interpretation (Manté et al., 2003). Species were thus selected for these MDS analyses when their percentage of occurrence by sample units was superior to 5% within a single area (*i.e.* combining the two years of survey in the sandy beach area). Moreover, sample units with no capture were excluded because measures of rank dissimilarity could not address data sets that included lines only composed of zeros.

## 2.4 Results

### 2.4.1 Sandy beach area

#### ***Physico-chemical parameters***

According to the analysis of sediment structure, both of the sites in the intertidal sandy beach area were sandy muddy grounds. During each studied year, the seasonal cycles of salinity and pH did not vary between sites. Temperature also fluctuated similarly across sites, but its range varied between 2013 and 2014 (*i.e.* between 8 °C to 22 °C in 2013 and 11 °C to 21 °C in 2014; Fig 2.2). Low temperatures that were unfavourable for the initiation of green macroalgae development and larval settlement (*i.e.* under 14 °C) were encountered until June in 2013, two weeks later than in 2014 (Fig 2.2). From mid-June to mid-July 2013, oxygen supersaturation ( $\geq 10 \text{ mg.L}^{-1}$ ) was measured at SBI at high densities of green macroalgae. Except for this period, daytime mean dissolved oxygen concentrations were similar at both sites, with a seasonal range between 7 and 10  $\text{mg.L}^{-1}$  during the two studied years.

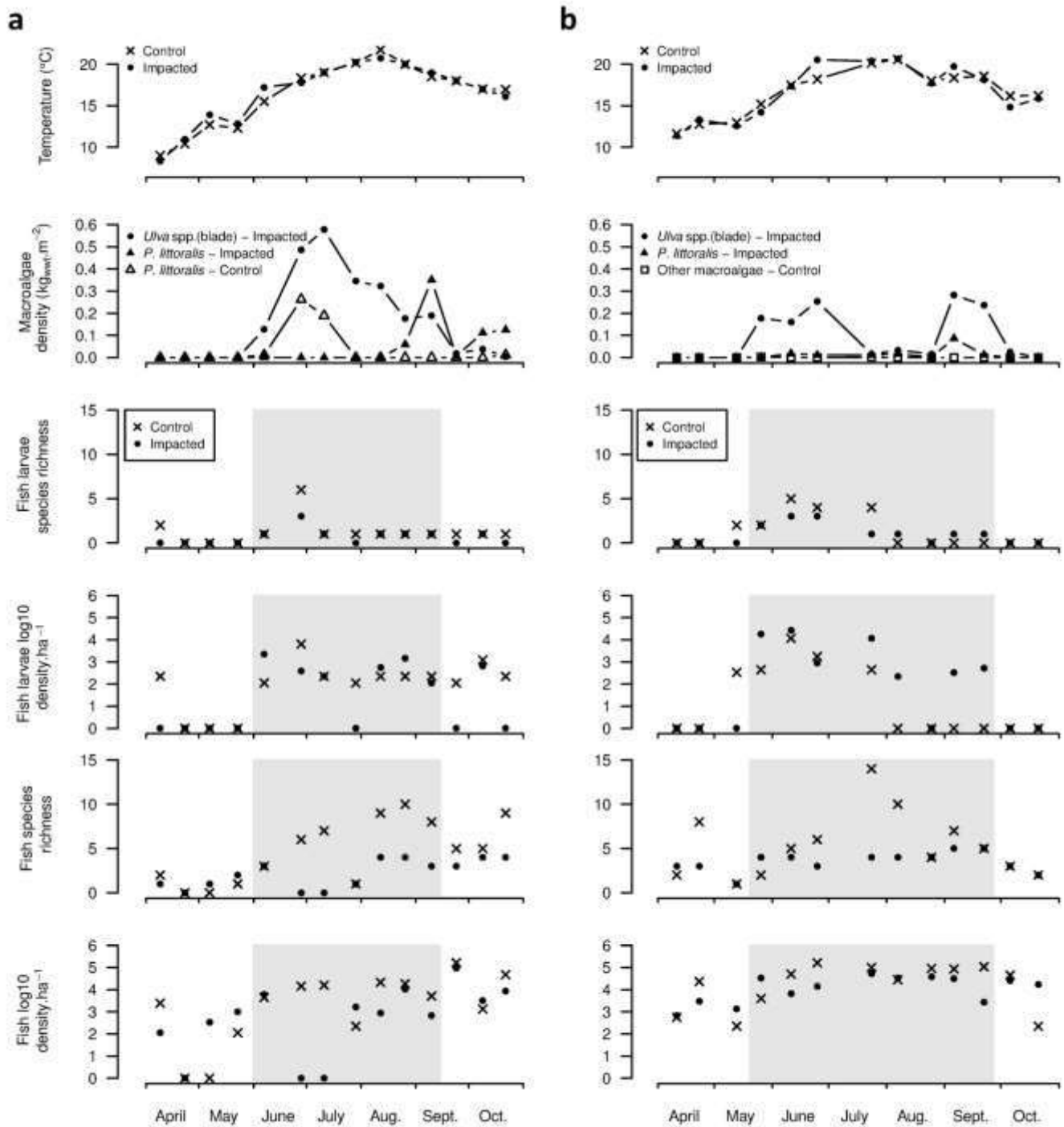


Figure 2.2 - Mean temperature (°C), mean macroalgae densities (in wet weight kg.m<sup>-2</sup>), fish larvae and fish (juvenile and adult) species richness and log-transformed densities (number.ha<sup>-1</sup>) from April to October in the control and impacted sites of the sandy beach area in (a) 2013 and (b) 2014. The grey area represents the period impacted by green tide

### **Macroalgal cycle**

During both studied years, the development of green macroalgae was initiated when the temperature reached approximately 14 °C (Fig 2.2). In 2013, expanded blade *Ulva* species proliferated from June to September, with a peak of proliferation from mid-June to mid-July (average: 0.3 kg<sub>wwt</sub>.m<sup>-2</sup>; maximum: 0.6 kg<sub>wwt</sub>.m<sup>-2</sup> in July; Fig 2.2a). In 2014, expanded blade *Ulva* spp. proliferation occurred two weeks earlier and lasted from the end of May to September. This 2014 proliferation was composed of two peaks, the first in June and the second in September, with lower levels of biomass between the two peaks (average: 0.1 kg<sub>wwt</sub>.m<sup>-2</sup>; maximum: 0.3 kg<sub>wwt</sub>.m<sup>-2</sup> in September; Fig 2.2b). With respect to green macroalgae proliferations in this area during recent decades, green tides could be locally characterised as late but medium in 2013 and as low in 2014 (Ballu pers. comm.).

A second type of macroalgae, *Pylaiella littoralis*, a filamentous brown macroalgae, was sampled in significant amounts at both sites in 2013 with a maximum density of 0.3 and 0.4 kg<sub>wwt</sub>.m<sup>-2</sup> at SBC and SBI, respectively. At SBI, the emergence of *P. littoralis* from September onwards created a shift in the dominant macroalgae species from *Ulva* spp. to *P. littoralis* (Fig 2.2a). In 2014, this species was encountered in low amounts only in September at SBI (maximum density: 0.08 kg<sub>wwt</sub>.m<sup>-2</sup>).

### **Fish community: effects of the seasonal cycle and green tides**

The rapid proliferation of expanded blade *Ulva* spp. enabled the identification of a shift from a state without green tide to a state with green tide at SBI (Fig 2.2). This shift enables the application of BACI tests to the two studied years. Delimitation of impacted and non-impacted periods by green tides (Fig 2.2) led to the analysis of 11 sample units per site during both studied years. Sample units were distributed into 4 “before” and 7 “after” the beginning of green tide in 2013 and into 3 “before” and 8 “after” the beginning of green tide in 2014 (Fig 2.2 and Supp. Tables 2.1 and 2.2).

Fish larvae captures were beginning in early June 2013 and mid-May 2014, with maximum density in June during both studied years (Fig 2.2). Fish larvae densities differed between years and were higher in 2014 (Fig 2.2). However, during both studied years, there was no significant difference between sites in fish larvae species richness and density (Table 2.3).

Fish (*i.e.* juvenile and adult) arrived in May during the two studied years at both the control and the impacted sites (Fig 2.2). Before the development of green macroalgae, fish communities were not different between sites in term of species composition and density (Fig 2.2 and Supp. Tables 2.1 and 2.2). In 2013, during expanded blade *Ulva* spp. proliferation, fish species richness was significantly

lower at SBI than at SBC (Fig 2.2a and Table 2.3). Simultaneously, fish density did not differ significantly between sites in spite of null densities observed at SBI during the maximum density of expanded blade *Ulva* spp. (Fig 2.2a and Table 2.3). In 2014, no significant difference in fish species richness and density was recorded when the factors of site and period were considered (Fig 2.2b and Table 2.3).

Table 2.3 - BACI results (*p* values) for effects of site class, period and their interaction on species richness and log-transformed densities (D., total and classified into both vertical distribution and ecological guilds) for both fish larvae and fish in the sandy beach area in 2013 and 2014 (statistical significance: '\*\*\*\*' <0.001; '\*\*\*' <0.01; '\*\*' <0.05)

Year	Parameter	Site class	Period	Site class: Period
2013	Fish larvae species richness	0.1317	0.1374	0.9191
	Fish larvae total D.	0.4005	0.0006***	0.5669
	Fish species richness	0.0072**	0.0172*	0.0184*
	Fish total D.	0.2505	0.0402*	0.1368
	Benthic D.	0.0019**	0.0023**	0.0245*
	Demersal D.	0.2390	0.0858	0.0079**
	Pelagic D.	0.3101	0.0495*	0.0931
	Marine juvenile D.	0.0018**	0.0023**	0.0361*
	Resident D.	0.2011	0.1300	0.0063**
2014	Fish larvae species richness	0.3156	0.2405	0.7220
	Fish larvae D.	0.0888	0.1306	0.0367*
	Fish species richness	0.0838	0.1484	0.7195
	Total fish D.	0.1602	0.0003***	0.4228
	Benthic D.	0.0287*	0.5275	0.3594
	Demersal D.	0.0555	0.0634	0.5963
	Pelagic D.	0.0084**	0.0001***	0.1365
	Marine juvenile D.	0.4316	0.1588	0.4562
	Resident D.	0.0297	0.6041	0.8471

Regarding functional guilds, except for the pelagic guild, all of the densities were significantly lower at SBI in 2013 during the green tide, especially during the maximum densities of expanded blade *Ulva* spp. (Fig 2.3a and Table 2.3). In 2014, no significant impact of the green tide was recorded on the densities of the functional guilds (Fig 2.3b and Table 2.3).

The influence of *P. littoralis* blooms on fish was evaluated with an ANOVA test at SBC in 2013 to compare fish communities before and during *P. littoralis* proliferation (its impact at SBI could not be analysed because the potential influence of the expanded blade *Ulva* spp. on the fish community could not be removed). Despite the significant proliferation in 2013, no effect of this macroalgae proliferation on the fish community has been evidenced at SBC either on fish species richness (F value = 1.05; *p* value = 0.33) or fish density (F value = 0.001; *p* value = 0.97).

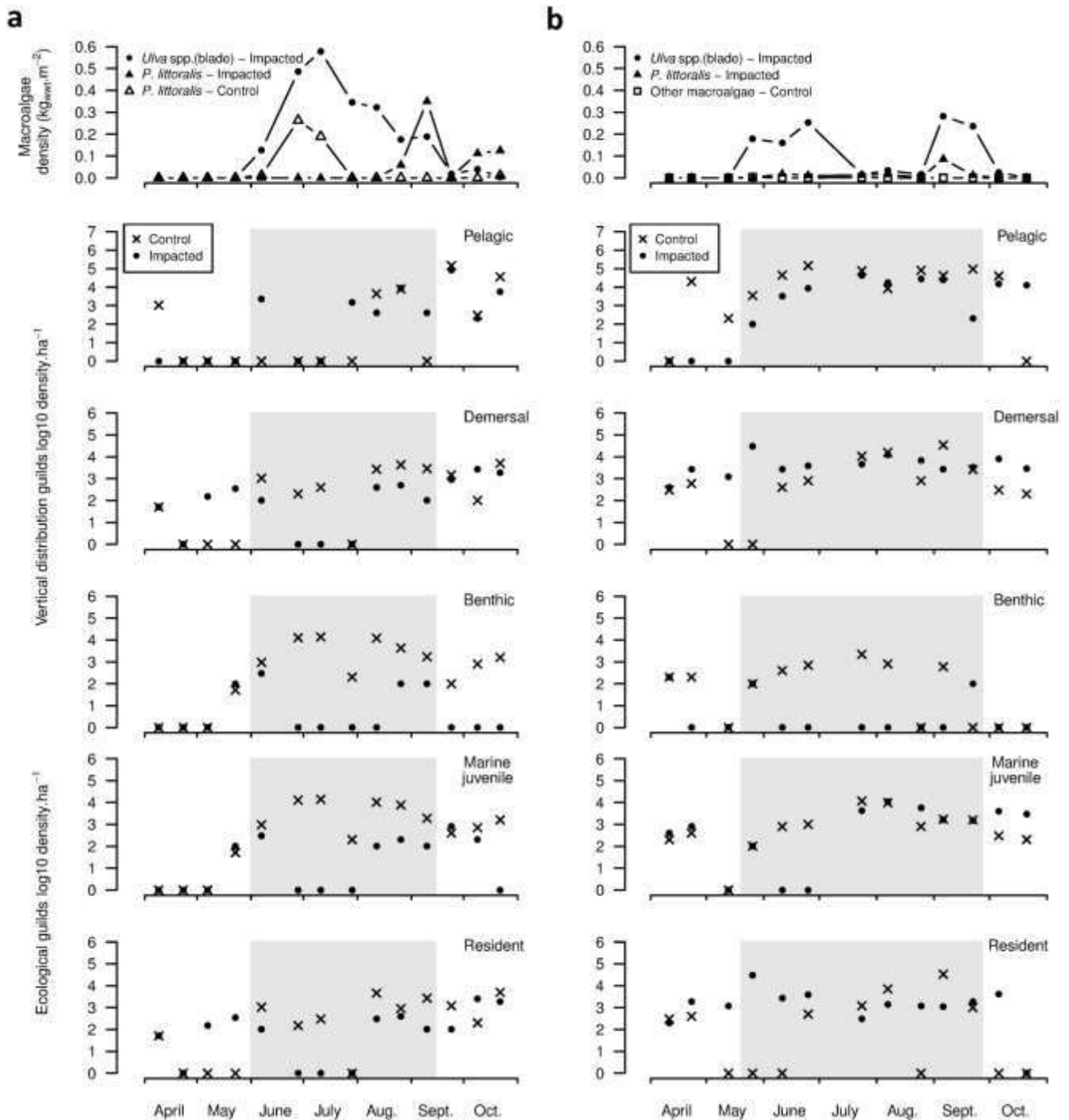


Figure 2.3 - Mean macroalgae densities (in wet weight kg.m<sup>-2</sup>) and log-transformed fish densities (number.ha<sup>-1</sup>) per vertical distribution (pelagic, demersal and benthic) and ecological guilds (marine juvenile and marine resident) from April to October in the control and impacted sites of the sandy beach area in (a) 2013 and (b) 2014. The grey area represents the period impacted by green tide

**Fish density response to an increase in green macroalgae density**

At SBI, the response of fish density to the amount of green macroalgae was analysed with a linear regression model that was applied to log-transformed fish density versus not log-transformed macroalgal density (*i.e.* the most appropriate model with respect to the distribution of the residuals; Fig 2.4b). The exponential representation of this linear regression model evidenced a significant decrease in fish density with the increase in expanded blade *Ulva* spp. density up to a density of 0.3  $\text{kg}_{\text{wwt}}\cdot\text{m}^{-2}$ , above which the mean fish density is very weak (Fig 2.4a;  $p$  value <0.001,  $R^2 = 0.72$ ).

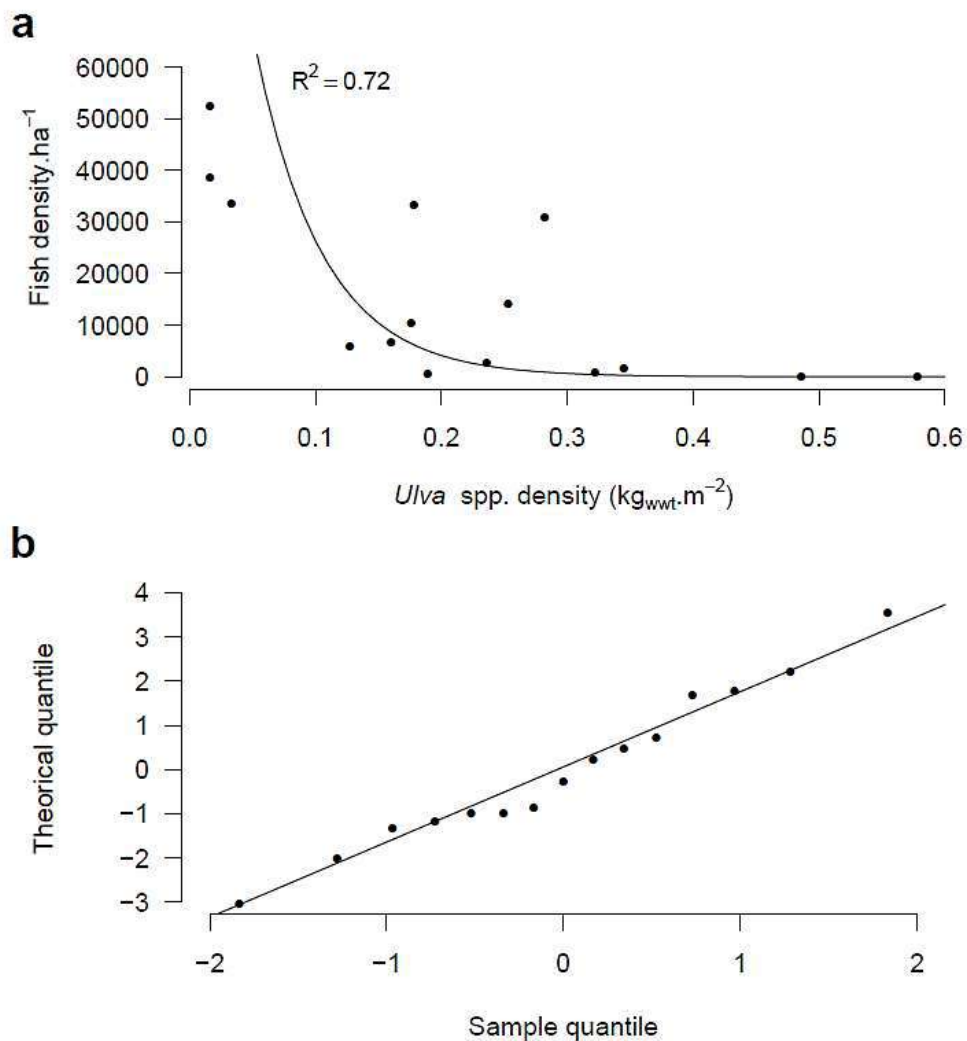


Figure 2.4 - Fish density ( $\text{number}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) as a function of expended blade *Ulva* spp. density (in wet weight  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ) in the impacted site of the sandy beach area from June to September of the two studied years. (a) Plot and associated exponential representation of the linear regression model on log-transformed data, (b) quantile-quantile plot of the residuals of the linear regression against standard normal distribution



### ***Influence of tidal and nycthemeral cycles on the fish community and environmental parameters during the green tide***

The effects of tidal and nycthemeral cycles on the surveyed parameters were examined based on the 24 h additional survey realised simultaneously at both sites in early June 2014 at a medium density of green macroalgae (*Ulva* spp. density approximately  $0.4 \text{ kg}_{\text{wwt}}.\text{m}^{-2}$  at SBI; Fig 2.2 and Supp. Table 2.3). The daily cycles of salinity, pH and temperature did not differ between the sites. The patterns in the daily cycle of dissolved oxygen concentration were also similar across sites; however, a wider daily range was recorded at SBI, where daily supersaturation occurred. Daily dissolved oxygen concentration ranged between 7 and 9  $\text{mg.L}^{-1}$  at SBC and between 7 and 16  $\text{mg.L}^{-1}$  at SBI at the same time. No tidal pattern was revealed for these physico-chemical parameters.

ANOVA did not evidence daily or tidal patterns either in expanded blade *Ulva* spp. density at SBI or in fish species richness and density (total and classified into guilds) at both sites. However, it did reveal a tidal pattern for benthic fish species, whose density increased during the ebb tide (F value= 10.63; *p* value = 0.00332 \*\*).

### ***Fish species composition during green tides***

The multivariate analysis performed to investigate the influence of green tides on fish community composition was based on fish densities by species combining the two years of survey during macroalgal proliferations; the two dates when no fish were caught in 2013 were removed (Supp. Table 2.1). The two-dimension MDS plot revealed dissimilarities in species composition between the control and impacted sites (Fig 2.5a). At SBC, the higher species richness and density by guild were structured by many benthic and marine juvenile fish species (Fig 2.5a and Table 2.2). Conversely, the less numerous and diverse community at SBI was structured by resident and highly mobile fish species (*i.e.* pelagic and demersal fish species; Fig 2.5a and Table 2.2).

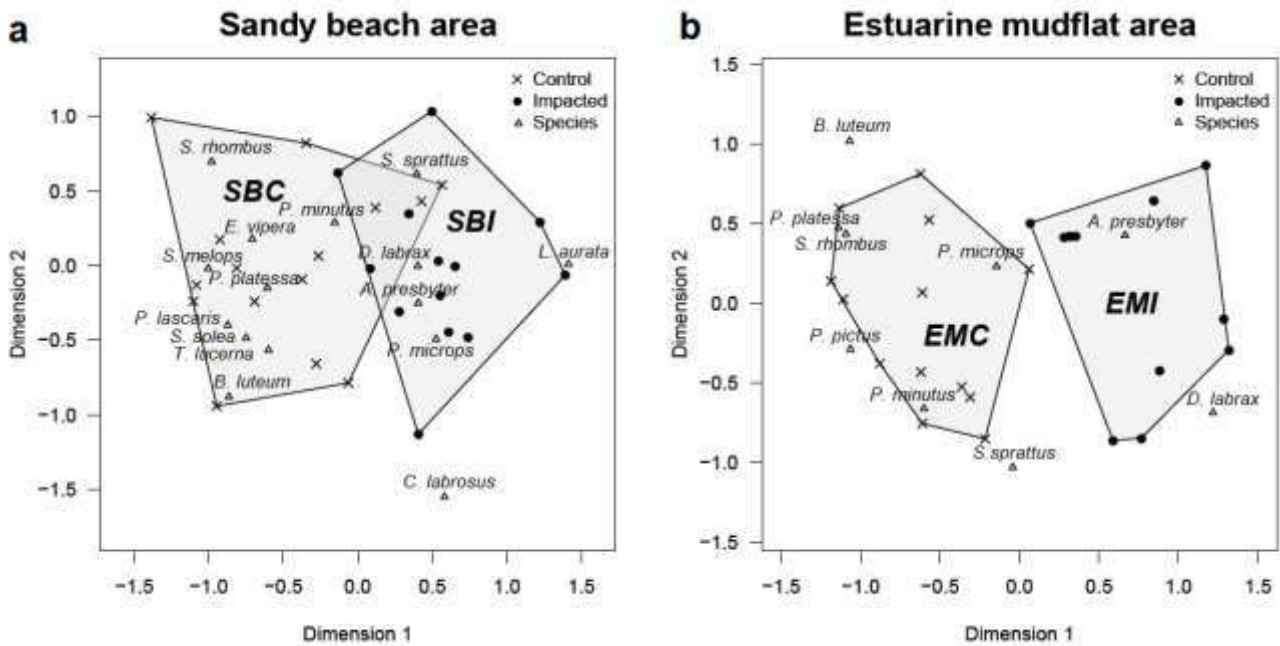


Figure 2.5 - Two-dimensional ordination of sample units during green tide proliferation from non-metric multidimensional scaling (MDS) (a) in the sandy beach area in 2013-2014 (stress = 0.18) and (b) in the estuarine mudflat area in 2014 (stress = 0.12)

## 2.4.2 Estuarine mudflat area

### **Physico-chemical parameters**

Both sites in the estuarine mudflat area were muddy grounds. The seasonal cycle of salinity, pH and temperature (Fig 2.6) did not differ between sites, except for gradients of salinity in spring. From April to mid-June, average salinity was approximately 33 at EMC and approximately 31 at EMI, whereas afterwards it was approximately 34 at both sites. Daytime mean dissolved oxygen concentrations fluctuated similarly at both sites, with a seasonal range between 7 and 12 mg.L<sup>-1</sup>.

### **Macroalgal cycle**

Green macroalgae proliferation at EMI lasted from the end of April to the end of October and was composed of both expanded blade *Ulva* species (average: 0.02 kg<sub>wwt</sub>.m<sup>-2</sup>; maximum: 0.07 kg<sub>wwt</sub>.m<sup>-2</sup> in May) and filamentous green macroalgae hung to the substrate that dominated the macroalgae biomass (average: 0.08 kg<sub>wwt</sub>.m<sup>-2</sup>; maximum: 0.2 kg<sub>wwt</sub>.m<sup>-2</sup> in October; Fig 2.6). The average density of total green macroalgae species at EMI was 0.1 kg<sub>wwt</sub>.m<sup>-2</sup> during the proliferation period. Patchy filamentous green macroalgae were also encountered at EMC (average: 0.03 kg<sub>wwt</sub>.m<sup>-2</sup>; Fig 2.6).

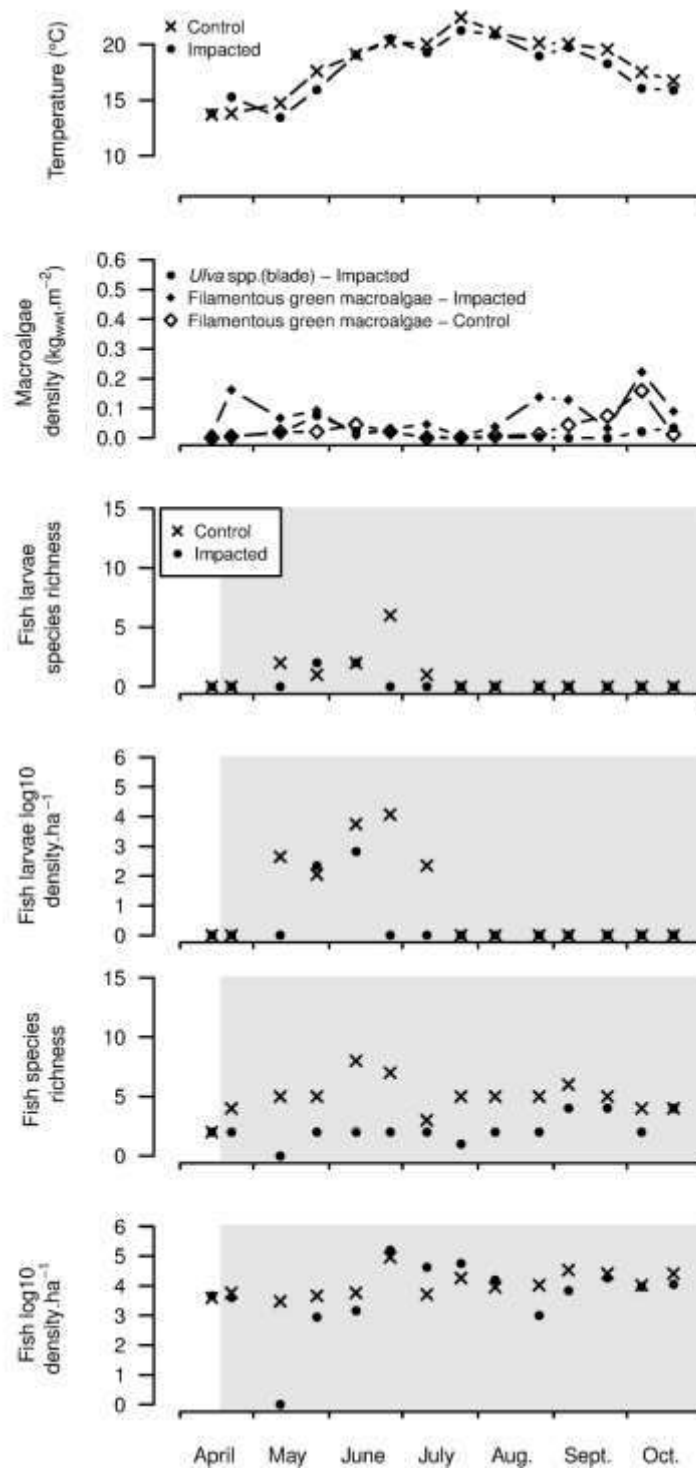


Figure 2.6 - Mean temperature (°C), mean macroalgae densities (in wet weight kg.m<sup>-2</sup>), fish larvae and fish juvenile and adult) species richness and log-transformed densities (number.ha<sup>-1</sup>) from April to October 2014 in the control and impacted sites of the estuarine mudflat area. The grey area represents the period impacted by green tide

### **Fish community: effects of the seasonal cycle and green tides**

The synchronicity between green tide emergence, fish arrival in coastal zones and the beginning of the sampling survey prevented us from using BACI tests in the estuarine area (*i.e.* only one sampling date was realised before macroalgal proliferation). ANOVAs were thus alternatively used to compare fish larvae and fish communities between the control and impacted sites based on the 13 sampling units per site during the green tide (Supp. Table 2.4).

Fish larvae were caught from May until the beginning of July at both sites (Fig 2.6). Species richness and density of fish larvae were not significantly different between sites (Fig 2.6 and Table 2.4).

Fish (*i.e.* juvenile and adult) settled in April in the estuarine area (Fig 2.6). Fish species richness was significantly lower at EMI, but there was no significant difference between sites with respect to fish density (Fig 2.6 and Table 2.4). Regarding functional guilds, benthic, demersal and resident fish were significantly less abundant at EMI (Fig 2.7 and Table 2.4).

Table 2.4 - ANOVA results (impacted/control site) of species richness and log-transformed densities (D., total and classified into both vertical distribution and ecological guilds) for both fish larvae and fish in the estuarine mudflat area in 2014 (statistical significance: ‘\*\*\*’ <0.001)

<b>Year</b>	<b>Parameter</b>	<b>F value</b>	<b>p value</b>
2014	Fish larvae species richness	1.4426	0.2425
	Fish larvae total D.	2.0205	0.1671
	Fish species richness	27.592	<0.001 ***
	Fish total D.	1.0794	0.3084
	Benthic D.	9.7004	<0.001 ***
	Demersal D.	24.084	<0.001 ***
	Pelagic D.	0.0067	0.9356
	Marine juvenile D.	0.5908	0.449
	Resident D.	28.942	<0.001 ***

### **Fish species composition during green tides**

An MDS was performed on fish densities by species following the exclusion of one date when no fish was caught (Fig 2.6 and Supp. Table 2.4). The two-dimensional MDS plot confirmed the previous analysis by fish guild and revealed distinct species composition between control and impacted sites (Fig 2.5b). As in the sandy beach area, the fish community was partly structured by benthic fish species at the control site. Their scarcity at the impacted site has led to a shift in fish species composition (Fig 2.5b and Table 2.2).

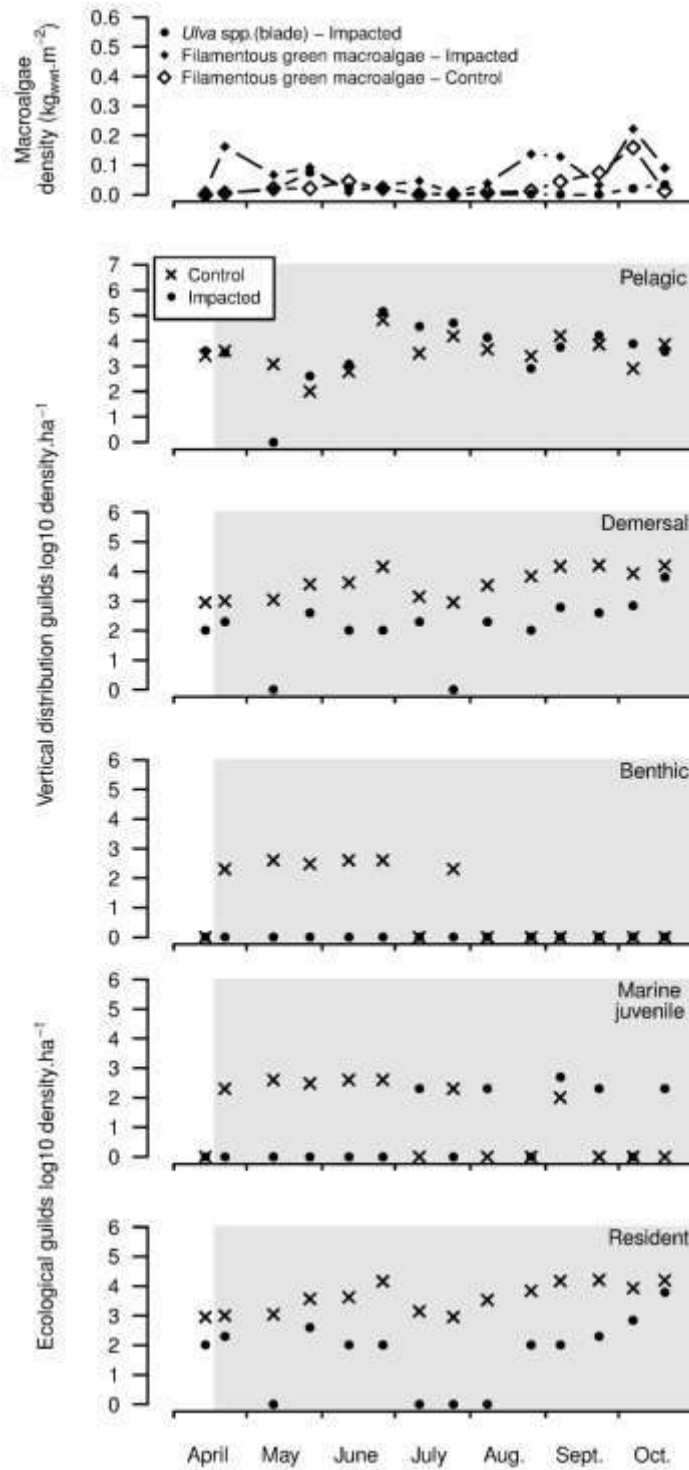


Figure 2.7 - Mean macroalgae densities (in wet weight  $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$ ) and log-transformed fish densities ( $\text{number} \cdot \text{ha}^{-1}$ ) per vertical distribution (pelagic, demersal and benthic) and ecological guilds (marine juvenile and marine resident) from April to October 2014 in the control and impacted sites of the estuarine mudflat area. The grey area represents the period impacted by green tide

## 2.5 Discussion

### 2.5.1 A standardised approach to assess the effects of macroalgal proliferation

#### ***Comparable control and impacted site within each area***

Within each area, the control and impacted sites were close to each other and shared similar fish-habitat conditions (*i.e.* similarity in physico-chemical parameters and sediment structure), leading to comparable fish species composition before the proliferation of macroalgae. Moreover, xenobiotics monitoring for the EU Water Framework Directive (WFD) indicated that both of the sites in each area had excellent water-chemical quality with respect to heavy metals, pesticides and industrial pollutants. Thus, noticeable differences between the impacted and control sites were primarily caused by local nutrient enrichment and lower residual hydrodynamic circulation at impacted sites, which resulted in green macroalgae proliferation and related modifications of habitat conditions.

#### ***Contrasted study areas***

Within sandy beach and estuarine mudflat areas, habitat conditions have led to various types of green macroalgae species assemblages at the impacted sites. At SBI, the green tide was composed exclusively of expanded blade green macroalgae. Conversely, at EMI, the green tide was dominated by filamentous green macroalgae species, although both filamentous and expanded blade green macroalgae proliferated.

#### ***Potential biases in fish sampling design***

The 24 h additional survey validated the representativeness of the sampled fish community and macroalgae under daylight in the morning or early afternoon at the beginning of the ebb tide.

The short sampling distance realised for this survey (25 m) might have decreased trawl catchability by increasing the influence of habitat disturbances related to the implementation of the sampling. However, similar sampled surfaces (*i.e.* per sample unit) have led to a representative sampling of the intertidal ichthyofauna (Orr et al., 2014) and allow us to consider this standardised sampling to be comparable.

The decrease in fish catches along with the increase in macroalgal density led us to consider a possible bias in the catchability of the trawl. Two qualitative field observations (that did not allow us to realise statistical tests) demonstrated that the gear remained efficient even if no fish was captured during important macroalgae proliferation.

- (i) At SBI on 22 September 2014 at a medium density of expanded blade *Ulva* spp., we realised 3 trawl hauls of 50 m and 3 standardised trawl hauls of 25 m (Supp. Table 2.2). The two-fold longer trawl hauls have led to especially high densities of expanded blade *Ulva* spp. approximately  $0.6 \text{ kg}_{\text{wwt}} \cdot \text{m}^{-2}$  in a trawl haul (*i.e.* among the maximum densities encountered in other samples; Fig 2.4). The mean density of fish captured during these samplings was comparable to that of the standardised sampling realised on the same date. Indeed, when standardised per unit of effort, the towing distance did not significantly influence the density of captured fish (Rotherham et al., 2008; Fulanda and Ohtomi, 2011).
- (ii) At high densities of green macroalgae, other mobile organisms (*Crangon crangon*) still present at SBI were caught in significant amounts.

Thus, we concede that trawl efficiency may have been reduced at significant densities of green macroalgae. However, the sampling strategy based on small trawl net distance (to avoid trawl clogging by macroalgae and to maintain its catchability) and the different qualitative field observations enable the consideration that a bias linked to macroalgae biomass in the trawl could not be the main explanatory factor of the low fish catch rates during green tides. This could neither explain fish disappearance at high densities of green macroalgae.

This standardised BACI-oriented approach thus allows the assessment of the consequences of green macroalgae proliferations on the fish community in the sandy beach and estuarine mudflat areas.

### 2.5.2 Contrasting effects of the proliferation of different species of macroalgae on ichthyofauna

Similar amounts of various macroalgae species can have different effects on fish diversity and abundance (Wennhage and Pihl, 1994; Camp et al., 2014; Lyons et al., 2014).

Above a mean density of  $0.1 \text{ kg}_{\text{wwt}} \cdot \text{m}^{-2}$  of green macroalgae mostly composed of filamentous species hung to the sea floor and clogging the substrate, we observed a significant negative effect on the fish community. Conversely, similar impacts on the fish community are only observed when the density of expanded blade *Ulva* species is three times higher. Furthermore, at a density level for which expanded blade *Ulva* species impacted the fish community, *P. littoralis*, a species of floating macroalgae that proliferated at both the control and impacted sandy beaches in 2013, does not seem to have any significant effect.

Thus, the specific composition of proliferating macroalgal assemblage and the related structural complexity are key driving factors of the fish community responses.

### 2.5.3 Effects of green tides on fish community

#### 2.5.3.1 Synchronicity of green macroalgae proliferation and fish settlement

The responses of fish communities to green tides are linked both to the life stages impacted by macroalgae (Carr, 1989) and to the temporal overlap between their proliferation and fish life cycle (Pihl and van der Veer, 1992; Wennhage and Pihl, 1994). If macroalgal mats are already present at the arrival of fish larvae in nurseries, they may act as a filter (Pihl et al., 2005) and inhibit the settlement (Ólafsson, 1988; Bonsdorff, 1992; Bolam et al., 2000). This influence has been reported on invertebrates and has led both to a decrease in species diversity (Jones and Pinn, 2006; Scanlan et al., 2007; Quillien et al., 2015) and to changes in the composition of the benthic community (Bonsdorff, 1992; Norkko and Bonsdorff, 1996b). Conversely, if fish larvae settle in shallow waters before macroalgae development, *i.e.* if only the post-settled stage is affected, the fish might be able either to migrate out of the proliferating vegetation (Ólafsson, 1988; Wennhage and Pihl, 2007; Carl et al., 2008) or to stay at the impacted habitat.

At both impacted sites of the sandy beach and estuarine mudflat areas, fish were present before macroalgae proliferations, although in weak densities, and no influence of green tides on larval species richness and density was recorded. Consequently, fish larvae settlement could not be considered as the main driving factor of the difference in fish communities between impacted and control sites. The decrease in fish density (until the disappearance of fish) during green tides could be primarily attributed to emigration from or mortality in a non-suitable habitat (Pihl et al., 2005).

Within each area, fish settlement occurs just before macroalgal blooms and led to a weak number of informative surveys before the green tide. This constraint limited the power of the BACI test (Parker and Wiens, 2005; Fleeger et al., 2008) in the sandy beach area and even prevented its use in the estuarine area. This could have led us to underestimate the consequences of macroalgal proliferations for fish.

#### 2.5.3.2 Effects of an increase in green macroalgae density on the fish community

In 2014, the green macroalgae proliferation at SBI was quite low and discontinuous. Patchy covers of macroalgae at low density for restricted periods of time have no noticeable negative impact on fish communities (Robertson and Lenanton, 1984; Wilson et al., 1990; Cardoso et al., 2004). Indeed, an increase in habitat complexity could even facilitate the local recruitment of various invertebrate species (Norkko and Bonsdorff, 1996a, 1996b; Holmquist, 1997; Bolam and Fernandes, 2002) by



enhancing shelter capacity and survival level (Wilson et al., 1990) of the smallest fraction of the fauna (Orr et al., 2014). On the contrary, macroalgal blooms at higher density for a long period (e.g. such as at SBI in 2013 and at EMI in 2014) negatively impact macrofauna (e.g. Soulsby et al., 1982; Whitfield, 1986; Everett, 1994; Dolbeth et al., 2003; Green et al., 2014). Massive macroalgal blooms also significantly reduce both fish density and species richness (Pihl and van der Veer, 1992; Österling and Pihl, 2001; Pihl et al., 2005) and modify the composition of fish assemblage (Wennhage and Pihl, 2007). At a density of green macroalgae mostly composed of filamentous species of approximately  $0.1 \text{ kg}_{\text{wwt}} \cdot \text{m}^{-2}$  at EMI or at a density of expanded blade *Ulva* spp. of approximately  $0.3 \text{ kg}_{\text{wwt}} \cdot \text{m}^{-2}$  at SBI, both density and species richness were significantly reduced.

Furthermore, the response of ichthyofauna to green tides varies according to the vertical distribution of fish species and species-specific capacity to move and/or to tolerate environmental pressures (Sagasti et al., 2001; MacKenzie, 2005; Riedel et al., 2012). Benthic fish, mostly composed of marine juveniles, are the most sensitive guilds to green tides. Modification of the benthic habitat that is caused by the proliferation of green macroalgae affects the behaviour, distribution and growth of benthic fish species (Pihl et al., 2005; Wennhage and Pihl, 2007). Even if they could avoid vegetated or clogged substrates when alternative substrates are locally available (Wennhage and Pihl, 1994, 2007; Carl et al., 2008), the low capacity of juvenile benthic fish to migrate (Saucerman and Deegan, 1991; Le Pape and Cogné, 2016) and the weak stress tolerance of juvenile fish (Sogard, 1997) reinforce the negative influence of green tides on these species. Thus, at medium densities of green macroalgae, a local decrease in benthic marine juvenile fish species modifies the composition of the fish community. Demersal (Holden and Williams, 1974; Selleslagh and Amara, 2008) and resident species (such as the abundant *Pomatoschistus* species; Petersen and Petersen, 1990; Dolbeth et al., 2007) have a greater tolerance to environmental stress induced by green tides. Nevertheless, when proliferation either reaches high levels or lasts for several months, the density of demersal and resident fish species is lowered and these species become scarce and even disappear at high densities of green macroalgae. Pelagic fish species do not significantly respond to green tides in both the sandy beach and the estuarine mudflat areas. Even at their juvenile stage, these species are tolerant and mobile (Daan et al., 1990; Guelinckx et al., 2006) and can move into and out of the macroalgae proliferation (Potter et al., 1983). However, at high densities of green macroalgae, pelagic fish are also absent from impacted sites. High densities of green macroalgae induce hydrochemical modifications and the clogging of suitable fish habitat throughout the water column. Both of these processes are likely to force all fish species to leave shallow impacted areas. Thus, especially when macroalgae reach high densities, green tides are a limiting factor of habitat suitability for the entire fish community.

## 2.5.4 Processes involved in the negative consequences of green tides

On the local scale, changes in habitat conditions caused by the proliferation of macroalgae could both modify fish behaviour (Pihl et al., 1995; Nordström and Booth, 2007; Florin et al., 2009) and impact habitat selection (Nordström and Booth, 2007; Wennhage and Pihl, 2007; Carl et al., 2008). For fish present at impacted sites during green tides, the option of staying might influence their foraging success (Aarnio and Mattila, 2000; Florin et al., 2009; Orr et al., 2014) and growth (Tarpgaard et al., 2005; Carl et al., 2008; De Raedemaeker et al., 2012) as well as their survival and abundance (Pihl and van der Veer, 1992; Wennhage, 2002; Pihl et al., 2005).

### 2.5.4.1 A main effect via a change in habitat complexity

Modification to a habitat structure is a major factor of pressure on the fish community. Indeed, changes in habitat complexity caused by the proliferation of plants or animals affect fish abundance and distribution (Levi and Francour, 2004; Le Pape et al., 2003; Kostecki et al., 2011; Orr et al., 2014). The proliferation of green macroalgae both significantly increases the structural complexity of the habitat and modifies the invertebrate community (Hull, 1987; Quillien et al., 2015). These changes could impact fish settlement, shelter behaviour and foraging success (Aarnio and Mattila, 2000; Andersen et al., 2005; Nordström and Booth, 2007) and therefore might influence their abundance and survival (Pihl and van der Veer, 1992; Wennhage, 2002; Pihl et al., 2005). At first, an increase in habitat complexity might be profitable to fish (Sogard and Able, 1991; Andrades et al., 2014) by providing shelter (Manderson et al., 2000; Adams, 2005; Kamimura and Shoji, 2013) and food resources (Stoner et al., 2001). Above a low level of proliferation, which varies from one macroalgal species to another, the cover of the substrate and the clogging of available space from the bottom up to the water surface have negative consequences on ichthyofauna (Pihl et al., 1995; Wennhage and Pihl, 2007; Jokinen et al., 2015).

### 2.5.4.2 Hydrochemical modifications and toxicity

Green tides lead to major changes in water chemistry and biogeochemical cycles (Valiela et al., 1997; Jones and Pinn, 2006) both by modifying dissolved oxygen concentration and amplitude and by releasing toxic substances (Johnson and Welsh, 1985; Sogard and Able, 1991; Harder et al., 2004).

The hypoxic-to-anoxic conditions (Bejda et al., 1992; Engström-Öst and Isaksson, 2006) commonly recorded during the significant proliferation of green macroalgae (Johnson and Welsh, 1985) induce decreases in growth rate (Thetmeyer et al., 1999; Phelan et al., 2000; McNatt and Rice, 2004), predation efficiency and fish survival (Kramer, 1987; Taylor and Miller, 2001). Dissolved oxygen

concentrations recorded at both of the impacted sites during the daytime and at SBI during the night-time at a medium density of green macroalgae were not detrimental to fish (negative effects on growth do not occur above oxygen concentrations of 3-5 mg.L<sup>-1</sup>; Batiuk et al., 2009). Nevertheless, detrimental oxygen concentration could have occurred at night during high proliferations and when macroalgal mats decayed (Johnson and Welsh, 1985). In addition to potential hypoxic conditions, the wide daily amplitude in oxygen concentration recorded during the 24 h additional survey could have affected fish condition and fitness (Batiuk et al., 2009; Miller Neilan and Rose, 2014).

Detrimental effects may also have been induced by natural organic toxins exuded by macroalgae or their bacterial flora (Sogard and Able, 1991; Harder et al., 2004). These toxic exudates have been reported to affect neighbouring fauna (Magre, 1974; Nelson et al., 2003). The synergistic effects of low oxygen levels and/or high fluctuations in oxygen concentration, along with living or senescent macroalgae exudates, could be detrimental (Engström-Öst and Isaksson, 2006; Sogard and Able, 1991), as revealed by the direct dose-related mortality between *Ulva* spp. exudates and invertebrates at low oxygen concentration (Wang et al., 2011).

In addition to direct impacts on the fish community, these hydrochemical modifications simultaneously affect invertebrate community composition (Quillien et al., 2015) and abundance, which could decrease the number of invertebrate preys available for the fish species (Fletcher, 1996; Raffaelli et al., 1998; Lyons et al., 2014). These alterations could modify trophic cycles (Deudero et al., 2014) and might impact the capacity of coastal and estuarine habitats to host fish and fulfil their food demands (Perkins and Abbott, 1972; Bolam et al., 2000).

### 2.5.5 From local-scale effects to consequences for fish populations

The characteristics of macroalgae proliferations (*i.e.* species assemblage, density, coverage percentage and bloom duration) and the seasonal synchronisation of proliferations with the fish species life cycle are important factors that modulate the effects of macroalgal blooms on the fish community. At both sites of the sandy beach and estuarine mudflat areas impacted by green tides, changes in habitat conditions strongly affected fish communities. The effects of green tides on fish vary according to the fishes' functional groups and have led to a shift in species composition between the control and the impacted sites. During massive proliferations, all of the fish species are affected, and locally, they eventually disappear. These responses of fish communities to green tides have been analysed as a reaction to a global stress induced by green tides. However, attributing these responses to one or another habitat condition modification (structural, hydrochemical and trophic changes or combined effects) will require further enquiries.

Coastal areas affected by large amounts of green macroalgae constitute less suitable habitats and reduce the local amount both of settled juvenile fish (*e.g.* a 30%-40% decrease in juvenile flatfish; Pihl et al., 2005) and of resident species (Dolbeth et al., 2007). Fish population size at one life stage is the result of the carrying capacity of essential habitats during previous life stages (Costa et al., 2002; Vasconcelos et al., 2013). The effects of habitat suitability on fish survival are especially important for nursery-dependent species (Le Pape and Bonhommeau, 2015), which represent a large proportion of exploited species (*i.e.* approximately 75%; Seitz et al., 2014). The reduction of the extent and/or of the quality of nursery grounds could create a bottleneck in recruitment and thus limit the overall population size (Turner and Boesch, 1987; Beverton, 1995; Peterson et al., 2000).

The degradation of coastal and estuarine essential, sensitive and non-widespread habitats is, along with fisheries, one of the major causes of declining fish populations on the continental shelf (Gibson, 1994; Hughes et al., 2015). Because green tides are a spreading phenomenon, the potential nursery habitat capacity of a large number of fish species may have been significantly reduced.

## **2.6 Acknowledgements**

This work was supported by the fisheries organisation France Filière Pêche, the Loire-Bretagne Water Agency and the Norman-Breton Marine Natural Park Review Study Group (French agency for marine protected areas).

We would like to thank Cédric Jamet of the National Nature Reserve of Saint Briec, along with our laboratory colleagues and trainees who helped us with the fieldwork. We would also like to thank Patrick Le Mao (IFREMER) and Jacques Grall and his colleagues (IUEM) for their helpful advice. We thank the associate editor and the three reviewers of this manuscript for their constructive reviews that improved the manuscript.

Supplementary Table 2.1 - Total catches of fish species (number of individuals by sample unit) and macroalgae densities (in wet weight kg.m<sup>-2</sup>) in the sandy beach area in 2013 at each site (SBC: Sandy Beach Control and SBI: Sandy Beach Impacted) for each sampled date. Dates in bold correspond to the period of green tide proliferation. A star is added when the sample date was excluded from the MDS analysis (no catch during green tide proliferation)

Site	Date	Fish species												Groups of macroalgae				
		<i>Atherina presbyter</i>	<i>Buglossidium luteum</i>	<i>Ciliata mustela</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	<i>Echiichthys vipera</i>	<i>Liza aurata</i>	<i>Pegusa lascaris</i>	<i>Pleuronectes platessa</i>	<i>Pomatoschistus microps</i>	<i>Pomatoschistus minutus</i>	<i>Scophthalmus rhombus</i>	<i>Solea solea</i>	<i>Sprattus sprattus</i>	<i>Symphodus melops</i>	<i>Trigla lucerna</i>	Expanded blade <i>Ulva</i> spp.	<i>Pyloaella littoralis</i>
SBC	2013-04-09	21					1											
	2013-04-23																	
	2013-05-07																	
	2013-05-23							1										
	<b>2013-06-07</b>		10						9	21							0.011	
	<b>2013-06-28</b>		0					2	231	3	3	18			1		0.263	
	<b>2013-07-11</b>			1			3	128		2	5	2			1	0.014	0.189	
	<b>2013-07-29</b>										2							
	<b>2013-08-12</b>				3	22	5	85		22	4	6	44	2				
	<b>2013-08-26</b>			3	4	1		35		6	2	2	80	2	31			
	<b>2013-09-10</b>			1		3	2		12	24	2			1	1			0.012
	2013-09-24		55			3			1	12			1412					
	2013-10-09		1						7	1			2					0.041
2013-10-22		18				3		1	10	11	36	2	343	3		0.011		
SBI	2013-04-09							1										
	2013-04-23																	
	2013-05-07									3								
	2013-05-23						7		2									
	<b>2013-06-07</b>							6	2				46			0.127		
	<b>2013-06-28 *</b>															0.486		
	<b>2013-07-11 *</b>															0.578		
	<b>2013-07-29</b>												15			0.345		
	<b>2013-08-12</b>		1		1					3			3			0.322		
	<b>2013-08-26</b>				1				4		1		87			0.176	0.059	
	<b>2013-09-10</b>							1		1			4			0.189	0.35	
	2013-09-24				8		1						820			0.018	0.006	
	2013-10-09		2			2	19			6						0.039	0.112	
2013-10-22						7			10	2			57		0.004	0.125	0.043	

Supplementary Table 2.2 - Total catches of fish species (number of individuals by sample unit) and macroalgae densities (in wet weight kg.m<sup>-2</sup>) in the sandy beach area in 2014 at each site (SBC: Sandy Beach Control and SBI: Sandy Beach Impacted) for each sampled date. Dates in bold correspond to the period of green tide proliferation. Sample unit marked by a cross is those during which half of the trawl hauls were two-times longer to test for sensitivity of trawl catchability to macroalgal biomass

Site	Date	Fish species																Groups of macroalgae								
		<i>Ammodytes tobianus</i>	<i>Atherina presbyter</i>	<i>Buglossidium luteum</i>	<i>Callionymus lyra</i>	<i>Chelon labrosus</i>	<i>Cyclopterus lumpus</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	<i>Diplodus sargus sargus</i>	<i>Echiichthys vipera</i>	<i>Hyperoplus immaculatus</i>	<i>Liza aurata</i>	<i>Pegusaa lascaris</i>	<i>Pleuronectes platessa</i>	<i>Pomatoschistus microps</i>	<i>Pomatoschistus minutus</i>	<i>Pomatoschistus pictus</i>	<i>Scophthalmus rhombus</i>	<i>Solea lascaris</i>	<i>Solea solea</i>	<i>Spondyllosoma cantharus</i>	<i>Sprattus sprattus</i>	<i>Trigla lucerna</i>	Expanded blade <i>Ulva</i> spp.	<i>Pylaiella littoralis</i>	Other macroalgae
SBC	2014-04-11												2		3											
	2014-04-23	1	2			2		2					1	1				1				199				
	2014-05-13		2																							
	<b>2014-05-26</b>																	1				35				0.003
	<b>2014-06-11</b>		427	1										3								15	4			
	<b>2014-06-25</b>		1445										1	6	2	3			1				3			
	<b>2014-07-24</b>		15	2			1	88					1	12	3	8	1	5	1	1	3	759	4			0.001
	<b>2014-08-07</b>		68	1				79						3		71		1		3	9	15	1			
	<b>2014-08-25</b>		165					4	4													644				
	<b>2014-09-06</b>		122			1		13		2				3		332						296				
	<b>2014-09-22</b>		231					14	2							10						719				
	2014-10-06		120					3														284				
2014-10-21							1			1																
SBI	2014-04-11							2					2	2												
	2014-04-23						8					6		13												
	2014-05-13										12															
	<b>2014-05-26</b>					296								2					1		1			0.178		
	<b>2014-06-11</b>		1			1						26									31		0.16	0.018		
	<b>2014-06-25</b>		86								39										1		0.253	0.011		
	<b>2014-07-24</b>		168					43						3							259		0.016	0.012		
	<b>2014-08-07</b>		26					110							14						152		0.033	0.016		
	<b>2014-08-25</b>		276					57							12						3		0.016	0.001		
	<b>2014-09-06</b>		47					16			7			4							205		0.282	0.086		
	<b>2014-09-22 +</b>		2					14			12		1	7									0.236	0.012		
	2014-10-06		147					40			41												0.025			
2014-10-21		126					29																			

Supplementary Table 2.3 - Total catches of fish species (number of individuals by sample unit) and macroalgae densities (in wet weight kg.m<sup>-2</sup>) in the sandy beach area during the 24h survey in 2014 at each site (SBC: Sandy Beach Control and SBI: Sandy Beach Impacted)

Site	Date	Hour	Height of tide	Fish species													Groups of macroalgae		
				<i>Anguilla anguilla</i>	<i>Atherina presbyter</i>	<i>Buglossidium luteum</i>	<i>Chelon labrosus</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	<i>Liza aurata</i>	<i>Pegusa lascaris</i>	<i>Pleuronectes platessa</i>	<i>Pomatoschistus microps</i>	<i>Pomatoschistus pictus</i>	<i>Scophthalmus rhombus</i>	<i>Solea solea</i>	<i>Sprattus sprattus</i>	<i>Trigla lucerna</i>	Expa. nded blade <i>Ulva</i> spp.	<i>Pylaiella littoralis</i>
SBC	2014-06-05	08:00	4.4								2						0.021	0.005	
		09:00	5.5														0.003	0.005	
		10:00	6.9																
		11:00	8.1					1											
		13:00	8.8															0.039	0.021
		14:00	8.3		6														
	2014-06-06	15:00	7.4					1		1	4			1				0.002	0.006
		16:00	6.4					1	1	2	5			1	1			0.045	0.034
		17:00	5.3				2			2	4	1						0.004	0.004
		02:00	8.5					6		1		5		1					
		03:00	7.7							1	1	1			1			0.06	0.024
		04:00	6.7							1	16	3		2	2	1		0.058	0.022
	05:00	5.6								4	2			2			0.007	0.003	
SBI	2014-06-05	08:00	4.4			2					7	3						0.28	
		09:00	5.5			4					2							0.46	
		10:00	6.9			1	1	1				1	1		1			0.339	0.045
		11:00	8.1		1							1			1			0.368	0.052
		13:00	8.8					2				9						0.484	0.036
		14:00	8.3									6						0.452	0.008
	2014-06-06	15:00	7.4			4						1						0.464	0.016
		16:00	6.4			3						6						0.465	0.035
		17:00	5.3			1	1				1	3						0.399	0.021
		02:00	8.5				2	2				20		1				0.008	0.005
		03:00	7.7					2				20		1				0.38	0.02
		04:00	6.7			1					1	2	1					0.465	0.035
	05:00	5.6			2					2	4						0.47	0.03	

Supplementary Table 2.4 - Total catches of fish species (number of individuals by sample unit) and macroalgae densities (in wet weight kg.m<sup>-2</sup>) in the estuarine mudflat area in 2014 at each site (EMC: Estuarine Mudflat Control and EMI: Estuarine Mudflat Impacted) for each sampled date. Dates in bold correspond to the period of green tide proliferation. A star is added when the sample date was excluded for the MDS analysis (no catch during green tide proliferation)

Site	Date	Fish species														Groups of macroalgae				
		<i>Atherina presbyter</i>	<i>Buglossidium luteum</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	<i>Gobius niger</i>	<i>Gobius paganellus</i>	<i>Liza aurata</i>	<i>Mullus surmuletus</i>	<i>Pleuronectes platessa</i>	<i>Pomatoschistus microps</i>	<i>Pomatoschistus minutus</i>	<i>Pomatoschistus pictus</i>	<i>Scophthalmus rhombus</i>	<i>Solea solea</i>	<i>Spinachia spinachia</i>	<i>Sprattus sprattus</i>	<i>Symphodus melops</i>	Expanded blade <i>Ulva</i> spp.	Filamentous green macroalgae	Other macroalgae
EMC	2014-04-14	26							9											
	<b>2014-04-22</b>	40			1			2	9									0.005		
	<b>2014-05-12</b>	12				1		4	8		2							0.002	0.02	
	<b>2014-05-27</b>							3	34	2	1				1			0.021	0.005	
	<b>2014-06-12</b>	6	1					1	40		1	1	1			1		0.002	0.045	0.009
	<b>2014-06-26</b>	662						1	116	22	6	3		1				0.005	0.021	0.007
	<b>2014-07-11</b>	32							13	1										0.005
	<b>2014-07-25</b>	153	1					1	8	1									0.001	0.019
	<b>2014-08-08</b>	11							8	25	1					35			0.007	0.001
	<b>2014-08-26</b>	22							20	48	1					3			0.012	0.003
	<b>2014-09-07</b>	69			1				18	129	1					88			0.044	
	<b>2014-09-23</b>	58						1	32	129						13			0.074	0.001
	<b>2014-10-07</b>	8							26	58	2								0.159	0.051
<b>2014-10-20</b>	69							9	148						5			0.012	0.02	
EMI	2014-04-14	40							1									0.015	0.004	
	<b>2014-04-22</b>	34							2									0.006	0.162	0.015
	<b>2014-05-12 *</b>																	0.016	0.067	0.001
	<b>2014-05-27</b>	4							4									0.075	0.092	
	<b>2014-06-12</b>	12							1									0.023	0.008	0.018
	<b>2014-06-26</b>	1419							1									0.018	0.031	0.02
	<b>2014-07-11</b>	376			2													0.004	0.046	0.019
	<b>2014-07-25</b>	510																	0.005	0.018
	<b>2014-08-08</b>	136			2													0.001	0.038	0.029
	<b>2014-08-26</b>	8							1									0.002	0.137	0.01
	<b>2014-09-07</b>	39			5				1						17				0.128	0.014
	<b>2014-09-23</b>	108			2				2						56				0.032	0.006
	<b>2014-10-07</b>	75							7										0.021	0.222
<b>2014-10-20</b>	38			2			60	1										0.034	0.09	0.004



## Conclusion du chapitre

L'analyse conduite dans ce chapitre visait à examiner les conséquences des marées vertes sur les communautés ichtyologiques dans les deux types d'habitats affectés par les marées vertes, les estrans sableux et les vasières estuariennes.

Dans chacun de ces secteurs, nos résultats mettent en avant des effets des proliférations de macroalgues sur les communautés ichtyologiques. Ces conséquences sont modulées en fonction de la composition spécifique, de la densité et de la durée du bloom. L'augmentation de l'intensité de la perturbation entraîne une réduction progressive de la diversité et de la densité de l'ichtyofaune intertidale. Au travers d'analyses par guildes fonctionnelles, nos résultats ont permis de mettre en évidence une sensibilité variable des espèces de poissons face à cette perturbation selon leur degré de tolérance aux perturbations environnementales, leur capacité de déplacement et leur distribution dans la colonne d'eau. Ces contrastes se traduisent par une modification progressive de la composition de l'ichtyofaune, vers des espèces résidentes et des espèces mobiles, moins sensibles aux perturbations de l'habitat induites par les marées vertes. Lors de fortes proliférations, les marées vertes entraînent une disparition locale de l'ichtyofaune.

Les réponses des communautés ichtyologiques mettent donc en évidence une réduction de la qualité des habitats intertidaux affectés par les marées vertes et amènent à s'interroger sur les processus par lesquels cette perturbation affecte l'ichtyofaune à l'échelle des organismes. L'analyse de ces processus fait l'objet du second chapitre dans lequel des espèces témoins sont sélectionnées pour appréhender leurs réponses face aux proliférations algales à l'échelle de l'individu.



**Chapitre 3**  
**Influence des marées vertes dans  
une nurricerie côtière sur la  
sélection de l'habitat et la  
performance individuelle de  
juvéniles de poissons**

### **3. Influence des marées vertes dans une nurricerie côtière sur la sélection de l'habitat et la performance individuelle de juvéniles de poissons**

---

#### Introduction du chapitre

Les résultats du chapitre précédent ont permis de caractériser les conséquences des marées vertes sur l'ichtyofaune à l'échelle des communautés. Des réponses à ce haut niveau d'organisation biologique transcrivent une intégration profonde de la perturbation dans les écosystèmes mais ne permettent pas de déterminer les processus par lesquels les macroalgues vertes affectent l'ichtyofaune. Les marées vertes sont des phénomènes complexes qui modifient simultanément les conditions physiques, chimiques et trophiques des habitats (Fletcher, 1996; Raffaelli et al., 1998). Ces modifications perturbent la qualité des habitats et peuvent affecter le comportement, la croissance, la condition et *in fine* la survie des organismes (Johnson and Welsh, 1985; Isaksson et al., 1994; Pihl et al., 2005), et conduire aux conséquences observées à l'échelle des communautés.

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés aux effets des marées vertes au niveau de l'individu, afin d'examiner plus finement les réponses de l'ichtyofaune et de caractériser les différents mécanismes de défense mis en œuvre par les organismes. Pour cette échelle d'analyse, un focus a été fait sur la zone d'estran sableux (baie de Saint-Brieuc) ainsi que sur la fonction de nurricerie assurée par cet habitat. Les stades juvéniles représentent une proportion conséquente de l'ichtyofaune se concentrant dans les habitats côtiers intertidaux (Beck et al., 2001; Seitz et al., 2014). Une modification de leurs performances individuelles peut avoir des répercussions sur le recrutement et donc sur la taille des populations d'intérêt halieutique (Turner and Boesch, 1987; Gibson, 1994; Piet and Rijnsdorp, 1998; Able, 1999; Peterson et al., 2000; Jones et al., 2002). Cette étude s'est portée sur le sprat (pélagique), le bar (démersal) et la plie (benthique), suivis sur un site contrôle et un site impacté de la baie. Le positionnement différent de ces trois espèces dans la colonne d'eau a permis de tester un effet de l'utilisation de l'habitat sur leurs réponses face aux marées vertes. L'analyse a été menée au travers d'une approche multi-indice, considérant la sélection de l'habitat et les ajustements des performances individuelles. Dans un premier temps, la sélection de l'habitat pour chacune des espèces a été examinée par l'analyse combinée de leurs densités et de leurs signatures isotopiques spécifiques à chacun des habitats. Ensuite, les

ajustements physiologiques des individus ont été considérés à travers l'analyse de réponses instantanées (capacité de défense antioxidante), ou mises en place à court terme (réserves lipidiques, taux de croissance journalière) et à moyen terme (indice de condition sur critères morphométriques).

*Dans le cadre de cette partie de la thèse, deux stagiaires ont participé à la réalisation de travaux de laboratoire et d'analyses préliminaires des résultats.*

*Pour son stage de Master 1, Marine RANDON a réalisé les montages des photographies permettant la lecture et le comptage des stries journalières des otolithes de sprats ainsi que l'analyse préliminaire des performances individuelles de sprat (taux de croissance journalière, réserves lipidiques et condition).*

*Au cours d'un stage de césure de 2 mois, Clément LEBOT a aussi participé à ce travail, notamment pour l'acquisition, la lecture et le comptage des stries journalières des otolithes de bar.*

# Influence of Green Tides in Coastal Nursery Grounds on the Habitat Selection and Individual Performance of Juvenile Fish

Article submitted to *Plos One* the 18 May 2016

Le Luherne E. <sup>1\*</sup>, Le Pape O. <sup>1</sup>, Murillo L. <sup>2</sup>, Randon M. <sup>1</sup>, Lebot C. <sup>1</sup> and Réveillac E. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> *ESE, Ecology and Ecosystems Health, Agrocampus Ouest, INRA, F-35042 Rennes, France*

<sup>2</sup> *Littoral ENvironnement et Sociétés (LIENSs), UMR 7266 CNRS-Université de La Rochelle, Institut du Littoral et de l'Environnement, 2, rue Olympe de Gouges, F -17000 La Rochelle, France*

\* Corresponding author: [emilie.leluherne@agrocampus-ouest.fr](mailto:emilie.leluherne@agrocampus-ouest.fr)

## 3.1 Abstract

Coastal ecosystems, which provide numerous essential ecological functions for fish, are threatened by the proliferation of green macroalgae that significantly modify habitat conditions in intertidal areas. Understanding the influence of green tides on the nursery function of these ecosystems is essential to determine their potential effects on fish recruitment success. In this study, the influence of green tides on juvenile fish was examined in an intertidal sandy beach area, the Bay of Saint-Brieuc (Northwestern France), during two seasonal cycles of green tides with varying levels of intensity. The responses of three nursery-dependent fish species, the pelagic *Sprattus sprattus* (L.), the demersal *Dicentrarchus labrax* (L.) and the benthic *Pleuronectes platessa* L., were analysed to determine the effects of green tides according to species-specific habitat niche and behaviour. The responses to this perturbation were investigated based on habitat selection and a comparison of individual performance between a control and an impacted site. Several indices on different integrative scales were examined to evaluate these responses (antioxidant defence capacity, total lipid, morphometric condition and growth). Based on these analyses, green tides affect juvenile fish differently according to macroalgal density and species-specific tolerance, which is linked to their capacity to move and to their distribution in the water column. A decreasing gradient of sensitivity was observed from benthic to demersal and pelagic fish species. At low densities of green macroalgae, the three species stayed at the impacted site and the growth of plaice was reduced. At medium macroalgal densities, plaice disappeared from the impacted site. The growth of sea bass and the total lipid content of sprat were reduced at the impacted site. Finally, when high macroalgal densities were reached, none of the studied species were captured at the impacted site. Hence, sites affected by green tides are less

favourable nursery grounds for all the studied species, with species-specific effects related to macroalgal density.

**Keywords:** green tide, nursery grounds, habitat suitability, individual scale, multi-index analysis

## 3.2 Introduction

Coastal areas are productive systems that encompass essential habitats, such as nursery grounds, for various fish species (Elliott and Dewailly, 1995; Beck et al., 2001), including many economically valuable species (Seitz et al., 2014). The recruitment success of these fish species is highly dependent on the quality of coastal nurseries, which modulate the growth, condition and survival of juvenile fish (Gibson, 1994; Vasconcelos et al., 2013; Le Pape and Bonhommeau, 2015). The suitability of these sensitive habitats is threatened by numerous anthropogenic pressures (Halpern et al., 2008), including seasonal massive proliferations of free-floating green macroalgae, called green tides. This form of eutrophication has spread along many coastlines and has increased in occurrence, abundance and duration worldwide since the 1970s (Fletcher, 1996; Ye et al., 2011; Smetacek and Zingone, 2013).

The proliferation of green macroalgae leads to major changes in habitat structure (Isaksson and Pihl, 1992; Isaksson et al., 1994; Jokinen et al., 2015), water chemistry and biogeochemical cycles (Sfriso et al., 1992; Engström-Öst and Isaksson, 2006). These changes disturb ecological communities (Jokinen et al., 2015; Quillien et al., 2015) and affect both the trophic food webs and ecosystem processes (Raffaelli et al., 1998; Raffaelli, 2000; Arroyo et al., 2012). Abiotic and biotic modifications linked to green tides could thus affect the habitat suitability for coastal nursery-dependent fish species (Pihl et al., 2005; Jokinen et al., 2016, 2015; Le Luherne et al., 2016). The consequences of these changes for fish species are modulated by the composition, intensity and duration of the macroalgal bloom (Lyons et al., 2014; Le Luherne et al., 2016). Patchy or weak macroalgal proliferation could be beneficial to juvenile marine fish by providing new food resources and new shelter on unvegetated substrates, in relation to the increase in habitat complexity (Sogard and Able, 1991; Stoner et al., 2001; Kamimura and Shoji, 2013). Conversely, high and long-term proliferation could be detrimental for fish (Pihl et al., 2005; Jokinen et al., 2016) and could even lead to their total disappearance from impacted sites (Le Luherne et al., 2016). The modification of habitat conditions caused by green tides and the response of fish communities have been previously described (Pihl et al., 2005; Jokinen et al., 2015; Le Luherne et al., 2016). However, the underlying ecological processes, especially the impacts

of green tides on habitat selection and individual performance, for various nursery-dependent fish species requires investigation (Lyons et al., 2014).

In Northwestern France, many shallow sandy beaches experience seasonal proliferations of green macroalgae. Among them, the Bay of Saint-Brieuc is the most heavily impacted by green tides (Charlier et al., 2007). Each year, the intertidal area of this coastal bay is covered by green macroalgae that develops in free-floating expanded blade form (mostly *Ulva armoricana* and *U. rotundata*) from spring to the end of summer (Charlier et al., 2007; Merceron et al., 2007; Perrot et al., 2014; Le Luherne et al., 2016). In temperate latitudes, this period corresponds to the settlement and growth of juvenile marine fish in shallow coastal areas (Gibson, 1994; Amara, 2003; Le Luherne et al., 2016). To analyse the impact of green tides on the nursery-dependent fish species that gather in the Bay of Saint-Brieuc, three teleost fish species with different vertical distributions, and thus potentially different responses to green tides (Le Luherne et al., 2016), were examined: a pelagic species, the European sprat *Sprattus sprattus* (Linnaeus, 1758); a demersal species, the European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758); and a benthic species, the European plaice *Pleuronectes platessa* Linnaeus, 1758. The effects of green tides on these three species were evaluated by comparing, for each species, behaviour and individual performance at an impacted and a control site during two annual cycles. The characterisation of species-specific fish responses was based on multi-index analysis focusing on different integrative and temporal scales (Adams, 2002). Initially, the influence of green tides on habitat selection was examined based on the combination of fish density and habitat-specific stable isotope signature in fish muscle (Vinagre et al., 2008; Quillien et al., 2016). Then, physiological adjustments were analysed for individuals who lived in coastal areas during green macroalgae proliferations. Instantaneous to mid-term physiological responses of fish to green tides were assessed using fish antioxidant defence capacity (Arts et al., 2004), muscle total lipid (Post et al., 2007; Logan et al., 2008; Svensson et al., 2014), morphometric condition (Fechhelm et al., 1995) and daily growth rate (Stevenson and Campana, 1992; Baumann et al., 2006). These responses were analysed with respect to the period and intensity of green tides and the life history of the three studied fish species.

We address several questions to improve the understanding of the green tide influence on the individual scale, in particular: (1) we investigated fish responses on different integrative scales of perturbation, from the perception of a perturbation to the implementation of behavioural responses, (2) we tested for the effect of the macroalgae density on fish responses and (3) we examined the influence of species ecological niche and behaviour on their responses.



## 3.3 Materials and Methods

### 3.3.1 Ethics statement

Permission to collect fish with a trawl net in the study areas was granted by the French Departmental Authority for Maritime Affairs “Direction Départementale des Territoires et de la Mer (DDTM) des Côtes d’Armor” ([ddtm-dml@cotes-darmor.gouv.fr](mailto:ddtm-dml@cotes-darmor.gouv.fr)) after examination of the sampling protocol. Surveys in the impacted area were performed in a marine protected area, the National Nature Reserve of Saint-Brieuc. Sampling was conducted in full agreement and in collaboration with the reserve managers. In accordance with European Commission recommendation 2007/526/EC, on revised guidelines for the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes, fish sampling in the wild without experimental handling did not require an ethics agreement. Fish caught were sacrificed by hypothermia. The present field study did not involve endangered or protected species.

### 3.3.2. Selection of the study sites

To examine the effects of green tides on fish habitat selection and individual performance, a control (48°35.7’N, 2°33.3’W) and an impacted (48°31.9’N, 2°39.7’W) site were selected within the same water body, the Bay of Saint-Brieuc (Fig 3.1). Sites were chosen for their similarity in sediment structure and their proximity (10 km) to be comparable in terms of larval supply and habitat suitability (Le Luherne et al., 2016). Moreover, the 10 km distance was considered sufficient to prevent significant movement of juveniles of the studied fish species between sites (Hansson et al., 1997; Burrows et al., 2004; Green et al., 2012), avoiding potential mixing.

### 3.3.3. Field sampling

The sampling design was based on a standardised field survey performed in 2013 and 2014 from April until October to investigate the response of the fish community to green tides (Le Luherne et al., 2016). At both the control and impacted sites, sampling was conducted twice a month at the beginning of ebb tide in the shallow upper intertidal zone. At each sampling date and site, 6 successive trawl hauls of 25 m were conducted with a trawl net (mesh of 8 mm) towed by two people at a depth between 0.4 and 0.7 m. An additional sampling session was conducted over a 24 h period in late spring in 2014 (Le Luherne et al., 2016). The biomass of expanded blade *Ulva* spp. towed in each trawl haul was weighed as the wet weight after one minute of draining.

Simultaneously, seawater physico-chemical parameters (*i.e.* temperature (°C), salinity, pH and dissolved oxygen concentration ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )) were measured in the middle of the water column using a multiparameter probe (Hanna HI 9828/4-02).

For the three selected species, fish were collected and stored in coolers in the field (for a one to three hour period). According to species, fish were stunned, unconscious or dead prior to be freezing and were all dead before their transport to the laboratory. At the laboratory, they were measured (total length to the nearest mm) and weighed (total mass to the nearest mg), before being individually frozen at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  for further analysis. For each fish species, only sampling dates that collected at least 3 individuals at both sites after the onset of the green tide were retained for analyses on the individual scale.

In addition, to test the activation of antioxidant defence capacity in response to green tides, a specific protocol was set. Fish of each species were collected on one date during macroalgae proliferation (Supp. Table 3.1) and were deep-frozen individually in the field at  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  in liquid nitrogen.

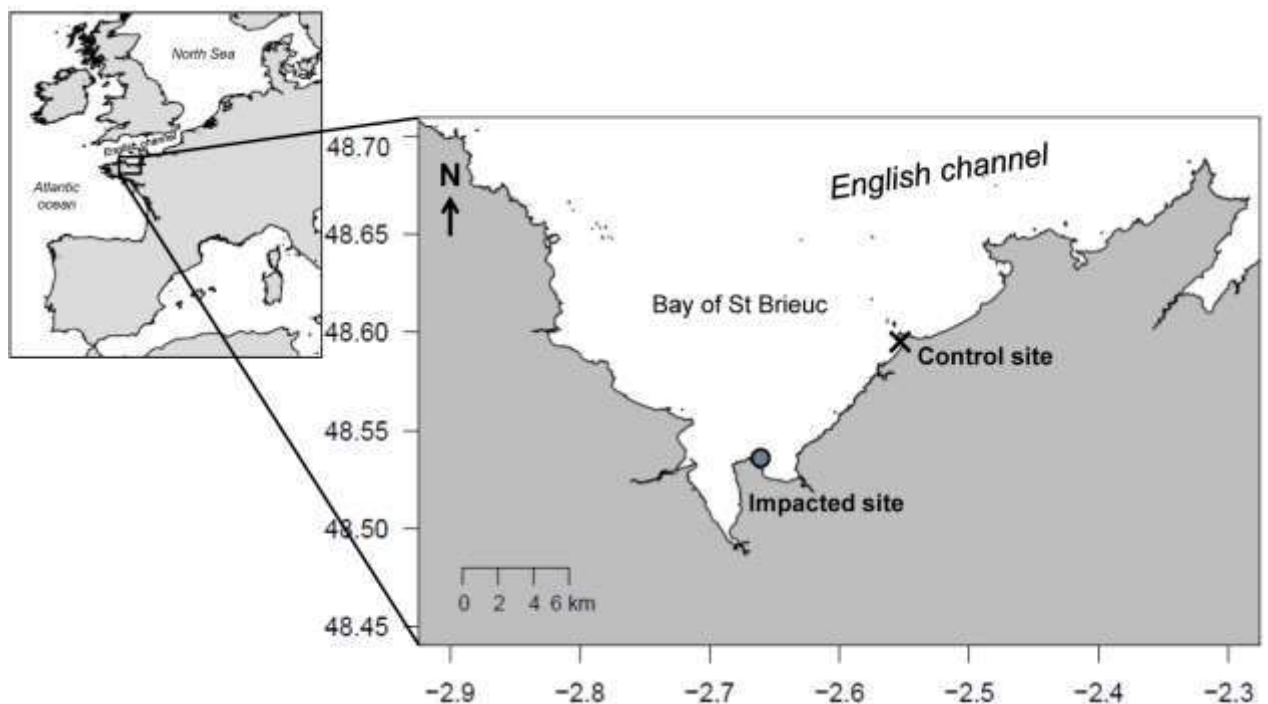


Figure 3.1 - Location of the control (C) and impacted (I) sites in the study area, Northwestern France

### 3.3.4. Selection of fish for analysis on the individual scale

Green tides induced a drastic decrease in fish density at species-specific levels of macroalgal density until the total disappearance of fish during the period of maximum macroalgae density (Le Luherne et al., 2016). For each species and each year, the sampling allowed the examination of fish response during green tides for a restricted number of sampling dates that differed between species (Table 3.1 and Supp. Table 3.1).

All the selected fish were used for the R relative morphometric condition analysis (Table 3.1). For the  $\delta^{13}\text{C}$  signature, C:N ratio and daily growth rate (DGR) analyses, sub-samples of three to five individuals representative of the most registered size class at both sites were selected for each selected sampling date (Table 3.1). For Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) analyses, all deep-frozen fish within the same length class were analysed (Table 3.1).

Table 3.1 - Number (N) of fish analysed and their total length range (TL in mm) at the control and impacted sites with the corresponding number of sampling dates (N of dates) analysed for the sprat (*S. sprattus*), sea bass (*D. labrax*) and plaice (*P. platessa*) in 2013 and 2014. For each index, “integration” refers to the range of its time of integration (or turnover rate).

Type of analysis	Integration	Species	Year	Site	N	TL (mm)	N of date		
$\delta^{13}\text{C}$ signature	Month	Sprat	2013	Control	25	[35-47]	5		
				Impacted	19	[33-47]	5		
			2014	Control	25	[30-41]	5		
				Impacted	23	[27-46]	5		
		Sea bass	2014	Control	40	[28-135]	6		
				Impacted	35	[26-134]	6		
		Plaice	2013	Control	5	[36-52]	1		
				Impacted	5	[33-45]	1		
			2014	Control	11	[33-46]	1		
				Impacted	6	[24-46]	1		
Antioxidant defence capacity	Hour	Sprat	2013	Control	5	[36-47]	1		
				Impacted	5	[33-47]	1		
			2014	Control	10	[34-57]	1		
				Impacted	11	[30-63]	1		
		Sea bass	2014	Control	8	[109-135]	1		
				Impacted	6	[86-133]	1		
		Plaice	2014	Control	6	[65-78]	1		
				Impacted	7	[55-71]	1		
		C:N ratio (lipid storage)	$\leq$ Week	Sprat	2013	Control	15	[36-47]	3
						Impacted	12	[33-47]	3
2014	Control				25	[30-41]	5		
	Impacted				23	[27-46]	5		
Sea bass	2014			Control	26	[62-135]	3		
				Impacted	19	[53-134]	3		
Plaice	2013			Control	5	[36-52]	1		
				Impacted	5	[33-45]	1		
	2014			Control	11	[33-46]	1		
				Impacted	6	[24-46]	1		

R morphometric condition	Weeks	Sprat	2013	Control	99	[35-46]	2
				Impacted	67	[32-49]	2
			2014	Control	501	[32-71]	5
				Impacted	312	[31-77]	5
		Sea bass	2014	Control	204	[25-141]	6
	Impacted			215	[23-134]	6	
		Plaice	2013	Control	9	[25-73]	1
	Impacted			6	[33-45]	1	
			2014	Control	32	[36-75]	1
	Impacted			7	[31-76]	1	
Daily growth rate	≤ Week	Sprat	2013	Control	17	[35-41]	4
				Impacted	22	[32-44]	5
			2014	Control	23	[30-41]	5
				Impacted	22	[27-46]	5
		Sea bass	2014	Control	17	[28-75]	4
	Impacted			17	[26-56]	5	
		Plaice	2013	Control	5	[36-52]	1
	Impacted			5	[33-45]	1	
			2014	Control	8	[36-75]	1
	Impacted			7	[31-76]	1	

### 3.3.5. Antioxidant defence capacity

Antioxidant defence implemented to counteract oxidative stress (Vinagre et al., 2014) involves several mechanisms with species-specific patterns of activation (Madeira et al., 2013). Fish total antioxidant defence capacity was assessed by measuring the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC; mM Trolox equivalent). TEAC measurements were performed using the Antioxidant Assay Kit (AA Kit) (Sigma-Aldrich® - St Louis, USA) and following the kit procedure. Analyses were performed on a 50 mg piece of dorsal white muscle diluted in 1 mL of 1x Assay buffer. In parallel, the protein concentration (mg of soluble protein.mL<sup>-1</sup>) was measured in accordance with the manufacturer's instructions using the Bicinchoninic Acid Protein Assay Kit with Bovine Serum Albumin as standard (Sigma-Aldrich® - St Louis, USA). Before measuring the protein concentration, the sample solutions used for the TEAC measurements were diluted 1 in 5 with the 1x Assay buffer of the AA Kit to be in the range of protein concentrations covered by this method of analysis. The compatibility between reagents of the two kits was ensured by Sigma-Aldrich® Company. Measurements of both TEAC and soluble proteins were performed with a spectrofluorimeter (SAFAS Flx-Xenius, Monaco).

The measured amounts of TEAC were proportional to the muscle soluble proteins released by fish muscle grinding and the TEAC results were thus expressed in mM Trolox equivalent/mg of soluble protein.

Triplicate measurements were performed for the two biochemical analyses, and antioxidant defence capacity was analysed based on the individual mean of the values.

For the antioxidant defence capacity, experimental studies have determined a turnover rate of one to a few hours for juvenile fish (Adams, 2002; Madeira et al., 2013).

### 3.3.6. Stable isotope analysis

Dorsal white muscle samples were freeze-dried, ground and encapsulated in tin cups to be analysed with a continuous-flow isotope-ratio mass spectrometer (Delta V Plus, Thermo Scientific) coupled to an elemental analyser (Flash 2000, Thermo Scientific). Two indices were derived from these analyses.

Firstly, the fish  $\delta^{13}\text{C}$  signature was used to examine the fish habitat fidelity (Vinagre et al., 2008). The  $\delta^{13}\text{C}$  signatures were expressed as isotope ratios relative to the international standard (*i.e.* VPDB: Vienna Pee Dee Belemnite; Peterson and Fry, 1987) using the following formula:

$$\delta^{13}\text{C} \text{ (in ‰)} = \left[ \frac{(^{13}\text{C}:^{12}\text{C}_{\text{sample}})}{(^{13}\text{C}:^{12}\text{C}_{\text{VPDB}})} - 1 \right] \times 10^3$$

Three characteristics of this marker make it useful for discriminating between the impacted and control sites: (i) the  $\delta^{13}\text{C}$  signature of an organism is related to the signature of its prey (DeNiro and Epstein, 1978). (ii) Terrestrial primary producers have lower  $\delta^{13}\text{C}$  than marine producers (Haines and Montague, 1979; Vinagre et al., 2008), so the  $\delta^{13}\text{C}$  of fish captured at the impacted site (in the same marine water mass but closer to river inputs) should be lower than those of fish at the control site (Kostecki et al., 2010). (iii) The presence of large amounts of green macroalgae influence the  $\delta^{13}\text{C}$  of particulate organic matter (POM) at the base of the food web and this modification of  $\delta^{13}\text{C}$  propagates along the food web, *i.e.* the invertebrate prey of juvenile fish have  $\delta^{13}\text{C}$  signatures that are approximately 1‰ higher at sites impacted by green tides than at control sites (Quillien et al., 2016).

Based on these three characteristics, the spatiotemporal patterns in fish  $\delta^{13}\text{C}$  could be used to trace fish habitats. The higher fish  $\delta^{13}\text{C}$  signature at the impacted than at the control site reveals an inversion of the natural upstream-downstream estuarine gradient (Kostecki et al., 2010). This inverse pattern could be attributed to the impact of green tides (Quillien et al., 2016) and reveals the fidelity of fish to the restricted area impacted by green tides.

The turnover rates of the  $\delta^{13}\text{C}$  signatures in the white muscle of juvenile fish, revealed by experimental and field studies, reach 3 weeks on average (Suzuki et al., 2005; Guelinckx et al., 2006, 2007; Vinagre et al., 2008) and 2 months for some species (Buchheister and Latour, 2010). Hence, as the  $\delta^{13}\text{C}$  signatures represent an integration of habitat use during a time period linked to the

turnover rate, changes in the kinetics of fish  $\delta^{13}\text{C}$  signatures were analysed according to habitat conditions at the same date but also for 2 earlier sampling dates (*i.e.* approximately 30 days earlier).

Secondly, the C:N ratio was assessed to estimate fish muscle lipid content (DeNiro and Epstein, 1977; Post et al., 2007; Logan et al., 2008). The C:N ratios were calculated using the following formula:

$$C:N_{\text{ratio}} = \frac{\% C}{\% N}$$

where  $\%C = \frac{^{13}\text{C}}{^{13}\text{C} + ^{12}\text{C}}$  and  $\%N = \frac{^{15}\text{N}}{^{15}\text{N} + ^{14}\text{N}}$ . C:N ratios are expressed as the mass ratio.

A preliminary delipidation was performed based on the protocol developed by (Chouvelon et al., 2014) to measure fish muscle basal signature (*i.e.* without lipid; Deudero et al., 2004). This analysis allowed us to validate the independence between fish length and fish basal signature for each species at the studied length range (Supp. Table 3.2). The fish total lipid content was analysed using the C:N ratios measured on non-delipidated muscle as a proxy.

The turnover rate of muscle total lipid for juvenile fish has been estimated to be less than a week (Gilliers et al., 2006).

### 3.3.7. Morphometric condition – *R relative morphometric condition*

R is a length-independent relative body condition index that examines the deviation of observed mass from predicted mass (using the log length-mass relationship). It is computed as follows (Fechhelm et al., 1995):

$$R = \log W - \log Wc$$

where  $W$  is the observed total body mass and  $Wc$  is the computed body mass derived from the log length-mass relationships. Log length-mass relationships were established by species for each studied year based on all the individuals caught (Supp. Table 3.3).

The R morphometric condition index was preferred to the widely used K Fulton's condition index as the linear relation between fish mass and the cube of its length assumed by K Fulton's index was not systematically verified for juvenile fish (Supp. Table 3.3 and Gilliers et al., 2006; Günther et al., 2012; Peck et al., 2015).

The time of response of the morphometric conditions to environmental and food conditions has been established in a range of one to two weeks by experimental starvation of juvenile fish (Selleslagh and Amara, 2013).

### 3.3.8. Daily growth rates (DGRs)

Prior to the use of otolith DGRs as a proxy for fish somatic growth, their daily deposition and the relation between otolith and somatic growth rates were verified for sprat (Baumann et al., 2006), sea bass (Regner and Dulčić, 1994; Aguilera et al., 2009) and plaice (Karakiri et al., 1989; Hovenkamp, 1990).

Left sagittae were extracted, cleaned and mounted on a microscope slide with Crystal Bond® thermoplastic glue, sulcus side up for sprat and sulcus side down for sea bass and plaice. They were polished on a sagittal plane until the readability of microincrements (when necessary, for large otoliths, both sides were polished) using a polishing pad (grit 2400) with distilled water. Photographs were taken under microscope using multiple magnifications (40x and 100x) with a Zeiss Axiocam ERC 5s® digital camera and ZEN 2012 (blue edition)® software (Carl Zeiss Microscopy GmbH). Photographs were compiled and counts of daily increments were performed randomly three times each by at least two independent observers. Counts of daily increments were made from the first to the last increment deposited at the outer edge of the otolith. The coefficient of variation (CV) of the counts was calculated for each otolith to quantify inconsistencies between readers (Campana, 2001). When this CV was greater than 7%, otoliths were excluded from the analysis (Campana, 2001). According to this selection, 10 otoliths of sprat, 2 otoliths of sea bass and 1 otolith of plaice were excluded from the analysis. When the CV was less than 7%, we used the mean of the three readings as an estimation of fish age. The estimated age and the date of fish capture were then used to back-calculate the date of the first increment deposition for each individual.

For each species, individuals were grouped by cohort based on the date of deposition of the first increment (Reglero et al., 2007). This grouping was performed to identify fish that originated from the same pool of fish larvae supply (Cowen et al., 2000, 2006; Rochette et al., 2012) and that experienced comparable environmental conditions throughout their development. Each cohort pooled a minimum of 3 individuals at each site. Within the same cohort, individuals had their first increment dates within one month.

To study the juvenile phase, the age and the date of fish settlement in coastal nurseries were acquired by counts from otolith post-larval settlement marks. These marks are delineated by the

initiation of the last accessory growth centre for sea bass and plaice at the end of metamorphosis (Regner and Dulčić, 1994; Modin et al., 1996) and by the peak of microincrement width for sprat (Günther et al., 2012).

For each otolith, DGRs (in  $\mu\text{m.d}^{-1}$ ) were measured on a 5 increments interval basis (*i.e.* mean DGRs recorded over 5 days), once from the first increment and once from the settlement mark. These measurements were performed along the nucleus-post-rostrum axis for sprat and plaice and along the nucleus-dorsal axis for sea bass using ImageJ® software. Each measured DGR was associated with a fish (belonging to one cohort at one site) and with the starting date of a 5 day period.

Measurements from the first increment were plotted to visualise the DGRs of each cohort between sites from birth to capture. Then, for each of the three species, patterns of juvenile growth from the earliest date of settlement to the latest date of capture of the fish composing each cohort were statistically compared among sites. To compare intra-cohort DGRs between sites during juvenile growth, the period was split into 10-day sections, starting from the first day of the delineated juvenile period (*i.e.* the cohort settlement). This time step of 10 days fits the range of otolith integration during habitat condition modification (Baumann et al., 2005) and enables the analysis of pooled DGRs according to the intensities of green macroalgae recorded in surveys, with a 2 week time step.

These 10-day sections were further considered as the factor “date” for the DGRs analysis. With regard to green tides, three situations existed for each 10-day section, *i.e.* *Before*, *During* and *After* green tides. Each “date” was thus associated with one green-tide-related situation and considered as a categorical factor.

The time of response of the daily growth rate to environmental and food conditions has been established by experimental starvation of juvenile fish to be less than a week (Selleslagh and Amara, 2013; Peck et al., 2015).

### 3.3.9. Statistical analyses

All the statistical analyses were performed using R version 3 (R Development Core Team, 2012), and significance was determined at the  $\alpha = 0.05$  level. The normality of the data distribution and the homoscedasticity of the variance were tested using the Shapiro-Wilk and Bartlett tests, respectively. The results were non-significant, which indicated that parametric statistical tests could be performed.



### **TEAC, $\delta^{13}\text{C}$ signature, C:N ratio and R morphometric condition**

Linear models were used to test the influence of fish length on the TEAC,  $\delta^{13}\text{C}$  signature, C:N ratio and R morphometric condition. For all the studied species, fish length did not influence the indices at the selected length range. Therefore, statistical analyses were performed without preliminary correction.

For each species and each year, potential differences between the control and impacted sites at the selected sample dates were examined. We applied one-way ANOVA when indices were assessed on a single date and two-way ANOVA when several dates were used (Table 3.1).

### **Daily Growth Rates**

For each cohort identified, each green tide period experienced throughout the juvenile stage (*i.e.* before, during and after proliferation) was considered. Potential differences in fish DGRs between the control and impacted sites were examined by one-way ANOVA when the DGR was assessed on a single date and by two-way ANOVA when several dates were assessed.

## **3.4. Results**

### **3.4.2. Environmental conditions**

#### **Physico-chemical variables**

During each studied year, the seasonal cycles of salinity, pH and temperature did not vary between the control and impacted sites. This similarity across sites was validated by the daily variations during the 24 h survey. However, the temperature range varied between years, *i.e.* between 8 °C and 22 °C in 2013 and 11 °C and 21 °C in 2014.

Apart from mid-June to mid-July 2013, when oxygen supersaturation ( $\geq 10 \text{ mg.L}^{-1}$ ) was measured at the impacted site under high densities of *Ulva* spp., the daytime mean dissolved oxygen concentrations did not differ between sites (seasonal range from 7 to 10  $\text{mg.L}^{-1}$ ). However, when measured throughout a 24 h cycle at a medium density of green macroalgae, the daily range had a larger amplitude at the impacted site, from 7 to 16  $\text{mg.L}^{-1}$  (reaching oxygen supersaturation), than simultaneously recorded at the control site, 7 to 9  $\text{mg.L}^{-1}$ .

### Macroalgal cycles

At the impacted site, green tides lasted (Fig 3.2) from early June to early September in 2013 (average:  $0.3 \text{ kg}_{\text{wwt}} \cdot \text{m}^{-2}$ ; maximum:  $0.6 \text{ kg}_{\text{wwt}} \cdot \text{m}^{-2}$  in July) and from the end of May to the end of September in 2014 (average:  $0.1 \text{ kg}_{\text{wwt}} \cdot \text{m}^{-2}$ ; two maxima:  $0.26 \text{ kg}_{\text{wwt}} \cdot \text{m}^{-2}$  in June and  $0.3 \text{ kg}_{\text{wwt}} \cdot \text{m}^{-2}$  in September). The green tides could be defined as medium in 2013 and low in 2014 with respect to the *Ulva* spp. proliferation in this sandy beach area (Le Luherne et al., 2016). Other than these green macroalgae proliferations, no submerged aquatic vegetation was encountered in significant density at the impacted site nor at the control site (Le Luherne et al., 2016).

The annual cycle of green macroalgae proliferation allowed for the delineation of three periods according to the presence of *Ulva* spp. at the impacted site: *Before*, *During* and *After* proliferation (Fig 3.2). The period of maximum green macroalgae density, from mid-June to mid-July 2013, with densities greater than  $0.35 \text{ kg}_{\text{wwt}} \cdot \text{m}^{-2}$ , was considered as an additional “*Max*” stage (Fig 3.2).

In the following, the densities of green macroalgae during proliferation were characterised as low: below  $0.2 \text{ kg}_{\text{wwt}} \cdot \text{m}^{-2}$ , medium: between  $0.2$  and  $0.35 \text{ kg}_{\text{wwt}} \cdot \text{m}^{-2}$ , and high: greater than  $0.35 \text{ kg}_{\text{wwt}} \cdot \text{m}^{-2}$ .

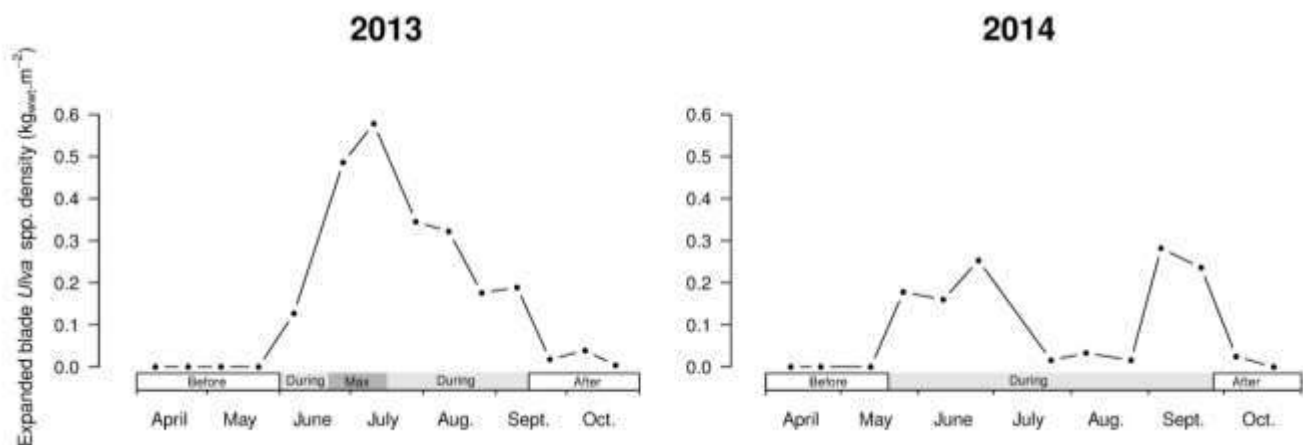


Figure 3.2 - *Ulva* spp. densities (in wet weight  $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$ ) at the impacted site during the sampling period in 2013 and 2014. On each graph, the periods of the green tide are marked on the x-axis: *Before*, *During* and *After*. A *Max* period was added to the 2013 proliferation to underline the high peak of the green tide.

### 3.4.3 Habitat signature – $\delta^{13}\text{C}$

In 2013, the  $\delta^{13}\text{C}$  signatures of plaice were higher at the impacted site, but the  $\delta^{13}\text{C}$  signatures of sprat were not significantly different between sites (Fig 3.3 and Table 3.2). In 2014, the  $\delta^{13}\text{C}$  signatures of sprat, sea bass and plaice were significantly higher at the impacted site (Fig 3.3 and Table 3.2).

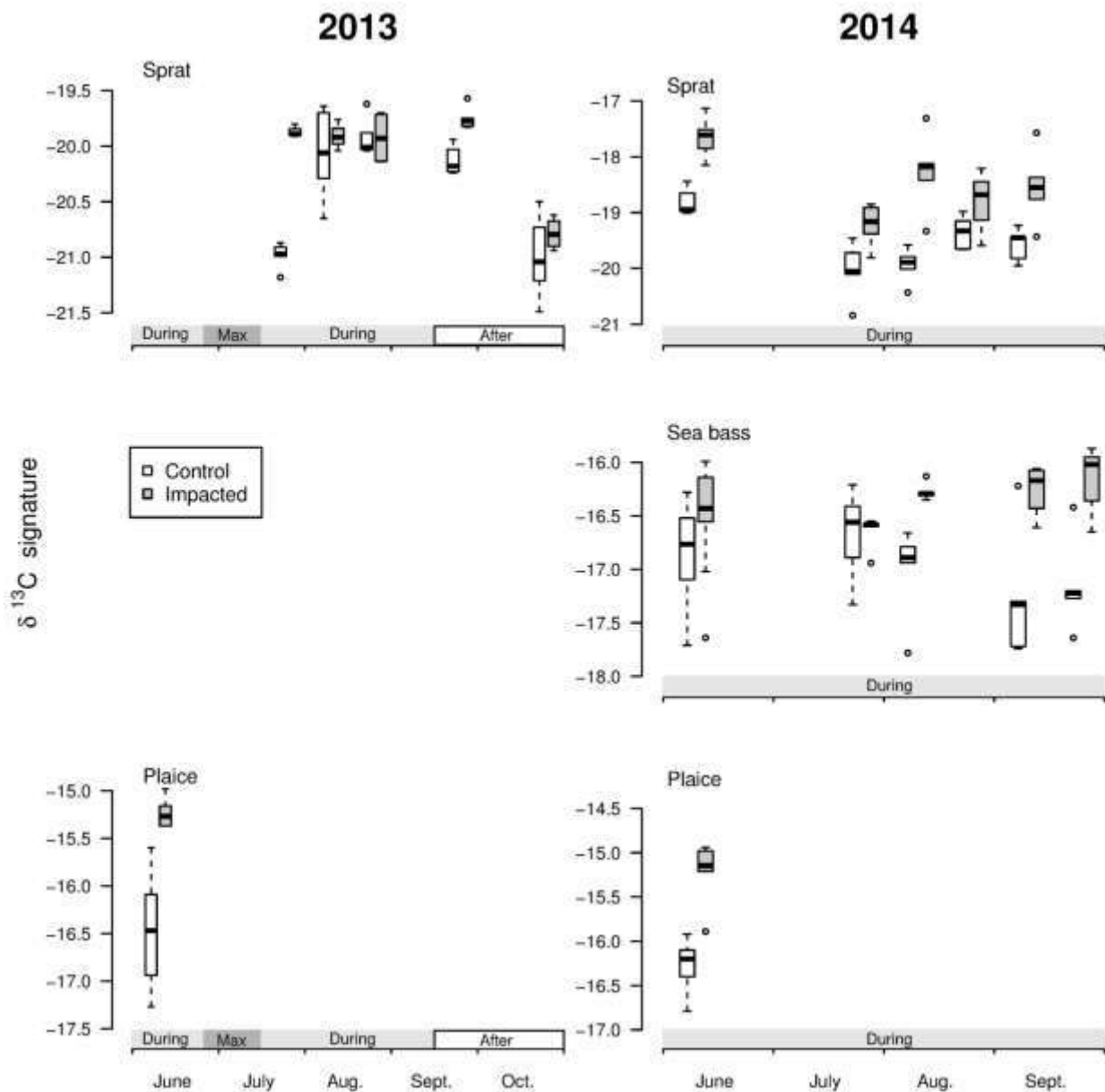


Figure 3.3 -  $\delta^{13}\text{C}$  signatures (in ‰) for sprat (*S. sprattus*), sea bass (*D. labrax*) and plaice (*P. platessa*) at the control and impacted sites for the selected dates in 2013 and 2014. On each graph, the periods of the green tide are marked on the x-axis (see Fig 3.2).

Table 3.2 - Statistical results ( $p$  values: '\*\*\*\*' <0.001; '\*\*\*' <0.01; '\*\*' <0.05) of the  $\delta^{13}\text{C}$  signature, TEAC, C:N ratio and R morphometric condition analyses for sprat (*S. sprattus*), sea bass (*D. labrax*) and plaice (*P. platessa*) in 2013 and 2014. ANOVA type: one-way ANOVA when indices were assessed on a single date and two-way ANOVA when several dates were analysed (factors "site", "date" and their interaction "site:date"). When an index response was significantly influenced by the factor "site", a comparison between the control (C) and impacted (I) sites was added.

Type of analysis	Species	Year	ANOVA type	Site	Date	Interaction
$\delta^{13}\text{C}$ signature	Sprat	2013	two-way	<0.001 *** C < I	<0.001 ***	<0.001 ***
		2014	two-way	<0.001 *** C < I	<0.001 ***	0.146
	Sea bass	2014	two-way	<0.001 *** C < I	0.885	0.121
	Plaice	2013	one-way	0.003 ** C < I		
		2014	one-way	<0.001 *** C < I		
TEAC	Sprat	2013	one-way	0.328		
		2014	one-way	0.508		
	Sea bass	2014	one-way	0.301		
	Plaice	2014	one-way	0.001** C < I		
C:N ratio	Sprat	2013	two-way	0.504	<0.001 ***	0.024 *
		2014	two-way	0.016 * C > I	0.167 *	0.337
	Sea bass	2014	two-way	0.361	0.919	0.496
	Plaice	2013	one-way	0.050		
		2014	one-way	0.448		
R morphometric condition	Sprat	2013	two-way	0.346	<0.001 ***	0.005 **
		2014	two-way	0.225	<0.001 ***	<0.001 ***
	Sea bass	2014	two-way	<0.001 *** C < I	<0.001 ***	<0.001 ***
	Plaice	2013	one-way	0.332		
		2014	one-way	<0.001 *** C < I		

### 3.4.4 Fish physiological responses to green tides

#### Fish instantaneous response – *Antioxidant defence capacity*

Fish TEAC was examined each year at a medium density of *Ulva* spp. on 29 July 2013 and 6 June 2014 (Fig 3.2 and Supp. Figure 3.1). For sprat and sea bass, no difference in antioxidant defence capacity was recorded between sites (Table 3.2). Conversely, on 6 June 2014, the antioxidant defence capacity of juvenile plaice at the impacted site was significantly higher than at the control site (Table 3.2 and Supp. Figure 3.1).

### **Short-term response – Total lipid**

Regardless of species, muscle total lipid measured using the C:N ratios did not differ between sites, except for sprat in 2014 (Table 3.2 and Supp. Figure 3.2). In 2013, the C:N ratios of sprat increased at both sites from the end of July to the end of August, while in 2014, this increase only occurred at the control site. The C:N ratios of sprat remained stable and thus lower at the impacted site than at the control site in 2014.

### **Mid-term response – Morphometric condition**

For the three species, significant inter-individual morphometric condition variability was found at both the control and impacted site during the two studied annual cycles (Supp. Figure 3.3).

Fish condition did not differ between sites in 2013. In 2014, at the beginning of the green tide, *i.e.* at a low density of green macroalgae, plaice were in better condition at the impacted site (Table 3.2 and Supp. Figure 3.3). For sprat and sea bass, a similar pattern was observed in 2014 during early green tide proliferation in spring, but it did not persist in summer (Supp. Figure 3.3). For each studied year, no significant pattern in fish condition was revealed for these two species (Table 3.2).

### **Response throughout the juvenile period – Daily growth rate**

In 2013, no fish were present at the impacted site during the maximum of the green tide from mid-June to mid-July (period *Max* in Fig 3.2; Le Luherne et al., 2016). The back-calculated DGRs during this period were thus excluded from the analysis.

For sprat, three cohorts were identified in 2013 and four in 2014. These cohorts settled throughout the green macroalgae proliferation period, from June until September (Fig 3.4). The DGRs of sprat did not differ between sites in 2013 nor in 2014, except for cohort 2 in 2014. For this cohort, which settled in sandy beaches at medium densities of green macroalgae in early July (*i.e.* just after the first maximum of *Ulva* spp. density), the DGRs were significantly lower at the impacted site than at the control site (Fig 3.4 and Table 3.3).

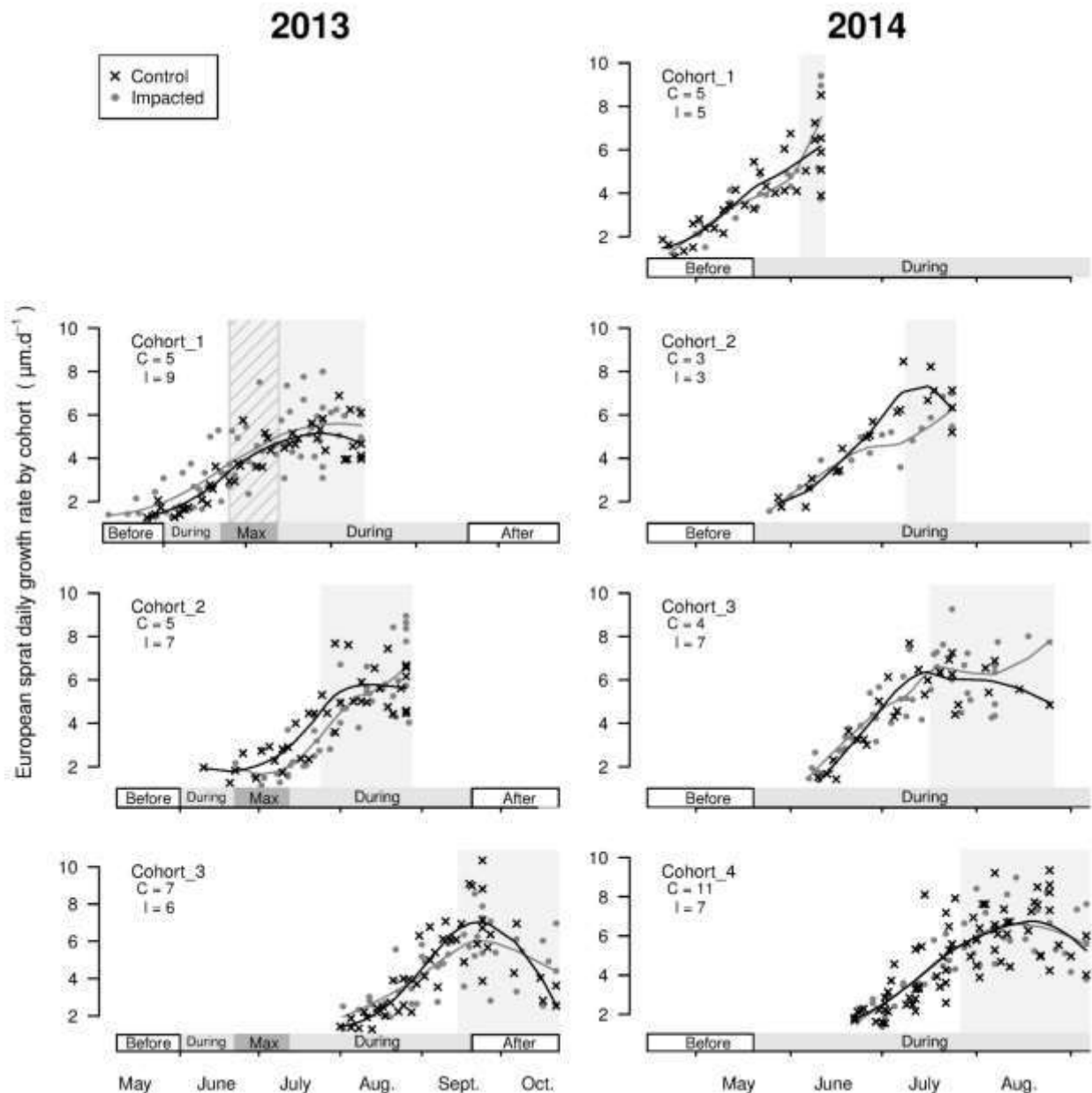


Figure 3.4 - Otolith daily growth rate ( $\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ ) of juvenile sprat (*S. sprattus*) at the control and impacted sites for each cohort in 2013 and 2014, represented by a 10-day interval. Lines: associated local polynomial regression fitting (span = 0.7) of the cohort DGRs by site. On each graph, the periods of the green tide are marked on the x-axis (see Fig 3.2). Grey backgrounds: the juvenile period of the cohort (*i.e.* from settlement until capture). Hatched background: period during which no fish were captured at the impacted site (DGRs of this period were excluded from the growth rate analysis). The cohort name and number of fish analysed at the control (C) and impacted (I) sites are reported on the upper left part of each graphic.

Only one cohort of sea bass was identified in 2014. The cohort settled at the end of June at medium densities of green macroalgae (*i.e.* during the first maximum of *Ulva* spp. density in 2014). The DGRs of sea bass were significantly lower at the impacted site than at the control site (Fig 3.5 and Table 3.3).

For plaice, one cohort in 2013 and two in 2014 were identified. These three cohorts settled at least one month before the beginning of the green tides (Fig 3.6), which enabled the analysis of two periods of growth for plaice: *before* and *during* green tides (Table 3.3). Before green tides, the DGRs of juvenile plaice did not differ between sites for the cohort established in 2013 nor for cohort 1 in 2014. However, cohort 2 in 2014, which settled in late April, had significantly higher DGRs at the impacted site before green tides. At the onset of macroalgal proliferation, the plaice DGRs were significantly lower at the impacted site than at the control site for the cohort in 2013 and for cohort 1 in 2014. However, the plaice DGRs of cohort 2 in 2014 were still significantly higher at the impacted site from the onset of green tides onwards (Fig 3.6 and Table 3.3).

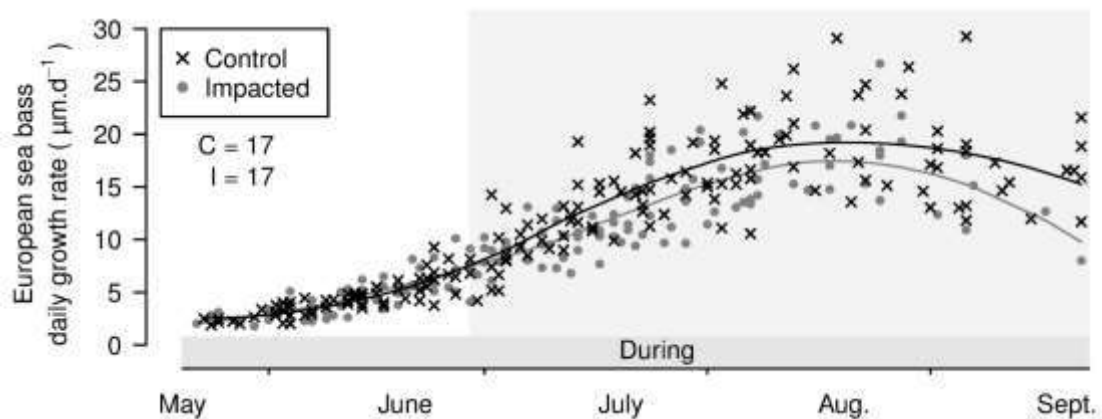


Figure 3.5 - Otolith daily growth rate ( $\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ ) of juvenile sea bass (*D. labrax*) at the control and impacted sites in 2014, represented by a 10-day interval. Lines: associated local polynomial regression fitting (span = 0.7) of the cohort DGRs by site. On each graph, the periods of the green tide are marked on the x-axis (see Fig 3.2). Grey backgrounds: the juvenile period of the cohort (*i.e.* from settlement until capture). The number of fish analysed at the control (C) and impacted (I) sites is reported on the upper left part of the graphic.

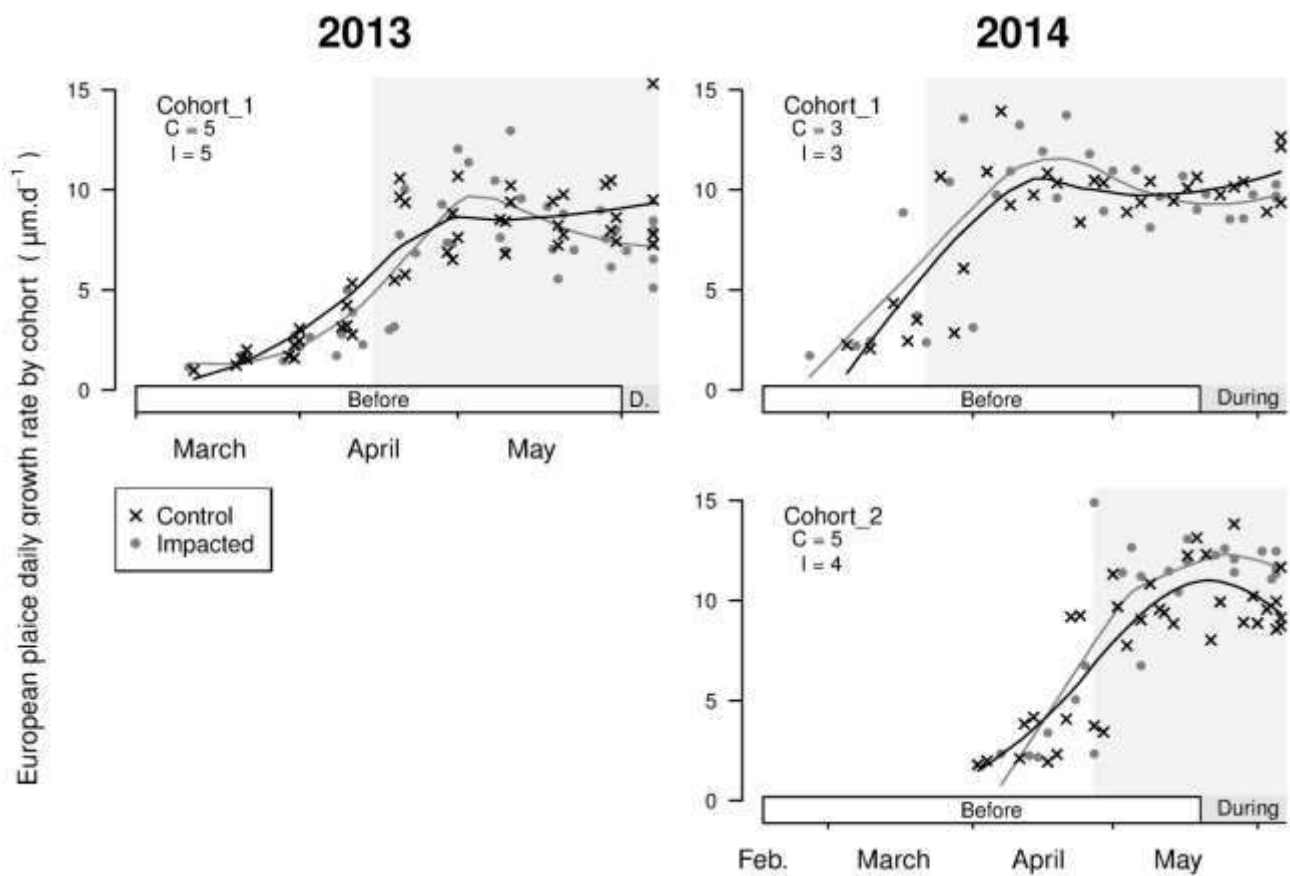


Figure 3.6 - Otolith daily growth rate ( $\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ ) for juvenile plaice (*P. platessa*) at the control and impacted sites for each cohort in 2013 and 2014, represented by a 10-day interval. Lines: associated local polynomial regression fitting (span = 0.7) of the cohort DGRs by site. On each graph, the periods of the green tide are marked on the x-axis (see Fig 3.2). Grey backgrounds: the juvenile period of the cohort (*i.e.* from settlement until capture). The cohort name and number of fish analysed at the control (C) and impacted (I) sites are reported on the upper left part of each graphic.



Table 3.3 - ANOVA results ( $p$  values: '\*\*\*\*' <0.001; '\*\*\*' <0.01; '\*\*' <0.05) of the juvenile daily growth rate analysis for sprat (*S. sprattus*), sea bass (*D. labrax*) and plaice (*P. platessa*) in 2013 and 2014. Green tide period: period of the green tide cycle at the impacted site (see Fig 3.2). Cohorts: group of fish according to their date of first increment (see Figs 4-6). ANOVA type: one-way ANOVA when indices were assessed on a single date and two-way ANOVA when several dates were analysed (factors "site", "date" and their interaction "site:date"). When the daily growth rate was significantly influenced by the factor "site", a comparison between control (C) and impacted (I) sites was added.

Species	Year	Cohort	Green tide period	ANOVA type	Site	Date	Interaction
Sprat	2013	Cohort_1	<i>During</i>	two-way	0.176	0.997	0.966
		Cohort_2	<i>During</i>	two-way	0.539	0.558	0.887
		Cohort_3	<i>During</i>	two-way	0.089	0.075	0.723
			<i>After</i>	two-way	0.799	0.001 **	0.062
	2014	Cohort_1	<i>During</i>	one-way	0.186		
		Cohort_2	<i>During</i>	two-way	<b>0.010</b> * C > I	0.512	0.019 *
		Cohort_3	<i>During</i>	two-way	0.160	0.119	0.052
		Cohort_4	<i>During</i>	two-way	0.520	0.017 *	0.500
Sea bass	2014	Cohort_1	<i>During</i>	two-way	<b>&lt;0.001</b> *** C > I	<b>&lt;0.001</b> ***	0.971
Plaice	2013	Cohort_1	<i>Before</i>	two-way	0.845	0.814	0.497
			<i>During</i>	one-way	<b>0.009</b> ** C > I		
	2014	Cohort_1	<i>Before</i>	two-way	0.165	0.295	0.630
			<i>During</i>	two-way	<b>0.05</b> * C > I	0.472	0.45
		Cohort_2	<i>Before</i>	two-way	<b>0.006</b> ** C < I	0.1	0.257
			<i>During</i>	two-way	<b>0.018</b> * C < I	0.222	0.607

### 3.5 Discussion

Under stressful conditions, juvenile fish implement biochemical, physiological and behavioural coping responses. These aim to first accommodate the disturbance and maintain fish homeostasis and then to limit their exposure to perturbation when conditions become detrimental (Adams, 2002).

Here, the responses of juvenile fish to green tides have been analysed on different integrative scales on three fish species, for both control and impacted sandy beaches. Considering the responses of all the studied behavioural and physiological indices, a predominant negative influence of green tides on juvenile fish is underlined, with species-specific sensitivity to the perturbed conditions. A decreasing gradient of sensitivity to green tides is highlighted from benthic species, the first and most deeply affected, to demersal and pelagic fish species, which are less affected. Fish responses are increasingly integrative with the rise of green macroalgae density, from the implementation of an instantaneous

behavioural response when environmental conditions are perceived as a perturbation, to adjustments in growth and total lipids, and finally their disappearance from the impacted site.

### 3.5.1 Fish responses to green tides: Moving, dying or coping with local perturbations

#### 3.5.1.1 Habitat selection

When changes in habitat suitability are induced by green tides, fish can (i) die, (ii) emigrate (Pihl et al., 2005), both resulting in a decrease in fish density (Le Luherne et al., 2016), or (iii) remain in the disturbed habitat. This habitat selection was examined using the fish species catch records during the standardised sampling survey (Supp. Table 3.1; Le Luherne et al., 2016) and the fish habitat signatures from  $\delta^{13}\text{C}$ . The habitat selection of each species is strongly influenced by the density of green macroalgae:

At low densities of green macroalgae (*i.e.* at the beginning of green tides), juveniles of the three studied species were captured at both sites. For each species, the  $\delta^{13}\text{C}$  signatures supported their site fidelity (*i.e.* higher signatures at the impacted site; see the methods section). Patchy covers of macroalgae at low densities for restricted periods of time thus have no noticeable negative impact on the habitat selection of juvenile fish (Robertson and Lenanton, 1984; Le Luherne et al., 2016).

When medium densities of green macroalgae were reached, plaice disappeared from the impacted site, whereas they were still captured at the control site. Only one plaice was captured each year in September during the decrease in green macroalgae density. The disappearance of a fish species in the catches records could be considered a result of avoidance behaviour (Little, 2002) and/or local mortality at the impacted site. Even if plaice could avoid vegetated or clogged substrates when alternative substrates are locally available (Wennhage and Pihl, 1994, 2007; Carl et al., 2008), both its weak capacity to migrate (Burrows et al., 2004) and the drastic reduction of its abundance at the impacted site suggest plaice mortality within areas impacted by green tides (Pihl et al., 2005). In contrast, at medium densities of green macroalgae, sprat and sea bass were captured at each site during both years. When medium densities of green macroalgae were maintained over the seasonal proliferation, as in 2014, their habitat signatures remained different between sites throughout the surveyed period. This underlined the fidelity of these species to their site of capture and its vicinity.

When high densities of green macroalgae were reached, sprat and sea bass were not captured at the impacted site. The great mobility of sprat (Guelinckx et al., 2007) and sea bass (Leahey et al., 2009) could have allowed them to escape from the disturbed area during massive proliferations.

Furthermore, in 2013, at medium densities of green macroalgae following the high densities, the habitat signatures of sprat were similar across the control and impacted sites. This similarity indicates that juveniles of sprat were not resident at the impacted site during the maximum proliferation but immigrated recently. At the same time, sea bass were also captured at the impacted site but in too low of densities to allow the analysis of its habitat signature. This suggests that highly mobile species had returned to the impacted site after a significant decrease in green macroalgae density.

Hence, both the green macroalgae density and the fish species capacity to move and to tolerate environmental pressures are driving factors of fish species habitat selection and fidelity. Here, sprat and sea bass implemented emigration, while mortality was the most probable scenario for plaice within the bay (Wennhage and Pihl, 1994; Pihl et al., 2005).

### 3.5.1.2 Physiological responses of juvenile fish

Under stressful conditions, and before their disappearance from a perturbed habitat, juvenile fish implement physiological responses to accommodate the disturbance and to maintain homeostasis (Barton et al., 2002). These responses were analysed on different integrative and temporal scales for individuals living at both the control and impacted sandy beaches during green tides. The interpretation of these indices according to habitat conditions (Suthers, 1998) requires consideration of their turnover rates (see methods section; Table 3.1). All the turnover rates were lower than the sampling time step of two weeks implemented in this study. Therefore, the results of these indices were examined according to the simultaneously monitored environmental variables.

#### ***Fish instantaneous responses***

TEAC analysis under a medium density of *Ulva* species at the beginning of proliferation highlighted an increase in fish antioxidant defence capacity for plaice. This increase in physiological defence reflects their perception of non-suitable conditions (Adams, 2002). The accumulation of both fresh and senescent free-floating green macroalgae on the sea bottom (Solidoro et al., 1997) modifies the conditions of the benthic habitat (Johnson and Welsh, 1985; Wetzel et al., 2002; Engström-Öst and Isaksson, 2006) as soon as *Ulva* species proliferate at medium density. This, combined with the behaviour and weak mobility of juvenile plaice (Burrows et al., 2004; Le Pape and Cogné, 2016), may explain the early impact of green tides on the benthic plaice and the lack of signal recorded for the demersal sea bass and the pelagic sprat.

### **Fish short-term and mid-term responses**

Fish responses on a more integrative biological scale were assessed by examination of their muscle total lipid, morphometric condition and growth rate, which are widely used to assess individual fish responses to specific and multiple environmental perturbations. These physiological indices are proxies of fish nutritional and energetic status (Barton et al., 2002; Minier et al., 2015).

An increase in muscle total lipid was observed for sprat from the end of July to the end of August at both sites in 2013 and only at the control site in 2014. This pattern could be explained by the increase of structural and storage lipids in fish muscle during favourable environmental conditions in summer (Post and Parkinson, 2001; Lloret et al., 2014). In contrast, this increase in muscle total lipids was not observed for sprat at the impacted site under medium densities of green macroalgae in 2014. This difference in response of sprat between years could be attributed to its habitat fidelity to the impacted site under medium densities of green macroalgae in 2014 and not in 2013.

During periods of stress and starvation, muscle total lipid could be modified for each of the studied species (Johnston, 1981; Alliot et al., 1984; Håkanson et al., 1994). However, the main lipid storage is in the liver for plaice and sea bass and it is less important in the white muscle for these species than for sprat (Thillart et al., 2002; Lloret et al., 2014). These species differences in main lipid storage localisation are a possible cause of the absence of a response of plaice and sea bass muscle total lipid content to the perturbed habitat conditions.

Somatic fish health status was analysed using the R morphometric condition index. Compared to the control site, better body conditions were observed for all fish species at the impacted site under a low density of green macroalgae in 2014. This positive influence of low patchy green macroalgae proliferation might be explained by the local increase in new shelter and food resources (Sogard and Able, 1991; Stoner et al., 2001; Kamimura and Shoji, 2013). Later in the proliferation of green macroalgae, no clear trend of beneficial or detrimental effects of green tides on fish conditions was observed. The high inter-individual variability of each species may have hidden the differences in individual fish conditions between sites. Moreover, the disappearance of fish species from the impacted site under high densities of green macroalgae in 2013 might have occurred before the slow integration of a response to morphometric conditions, resulting in undetectable responses compared to daily growth and lipid indices.

The otoliths DGRs were examined to assess the individual history of juvenile fish. According to species-specific spawning season, the fish settled in intertidal areas at different periods of the green tide seasonal cycle. Sprat and sea bass settled at the studied sites during green tides. When

settlement occurred at a medium density of green macroalgae, there was a negative influence of the green tides on the otolith growth rates of the settlers. Plaice settled at the sandy beaches before macroalgal blooms. At the beginning of the green tides, lower growth rates were recorded at the impacted site for the largest individuals but not for the smallest ones. These size-related differences in plaice response suggest a weaker influence of macroalgae on smaller individuals (Nordström and Booth, 2007). Alternatively, this differential response could arise from an estimation bias linked to differential mortality upon size in this species. A disproportionate mortality rate towards the smallest plaice caused by perturbed habitat conditions could lead to an overestimation of the growth rate of the younger individuals, selecting only faster growing individuals as survivors (Le Pape and Bonhommeau, 2015).

For the studied species, the decrease in muscle total lipid and fish growth rate in response to disturbed habitat conditions at medium density of green tides could be attributed to the reduction of both the feed intake and allocation of energy to growth and storage (Johnson and Welsh, 1985; Petersen and Pihl, 1995; Pihl et al., 2005; Wang et al., 2011; Miller Neilan and Rose, 2014).

### 3.5.2 Conclusion

Green tides affect fish habitat suitability through complex changes in biotic and abiotic conditions (Raffaelli et al., 1998), including (i) changes in habitat structure of both the sea bottom and the water column (Isaksson and Pihl, 1992), (ii) changes in both the concentration and the daily amplitude of dissolved oxygen and the release of toxic substances (e.g., allelopathic substances and dimethyl sulphide) by fresh and senescent macroalgae, as well as by their bacterial flora (Johnson and Welsh, 1985; Sogard and Able, 1991; Wetzel et al., 2002; Harder et al., 2004), and (iii) modifications in trophic conditions (e.g., density of available prey; (Hull, 1987; Pihl et al., 1995; Quillien et al., 2015, 2016) as a result of (i) and (ii). These changes in habitat conditions and their interactions (Johnson and Welsh, 1985; Engström-Öst and Isaksson, 2006; Nordström and Booth, 2007) affect the individual performance of juvenile fish and their habitat selection.

Fish responses to these modifications are characterised by an instantaneous response when environmental conditions are perceived as a perturbation, followed by adjustments to individual fish performance (Barton et al., 2002), especially fish lipids and growth, the two primary mechanisms of energy allocation of juvenile fish (Post and Parkinson, 2001). Under long-lasting and/or increasingly perturbed conditions, juvenile fish may implement avoidance behaviour (Little, 2002), as observed for sprat, and/or a massive local increase in mortality, as suggested for plaice.

According to species-specific tolerance, the capacity to move and the distribution in the water column, these responses are implemented at different densities of green macroalgae. These differences in response reveal a gradient of sensitivity to green tides from benthic species to demersal and pelagic fish species.

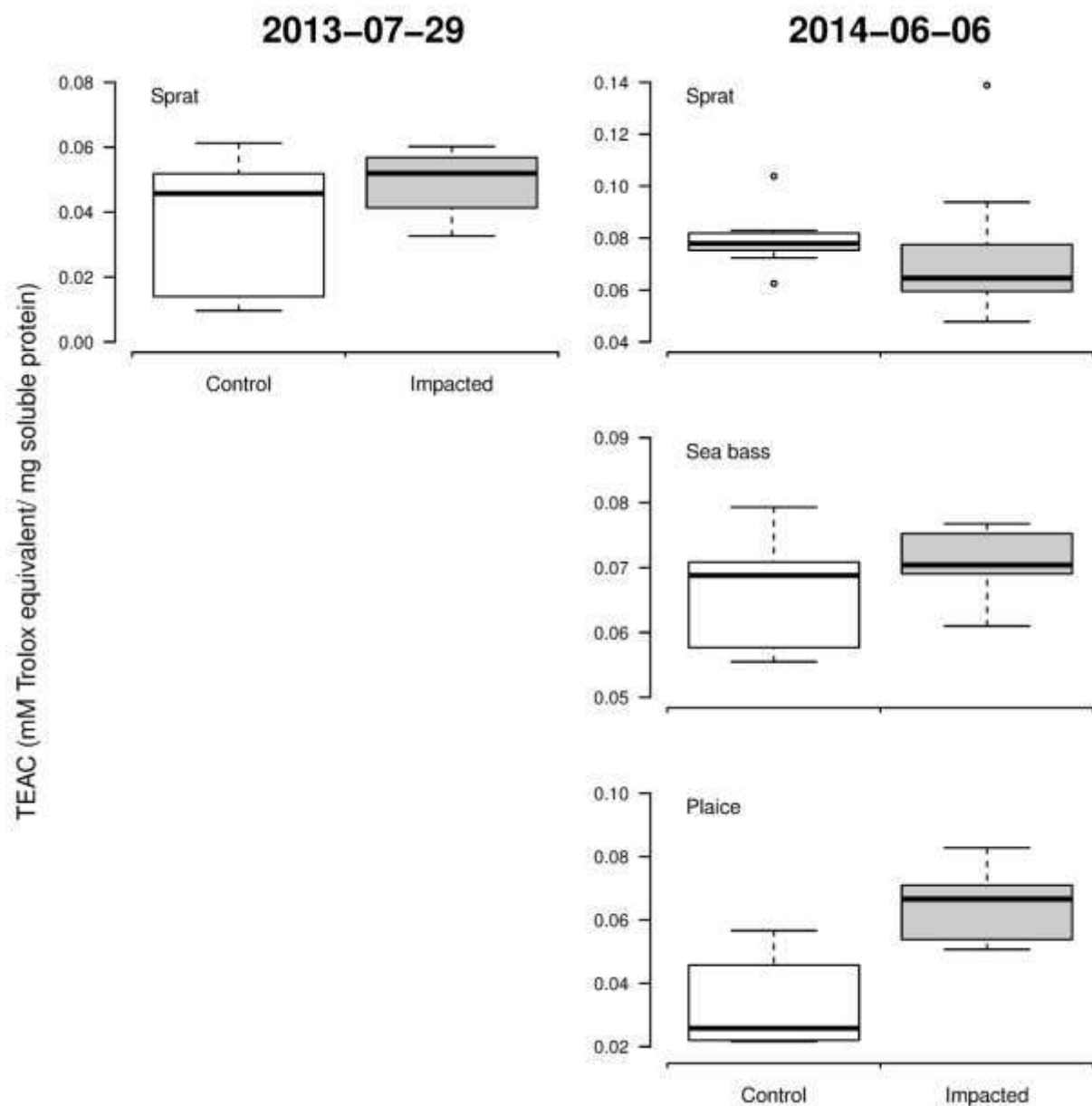
In light of fish species responses during green tides, habitats impacted by this perturbation are less suitable nursery grounds and become entirely unsuitable during massive proliferation (Le Luherne et al., 2016). This raises questions regarding the quantification of the effects of green tides on fish recruitment on the scale of their proliferation area.

### **3.6 Acknowledgements**

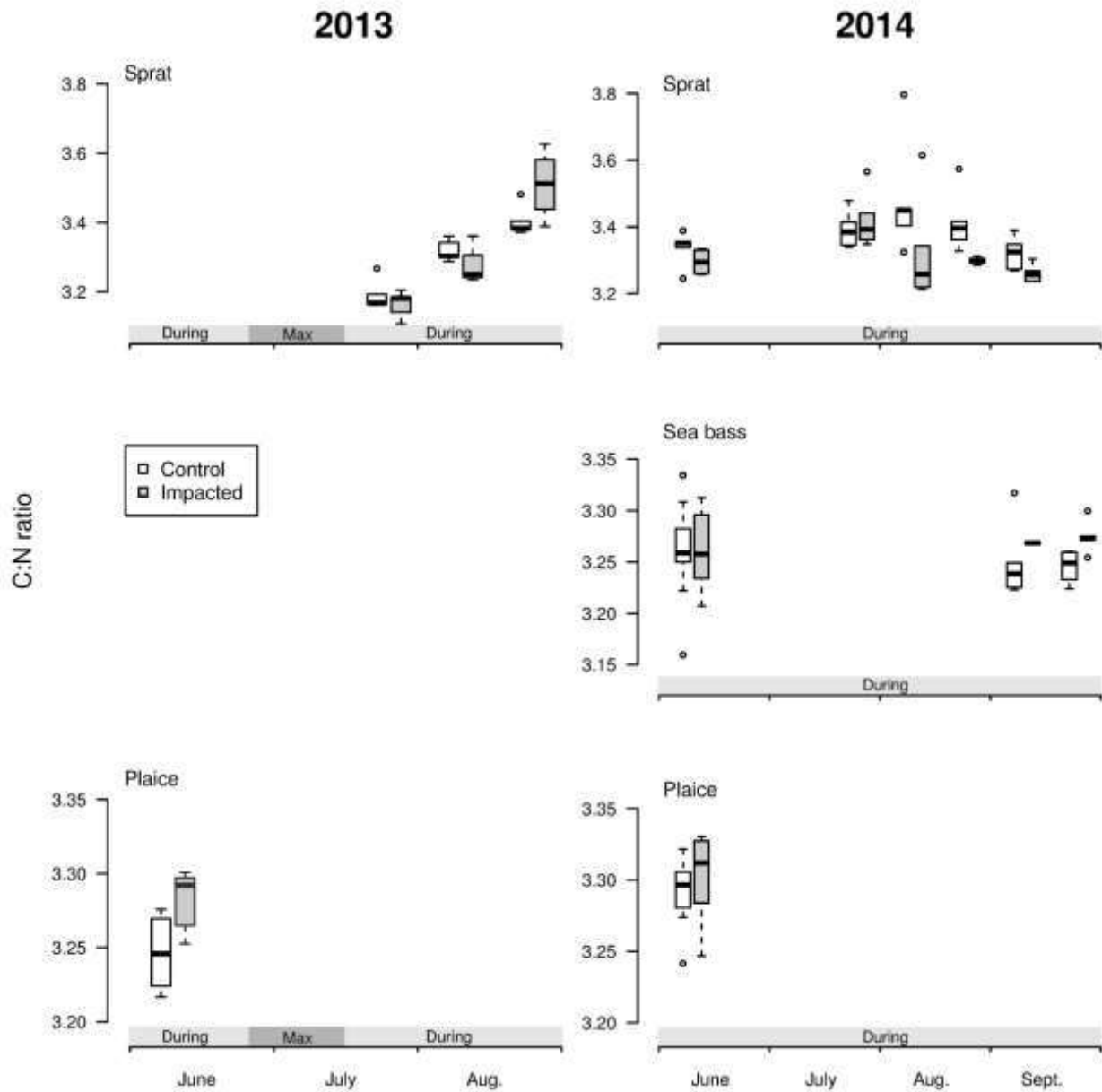
The authors would like to thank the team of the National Nature Reserve of Saint-Brieuc, our laboratory colleagues and trainees who helped us with the fieldwork, along with the UMR LIENSs for providing the biochemical analysis facilities. We finally thank Nolwenn Quillien and Jacques Grall (IUEM, France) and the two reviewers of this manuscript for their constructive reviews that improved the manuscript.

This work was supported by (all French) the fisheries organisation France Filière Pêche, the Loire-Bretagne Water Agency and the Normand-Breton Marine Natural Park Review Study Group (French agency for marine protected areas). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

### 3.7 Supplementary material

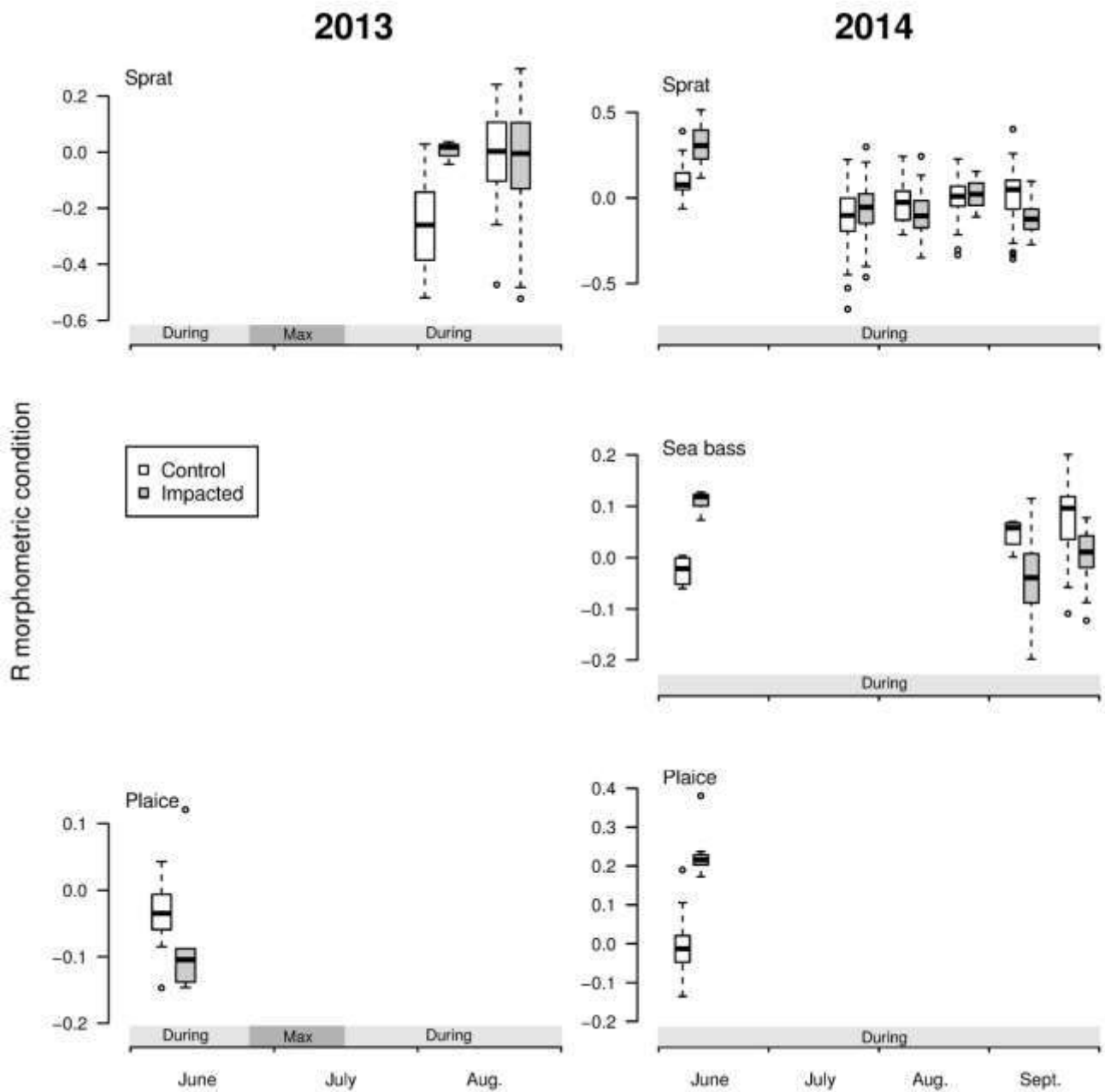


Supplementary Figure 3.1 - Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC; in mM Trolox equivalent/mg of soluble protein) for sprat (*S. sprattus*), sea bass (*D. labrax*) and plaice (*P. platessa*) at the control and impacted sites on 2013-07-29 and 2014-06-06.



Supplementary Figure 3.2 - C:N ratio for sprat (*S. sprattus*), sea bass (*D. labrax*) and plaice (*P. platessa*) at the control and impacted sites for the selected dates in 2013 and 2014. On each graph, the periods of the green tide are marked on the x-axis (see Fig 3.2).





Supplementary Figure 3.3 - R morphometric conditions for sprat (*S. sprattus*), sea bass (*D. labrax*) and plaice (*P. platessa*) at the control and impacted sites for the selected dates in 2013 and 2014. On each graph, the periods of the green tide are marked on the x-axis (see Fig 3.2).

Supplementary Table 3.1 - Total catches (number of individuals) for sprat (*S. sprattus*), sea bass (*D. labrax*) and plaice (*P. platessa*) at the control and impacted sites in 2013 and 2014 for each sampled date during the standardised sampling survey. Dates highlighted in grey correspond to the period during green tides, and the two dates highlighted in dark grey identify the maximum of the green tide in 2013. The underlined date shows the total catches during the 24 h survey. The two dates with a star indicate the number of supplementary fish captured for the analysis of fish antioxidant defence capacity. Bold total catches refer to the dates selected for the analysis at the individual scale for each species.

Year	Date	Sprat		Sea bass		Plaice	
		Control	Impacted	Control	Impacted	Control	Impacted
2013	2013-04-09						
	2013-04-23						
	2013-05-07						
	2013-05-23					1	2
	2013-06-07		46			9	6
	2013-06-28					231	
	2013-07-11					128	
	2013-07-29		15				
	2013-07-29 *	5	5				
	2013-08-12	44	3	3	1	85	
	2013-08-26	80	87	4	1	35	
	2013-09-10		4	3		12	1
	2013-09-24	1412	820	3	8	1	
	2013-10-09	2			2	7	
	2013-10-22	343	57			10	
		<b>Total 2013</b>	1886	1037	13	12	519
2014	2014-04-11				2	2	2
	2014-04-23	199		2	8	1	
	2014-05-13						
	2014-05-26	35	1				
	2014-06-06	5	1	9	7	36	13
	2014-06-06 *	10	11	8	6	15	9
	2014-06-11	15	31			3	
	2014-06-25		1			6	
	2014-07-24	759	259	88	43	12	
	2014-08-07	15	152	79	110	3	
	2014-08-25	644	3	4	57		
	2014-09-06	296	205	13	16	3	
	2014-09-22	719		14	14		1
2014-10-06	284		3	40			
2014-10-21			1	29			
	<b>Total 2014</b>	2981	664	221	332	81	25
	<b>Total</b>	4867	1701	234	344	600	34

Supplementary Table 3.2 - Linear regressions ( $p$  values: '\*\*\*' $<0.001$ ; '\*\*' $<0.01$ ; '\*' $<0.05$ ) of the C:N basal signatures according to fish size for sprat (*S. sprattus*), sea bass (*D. labrax*) and plaice (*P. platessa*).

Species	Df	MS	F value	$p$
Sprat	1	0.009806	0.537	0.475
Residu	15	0.018246		
Sea	1	0.0007029	1.103	0.313
Residu	13	0.0006370		
Plaice	1	0.0010118	9.249	0.0558
Residu	3	0.0001094		

Supplementary Table 3.3 - Log length-mass equations by species and by year calculated by linear regression ( $p$  values: '\*\*\*' $<0.001$ ) and used for the R morphological condition index.

Species	Years	Formula	$r^2$	$p$
Sprat	2013	$\text{Log}(W) = (3.954010 * \text{log}(L)) - 8.825545$	0.8234	$<0.001^{***}$
	2014	$\text{Log}(W) = (3.558647 * \text{log}(L)) - 7.279420$	0.9271	$<0.001^{***}$
Sea bass	2014	$\text{Log}(W) = (2.998706 * \text{log}(L)) - 4.591881$	0.994	$<0.001^{***}$
Plaice	2013	$\text{Log}(W) = (2.993046 * \text{log}(L)) - 4.496225$	0.99	$<0.001^{***}$
	2014	$\text{Log}(W) = (2.916018 * \text{log}(L)) - 4.117287$	0.9909	$<0.001^{***}$

## Conclusion du chapitre

Ce chapitre visait à caractériser, par une approche multi-indice, les effets des marées vertes au niveau de l'individu sur trois espèces marines au positionnement différent dans la colonne d'eau et présentes en secteur intertidal au stade juvénile.

Les résultats ont mis en évidence une intégration progressive des perturbations engendrées par les marées vertes pour les trois espèces au gré de l'intensification de la perturbation.

Les réponses se sont traduites au niveau cellulaire par une augmentation de la capacité de défense antioxidante puis au niveau de l'individu par des ajustements des performances physiologiques. En fonction de l'espèce, le taux de croissance et la quantité de réserves lipidiques sont ajustés de façon conjointe ou dissociée, témoignant d'une variabilité du niveau d'intégration de la perturbation selon son intensité et selon la niche écologique occupée.

L'intensification de la perturbation conduit à terme à la disparition locale des individus. Cette disparition est le reflet d'une augmentation de la mortalité pour les espèces peu tolérantes et/ou peu mobiles (*e.g.* poissons benthiques), ou de l'émigration des individus hors de la zone affectée pour les espèces les plus mobiles (*e.g.* poissons pélagiques).

Cette succession de réponses est initiée à partir d'intensités différentes des marées vertes en fonction des caractéristiques propres aux espèces, soulignant un gradient décroissant de sensibilité de l'ichtyofaune, des espèces benthiques aux espèces démersales et pélagiques.

# **Discussion générale et perspectives**

## **4. Discussion générale et perspectives**

---

Dans un premier temps, cette discussion examine l'approche méthodologique utilisée et réalise une synthèse des différents résultats acquis au cours de ces travaux de thèse (4.1.). Elle aborde ensuite les différentes questions soulevées par nos résultats et propose des perspectives d'amélioration des protocoles d'analyse et de recherche (4.2.). Enfin, elle propose une synthèse des résultats des études annexes s'intéressant aux effets des marées vertes à méso-échelle (4.3.) et sur l'aptitude à la conservation de poissons commercialisés (4.4.).

### **4.1 Effets des marées vertes sur l'ichtyofaune en zone intertidale – réponses de l'individu à la communauté**

Les travaux engagés dans cette thèse s'inscrivent dans une démarche exploratoire de caractérisation et de compréhension des effets des marées vertes sur l'ichtyofaune dans les habitats intertidaux des secteurs côtiers et estuariens.

Dans ces secteurs, une mosaïque d'habitats assure différentes fonctions essentielles pour le maintien et le renouvellement de nombreuses espèces de poissons dont une majeure partie des ressources d'intérêt halieutique (*i.e.* fonction de nourricerie, lieu de résidence et de frayère, et voie de migration; Seitz et al., 2014). La perturbation des conditions - physiques, chimiques et trophiques - de ces habitats par la prolifération massive de macroalgues vertes modifie leur qualité et leur structure (Hull, 1987; Fletcher, 1996; Raffaelli et al., 1998; Raffaelli, 2000). L'augmentation des phénomènes de marée verte à l'échelle mondiale (Ye et al., 2011; Smetacek and Zingone, 2013; Zhou et al., 2015) nécessite d'accorder de l'attention à cette perturbation anthropique et à ses conséquences, notamment sur le compartiment ichtyologique, peu renseignées jusqu'à présent (Lyons et al., 2014; Jokinen et al., 2016).

Dans cet objectif, les effets des marées vertes sur l'ichtyofaune ont été examinés au travers d'analyses à différents niveaux d'organisation biologique pour suivre l'intégration du stress lié à la perturbation de l'habitat.

#### 4.1.1 Intérêts d'une approche multi-échelle pour une compréhension globale des effets d'une perturbation

Face à une perturbation des conditions environnementales, un organisme peut mettre en place divers mécanismes de défense biochimiques, physiologiques et comportementaux. Ces mécanismes sont mis en œuvre par l'organisme pour s'accommoder de la perturbation en réduisant les coûts métaboliques relatifs à la gestion du stress et au maintien de l'homéostasie (*e.g.* réparation des dommages occasionnés, réallocation de l'énergie), puis pour limiter son exposition à la perturbation lorsque les conditions deviennent dommageables (*e.g.* réactions d'évitement) (Adams, 2002). Cet ensemble de réponses se reflète au travers de différents niveaux d'organisation le long de l'échelle biologique, de la cellule à la communauté (Fig 4.1).

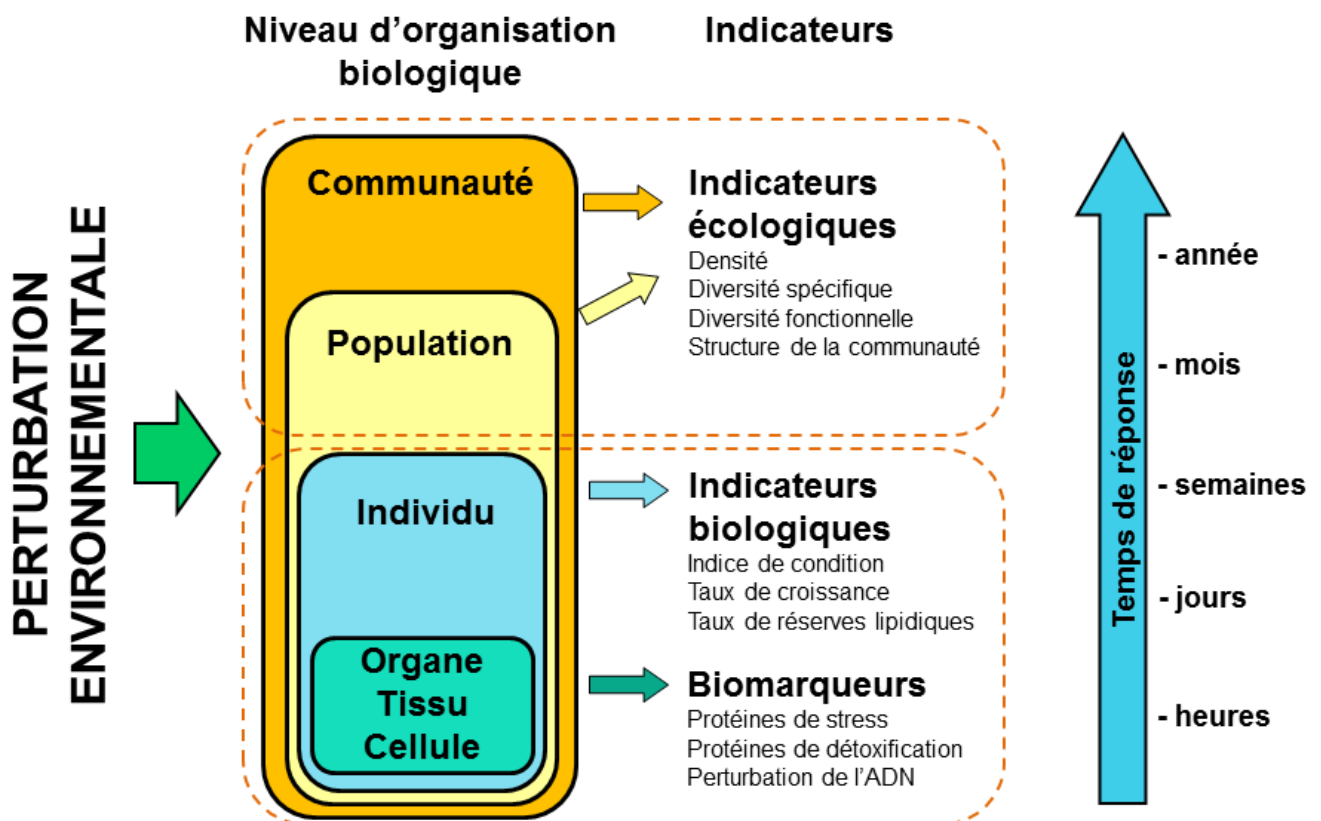


Figure 4.1 - Diagramme illustrant l'intégration d'un stress environnemental le long de l'échelle biologique et les approches correspondantes permettant son évaluation. En pointillés, les niveaux d'organisation biologique sont regroupés en fonction de leur degré d'intégration du stress (Schéma adapté d'après Adams, 2002 et Gilliers, 2004)

L'intégration du stress le long de l'échelle biologique implique que la réponse des organismes est d'autant plus intégrative - et écologiquement significative - que le niveau d'organisation biologique affecté est complexe (Fig 4.1; Adams, 2002). A l'inverse, la sensibilité à la perturbation diminue avec la complexification du niveau d'organisation biologique. Des analyses à chacun des niveaux d'organisation biologique apportent ainsi des informations différentes et complémentaires quant aux conséquences d'une perturbation sur l'ichtyofaune (Fig 4.1).

Deux principaux regroupements de niveaux d'organisation biologiques peuvent être discernés (Fig 4.1; Amara, 2011) :

(i) Un premier groupe analyse les effets des pressions environnementales du niveau cellulaire jusqu'à l'individu. Des réponses sont mises en œuvre à ces niveaux d'organisation dès la perception du stress. Elles se traduisent au niveau infra-individuel par une succession de mécanismes de défense (incluant l'activation d'hormones et d'enzymes et la production de métabolites) permettant à l'organisme de lutter contre les dommages cellulaires et tissulaire engendrés par le stress (Adams, 2002; Madeira et al., 2013; Kerambrun et al., 2014). Des réponses physiologiques, se reflétant au niveau de l'individu, sont ensuite mises en œuvre avec la persistance ou l'augmentation de la perturbation. Ces ajustements physiologiques traduisent une hausse des dépenses énergétiques de l'organisme et se manifestent au travers d'une diminution de la croissance et du stockage des réserves lipidiques (Adams, 2002; Rey et al., 2015). Pour les individus sexuellement mûres, ces ajustements se reflètent aussi au travers d'une réduction de leurs fonctions reproductrices (Adams, 2002; Rey et al., 2015).

A ces niveaux d'organisation, les indicateurs ont des temps d'intégration rapides (*i.e.* de l'heure à quelques semaines) et sont basés sur des mesures du stress (*e.g.* protéines et enzymes de lutte contre le stress, dégradation de l'ADN) et des performances physiologiques (*e.g.* croissance, réserves lipidiques, condition corporelle) des individus. Leur analyse permet d'appréhender le seuil à partir duquel l'organisme perçoit la perturbation et les mécanismes de défense qu'il met en place pour faire face à cette perturbation (à partir des différents processus physiologiques examinés) (*e.g.* Amara et al., 2009; Kerambrun et al., 2014).

(ii) Le second groupe s'intéresse aux populations et à la communauté. Des réponses à ces niveaux d'organisation sont mises en œuvre lorsque les conditions environnementales sont trop perturbées pour que les individus (ou une partie) se maintiennent dans l'habitat. Ces réponses peuvent traduire un comportement d'évitement (Little, 2002) ou une augmentation de la mortalité locale liée à la perturbation.



A ces niveaux d'organisation biologique, les indicateurs mesurés ont des temps d'intégration important (*i.e.* du mois à l'année) et sont basés sur des mesures de densité et de diversité spécifique et fonctionnelle. Leur analyse contribue au diagnostic de la fonctionnalité et de la qualité de l'habitat (*e.g.* Le Pape et al., 2003; Nicolas et al., 2010a). Des réponses à ces niveaux d'organisation biologique transcrivent une intégration profonde de la perturbation dans les écosystèmes et ont une forte signification écologique.

A chaque niveau d'organisation biologique, un panel d'indicateurs est disponible pour appréhender les différents processus mis en œuvre pour faire face à la perturbation. Cependant, la majorité des indicateurs utilisés n'a pas de spécificité de réponse à un type de perturbation (*e.g.* substances chimiques ou hypoxie). Un suivi simultané des conditions environnementales sur le site perturbé combiné à un suivi des réponses des mêmes indicateurs sur un site exempt de la perturbation est donc indispensable pour pouvoir attribuer des modifications de l'ichtyofaune à une perturbation particulière.

Par ailleurs, les réponses d'indicateurs appartenant à un même niveau d'organisation biologique peuvent être peu corrélées lorsque les indicateurs reflètent des processus physiologiques différents (Gilliers et al., 2004). Cette faible corrélation traduit la complexité des mécanismes de défense mis en œuvre par un organisme pour faire face à une perturbation (Adams, 2002). Elle souligne aussi l'intérêt d'études couplant plusieurs indicateurs pour appréhender ces liens complexes et dynamiques entre les poissons et les caractéristiques de leurs habitats.

La complexité des mécanismes de défense de l'ichtyofaune se traduit également par la variabilité des réponses des espèces face à une perturbation (Gilliers et al., 2004; Madeira et al., 2013). Pour pouvoir apprécier un diagnostic global des effets d'une perturbation sur le compartiment ichtyologique, et plus généralement sur la fonctionnalité de l'habitat, il convient d'intégrer les réponses de plusieurs espèces et d'examiner ensuite les conséquences macroécologiques à l'échelle de l'ichtyofaune.

En fonction de la perturbation examinée et des questions de recherche étudiées, différents regroupements fonctionnels peuvent être pertinents à examiner. Le regroupement d'espèces par guildes fonctionnelles consiste à rassembler des espèces ayant des caractéristiques communes, par exemple, en termes d'écologie, d'occupation des habitats ou de régime alimentaire (Delpech et al., 2010). Une étude se basant sur les réponses de guildes fonctionnelles paraît être un bon compromis entre une analyse plus fine des réponses de la communauté face à une perturbation et la complexité ainsi que la spécificité des réponses à l'échelle des populations.

L'approche méthodologique mise en œuvre pour cette thèse tient compte de l'ensemble des facteurs de variabilité des réponses de l'ichtyofaune (*i.e.* niveau d'organisation biologique, indicateur et guildes fonctionnelles/espèces) et permet de dresser un diagnostic de la qualité de l'habitat et de l'état de santé des organismes et des communautés de poissons lors de la prolifération de macroalgues vertes.

#### 4.1.2 Synthèse des acquis

Les effets des marées vertes sur le compartiment ichthyologique ont été examinés par deux approches complémentaires, au niveau de l'(infra)individu (Chapitre 3) et des communautés (Chapitre 2).

Les conséquences des marées vertes au niveau de l'(infra)individu ont été examinées dans une nurserie côtière à travers la sélection de l'habitat et les performances individuelles de juvéniles de trois espèces de poissons (Chapitre 3). Cette étude s'est focalisée sur des individus au stade juvénile, représentatifs d'une proportion conséquente de l'ichtyofaune se concentrant dans les habitats côtiers intertidaux (Seitz et al., 2014). Une modification de leurs performances individuelles peut avoir des répercussions sur le recrutement et donc sur la taille des populations d'intérêt halieutique (Turner and Boesch, 1987; Gibson, 1994; Piet and Rijnsdorp, 1998; Able, 1999; Peterson et al., 2000; Jones et al., 2002). Au travers de cette approche menée sur le sprat (espèce pélagique), le bar (espèce démersale) et la plie (espèce benthique), nous avons examiné la mise en œuvre de mécanismes de défense de ces espèces face aux marées vertes et exploré un effet de leur utilisation de l'habitat sur ces réponses.

La perception de conditions environnementales stressantes a été examinée par la mesure de la capacité de défense antioxydante des juvéniles. Cette réponse au niveau cellulaire a été décelée uniquement chez les juvéniles de plie en présence d'algues vertes. Cette analyse souligne une plus forte sensibilité de cette espèce aux marées vertes.

L'intégration de la perturbation au niveau de l'individu a par contre été enregistrée pour les trois espèces étudiées. Les ajustements des performances physiologiques des juvéniles se traduisent par une réduction de leur taux de croissance et de leurs réserves lipidiques. En fonction de l'espèce, ces deux principales allocations énergétiques du stade juvénile (Post and Parkinson, 2001) sont ajustées de façon conjointe ou dissociée pour s'accommoder de la perturbation. Ces différences interspécifiques témoignent d'une variabilité du niveau d'intégration de la perturbation selon son intensité et selon la niche écologique occupée.

L'intensification de la perturbation conduit ensuite à la disparition locale des individus. Cette disparition pourrait être le reflet d'une augmentation de la mortalité locale pour les espèces peu

tolérantes et/ou peu mobiles (*e.g.* les espèces benthiques), ou de l'émigration des individus hors de la zone affectée pour les espèces les plus mobiles (*e.g.* les espèces pélagiques).

Pour les juvéniles de ces trois espèces, une intégration progressive du stress a été mesurée en réponse à l'augmentation de la densité de macroalgues vertes. En revanche, ces réponses sont initiées à partir d'intensités différentes de la perturbation en fonction de la distribution verticale des espèces dans l'habitat. Un gradient décroissant de sensibilité de l'ichtyofaune aux marées vertes a été souligné, des espèces benthiques aux espèces démersales et pélagiques.

Ces résultats au niveau de l'individu conduisent à s'intéresser à l'intégration des perturbations engendrées par les marées vertes à des niveaux d'organisation biologique supérieurs, *i.e.* à l'échelle de la communauté ichtyologique (Chapitre 2). A cette fin, les réponses des communautés intertidales ont été suivies sur les deux types d'habitats affectés par les marées vertes : les estrans sableux et les vasières estuariennes.

Dans la continuité des résultats obtenus à l'échelle de l'individu, une réponse progressive des communautés ichtyologiques est mise en avant en fonction de la densité et de la durée du bloom de macroalgues vertes. Une augmentation de l'intensité de la perturbation engendre une réduction progressive de la diversité et de la densité de l'ichtyofaune intertidale, jusqu'à la disparition locale de l'ichtyofaune lors de fortes densités de macroalgues vertes.

L'analyse en guildes de distribution verticale (pélagique, démersale et benthique) et en guildes écologiques (résidente et juvénile marine) a permis de compléter les résultats obtenus à l'échelle de l'individu concernant le gradient de sensibilité aux marées vertes (*i.e.* décroissant des espèces benthiques aux espèces démersales puis pélagiques) et de mettre en avant une meilleure résistance des espèces résidentes par rapport aux juvéniles d'espèces marines. Ces différentes sensibilités se traduisent par une modification progressive de la structure de la communauté ichtyologique au cours des marées vertes vers des espèces moins sensibles à cette perturbation.

La capacité des espèces à faire face aux marées vertes est influencée par leur tolérance aux pressions induites et leur capacité d'échappement. La distribution verticale des espèces dans l'habitat contraint les organismes à être plus ou moins en contact avec les perturbations de l'habitat inhérentes à la prolifération de macroalgues vertes. En zone intertidale, les macroalgues vertes s'établissent principalement sur le fond avant de coloniser l'ensemble de l'espace disponible lorsque leur densité augmente (Solidoro et al., 1997). Ce pattern de prolifération modifie tout d'abord l'habitat benthique et affecte en premier lieu les espèces vivant sur le fond.

Les conséquences des proliférations sont également modulées par la composition spécifique des assemblages de marées vertes. Les macroalgues sous forme de lame étendue flottant librement dans la colonne d'eau s'accumulent sur le fond puis colonisent l'ensemble de la masse d'eau tandis que les

espèces filamenteuses attachées au substrat se développent simultanément au fond et dans la masse d'eau, complexifiant plus rapidement l'habitat. Les conséquences de ces deux types de prolifération sur l'ichtyofaune sont similaires mais surviennent pour des accumulations d'algues trois fois moindres lors de marées vertes majoritairement composées d'espèces filamenteuses.

Ainsi, les résultats de cette étude à l'échelle des communautés transcrivent une intégration des effets des marées vertes à un haut niveau d'organisation biologique dans les deux types d'habitat affectés. En gardant à l'esprit que cette étude a été réalisée à partir d'échantillonnages opérés pendant des marées vertes d'une intensité locale faible à moyenne, des effets considérables sur les populations ichtyologique d'intérêt halieutique peuvent être occasionnés par des proliférations plus intenses.

En conclusion, au travers de ces deux approches, nous avons pu mettre en évidence un impact écologiquement significatif des marées vertes sur l'ichtyofaune des habitats essentiels au renouvellement des ressources d'intérêt halieutique avec des conséquences modulées en fonction des caractéristiques des guildes fonctionnelles ainsi que de l'intensité et de la nature des blooms de macroalgues.

## **4.2 Limites et perspectives**

### **4.2.1 Vers un suivi affiné des réponses de l'ichtyofaune lors des marées vertes**

***Augmenter l'effort d'échantillonnage lors de l'accroissement de la densité des macroalgues vertes pour préciser notre compréhension des réponses de l'ichtyofaune et améliorer la caractérisation d'un effet seuil***

La stratégie d'échantillonnage mise en place pour les prélèvements de cette thèse a été établie avec un pas de temps de deux semaines. Cette fréquence d'échantillonnage est apparue adaptée pour l'analyse des réponses des communautés ichtyologiques au cours de la période de prolifération des macroalgues vertes. Cependant, elle n'a pas permis de suivre les conséquences de l'augmentation rapide de la biomasse de macroalgues vertes qui fait suite à l'initiation du bloom (*e.g.* en 2013 la densité de macroalgues vertes a été multipliée par 4 en 15 jours) et conduit, dans le même temps, à la disparition locale de l'ichtyofaune.

Un pas de temps réduit pendant cette période (*e.g.* de 2 jours) permettrait (i) d'affiner la compréhension de la réponse de l'ichtyofaune lors de l'intensification de la perturbation de l'habitat, (ii) d'analyser l'hypothèse de réponses à des échelles biologiques de niveau croissant d'intégration,

et (iii) de déterminer la densité seuil de macroalgues vertes à partir de laquelle les poissons ne sont plus présents en zone intertidale.

#### **Etudier les réponses d'une espèce résidente à l'échelle individuelle**

L'étude à l'échelle de l'individu s'est focalisée sur les réponses de juvéniles d'espèces de poissons dépendantes des nourriceries côtières, dont l'intérêt halieutique est fondamental. Cependant, dans les habitats étudiés, les espèces résidentes sont présentes en forte abondance (Moore and Moore, 1976; Ntiba and Harding, 1993; Pockberger et al., 2014). Les résultats à l'échelle des communautés indiquent que ces espèces sont plus résistantes à la perturbation de l'habitat par les marées vertes que les juvéniles d'espèces marines nourriceries-dépendantes. Une analyse à l'échelle individuelle permettrait d'examiner si leurs performances physiologiques sont affectées par les marées vertes et si ces ajustements diffèrent de ceux constatés pour les espèces étudiées. Parmi les espèces résidentes et présentes en quantité suffisante au sein des zones étudiées, deux espèces de gobies prédominent et pourraient être choisies comme modèle biologique : *Pomatoschistus microps* (Krøyer, 1838) et *Pomatoschistus minutus* (Pallas, 1770).

### 4.2.2 Vers une meilleure compréhension des processus d'action des marées vertes sur l'ichtyofaune

#### **Préciser les mécanismes de défense des poissons pour s'accommoder des marées vertes**

L'analyse des performances individuelles a permis de réaliser des travaux mesurant les effets des marées vertes sur la sélection de l'habitat et les performances physiologiques de juvéniles de poissons. Cette analyse a porté sur différents indices de conditions reflétant l'état physiologique des poissons et sur les deux types principaux d'allocations d'énergies au stade juvénile (*i.e.* la croissance et le stockage de réserves lipidiques; Post and Parkinson, 2001). Les réponses de ces indices amènent à considérer des analyses permettant de préciser les mécanismes impliqués.

*Analyse de la perception et de l'intégration du stress* – L'analyse de l'intégration du stress au niveau cellulaire par l'augmentation de la capacité antioxydante a été considérée à partir de mesures de la capacité totale antioxydante à une densité de macroalgues moyenne. Les réponses mesurées pour les différentes espèces amènent à plusieurs perspectives :

(i) mesurer la capacité totale antioxydante des espèces à différentes intensités de la marée verte.

Cette analyse permettrait de déterminer la densité de macroalgues à partir de laquelle les

conditions sont perçues comme perturbées par les espèces. Pour une même espèce, ce type d'analyse sur des individus de tailles différentes et ayant expérimentés les mêmes conditions environnementales permettrait de tester un effet du stade de développement sur leur sensibilité aux marées vertes.

(ii) explorer une intégration du stress oxydant à l'échelle de l'ADN. La mesure d'une augmentation des capacités antioxydantes chez certaines espèces nous amène à considérer une potentielle génotoxicité des marées vertes. Pour ce faire, les dommages à l'ADN peuvent être mesurés sur des échantillons de sang à l'aide du test Comet (Akcha et al., 2003; Costa et al., 2014).

Pour ces analyses complémentaires, il conviendra de cibler des périodes clés au cours du développement des macroalgues, et notamment de réaliser un focus sur la période initiale de prolifération.

*Analyse des réserves lipidiques* – Dans cette thèse, nous avons choisi d'examiner les réserves lipidiques de juvéniles de poissons à travers des mesures de lipides musculaires totaux (ratio C:N). Faisant suite à cette étude standardisée sur les lipides musculaires, les différences interspécifiques de localisation des principales réserves lipidiques amènent à s'intéresser à des mesures dans différents organes (Thillart et al., 2002; Lloret et al., 2014). La principale localisation des réserves lipidiques se situe dans le foie pour certaines espèces, notamment benthiques et démersales (Thillart et al., 2002; Lloret et al., 2014). Des mesures complémentaires des réserves lipidiques hépatiques enrichiraient cette analyse et permettraient de préciser la principale réserve de lipides affectée par cette perturbation chez les espèces étudiées.

*Analyse de condition nutritionnelle* – La mesure de la condition nutritionnelle des poissons à partir de l'indice morphométrique de condition R a révélé une forte variabilité interindividuelle sur chacun des sites étudiés. Cette variabilité pourrait masquer des effets des marées vertes sur la condition des juvéniles de poissons. Ainsi, bien qu'aucun effet de la taille n'ait été identifié, un suivi plus précis s'intéressant à un changement de la condition des individus par cohorte au cours d'une marée verte permettrait de tester une intégration progressive de la perturbation sur la condition des juvéniles de poisson (e.g. Dolbeth et al., 2007).

L'exploration de l'ensemble de ces performances physiologiques a pour but de déterminer les voies d'action des perturbations environnementales engendrées par les marées vertes. La mesure de ces différents indices de performances physiologiques pour un même individu ainsi que le suivi des individus d'une cohorte au cours de la marée verte permettrait de déterminer l'intégration de la

perturbation à l'échelle individuelle et d'identifier à partir de quel degré de perturbation les ajustements physiologiques successifs se mettent en place.

### ***Appréhender les mécanismes de l'impact des marées vertes sur l'ichtyofaune***

Les analyses *in situ* ont permis d'obtenir des réponses de l'ichtyofaune face aux marées vertes. Cependant, les indicateurs utilisés ne sont pas spécifiques d'une perturbation particulière et la multiplicité des perturbations des conditions de l'habitat induite par les marées vertes ne nous a pas permis de déterminer les causes et les processus de ces réponses physiologiques et comportementales. Des études expérimentales seraient très utiles pour déterminer les mécanismes d'action de cette perturbation.

Ce type d'études expérimentales a été réalisé (Johnson and Welsh, 1985; Engström-Öst and Isaksson, 2006; Nordström and Booth, 2007). Cependant, ces analyses se sont focalisées sur des espèces benthiques et aucune n'a étudié l'ensemble des conditions modifiées par les marées vertes. Des approches expérimentales seraient donc à envisager sur différentes espèces en prenant en compte l'ensemble des conditions environnementales modifiées par les marées vertes (*i.e.* modifications des conditions hydrochimiques, physiques et trophiques) ainsi que leurs interactions.

### ***Approfondir la compréhension des réponses du compartiment biotique par des analyses des réseaux trophiques***

Les analyses expérimentales pourraient être complétées par des études trophiques *in situ*. Différentes études ont été réalisées sur cette problématique à partir d'analyses de ratios isotopiques (Ouisse et al., 2011; Quillien et al., 2016). Cependant, l'unique étude prenant en compte le compartiment ichtyologique n'intègre que sa partie benthique (Quillien et al., 2016). La prise en compte d'espèces de poissons démersales et pélagiques serait à envisager pour améliorer la compréhension des effets des marées vertes sur les réseaux trophiques intertidaux (Quillien et al., 2016). Les conséquences de la modification de la composition spécifique des proies potentielles ainsi que la réduction de leur abondance et leur diversité (Quillien et al., 2015, 2016) méritent d'être analysées. Une analyse des réseaux trophiques et du comportement alimentaire d'un pool d'espèces permettrait d'examiner certaines hypothèses relatives à la réduction de la croissance et des réserves lipidiques des juvéniles de poissons. Elle permettrait, par exemple, de tester si ces réductions de performances physiologiques sont le résultat d'une diminution de la prise alimentaire et/ou des apports énergétiques des proies.

## 4.3 Etude annexe 1 – Impacts des marées vertes à méso-échelle

Dans le prolongement des analyses menées à une échelle locale, une étude annexe s'est attachée à explorer les effets des marées vertes à méso-échelle. Cette étude à l'échelle de la Bretagne s'est appuyée sur les échantillonnages de treize masses d'eau de transition à fonds meubles réalisés dans le cadre de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE MET - directive 2000/60/CE) entre 2007 et 2014.

Dans un premier temps, ces données ichtyologiques ont été examinées en fonction de divers facteurs environnementaux (*i.e.* saison, écorégion, profondeur et salinité) afin de déterminer la part de variabilité des communautés de poissons pouvant être attribuée aux marées vertes. Cette phase exploratoire a permis de mettre en évidence un effet de la saison (*i.e.* printemps/automne) et de l'écorégion (*i.e.* Bretagne Nord/Bretagne Sud) sur la composition des communautés de poissons à l'échelle régionale. A l'échelle de chaque masse d'eau, la salinité et la profondeur sont aussi des facteurs de variation de la composition des communautés de poisson. Ces paramètres environnementaux ont été intégrés dans les modèles d'analyse de l'effet des marées vertes sur les communautés estuariennes de poisson.

A l'échelle de la Bretagne, les communautés ichtyologiques au sein des estuaires bretons sélectionnés ont ensuite été examinées en fonction d'un indicateur moyen d'eutrophisation à macroalgues (EQR) fourni par le CEVA. Ces analyses ont permis de mettre en évidence un effet négatif des marées vertes sur la densité de poissons benthiques. Une perte de différenciation de niche a aussi été démontrée avec l'augmentation de la prolifération des macroalgues vertes.

Dans une deuxième partie, les effets des marées vertes sur les communautés ichtyologiques estuariennes ont été examinés par une approche locale plus fine, à l'échelle du trait de chalut. Pour ce faire, deux indicateurs de marée verte ont été utilisés : le taux de couverture de macroalgues vertes associé à chaque trait de chalut (donnée CEVA) et la biomasse de macroalgues vertes par trait de chalut (donnée DCE). A travers ces analyses, aucun effet des marées vertes sur les communautés de poisson n'a été mis en évidence.

Cette étude a démontré un effet négatif des marées vertes sur les communautés ichtyologiques estuariennes à une échelle régionale. Les espèces benthiques semblent être les plus affectées par les marées vertes, comme cela a été démontré dans cette thèse. Par ailleurs, la perte de différenciation de niche engendrée par la prolifération de macroalgues vertes est le reflet d'une perte de stabilité de l'habitat et d'une potentielle modification de son fonctionnement. L'absence de résultat à une échelle locale semble être conditionnée par le jeu de données ichtyologiques fourni par la DCE. Ces prélèvements ichtyologiques ne sont pas destinés à l'analyse de cette problématique. La



cartographie des traits de chalut dans les estuaires a permis de mettre en avant la quasi absence de recouplement des prélèvements de l'ichtyofaune et de la localisation des marées vertes dans chacun des estuaires. Des protocoles dédiés sont donc à privilégier pour l'analyse des effets d'une perturbation à l'échelle locale.

#### **4.4 Etude annexe 2 – L'influence des marées vertes sur l'aptitude à la conservation de trois espèces de poisson**

Les objectifs de cette étude, périphérique à la thèse, étaient de mesurer de potentiels effets des marées vertes sur la conservation d'espèces commercialisées et leur répercussion sur les prix de vente en criée. Elle se basait sur le ressenti des professionnels de l'aval de la filière des produits de la mer qui évoquent une moindre conservation des poissons issus des zones impactées. La chair de ces poissons serait plus rapidement altérée par la décomposition des macroalgues vertes présentes dans leur tractus digestif. Trois espèces de poissons, vendus en entiers, ont été examinées pour cette étude : la dorade grise *Spondylisoma cantharus* (L.), le maquereau d'Atlantique *Scomber scombrus* L. et le rouget barbet *Mullus surmuletus* L..

Cette étude n'a pas révélé d'effet des marées vertes sur la conservation des trois espèces étudiées ni sur leur prix de vente :

(i) Les résultats obtenus à partir des mesures sensorielles et biochimiques ne soulignent aucune différence entre la zone impactée et la zone non-impactée ainsi qu'entre les périodes avant et pendant les marées vertes. Les écarts constatés sont principalement dus aux tailles des poissons, variables entre les zones et les périodes, et à la variabilité de l'état de fraîcheur initial des poissons. La conservation des poissons n'apparaît donc pas être affectée par la présence de marée verte dans la zone de pêche.

Le phénomène de "poissons verts", constaté par l'aval de la filière et se traduisant par la présence d'algues vertes dans le tractus digestif de certaines espèces de poissons résidant dans des zones impactées par les marées vertes, n'a pas été observé lors de cette étude. A leur stade adulte, ces espèces sont opportunistes carnivores (N'da, 1992; Goncalves and Erzini, 1998; Olasso et al., 2005), mais une ingestion de macroalgues vertes pourrait être le fait d'une consommation accessoire. Cependant, même en pêchant au cœur des proliférations avec un bateau affrété spécialement pour l'étude, aucun poisson capturé ne contenait d'algues vertes dans son tractus digestif.

(ii) L'analyse complémentaire des prix de vente en criée de ces espèces a été réalisée sur une période allant de 2008 à 2013 entre les criées de Saint Quay Portrieux et Erquy (zones impactées) et de

Granville et Dinard (zones contrôles). Sur cette période, l'évolution des prix est contrastée pour chacune de ces trois espèces, cependant aucun effet significatif des marées vertes n'a pu être mis en évidence sur l'attractivité des produits. Une potentielle modification de la qualité du poisson dans les zones affectées par les marées ne se reflète aucunement sur les prix des espèces en criée.

## Bibliographie générale

---

- Aarnio, K., Mattila, J., 2000. Predation by juvenile *Platichthys flesus* (L.) on shelled prey species in a bare sand and a drift algae habitat. *Hydrobiologia* 440, 347–355. doi: 10.1023/A:1004112304096
- Able, K.W., 2005. A re-examination of fish estuarine dependence: Evidence for connectivity between estuarine and ocean habitats. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 64, 5–17. doi: 10.1016/j.ecss.2005.02.002
- Able, K.W., 1999. Measures of juvenile fish habitat quality: Examples from a national estuarine research reserve. *Am. Fish. Soc. Symp.* 22, 134–148.
- Adams, S.M., 2005. Assessing cause and effect of multiple stressors on marine systems. *Mar. Pollut. Bull.*, 4th International Conference on Marine Pollution and Ecotoxicology 4th International Conference on Marine Pollution and Ecotoxicology 51, 649–657. doi: 10.1016/j.marpolbul.2004.11.040
- Adams, S.M., 2002. Biological indicators of aquatic ecosystem stress, American Fisheries Society. ed. Adams, Bethesda, Maryland.
- Aguilera, B., Catalán, I.A., Palomera, I., Olivar, M.P., 2009. Otolith growth of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) larvae fed with constant or varying food levels. *Sci. Mar.* 73, 173–182.
- Akcha, F., Vincent Hubert, F., Pfohl-Leszkowicz, A., 2003. Potential value of the comet assay and DNA adduct measurement in dab (*Limanda limanda*) for assessment of in situ exposure to genotoxic compounds. *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* 534, 21–32. doi: 10.1016/S1383-5718(02)00244-9
- Allen, L.G., Yoklavich, M.M., Cailliet, G.M., Horn, M.H., 2006. Bays and estuaries, in: *The Ecology of Marine Fishes: California and Adjacent Waters*. L.G. Allen, D.J. Pondella, M.H. Horn, Berkeley, California, pp. 119–148.
- Alliot, E., Djabali, M., Pastoureaud, A., Thebault, H., 1984. Changes in the biochemical composition of tissues in Juvenile Sea bass during forced starvation. *Biochem. Syst. Ecol.* 12, 209–213. doi: 10.1016/0305-1978(84)90038-3
- Amara, R., 2011. Impact de la pollution sur les écosystèmes côtiers : exemple de la Manche orientale. *Vertigo - Rev. Électronique En Sci. Environ.* doi: 10.4000/vertigo.10990
- Amara, R., 2003. Seasonal Ichthyodiversity and Growth Patterns of Juvenile Flatfish on a Nursery Ground in the Southern Bight of the North Sea (France). *Environ. Biol. Fishes* 67, 191–201. doi: 10.1023/A:1025646622066
- Amara, R., Lagardere, F., Desaunay, Y., Marchand, J., 2000. Metamorphosis and estuarine colonisation in the common sole, *Solea solea* (L.): implications for recruitment regulation. *Oceanol. Acta* 23, 469–484. doi: 10.1016/S0399-1784(00)00134-1

- Amara, R., Selleslagh, J., Billon, G., Minier, C., 2009. Growth and condition of 0-group European flounder, *Platichthys flesus* as indicator of estuarine habitat quality. *Hydrobiologia* 627, 87–98. doi: 10.1007/s10750-009-9717-9
- Andersen, B.S., Carl, J.D., Grønkjær, P., Støttrup, J.G., 2005. Feeding ecology and growth of age 0 year *Platichthys flesus*(L.) in a vegetated and a bare sand habitat in a nutrient rich fjord. *J. Fish Biol.* 66, 531–552. doi: 10.1111/j.0022-1112.2005.00620.x
- Andrades, R., Gomes, M.P., Pereira-Filho, G.H., Souza-Filho, J.F., Albuquerque, C.Q., Martins, A.S., 2014. The influence of allochthonous macroalgae on the fish communities of tropical sandy beaches. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 144, 75–81. doi: 10.1016/j.ecss.2014.04.014
- Arroyo, N.L., Aarnio, K., Mäensivu, M., Bonsdorff, E., 2012. Drifting filamentous algal mats disturb sediment fauna: Impacts on macro–meiofaunal interactions. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 420–421, 77–90. doi: 10.1016/j.jembe.2012.03.020
- Arts, M.J.T.J., Sebastiaan Dallinga, J., Voss, H.-P., Haenen, G.R.M.M., Bast, A., 2004. A new approach to assess the total antioxidant capacity using the TEAC assay. *Food Chem.* 88, 567–570. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.02.008
- B**arton, B.A., Morgan, J.D., Vijayan, M.M., 2002. Physiological and condition-related indicators of environmental stress in fish, in: *Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress*. Adams, Bethesda, Maryland, pp. 111–148.
- Batiuk, R.A., Breitburg, D.L., Diaz, R.J., Cronin, T.M., Secor, D.H., Thursby, G., 2009. Derivation of habitat-specific dissolved oxygen criteria for Chesapeake Bay and its tidal tributaries. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol., Ecological Impacts of Hypoxia on Living Resources* 381, Supplement, S204–S215. doi: 10.1016/j.jembe.2009.07.023
- Baumann, H., Hinrichsen, H.-H., Voss, R., Stepputtis, D., Grygiel, W., Clausen, L.W., Temming, A., 2006. Linking growth to environmental histories in central Baltic young-of-the-year sprat, *Sprattus sprattus*: an approach based on otolith microstructure analysis and hydrodynamic modelling. *Fish. Oceanogr.* 15, 465–476. doi: 10.1111/j.1365-2419.2005.00395.x
- Baumann, H., Peck, M.A., Herrmann, J., 2005. Short-term decoupling of otolith and somatic growth induced by food level changes in postlarval Baltic sprat, *Sprattus sprattus*. *Mar. Freshw. Res.* 56, 539–547. doi:10.1071/mf04140
- Beck, M.W., Heck, K.L., Able, K.W., Childers, D.L., Eggleston, D.B., Gillanders, B.M., Halpern, B., Hays, C.G., Hoshino, K., Minello, T.J., Orth, R.J., Sheridan, P.F., Weinstein, M.P., 2001. The Identification, Conservation, and Management of Estuarine and Marine Nurseries for Fish and Invertebrates. *BioScience* 51, 633–641. doi: 10.1641/0006-3568(2001)051[0633:TICAMO]2.0.CO;2
- Bejda, A.J., Phelan, B.A., Studholme, A.L., 1992. The effect of dissolved oxygen on the growth of young-of-the-year winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. *Environ. Biol. Fishes* 34, 321–327. doi: 10.1007/BF00004780
- Beverton, R.J.H., 1995. Spatial limitation of population size: The concentration hypothesis. *Neth. J. Sea Res.* 34, 1–6. doi: 10.1016/0077-7579(95)90010-1

- Bolam, S.G., Fernandes, T.F., 2002. The effects of macroalgal cover on the spatial distribution of macrobenthic invertebrates: the effect of macroalgal morphology. *Hydrobiologia* 475-476, 437–448. doi: 10.1023/A:1020307929624
- Bolam, S.G., Fernandes, T.F., Read, P., Raffaelli, D., 2000. Effects of macroalgal mats on intertidal sandflats: an experimental study. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 249, 123–137. doi: 10.1016/S0022-0981(00)00185-4
- Bonsdorff, E., 1992. Drifting algae and zoobenthos — Effects on settling and community structure. *Neth. J. Sea Res.* 30, 57–62. doi: 10.1016/0077-7579(92)90045-G
- Bray, J.R., Curtis, J.T., 1957. An ordination of the upland forest communities of Southern Wisconsin. *Ecol. Monogr.* 27, 326–349. doi: 10.2307/1942268
- Buchheister, A., Latour, R.J., 2010. Turnover and fractionation of carbon and nitrogen stable isotopes in tissues of a migratory coastal predator, summer flounder (*Paralichthys dentatus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 67, 445–461. doi: 10.1139/F09-196
- Burrows, M.T., Gibson, R.N., Robb, L., Maclean, A., 2004. Alongshore dispersal and site fidelity of juvenile plaice from tagging and transplants. *J. Fish Biol.* 65, 620–634. doi: 10.1111/j.0022-1112.2004.00467.x
- Camp, E.V., Staudhammer, C.L., Pine III, W.E., Tetzlaff, J.C., Frazer, T.K., 2014. Replacement of rooted macrophytes by filamentous macroalgae: effects on small fishes and macroinvertebrates - Springer. *Hydrobiologia* 722, 159–170. doi: 10.1007/s10750-013-1694-3
- Campana, S., 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *J. Fish Biol.* 59, 197-242. doi: 10.1006/jfbi.2001.1668
- Cardoso, P.G., Pardal, M.A., Raffaelli, D., Baeta, A., Marques, J.C., 2004. Macroinvertebrate response to different species of macroalgal mats and the role of disturbance history. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 308, 207–220. doi: 10.1016/j.jembe.2004.02.018
- Carl, J.D., Sparrevohn, C.R., Nicolajsen, H., Støttrup, J.G., 2008. Substratum selection by juvenile flounder *Platichthys flesus* (L.): effect of ephemeral filamentous macroalgae. *J. Fish Biol.* 72, 2570 – 2578. doi: 10.1111/j.1095-8649.2008.01866.x
- Carr, M.H., 1989. Effects of macroalgal assemblages on the recruitment of temperate zone reef fishes. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 126, 59–76. doi: 10.1016/0022-0981(89)90124-X
- Charlier, R.H., Morand, P., Finkl, C.W., Thys, A., 2007. Green Tides on the Brittany Coasts. *Environ. Res. Eng. Manag.* 41, 52–59.
- Chouvelon, T., Chappuis, A., Bustamante, P., Lefebvre, S., Mornet, F., Guillou, G., Violamer, L., Dupuy, C., 2014. Trophic ecology of European sardine *Sardina pilchardus* and European anchovy *Engraulis encrasicolus* in the Bay of Biscay (north-east Atlantic) inferred from  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values of fish and identified mesozooplanktonic organisms. *J. Sea Res.* 85, 277–291.
- Claridge, P.N., Potter, I.C., 1983. Movements, abundance, age composition and growth of bass, *Dicentrarchus labrax*, in the Severn Estuary and inner Bristol Channel. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 63, 871–879. doi: 10.1017/S0025315400071289

- Clarke, K.R., 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Aust. J. Ecol.* 18, 117–143. doi: 10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x
- Costa, M.J., Cabral, H.N., Drake, P., Economou, A.N., Fernandez-Delgado, C., Gordo, L., Marchand, J., Thiel, R., 2002. Recruitment and Production of Commercial Species in Estuaries, in: Elliott, M., Hemingway, K. (Eds.), *Fishes in Estuaries*. Blackwell Science Ltd, pp. 54–123.
- Costa, P.M., Pinto, M., Vicente, A.M., Gonçalves, C., Rodrigo, A.P., Louro, H., Costa, M.H., Caeiro, S., Silva, M.J., 2014. An integrative assessment to determine the genotoxic hazard of estuarine sediments: combining cell and whole-organism responses. *Front. Genet.* 5. doi: 10.3389/fgene.2014.00437
- Costanza, R., d'Arge, R., de Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R.V., Paruelo, J., Raskin, R.G., Sutton, P., van den Belt, M., 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 387, 253–260. doi: 10.1038/387253a0
- Cowen, R.K., Lwiza, K.M.M., Sponaugle, S., Paris, C.B., Olson, D.B., 2000. Connectivity of Marine Populations: Open or Closed? *Science* 287, 857–859. doi:10.1126/science.287.5454.857
- Cowen, R.K., Paris, C.B., Srinivasan, A., 2006. Scaling of Connectivity in Marine Populations. *Science* 311, 522–527. doi:10.1126/science.1122039
- Cushing, D.H., 1995. *Population production and regulation in the sea: a fisheries perspective*. Cambridge University Press.
- D**aan, N., Bromley, P.J., Hislop, J.R.G., Nielsen, N.A., 1990. Ecology of North Sea fish. *Neth. J. Sea Res.* 26, 343–386. doi: 10.1016/0077-7579(90)90096-Y
- Delpech, C., Courrat, A., Pasquaud, S., Lobry, J., Le Pape, O., Nicolas, D., Boët, P., Girardin, M., Lepage, M., 2010. Development of a fish-based index to assess the ecological quality of transitional waters: The case of French estuaries. *Mar. Pollut. Bull.* 60, 908–918. doi: 10.1016/j.marpolbul.2010.01.001
- DeNiro, M.J., Epstein, S., 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta* 42, 495–506. doi: 10.1016/0016-7037(78)90199-0
- DeNiro, M.J., Epstein, S., 1977. Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis. *Science* 197, 261–263.
- De Raedemaeker, F., Brophy, D., O'Connor, I., Comerford, S., 2012. Habitat characteristics promoting high density and condition of juvenile flatfish at nursery grounds on the west coast of Ireland. *J. Sea Res.* 73, 7–17. doi: 10.1016/j.seares.2012.04.013
- Deudero, S., Box, A., Vazquez-Luis, M., Arroyo, N.L., 2014. Benthic community responses to macroalgae invasions in seagrass beds: Diversity, isotopic niche and food web structure at community level. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 142, 12–22.
- Deudero, S., Pinnegar, J.K., Polunin, N.V.C., Morey, G., Morales-Nin, B., 2004. Spatial variation and ontogenic shifts in the isotopic composition of Mediterranean littoral fishes. *Mar. Biol.* 145, 971–981. doi: 10.1007/s00227-004-1374-y

- Dixon, P., Palmer, M.W., 2003. VEGAN, a package of R functions for community ecology. *J. Veg. Sci.* 14, 927–930. doi: 10.1658/1100-9233(2003)014[0927:VAPORF]2.0.CO;2
- Dolbeth, M., Martinho, F., Leitão, R., Cabral, H., Pardal, M.A., 2007. Strategies of *Pomatoschistus minutus* and *Pomatoschistus microps* to cope with environmental instability. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 74, 263–273. doi: 10.1016/j.ecss.2007.04.016
- Dolbeth, M., Pardal, M.A., Lillebø, Azeiteiro, U., Marques, J.C., 2003. Short- and long-term effects of eutrophication on the secondary production of an intertidal macrobenthic community 143, 1229–1238. doi: 10.1007/s00227-003-1133-5
- Dorel, D., Koutsikopoulos, C., Desaunay, Y., Marchand, J., 1991. Seasonal distribution of young sole (*Solea solea* (L.)) in the nursery ground of the bay of Vilaine (Northern bay of Biscay). *Neth. J. Sea Res.* 27, 297–306. doi: 10.1016/0077-7579(91)90032-V
- E**lliott, M., Dewailly, F., 1995. The structure and components of European estuarine fish assemblages. *Netherland J. Aquat. Ecol.* 29, 397–417. doi: 10.1007/BF02084239
- Engström-Öst, J., Isaksson, I., 2006. Effects of macroalgal exudates and oxygen deficiency on survival and behaviour of fish larvae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 335, 227–234. doi: 10.1016/j.jembe.2006.03.007
- Everett, R.A., 1994. Macroalgae in marine soft-sediment communities: effects on benthic faunal assemblages. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 175, 253–274. doi: 10.1016/0022-0981(94)90030-2
- F**echhelm, R.G., Griffiths, W.B., Wilson, W.J., Gallaway, B.J., Bryan, J.D., 1995. Intra- and interseasonal changes in the relative condition and proximate body composition of broad whitefish from the Prudhoe Bay region of Alaska. *Trans. Am. Fish. Soc.* 124, 508–519. doi: 10.1577/1548-8659(1995)124<0508:IAICIT>2.3.CO;2
- Fleeger, J.W., Johnson, D.S., Galván, K.A., Deegan, L.A., 2008. Top-down and bottom-up control of infauna varies across the saltmarsh landscape. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 357, 20–34. doi: 10.1016/j.jembe.2007.12.003
- Fletcher, R.L., 1996. The Occurrence of “Green Tides” — a Review, in: Schramm D.W. and Nienhuis P.D.P.H. (Eds.), *Marine Benthic Vegetation, Ecological Studies*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 7–43.
- Florin, A.-B., Sundblad, G., Bergström, U., 2009. Characterisation of juvenile flatfish habitats in the Baltic Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 82, 294–300. doi: 10.1016/j.ecss.2009.01.012
- Fulanda, B., Ohtomi, J., 2011. Effect of tow duration on estimations of CPUE and abundance of the grenadier *Coelorinchus jordani* (Gadiformes, Macrouridae). *Fish. Res.* 110, 298–304. doi: 10.1016/j.fishres.2011.04.019
- G**amenick, I., Jahn, A., Vopel, K., Giere, O., 1996. Hypoxia and sulphide as structuring factors in a macrozoobenthic community on the Baltic Sea shore: colonisation studies and tolerance experiments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 144, 73–85. doi: 10.3354/meps144073

- Gibson, R.N., 1994. Impact of habitat quality and quantity on the recruitment of juvenile flatfishes. *Neth. J. Sea Res.* 32, 191–206. doi: 10.1016/0077-7579(94)90040-X
- Gilliers, C., 2004. Recherche d'indicateurs de la qualité des écosystèmes côtiers : Application aux nourriceries côtières et estuariennes de poissons plats. Université du Littoral- Côte d'Opale, Boulogne-sur-mer.
- Gilliers, C., Amara, R., Bergeron, J.-P., 2004. Comparison of growth and condition indices of juvenile flatfish in different coastal nursery grounds. *Environ. Biol. Fishes* 71, 189–198. doi: 10.1007/s10641-004-0090-2
- Gilliers, C., Le Pape, O., Désaunay, Y., Morin, J., Guérault, D., Amara, R., 2006. Are growth and density quantitative indicators of essential fish habitat quality? An application to the common sole *Solea solea* nursery grounds. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 69, 96–106. doi: 10.1016/j.ecss.2006.02.006
- Goncalves, J.M.S., Erzini, K., 1998. Feeding habits of the two-banded sea bream (*Diplodus vulgaris*) and the black sea bream (*Spondyliosoma cantharus*) (Sparidae) from the south-west coast of Portugal. *Cybium* 22, 245–254.
- Green, B.C., Smith, D.J., Grey, J., Underwood, G.J.C., 2012. High site fidelity and low site connectivity in temperate salt marsh fish populations: a stable isotope approach. *Oecologia* 168, 245–255. doi: 10.1007/s00442-011-2077-y
- Green, L., Sutula, M., Fong, P., 2014. How much is too much? Identifying benchmarks of adverse effects of macroalgae on the macrofauna in intertidal flats. *Ecol. Appl.* 24, 300–314. doi: 10.1890/13-0524.1
- Guelinckx, J., Maes, J., De Brabandere, L., Dehairs, F., Ollevier, F., 2006. Migration dynamics of clupeoids in the Schelde estuary: A stable isotope approach. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 66, 612–623. doi: 10.1016/j.ecss.2005.11.007
- Guelinckx, J., Maes, J., Van Den Driessche, P., Geysen, B., Dehairs, F., Ollevier, F., 2007. Changes in delta C-13 and delta N-15 in different tissues of juvenile sand goby *Pomatoschistus minutus*: a laboratory diet-switch experiment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 341, 205–215. doi: 10.3354/meps341205
- Günther, C.C., Temming, A., Baumann, H., Huwer, B., Möllmann, C., Clemmesen, C., Herrmann, J.-P., 2012. A novel length back-calculation approach accounting for ontogenetic changes in the fish length-otolith size relationship during the early life of sprat (*Sprattus sprattus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 69, 1214–1229. doi: 10.1139/f2012-054
- Haines, E.B., Montague, C.L., 1979. Food Sources of Estuarine Invertebrates Analyzed Using <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C Ratios. *Ecology* 60, 48–56. doi:10.2307/1936467
- Håkanson, J.L., Coombs, S.H., Ré, P., 1994. Lipid and elemental composition of sprat (*Sprattus sprattus*) larvae at mixed and stratified sites in the German Bight of the North Sea. *ICES J. Mar. Sci. J. Cons.* 51, 147–154. doi: 10.1006/jmsc.1994.1016
- Halpern, B.S., Walbridge, S., Selkoe, K.A., Kappel, C.V., Micheli, F., D'Agrosa, C., Bruno, J.F., Casey, K.S., Ebert, C., Fox, H.E., Fujita, R., Heinemann, D., Lenihan, H.S., Madin, E.M.P., Perry, M.T.,



- Selig, E.R., Spalding, M., Steneck, R., Watson, R., 2008. A global map of human impact on marine ecosystems. *Science* 319, 948–952. doi: 10.1126/science.1149345
- Hansson, S., Hobbie, J.E., Elmgren, R., Larsson, U., Fry, B., Johansson, S., 1997. The stable nitrogen isotope ratio as a marker of food-web interactions and fish migration. *Ecology* 78, 2249–2257. doi: 10.2307/2265961
- Hansson, S., Rudstam, L.G., 1990. Eutrophication and Baltic fish communities. *Ambio* 19, 123–125.
- Harder, T., Dobretsov, S., Qian, P., 2004. Waterborne polar macromolecules act as algal antifoulants in the seaweed *Ulva reticulata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 274, 133–141. doi: 10.3354/meps274133
- Holbrook, S.J., Forrester, G.E., Schmitt, R.J., 2000. Spatial patterns in abundance of a damselfish reflect availability of suitable habitat. *Oecologia* 122, 109–120. doi: 10.1007/PL00008826
- Holden, M.J., Williams, T., 1974. The biology, movements and population dynamics of bass, *Dicentrarchus labrax*, in English waters. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 54, 91–107. doi: 10.1017/S0025315400022098
- Holmquist, J.G., 1997. Disturbance and gap formation in a marine benthic mosaic: influence of shifting macroalgal patches on seagrass structure and mobile invertebrates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 158, 121–130. doi: 10.3354/meps158121
- Hovenkamp, F., 1990. Growth differences in larval plaice *Pleuronectes platessa* in the Southern Bight of the North Sea as indicated by otolith increments and RNA-DNA ratios. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 58, 205–215.
- Hughes, B.B., Levey, M.D., Fountain, M.C., Carlisle, A.B., Chavez, F.P., Gleason, M.G., 2015. Climate mediates hypoxic stress on fish diversity and nursery function at the land-sea interface. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 8025–8030. doi: 10.1073/pnas.1505815112
- Hughes, R.M., Gakstatter, J.H., Shirazi, M.A., Omernik, J.M., 1982. An approach for determining biological integrity in flowing water, in: *Place Resource Inventories: Principles and Practices*. T.B. Brann, L.O.I.V. House, H.G. Lund (Eds.), Bethesda, MD, pp. 877–888.
- Hull, S.C., 1987. Macroalgal mats and species abundance: a field experiment. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 25, 519–532. doi: 10.1016/0272-7714(87)90112-0
- Isaksson, I., Pihl, L., 1992. Structural changes in benthic macrovegetation and associated epibenthic faunal communities. *Neth. J. Sea Res.* 30, 131–140. doi: 10.1016/0077-7579(92)90052-G
- Isaksson, I., Pihl, L., van Montfrans, J., 1994. Eutrophication-related changes in macrovegetation and foraging of young cod (*Gadus morhua* L.): a mesocosm experiment. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 177, 203–217. doi: 10.1016/0022-0981(94)90237-2
- Johnson, D.A., Welsh, B.L., 1985. Detrimental effects of *Ulva lactuca* (L.) exudates and low oxygen on estuarine crab larvae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 86, 73–83. doi: 10.1016/0022-0981(85)90043-7

- Johnston, I.A., 1981. Quantitative analysis of muscle breakdown during starvation in the marine flatfish *Pleuronectes platessa*. *Cell Tissue Res.* 214, 369–386.
- Jokinen, H., Wennhage, H., Lappalainen, A., Ådjers, K., Rask, M., Norkko, A., 2015. Decline of flounder (*Platichthys flesus* (L.)) at the margin of the species' distribution range. *J. Sea Res.* 105, 1–9. doi: 10.1016/j.seares.2015.08.001
- Jokinen, H., Wennhage, H., Ollus, V., Aro, E., Norkko, A., 2016. Juvenile flatfish in the northern Baltic Sea — long-term decline and potential links to habitat characteristics. *J. Sea Res., Proceedings of the Ninth International Symposium on Flatfish Ecology 107, Part 1*, 67–75. doi: 10.1016/j.seares.2015.06.002
- Jones, M., Pinn, E., 2006. The impact of a macroalgal mat on benthic biodiversity in Poole Harbour. *Mar. Pollut. Bull.* 53, 63–71. doi: 10.1016/j.marpolbul.2005.09.018
- Jones, R.F., Baltz, D.M., Allen, R.L., 2002. Patterns of resource use by fishes and macroinvertebrates in Barataria Bay, Louisiana. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 237, 271–289. doi: 10.3354/meps237271
- K**amimura, Y., Shoji, J., 2013. Does macroalgal vegetation cover influence post-settlement survival and recruitment potential of juvenile black rockfish *Sebastes cheni*? *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 129, 86–93. doi: 10.1016/j.ecss.2013.05.028
- Karakiri, M., Berghahn, R., von Westernhagen, H., 1989. Growth differences in 0-group plaice as revealed by otolith microstructure analysis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 55, 15–22.
- Kerambrun, E., Henry, F., Rabhi, K., Amara, R., 2014. Effects of chemical stress and food limitation on the energy reserves and growth of turbot, *Scophthalmus maximus*. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 21, 13488–13495. doi: 10.1007/s11356-014-3281-1
- Kostecki, C., Le Loc'h, F., Roussel, J.-M., Desroy, N., Huteau, D., Riera, P., Le Bris, H., Le Pape, O., 2010. Dynamics of an estuarine nursery ground: the spatio-temporal relationship between the river flow and the food web of the juvenile common sole (*Solea solea*, L.) as revealed by stable isotopes analysis. *J. Sea Res., Proceedings of the Seventh International Symposium on Flatfish Ecology, Part I* 64, 54–60. doi:10.1016/j.seares.2009.07.006
- Kostecki, C., Rochette, S., Girardin, R., Blanchard, M., Desroy, N., Le Pape, O., 2011. Reduction of flatfish habitat as a consequence of the proliferation of an invasive mollusc. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 92, 154–160. doi: 10.1016/j.ecss.2010.12.026
- Kramer, D.L., 1987. Dissolved oxygen and fish behavior. *Environ. Biol. Fishes* 18, 81–92. doi: 10.1007/BF00002597
- Krygier, E., Pearcy, W., 1986. The role of estuarine and offshore nursery areas for young English sole, *Parophrys vetulus* Girard, of Oregon. *Fish. Bull.* 84, 119–132.
- L**argier, J.L., 1993. Estuarine fronts: how important are they? *Estuaries* 16, 1–11. doi: 10.2307/1352760
- Leakey, C.D.B., Attrill, M.J., Fitzsimons, M.F., 2009. Multi-element otolith chemistry of juvenile sole (*Solea solea*), whiting (*Merlangius merlangus*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*)

- in the Thames Estuary and adjacent coastal regions. *J. Sea Res.* 61, 268–274. doi: 10.1016/j.seares.2008.12.002
- Legendre, P., Legendre, L., 1998. Numerical ecology. Second English edition, Elsevier Science. ed. Amsterdam, The Netherlands.
- Lehvo, A., Bäck, S., 2001. Survey of macroalgal mats in the Gulf of Finland, Baltic Sea. *Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* 11, 11–18. doi: 10.1002/aqc.428
- Leis, J.M., Carson-Ewart, B.M., 2003. Orientation of pelagic larvae of coral-reef fishes in the ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 252, 239–253.
- Le Luherne, E., Réveillac, E., Ponsero, A., Sturbois, A., Ballu, S., Perdriau, M., Le Pape, O., 2016. Fish community responses to green tides in shallow estuarine and coastal areas. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 175, 79–92. doi: 10.1016/j.ecss.2016.03.031
- Lenanton, R.C.J., Potter, I.C., 1987. Contribution of estuaries to commercial fisheries in temperate Western Australia and the concept of estuarine dependence. *Estuaries* 10, 28–35. doi: 10.2307/1352022
- Le Pape, O., Bonhommeau, S., 2015. The food limitation hypothesis for juvenile marine fish. *Fish Fish.* 16, 373–398. doi: 10.1111/faf.12063
- Le Pape, O., Chauvet, F., Mahévas, S., Lazure, P., Guérault, D., Désaunay, Y., 2003. Quantitative description of habitat suitability for the juvenile common sole (*Solea solea*, L.) in the Bay of Biscay (France) and the contribution of different habitats to the adult population. *J. Sea Res.* 50, 139–149. doi: 10.1016/S1385-1101(03)00059-5
- Le Pape, O., Cognez, N., 2016. Which scale for the range of juvenile movements of estuarine and coastal nursery dependent flatfishes: a meta-analytical approach. *J. Sea Res.* 107, 43–55. doi: /S1385110115300058
- Levi, F., Francour, P., 2004. Behavioural response of *Mullus surmuletus* to habitat modification by the invasive macroalga *Caulerpa taxifolia*. *J. Fish Biol.* 64, 55 – 64. doi: 10.1111/j.1095-8649.2004.00280.x
- Little, E.E., 2002. Behavioural measures of environmental stressors in fish, in: *Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress*. Adams, Bethesda, Maryland, pp. 431–472.
- Lloret, J., Shulman, G.E., Love, R.M., 2014. Condition and health indicators of exploited marine fishes. Wiley Blackwell, Oxford.
- Logan, J.M., Jardine, T.D., Miller, T.J., Bunn, S.E., Cunjak, R.A., Lutcavage, M.E., 2008. Lipid corrections in carbon and nitrogen stable isotope analyses: comparison of chemical extraction and modelling methods. *J. Anim. Ecol.* 77, 838–846. doi: 10.1111/j.1365-2656.2008.01394.x
- Lotze, H.K., Lenihan, H.S., Bourque, B.J., Bradbury, R.H., Cooke, R.G., Kay, M.C., Kidwell, S.M., Kirby, M.X., Peterson, C.H., Jackson, J.B.C., 2006. Depletion, degradation, and recovery potential of estuaries and coastal seas. *Science* 312, 1806–1809. doi: 10.1126/science.1128035
- Lyons, D.A., Arvanitidis, C., Blight, A.J., Chatzinikolaou, E., Guy-Haim, T., Kotta, J., Orav-Kotta, H., Queirós, A.M., Rilov, G., Somerfield, P.J., Crowe, T.P., 2014. Macroalgal blooms alter

community structure and primary productivity in marine ecosystems. *Glob. Change Biol.* 20, 2712–2724. doi: 10.1111/gcb.12644

**M**ackenzie, J., 2005. Removal of sea lettuce, *Ulva* spp., in estuaries to improve the environments for invertebrates, fish, wading birds, and eelgrass, *Zostera marina*. *Mar. Fish. Rev.* 67, 1–8.

Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H.N., Vinagre, C., Diniz, M.S., 2013. Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 166, 237–243. doi: 10.1016/j.cbpa.2013.06.008

Magre, E.J., 1974. *Ulva lactuca* negatively affect *Balanus balanoides* (Cirripedia Thoracia) in tidepools. *Crustaceana* 27, 231–234.

Manderson, J.P., Phelan, B.A., Stoner, A.W., Hilbert, J., 2000. Predator–prey relations between age-1+ summer flounder (*Paralichthys dentatus*, Linnaeus) and age-0 winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*, Walbaum): predator diets, prey selection, and effects of sediments and macrophytes. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 251, 17–39. doi: 10.1016/S0022-0981(00)00191-X

Manté, C., Claudet, J., Rebzani-Zahaf, C., 2003. Fairly processing rare and common species in multivariate analysis of ecological series. Application to macrobenthic communities from Algiers harbour. *Acta Biotheor.* 51, 277–294.

McNatt, R.A., Rice, J.A., 2004. Hypoxia-induced growth rate reduction in two juvenile estuary-dependent fishes. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 311, 147–156. doi: 10.1016/j.jembe.2004.05.006

Menesguen, A., 2003. Les “marées vertes” en Bretagne, la responsabilité du nitrate.

Menesguen, A., Salomon, J.C., 1988. Eutrophication modelling as a tool for fighting against *Ulva* coastal mass blooms, in: *Computer Modelling in Ocean Engineering, Proceedings of First International Conference, September 19–22, 1988. Venice (Italy) Balkema, Rotterdam*, pp. 443–450.

Merceron, M., Antoine, V., Auby, I., Morand, P., 2007. *In situ* growth potential of the subtidal part of green tide forming *Ulva* spp. stocks. *Sci. Total Environ.* 384, 293–305. doi: 10.1016/j.scitotenv.2007.05.007

Miller, J.M., Reed, J.P., Pietrafesa, L.J., 1984. Patterns, Mechanisms and Approaches to the Study of Migrations of Estuarine-Dependent Fish Larvae and Juveniles, in: McCleave J.D., Arnold G.P., Dodson J.J. and Neill, W.H. (Eds.), *Mechanisms of Migration in Fishes*, NATO Conference Series. Springer US, pp. 209–225.

Miller Neilan, R., Rose, K., 2014. Simulating the effects of fluctuating dissolved oxygen on growth, reproduction, and survival of fish and shrimp. *J. Theor. Biol.* 343, 54–68. doi: 10.1016/j.jtbi.2013.11.004

Minier, C., Amara, R., Lepage, M., 2015. Fish as Reference Species in Different Water Masses, in: *Aquatic Ecotoxicology: Advancing Tools for Dealing with Emerging Risks. Amiard-Triquet C., Amiard J.C. and Mouneyrac C. (Eds.)*, pp. 309–331.

Moore, J.W., Moore, I.A., 1976. The basis of food selection in some estuarine fishes. Eels, *Anguilla anguilla* (L.), whiting, *Merlangius merlangus* (L.), sprat, *Sprattus sprattus* (L.) and

stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. J. Fish Biol. 9, 375–390. doi: 10.1111/j.1095-8649.1976.tb04686.x

Morand, P., Briand, X., 1996. Excessive growth of macroalgae: a symptom of environmental disturbance. Bot. Mar. 39, 491–516. doi: 10.1515/botm.1996.39.1-6.491

Munk, P., 1993. Differential growth of larval sprat *Sprattus sprattus* across a tidal front in the eastern North Sea. Mar. Ecol. - Prog. Ser. 99, 17–27.

**N**'da, K., 1992. Régime alimentaire du rouget de roche *Mullus surmuletus* (Mullidae) dans le Nord du Golfe de Gascogne. Cybium 16, 159–167.

Nelson, T.A., Lee, D.J., Smith, B.C., 2003. Are “green Tides” Harmful Algal Blooms? Toxic properties of water-soluble extracts from two bloom-forming macroalgae, *Ulva fenestrata* and *Ulvaria obscura* (Ulvophyceae). J. Phycol. 39, 874–879. doi: 10.1046/j.1529-8817.2003.02157.x

Nicolas, D., Lobry, J., Lepage, M., Sautour, B., Le Pape, O., Cabral, H., Uriarte, A., Boët, P., 2010a. Fish under influence: A macroecological analysis of relations between fish species richness and environmental gradients among European tidal estuaries. Estuar. Coast. Shelf Sci. 86, 137–147. doi: 10.1016/j.ecss.2009.11.006

Nicolas, D., Lobry, J., Le Pape, O., Boët, P., 2010b. Functional diversity in European estuaries: Relating the composition of fish assemblages to the abiotic environment. Estuar. Coast. Shelf Sci. 88, 329–338. doi: 10.1016/j.ecss.2010.04.010

Nordström, M., Booth, D.M., 2007. Drift algae reduce foraging efficiency of juvenile flatfish. J. Sea Res. 58, 335–341. doi: 10.1016/j.seares.2007.08.001

Norkko, A., Bonsdorff, E., 1996a. Population responses of coastal zoobenthos to stress induced by drifting algal mats. Mar. Ecol. Prog. Ser. 140, 141–151. doi: 10.3354/meps140141

Norkko, A., Bonsdorff, E., 1996b. Rapid zoobenthic community responses to accumulations of drifting algae. Mar. Ecol. Prog. Ser. 131, 143–157. doi: 10.3354/meps131143

Norkko, J., Bonsdorff, E., Norkko, A., 2000. Drifting algal mats as an alternative habitat for benthic invertebrates: species specific responses to a transient resource. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 248, 79–104. doi: 10.1016/S0022-0981(00)00155-6

Ntiba, M.J., Harding, D., 1993. The food and the feeding habits of the long rough dab, *Hippoglossoides platessoides* (Fabricius 1780) in the North Sea. Neth. J. Sea Res. 31, 189–199. doi: 10.1016/0077-7579(93)90009-H

**Ó**lafsson, E.B., 1988. Inhibition of larval settlement to a soft bottom benthic community by drifting algal mats: An experimental test. Mar. Biol. 97, 571–574. doi: 10.1007/BF00391053

Olaso, I., Gutiérrez, J.L., Villamor, B., Carrera, P., Valdés, L., Abaunza, P., 2005. Seasonal changes in the north-eastern Atlantic mackerel diet (*Scomber scombrus*) in the north of Spain (ICES Division VIIIc). J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 85, 415–418. doi: 10.1017/S0025315405011343h

- Orr, K.K., Wilding, T.A., Horstmeyer, L., Weigl, S., Heymans, J.J., 2014. Detached macroalgae: Its importance to inshore sandy beach fauna. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, Special Issue on Sandy Beaches 150, Part A, 125–135. doi: 10.1016/j.ecss.2013.12.011
- Österling, M., Pihl, L., 2001. Effects of filamentous green algal mats on benthic macrofaunal functional feeding groups. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 263, 159–183. doi: 10.1016/S0022-0981(01)00304-5
- Ouisse, V., Riera, P., Migné, A., Leroux, C., Davoult, D., 2011. Freshwater seepages and ephemeral macroalgae proliferation in an intertidal bay: Effect on benthic community structure and food web. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 91, 272–281. doi: 10.1016/j.ecss.2010.10.034
- P**arker, K.R., Wiens, J.A., 2005. Assessing recovery following environmental accidents: Environmental variation, ecological assumptions and strategies. *Ecol. Appl.* 15, 2037–2051. doi: 10.1890/04-1723
- Pasquaud, S., Vasconcelos, R.P., França, S., Henriques, S., Costa, M.J., Cabral, H., 2015. Worldwide patterns of fish biodiversity in estuaries: Effect of global vs. local factors. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 154, 122–128. doi: 10.1016/j.ecss.2014.12.050
- Peck, M.A., Baumann, H., Clemmesen, C., Herrmann, J.-P., Moyano, M., Temming, A., 2015. Calibrating and comparing somatic-, nucleic acid-, and otolith-based indicators of growth and condition in young juvenile European sprat (*Sprattus sprattus*). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 471, 217–225. doi: 10.1016/j.jembe.2015.06.011
- Perkins, E.J., Abbott, O.J., 1972. Nutrient enrichment and sand flat fauna. *Mar. Pollut. Bull.* 3, 70–72. doi: 10.1016/0025-326X(72)90162-2
- Perrot, T., Rossi, N., Menesguen, A., Dumas, F., 2014. Modelling green macroalgal blooms on the coasts of Brittany, France to enhance water quality management. *J. Mar. Syst.* 132, 38–53. doi: 10.1016/j.jmarsys.2013.12.010
- Petersen, J.K., Petersen, G.I., 1990. Tolerance, behaviour and oxygen consumption in the sand goby, *Pomatoschistus minutus* (Pallas), exposed to hypoxia. *J. Fish Biol.* 37, 921–933. doi: 10.1111/j.1095-8649.1990.tb03596.x
- Petersen, J.K., Pihl, L., 1995. Responses to hypoxia of plaice, *Pleuronectes platessa*, and dab, *Limanda limanda*, in the south-east Kattegat: distribution and growth. *Environ. Biol. Fishes* 43, 311–321. doi: 10.1007/BF00005864
- Peterson, B.J., Fry, B., 1987. Stable Isotopes in Ecosystem Studies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18, 293–320. doi: 10.1146/annurev.es.18.110187.001453
- Peterson, C.H., Summerson, H.C., Thomson, E., Lenihan, H.S., Grabowski, J., Manning, L., Micheli, F., Johnson, G., 2000. Synthesis of linkages between benthic and fish communities as a key to protecting essential fish habitat. *Bull. Mar. Sci.* 66, 759–774.
- Phelan, B.A., Goldberg, R., Bejda, A.J., Pereira, J., Hagan, S., Clark, P., Studholme, A.L., Calabrese, A., Able, K.W., 2000. Estuarine and habitat-related differences in growth rates of young-of-the-year winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) and tautog (*Tautoga onitis*) in three northeastern US estuaries. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 247, 1–28. doi: 10.1016/S0022-0981(99)00184-7

- Piet, G.J., Rijnsdorp, A.D., 1998. Changes in the demersal fish assemblage in the south-eastern North Sea following the establishment of a protected area ("plaice box"). *ICES J. Mar. Sci. J. Cons.* 55, 420–429. doi: 10.1006/jmsc.1997.0327
- Pihl, L., Isaksson, I., Wennhage, H., Moksnes, P.-O., 1995. Recent increase of filamentous algae in shallow Swedish bays: Effects on the community structure of epibenthic fauna and fish. *Netherland J. Aquat. Ecol.* 29, 349–358. doi: 10.1007/BF02084234
- Pihl, L., Modin, J., Wennhage, H., 2005. Relating plaice (*Pleuronectes platessa*) recruitment to deteriorating habitat quality: effects of macroalgal blooms in coastal nursery grounds. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 62, 1184–1193. doi: 10.1139/f05-023
- Pihl, L., van der Veer, H., 1992. Importance of exposure and habitat structure for the population density of 0-group plaice, *Pleuronectes platessa* L, in coastal nursery areas. *Neth. J. Sea Res.* 29, 145–152. doi: 10.1016/0077-7579(92)90015-7
- Pockberger, M., Kellnreitner, F., Ahnelt, H., Asmus, R., Asmus, H., 2014. An abundant small sized fish as keystone species? The effect of *Pomatoschistus microps* on food webs and its trophic role in two intertidal benthic communities: A modeling approach. *J. Sea Res.* 86, 86–96. doi: 10.1016/j.seares.2013.11.008
- Post, J.R., Parkinson, E.A., 2001. Energy Allocation Strategy in Young Fish: Allometry and Survival. *Ecology* 82, 1040–1051. doi: 10.2307/2679901
- Post, D.M., Layman, C.A., Arrington, D.A., Takimoto, G., Quattrochi, J., Montaña, C.G., 2007. Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia* 152, 179–189. doi:10.1007/s00442-006-0630-x
- Potter, I.C., Loneragan, N.R., Lenanton, R.C.J., Chrystal, P.J., 1983. Blue-green algae and fish population changes in a eutrophic estuary. *Mar. Pollut. Bull.* 14, 228–233. doi: 10.1016/0025-326X(83)90257-6
- Q**uillien, N., Nordström, M.C., Schaal, G., Bonsdorff, E., Grall, J., 2016. Opportunistic basal resource simplifies food web structure and functioning of a highly dynamic marine environment. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 477, 92–102. doi: 10.1016/j.jembe.2016.01.010
- Quillien, N., Nordström, M., Gauthier, O., Bonsdorff, E., Paulet, Y.-M., Grall, J., 2015. Effects of macroalgal accumulations on the variability in zoobenthos of high-energy macrotidal sandy beaches. *Mar. Ecol. - Prog. Ser.* 522, 97–114. doi: 10.3354/meps11151
- Quiniou, L., 1986. Les peuplements de poissons démersaux de la pointe de Bretagne : environnement, biologie, structure démographique, relations trophiques. Université de Bretagne Occidentale. Brest.
- R**affaelli, D., 2000. Interactions between macro-algal mats and invertebrates in the Ythan estuary, Aberdeenshire, Scotland. *Helgol. Mar. Res.* 54, 71–79. doi: 10.1007/s101520050004
- Raffaelli, D.G., Raven, J.A., Poole, L.J., 1998. Ecological impact of green macroalgal blooms. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 36, 97–125.

- R Development Core Team, 2012. R: a Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Reglero, P., Mosegaard, H., Hinrichsen, H.H., 2007. Date of otolith first increment formation in Baltic sprat *Sprattus sprattus* and its relation to onset of maturity. Mar. Ecol. Prog. Ser. 330, 223–233. doi: 10.3354/meps330223
- Regner, S., Dulčić, J., 1994. Growth of sea bass, *Dicentrarchus labrax*, larval and juvenile stages and their otoliths under quasi-steady temperature conditions. Mar. Biol. 119, 169–177. doi: 10.1007/BF00349553
- Rey, J., Fernandez-Peralta, L., Quintanilla, L.F., Hidalgo, M., Presas, C., Salmeron, F., Puerto, M.A., 2015. Contrasting energy allocation strategies of two sympatric *Merluccius* species in an upwelling system. J. Fish Biol. 86, 1078–1097. doi: 10.1111/jfb.12619
- Riedel, B., Zuschin, M., Stachowitsch, M., 2012. Tolerance of benthic macrofauna to hypoxia and anoxia in shallow coastal seas: a realistic scenario. Mar. Ecol. Prog. Ser. 458, 39–52. doi: 10.3354/meps09724
- Rijnsdorp, A.D., Stralen, M.V., Veer, H.W.V.D., 1985. Selective Tidal Transport of North Sea Plaice Larvae *Pleuronectes platessa* in Coastal Nursery Areas. Trans. Am. Fish. Soc. 114, 461–470. doi: 10.1577/1548-8659(1985)114<461:STTONS>2.0.CO;2
- Robertson, A.I., Lenanton, R.C.J., 1984. Fish community structure and food chain dynamics in the surf-zone of sandy beaches: The role of detached macrophyte detritus. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 84, 265–283. doi: 10.1016/0022-0981(84)90185-0
- Rochette, S., Huret, M., Rivot, E., Le Pape, O., 2012. Coupling hydrodynamic and individual-based models to simulate long-term larval supply to coastal nursery areas. Fish. Oceanogr. 21, 229–242. doi:10.1111/j.1365-2419.2012.00621.x
- Rossi, N., 2011. Classement DCE des masses d'eau côtières et de transition des bassins Loire-Bretagne et Seine-Normandie. Pleubian, France.
- Rotherham, D., Gray, C.A., Johnson, D.D., Lokys, P., 2008. Effects of diel period and tow duration on estuarine fauna sampled with a beam trawl over bare sediment: Consequences for designing more reliable and efficient surveys. Estuar. Coast. Shelf Sci. 78, 179–189. doi: 10.1016/j.ecss.2007.11.019
- S**agasti, A., Schaffner, L.C., Duffy, J.E., 2001. Effects of periodic hypoxia on mortality, feeding and predation in an estuarine epifaunal community. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 258, 257–283. doi: 10.1016/S0022-0981(01)00220-9
- Saucerman, S.E., Deegan, L.A., 1991. Lateral and cross-channel movement of young-of-the-year winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) in Waquoit Bay, Massachusetts. Estuaries 14, 440–446. doi: 10.2307/1352268
- Scanlan, C.M., Foden, J., Wells, E., Best, M.A., 2007. The monitoring of opportunistic macroalgal blooms for the water framework directive. Mar. Pollut. Bull. 55, 162–171. doi: 10.1016/j.marpolbul.2006.09.017



- Schlacher, T.A., Schoeman, D.S., Dugan, J., Lastra, M., Jones, A., Scapini, F., McLachlan, A., 2008. Sandy beach ecosystems: key features, sampling issues, management challenges and climate change impacts. *Mar. Ecol.* 29, 70–90. doi: 10.1111/j.1439-0485.2007.00204.x
- Seitz, R.D., Wennhage, H., Bergström, U., Lipcius, R.N., Ysebaert, T., 2014. Ecological value of coastal habitats for commercially and ecologically important species. *ICES J. Mar. Sci. J. Cons.* 648–665. doi: 10.1093/icesjms/fst152
- Selleslagh, J., Amara, R., 2013. Effect of starvation on condition and growth of juvenile plaice *Pleuronectes platessa*: nursery habitat quality assessment during the settlement period. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 93, 479–488. doi: 10.1017/S0025315412000483
- Sfriso, A., Pavoni, B., Marcomini, A., Orio, A.A., 1992. Macroalgae, nutrient cycles, and pollutants in the Lagoon of Venice. *Estuaries* 15, 517–528. doi: 10.2307/1352394
- Sluka, R.D., Chiappone, M., Sealey, K.M.S., 2001. Influence of habitat on grouper abundance in the Florida Keys, U.S.A. *J. Fish Biol.* 58, 682–700. doi: 10.1111/j.1095-8649.2001.tb00522.x
- Smetacek, V., Zingone, A., 2013. Green and golden seaweed tides on the rise. *Nature* 504, 84–88. doi: 10.1038/nature12860
- Sogard, S.M., 1997. Size-selective mortality in the juvenile stage of teleost fishes: A review. *Bull. Mar. Sci.* 60, 1129–1157.
- Sogard, S.M., Able, K.W., 1991. A comparison of eelgrass, sea lettuce macroalgae, and marsh creeks as habitats for epibenthic fishes and decapods. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 33, 501–519. doi: 10.1016/0272-7714(91)90087-R
- Solidoro, C., Brando, V.E., Dejak, C., Franco, D., Pastres, R., Pecenic, G., 1997. Long term simulations of population dynamics of *Ulva r.* in the lagoon of Venice. *Ecol. Model.* 102, 259–272. doi: 10.1016/S0304-3800(97)00060-4
- Soulsby, P.G., Lowthion, D., Houston, M., 1982. Effects of macroalgal mats on the ecology of intertidal mudflats. *Mar. Pollut. Bull.* 13, 162–166. doi: 10.1016/0025-326X(82)90087-X
- Stevenson, D.K., Campana, S.E., 1992. Otolith microstructure examination and analysis. *Can. Spec. Pub. Fish. Aquat. Sci.* 117-126.
- Stoner, A.W., 2003. What constitutes essential nursery habitat for a marine species? A case study of habitat form and function for queen conch. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 257, 275–289.
- Stoner, A.W., Manderson, J.P., Pessutti, J.P., 2001. Spatially explicit analysis of estuarine habitat for juvenile winter flounder: combining generalized additive models and geographic information systems. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 213, 253–271. doi: 10.3354/meps213253
- Suthers, I.M., 1998. Bigger? Fatter? Or is faster growth better? Considerations on condition in larval and juvenile coral-reef fish. *Aust. J. Ecol.* 23, 265–273. doi: 10.1111/j.1442-9993.1998.tb00730.x
- Suzuki, K.W., Kasai, A., Nakayama, K., Tanaka, M., 2005. Differential isotopic enrichment and half-life among tissues in Japanese temperate bass (*Lateolabrax japonicus*) juveniles: implications for analyzing migration. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 62, 671–678. doi: 10.1139/f04-231

Svensson, E., Freitas, V., Schouten, S., Middelburg, J.J., van der Veer, H.W., Sinninghe Damsté, J.S., 2014. Comparison of the stable carbon and nitrogen isotopic values of gill and white muscle tissue of fish. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 457, 173–179. doi:10.1016/j.jembe.2014.04.014

**T**arpgaard, E., Mogensen, M., Grønkjær, P., Carl, J., 2005. Using short-term growth of enclosed 0-group European flounder, *Platichthys flesus*, to assess habitat quality in a Danish bay. *J. Appl. Ichthyol.* 21, 53 – 63. doi: 10.1111/j.1439-0426.2004.00626.x

Taylor, J.C., Miller, J.M., 2001. Physiological performance of juvenile southern flounder, *Paralichthys lethostigma* (Jordan and Gilbert, 1884), in chronic and episodic hypoxia. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 258, 195–214. doi: 10.1016/S0022-0981(01)00215-5

Teichberg, M., Fox, S.E., Olsen, Y.S., Valiela, I., Martinetto, P., Iribarne, O., Muto, E.Y., Petti, M. a. V., Corbisier, T.N., Soto-Jiménez, M., Páez-Osuna, F., Castro, P., Freitas, H., Zitelli, A., Cardinaletti, M., Tagliapietra, D., 2010. Eutrophication and macroalgal blooms in temperate and tropical coastal waters: nutrient enrichment experiments with *Ulva* spp. *Glob. Change Biol.* 16, 2624–2637. doi: 10.1111/j.1365-2486.2009.02108.x

Thetmeyer, H., Waller, U., Black, K.D., Inselmann, S., Rosenthal, H., 1999. Growth of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under hypoxic and oscillating oxygen conditions. *Aquaculture* 174, 355–367. doi: 10.1016/S0044-8486(99)00028-9

Thillart, G. van den, Vianen, G., Zaagsma, J., 2002. Adrenergic regulation of lipid mobilization in fishes: a possible role in hypoxia survival. *Fish Physiol. Biochem.* 27, 189–204. doi: 10.1023/B:FISH.0000032754.42056.cb

Trimoreau, E., Archambault, B., Brind'Amour, A., Lepage, M., Guitton, J., Le Pape, O., 2013. A quantitative estimate of the function of soft-bottom sheltered coastal areas as essential flatfish nursery habitat. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 133, 193–205. doi: 10.1016/j.ecss.2013.08.027

Turner, R.E., Boesch, D.F., 1987. Aquatic animal production and wetland relationships: Insights gleaned following wetland loss or gain, in: *The Ecology and Management of Wetlands*. Springer US, pp. 25–39.

**V**aliela, I., McClelland, J., Hauxwell, J., Behr, P.J., Hersh, D., Foreman, K., 1997. Macroalgal blooms in shallow estuaries: Controls and ecophysiological and ecosystem consequences. *Limnol. Oceanogr.* 42, 1105–1118.

van der Veer, H.W., Berghahn, R., Miller, J.M., Rijnsdorp, A.D., 2000. Recruitment in flatfish, with special emphasis on North Atlantic species: Progress made by the Flatfish Symposia. *ICES J. Mar. Sci.* 57, 202–215.

Vasconcelos, R.P., Eggleston, D.B., Le Pape, O., Tulp, I., 2013. Patterns and processes of habitat-specific demographic variability in exploited marine species. *ICES J. Mar. Sci. J. Cons.* 71, 638 – 647. doi: 10.1093/icesjms/fst136

Vinagre, C., Madeira, D., Mendonça, V., Dias, M., Roma, J., Diniz, M.S., 2014. Effect of increasing temperature in the differential activity of oxidative stress biomarkers in various tissues of

the Rock goby, *Gobius paganellus*. Mar. Environ. Res. 97, 10–14. doi: 10.1016/j.marenvres.2014.01.007

Vinagre, C., Salgado, J., Costa, M.J., Cabral, H.N., 2008. Nursery fidelity, food web interactions and primary sources of nutrition of the juveniles of *Solea solea* and *Solea senegalensis* in the Tagus estuary (Portugal): A stable isotope approach. Estuar. Coast. Shelf Sci. 76, 255–264. doi: 10.1016/j.ecss.2007.07.006

**W**ang, C., Yu, R., Zhou, M., 2011. Acute toxicity of live and decomposing green alga *Ulva prolifera* (Enteromorpha) to abalone *Haliotis discus hannai*. Chin J Ocean. Limn 29, 541–546. doi: 10.1007/s00343-011-0126-3

Wennhage, H., 2002. Vulnerability of newly settled plaice (*Pleuronectes platessa* L.) to predation: effects of habitat structure and predator functional response. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 269, 129–145. doi: 10.1016/S0022-0981(02)00005-9

Wennhage, H., Pihl, L., 2007. From flatfish to sticklebacks: assemblage structure of epibenthic fauna in relation to macroalgal blooms. Mar. Ecol. Prog. Ser. 335, 187–198. doi: 10.3354/meps335187

Wennhage, H., Pihl, L., 1994. Substratum selection by juvenile plaice (*Pleuronectes platessa* L.): Impact of benthic microalgae and filamentous macroalgae. Neth. J. Sea Res. 32, 343–351. doi: 10.1016/0077-7579(94)90011-6

Wetzel, M., Weber, A., Giere, O., 2002. Re-colonization of anoxic/sulfidic sediments by marine nematodes after experimental removal of macroalgal cover. Mar. Biol. 141, 679–689. doi: 10.1007/s00227-002-0863-0

Whitfield, A.K., 1986. Fish community structure response to major habitat changes within the littoral zone of an estuarine coastal lake. Environ. Biol. Fishes 17, 41–51. doi: 10.1007/BF00000399

Wilson, K.A., Able, K.W., Heck, K.L., 1990. Predation rates on juvenile blue crabs in estuarine nursery habitats: evidence for the importance of macroalgae (*Ulva lactuca*). Mar. Ecol. Prog. Ser. 58, 243–251.

**Y**amashita, Y., Tanaka, M., Miller, J.M., 2001. Ecophysiology of juvenile flatfish in nursery grounds. J. Sea Res. 45, 205–218. doi: 10.1016/S1385-1101(01)00049-1

Ye, N., Zhang, X., Mao, Y., Liang, C., Xu, D., Zou, J., Zhuang, Z., Wang, Q., 2011. “Green tides” are overwhelming the coastline of our blue planet: taking the world’s largest example. Ecol. Res. 26, 477–485. doi: 10.1007/s11284-011-0821-8

**Z**hou, M.-J., Liu, D.-Y., Anderson, D.M., Valiela, I., 2015. Introduction to the Special Issue on green tides in the Yellow Sea. Estuar. Coast. Shelf Sci., Special Issue: Green Tides in the Yellow Sea 163, Part A, 3–8. doi: 10.1016/j.ecss.2015.06.023



# **Annexe 1**

## **Impacts des marées vertes sur l'ichtyofaune des systèmes estuariens**

*Cette étude a été réalisée par Alexis Paumier, stagiaire en Master 2 de Sciences biologiques marines en spécialisation Approche écosystémique de l'halieutique. Ce stage a été encadrée par Olivier Le Pape et Elodie Réveillac.*



AGROCAMPUS  
OUEST

CFR Angers

CFR Rennes



Année universitaire : 2015-2016

Mention :

Sciences biologiques marines (SBM)

Spécialisation :

Approche écosystémique de l'halieutique (AEH)

### Mémoire de fin d'études

- d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage
- de Master de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage
- d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)

## IMPACTS OF GREEN TIDES ON ICHTHYOFAUNA IN ESTUARINE ECOSYSTEMS

Par : Alexis PAUMIER



***Soutenu à Agrocampus Ouest le 13/09/2016***

***Devant le jury composé de :***

Président : Hervé Le Bris (Agrocampus-Ouest Rennes)

Autres membres du jury : David Causeur (Agrocampus-Ouest Rennes)

Alexandre Carpentier (Université de Rennes 1)

Maîtres de stage : Olivier Le Pape (Agrocampus-Ouest Rennes)

Elodie Réveillac (Agrocampus-Ouest Rennes)

Enseignant référent : Hervé Le Bris

*Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST*

Ce document est soumis aux conditions d'utilisation  
«Patrimoine-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de Modification 4.0 France»  
disponible en ligne <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>







“**L**a science est un jeu dont la règle du jeu consiste à trouver  
quelle est la règle du jeu.”

François Cavanna

## **Acknowledgments**

---

This work was supported by the fisheries organization France Filière Pêche and the Loire-Bretagne Water Agency. We would thank Irstea and the European research project MARS (Managing Aquatic Ecosystems and Water Resources under Multiple Stress), for providing results used in this study.

## **Remerciements**

---

Je tiens à remercier les membres de jury Hervé le Bris, Alexandre Carpentier et David Causeur pour leur participation.

Je remercie grandement mon maitre de stage Olivier Le Pape pour son encadrement durant ce stage, sa disponibilité et son soutien pour la recherche de thèse. Je remercie également Elodie Réveillac pour ses remarques pertinentes et ses conseils tout au long du stage. Un grand merci à Emilie Le Luherne (bien orthographié) pour tout... le mois d'août était bien dur sans sa présence.

Merci à tout le personnel du pôle halieutique pour le vendredi soir et tous les autres jours de la semaine. Merci à Didier, Jérôme, Marie, Morgane, Shani, Etienne, Martin, Elodie, Maxime (surtout pour le risotto et les lasagnes), Erwan, Mathieu (le petit), Sophie et Catherine.

Enfin, comment ne pas remercier mes acolytes stagiaires Aurore (nouvelle secrétaire officielle pour la traduction d'Olivier), Matthieu et TIC (P-Y). Merci pour tous ces moments passés au labo et les superbes soirées en ville (hein P-Y...). Je vous souhaite le meilleur pour l'avenir, et qu'on se retrouve à chaque AFH.

Je remercie Rachel (fraichement maitresse des écoles) pour cette année dans le « grand Nord » à la découverte de la Bretagne.

# Contents

---

<b>1. Introduction .....</b>	<b>1211</b>
1.1 Coastal systems – productivities, richness and functions.....	121
1.2 Green tides – an anthropogenic change of estuarine systems.....	122
1.3 Study aims.....	125
<b>2. Materials and methods .....</b>	<b>125</b>
2.1 Study areas and beam trawl data.....	125
2.2 General approach.....	126
2.3 Metrics of fish community.....	127
2.4 Environmental drivers of fish community.....	129
2.5 Descriptors of green tides at different scales.....	130
2.6 Preliminary data analyses.....	132
2.7 Statistical models.....	134
<b>3. Results.....</b>	<b>137</b>
3.1 Fish metrics.....	137
3.2 Preliminary analyses.....	137
3.3 Effect of green tides at estuarine area scale.....	140
3.4 Effect of green tides at local scale of proliferation.....	144
<b>4. Discussion.....</b>	<b>147</b>
4.1 A preliminary description of fish community in estuarine systems.....	147
4.2 Environmental drivers of fish community.....	148
4.3 Impacts of green tides on fish community at different scales.....	149
4.4 Perspective.....	151
<b>5. References.....</b>	<b>152</b>
<b>6. Appendices.....</b>	<b>156</b>
6.1 Appendix I – Measures of the 19 morphological traits.....	156
6.2 Appendix II – Results of the GAM for Autumn and Spring.....	158
6.3 Appendix III – Validation of the models for positive densities.....	170



# 1. Introduction

## 1.1. Coastal systems – productivities, richness and functions

Coastal ecosystems represent a continuum between the land and the ocean where freshwater and seawater are mixed together (fig.1). Freshwater, characterized by huge concentration of nutrient (i.e. N, P and Si) derived from land drainage, contributes to enhance the primary production of coastal ecosystems and makes estuary the highest productive system on earth (Costanza et al., 1997; Underwood and Kromkamp, 1999). The strong primary production located on the coastal area contributes to a high concentration of food available for secondary consumers (Largier, 1993; Holbrook et al., 2000).

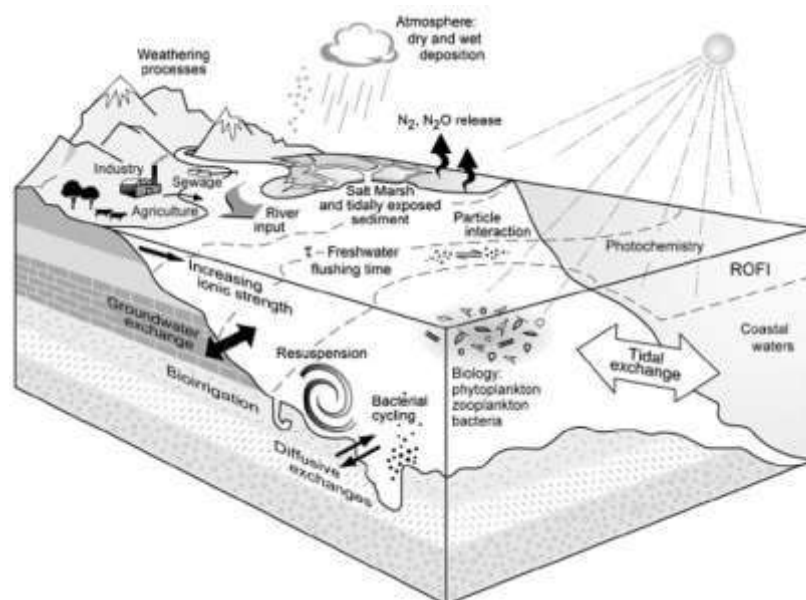


Figure 1: Estuarine system features by Statham in 2012

This high secondary production is one of the reason why the coastal systems provide major ecological services to the fish community (Seitz et al., 2014). These services take various forms: the major service performed by estuarine and coastal systems to ichthyofauna is the nursery function. A nursery is defined as a restricted area where juvenile's growth is stimulated (Gibson, 1994). After the larval transport, larvae metamorphose in marine juveniles and settle in estuarine and coastal systems during spring. The success of settlement depends of the larval input and on the quality of the nursery (Pihl et al., 2005). The growth of juvenile fish is enhanced by the presence of favorable conditions such as foods, temperature and shelter. Quality of the coastal habitat plays a key role for the marine fish species renewal, and in this way is essential for the fishery (Seitz et al., 2014). In fact, the recruitment success (*i.e.* when juvenile join the reproductive population) depends on the growth

which occurs in the nursery zone (Gibson, 1994). This nursery function represents the most important function for fishery. In fact 30% of ICES species in Northeast Atlantic rely on this nursery function of coastal and estuarine systems (Seitz et al., 2014).

The availability of food attracts not only juveniles but adults. Estuaries and coast represent also feeding grounds for numerous fish. In 2014, Seitz et al revealed that 20% of the 59 Northeast Atlantic fish species evaluated by the ICES foraged in estuarine and coastal systems at adult stage. Some fish are subservient to this type of ecosystem. Estuarine areas are thus a permanent habitat for many resident species.

Finally, estuarine and coastal systems constitute crucial area for reproduction. Some fish use these ecosystems as migration corridors. While anadromous fish migrate through estuaries from sea to fresh water for reproduction, catadromous fish have opposite migration. The spawning function depends on estuarine and coastal ecosystems for 10 % of the ICES species and migration routes for 8 % (Seitz et al., 2014).

The different ecological services (i.e. nursery, food area, reproductive area and migration corridor) are thus essential for the fishery. Indeed 77 % of the cumulative landings of commercial fish in Northeast Atlantic are dependent from estuarine and coastal habitats (Seitz et al., 2014). These species represented 6 556 411 tons of landings in 2010. In addition to this economical interest and value of estuaries, these ecosystems are also essential for non-commercial fish and organism which contributes to a healthy ocean environment.

## 1.2. Green tides – an anthropogenic change of estuarine systems

Estuarine and coastal areas are subject to a high human activity. 60% of the human population lives near to the coasts and along estuaries. This population is expected to increase in the next decades (Beck and Airoldi, 2007). The attractiveness of coastal shore is explained by the ecological services dispensed by this ecosystem for the human population (Costanza et al., 1997). The growing human activity leads to degradations of the coastal and estuarine ecosystems.

### 1.2.1 Description of green tides

Organic and inorganic nutrients (i.e. phosphorus, nitrogen, silicium) are one of the sources of degradation caused by urbanization, industry and agriculture (Diaz and Rosenberg, 2008; Liu et al., 2013; Lyons et al., 2014). The increase of nutrient concentration coupled with low residual hydrodynamic conditions (i.e. after removing cyclic tidal circulation) within estuarine areas, leads to

eutrophication (Nixon, 1995; Valiela et al., 1997). Eutrophication leads to two main disturbances: excessive proliferation of green macroalgae (called green tides) and anoxia episodes.

In the last decades, green tides events have increased in intensity and frequency (Valiela et al., 1997) (fig. 2). In temperate latitudes, these green tides (named hereafter GT), are controlled by the input of nitrogen (N). If the enrichment in nitrogen is beyond the level of the self-regulatory capacity of the estuary, massive proliferations of opportunistic macroalgae could be observed (Valiela et al., 1997). Temperature, hydrodynamic condition and light are the other factors controlling the green tides events (Merceron et al., 2007).

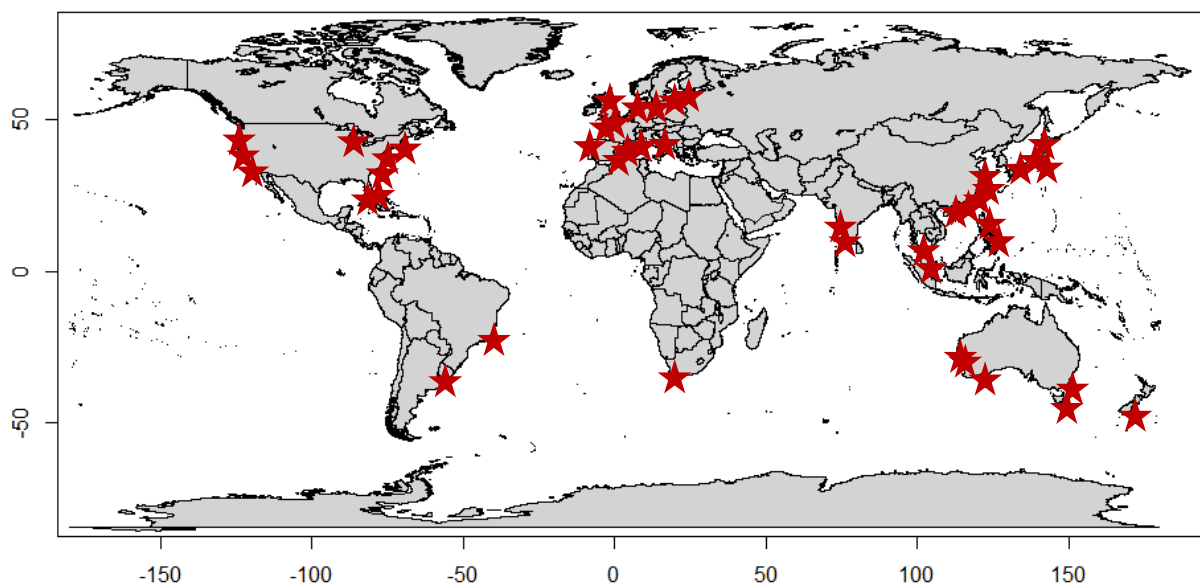


Figure 2: World map of green tides events according to Ye et al (2010). The stars represent the most impacted areas during the last three decades

The composition of green tides is characterized by fast growing species, with high tolerance to salinity range (Zhou et al., 2015). Three taxa of opportunistic algae represent the majority of algae who composed these blooms: *Chaetomorpha spp.*, *Cladophora spp.* and *Ulva spp.* (Valiela et al., 1997; Anderson et al., 2015).

### 1.2.2. Ecological effects of green tides

If economic costs are known (*i.e.* tourism, risk for the human health), there are few studies developed to assess the consequences of green tides on animal community (Lyons et al., 2014). The impacts induced by green tides depend on the estuary features and the organism studied. The duration and concentration of opportunistic algae are also critical factors controlling the level of

disruption (Baden, 1990). Green tides lead to positive or negative impacts on fauna, with regards to their intensity (Hull, 1987).

The most obvious effect of GT is the shift on floral composition (Pihl et al., 1994). The autochthonous primary producers (*i.e.* seagrass and benthic microalgae) are replaced by mats of opportunist green macroalgae (Sundbäck et al., 1996). This change in algae composition induces a degradation of the habitat quality (Pihl et al., 2005). This modification of the bottom habitat by GT affects notably macrobenthic communities (Quillien et al., 2015).

Lyons et al (2014) revealed that fish communities are negatively impacted by green tides. However, the consequences on this biologic compartment are still poorly studied. We describe below some results that revealed the negative effects of green tides on fish community.

For instance, in Swedish bay and in Baltic sea, a massive change on fish composition was induced by GT and a decrease of predatory fish was observed (Pihl et al., 2005; Österblom et al., 2007). This phenomenon was explained by a decrease of foraging efficiency of predatory fish. Mats of green macroalgae procure a shelter for small grazing fish and benthic macrofauna (Pihl et al., 1995). Small fish take advantage of proliferation of green macroalgae. Their biomass increases with the decrease of larger predatory fish (Eriksson et al., 2009). Massive green tides reduce fish density (Le Luherne et al., 2016) and species richness (Pihl et al., 1994). The response of fish community depends notably on the vertical distribution of species (Le Luherne et al., 2016). Benthic fish is the most sensitive biological compartment, due to the degradation of their habitat by GT (Pihl et al., 1994, 2005; Wennhage and Pihl, 2007; Le Luherne et al., 2016).

The nursery function performed by estuaries is especially compromised by green tides. Mats affect the success of recruitment of larvae and marine juveniles (Baden, 1990; Pihl et al., 2005). Marine juveniles seem to be the most endangered states of life during GT ( Pihl et al., 2005; Le Luherne et al., 2016). In addition to decrease in density, individual performances of juvenile fish (*i.e.* lipid storage and growth) are perturbed by GT (Le Luherne et al., submitted). Nursery is a key process that affected the population size (Pihl et al., 2005). If this essential service is impacted by GT (Stoner et al., 2001), then the productivity of a numerous North temperate commercial fish could be lower (Peterson et al., 2000; Stoner et al., 2001; Seitz et al., 2014).

Massive fish mortality events were also observed during green tides (Le Luherne et al., 2016). Two causes of mortality were revealed. First, huge concentration of ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) produced by bacteria. These events were unusual because the toxic level of  $\text{NH}_4^+$  is rarely reached. Anoxia is the second factor provoking massive mortality. Anoxia caused by GT was responsible for a massive



mortality on fish. The fishery was mostly impacted by this event. The capture per unit effort for lobster in the Baltic sea, highly valuable commercial species, decrease from 30 kg.m<sup>2</sup> to 3.5 kg.m<sup>2</sup> in 6 years. The CPUE for other commercial fish, cod and plaice, decrease to 90 % during the same period (Baden, 1990).

### 1.3. Study aims

During the last decade, the number of impacted sites and the intensity of GT have been increasing on the Brittany coast (Ménèsquen and Piriou, 1995), with high proliferation in spring season. The increase of green tides in Brittany raises concerns about the ecological impacts caused by this phenomenon.

The economic costs of GT are important in Brittany. In 2015, the cost of algal removal campaigns reached 998 000 euros for 15 townships (source CEVA). This cost is associated to the tourist economy. However, the loss of other ecological services is still not well evaluated.

This study aims to provide a quantitative evaluation of the potential impacts of GT on fish community in Brittany. This analysis was conducted in 13 estuaries with contrasted levels of GT. Potential effects of GT on ichthyofauna were examined across changes in fish density (total and by functional groups), species richness and indices of functional diversity.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Study areas and beam trawl data

From 2007 to 2014, fish were sampled in 13 estuaries located in Brittany (fig. 3), as part of the EU Water Framework Directive.

Standardized sampling campaigns were realized 2 times in a year, in autumn and spring, for each site. The 13 sites studied were sampled with a beam trawl with an opening of 1.5 m wide and 0.5 m high, 8 mm stretched mesh in the cod end. The beam trawl hauls were realized against the current during 15 min, and the mean surface trawled by each haul was about 1 100 m<sup>2</sup>. Surveys in each estuary were designed to cover the various potential estuarine habitats. For this purpose, a minimum of 8 beam trawls was carried out in each range of salinity within each estuary (oligohaline, mesohaline and polyhaline). Salinity and depth were recorded for each beam trawl, this information allowed us to take account of environmental gradients which influence fish composition. 90 campaigns were

carried out, with 1348 beam trawl hauls realized in the 13 estuarine zones. Since 2007, 97 fish species were captured, and 79125 individuals were trawled.

These 13 estuarine areas are characterized by a gradient level of green tides intensity. Certain estuaries (*e.g.* Odet) are not impacted by GT while others (*e.g.* Pont l'Abbé) are largely impacted.

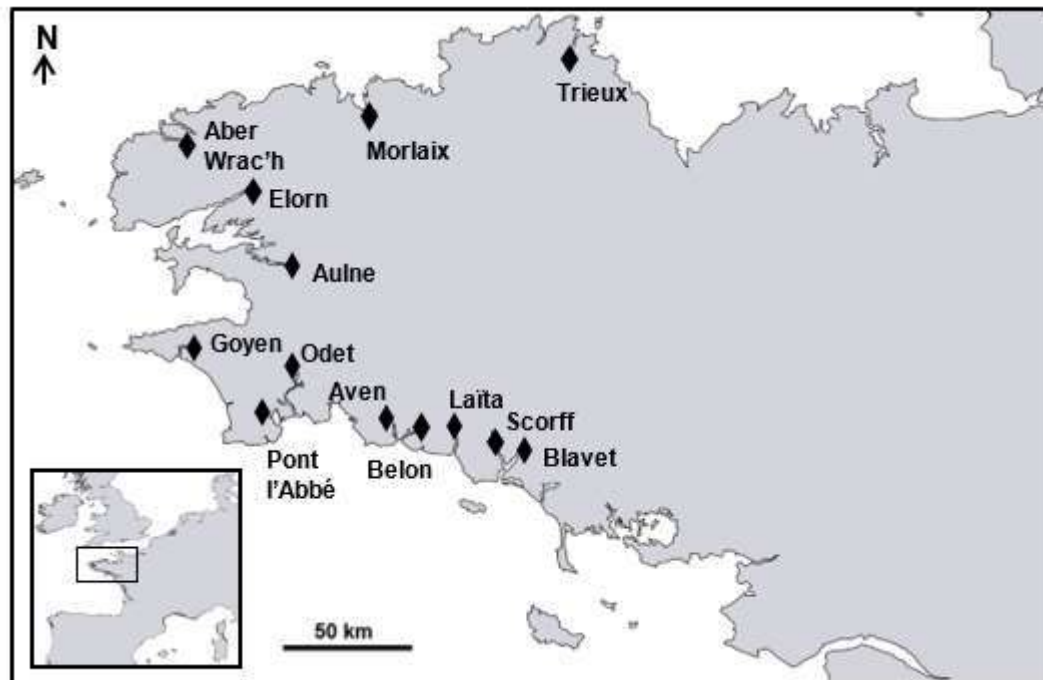


Figure 3: Location of the 13 estuarine zones sampled in this study

## 2.2. General approach

In order to quantify the response of the fish community under the stress provoked by GT, we used fish metrics and descriptors of green tide intensity. The statistical approach consists to model the variability of fish community due to the proliferation of green macroalgae, accounting for the environmental function which controls the fish assemblage (fig. 4).

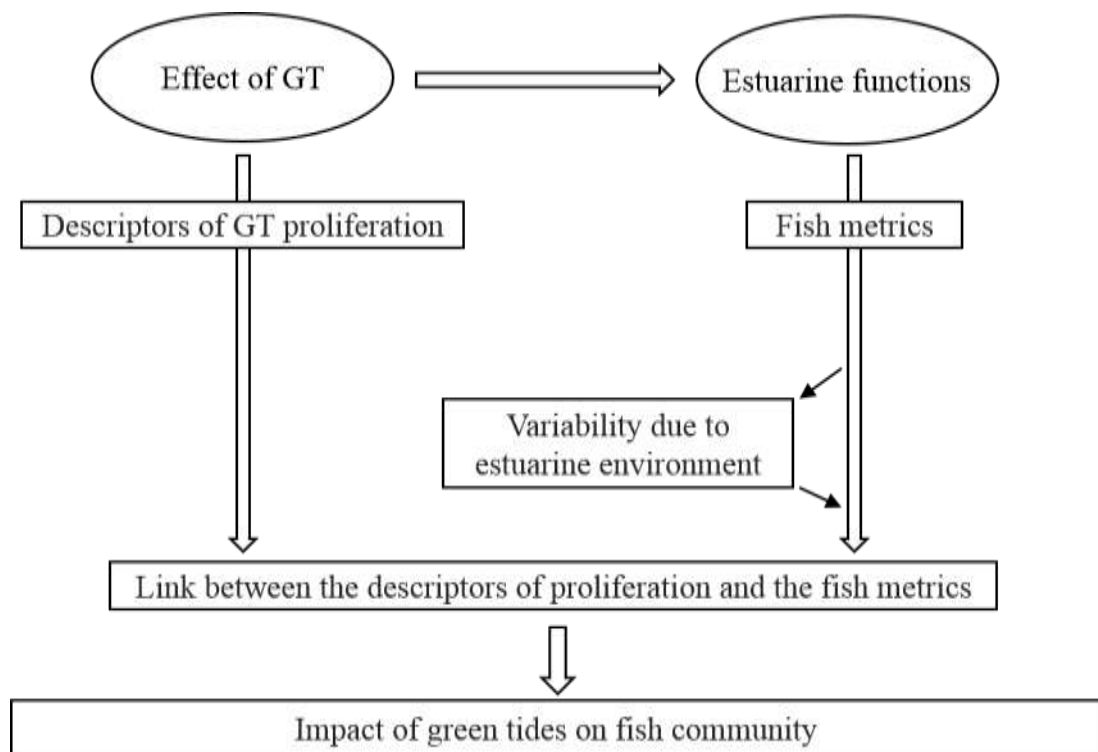


Figure 4: General approach used in order to provide a quantitative evaluation of the potential impacts of green tides on fish community in Brittany

### 2.3. Metrics of fish community

Fish diversity was estimated from species richness. Species richness was defined as the number of species captured for each haul. The total density was defined as the number of individuals captured per haul. The total density is well known as an indicator of the habitat quality. Fish density and species richness are supposed to decline with the intensification of perturbations, like GT (Delpech et al., 2010).

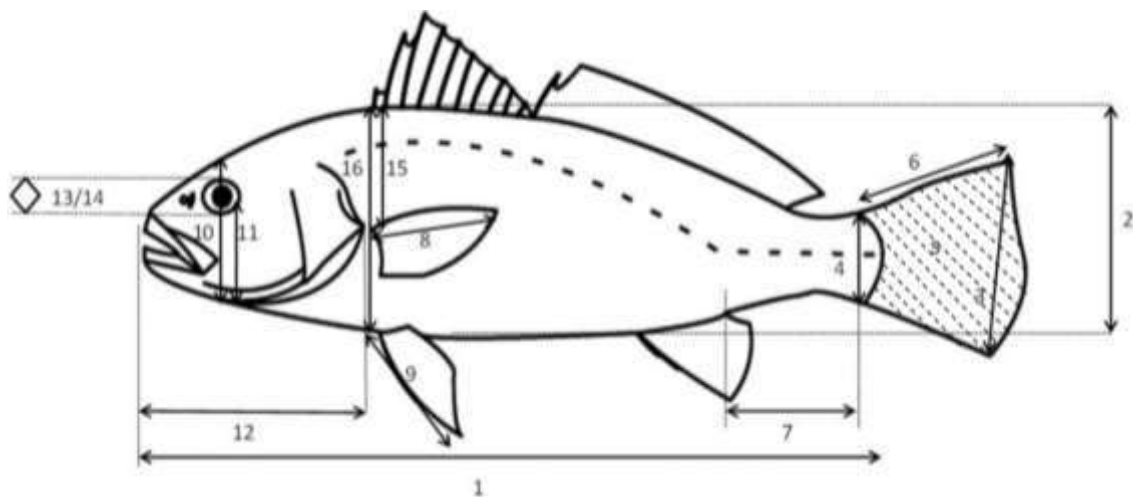
Functional diversity was also considered in this study. The 97 species caught were classed into 5 functional guilds and the density was calculated for each guild. Functional guilds are defined as a group of species exploiting the same resource in similar ways (Elliott and Dewailly, 1995). In this study, 3 guilds of position and 2 guilds of life traits were considered (Table 1). The vertical distribution guild (i.e. pelagic, demersal and benthic) is related to spatial occupation in the water column and illustrates the dependence of organism to the bottom sediment. Ecological guilds (i.e. resident and marine juvenile) describe the use of estuaries during the life cycle (for example, marine

juvenile describe the nursery function performed by estuaries). These five ecological guilds allowed the evaluation of guilds affected by green tides.

**Table 1: Ecological and vertical distribution guilds by (Elliott and Dewailly, 1995)**

Criterion	Guild	Definition
Vertical distribution	Pelagic	Species living in the water column
	Demersal	Species living in the water layer just above the bottom
	Benthic	Species living on the substratum
Ecology	Marine juvenile	Species using the shallow coastal waters and estuaries primarily as nursery ground
	Resident	Species spending their entire lives in shallow coastal waters and estuaries

In addition, we used 19 morphological traits to specify ecological functions and offer a representation of the functional structure (Paumier, 2015). These morphological measures were carried out at species scale (fig. 5). The species caught in the 13 estuaries were associated to 19 morphological traits. These 19 traits were chosen to assess three ecological functions: the locomotion capacity, the foraging behavior and the use of the habitat. The practical details relating to the 19 morphological traits and their measures are present in annex I.



**Figure 5: The 19 morphological traits measured for the 97 species caught in the 13 sampled estuaries. The hatched area represents the measure of the fin area**

Two indices of functional diversity were calculated using the morphological trait, using the FD-package (Laliberté and Legendre, 2010). These indices of functional diversity, the functional richness and the functional divergence, were measured by quantifying the distribution of species in a multivariate functional trait space (Mason et al., 2005; Vileger et al., 2008). These indices describe the distribution of the species and their abundances in the functional trait space, where each

morphological trait represents a coordinate of this space. The functional richness is defined as the area of the functional trait space occupied by the community. The functional divergence describes the distribution of the abundance within the functional space (Villegger et al., 2008). The calculation of these two indices is explained with a simplified example in fig. 6.

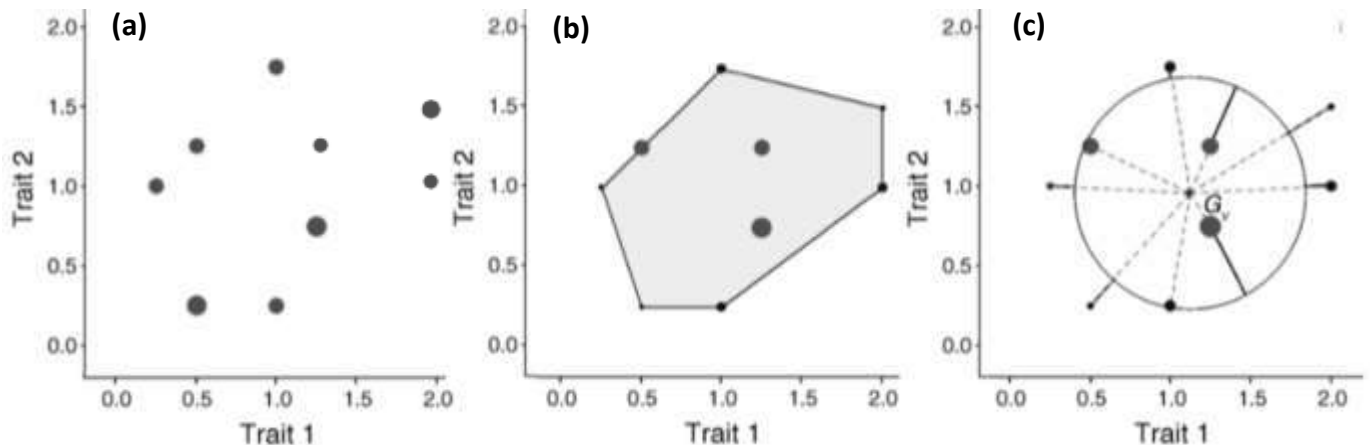


Figure 6: Estimation of the two independent indices of functional diversity (Villegger et al., 2008), illustrated on a simplified virtual community with nine species and with only two morphological traits. (a) One species is represented by one point in the functional space according to his trait values. The diameters of the points depend on the species abundances. (b) The functional richness corresponds to the convex hull volume. (c) The functional divergence is calculated by the deviation of the distance from the mean distance of center of gravity (large circle; center of gravity:  $G_v$ ) corresponding to the length of the black lines linking each species to the circle

## 2.4. Environmental drivers of fish community

### 2.4.1. Season

The season is a major factor controlling the distribution of species within estuaries (Courrat et al., 2009). In fact, the settlement and migration are seasonal events. Ecological functions of estuaries (i.e. nursery, reproductive area and migration corridor) are performed seasonally (Elliott and Quintino, 2007). As the fish communities change dramatically between spring and autumn, analyze were developed on two sub-data set, composed of the spring campaigns and the autumn campaigns separately.

### 2.4.2. Ecoregion

A biogeographic classification based on the Marine Ecoregions of the World (Spalding et al., 2007), was used to separate the 13 estuaries between the site localized in the North and in the South (fig. 7).

Ecoregion was defined by Spalding et al as an “area of relatively homogeneous species composition clearly distinct from adjacent system”. Five estuaries belong to the ecoregion “Celtic sea” (named after “North Brittany” in our study) and 8 estuaries belong to the ecoregion “South European Atlantic Shelf” (named after “South Brittany”) (fig. 7).

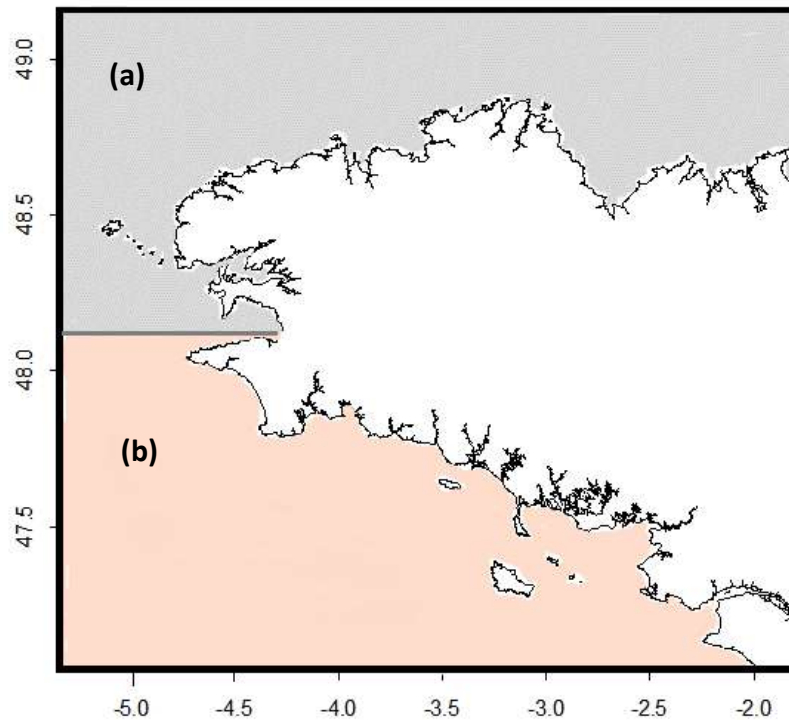


Figure 7: Boundary of the two ecoregions on the Brittany' s coast , according to Spalding et al (2007): (a) Celtic Sea; (b) South European Atlantic Shelf

### 2.4.3. Salinity and depth

Salinity and depth are crucial factors structuring the fish community in estuaries (Le Pape et al., 2003; Courrat et al., 2009). These parameters were available for each trawl haul on survey data.

## 2.5. Descriptors of green tides on different scales

In order to quantify the intensity of green tides, we used data provided by the CEVA (Center for Study and Promotion of Algae), and data collected during the trawl survey in 2013 and 2014.

### 2.5.1. Descriptors of green tides at estuarine area scale

The CEVA evaluate GT in Brittany since 1997. In this study, we use data collected between 2008 and 2014 (*i.e.* trawl survey period). The data were obtained using a standardized protocol. Flights were carried with a CESSNA plane, during the high coefficient of tide. During the flight, a photographer takes pictures of the impacted sites. Pictures were then spatialized using their coordinates. Field controls were carried out to determine the constituent algae beaching observed when flying.

The pictures were used to calculate a ratio of surface colonized by *Ulva* spp. From these ratios, the CEVA proposed three descriptors of proliferation. The first proxy is the maximum percentage of the potential area covered by *Ulva* spp. The second proxy is the gross area affected by green tides, in hectare. For each proxy, thresholds were defined by experts, who take account of historical data. The Ecological Quality Ratios (EQR) was formed by the mean of the score of these 2 proxies (Table 2). This indicator is a validated proxy of estuarine quality used by the Water Framework Directive, for each year one value of EQR corresponding to an ecological status was available and was used as a proxy of proliferation in our models (Table 3).

**Table 2: Thresholds reflecting the ecological status for each proxies, and the Ecological Quality Ratios (EQR)**

Proxy 1	Proxy 2	EQR	ecological status
0-5	0-10	1-0.8	High
5-15	10-50	0.8-0.6	Good
15-25	50-100	0.6-0.4	Moderate
25-75	100-250	0.4-0.2	Poor
75-100	250-6000	0.2-0	Bad

### 2.5.2. Descriptors of green tides at local scale of proliferation

As a complement to the mean green tides distribution procured by the EQR, we used two different sources of descriptors providing information on GT at the scale of each estuary: the surface ratios (used by the CEVA to create the EQR) and the weight of algae caught per haul. These two descriptors allowed the integration of a spatial component of proliferation in our models (Table 3).

For each estuary, the surface ratios provided by the CEVA are an average value of the surface covered by *Ulva* spp. from 2008 to 2015. Preliminary analysis allowed us to validate the inter-annual study of this distribution. The surface ratios were available in the form of a shapefile. We used this shapefile in order to map the mats for each estuary. We plotted the positions of beam trawl hauls

and collected the surface ratios associated with each haul to model the effect of GT in fish community.

The weight of algae per beam trawl was obtained from an additional protocol added to the WFD trawl survey in 2013 and 2014. These measures of biomass allowed us to obtain information concerning the environment where the trawls were carried out. These data were available for 227 beam trawl hauls. The density of *Ulva* spp. was used as a proxy of proliferation, integrating a spatio-temporal component (Table 3).

Table 3: The three different metrics for the green tides proliferation

Scale of the metrics of green tides proliferation	Beam trawl data	Metrics of green tides proliferation	Variable
estuarine area scale	2008-2014	Ecological Quality status	Factor
local scale of proliferation	2008-2014	Surface Ratio (percentage)	Continuous
local scale of proliferation	2013-2014	Biomass of ulva per beam trawl (kg.m <sup>-2</sup> )	Continuous

## 2.6. Preliminary data analyses

We tested by different methods the effects of environmental features (i.e. ecoregion, salinity and depth) before testing the effects of GT metrics (fig.4).

### 2.6.1. Ecoregion

The ecoregion effect was investigated with a multivariate analysis based on the fish composition found in each biogeographical unit. We used a non-metric multidimensional scaling (NMDS) to represent the position of fish community in multidimensional space. We selected species with a percentage of occurrence by trawl superior to 5 %. These species are susceptible to have a too high influence on the measure of rank dissimilarity. To perform this analysis, we formed a matrix of dissimilarities using the Bray-Curtis dissimilarity calculation. The quality of the representation was validated with a stress under 0,2. We used a sufficient number of iterations until an appreciable stress is reached.

### 2.6.2. Depth and salinity

Generalized additive models (GAM) were carried out to analyze the effects of depth and salinity on fish metrics. Too few data were available for this method. Consequently, results of GAM were



analyzed as preliminary analyses only. This approach was not used to analyze the impacts of GT on ichthyofauna.

This exploratory analysis proceeded in three phases (fig. 8). We developed generalized additive models to explain fish densities according to two natural factors (step I).

$$\text{Fish density} \sim \text{factor (salinity)} + \text{factor (depth)}$$

Statistical significance of each factor on fish densities was tested (step II). Then, depending to the significance of the factors, depth and salinity were used as predictors of density through the models. Predictions of fish densities were graphically analyzed in order to detect linear trends (step III). If a linear trend was observed between the fish density and a natural effect (e.g. depth), this environmental effect was integrated as linear factors in our models. In particular cases, the data-set was reduced (i.e. few data were excluded, less than 5 %, close to maximal or minimal values of salinity and depth) in order to get a linear effect for the main range of a factor. If non-linear trends were observed, we attempted to integrate the factor as a class-variable.

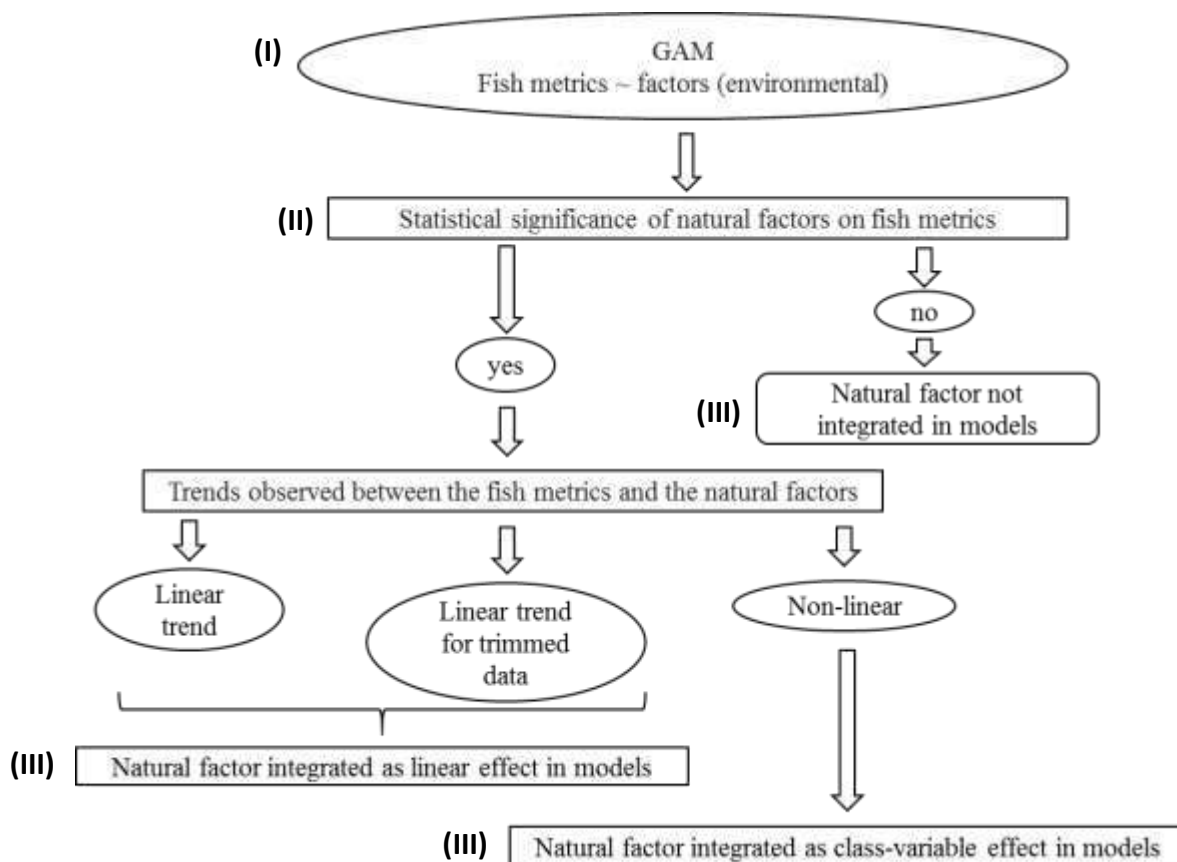


Figure 8: General approach used to integrate natural factors (i.e. salinity and depth). This decision tree illustrates the different choices depending on the trends observed between the fish metrics (total fish density and density by functional groups) and the natural factors. In brackets, steps of the procedure

## 2.7. Statistical models

The statistical significances of the environmental effects (i.e. ecoregion, depth and salinity) and of the GT effects were evaluated in our different models (see 2.7.1-2.7.3) with an analysis of deviance (level of statistical significance: 5%). The models were validated when the hypothesis of independence and normality of the residuals deviance were fulfilled. R software was used to develop these models.

### 2.7.1. Delta models for fish density

We observed a large number of zero values for fish metrics based on fish density (fig. 9). According to this “0 inflated” distribution of the fish density by species, we choose to use delta-distribution models (Aitchison and Brown, 1957). This approach is appropriate to analyze fish survey data, highly zero inflated (Stefansson, 1996).

The modeling approach of delta-distribution consists to fit two independent models, a model on zeros values and a model on positive values (Aitchison, 1955; Pennington, 1983). These two independent sub-models formed were then coupled in order to provide prediction.

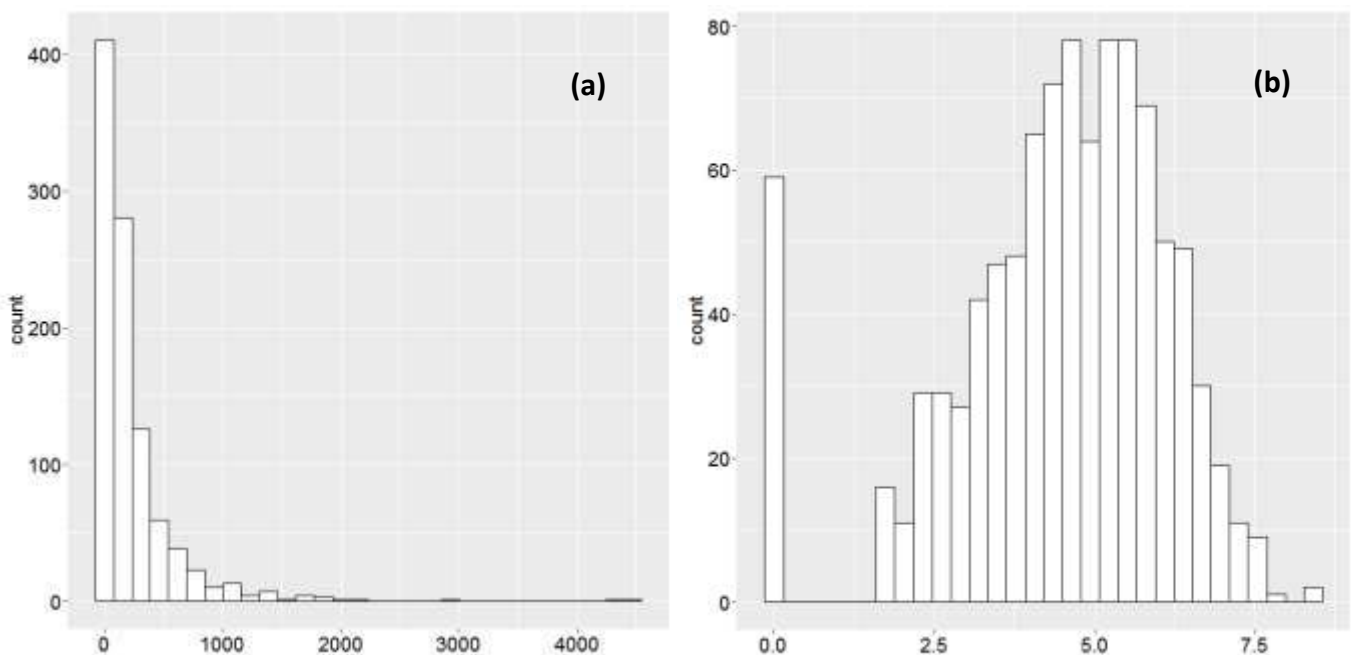


Figure 9: Distribution of the total density of fish (a) and the log-transformed density of fish (b) in spring campaigns

- **Binomial models**

Binomial models were carried out for the presence of the fish. The link function used for these models was a logistic function (table 4). The area under the curve (ROC) was used as a criterion to evaluate the performance of these models (Manel et al., 2002).

$$Y_{(1/0)} \sim \text{factors (environment)} + \text{factor (ulva*)} + \varepsilon$$

$Y_{(1/0)}$  represents the presence or the absence of fish caught (1 or 0). The factor named “ulva\*” corresponds to the three GT metrics. The environmental factors (*i.e.* ecoregion, salinity and depth) were accounted for incorporate the “ulva\*” effect.

Table 4: Variance and Link Family for the binomial model

Data	Distribution	Link
Presence-absence	Binomial	$\text{logit}(u) = \frac{1}{1 + e^{-u}}$

- **Models for positive densities**

After preliminaries test, we selected log-transformed densities to analyze positive value. This transformation allowed us to improve linearity and homogeneity of variance for these sub-models (fig. 9; annex III).

$$\text{Log}(Y_{(>0)}) \sim \text{factors (environment)} + \text{factor (ulva*)} + \varepsilon$$

$Y_{(>0)}$  is the density of fish (number of individuals per bean trawl haul) when fish were caught.

Table 5: Variance and Link Family for the density positive model

Data	Distribution	Link
Log-transformed positive density	Gaussian	Identity $\eta = g(E(Y_i)) = E(Y_i)$

- **Predictions of densities**

The two sub-models were coupled in order to estimate fish density (Stefansson, 1996; Le Pape et al., 2003). This prediction (noted  $\hat{Y}$ ) was obtained by the multiplication of the probability of presence

with the positive density. A correction (Laurent, 1963) was calculated on the densities positives models. This translation method allowed us to obtain estimation from a GLM model with log-transformed density.

$$\hat{Y} = Y_{(1/0)} * e^{\ln(Y_{(>0)})} * e^{\frac{\alpha^2(\ln(Y_{(>0)}))}{2}}$$

The uncertainty of delta-distribution model is complex, because of the impossibility to realize an analytical combination of the errors of the two models. In order to quantify the uncertainty of parameter estimates, we used a random sampling approach. We predicted the presence of fish with 5 000 binomial models, and log-transformed densities on 5 000 sub-samples generated with the gaussian model on positive values. We calculate the 10 %, 50 % and 90 % quantiles of the 5 000 predictions to take account of the uncertainty on fish metrics estimates according to GT effects.

Density of pelagic species was zero inflated with few and low density. We developed a binomial model for the presence of this guild. All the other fish metrics were modelled using delta distribution for fish density.

### 2.7.2. Generalized Linear Models for Species Richness

The species richness was modelled with generalized linear model using a Poisson regression (table 6). We assume that the Poisson errors is the most adapted distribution for analyzing count data for fish species in trawl surveys (Courrat et al., 2009).

$$SR \sim \text{factors (environment)} + \text{factor (ulva*)} + \epsilon$$

Table 6: Variance and Link Family for species richness

Data	Distribution	Link
Species richness (SR)	Poisson	log

### 2.7.3. Linear Models for the two indices of functional diversity

The two independent indices of functional diversity (i.e. functional richness, functional divergence) were modelled with linear models.

$$\text{Functional indices} \sim \text{factor (environment)} + \text{factor (EQR)} + \epsilon$$

### 3. Results

#### 3.1. Fish metrics

We calculated the proportion of each guild on trawl data (fig. 10). The majority of fish caught belonged to the demersal guild (75 %), followed by the benthic guild (25 %). The pelagic guild was under-represented (over 5 %). The resident species were the most caught species (about 80 %), the marine juveniles represented a quarter of the density.

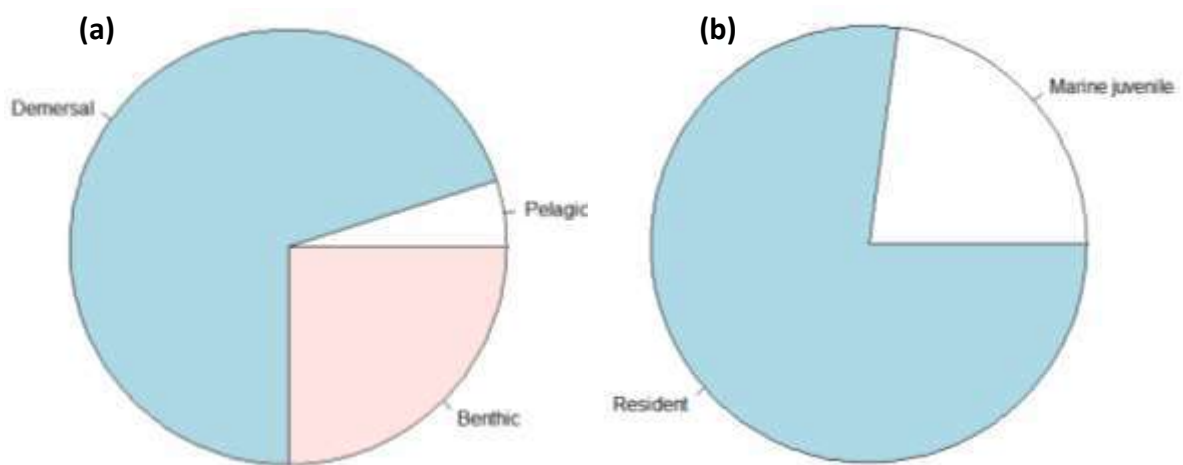


Figure 10: Proportion of fish species found in the different guilds for a haul in Spring: (a) guilds of vertical position; (b) ecological guilds

#### 3.2. Preliminary analyses

##### 3.2.1. Effects of ecoregion on descriptors of ichthyofauna

There is a clear distinction between the two region based on fish species distribution (fig.11). Ecoregion turned out to be an important factor structuring the density of the benthic guild and the species richness. Ecoregion was introduced as a factor in the different models.

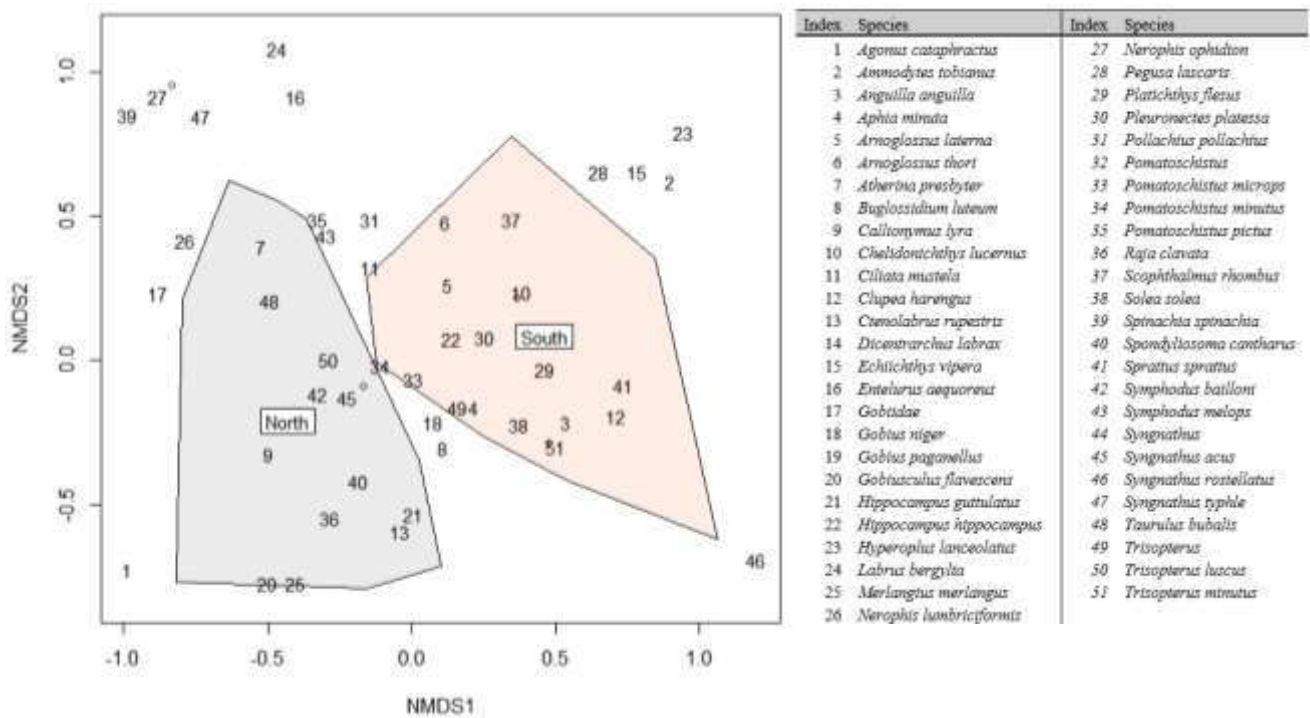


Figure 11: Two-dimensional ordination of the different estuaries sampled from non-metric multidimensional scaling. The two polygons symbolize the two ecoregion (i.e. North and South Brittany). The numbers represent the different species

### 3.2.2. Effects of salinity and depth on descriptors of ichthyofauna

For the spring campaigns, the bathymetry (i.e. where the beam trawls were carried out) ranged between 0 and 23 meters and salinity between 2,5 and 35,1. The range of salinity, for the autumn campaigns, fluctuated between 5,2 and 35,1 and the depth between 0 and 20 meters.

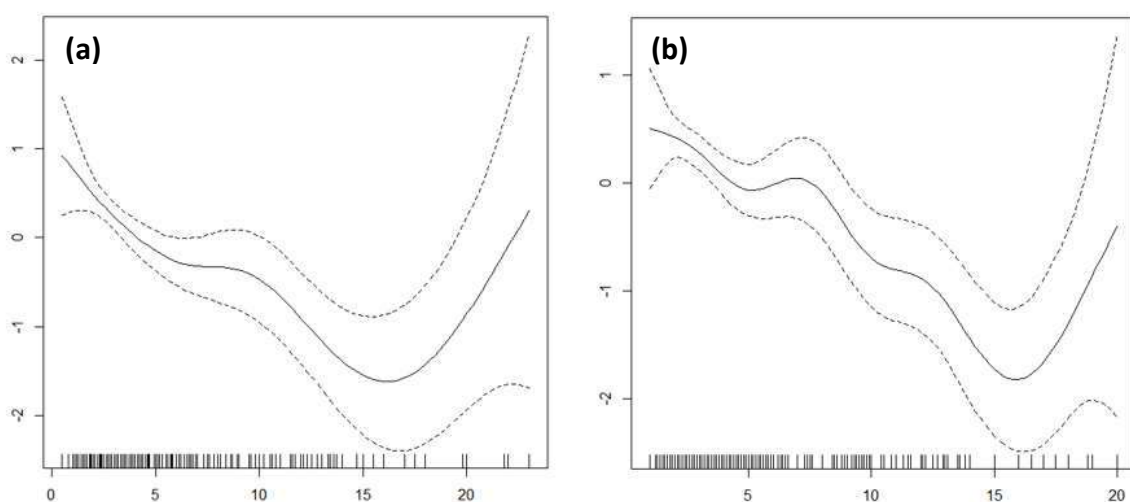


Figure 12: Effects of depth on fish density (a) in spring; (b) in autumn

Density of fish clearly increases for depth superiors to 16 meters (fig. 12), a poorly sampled depth range. In order to obtain linear effect of the depth on fish metrics, we decided to cut back the data

(table. 7). The trawl realized over a depth equals to 16 meters were excluded. The loss of information with this cut represents less than 1 % of the survey data.

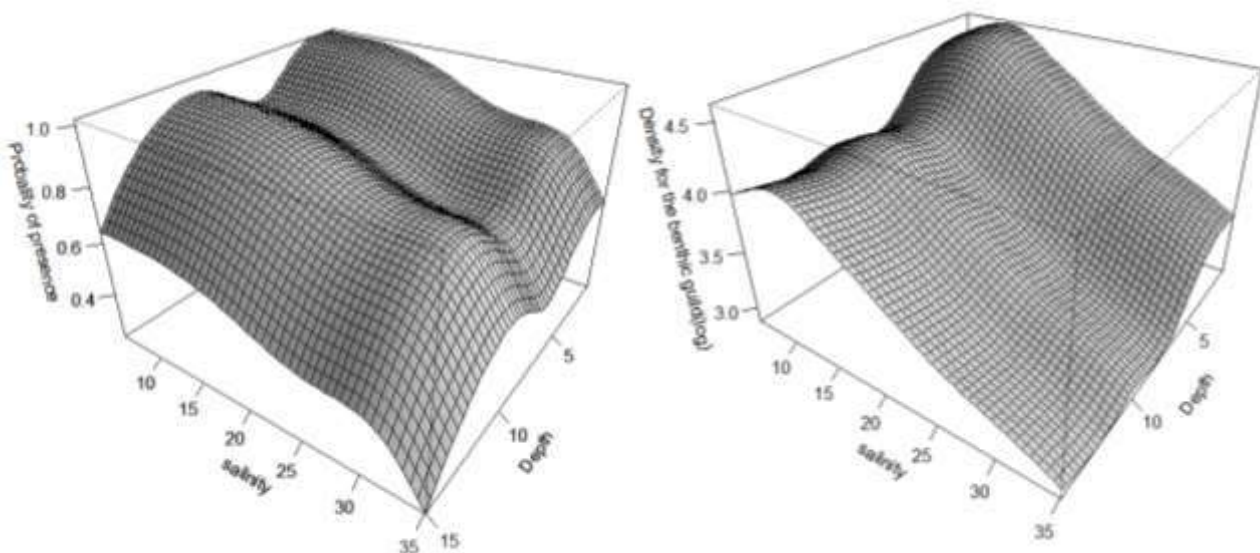
Preliminary gam was used on the selected data (table. 7) to detect effect of salinity and depth on the metrics describing the fish community (annex II). As an example, salinity appeared to have a linear effect on positive densities and presence-absence of the benthic guild in spring (fig. 13). Salinity was integrated as continuous variables for the two-sub models (table 8).

For the majority of fish metrics (except for the pelagic species) the salinity was introduced as a continuous variable. For the pelagic fish, the salinity appeared to have a non-linear effect (annex II) and thus two class of salinity were formed, mesohaline (5.20-18) and polyhaline (18-35.10), and integrated in the model describing the variability of pelagic fish (table 8).

The depth was introduced as a continuous variable for the totality of fish metrics (table 8). This environmental factor appeared to have a negative effect on fish density.

**Table 7: Description of the environmental data and their utilization in our models**

Environmental factors	Raw data	Transformed data
Depth	0 -23 meters	0,75 - 16 meters
Salinity	5,20 - 35,10	5,20 - 35,10



**Figure 13: Density and probability of presence and positive densities of benthic organism according to the range of salinity and depth using GAM in spring**

**Table 8: Models and environmental factors selected for the two seasons. The statistical significance of each natural factor is given in brackets. \*p<5%; \*\*<1%; \*\*\*<0.1%**

Metrics of fish community	Models	Spring	Autumn
Density	Pres-abs >0	Depth (***) + Ecoregion (***) Depth (***) + Ecoregion (**)	Depth (***) Depth (***)
Species richness (S)		Depth (***) + Ecoregion (**)	Ecoregion (***) + Depth (*)
Density of benthic guild	Pres-abs >0	Ecoregion (***) + Salinity (***) Ecoregion (***) + Salinity (***)	Ecoregion (***) Ecoregion (***)
Density of demersal guild	Pres-abs >0	None None	Depth (***) Depth (***)
Density of pelagic guild	Pres-abs	Class of salinity (***) + depth (**)	Depth
Density of Resident guild	Pres-abs >0	Depth (***) Depth (***)	Depth (***) Depth (***)
Density of Marine juvenile guild	Pres-abs >0	Salinity (***) + Ecoregion (**) Ecoregion (***) + Salinity (***)	None None

### 3.3. Effect of green tides at estuarine area scale

Ecological quality ratios were introduced in addition to the selected environmental descriptors in the different seasonal models for fish density. None of the 13 estuaries presented a “bad ecological status” according to the score of the EQR (table 2) for the period studied. Low variabilities of EQR were observed during 2008 to 2014, except for the Aber Wrach, the Blavet and the Pont l’Abbé estuaries (fig. 14).

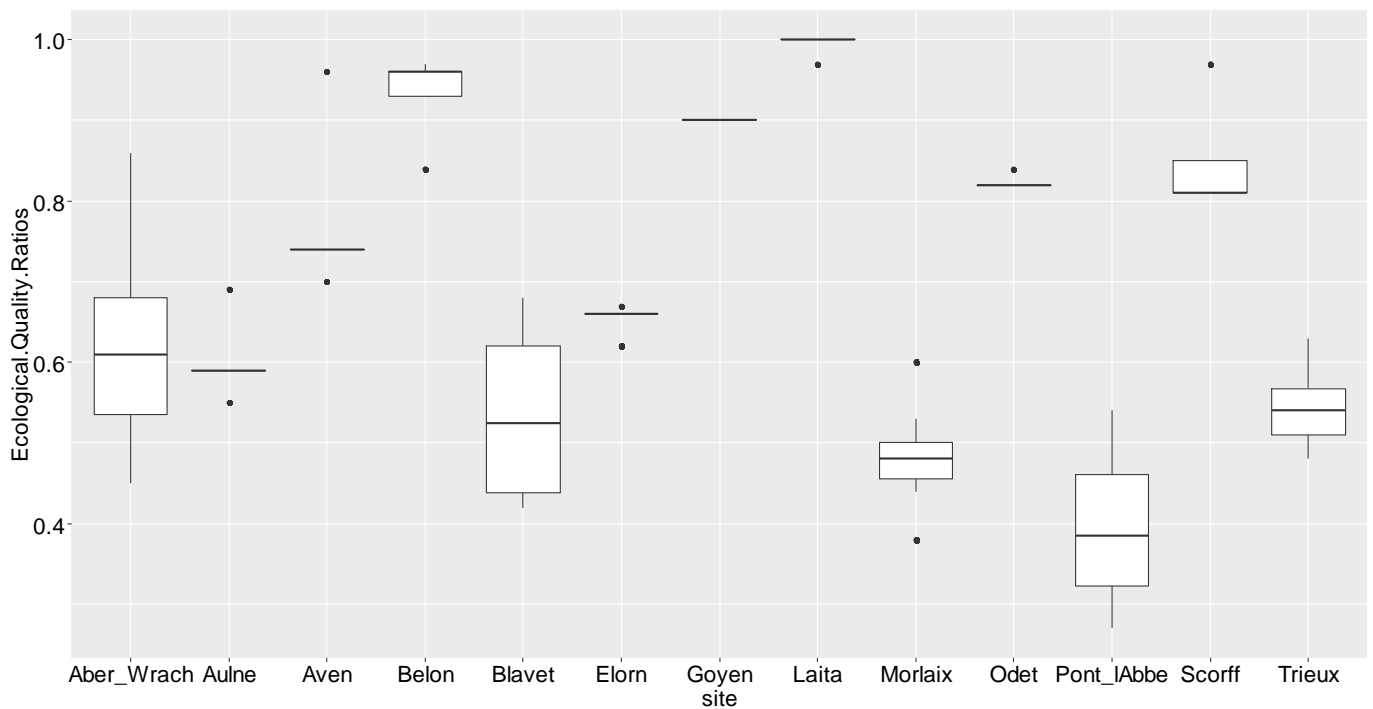


Figure 14: Ecological Quality Ratios from 2008 to 2015



Table 9 summarizes the results of the models carried out with the ecological quality ratios. Significant effects were detected for many fish metrics. Despite this statistical significance of the EQR, models were selected on 2 criteria: the percentage of deviance explained by the model and the need of a monotonous relationship between the fish metric and the EQR (fig. 15). For the second criterion, the different models were simulated for the 4 conditions (*i.e.* poor, moderate, good and high). If an increasing density gradient is observed from poor status to high status, the condition of a monotonous relationship between the fish metric and the EQR is verified and the fish metric is selected.

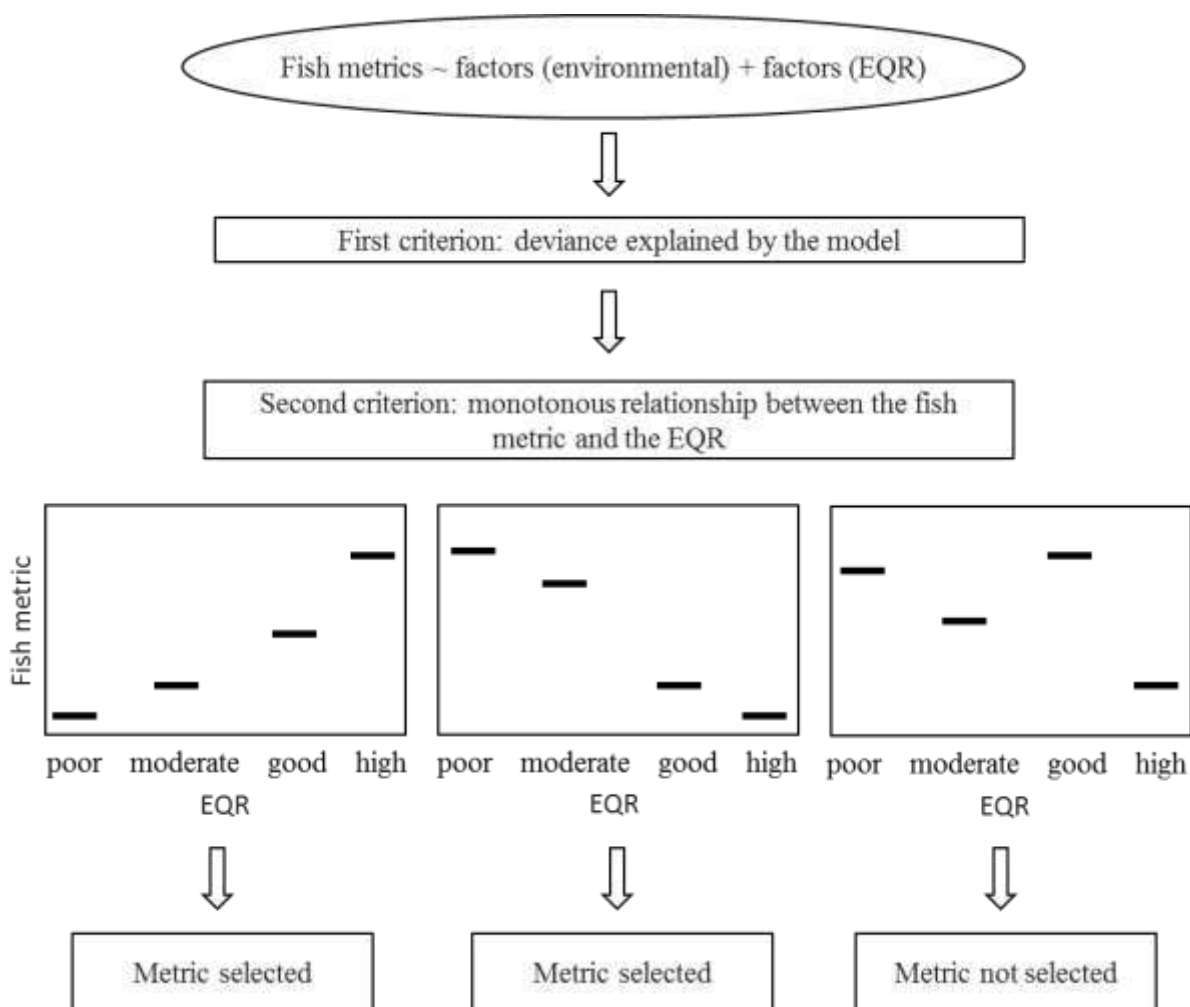


Figure 15: Selection of the models where statistical significance of the EQR were found, based on two criteria

Following these criteria selection, only 2 models were valid: the one explaining the benthic fish density and the one describing the functional divergence. For the other descriptor, the relation between EQR and fish metrics was unclear, and the deviances explained by the model were low (inferior to 10 %). The deviance explained by the density of benthic fish was the highest.

The density of benthic fish and the functional divergence appeared to be negatively impacted by GT for both season (table 9).

For each ecoregion, the benthic fish density model was applied for bad conditions (high GT, the “poor” value of EQR), and for the best conditions (low GT, the “high” score of EQR). As demonstrated in the preliminary analysis, benthic fish densities are higher in South Brittany and decrease with high salinity within estuarine ecosystem (fig. 16). The density is higher for a “high” ecological status than for the “poor”. Furthermore, the quantile for each fitted value do not overlap, the difference of density between the two ecological status is distinguishable.

The functional divergence associated with the “poor” ecological status is lower than those associated with the higher ecological status (fig. 17). The differences between the “poor” and “high” ecological status were well marked.

**Table 9: Results of the models carried out: The positive densities and the probability of presence in spring and august according to the ecological quality ratios. Statistical significance (Sign), the direction of the relation between EQR and the fish metrics (Direction) and the percentage of the deviance explained by the model are given. NS, non-significant; NA, non-applicable. \*p<5%; \*\*<1%; \*\*\*<0.1%**

Metrics of fish community	Models	Sign. (Spring)	Sign. (Autumn)	% deviance	Direction
Density	Pres-abs >0	*	NS	>10 %	NA
		*	***	>10 %	NA
		***	***	>10 %	NA
Density of benthic guild	Pres-abs >0	***	*	32 %	-
		**	***	26 %	-
Density of demersal guild	Pres-abs >0	***	NS	>10 %	NA
		***	***	>10 %	NA
Density of pelagic guild	Pres-abs	***	***	>10 %	NA
Density of Resident guild	Pres-abs >0	***	**	>10 %	NA
		***	***	>10 %	NA
Density of Marine juvenile guild	Pres-abs >0	***	**	>10 %	NA
		**	***	>10 %	NA
Functional richness		NS	NS	>10 %	NA
Functional divergence		**	**	23 %	-

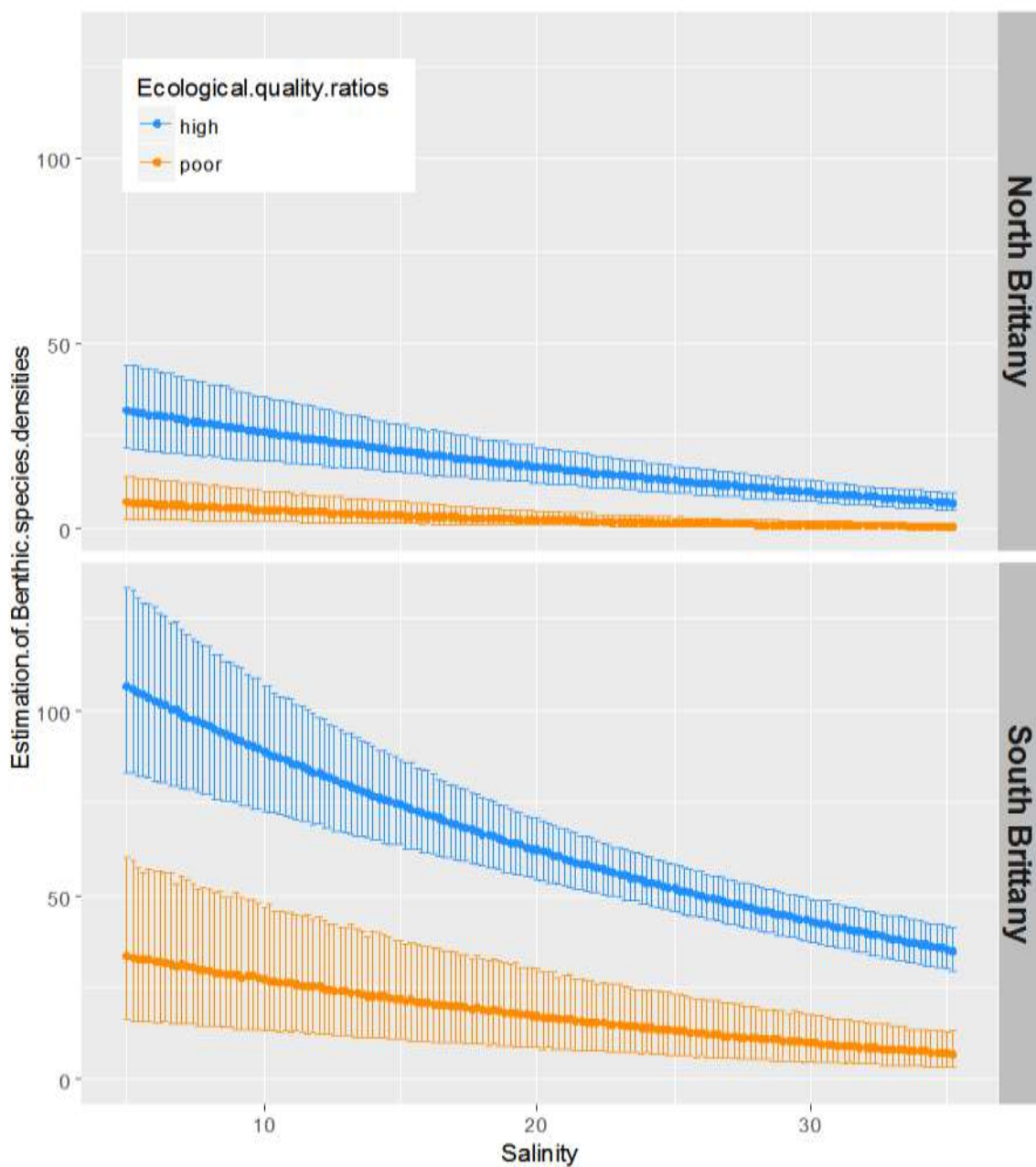


Figure 16: Estimation of benthic species for a virtual estuary located in South Brittany and North Brittany, sampled in spring with a beam trawl

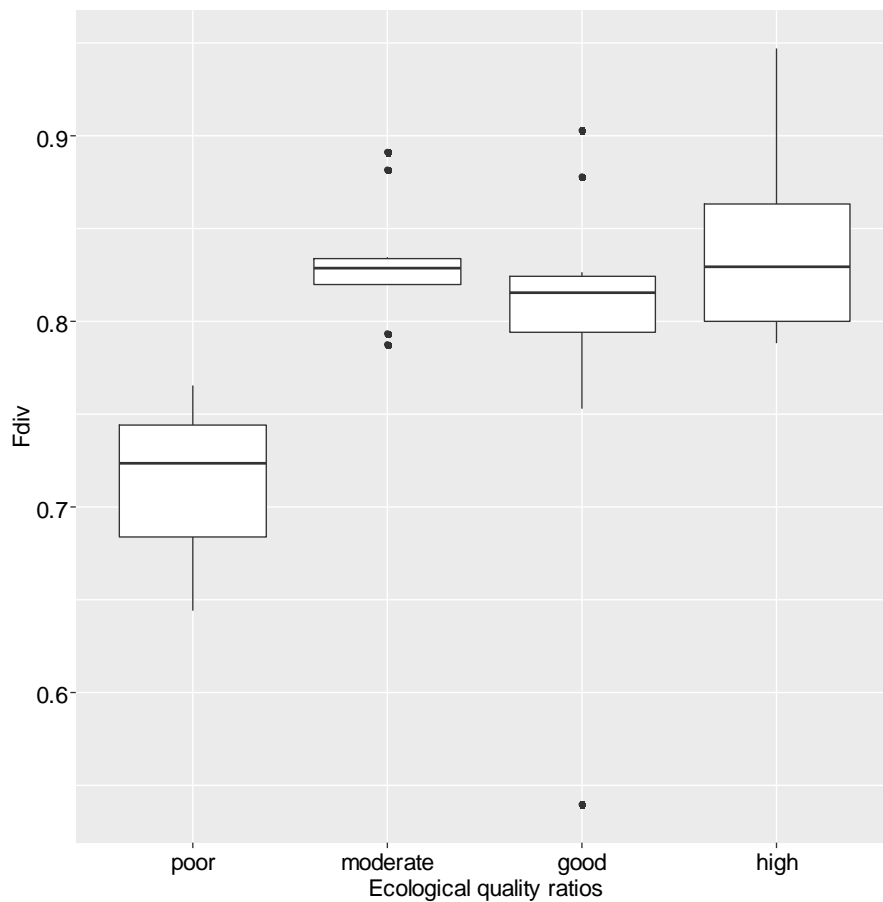


Figure 17: Value of the functional divergence according to the ecological quality ratios

### 3.4. Effect of green tides at local scale of proliferation

#### 3.4.1. Descriptor of proliferation: surface ratios

Spatial preliminary analyses were carried out to assess for each haul a ratio of surface covered by green macroalgae (*i.e.* surface ratios). Few beam trawls were realized within the macroalgae mat (fig. 18). In spring, 54 trawl hauls were realized in green algae mats (8 %) and 71 in August (10 %). The 125 hauls realized within the mats represent a very low part of the 1348 beam trawl hauls conducted (9 %).

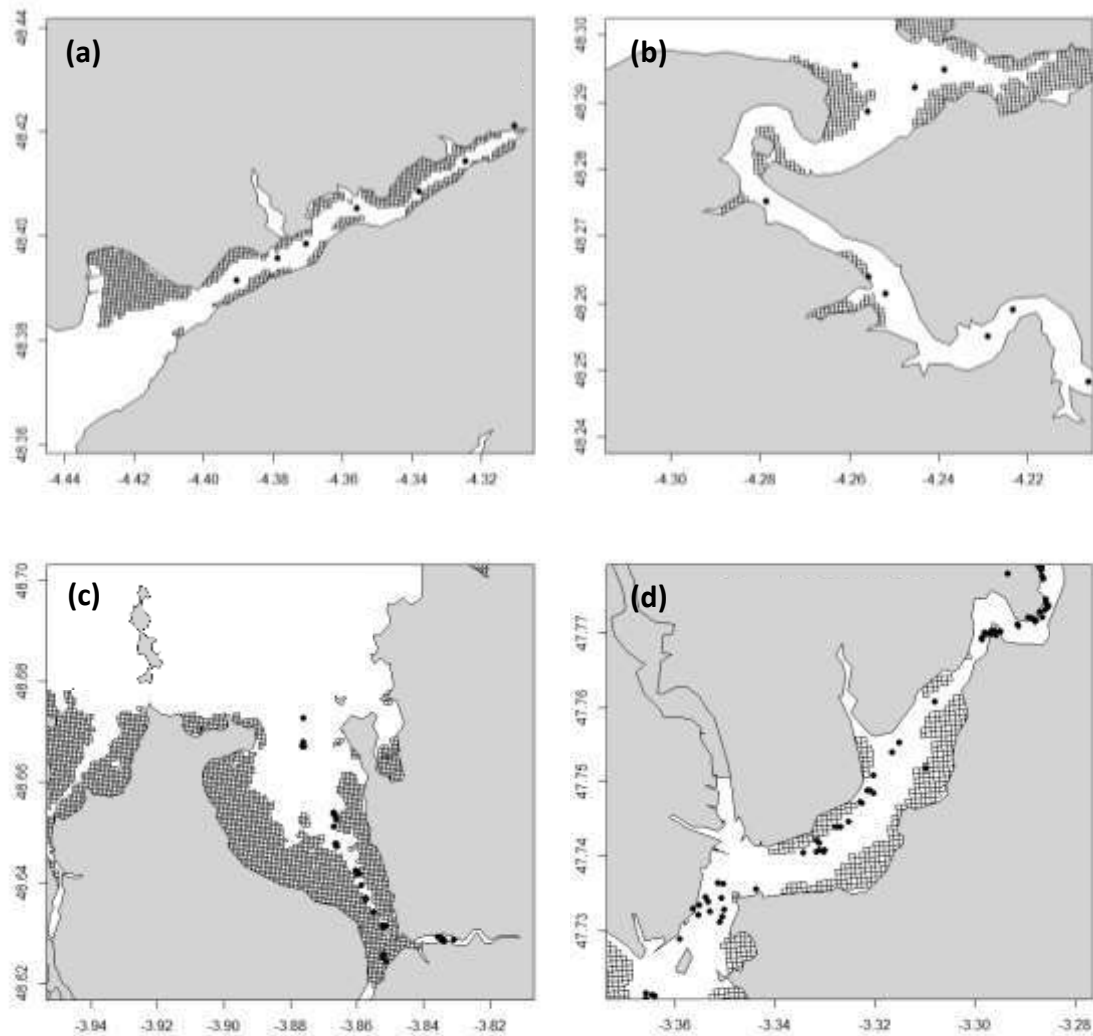


Figure 18: Map of the four of the 13 studied estuaries (a: Elorn, b: Aulne, c: Morlaix and d: Blavet). Points symbolized the average position of beam trawl realized within each site. The hatched grid represented the green macroalgae mats

In addition, the surface ratios corresponding to the 125 beam trawl hauls were very low. The maximal surface ratio where hauls were realized, is 36.2 % for the spring campaigns (table 10; fig. 19).

Table 10: Maximum and mean of the surface ratios where the beam trawls were realized

Distribution of data	Spring campaign (57 hauls)	Autumn campaign (71 hauls)
Mean of surface ratios	0,3 %	0.4 %
Maximum of surface ratios	36 %	47 %

The effects of surface ratios on the fish metrics for the 21 models were not statistically significant for the spring and the autumn campaigns.

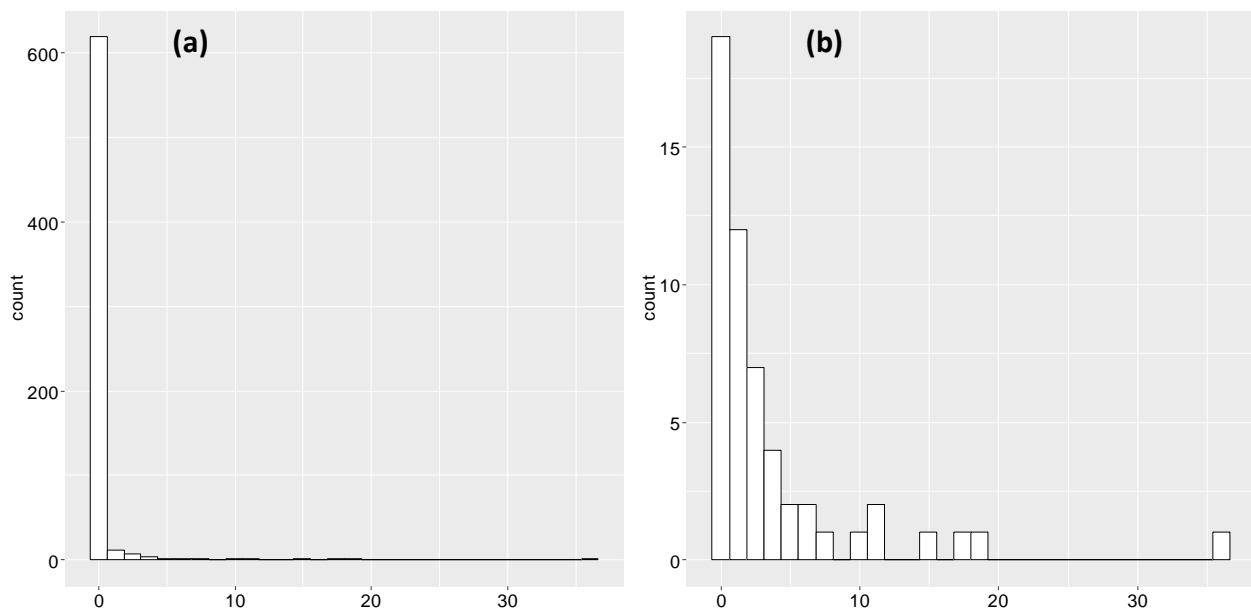


Figure 19: Frequency of beam trawl associated with the percentage of the area covered by mats of *Ulva* spp. (a); frequency of beam trawl realized in the mats of *Ulva* spp.

### 3.4.2. Descriptor of proliferation: *Ulva* spp. density per trawl haul

Biomass of *Ulva* spp. caught per beam trawl haul was available for the 2013 and 2014 campaigns only. In spring, 8 estuaries presented data of density of green macroalgae (Aber Wrach, Aven, Belon, Blavet, Elorn, Morlaix, Pont l'abbé, Trieux) for a total of 135 hauls. In autumn, 7 estuaries had records of the density of *Ulva* spp. (Aber Wrach, Belon Blavet, Elorn, Morlaix, Scorff, Trieux) for a total of 73 hauls.

The densities of *Ulva* spp. caught during the spring and autumn campaigns were very low (fig. 20). The mean values of density were equal to 0.0025 kg/m<sup>2</sup> for the spring campaigns and 0.0045 kg/m<sup>2</sup> for the autumn campaigns (table. 11). The average surface trawled was equal to 1 087 m<sup>2</sup>. The WTF campaigns were not realized within the mats formed by green macroalgae.

Table 11: Maximum and mean of the density of *Ulva* spp. per beam trawl haul

Distribution of data	Spring campaign (135 hauls)	Autumn campaign (73 hauls)
Mean of biomass	0.0025 kg/m <sup>2</sup>	0.0045 kg/m <sup>2</sup>
Maximum of biomass	0.05 kg/m <sup>2</sup>	0.18 kg/m <sup>2</sup>

The effects of *Ulva* density on the fish metrics for the 21 models were not statistically significant for the spring and the autumn campaigns.

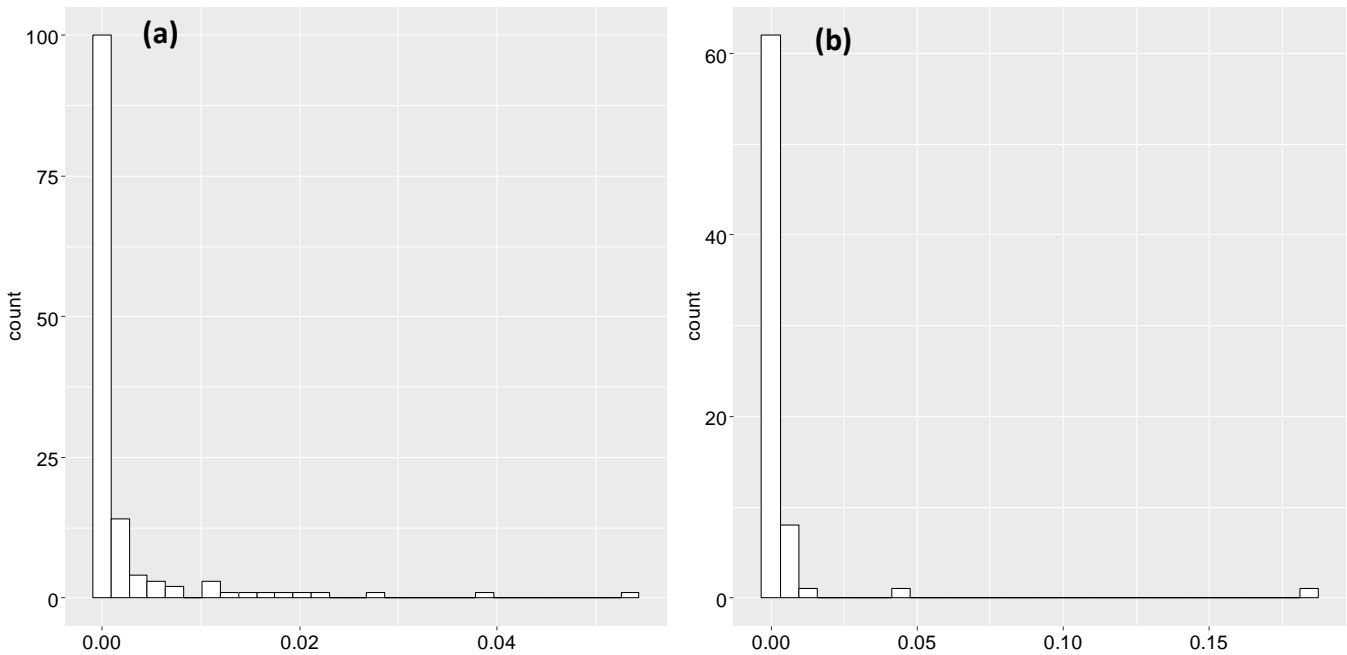


Figure 20: *Ulva* density ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) caught per beam trawl in 2013 and 2014 in spring (a) and in autumn (b)

## 4. Discussion

### 4.1. A preliminary description of fish community in estuarine systems

#### 4.1.1. Beam trawl data

The Water Framework Directive campaigns were realized with a beam trawl. This gear is well adapted to sample the benthic and demersal community, but not for the pelagic species (Courrat et al., 2009; Delpech et al., 2010). The use of this benthic gear explains the low proportion of pelagic species. We compared the composition of the communities in the 13 estuaries to the community defined in a meta-analysis that aiming to describe the fish assemblage of 17 European estuaries (Elliott and Dewailly, 1995). In this community, 50% of the community is composed of benthic fish and 25 % each of the demersal and pelagic species (Elliott and Dewailly, 1995). In our data, the proportion of demersal fish is higher (about 70 %) and the number of pelagic fish is very low (about 5 %). This comparison revealed that the fish community is not well represented in our data, and suggested a sampling bias. Nevertheless, GT mainly disturb benthic and demersal species (Le Luherne et al., 2016), thus this sampling bias does not compromise the validity of the approach.

#### 4.1.2. Fish metrics

The 10 fish metrics selected for this study were chosen to assess the ecological functions performed by estuarine systems for fish. We used these fish descriptors because they appeared complementary, accounting for both specific and functional diversity of fish (Mason et al., 2005; Vileger et al., 2008; Delpech et al., 2010).

### 4.2. Environmental drivers of fish community

By their structure, estuaries are exposed to strong environmental gradients (*i.e.* salinity, oxygen concentration and temperature) in the water column. These dynamic systems are very stressful for fish. Fish inhabiting estuaries are composed of species adapted to these natural constraints. This adaptation of communities in estuaries was described as "environmental homeostasis" in the "estuarine quality paradox" theory ( Elliott and Dewailly, 1995; Dauvin, 2007; Dauvin and Ruellet, 2009). In the light of this theory, it was crucial to take into account environmental parameters. Several environmental parameters were used in this study to describe fish community, before providing an evaluable assessment of GT consequences.

#### 4.2.1. Season

The season was considered as an important natural factor controlling the fish community (Courrat et al., 2009). This control was revealed in our study. For instance, the proportion of marine juvenile was lower during the autumn campaigns than in Spring. This trend revealed a high mortality or migration phenomenon between these two seasons. In fact, it is well known that juvenile suffer of high mortality rates during their settlement (Le Pape and Bonhommeau, 2015).

#### 4.2.2. Ecoregion

A preliminary analysis revealed that the density was higher in South Brittany than in North Brittany, with significant differences in the species composition. This result suggests that estuaries localized in South Brittany present a much sustainable habitat than estuaries located in North Brittany. Indeed, the density is a well know indicator which evaluate the quality of habitat (Delpech et al., 2010). The delimitation of the two ecosystems (*i.e.* South and North Brittany) was already proposed by Spalding et al (2007). Our result confirmed this biogeographical classification.



### 4.2.3. Depth and salinity

These two environmental factors had significant statistical effects on the 8 fish metrics, and are important factors that structured the fish community in estuarine areas (Courrat et al., 2009). However, we know that there are many other factors which could influence fish community, as the sediment granulometry, water temperature of the water, or oxygen concentration. The addition of these data, would allowed improving the modelling of factors that control the fish community. However, adding variables could complicate the model. According to the parsimony theory, the addition of variables must lead to a higher explanatory power, if not the variable should be excluding. Furthermore, these kind of descriptors were not available in our data set.

## 4.3. Impacts of green tides on fish community at different scales

Our study aimed to provide a global appreciation of the impact of green tides on the fish community at different spatial scale, from a global evaluation of GT effects to a local scale assessment of these effects (i.e. from EQR to algal coverage).

### 4.3.1. Spatio-temporal and spatial scale

Two approaches were used to analyze the local effect of GT on fish community: the surface ratios and the biomass of *Ulva* spp. per beam trawl haul.

None of the 10 metrics present a significant response for these two descriptors of GT intensity. These results (i.e. for the density of *Ulva* spp. per beam trawl haul and the surface ratios) were not expected, these indicators of local intensity of GT were expected to have the most significant effect of fish community.

The lack of response of the fish community to green tides can be explained by the low surface covered by *Ulva* spp. on trawling areas. We observed that the trawl hauls were realized beside of the mats of green macroalgae by the mapping of trawl hauls points. The low values of surface ratios associated to the beam trawl hauls explain the non-significances of these factors in our models. Le Luherne et al (2016) revealed the impacts of GT on fish community and observed a threshold density of *Ulva* spp. from which the fish community was significantly impacted. This threshold was equal to 0.3 kg/m<sup>2</sup>. In our data, the maximum of density of ulva recorded was equal to 0.05 kg/m<sup>2</sup> in spring and 0.18 kg/m<sup>2</sup> in autumn. The absence of significant effects on fish metrics seems to be coherent according to Le Luherne et al (2016). Indeed, during WFD beam trawl survey, trawl hauls avoid the algal mats and do not appear appropriate to study their impacts.

#### 4.3.2. Some patterns at estuarine global scale

During a green tide event, the main perturbations induced by GT occur at a local scale. These perturbations could be divided into three types: physical, chemical and trophic perturbations, both affecting the fish community within a small area. We supposed that the principal effects of GT were geographically restricted to the mats of *Ulva* spp. More precisely, the effects of GT seem to operate within the mats of *Ulva* spp., so fish species which live outside of the mats would not be affected by GT. During a green tide event, the main perturbations induced by GT occur at a local scale. For example, a decrease in fish foraging efficiency intervenes within the mats of *Ulva* spp. The degradation of the physical structure of the habitat is also a very local effect of GT. We can also take the example of anoxia, these conditions are only associated with sediment located below the mats of *Ulva* spp. (Baden, 1990; Sundbäck et al., 1996).

However, at estuarine scale, the negative effect of green tides was revealed on the benthic fish. Benthic fish are the most sensitive guild to green macroalgae proliferation (Bowen and Valiela, 2001; Bricker et al., 2008; Le Luherne et al., 2016). Indeed, GT impact at first the estuarine floor (e.g. change in complexity of the sediment). Benthic fish are therefore the most impacted species due to the degradation of their habitat. The GT could be responsible of a shift from a benthic to a pelagic community (Bowen and Valiela, 2001). Our study also reveals the negative impact of GT at estuarine scale on fish community using the functional divergence. A threshold was found between the “poor” and the “moderate” ecological status. The decrease of the functional divergence could indicate that the most abundant species had their morphological traits closed to the center of the functional trait space. Patterns of functional divergence indicate that there is a low degree of niche differentiation when the estuaries are significantly affected by GT. The proliferation of opportunistic green macroalgae impacts ecosystem functioning. Mason et al (2005) assigned the decline of functional divergence to a less efficient resource use. Under this assumption, the green tides seem to have a negative impact on benthic fish. This impact was already demonstrated in many studies (Pihl et al., 1995; Österblom et al., 2007; Eriksson et al., 2009).

The analysis at global scale by the use of Ecological Quality Ratios reveals that the impacts of green tides depend on the vertical distribution of fish species. The most impacted guild seems to be the benthic fish according to our study. However, this result should be analyzed with caution.

#### 4.4. Perspective

We assume that the different descriptors of the fish community were sufficiently diversified (i.e. density, density of vertical and ecological guilds and indices of functional diversity) to get a good representation of the community. Similarly, the descriptors of GT procured by the CEVA and the WFD (i.e. EQR, surface ratios and density of algae per beam trawl) were appropriate. These descriptors had the advantages of evaluate the intensity of green tides throughout different spatial and temporal scale. The major difficulty encountered in our study was the sampling protocol. The reason of the incapacity to provide a clear-cut answer on our problematic is caused by the avoidance of the mat of ulva during the WFD campaigns. Fish communities sampled within each estuary do not represent the community in the mats of *Ulva* spp. As a consequence, the WFD campaign does not appear appropriate for this problematic. GT impacts should be analyzed with a dedicated protocol. A diversity of protocol can be design, like before-after control impact (BACI) with controlled (Le Luherne et al., 2016) and impacted sites or a multi-scale sampling of impacted site (Quillien et al., 2015). The crucial characteristic of the sampling protocol is to sampled the fish community within the mat of ulva. Specific survey integrating mats in their spatial design should been developed, but the clogging of trawl by green algae during GT is a main problem to design appropriate sampling protocol (Le Luherne et al., 2016).

## 5. References

**A**itchison, J., 1955. On the distribution of a positive random variable having a discrete probability mass at the origin. *J. Am. Stat. Assoc.*

Aitchison, J., Brown, J.A.C., 1957. *The lognormal distribution*, Cambridge University Press.

Anderson, C.R., Moore, S.K., Tomlinson, M.C., Silke, J., Cusack, C.K., 2015. Living with harmful algal blooms in a changing world, in: *Coastal and Marine Hazards, Risks, and Disasters*. Elsevier, pp. 495–561.

**B**aden, S. 1990. Eutrophication on benthic communities including fish: Swedish west coast. *A Journal of the Human Environment*, pp. 113-122.

Beck, M., Airoidi, L., 2007. Loss, status and trends for coastal marine habitats of Europe, in: Gibson, R., Atkinson, R., Gordon, J. (Eds.), *Oceanography and Marine Biology*. CRC Press, pp. 345–405.

Bowen, J.L., Valiela, I., 2001. The ecological effects of urbanization of coastal watersheds: historical increases in nitrogen loads and eutrophication of Waquoit Bay estuaries. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, pp. 1489–1500.

Bricker, S.B., Longstaff, B., Dennison, W., Jones, A., Boicourt, K., Wicks, C., Woerner, J., 2008. Effects of nutrient enrichment in the nation's estuaries: A decade of change. *Harmful Algae*, pp. 21–32.

**C**ostanza, R., d'Arge, R., de Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R.V., Paruelo, J., Raskin, R.G., Sutton, P., van den Belt, M., 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, pp. 253–260.

Courrat, A., Lobry, J., Nicolas, D., Laffargue, P., Amara, R., Lepage, M., Girardin, M., Le Pape, O., 2009. Anthropogenic disturbance on nursery function of estuarine areas for marine species. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, pp. 179–190.

**D**auvin, J.-C., 2007. Paradox of estuarine quality: Benthic indicators and indices, consensus or debate for the future. *Mar. Pollut. Bull.*, pp. 271–281.

Dauvin, J.-C., Ruellet, T., 2009. The estuarine quality paradox: Is it possible to define an ecological quality status for specific modified and naturally stressed estuarine ecosystems? *Mar. Pollut. Bull.*, pp. 38–47.

Delpéch, C., Courrat, A., Pasquaud, S., Lobry, J., Le Pape, O., Nicolas, D., Boët, P., Girardin, M., Lepage, M., 2010. Development of a fish-based index to assess the ecological quality of transitional waters: The case of French estuaries. *Mar. Pollut. Bull.*, pp. 908–918.

Diaz, R.J., Rosenberg, R., 2008. Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science*, pp. 926–929.

**E**lliott, M., Dewailly, F., 1995. The structure and components of European estuarine fish assemblages. *Neth. J. Aquat. Ecol*, pp. 397–417.

Elliott, M., Quintino, V., 2007. The estuarine quality paradox, environmental homeostasis and the difficulty of detecting anthropogenic stress in naturally stressed areas. *Mar. Pollut. Bull*, pp. 640–645.

Eriksson, B.K., Ljunggren, L., Sandström, A., Johansson, G., Mattila, J., Rubach, A., Råberg, S., Snickars, M., 2009. Declines in predatory fish promote bloom-forming macroalgae. *Ecol. Appl*, pp. 1975–1988.

**G**ibson, R.N., 1994. Impact of habitat quality and quantity on the recruitment of juvenile flatfishes. *Neth. J. Sea Res*, pp. 191–206.

**H**olbrook, S., Forrester, G., Schmitt, R., 2000. Spatial patterns in abundance of a damselfish reflect availability of suitable habitat. *Oecologia*, pp. 109–120.

Hull, S.C., 1987. Macroalgal mats and species abundance: a field experiment. *Estuar. Coast. Shelf Sci*, pp. 519–532.

**L**aliberté, E., Legendre, P., 2010. A distance-based framework for measuring functional diversity from multiple traits. *Ecology*, pp. 299–305.

Largier, J.L., 1993. Estuarine Fronts: How important are they? *Estuaries*, pp. 1–11.

Laurent, A.G., 1963. The lognormal distribution and the translation method: description and estimation problems. *J. Am. Stat. Assoc*, pp. 231–235.

Le Luherne, E., Réveillac, E., Ponsero, A., Sturbois, A., Ballu, S., Perdriau, M., Le Pape, O., 2016. Fish community responses to green tides in shallow estuarine and coastal areas. *Estuar. Coast. Shelf Sci*, pp. 79–92.

Le Pape, O., Bonhommeau, S., 2015. The food limitation hypothesis for juvenile marine fish. *Fish Fish*, pp. 373–398.

Le Pape, O., Chauvet, F., Mahévas, S., Lazure, P., Guérault, D., Désaunay, Y., 2003. Quantitative description of habitat suitability for the juvenile common sole (*Solea solea*) in the Bay of Biscay (France) and the contribution of different habitats to the adult population. *J. Sea Res*, pp. 139–149.

Liu, D., Keesing, J.K., He, P., Wang, Z., Shi, Y., Wang, Y., 2013. The world's largest macroalgal bloom in the Yellow Sea, China: Formation and implications. *Estuar. Coast. Shelf Sci*, pp. 2–10.

Lyons, D.A., Arvanitidis, C., Blight, A.J., Chatzinikolaou, E., Guy-Haim, T., Kotta, J., Orav-Kotta, H., Queirós, A.M., Rilov, G., Somerfield, P.J., Crowe, T.P., 2014. Macroalgal blooms alter community structure and primary productivity in marine ecosystems. *Glob. Change Biol*, pp. 2712–2724.

**M**anel, S., Williams, H.C., Ormerod, S.J., 2002. Evaluating presence-absence models in ecology: the need to account for prevalence: Presence-absence modelling. *J. Appl. Ecol.*, pp. 921–931.

Ménesguen, A., Piriou, J.-Y., 1995. Nitrogen loadings and macroalgal (*Ulva* sp.) mass accumulation in Brittany (France). *Ophelia*, pp. 227–237.

Merceron, M., Antoine, V., Auby, I., Morand, P., 2007. In situ growth potential of the subtidal part of green tide forming *Ulva* spp. stocks. *Sci. Total Environ.*, pp. 293–305.

Modin, J., Fagerholm, B., Gunnarsson, B., Pihl, L., 1996. Changes in otolith microstructure at metamorphosis of plaice, *Pleuronectes platessa* L. *ICES J. Mar. Sci. J. Cons.* 53, 745–748. doi:10.1006/jmsc.1996.0094

**N**ixon, S.W., 1995. Coastal marine eutrophication: A definition, social causes, and future concerns. *Ophelia* 41, 199–219.

**O**lafsson, E.B., 1988. Inhibition of larval settlement to a soft bottom benthic community by drifting algal mats: An experimental test. *Mar. Biol.* 97, 571–574.

Österblom, H., Hansson, S., Larsson, U., Hjerne, O., Wulff, F., Elmgren, R., Folke, C., 2007. Human-induced trophic cascades and ecological regime shifts in the baltic sea. *Ecosystems* 10, 877–889.

**P**ennington, M., 1983. Efficient estimators of abundance, for fish and plankton surveys. *Biometrics*, pp. 281.

Paumier, A., Teichert, N., Lepage, M., 2015. Characterization of biological, ecological and functional traits of fish in estuaries. internship report.

Peterson, C., Summerson, H., Thomson, E., Lenihan, H., Grabowski, J., Manning, L., Micheli, F., Johnson, G., 2000. Synthesis of linkages between benthic and fish communities as a key to protecting essential fish habitat. *Bull. Mar. Sci.*, pp. 759–774.

Pihl, L., Isaksson, I., Wennhage, H., Moksnes, P.-O., 1995. Recent increase of filamentous algae in shallow Swedish bays: Effects on the community structure of epibenthic fauna and fish. *Neth. J. Aquat. Ecol.*, pp. 349–358.

Pihl, L., Modin, J., Wennhage, H., 2005. Relating plaice (*Pleuronectes platessa*) recruitment to deteriorating habitat quality: effects of macroalgal blooms in coastal nursery grounds. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, pp. 1184–1193.

Pihl, L., Wennhage, H., Nilsson, S., 1994. Fish assemblage structure in relation to macrophytes and filamentous epiphytes in shallow non-tidal rocky- and soft-bottom habitats. *Environ. Biol. Fishes*, pp. 271–288.

Quillien, N., Nordström, M., Gauthier, O., Bonsdorff, E., Paulet, Y., Grall, J., 2015. Effects of macroalgal accumulations on the variability in zoobenthos of high-energy macrotidal sandy beaches. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, pp. 97–114.

Seitz, R.D., Wennhage, H., Bergstrom, U., Lipcius, R.N., Ysebaert, T., 2014. Ecological value of coastal habitats for commercially and ecologically important species. *ICES J. Mar. Sci.*, pp. 648–665.

Stefansson, G., 1996. Analysis of groundfish survey abundance data: combining the GLM and delta approaches. *ICES J. Mar. Sci.*, pp. 577–588.

Stoner, A., Manderson, J., Pessutti, J., 2001. Spatially explicit analysis of estuarine habitat for juvenile winter flounder: combining generalized additive models and geographic information systems. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, pp. 253–271.

Sundbäck, K., Carlson, L., Nilsson, C., Jönsson, B., Wulff, A., Odmark, S., 1996. Response of benthic microbial mats to drifting green algal mats. *Aquat. Microb. Ecol.*, pp. 195–208.

Underwood, G.J.C., Kromkamp, J., 1999. Primary production by phytoplankton and microphytobenthos in estuaries, in: *Advances in Ecological Research*. Elsevier, pp. 93–153.

Valiela, I., McClelland, J., Hauxwell, J., Behr, P., Hersh, D., Foreman, K., 1997. Macroalgal blooms in shallow estuaries: controls and ecophysiological and ecosystem consequences. *Limnol. Oceanogr.*, pp. 1105–1118.

Villéger, S., Mason, N.W.H., Mouillot, D., 2008. New multidimensional functional diversity indices for a multifaceted framework in functional ecology. *Ecology*, pp. 2290–2301.

Wilson, K., Able, K., Heck, K., 1990. Predation rates on juvenile blue crabs in estuarine nursery habitats: evidence for the importance of macroalgae (*Ulva lactuca*). *Mar Ecol Prog Ser*, pp. 243–251.

Zhou, M.-J., Liu, D.-Y., Anderson, D.M., Valiela, I., 2015. Introduction to the special issue on green tides in the yellow sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, pp. 3–8.

## 6. Appendices

### 6.1. Appendix I – Measures of the 19 morphological traits

measures	traits	codes
1	standard length	SL
2	Body Height	<u>BdD</u>
3	Height of the caudal fin	CD
4	Caudal peduncle height	<u>CpD</u>
5	Fork length	Cs
6	Length of the caudal fin	CL
7	caudal peduncle length	CPL
8	Length of pectoral fin	PL
9	Length of the pelvic fin	<u>PelL</u>
10	Height of the head (eyes)	HD
11	Eye	<u>HeD</u>
12	Head length	HL
13	Eye	EH
14	Width of eyes	EW
15	Body height to the pectoral fin	<u>BdpD</u>
16	Body height (by pec fin)	<u>BdDp</u>
17	Position of mouth	<u>Mp</u>
18	Number of barbs	Bar
19	Surface of the caudal fin	<u>Scf</u>

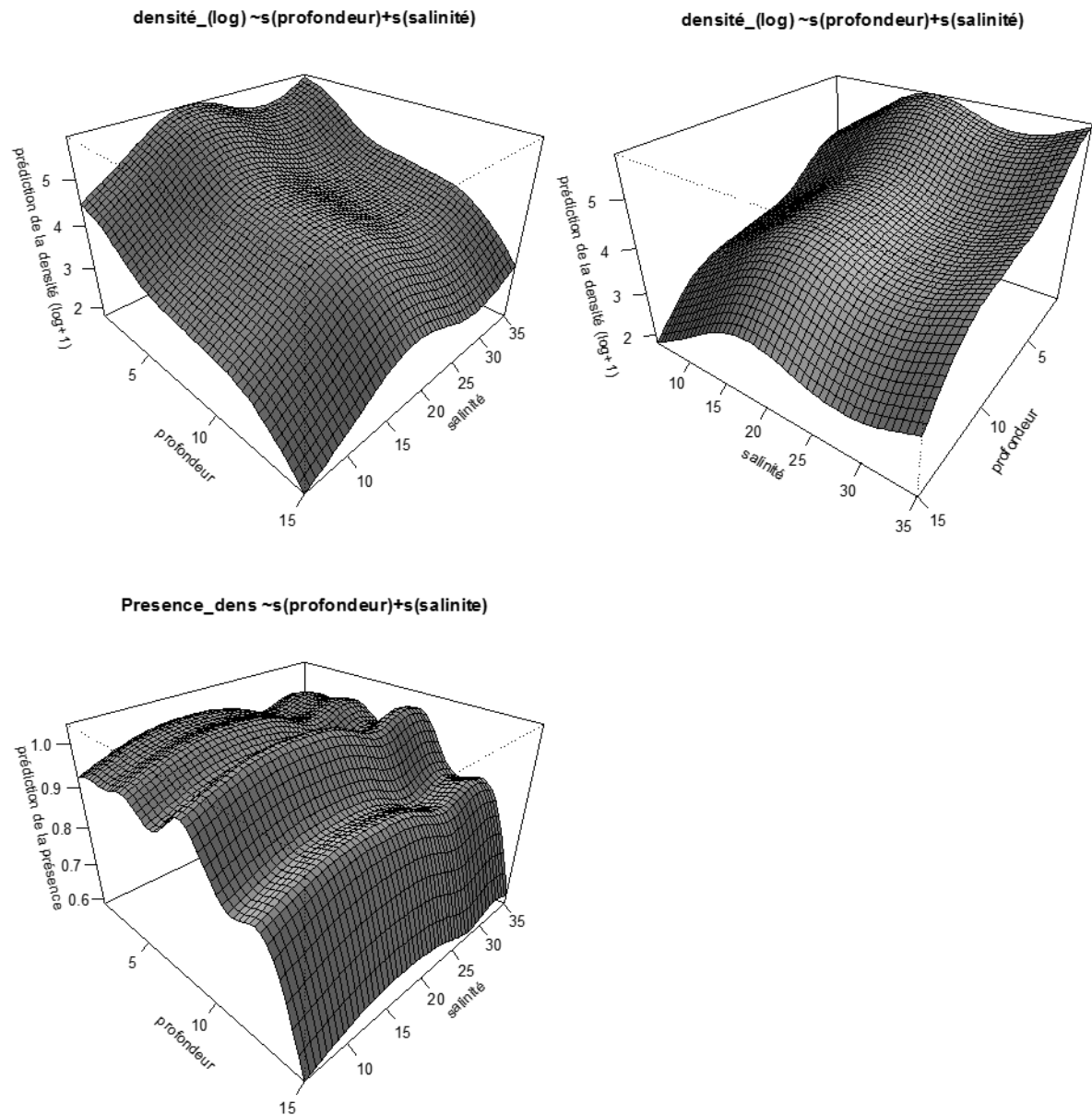


<b>components</b>	<b>functional traits</b>	<b>measures</b>	<b>interpretations</b>
<b>Habitat</b>	Eye position	Hed/HD	Position in the water column and prey position
<b>Habitat</b>	Position in the water column	factor	Position in the water column
<b>swim</b>	Restrictor peduncle	CD/Cpd	Endurance and acceleration
<b>swim</b>	relative length of the caudal	CL/SL	propulsion capability
<b>swim</b>	Aspect of the caudal fin	Cd <sup>2</sup> /Cs	Endurance and maneuverability
<b>swim</b>	Relative height of the body	BdD/SL	Maneuverability
<b>swim</b>	Position of the pectoral fin	BdpD/BdDp	Maneuverability and stability
<b>swim</b>	relative length of pectoral fin	PL/SL	Maneuverability and stability
<b>Detection</b>	Size of the eyes	EL-EW/HL	visual acuity
<b>Detection</b>	Number of barbs	Bar	Foraging in sediment
<b>Capture</b>	Position of mouth	Mp	Food intake
<b>Capture</b>	Head size	HL/HS	Maximum fishing capacity
<b>Capture</b>	maximum size	Lmax	Maximum fishing capacity
<b>trophic category</b>	Diet	factor	trophic guild

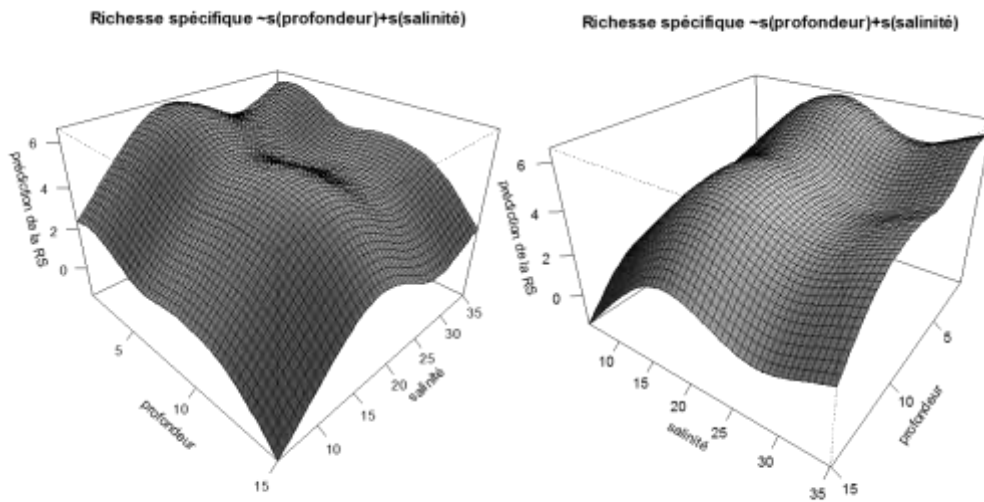
## 6.2. Appendix II – Results of the GAM for Autumn and Spring

### 6.2.1. Autumn

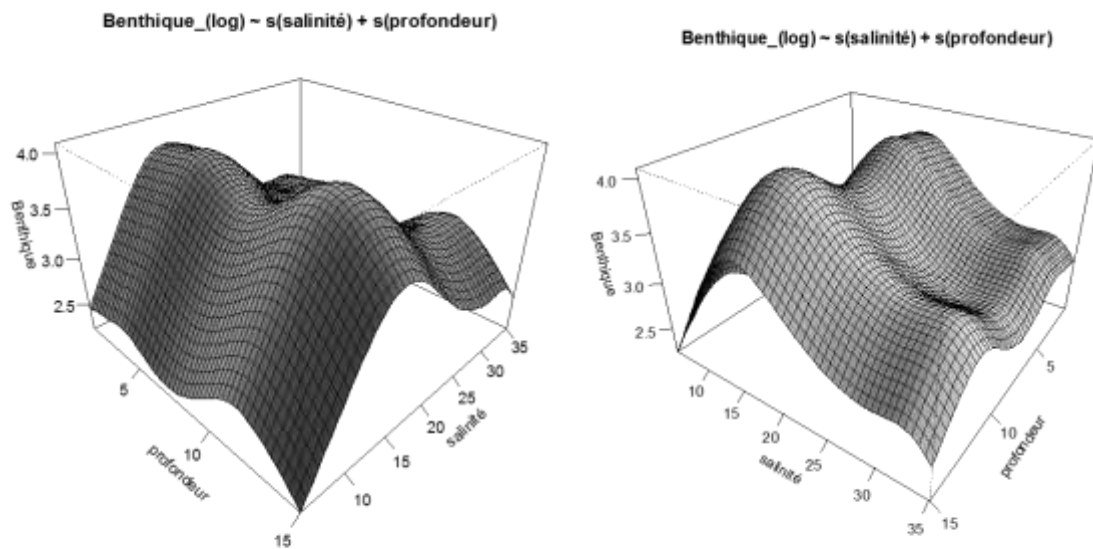
- **Total fish density**



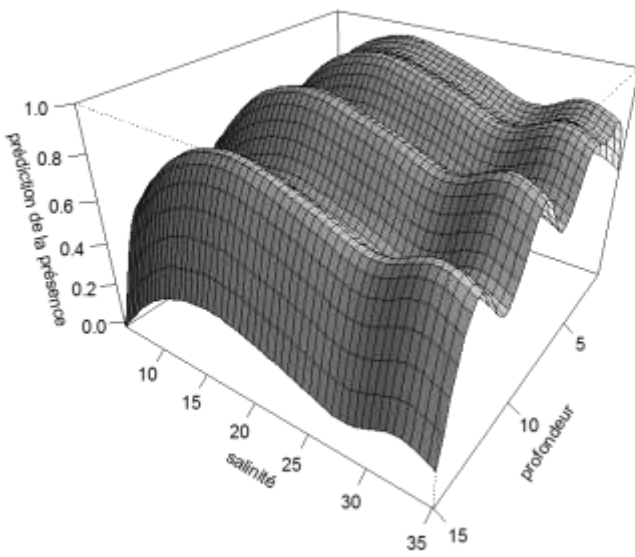
- *Species richness*



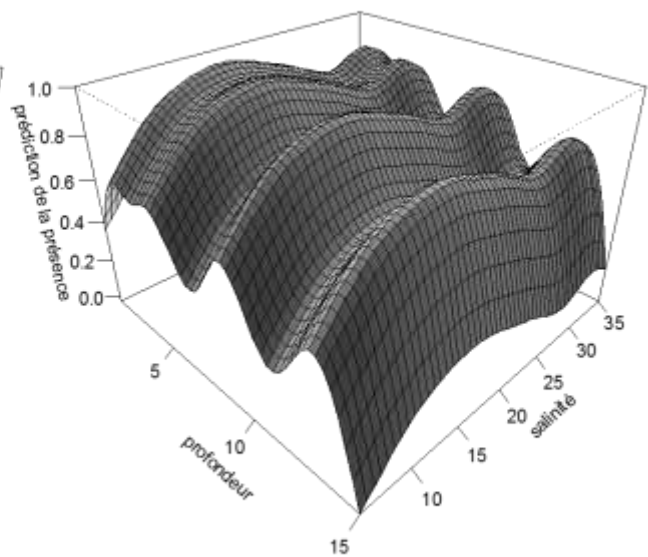
- *Density of benthic fish*



guide benthique ~s(profondeur)+s(salinité)

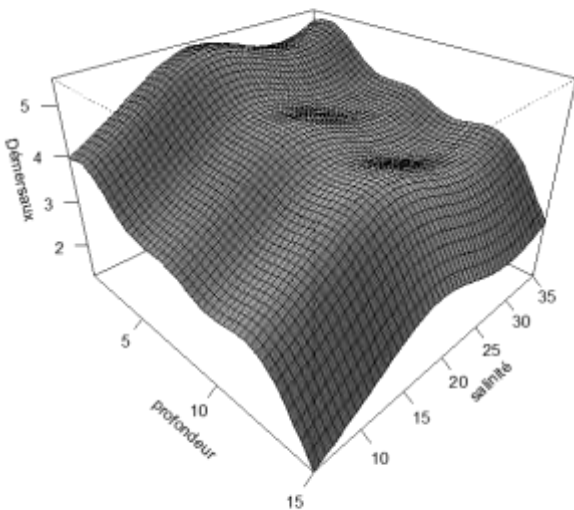


guide benthique ~s(profondeur)+s(salinité)

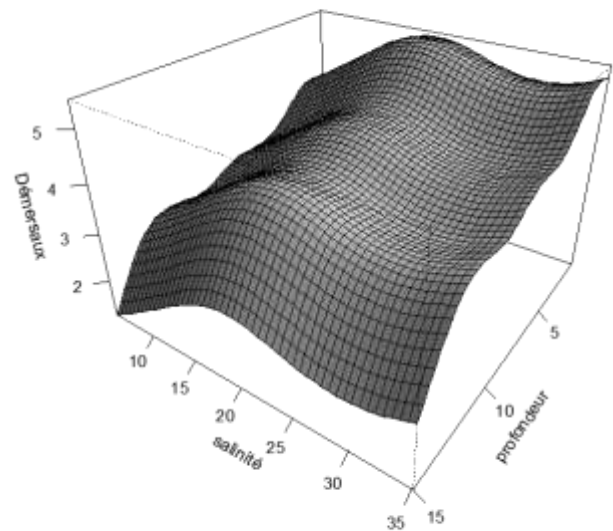


- **Density of demersal fish**

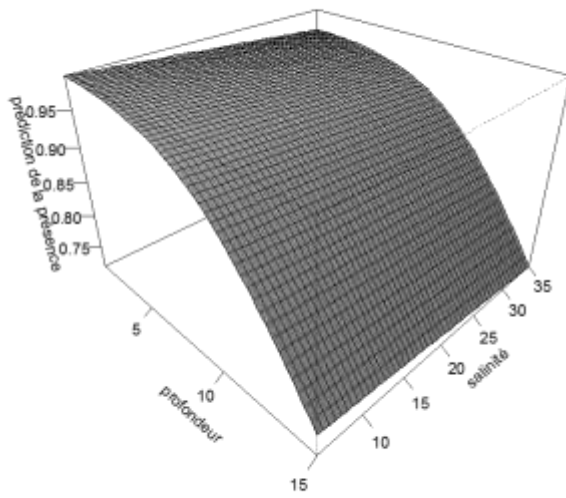
démersaux\_(log) ~s(profondeur)+s(salinité)



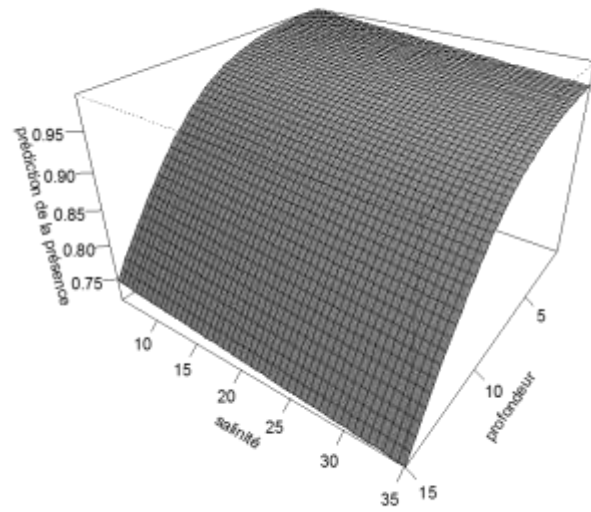
démersaux\_(log) ~s(profondeur)+s(salinité)



Guilde démersale ~s(profondeur)+s(salinité)

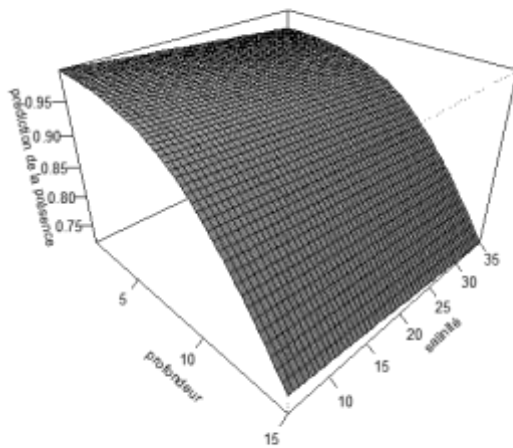


Guilde démersale ~s(profondeur)+s(salinité)

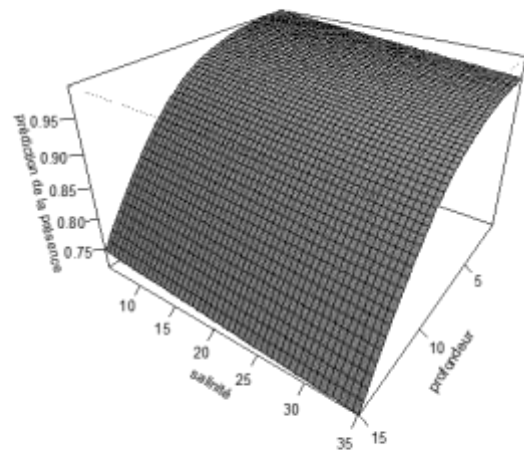


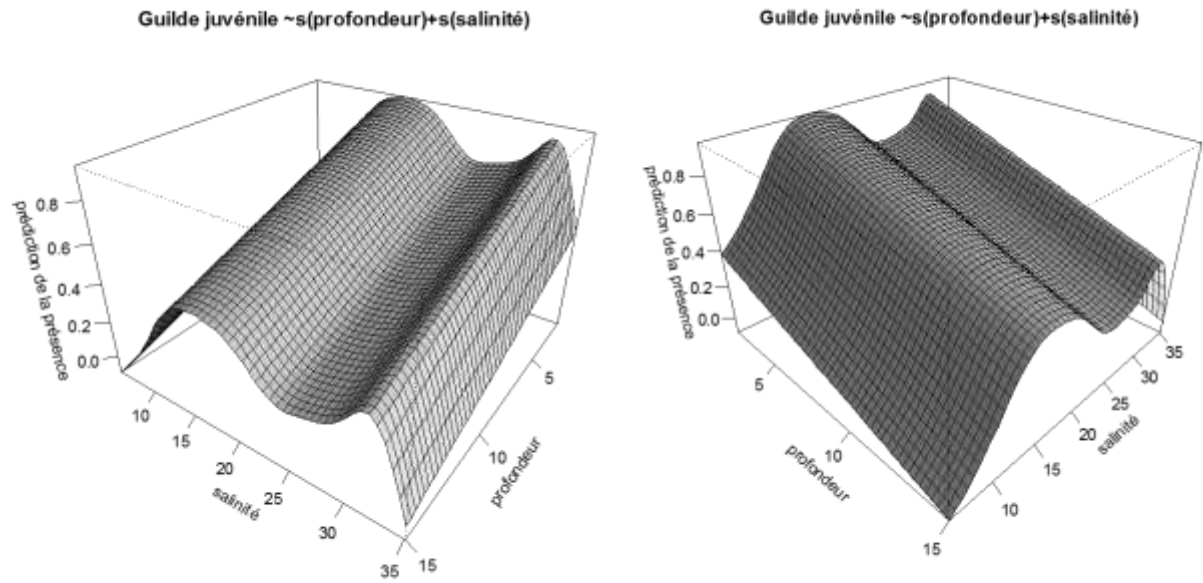
- *Density of marine juvenile*

Guilde démersale ~s(profondeur)+s(salinité)

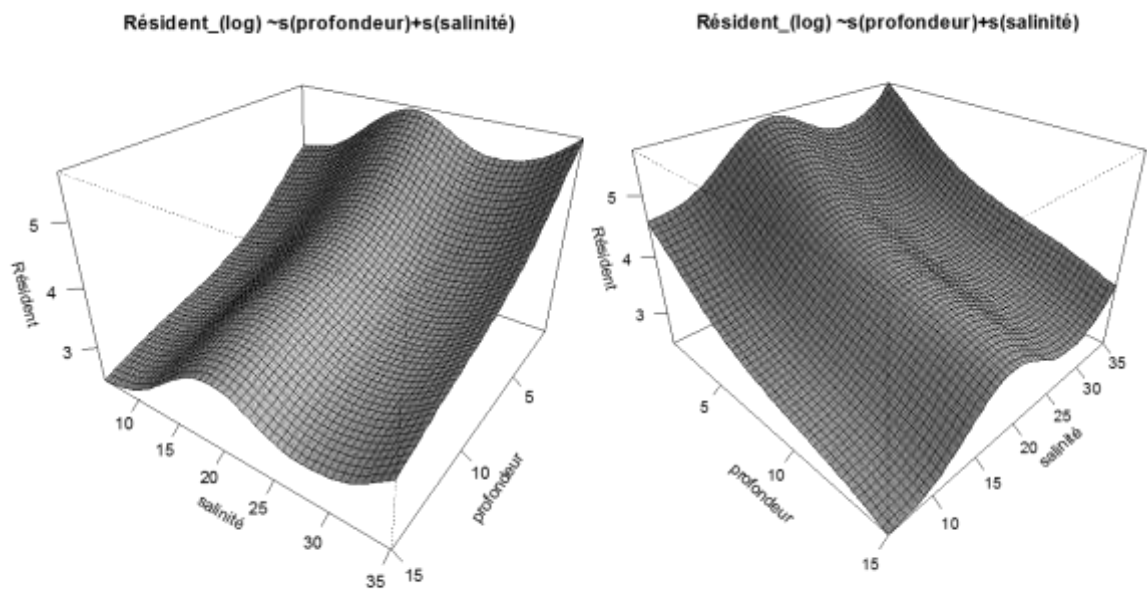


Guilde démersale ~s(profondeur)+s(salinité)

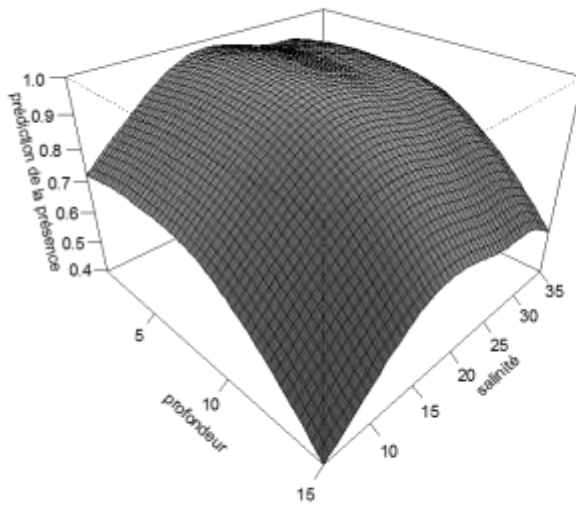




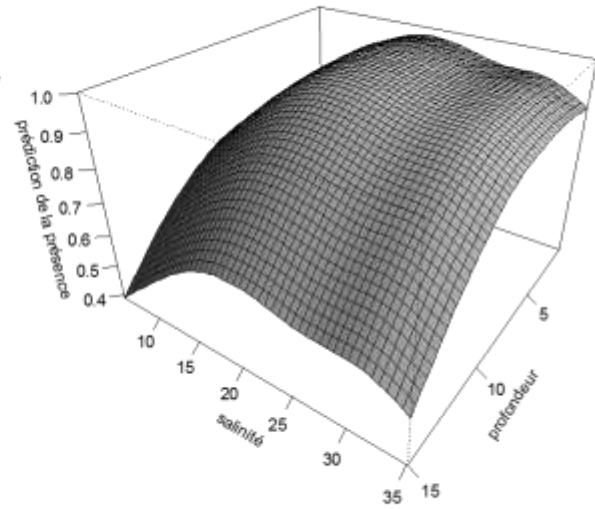
- **Density of resident fish**



Guilde résident  $\sim s(\text{profondeur})+s(\text{salinité})$

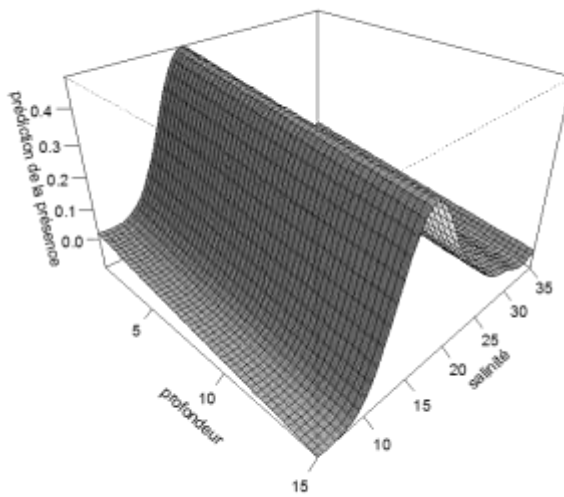


Guilde résident  $\sim s(\text{profondeur})+s(\text{salinité})$

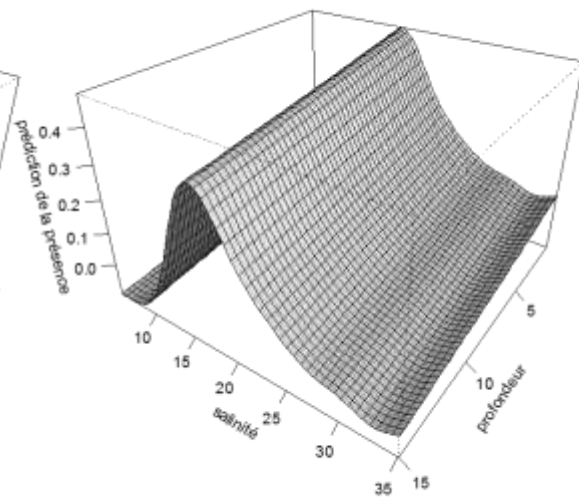


- *Presence of pelagic fish*

Guilde pélagique  $\sim s(\text{profondeur})+s(\text{salinité})$

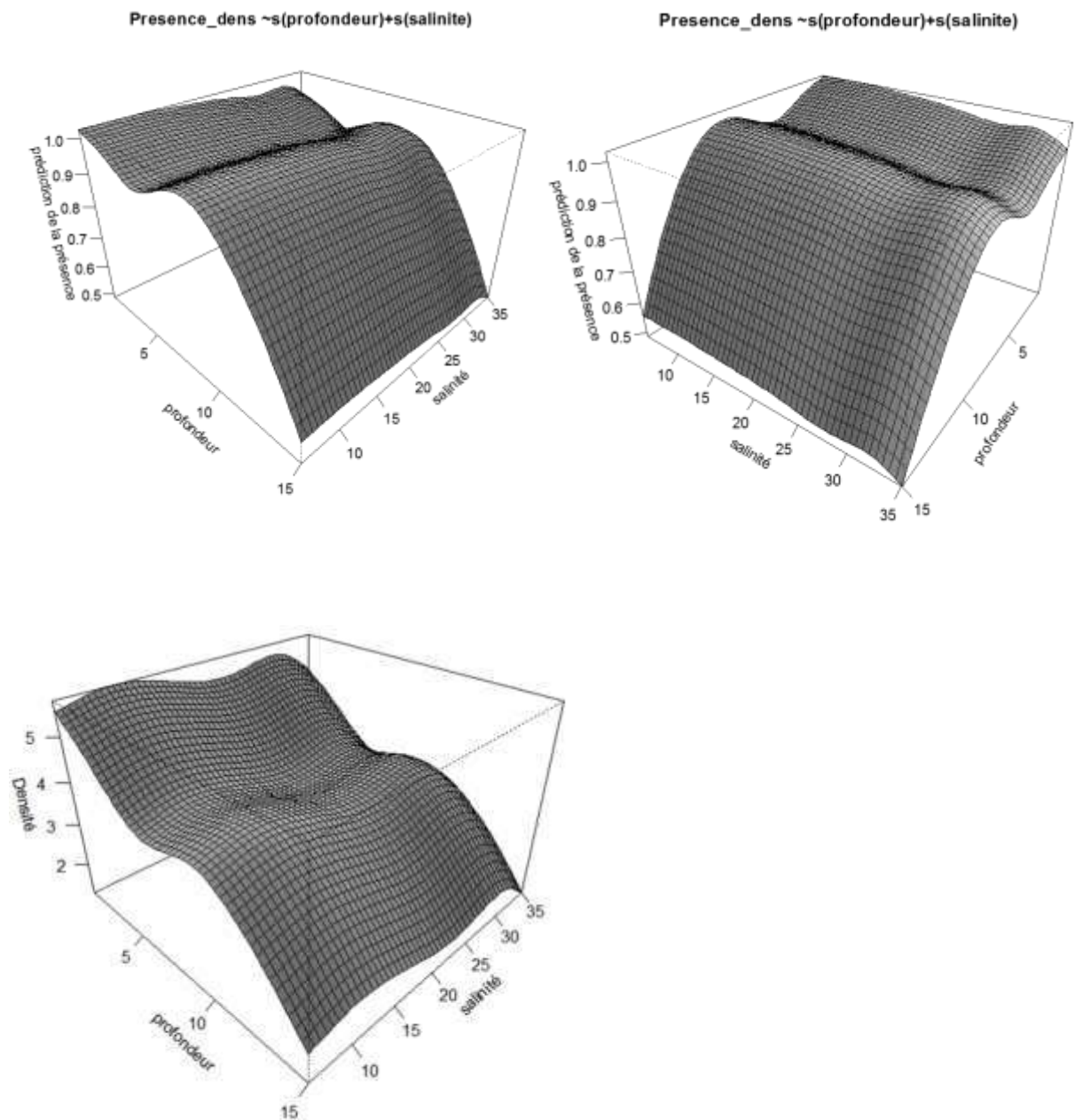


Guilde pélagique  $\sim s(\text{profondeur})+s(\text{salinité})$



## 6.2.2. Spring

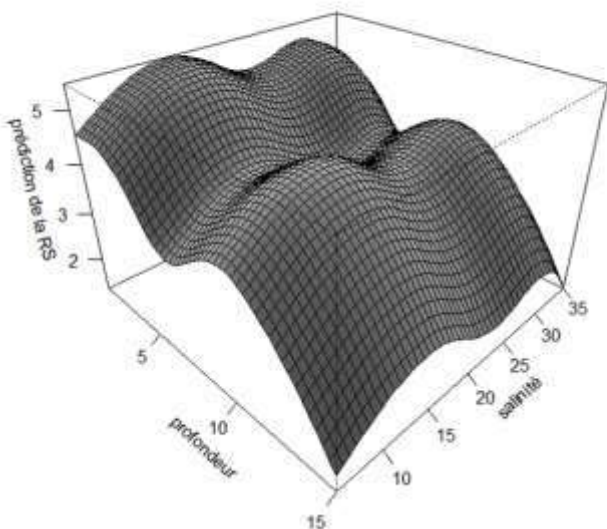
- **Total density of fish**



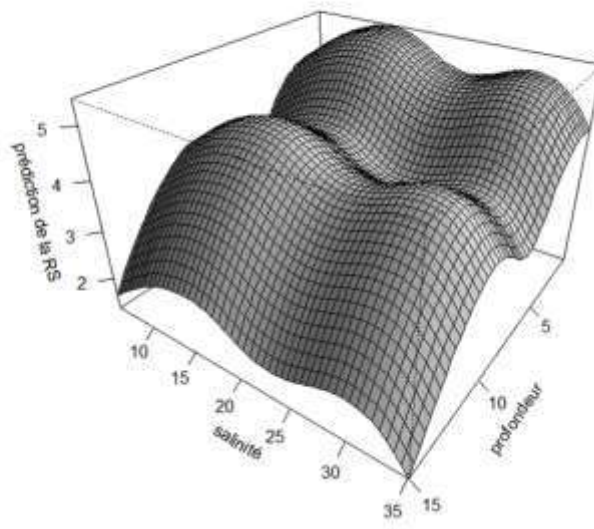


- *Species richness*

Richesse spécifique ~s(profondeur)+s(salinité)

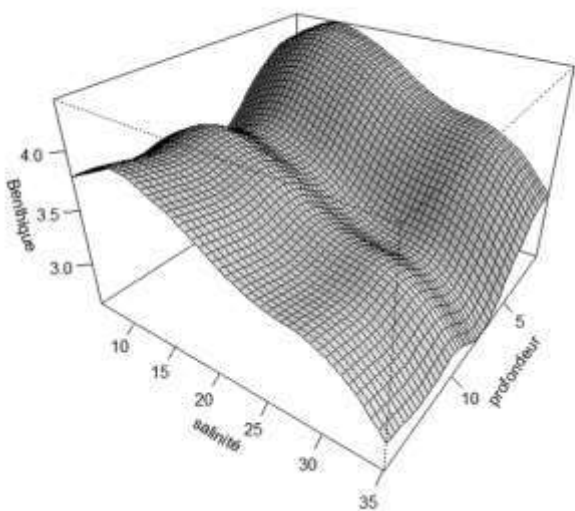


Richesse spécifique ~s(profondeur)+s(salinité)

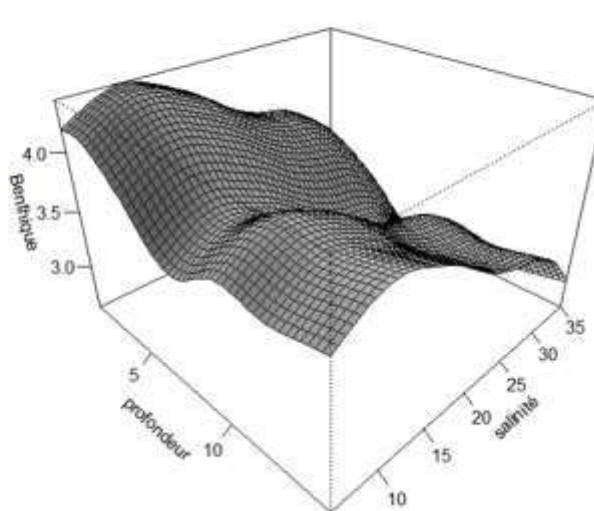


- *Density of benthic fish*

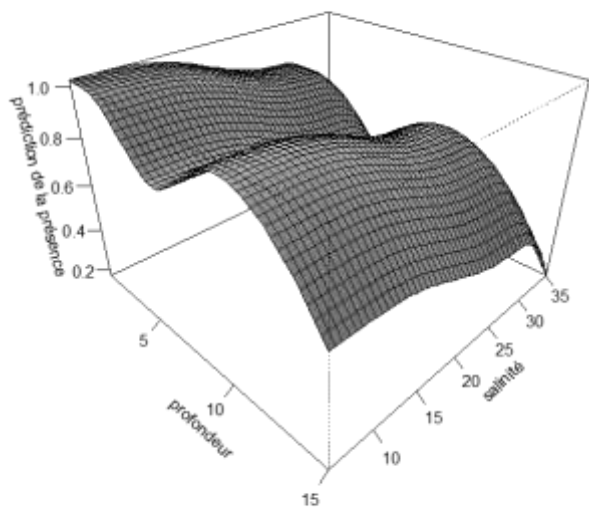
Benthique\_(log) ~ s(salinité) + s(profondeur)



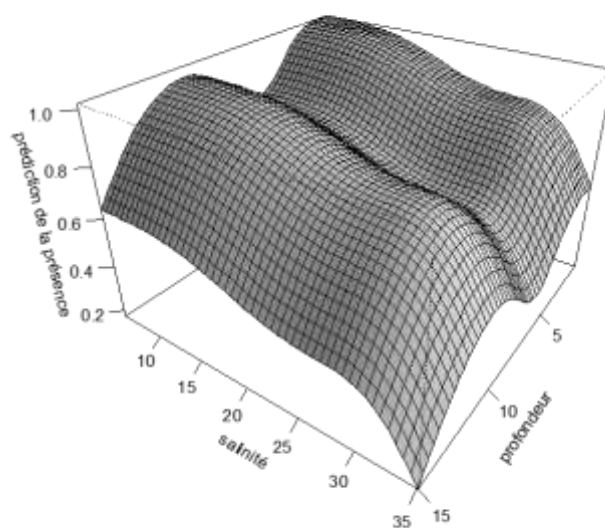
Benthique\_(log) ~ s(salinité) + s(profondeur)



guilde benthique ~s(profondeur)+s(salinité)

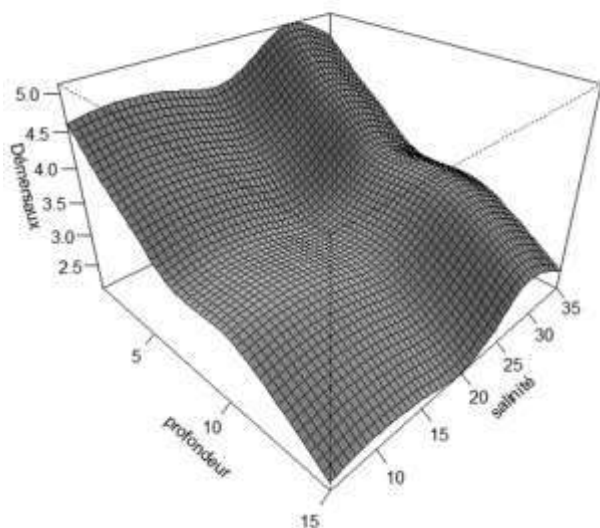


guilde benthique ~s(profondeur)+s(salinité)

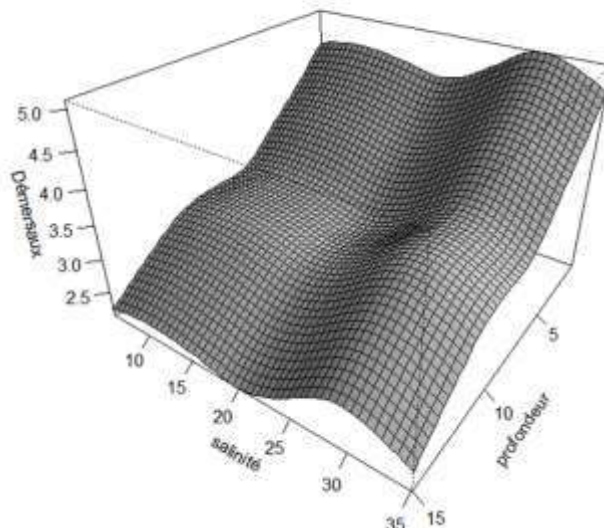


- **Density of demersal fish**

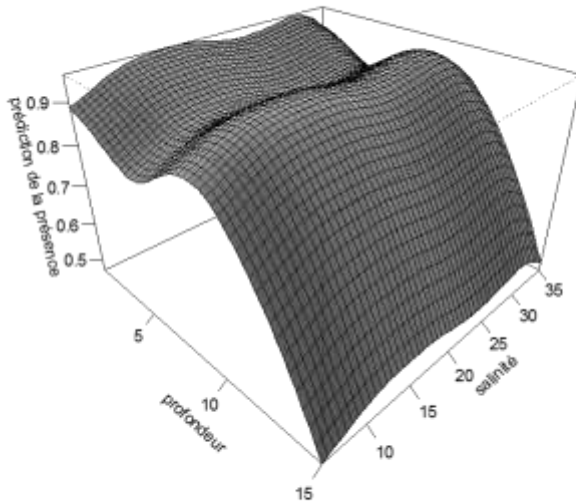
démersaux\_(log) ~s(profondeur)+s(salinité)



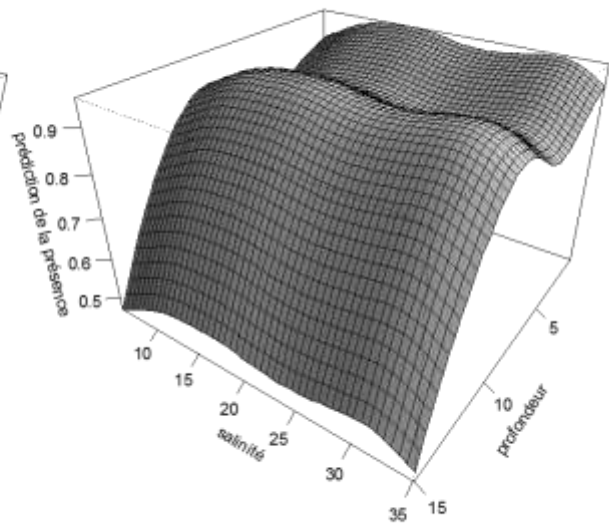
démersaux\_(log) ~s(profondeur)+s(salinité)



Guilde démersale  $\sim s(\text{profondeur}) + s(\text{salinité})$

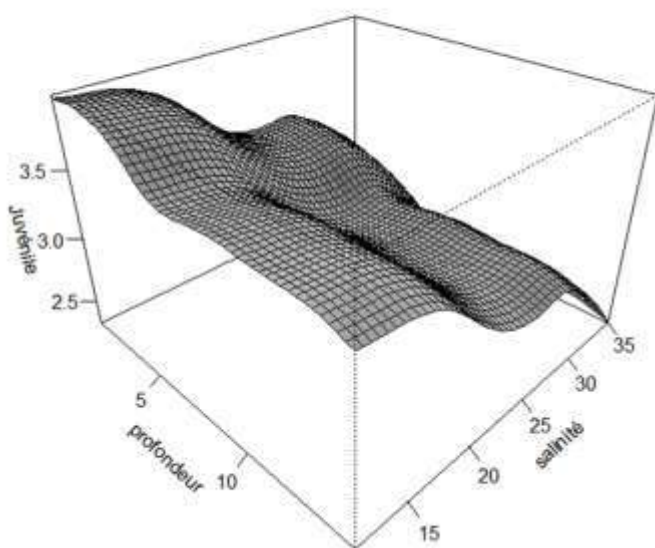


Guilde démersale  $\sim s(\text{profondeur}) + s(\text{salinité})$

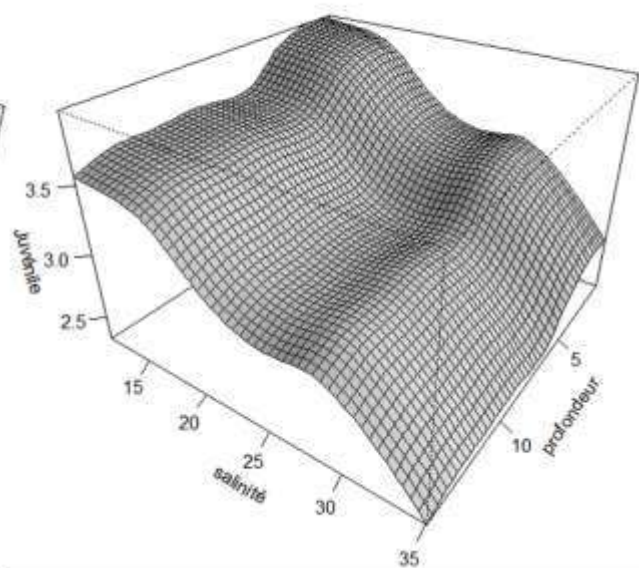


- *Density of marine juvenile*

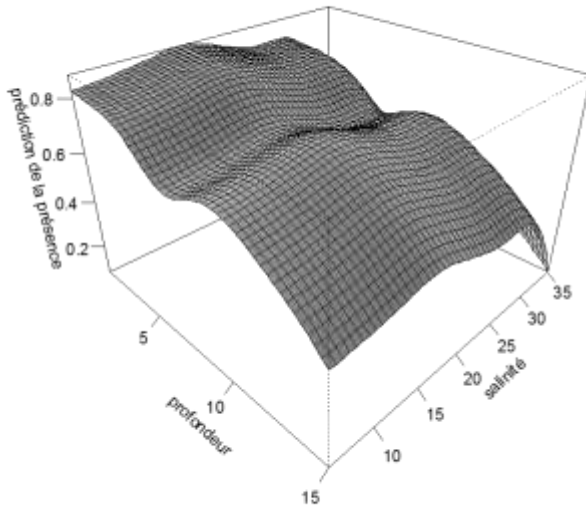
Juvénile(log)  $\sim s(\text{salinité}) + s(\text{profondeur})$



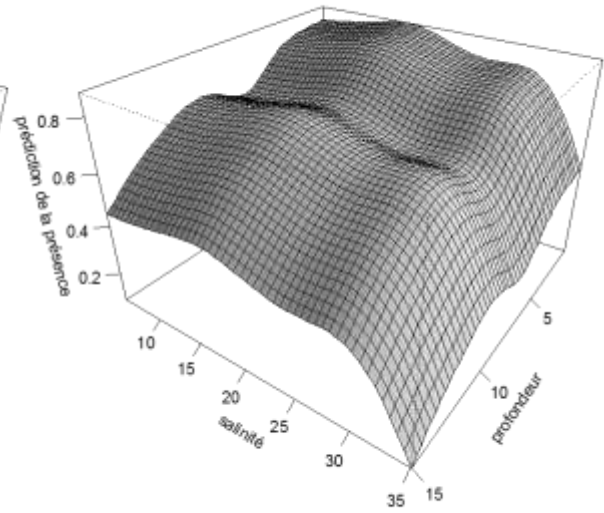
Juvénile(log)  $\sim s(\text{salinité}) + s(\text{profondeur})$



Guilde juvénile ~s(profondeur)+s(salinité)

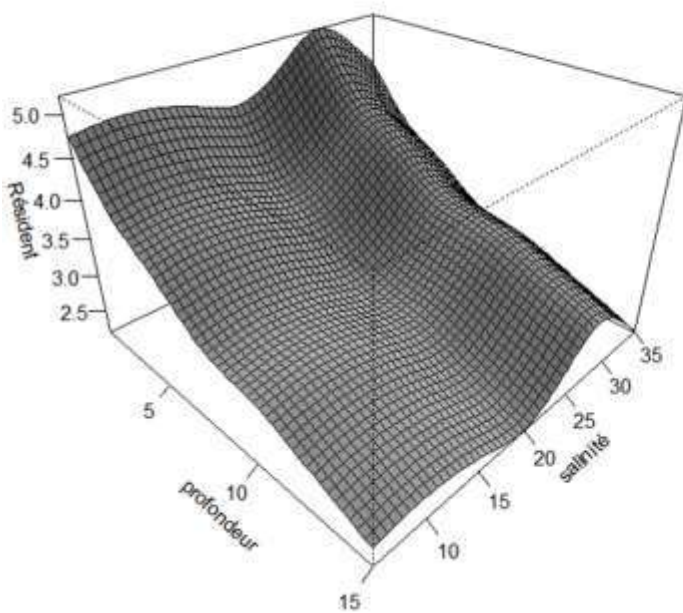


Guilde juvénile ~s(profondeur)+s(salinité)

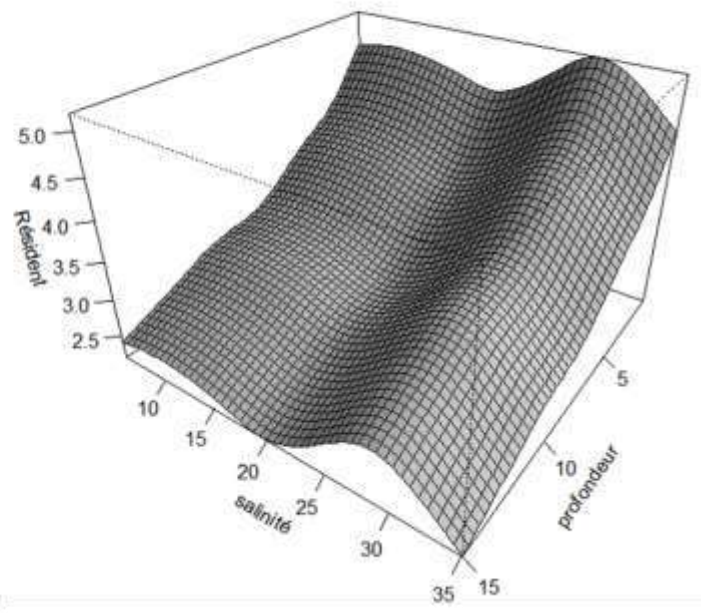


- **Density of resident fish**

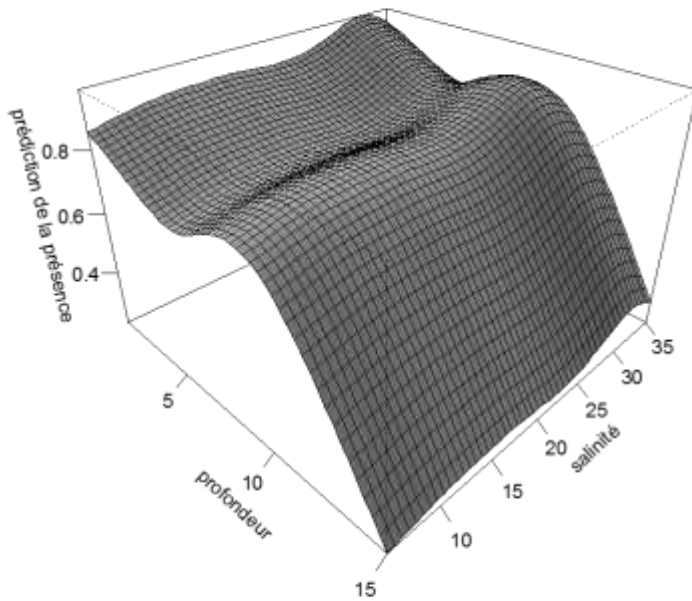
Résident\_(log) ~s(profondeur)+s(salinité)



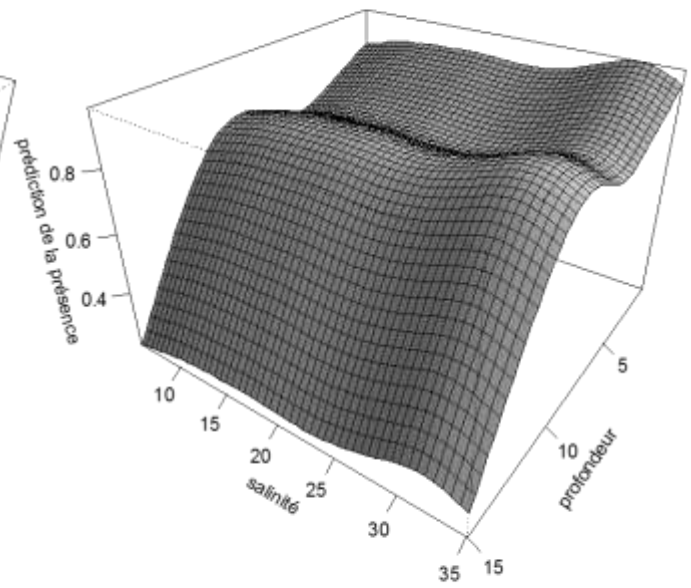
Résident\_(log) ~s(profondeur)+s(salinité)



Guilde résident ~s(profondeur)+s(salinité)

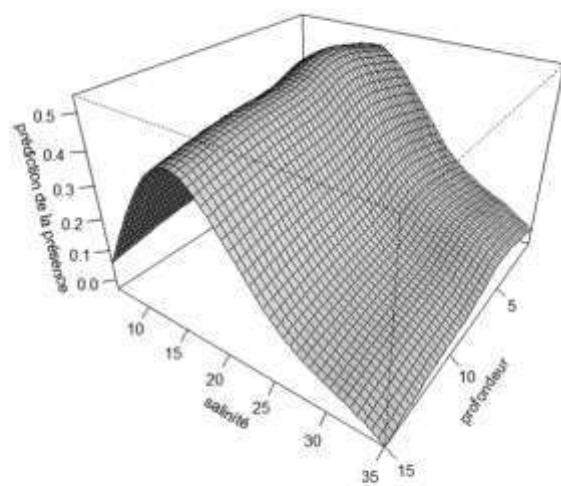
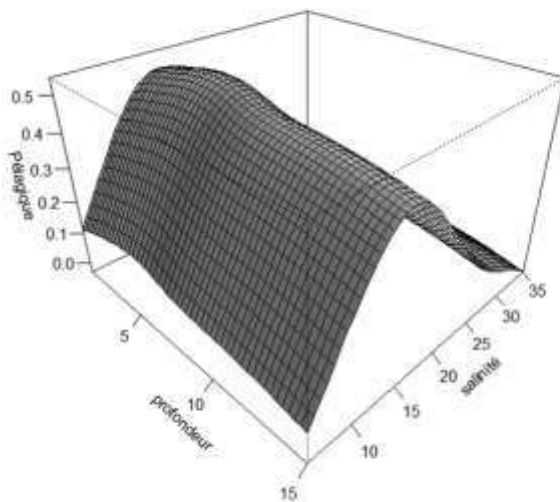


Guilde résident ~s(profondeur)+s(salinité)



- *Presence of pelagic fish*

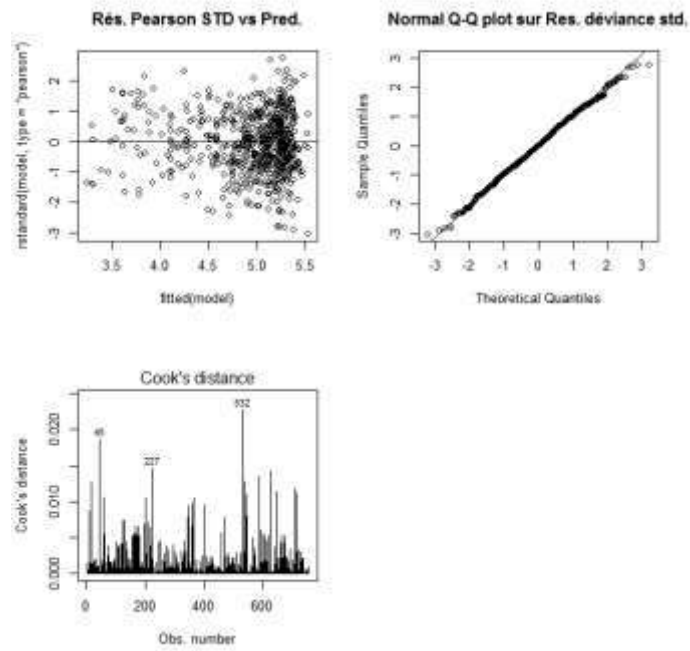
Présence pélagique ~ s(salinité) + s(profondeur)



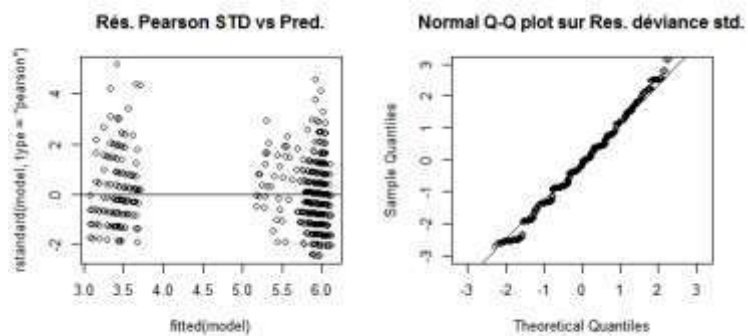
### 6.3. Appendix III – Validation of the models for positive densities

#### 6.3.1. Autumn

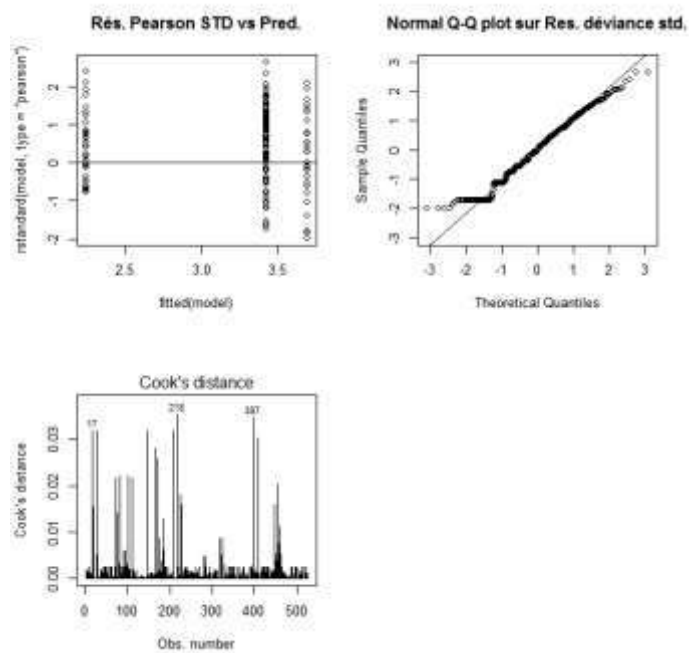
- **Total fish density**



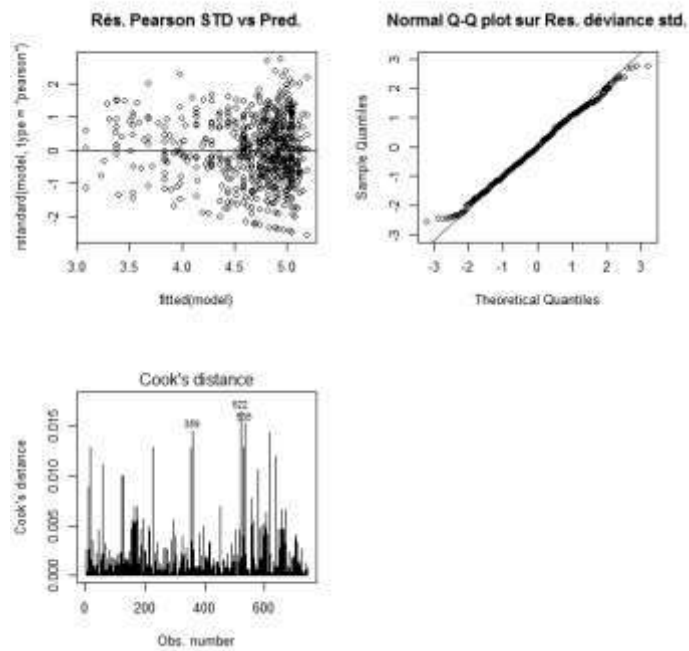
- **Species richness**



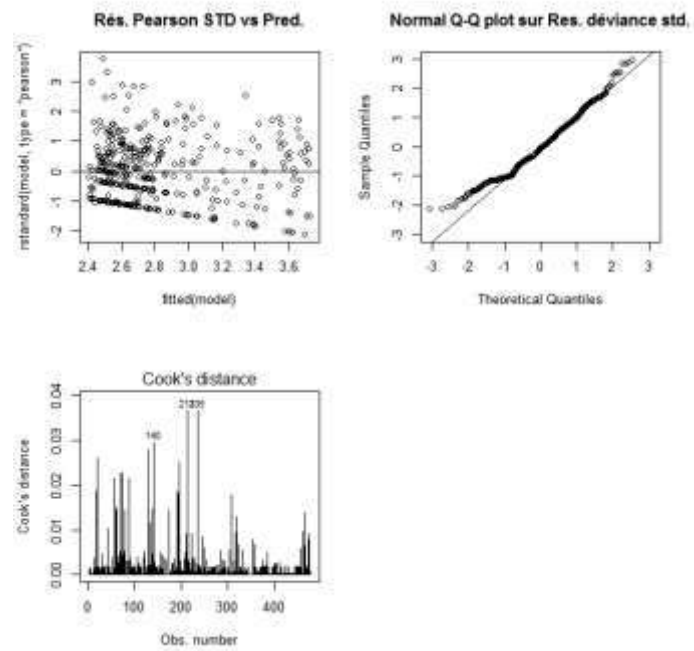
- **Density of benthic fish**



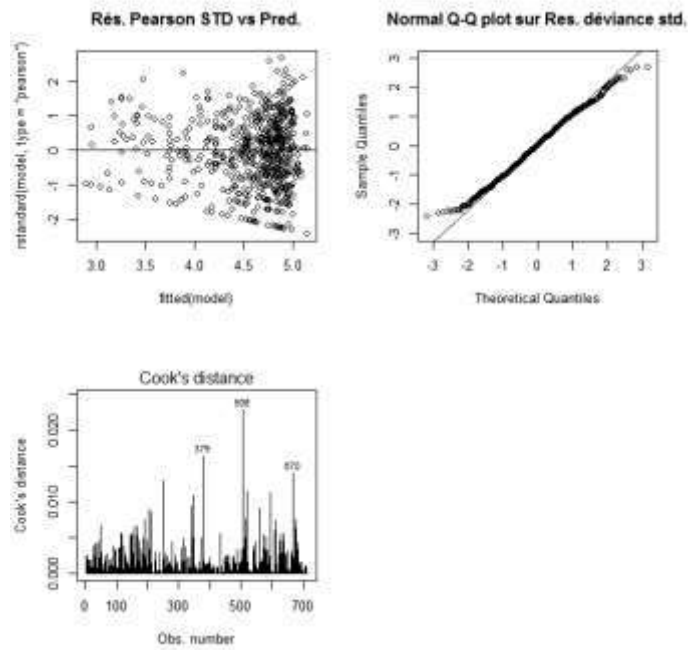
- **Density of demersal fish**



- **Density of marine juvenile**



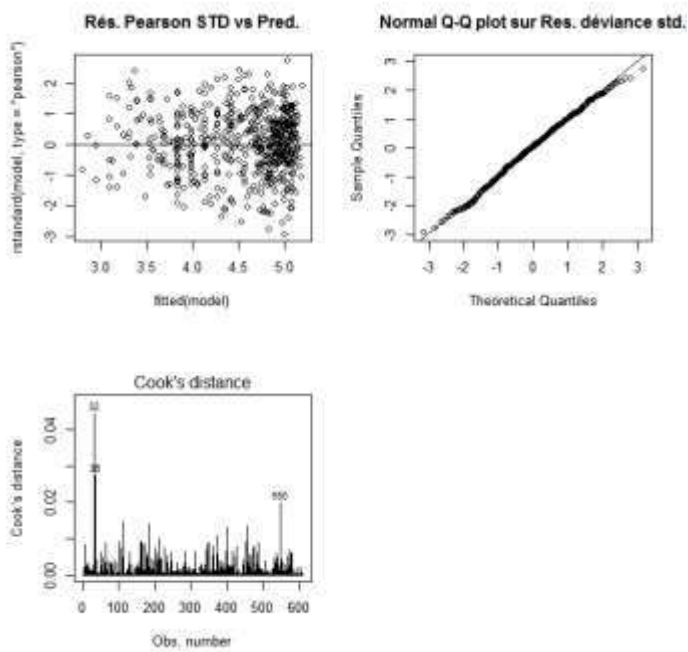
- **Density of resident fish**



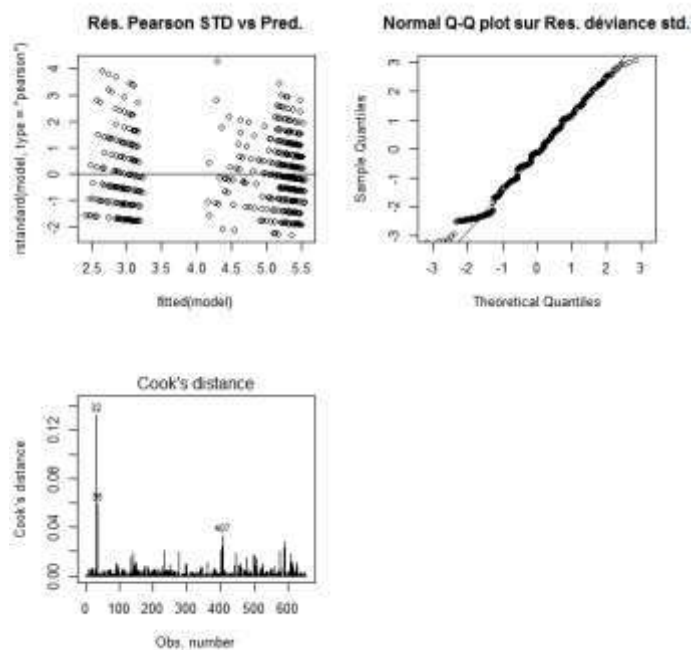


### 6.3.2. Spring

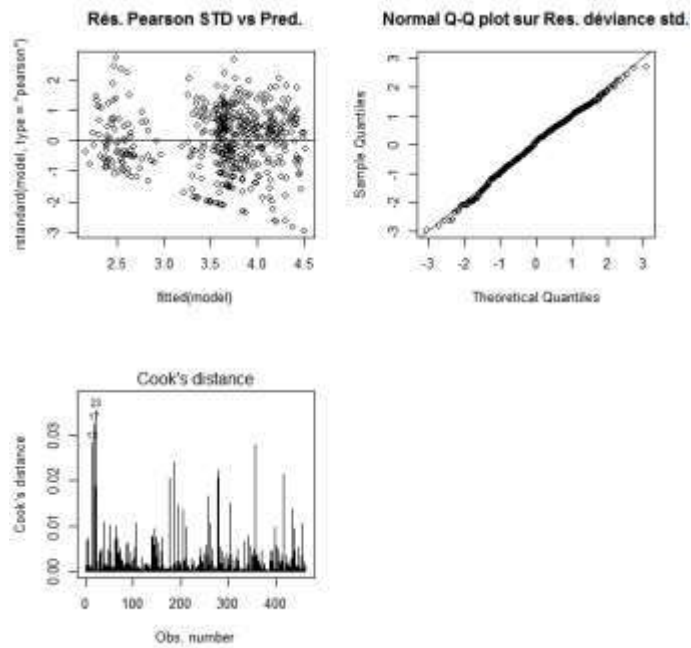
- **Total density of fish**



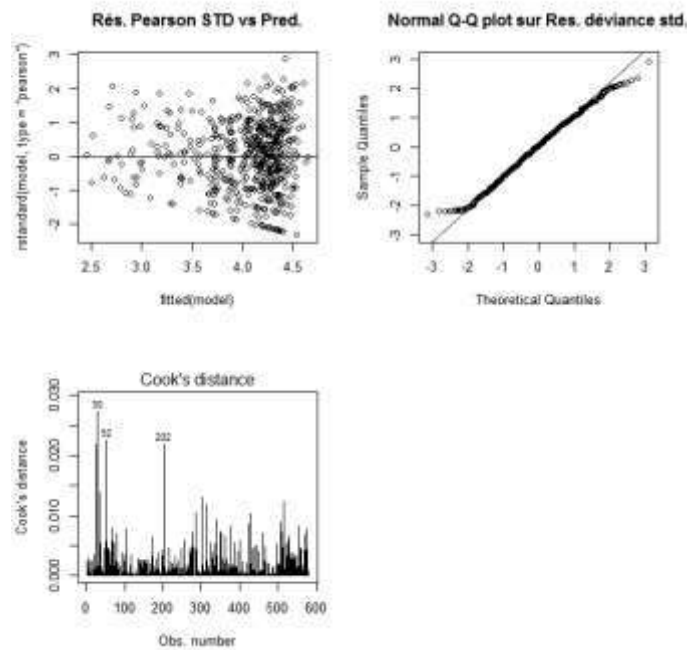
- **Species richness**



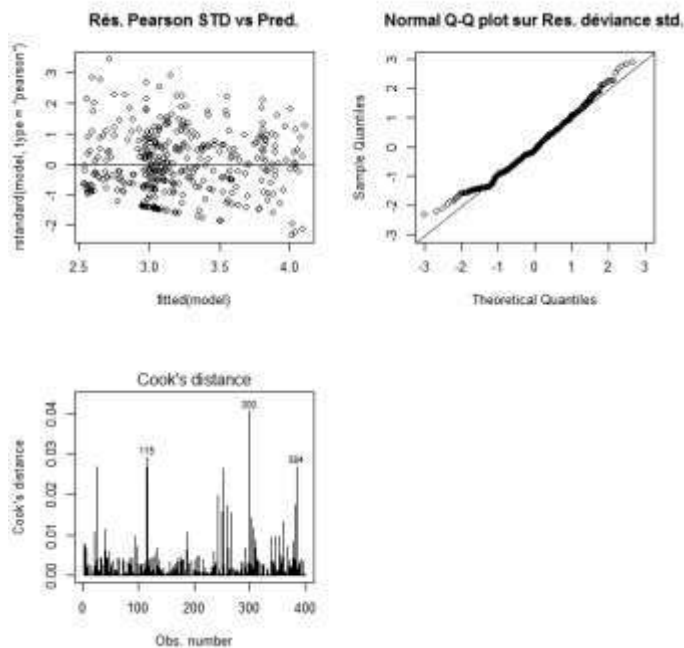
- **Density of benthic fish**



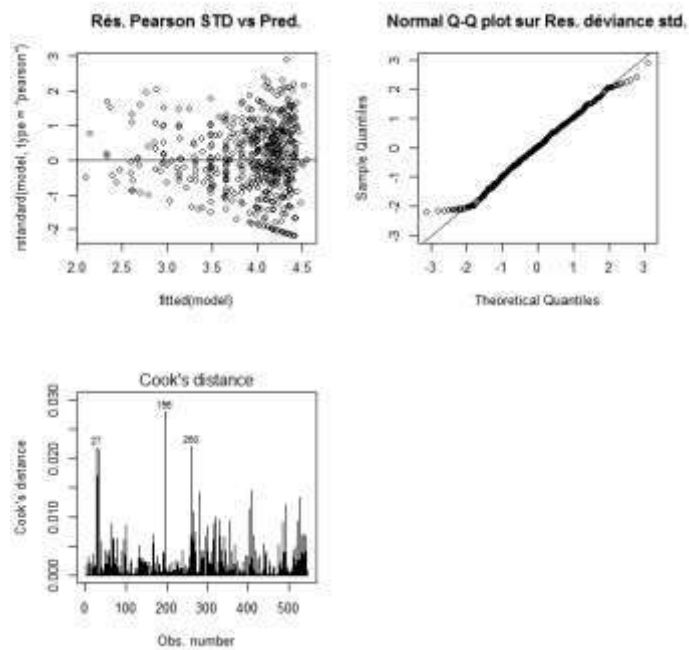
- **Density of demersal fish**



- **Density of marine juvenile**



- **Density of resident fish**





## **Annexe 2**

# **L'influence des marées vertes sur l'aptitude à la conservation de trois espèces de poissons**

*Cette étude a été réalisée en majeure partie par Héloïse Monier, stagiaire en DUT Génie Biologique encadrée par Catherine Guérin et Olivier Le Pape, puis contractuelle recrutée pour cette partie du projet.*





**AGROCAMPUS OUEST**

Pôle halieutique  
65, rue de Saint Briec CS 84215  
35042 Rennes Cedex

**Rapport d'étude**

**L'influence des marées vertes sur  
l'aptitude à la conservation de trois espèces  
de poissons**

Monier H., Le Luherne E., Guérin C., Perdiau M., Samson P.,  
Réveillac E., Le Pape O.

**2016**

## **Remerciements**

Ce travail a été soutenu financièrement par France Filière Pêche et l'Agence de l'eau Loire Bretagne.

Nous tenons à remercier les acteurs de la filière qui nous ont alerté sur les problèmes de conservation du poisson liés aux marées vertes et ont consacré du temps à échanger avec nous sur ce sujet, notamment Patrick Paty, poissonnier au Rheu et Walter Dubois, poissonnier-mareyeur à Erquy (Frères du Cap). Merci aussi aux acteurs qui ont contribué à nous fournir du poisson en veillant à respecter nos spécifications, Patrice Ruppin, poissonnier-mareyeur à Mordelles (Finistère Marée) et Jérôme Carnet, poissonnier à Pontorson (Vivier de Chausey).

Merci à Yann Le Cornec, pêcheur à St Quai Portrieux, dont nous avons utilisé le bateau (Bel Horizon) pour les prélèvements en zone impactée.

Nous tenons aussi à remercier les personnes qui ont apporté leur aide pour faire partie du panel de jury de l'analyse sensorielle, Sophie Pasquier et Olivier Preis.





## **Résumé**

Depuis plusieurs décennies, les marées vertes n'ont cessé de créer la polémique quant aux causes responsables de ce phénomène mais aussi aux impacts qu'elles engendrent sur le tourisme et l'environnement. C'est dans ce contexte que l'aval de filière halio-alimentaire alerte sur une baisse potentielle de qualité des poissons pêchés dans les zones impactées, entraînant une dévaluation des prix.

Cette étude a consisté à évaluer l'impact de ces algues vertes sur la conservation des poissons côtiers afin de confirmer ou non les hypothèses des professionnels de l'aval de la filière des produits de la mer. Ceux-ci évoquent précisément une moindre conservation des poissons issus des zones impactées, qui seraient plus rapidement dégradés du fait du pourrissement de leur tractus digestif lorsque celui-ci est chargé en algues vertes. Le suivi de l'altération de trois espèces considérées par les professionnels comme impactées (rouget, dorade grise, maquereau) a été réalisé en deux phases successives : (1) une première analyse s'est attachée à comparer des poissons provenant d'une zone impactée (la baie de Saint Brieu) et d'une zone non impactée (la baie du Mont Saint Michel), en les étudiant avant l'arrivée des marées vertes et pendant la période de prolifération; (2) une seconde analyse s'est focalisée sur les poissons pêchés en zone fortement impactée. La qualité et le taux de dégradation ont été principalement évalués au travers d'analyses chimiques qui ont permis un suivi du taux de bases volatiles produites au cours de l'altération (ABVT, TMA), de mesures de pH et surtout par le biais d'analyses sensorielles quotidiennes par la méthode de cotation QIM. Une analyse complémentaire a porté sur les prix de vente en criée pour analyser si le ressenti des professionnels se traduisait en termes d'attractivité des produits de la pêche.

L'étude doit encore être considérée comme préliminaire. Toutefois, elle n'a pas abouti à mettre en évidence d'effet des marées vertes sur la conservation des trois espèces étudiées. La conservation des poissons n'est pas moindre en zone impactée que dans les secteurs et périodes exempts d'algues vertes. Même en pêchant au cœur des proliférations, les poissons n'ont pas d'algues vertes dans leurs intestins et aucun effet néfaste n'est mesuré. L'analyse complémentaire sur les prix ne montre pas non plus d'effet négatif des marées vertes sur l'attractivité des produits.

## 1. Introduction

Depuis les années 70, la Bretagne nord est régulièrement touchée par le phénomène de « marées vertes » dans les zones côtières où la mer est peu profonde et l'éclairement optimal en période estivale. Cependant, ces seules conditions ne sont pas suffisantes pour provoquer ce phénomène de prolifération et d'accumulation rapide des algues vertes. En effet, l'augmentation importante des apports nutritifs parfois d'origine urbaine (effluents de stations d'épuration) et le plus souvent d'origine agricole (lessivage des terres cultivées trop enrichies en engrais), constituent l'élément déclencheur du développement massif des algues du genre *Ulva* (Menesguen, 2003).

L'intensification des élevages porcins en Bretagne a créé la polémique quant à ses éventuelles conséquences environnementales sur le littoral breton. En effet, l'augmentation des rejets de lisiers par épandage a pour impact d'accroître la concentration en nitrate du milieu côtier. Outre les nuisances olfactives, le risque pour la santé publique et l'impact négatif sur le tourisme causés par les marées vertes, l'aval de la filière halio-alimentaire alerte sur une baisse de qualité des poissons pêchés dans les zones impactées. Des poissonniers considèrent que les poissons, dont les intestins sont remplis d'algues vertes (nommés « poissons verts »), se conservent beaucoup moins bien et disent éviter les achats de poissons en provenance de ces secteurs.

Pour analyser ce problème, cette étude a consisté à évaluer l'impact des algues vertes sur la conservation de ces poissons côtiers afin de confirmer ou non les hypothèses des professionnels de la filière des produits de la mer et comprendre l'importance des dégâts causés par les marées vertes. Afin de traiter cette problématique, le suivi de l'altération de trois espèces de poissons considérées par des poissonniers comme impactées par les algues vertes (*i.e.* le rouget, le maquereau et la dorade grise), en zone impactée et hors zone impactée, a été réalisé. Pour cela, différentes méthodes d'analyses ont été utilisées : évaluation de la qualité organoleptique de poissons entiers par la méthode QIM (Quality Index Method), mesure de la concentration en composés résultants de la dégradation de l'azote non protéique (Azote Basique Volatil Total (ABVT) et Triméthyl amine (TMA)) et mesure du pH de la chair.

Une analyse complémentaire s'est par ailleurs intéressée au prix de vente de ces trois espèces sur la zone pour compléter l'analyse par des considérations sur la baisse d'attractivité des produits de la pêche en provenance des zones impactées.

## 2. Etude bibliographique

### 2.1. Présentation des marées vertes et de leurs conséquences

#### 2.1.1. Causes et manifestations

De nombreuses plages de Bretagne, surtout sur la côte nord, subissent chaque année ce phénomène de marées vertes. C'est le nom donné à la prolifération massive d'algues vertes du genre *Ulva* plus communément appelées « laitue de mer ». L'espèce la plus présente en Bretagne nord est *Ulva armoricana* tandis qu'en Bretagne sud c'est *Ulva rotundata* (Merceron, 1999).

Une partie s'échoue sur les plages et une autre partie reste stockée dans les masses d'eau peu profondes. On estime que dans les Côtes d'Armor, seulement 1% restent en mer, ce qui signifie que la quasi-totalité s'échouent sur les plages (Guyomarc'h and Le Foll, 2011).

La biomasse maximale est atteinte en juillet-août, recouvrant la quasi-totalité de l'estran à marée descendante. Les algues non reprises par la mer meurent en séchant en surface et en se décomposant, générant un jus noirâtre et des odeurs de putréfaction désagréables pour les populations avoisinantes et des risques désormais avérés pour la santé publique.

Des suivis réalisés par l'IFREMER (Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer) et le CEVA (Centre d'Etude et de Valorisation des Algues) ont permis d'identifier 109 sites d'échouage d'algues vertes en Bretagne. Les sites d'échouages les plus connus et les seuls médiatisés sont les plages mais il faut noter que 42 des 109 sites sont des vasières (zone littorale ou partie d'estuaire couverte de vase et comprise dans la zone intertidale) (Guyomarc'h and Le Foll, 2011).

La prolifération des algues vertes démarre en mars ou avril sous la forme de petits fragments de thalles arrachés depuis leur zones rocheuses d'origine qui viennent ensuite se concentrer par dérive dans une bande d'eau peu profonde à quelques mètres des plages.

Pour que la croissance se fasse, les algues vertes ont besoin d'une quantité importante de lumière et de chaleur, apportée au printemps, ainsi que des nutriments, et notamment de l'azote. En effet, ce sont des algues nitrophiles qui ont des besoins azotés importants, ce qui fait de cet élément le principal facteur limitant la prolifération des algues vertes (Ménesguen, 2003).

Depuis les années 1960, les marées vertes ont augmenté considérablement, en fréquence, en durée et en intensité. La cause première est l'augmentation des apports en nitrates par les fleuves et rivières provenant principalement de l'agriculture et notamment des élevages porcins (Ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie, 2010).

### 2.1.2. Conséquences

Les algues "fraîches" ne sont pas directement dangereuses pour l'homme et les animaux. En revanche, si elles ne sont pas ramassées rapidement ou reprises par la marée, les amas en putréfaction, qui résultent d'une fermentation anaérobie, peuvent localement dégager de l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) et surtout de l'hydrogène sulfuré ( $\text{H}_2\text{S}$ ). Ce dernier est un gaz très toxique, à l'odeur caractéristique d'œuf pourri (Novince, 2011). De ce fait, les marées vertes sont très médiatisées car elles causent des nuisances olfactives et sanitaires telles que le tourisme dans certaines zones en Bretagne est fortement pénalisé.

La prolifération des algues vertes résulte de l'eutrophisation du milieu aquatique. En affectant l'habitat et les conditions hydrologiques, ce phénomène provoque de nombreuses perturbations écologiques sur la faune marine (Le Luherne, 2016).

De plus, la partie aval de la filière pêche s'alerte quant à une baisse de qualité des produits de la mer pêchés dans des zones impactées par les marées vertes. Ils soulèvent notamment une altération beaucoup plus rapide des poissons vendus entiers ayant subi une accumulation d'algues vertes dans le tractus digestif après en avoir consommé. Celles-ci donneraient une coloration verte à la chair très rapidement et induirait sa décomposition accélérée. Le poisson se conserverait ainsi moins longtemps et serait difficilement commercialisable au bout de quelques jours seulement. C'est ce dernier phénomène, non analysé, à ce jour qui fait l'objet de la présente étude.

## 2.2. L'analyse de la fraîcheur du poisson : quelles méthodes ?

### 2.2.1. L'altération du poisson

L'altération du poisson est due à différents mécanismes biologiques qui peuvent être plus ou moins retardés suivant les conditions de conservation ainsi que les caractéristiques propres à l'individu (*e.g.* taille, espèce, état physique du poisson). En effet, après leur capture et leur mort, les poissons subissent une série de processus tels que la rigidité cadavérique (ou *rigor mortis*) et des altérations qui font intervenir l'autolyse, l'oxydation, l'activité bactérienne... Ces altérations et changements affectent la qualité sensorielle ainsi que les propriétés nutritives du poisson. Les signes de ces altérations peuvent se manifester par l'émission d'odeurs et de saveurs désagréables, une coloration anormale et des changements de texture de la chair et/ou la production de gaz (Anonyme, 2011).

Table 1 - Cotation de la Torry pour l'évaluation de la fraîcheur de poissons maigres (D'après Shewan et al., 1953)

Odeur	Saveur	Points
Initialement une faible odeur douceâtre, de lait bouilli, féculent, suivi d'une intensification de ces odeurs	Aqueuse, métallique, de féculent. Aucune sensation sucrée mais des saveurs de viande avec une légère sensation sucrée se développant	<b>10</b>
De mollusques et crustacés, d'algues, de viande bouillie	Sucrée, saveur de viande caractéristique	<b>9</b>
Perte d'odeur, odeur neutre	Douces et caractéristiques mais faibles	<b>8</b>
De bois, de sève, de vanille	Neutre	<b>7</b>
De lait, de pomme de terre	Insipide	<b>6</b>
De lait tourné, de linge mouillé	Légère acidité, traces de saveurs indésirables	<b>5</b>
D'acide lactique, de lait aigre, de triméthylamine	Légère amertume, aigre, saveurs indésirables, de triméthylamine	<b>4</b>
D'acides gras (par exemple acide acétique ou butyrique), d'herbe en décomposition, de savon, de navet, de suif	Forte amertume, caoutchouc, légère perception de soufre	<b>3</b>

Ces altérations et changements de la qualité peuvent être mesurés par différentes méthodes, faisant intervenir un panel dans le cas d'analyses organoleptiques comme la cotation de la Torry ou la cotation QIM, ou des matériels de précision pour réaliser des analyses chimiques ou physiques comme par exemple l'évaluation de l'odeur par un nez électronique ou bien la mesure de la dégradation des lipides par dosage colorimétrique au spectrophotomètre ou encore par chromatographie gazeuse (Andrade et al, 1997).

### 2.2.2. Les méthodes habituellement utilisées

Parmi de nombreuses méthodes d'analyse de la fraîcheur du poisson, on peut trouver des méthodes sensorielles et des méthodes physico-chimiques.

#### ➤ Les méthodes sensorielles

Le suivi de la fraîcheur du poisson par la méthode sensorielle est couramment utilisé. Plusieurs méthodes, telles que le test de cuisson par l'échelle de la Torry ou l'analyse de la fraîcheur du poisson cru par la cotation QIM, ont été mises au point :

- Barème de cotation fraîcheur : cette cotation est définie par le Règlement Européen CE n° 24046/96 (1996). Elle permet d'attribuer plusieurs catégories de fraîcheur allant de E (extra), puis A, B et Non Admis à la consommation humaine, qui permettent d'évaluer la fraîcheur sur chaque critère en attribuant l'une de ces quatre notes.
- Indice QIM : méthode normalisée permettant l'analyse de la fraîcheur du poisson entier cru. Une note allant de 1 à 2 (ou 3) est attribuée à différents critères (*e.g.* peau, yeux, odeur générale) dans le but d'obtenir une note finale, somme des notes sur chaque critère. L'intérêt de cette méthode est l'existence

de grilles rappelant les critères d'altération spécifiques à chaque espèce. Il est donc plus précis que le barème de cotation fraîcheur européen.

- Test de cuisson par l'échelle de la Torry (Table 1) : c'est un système de cotation de la qualité du poisson sur des filets cuits. Les deux critères évalués sont l'odeur et la saveur auxquelles une note de 3 à 10 est attribuée par les juges, 10 étant la meilleure note. Il existe trois tables de cotation de Torry correspondant à trois groupes d'espèces : poissons maigres, poissons mi-gras et poissons gras (Shewan et al, 1953).

Le principal inconvénient de ces méthodes sensorielles, est qu'elle requiert la présence de juges entraînés et les résultats sont donc soumis à leur subjectivité.

#### ➤ Les méthodes chimiques

- Dégradation de la matière azotée : les bases azotées volatiles résultant de la dégradation de l'azote non protéique peuvent être mesurées de deux façons :
  - la méthode de distillation qui consiste à distiller à la vapeur d'eau un extrait déprotéinisé par l'acide perchlorique afin de recueillir les bases volatiles dans l'acide borique, puis à le titrer par une solution acide.
  - la méthode de Conway et Byrne (1933), basée sur un processus de micro diffusion, consistant à extraire les bases azotées par de l'acide trichloroacétique puis à déplacer ces bases volatiles dans une solution d'acide borique grâce à du carbonate de potassium et à les titrer par une solution acide. Une limite de cette méthode concerne l'analyse de poissons gras où la valeur de l'ABVT n'évolue pas ou peu les premiers jours (Ifremer, 2008).
- Dégradation de l'ATP : La mesure des produits de dégradation de l'ATP dans le muscle de poisson cru, exprimée par la valeur K, constitue une approche différente de la mesure de l'ABVT. Plus la valeur K est élevée moins le poisson est frais, elle se calcule selon la formule suivante :

$$K (\%) = \frac{[Inoxine] + [Hypoxanthine]}{[ATP]^1 + [ADP]^2 + [IMP]^3 + [Inosine] + [Hypoxanthine]}$$

La valeur K est un paramètre intéressant pour évaluer la fraîcheur d'un poisson dans les tous premiers jours de conservation, c'est-à-dire un poisson très frais. Sur une période plus longue, K tend vers une valeur maximale proche de 95% à 100%.et ne permet donc plus de suivre la cinétique d'altération du poisson.

- Dégradation des lipides : les produits d'oxydation primaire sont des peroxydes qui peuvent être détectés par méthode colorimétrique au

---

<sup>1</sup> Adénosine Triphosphate

<sup>2</sup> Adénosine Diphosphate

<sup>3</sup> Inosine Monophosphate

spectrophotomètre, donnant l'indice peroxyde (en mEq/Kg de graisse extraite du poisson). En phase finale de dégradation des lipides, des composés tels que les aldéhydes, les cétones et les acides gras à chaînes courtes sont présents. Un dosage colorimétrique peut être réalisé par réaction des aldéhydes avec l'acide thiobarbiturique (ATB) pour mesurer les substances réactives au TBA appelé SR-ATB. En particulier, l'hexanal est un bon indicateur du taux d'oxydation, il est possible de le quantifier par chromatographie gazeuse.

- Mesure du pH : la connaissance du pH de la chair du poisson peut donner des informations intéressantes sur son état de fraîcheur. En effet, le pH varie tout au long des phases intervenant après la mort. Il diminue lors de la rigor-mortis et augmente lors de l'altération des chairs. Les mesures sont effectuées avec un pH-mètre, en plaçant les électrodes soit directement à l'intérieur de la chair, soit dans une suspension de chair de poisson dans de l'eau distillée.

➤ Les méthodes physiques

- Nez électronique : cette méthode d'évaluation de l'odeur est un système de multiplicateur permettant de détecter les substances volatiles. Cette méthode est efficace mais dépend beaucoup de la base de données existante et des capteurs.
- Mesure de la texture : elle peut être réalisée par différentes méthodes telles que la résistance au cisaillement, l'aptitude à la déformation par compression (compression d'un échantillon à l'aide d'un piston pour obtenir une courbe de relation contrainte-tension) et par un test de pénétration (enfoncement d'un piston dans la chair jusqu'à rupture ou pénétration).
- Mesure des propriétés électriques : après la mort du poisson, la résistance électrique des tissus diminue suite à la dégradation des membranes cellulaires. Cette méthode est applicable aux poissons entiers non altérés et aux filets frais. Cette méthode permet aussi de savoir si le poisson a été congelé. En effet, la résistivité d'un muscle de poisson ayant été congelé est plus faible que celle d'un poisson frais, la congélation altérant les cellules musculaires (Ifremer, 2010).

Les méthodes physiques sont objectives et rapides mais la standardisation des échantillons est problématique car les propriétés physiques ne sont pas homogènes au sein d'un même filet.

Dans cette étude, l'analyse de la fraîcheur du poisson avait pour objectif d'établir une cinétique de vieillissement et de déterminer si la présence d'algues vertes dans le système digestif du poisson en altérerait la conservation au cours du temps en fonction de la période et de la zone de pêche.

Le vieillissement du poisson pêché ultra-frais a été établi sur 8 jours afin que la durée soit suffisamment longue pour observer une différence sans que l'état de putréfaction ne



soit trop avancé, puisque l'enjeu se concentre sur la période maximum de consommation.

### 3. Matériels et méthodes

#### 3.1. Choix des espèces de poissons ciblées

Le choix des espèces étudiées s'est fait suivant plusieurs critères, car il est important de considérer aussi bien l'aspect mode de vie que les caractéristiques de l'exploitation.

- Il fallait que les espèces de poissons retenues vivent et soient capturées au niveau des côtes bretonnes pendant la période printemps-été, c'est-à-dire avant et au moment où les algues vertes se développent.
- Etant donné que l'analyse consiste à vérifier le ressenti de la filière halieutique, l'analyse devait porter sur des espèces d'intérêt commercial.
- Il fallait choisir des espèces commercialisées entières donc non vidées, étant donné que les algues sont présentes dans les systèmes digestifs et que les problèmes de dégradation évoqués par la filière sont liés à une dégradation depuis les intestins.

Ainsi, les espèces retenues sont la dorade grise (*Spondyliosoma cantharus*), le maquereau de l'Atlantique (*Scomber scombrus*) et le rouget barbet (*Mullus surmuletus*). Elles vivent toutes trois près des côtes à la période où prolifèrent les algues vertes et sont toutes les trois commercialisées en entier. Des essais ont également été réalisés avec la sole commune (*Solea solea*) étant donné que cette espèce répond également aux critères choisis. Cependant, du fait de problèmes d'échantillonnage, l'étude ne prendra pas en compte cette espèce.

#### 3.2. Protocole spatio-temporel

##### 3.2.1. L'étude BACI

La problématique de l'étude étant d'étudier l'influence des marées vertes sur la conservation du poisson, nous avons souhaité appliquer un protocole de type Before /After - Control/Impact (BACI) pour s'assurer que les effets que nous souhaitions analyser étaient bien liés aux proliférations algales.

Il était donc nécessaire de déterminer un site impacté (*Impact*) par les marées vertes et un autre site à proximité, qui ne l'est pas (*Control*), utilisé comme site témoin, de façon à appliquer le protocole. La zone impactée la plus importante en termes de quantité d'algues vertes est la baie de Saint-Brieuc. Le poisson vendu provenait donc de la criée de Saint Quay Portrieux ou de celle d'Erquy. Pour la zone témoin non impactée par les marées vertes, la baie du Mont Saint Michel a été retenue et le poisson provenait de la criée de Granville. Pour chaque site, nous nous sommes assuré que le poisson avait bien été capturé localement.

L'étude a été réalisée sur un protocole de type Before/After, c'est-à-dire avec une campagne d'étude avant l'arrivée des marées vertes (*Before*) et une autre pendant la période marées vertes (*After*), sur les deux zones.

Le but est de pouvoir comparer l'influence des algues vertes, par une analyse avant et pendant les proliférations, sur la qualité des poissons, dans les zones (impactées et non impactées).

### 3.2.2. L'étude intra zone

Un deuxième volet d'étude a été retenu afin de compléter l'étude BACI. L'objectif était de cibler les poissons de la zone *Impact* en période *After* afin d'apporter un degré de précision supplémentaire à l'étude. Il s'agissait de comparer des poissons ayant ingéré des algues vertes / étant impactés par les marées vertes et dits « Verts » avec des poissons n'en ayant pas ingéré / n'étant pas impactés et dits « Non-verts ». Cet axe suit l'hypothèse selon laquelle les poissons résidants dans une zone impactée par les marées vertes ne sont pas forcément impactés par leurs effets et / ou n'en consomment pas tous.

De cette façon, les poissons proviennent tous du même approvisionnement et de la même zone, c'est-à-dire la baie de Saint Briec, pendant la période des marées vertes. Cela devait permettre de voir s'il existe une différence de conservation entre des poissons ayant ingéré des algues vertes / étant impactés et d'autres qui n'en ont pas ingéré. Ce deuxième axe de l'étude a été réalisé à la suite du premier, lors d'une seconde année d'analyse.

### 3.3. Analyse des prix

Il paraissait intéressant d'étudier en complément l'impact des marées vertes sur le prix de vente des espèces que nous avons ciblées, dans les criées de la zone *Impact* et dans celles de la zone *Control*. Cette analyse complémentaire avait pour objectif d'analyser si les produits de la zone impactée subissent une dévaluation et une perte d'attractivité lors de leur mise en marché. Dans cette optique, des données de prix au kg de poissons vendus semaine par semaine en criée, à compter de la première semaine de 2008 jusqu'à la première de 2014, ont été recueillies à partir de la base de données de FranceAgriMer. Un traitement de ces données visant à regrouper les prix, période par période, et zone par zone, pour les années 2008-2013, a permis d'évaluer l'impact économique des marées vertes. Ainsi, les données ont été triées de la façon suivante : les semaines avant l'arrivée des marées vertes, c'est-à-dire de mars à avril ont été regroupées pour former la période *Before*, tandis que les données des semaines de juin à août ont constitué la période *After* (pendant les marées vertes). Les criées concernées

pour la zone *Impact* sont celles de Saint Quay Portrieux et Erquy et celles de la zone *Control* sont Granville et Saint Malo.

### 3.4. Analyses sensorielles et chimiques

#### 3.4.1. Matériels

##### ***Approvisionnement en poissons***

*Pour chaque période et pour chaque campagne, il était indispensable de se fournir en poissons extra-frais, pêchés la veille de la collecte (J0).*

Les poissons ont été achetés chez les mareyeurs-poissonniers, qui peuvent se fournir sur les débarquements de l'ensemble des flottilles de pêche, de façon à faciliter l'approvisionnement et pour avoir davantage de chance de trouver le poisson en quantité et à la qualité voulues au moment précis défini par le planning. Il a été nécessaire de s'assurer auprès de ces fournisseurs du jour et du lieu exact de la pêche.

##### ***Conditionnement des poissons***

Le suivi de l'altération des poissons était réalisé sur une période de 8 jours. Pour chaque jour d'analyse, trois individus de chacune des espèces étaient conditionnés dans un sachet plastique étanche et stockés sous glace, dans une glacière placée en chambre froide positive (+4 °C). Pour chaque jour d'analyse, un sachet de chaque espèce était prélevé et les poissons étaient analysés selon des critères organoleptiques (analyse par la méthode QIM (Quality Index Method) et physico-chimiques (pH, ABVT (Azote Basic Volatil Total) et TMA (Trimethyl amine)).

##### ***Réactifs chimiques***

Les réactifs chimiques utilisés pour les mesures d'ABVT et de TMA étaient de grade analytique et provenaient du fournisseur Fisher Scientific (Illkirch, France).

#### 3.4.2. Evaluation organoleptique par une méthode de cotation QIM optimisée

L'analyse sensorielle du poisson a été réalisée sur les poissons entiers selon une grille de cotation QIM spécifique à chacune des trois espèces (rouget, maquereau et dorade grise). Une adaptation des grilles existantes (Martinsdottir et al., 2001) a cependant été nécessaire pour une évaluation plus juste de la qualité organoleptique de nos poissons.

Pour cette étude, c'est la méthode de cotation QIM qui a été retenue car elle permet l'analyse organoleptique d'un poisson cru sur l'ensemble de ses critères (*e.g.* yeux, branchies et peau). Un manuel écrit par *QIM Eurofish* (Martinsdottir et al., 2001) propose une méthode décrite précisément (*e.g.* mise en échantillonnage, déroulement de l'évaluation sensorielle et analyse des résultats) ainsi que plusieurs exemple de grilles QIM, accompagnées d'illustrations suivant l'état de dégradation. Cependant,

chaque espèce possède sa propre liste de critères spécifiques à sa dégradation et aucune des espèces de mon étude ne faisait partie de ce manuel. Un autre manuel issu d'un rapport écrit par *SEAFOOD* (Schelvis et al., 2009) propose un large panel de grilles QIM sur plus d'une vingtaine d'espèces dont deux des trois que j'analyse. La dernière grille manquante était celle du maquereau. Nous nous sommes finalement inspirés de celles écrites par Andrade et al. (1997). C'est donc à partir de ces grilles de référence (Appendices 2a, 2b, 2c) qu'ont été constituées nos propres grilles répondant aux besoins de l'étude.

La première opération a consisté en une traduction des grilles initialement écrites en anglais afin de faciliter la compréhension du jury en trouvant des termes plus pertinents et parlants.

Il a ensuite fallu adapter les grilles de façon à faciliter l'analyse sensorielle. Les critères ont été regroupés en sous parties : l'apparence générale (couleur de la peau, mucus, viscères sortantes, élasticité de la chair), l'odeur générale, les yeux (clarté, forme), les branchies (couleurs et odeurs). Puis des critères ont été ajoutés pour les adapter à la problématique, étant donné que les grilles existantes ne tiennent pas compte des critères viscères car elles s'appliquent à la qualification de poissons éviscérés (Table 2). Ainsi, les poissons entiers sont analysés également sur le critère des viscères mais aussi sur l'aspect et la coloration de la chair. Les critères permettant d'évaluer l'aspect des viscères et de la chair ont été ajoutés à l'issue d'une analyse préalable à l'étude afin d'évaluer le degré de dégradation dû aux marées vertes et de savoir comment ces dégradations se produisent. L'établissement de ces nouveaux critères a été réalisé à partir des informations apportées par les mareyeurs et poissonniers, quant à l'altération causée par les algues vertes. Selon eux, les viscères se décomposeraient beaucoup plus rapidement et auraient une couleur verte qui déteindrait sur la chair, en induisant une décomposition accélérée de celle-ci.

Table 2 – Evolution du critère apparence générale sur la dorade grise a) grille initiale, b) grille modifiée

a)	Attribute	Description	Score
Apparence	Skin	Very bright	0
		Bright	1
		Dull	2
	Slime / mucus	Clear-transparent	0
		Slightly cloudy / cloudy	1

b)	Critère d'évaluation	Description	Points
Apparence générale	Couleur / aspect de la peau	Brillante, couleurs normales (blanc, gris)	0
		Terne, pale, jaunâtre	1
		Rouge (présence de sang ?)	2
	Mucus	Clair, transparent	0
		Légèrement trouble, opaque, jaunâtre	1
	Viscères sortantes	Ne sortent pas	0
		Commencent à sortir	1
		Sorties	2
	Elasticité	Elastique, ne garde pas l'empreinte	0
		Marquée par la pression	1

Nous avons donc observé la façon dont se dégradent les viscères et la chair afin d'établir à la fois des critères de dégradation de ces deux parties sans tenir compte de l'impact des algues vertes mais seulement de la dégradation « naturelle ». Des critères permettant de caractériser l'impact des marées vertes en tenant compte des témoignages ont été ajoutés pour pouvoir anticiper l'analyse des poissons « contaminés » (Table 3).

Table 3 – Ajout du critère viscères pour le rouget barbet

Viscères	Odeur	Fraiche, acidulée, poisson...	0
		Neutre	1
		Suspecte	2
	Couleur	Beige, rouge, rose, claire	0
		Beige foncé, rouge brun, terne, légère décomposition	1
		Brun, décolorées, décomposées	2
	Coloration verte et aspect	Absente	0
		Légère coloration verte, légère décomposition	1
		Forte coloration verte, forte décomposition	2

Une fiche permettant de faciliter l'évaluation de la fraîcheur sur les différents critères a été réalisée à l'aide de photographies prises tout au long des analyses (Appendice 3).

Ainsi, grâce à ces améliorations portées sur les grilles de cotation QIM, un outil approprié pour juger l'évolution de la fraîcheur des trois espèces de poisson en fonction de la question initiale a pu être établi (Appendice 4). Les grilles étaient remplies de façon à déterminer une note pour chaque critère et pour chaque poisson, à raison de trois poissons par espèce (Appendice 5).

L'analyse QIM était effectuée tous les jours par trois juges suivant un roulement de 6 personnes, sur la période J1 à J8 (sauf les 2 jours du week-end soit 6 jours d'analyse) sur 3 individus de chaque espèce. Sur chaque poisson étaient évalués les différents critères définis par la grille QIM et des notes allant de 0 à 2 (ou à 3) étaient données, 0 étant la meilleure note et 3 la plus mauvaise. Une note finale correspondant à la somme de toutes les notes attribuées était déterminée. L'évolution de cette note, jour par jour, permettait d'établir l'avancement de l'état de fraîcheur du poisson du point de vue organoleptique.

#### 3.4.3. Détermination de l'ABVT et du TMA par la méthode de Conway

L'analyse de l'ABVT et de la TMA était effectuée un jour sur deux sur la période J1 à J8 sauf les 2 jours du week-end, soit 4 jours d'analyse. Elle se faisait sur 3 individus de chaque espèce, en triplicata pour l'ABVT et en duplicata pour la TMA.

##### ***Principe***

Les bases azotées volatiles produites au cours de l'altération du poisson étaient évaluées par la méthode de micro-diffusion de Conway et Byrne (1933). Le principe de cette méthode est l'extraction des bases azotées volatiles par une solution d'acide trichloroacétique, puis le déplacement de ces bases sous forme non volatiles (ammonium) en forme volatile ( $\text{NH}_3$ ) par l'ajout d'une solution de carbonate de potassium. Ces dernières sont recueillies dans une solution d'acide borique titrée contenant un indicateur coloré, puis dosées en retour par de l'acide chlorhydrique titré.

##### ***Méthode***

50 g de de chair de poisson étaient prélevés et déposés dans un sachet plastique puis 25 ml d'eau étaient additionnés. Le tout était broyé à l'aide d'un stomacher pendant 30 s. Puis, 25 ml d'acide trichloroacétique à 20% étaient ajoutés et l'ensemble de la suspension était à nouveau broyé au stomacher pendant 30 s. La partie soluble de cette suspension était récupérée après filtration sur filtre papier et appelée filtrat ou extrait trichloroacétique.

### **Dosage de l'ABVT**

1 ml de filtrat et 1,5 ml d'eau distillée étaient placés dans la couronne extérieure de la cellule de Conway (Fischer Scientific, 67403 Illkirch) et 1 ml d'acide borique était placé dans le compartiment central. L'ajout de 1 ml d'une solution saturée de carbonate de potassium dans la couronne extérieure permettait la diffusion de l'ensemble des bases et leur absorption dans l'acide borique, faisant ainsi virer l'indicateur coloré. Cette étape de diffusion était réalisée pendant 2 h dans une étuve à 37 °C.

Après cette étape de diffusion, le dosage des bases azotées était réalisé par un dosage acide-base en retour à l'aide d'acide chlorhydrique 0,01N.

Le calcul de la teneur en ABVT était déterminé selon l'équation suivante :

$$ABVT \text{ (mgN pour } 100\text{g)} = \frac{V \cdot 0,14 \cdot (m_1 + m_2 + m_3) \cdot 100}{1 \cdot d \cdot m_1}$$

*V = volume en ml d'acide chlorhydrique 0,01 N utilisé pour la titration*

*m<sub>1</sub> = masse en gramme de la prise d'essai*

*m<sub>2</sub> = masse en gramme d'eau utilisée pour l'extraction*

*m<sub>3</sub> = masse en gramme de la solution d'acide trichloroacétique à 20% utilisée pour l'extraction*

*d = masse volumique de l'extrait trichloroacétique*

### **Dosage de la TMA**

Le dosage de la TMA était effectué selon cette même méthode, à la différence près qu'avant d'ajouter le carbonate de potassium, 0,5 ml de formaldéhyde était ajouté dans le même compartiment que celui du filtrat. Le formaldéhyde réagissant avec les amines primaires et secondaires, seules les amines tertiaires pouvaient diffuser et étaient piégées par l'acide borique. Ainsi, lors du dosage en retour par le HCl 0,01N, seule la quantité de TMA était déterminée.

Le calcul de la teneur en TMA était déterminé selon l'équation suivante :

$$TMA \text{ (mgN pour } 100\text{g)} = \frac{V' \cdot 0,14 \cdot (m_1 + m_2 + m_3) \cdot 100}{1 \cdot d \cdot m_1}$$

*V' = volume en ml d'acide chlorhydrique 0,01N utilisé pour la titration*

Le protocole détaillé est donné en appendice 1.

#### 3.4.4. Mesure du pH

Le pH était mesuré tous les jours, sur la période J1 à J8, sauf les 2 jours du week-end soit 6 jours d'analyse, sur 3 individus de chaque espèce.

10 g de chair étaient prélevés et mélangés avec 90 ml d'eau distillée. Le tout était broyé au stomacher pendant 60 s. Le pH était mesuré sur cette suspension à l'aide d'un pH mètre préalablement étalonné avec des solutions étalons pH 4 et 7 suivant une procédure établie par le fournisseur.

## 4. Résultats et discussions

### 4.1 Une étude de marché permet-elle de mettre en évidence une influence des marées vertes ?

Pour la dorade grise, le prix est plus élevé en période de prolifération (*After*) que plus tôt dans l'année, autant dans la zone *Impact* que dans la zone *Control* (Fig 1a). De plus, dans cette zone *Impact*, la hausse de prix est beaucoup plus ressentie que dans la zone *Control*. La dorade est donc beaucoup plus chère en période de marées vertes dans la zone impactée, c'est-à-dire *After-Impact*.

Pour le maquereau, il n'y a pas d'évolution notable du prix entre la période *Before* et *After*, ni de tendance claire entre les secteurs (Fig 1b).

L'effet impact des marées vertes est tout aussi difficile à interpréter dans le cas du rouget barbet (Fig 1c).

L'analyse sur ces trois espèces conclut donc à l'absence de conséquence visible sur le prix au kg pendant la période marées vertes. Les évolutions sont contrastées pour ces trois espèces, sans tendance ni signal notable, et on ne peut pas conclure à un réel impact négatif des marées vertes sur le prix de vente en criées de ces poissons.



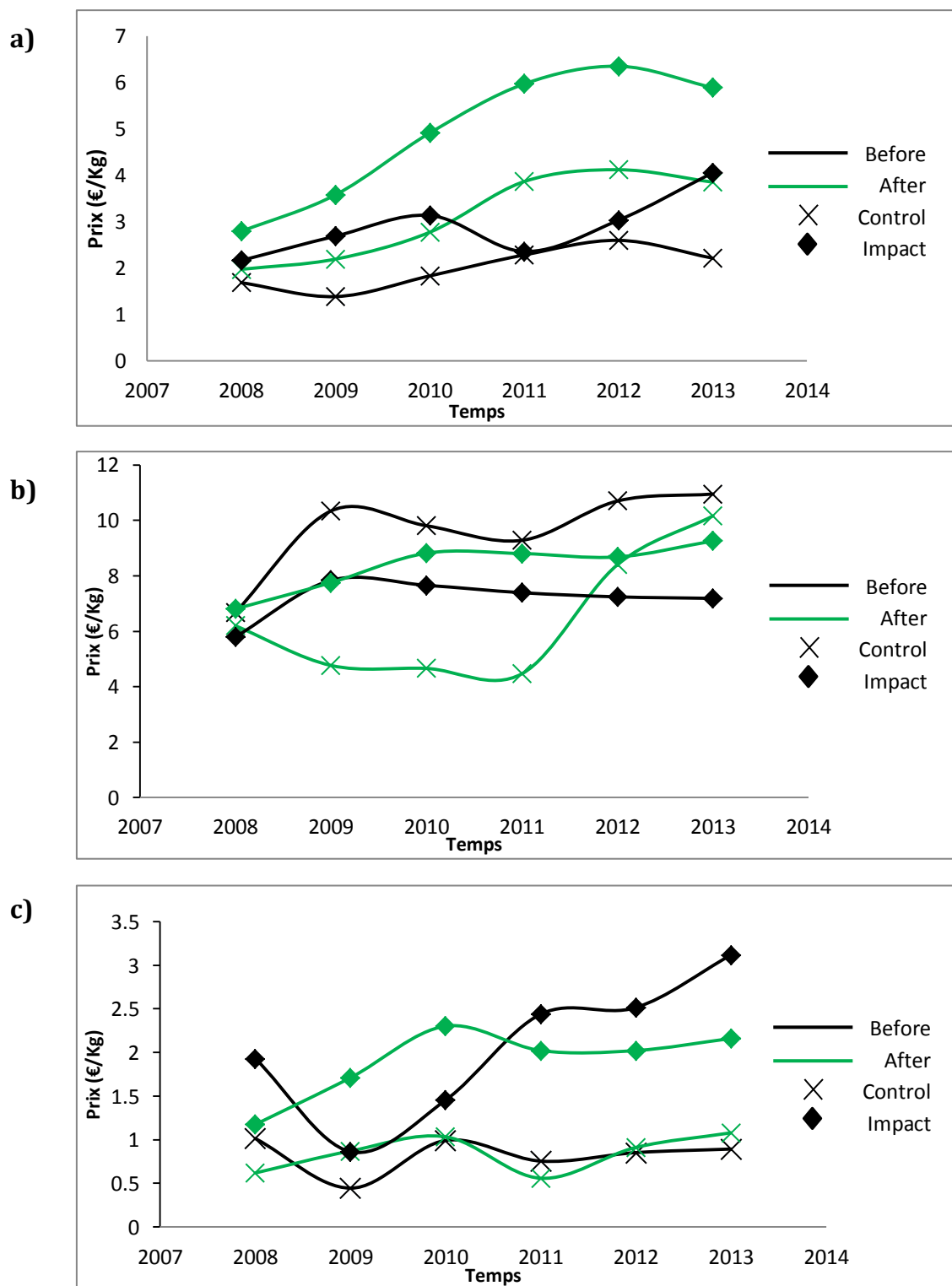


Figure 1 - Evolution des prix de vente dans les criées de Saint Quay Portrieuc et Erquy (zones impactées) et de Granville et Dinard (zones non impactées) (a) dorade grise, b) maquereau commun, c) rouget barbet) (Source : données France AgriMer)

## 4.2 Résultats des analyses sensorielles et chimiques

### 4.2.1 Informations préalables

#### 4.2.1.1. Etude BACI

La première campagne d'étude (période *Before*) s'est faite en début de stage pour la zone *Impact* (du 15/04/14 au 22/04/14) et un mois après pour la zone *Control* (du 14/05/14 au 21/05/14). Ces écarts de dates sont dus à la difficulté de trouver la quantité voulue de poisson à la date choisie. La deuxième campagne (*After*) s'est faite, la première fois, la semaine du 04/06/14 au 11/06/14 pour les deux zones, afin d'attendre l'arrivée des algues vertes.

Etant données les difficultés d'approvisionnement et l'absence d'algues vertes dans le tractus digestif des poissons, cette campagne *After* a été réalisée une deuxième fois puis une troisième fois, en juillet 2014 (15/07/14 au 22/07/14) puis au mois de juin de l'année suivante (23/06/15 au 28/06/15).

#### 4.2.1.2. Etude Intra-zone

Cette partie spécifiquement *After-Impact* de l'étude a été réalisée à l'aide d'un bateau professionnel spécialement affrété. Ainsi, les poissons provenaient du cœur de la zone impactée par les marées vertes. L'utilisation de ce bateau a permis un échantillonnage standardisé, en quantité nettement supérieure aux études précédentes, pour chacune des trois espèces étudiées.

Le constat lors de cette campagne fut l'absence totale d'algues vertes dans le tractus digestif des poissons, et ceci quelle que soit l'espèce. Ces données n'ont donc *in fine* été utilisées que pour la troisième analyse *After-Impact* de l'étude BACI.

#### 4.2.2. Détermination des cinétiques d'altération, par la méthode QIM, des 3 espèces de poisson selon la période et la zone de prélèvement

La cotation par la méthode QIM est un outil fiable qui permet de déterminer un indice QI (Quality Index), somme de toutes les notes attribuées à chacun des critères. Cette note évolue de façon linéaire au cours de l'altération, en fonction des jours de conservation sous glace. A la suite du suivi réalisé pendant 8 jours (6 jours pour la campagne *After-Impact*), la tendance de l'indice permet de déterminer la cinétique de l'altération. Plus la pente est élevée plus l'altération est rapide.

L'analyse des résultats se fait par comparaison des différentes pentes afin de déterminer si la vitesse d'altération est plus rapide pour la zone impactée pendant les marées vertes. Cependant, l'absence de poissons « verts » durant la période des marées vertes dans la zone *Impact* ne permet pas d'analyser un impact spécifique des marées vertes sur la conservation des poissons qui ont consommé des algues. Ces échantillonnages permettent toutefois de comparer les campagnes entre-elles.

Les cinétiques pour les différentes campagnes ne sont pas identiques pour la dorade grise (Fig 2a). Pour l'étude *Before-Impact* la pente est de 1,92 (unité en QI/j) alors que celle de l'étude *After-Impact* est de 3,419. Ces différences peuvent s'expliquer par le fait que plusieurs facteurs tels que la taille des poissons et leur état de fraîcheur initial peuvent interagir avec cette cinétique. Dans le cas de l'étude *After-Control* la taille des dorades était plus importante (masse moyenne de 637,4 g) alors que la taille des dorades des autres études était nettement plus faible avec une masse moyenne de 288 g. Ces masses variables peuvent expliquer ces faibles différences de cinétique.

Pour le rouget barbet (Fig 2b), on observe les mêmes variations que pour les dorades, les pentes sont légèrement différentes car les tailles des rougets n'étaient pas toutes les mêmes. La masse moyenne pour l'étude *After-Control* est de 41,5 g et de 64 g pour le cas *After-Impact*. La taille requise pour l'analyse était de 150 à 200 g; cette spécification a été respectée pour les études *Before* mais pas pour la seconde phase, pour laquelle il n'y avait pas de débarquement de rougets suffisamment grands. Etant donné que les rougets de la période *After* font la même taille dans la zone *Impact* et *Control*, on peut tout de même observer une pente plus importante pour la zone *Impact* avec 2,86 tandis que celle pour la zone *Control* elle est de 2,56.

Pour le maquereau (Fig 2c) les pentes sont pratiquement identiques. C'est une fois de plus une différence de taille qui est à l'origine des légères variations.

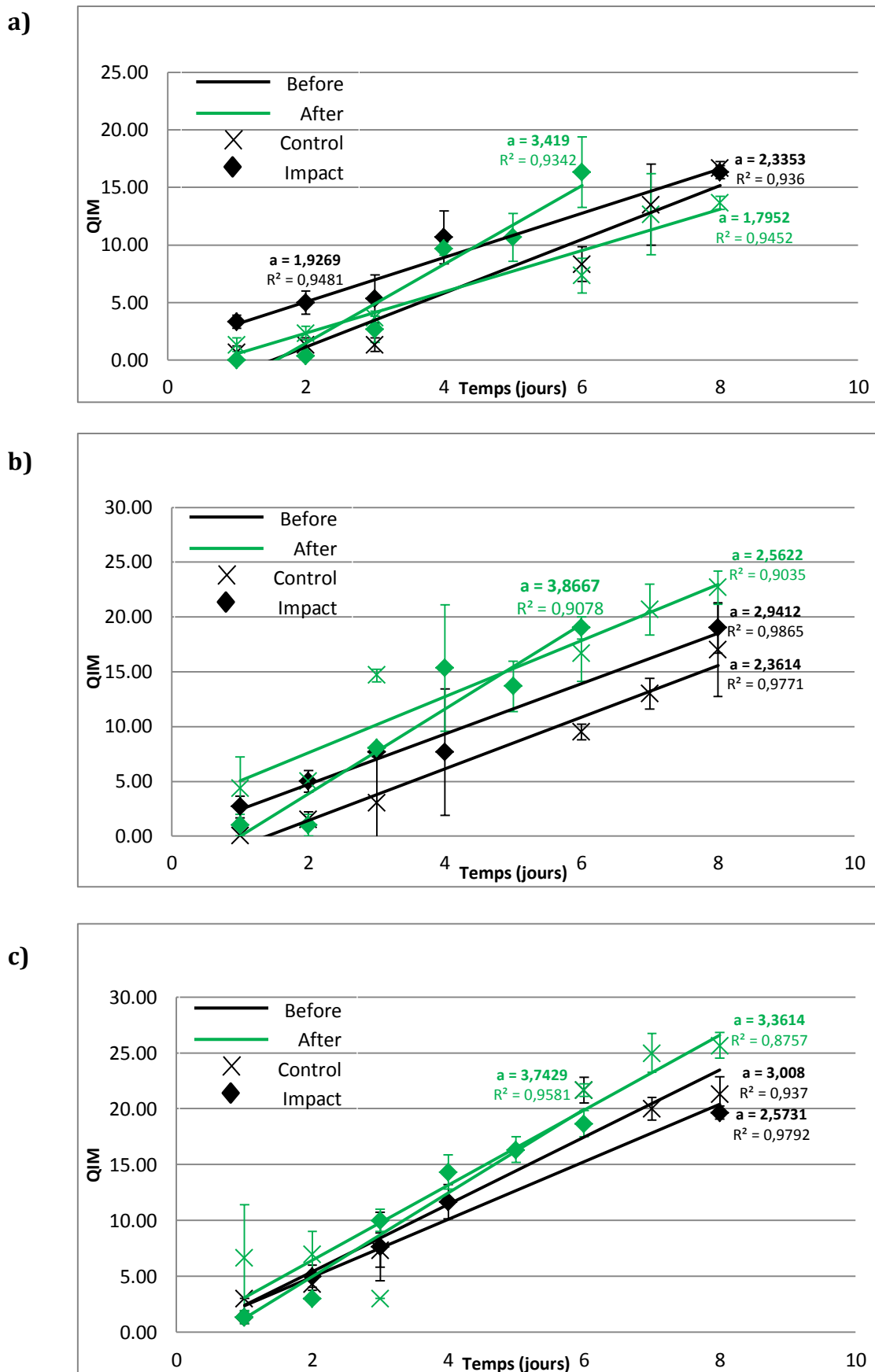


Figure 2 - Evolution linéaire de l'altération des espèces de poissons, par zone et par période, par l'indice QIM (a) dorade grise, b) rouget, c) maquereau)

#### 4.2.3. Détermination des durées limites de conservation des poissons par le dosage des bases azotées formées (ABVT et TMA)

Le suivi des concentrations en bases azotées volatiles permet de rendre compte de l'état de dégradation de la chair du poisson car elles sont produites au cours de l'altération. Une augmentation prononcée de la teneur en ABVT et en TMA permet de déterminer le point d'inflexion, c'est-à-dire moment où la dégradation devient plus importante et le poisson commence à être réellement altéré.

Pour la dorade grise (Fig 3a), les courbes de la zone *Impact* pendant les périodes *Before* et *After* ont la même allure pour l'ABVT et la TMA. Elles sont stables jusqu'au 6<sup>ème</sup> jour, jour à partir duquel on peut voir une légère augmentation. Cependant, pour la zone *Impact*, « *Before* et *After* » les marées vertes, la courbe présente un aspect très différent avec une augmentation très rapide de l'ABVT et de la TMA. Cela peut s'expliquer par un état de fraîcheur initial moins bon. On peut identifier un point d'inflexion grâce à l'ABVT à 3 jours, la TMA nous permet de le situer au 4<sup>ème</sup> jour.

Pour le rouget barbet (Fig 3b), les cinétiques sont sensiblement les mêmes pour l'ABVT et la TMA, excepté le point initial du TMA de la zone *Impact* en période *Before* (il possède un écart type très important, ce qui pourrait être dû à un ou plusieurs poissons sortant du lot et faussant les résultats). Le point d'inflexion pour la zone *Impact* est presque le même en *Before* et *After*, il se situe entre le 3<sup>ème</sup> et le 4<sup>ème</sup> jour. En revanche pour la zone *Control*, il est difficile de déterminer le point d'inflexion étant donné que l'augmentation se fait dès le 2<sup>ème</sup> jour et se poursuit de façon linéaire. Cela s'explique par la différence de taille de ces rougets, car les rougets de la campagne *After-Control* étaient de très petite taille et ceux de la campagne *Before-Control* étaient plutôt de grosse taille, l'évolution étant beaucoup plus rapide pour les petits que pour les gros.

Pour le maquereau (Fig 3c), il n'y a pas réellement de point d'inflexion et l'augmentation est plus constante. L'altération est nettement plus rapide pour l'étude *After-Control* pour laquelle les maquereaux étaient de petite taille. Les points d'inflexion sur le graphe d'ABVT et de TMA concordent pour les campagnes *Before* et se situent entre le 3<sup>ème</sup> et le 4<sup>ème</sup> jour. La cause de cette évolution constante peut être que cette espèce est un poisson gras pour laquelle le suivi des bases azotées est plus difficile et moins représentatif de son état de fraîcheur, du fait qu'elles évoluent peu au cours du temps (Rehbein and Oehlenschläger, 2009).

L'évolution de l'ABVT et de la TMA sont globalement identiques et suivent la même cinétique pour chacune des trois espèces. De la même façon que pour l'indice QI, il n'est pas possible de conclure sur l'impact des marées vertes. Il est seulement possible d'établir que, globalement, le moment où l'altération s'intensifie se situe entre le 3<sup>ème</sup> et le 4<sup>ème</sup> jour.

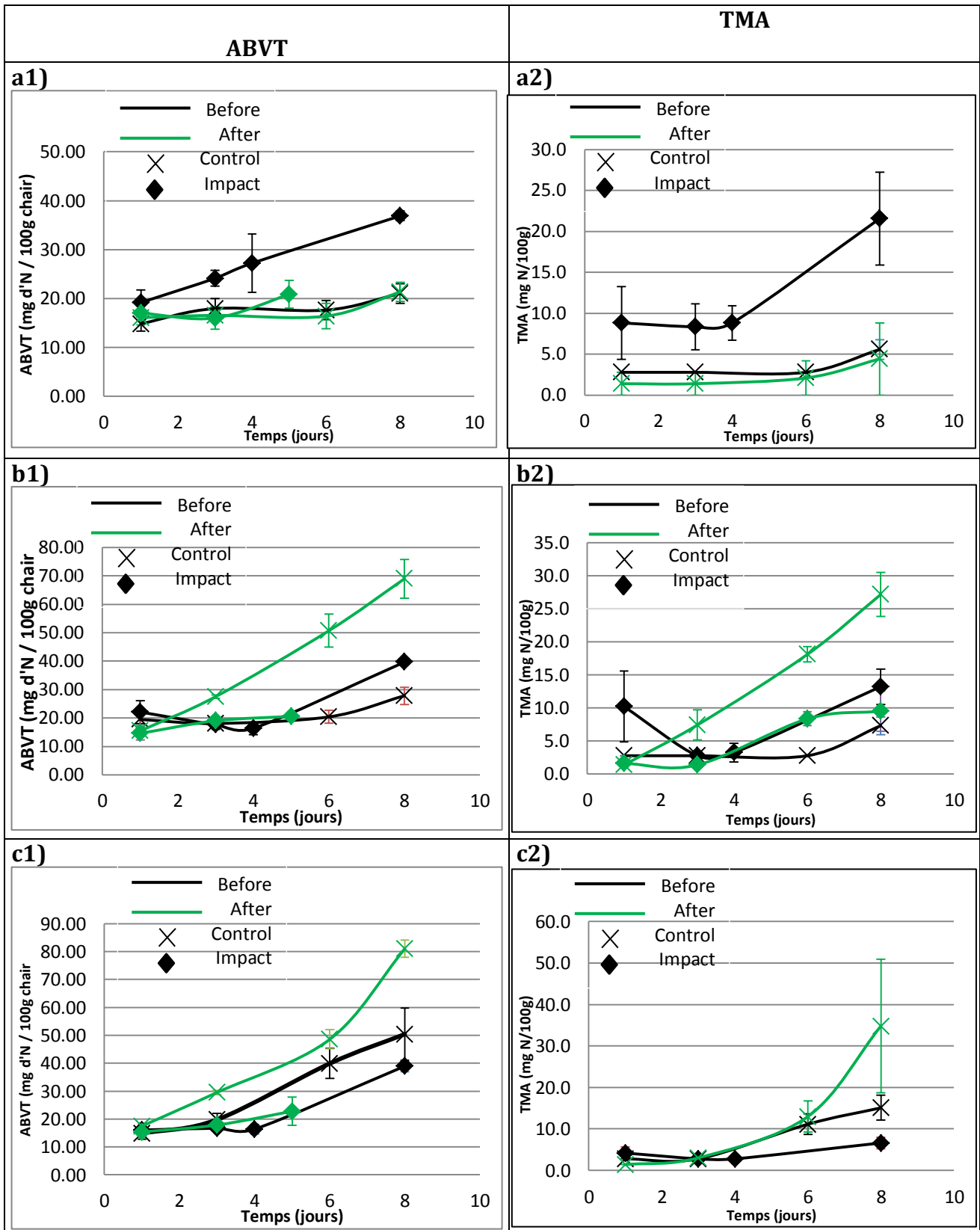


Figure 3 – Suivi de l'ABVT et de la TMA des espèces de poissons (a) dorade, b) rouget, c) maquereau)

#### 4.2.4. Suivi de l'altération par la mesure de pH

La mesure pH permet le suivi de l'altération de la chair. Une baisse de pH en début de conservation peut être due à la *rigor mortis* et l'augmentation qui suit est la conséquence de l'altération de la chair et de l'apparition des bases azotées.

Pour les trois espèces il est difficile de conclure sur un point d'inflexion car l'allure des courbes semble aléatoire (Fig 4).

Le suivi du pH ne semble pas pertinent pour le cas de cette étude. Peut-être que la méthode de mesure n'est pas optimale. Il faudrait éventuellement changer la méthode de mesure en utilisant une électrode permettant la mesure du pH directement dans la chair du poisson en différents endroits.

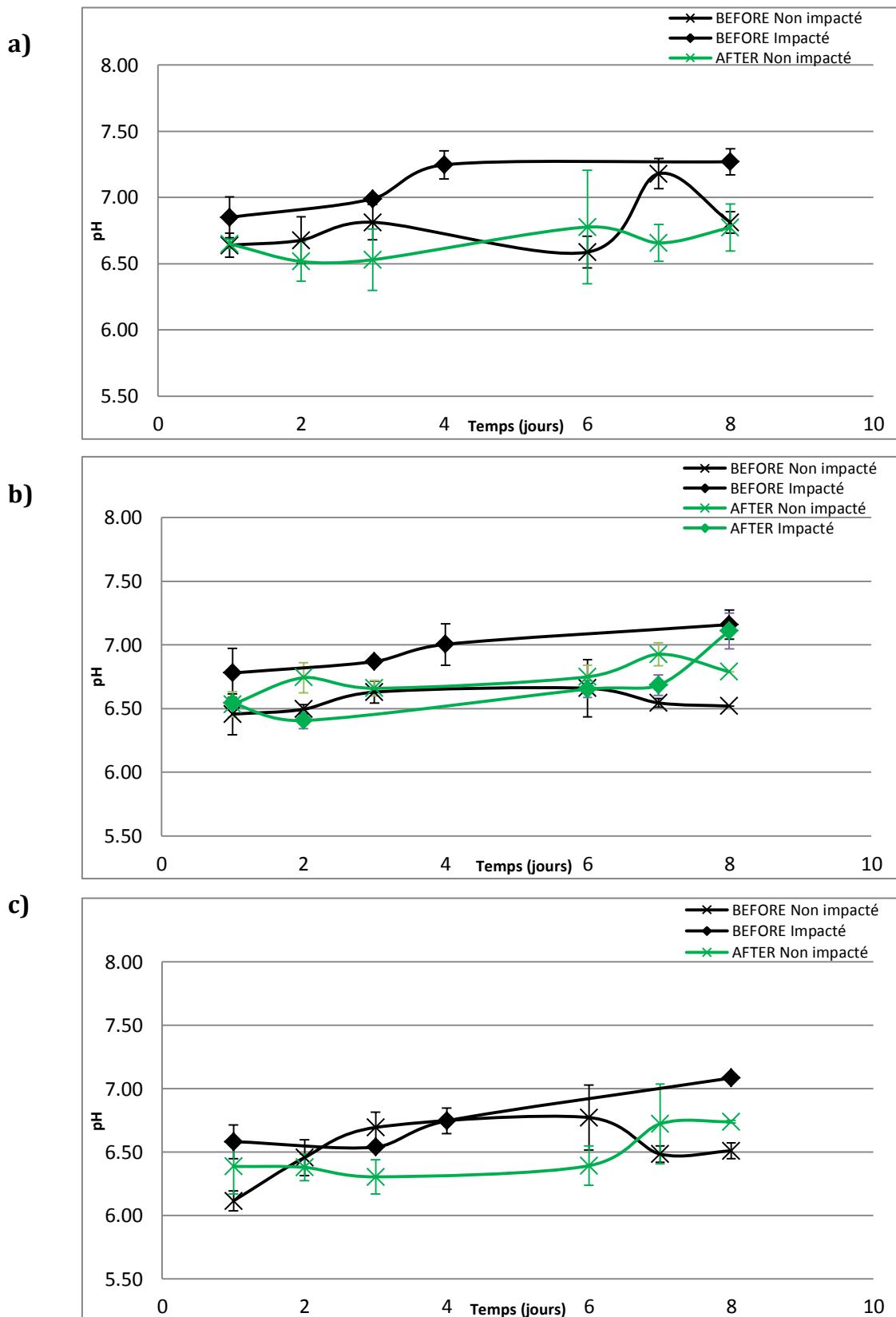


Figure 4 – Evolution du pH des espèces de poissons par période et par zone (a) dorade, b) rouget, c) maquereau)



## 5. Conclusion

### *Limites de l'étude - contraintes d'échantillonnage*

L'approvisionnement en poisson pour le site impacté a été difficile car les poissonniers et mareyeurs n'ont pas systématiquement été en mesure de nous fournir le poisson au moment où nous en avons besoin. Cela est dû notamment au fait de l'approvisionnement par les pêcheurs qui ciblaient, en 2014 au moment de l'étude, d'autres ressources telles que les coquilles Saint-Jacques ou les crustacés. Plusieurs réalisations de la dernière campagne de l'étude BACI, c'est-à-dire *After-Impact*, ont donc été nécessaires pour aboutir au respect du protocole requérant des conditions très particulières, telles que pêcher :

- des quantités suffisantes de poissons de chacune des trois espèces étudiées, au calibre voulu et en respectant un état de fraîcheur optimal.
- pendant la période de prolifération des Ulves. Cette période peut varier d'une année à l'autre ce qui nécessite un travail de veille et ne permet pas une planification préalable,
- dans une zone où la prolifération des Ulves est importante. L'objectif est que son habitat naturel soit impacté par les marées vertes.

De nombreuses difficultés d'approvisionnement ont été rencontrées, en lien avec chacune de ces trois conditions, au long de l'étude BACI.

Les paramètres initiaux, c'est-à-dire l'état de fraîcheur au début de l'étude ainsi que la taille des poissons, sont par ailleurs des facteurs difficilement contrôlables malgré les contacts de confiance que nous avons auprès des mareyeurs. Le temps entre le moment où le poisson est pêché et celui où nous l'avons reçu ainsi que les conditions de conservation au cours de cette période peuvent influencer sur la conservation du poisson en modifiant plus ou moins les cinétiques d'altération.

Malgré ces problèmes de protocole et les incertitudes qu'ils ont généré, les analyses réalisées à plusieurs reprises sur deux années permettent de conclure sur un certains nombres de points, laissant en suspend d'autres questions initiales.

### *Bilan des résultats*

L'étude n'a pas abouti à mettre en évidence d'effet des marées vertes sur la conservation des trois espèces étudiées ni sur leur prix de vente :

Les résultats obtenus lors de cette étude montrent peu de différences entre la zone impactée (*Impact*) et la zone non-impactée (*Control*) ainsi qu'entre la période avant la prolifération des Ulves (*Before*) et pendant cette prolifération (*After*). Les quelques écarts entre ces campagnes sont dus principalement aux tailles des poissons, variables entre les zones et les périodes mais aussi à l'état de fraîcheur initial. La conservation des poissons n'apparaît pas moindre en zone impactée que dans les secteurs et périodes exempts d'algues vertes.

Le phénomène de « poissons verts », constaté par l'aval de la filière et se traduisant par la présence d'algues vertes dans le tractus digestif de plusieurs espèces de poissons résidant dans des zones impactées par les marées vertes, n'a pas pu être observé lors de cette étude. Même en pêchant au cœur des proliférations, avec un bateau affrété spécialement pour l'étude, les poissons n'ont pas d'algues vertes dans leurs intestins.

L'analyse complémentaire sur les prix ne montre pas non plus d'effet négatif des marées vertes sur l'attractivité des produits.

## Références bibliographiques

- Andrade A., Nunes M.L., Batista I. (1997). Freshness Quality Grading of Small Pelagic Species by Sensory Analysis. Méthodes d'évaluation de la fraîcheur du poisson dans l'industrie et la recherche. Proceedings of the final meeting of the concerted action "Evaluation of fish freshness. AIR3CT94 2283. Nantes, 12-14 novembre, 333-338.
- Anonyme (2011). Altération de la qualité des produits de la pêche. Scribd. URL <http://fr.scribd.com/doc/46466660/Alteration-de-la-qualite-des-produits-de-la-peche> (consulté le 06.05.14).
- Archer M. (2010). Sensory assessment scoresheets for fish and shellfish- Torry & QIM. Rapport Seafood the authority on seafood, 58p. URL [http://www.seafood.org/media/Publications/sensory\\_assessment\\_scoresheets\\_14\\_5\\_10.pdf](http://www.seafood.org/media/Publications/sensory_assessment_scoresheets_14_5_10.pdf) (consulté le 23.04.14)
- Conway, E.J., Byrne, A. (1933). Micro-diffusion analysis of TVN. *Biochemical Journal*, 27: 419-429.
- Guyomarc'h J.P., Le Foll F. (2011). Les marées vertes en Bretagne : pour un diagnostic partagé, garant d'une action efficace. Rapport Région Bretagne, Conseil économique, social et environnemental, 31p.
- Ifremer (2008). Méthodes de dosage des amines volatiles. Fiche synthèse Bibliomer, 4p. URL [http://www.bibliomer.com/documents/fiches/fiche\\_synthese\\_methodes\\_dosage\\_amines\\_volatiles.pdf](http://www.bibliomer.com/documents/fiches/fiche_synthese_methodes_dosage_amines_volatiles.pdf) (consulté le 23.04.14).
- Ifremer (2010). Méthodes de différenciation des poissons frais/poisson décongelés. Focus Qualité des produits de la mer, Bibliomer, 2p. URL [http://www.bibliomer.com/documents/fiches/fiche\\_ensavoirplus\\_lien\\_methodes\\_frais-decongele\\_vf.pdf](http://www.bibliomer.com/documents/fiches/fiche_ensavoirplus_lien_methodes_frais-decongele_vf.pdf) (consulté le 23.04.14).
- Le Luherne (2016) Impacts des marées vertes sur les habitats essentiels au renouvellement des ressources halieutiques des secteurs estuariens et côtiers. Thèse de doctorat, Agrocampus Ouest, France.
- Martinsdottir E., Sveindottir, Luten J., Schelvis-Smit R., Hyldig G. (2001). QIM-un outil fiable pour la détermination de la fraîcheur de votre poisson. Edition QIM eurofish (Islande), 49p.
- Menesguen A. (2003). Les marées vertes en Bretagne, La responsabilité du nitrate. Rapport interne Ifremer (Brest), 10p.

- Merceron M. (1999). Marées vertes en Bretagne: état actuel des connaissances. Actes du colloque "Pollutions diffuses : du bassin versant au littoral" 23-24 septembre (Ploufragan), 12p.
- Ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie (2010). Nitrates, algues vertes en Bretagne. D'où viennent les nitrates à l'origine de la formation des algues vertes ?. URL <http://www.developpement-durable.gouv.fr/D-ou-viennent-les-nitrates-a-l.html> (consulté le 29.05.14).
- Novince E. (2011). Les risques et nuisances causées par les marées vertes. Portail de l'information environnementale en Bretagne. URL <http://www.bretagne-environnement.org/Mer-littoral/Les-menaces/Marees-vertes/Les-risques-et-nuisances-causees-par-les-marees-vertes> (consulté le 06.05.14).
- Olafsdorrrir G., Luten J., Dalgaard P., Careche M., Verrez-Bagnis V., Martinsdottir E., Heia K. (1997). Méthodes d'évaluation de la fraîcheur du poisson dans l'industrie et la recherche. Proceedings of the final meeting of the concerted action "Evaluation of fish freshness. AIR3CT94 2283. Nantes, 12-14 novembre, 396p.
- REGLEMENT (CE) N° 2406/96 du conseil du 26 novembre 1996 fixant les normes communes de commercialisation pour certains produits de la pêche, JO L 334 du 23 décembre 1996.
- Rehbein H., Oehlenschläger J. (2009). Fishery products: quality, safety and authenticity. Edition Wiley-Blackwell (Oxford, UK ; Ames, USA).
- Schelvis R., Martinsdottir E., Hyldig G., Sveinsdottir K. (2009). Sensory evaluation of seafood: methods. In: Fishery Products: Quality Safety and Authenticity. Editeurs Rrehbein H., Oehlenschläger J., (UK), pp. 425-443.
- Shewan J.M., Macintosh R.G., Tucker C.G., Ehrenberg A.S.C. (1953). Development of a Numerical Scoring System for the Sensory Assessment of the Spoilage of Wet White Fish stored in ice. Journal of the science of Food and Agriculture 4 (6) : 283-298.

## Appendices

<b>Appendice 1</b> - Méthode de dosage de Conway et Byrne pour l'ABVT et la TMA dans les produits de la pêche.	p.141
<b>Appendice 2</b> – Grilles QIM de référence (a) dorade grise, b) rouget barbet, c) maquereau)	p.145
<b>Appendice 3</b> – Fiche d'aide pour l'évaluation organoleptique sur la dorade grise	p.147
<b>Appendice 4</b> – Grilles QIM finales (a) dorade grise, b) rouget barbet, c) maquereau	p.148
<b>Appendice 5</b> – Exemple de la grille QIM de la dorade à J+3	p.151

## Appendice 1

### TECHNIQUE D'ANALYSE

#### **DOSAGE DE L'ABVT ET DE LA TMA DANS LES PRODUITS DE LA PECHE METHODE DE CONWAY ET BYRNE (1933)**

#### **I- OBJET DE LA MÉTHODE**

La fraîcheur d'un produit aquatique peut-être évaluée en déterminant sa teneur en azote basique volatil total et en triméthylamine, exprimée en azote. Cette méthode est applicable à l'ensemble des produits aquatiques crus, non transformés, réfrigérés ou congelés.

**95/149/CE: Décision de la Commission, du 8 mars 1995, fixant les valeurs limites en azote basique volatil total (ABVT) pour certaines catégories de produits de la pêche et les méthodes d'analyse à utiliser (Journal officiel n° L 097 du 29/04/1995 p. 0084 – 0087)**

Les produits de la pêche non transformés appartenant aux catégories d'espèces citées ci-dessous sont considérés comme impropres à la consommation humaine lorsque, l'évaluation organoleptique révélant un doute sur leur fraîcheur, le contrôle chimique montre que les limites suivantes en ABVT sont dépassées:

- 1) 25 milligrammes d'azote/100 grammes de chair pour les espèces Type A;
- 2) 30 milligrammes d'azote/100 grammes de chair pour les espèces Type B;
- 3) 35 milligrammes d'azote/100 grammes de chair pour les espèces Type C.

**La méthode de référence** à utiliser pour le contrôle de la limite en ABVT est la **méthode de distillation** d'un extrait déprotéinisé. (Précipitation des protéines par l'acide trichloroacétique).

#### **Cependant :**

Les méthodes de routine utilisables pour le contrôle de la limite en ABVT sont les suivantes:

- méthode de microdiffusion décrite par Conway et Byrne (1933),
- méthode de distillation directe décrite par Antonacopoulos (1968),
- méthode de distillation d'un extrait déprotéinisé par l'acide trichloroacétique [comité du Codex Alimentarius pour les poissons et produits de la pêche (1968)].

#### **II- PRINCIPE DU DOSAGE SELON LA METHODE DE CONWAY**

On extrait les bases azotées volatiles par une solution d'acide trichloroacétique. On déplace ces bases à l'aide d'une solution de carbonate de potassium par microdiffusion, celles-ci sont recueillies dans une solution d'acide borique et titrées par de l'acide chlorhydrique.

Dans le cas du dosage de la TMA, on complexe par du formol l'ensemble des bases azotées à l'exception de la triméthylamine avant de réaliser la microdiffusion.

### III- REACTIFS ET APPAREILLAGE

#### *1. Réactifs*

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique :

- l'eau utilisée doit être de l'eau distillée.
- solution d'acide trichloroacétique à 20% (m/v)
- indicateur coloré
  - dissoudre 33 mg de vert de bromocrésol et 66 mg de rouge de méthyle dans 100 ml d'alcool éthylique à 95%
- solution d'acide borique 1% (m/v)
  - dissoudre 10 g d'acide borique dans 200 ml d'alcool éthylique et 700 ml d'eau. Ajouter 10 ml d'indicateur coloré préparé précédemment et compléter à 1 litre.
- solution d'aldéhyde formique (au moins 37%) neutralisée par de l'hydroxyde de sodium N en présence de phénolphtaléine.
- solution saturée de carbonate de potassium (environ 112 g/100 ml)
- solution d'acide chlorhydrique 0,01N
- vaseline

#### *2. Appareillage*

- broyeur type broyeur électroménager domestique
- cellules de Conway
- burette graduée au 1/100 ml
- balances analytiques (précision 0,1 g près et 0,1 mg près)
- étuve universelle à 37°C
- papier filtre
- entonnoirs et portes entonnoirs
- pipettes de précision

### IV- PRÉPARATION DES ECHANTILLONS

#### *Prise d'essai et extraction des bases azotées volatiles*

##### Cas des poissons frais ou congelé

Peser à 0,1 g près 100 g d'un échantillon ( $m_1$ ), ajouter 50 ml d'eau ( $m_2$ ), homogénéiser par broyage puis ajouter 50 ml ( $m_3 = 1,096 \times 50 = 54,8 \text{ g}$ ) d'acide trichloroacétique à 20%, mélanger de nouveau et filtrer sur papier filtre.

Le dosage de l'ABVT et de la TMA se fait sur le filtrat obtenu.

### V- DOSAGE DE L'ABVT

- Introduire dans la partie centrale de la cellule de Conway qui vient d'être nettoyée méticuleusement, **1 ml** de la solution d'acide borique (pipette de précision).
- Introduire dans la couronne de la cellule **1 ml** (pipette de précision) de l'extrait trichloroacétique, puis **1,5 ml** d'eau.
- Placer le couvercle enduit de vaseline en laissant un espace.

- Introduire rapidement **1 ml** de la solution de carbonate de potassium dans la couronne et fermer le couvercle de façon étanche.
- Par un mouvement de rotation, mélanger avec précaution le contenu de la couronne.
- Incuber **deux heures à 37°C** ou douze heures à température ambiante.
- Titrer les bases volatiles dans la solution d'acide borique au centre de la cellule par la solution **d'acide chlorhydrique 0,01N** (ou 0,05N, 0,1N selon l'état de fraîcheur du poisson) en utilisant une burette.

Effectuer au moins deux ou trois déterminations sur le même extrait trichloroacétique.

#### VI- DOSAGE DE LA TMA (sur le même filtrat TCA)

La façon de procéder est la même que pour le dosage de l'ABVT, la seule différence est la suivante :

Après avoir introduit dans la couronne de la cellule, **1 ml** de l'extrait trichloroacétique, on ajoute **1 ml** (au lieu de 1,5 ml pour le dosage ABVT) d'eau et **0,5 ml** de la solution de formol neutralisée. Puis procéder comme pour le dosage ABVT.

#### VII- EXPRESSION DES RÉSULTATS

**La teneur en ABVT** exprimée en mg d'azote pour 100 g d'échantillon est :

$$ABVT \text{ mgN pour } 100 \text{ g} = \frac{V \cdot 0,14 \cdot (m_1 + m_2 + m_3) \cdot 100}{1 \cdot d \cdot m_1}$$

V = volume en ml d'acide chlorhydrique 0,01 N utilisé pour la titration

m<sub>1</sub> = masse en gramme de la prise d'essai

m<sub>2</sub> = masse en gramme d'eau utilisée pour l'extraction

m<sub>3</sub> = masse en gramme de la solution d'acide trichloroacétique à 20% utilisée pour l'extraction

d = masse volumique de l'extrait trichloroacétique

**La teneur en TMA** exprimée en mg d'azote pour 100 g d'échantillon est :

$$TMA \text{ mgN pour } 100 \text{ g} = \frac{V' \cdot 0,14 \cdot (m_1 + m_2 + m_3) \cdot 100}{1 \cdot d \cdot m_1}$$

où V' = volume en ml d'acide chlorhydrique 0,01N utilisé pour la titration.

La densité moyenne de la solution d'acide trichloroacétique 20 % est de 1,096 (d'où m<sub>3</sub> = **54,8 g**) et la valeur moyenne de d pour des poissons frais ou congelés est **1,030**.



Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux ou trois déterminations si les conditions de répétabilité sont remplies.

La différence entre les résultats de deux ou trois déterminations, effectuées rapidement l'une après l'autre par le même analyste, ne doit pas être supérieure à 2 mg N pour 100 g d'échantillon.

**Espèces de poisson faisant l'objet de recommandations dans la décision du 8 mars 1995 du JOCE**

**TYPE A (teneur < 25 mg N / 100 g de chair)**

**Sébastes**

**Sébaste chèvre ou rascasse, *Helicolenus dactylopterus***

**Sébaste du Cap ou rascasse du Cap, *Sebastichthys capensis***

**TYPE B (teneur < 30 mg / 100 g de chair)**

**Famille des Pleuronectidae à l'exception du flétan *Hypoglossus sp***

**(Ex limandes, plies, soles, carrelet ...)**

**TYPE C (teneur < 35 mg / 100 g de chair)**

**Famille des Gadidae**

**Famille des Merluccidae**

***Salmo Salar***

## Appendice 2

**a)**

	Attribute	Description	Score
<b>Appearance</b>	<b>Skin</b>	Very bright	0
		Bright	1
		Dull	2
	<b>Slime / mucus</b>	Clear-transparent	0
	Slightly cloudy / cloudy	1	
<b>Flesh</b>	<b>Elasticity</b>	Elastic	0
		Marked by pressure	1
<b>Odour</b>	<b>Odour</b>	Fresh	0
		Neutral	1
		Fishy	2
		Off-odours	3
<b>Eyes</b>	<b>Clarity</b>	Clear translucent	0
		Slightly opaque	1
		Opaque, bloody	2
	<b>Shape / Form</b>	Convex	0
		Flat	1
		Concave	2
<b>Gills</b>	<b>Colour</b>	Bright, dark red	0
		Brownish red / discoloured	1
	<b>Odour</b>	Fresh, seaweed	0
		Neutral	1
		Fishy	2
		Off odours	3
	<b>QIM score</b>	<b>0 - 15</b>	

**b)**

	Attribute	Description	Score
<b>Skin</b>	<b>Colour / appearance</b>	Very bright	0
		Bright	1
		Matt	2
	<b>Blood on gill cover</b>	None	0
		Some	1
		Much	2
	<b>Texture</b>	Hard	0
		Firm	1
		Soft	2
	<b>Texture of belly</b>	Firm	0
		Soft	1
		Burst	2
	<b>Odour</b>	Fresh sea odour	0
		Neutral	1
Slight off-odour		2	
Strong off odour		3	
<b>Eyes</b>	<b>Appearance</b>	Bright	0
		Somewhat lustreless	1
	<b>Shape</b>	Convex	0
Flat		1	
Sunken		2	
<b>Gills</b>	<b>Colour / appearance</b>	Characteristic red	0
		Somewhat pale, matt, brown	1
	<b>Odour</b>	Fresh, seaweedy, metallic	0
		Neutral	1
		Some off odour	2
	Strong off odour	3	
	<b>QIM score</b>	<b>0 - 18</b>	


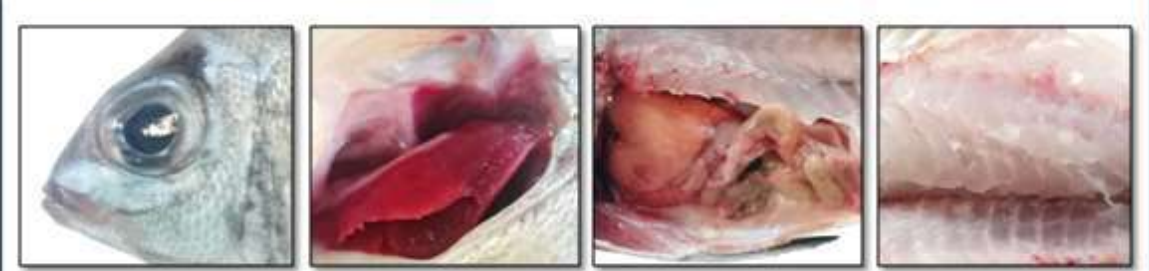
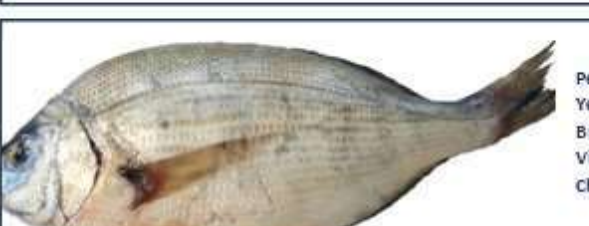


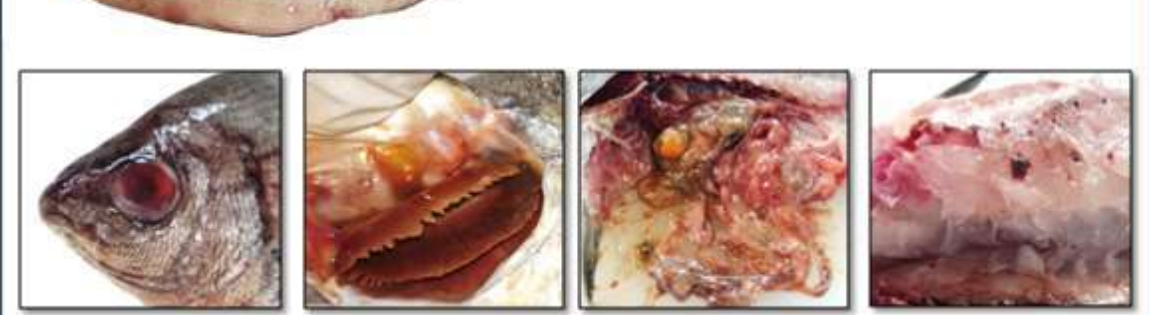
c) Table II: QIM scheme for evaluation of horse mackerel freshness.

FRESHNESS QUALITY GRADING SYSTEM FOR HORSE MACKEREL ( <i>Trachurus trachurus</i> )		
PARAMETER	CHARACTERISTIC	DEMÉRIT POINTS
<b>GENERAL APPEARANCE</b>		
• <i>Surface appearance</i>	☉ Very shiny, bright colours	0
	☉ Shiny, less bright colours	1
	☉ Mat, faded colours, crimp	2
• <i>Stiffness</i>	☉ Flexible (pre rigor)	0
	☉ Tense (rigor)	1
	☉ Less tense	2
	☉ Soft	3
• <i>Flesh firmness</i>	☉ Very stiff and firm	0
	☉ Firm	1
	☉ Fairly soft	2
	☉ Soft, flaccid	3
<b>EYES</b>		
• <i>Clarity (cornea)</i>	☉ Clear, translucent	0
	☉ Slightly opalescent, opaque	1
	☉ Milky	2
• <i>Pupil</i>	☉ Shiny jet-black/blue	0
	☉ Cloudy	1
	☉ Grey	2
• <i>Cornea</i>	☉ Protuberant	0
	☉ Convex, slightly flat	1
	☉ Flat	2
	☉ Concave, sunken	3
<b>GILLS</b>		
• <i>Cover (bloodiness)</i>	☉ Silver grey	0
	☉ Less bright, slightly colourless	1
	☉ Less bright, traces of blood stains	2
• <i>Colour</i>	☉ Uniformly dark red/purple, no slime	0
	☉ Loss of colour, pale margins, slime translucent	1
	☉ Discoloured, slime opaque	2
• <i>Smell</i>	☉ Fresh, seaweedy	0
	☉ Neutral, slightly seaweedy	1
	☉ Slightly acrid or rancid	2
	☉ Rancid oil, ammonia, sour	3
<b>ABDOMEN</b>		
• <i>Postgill (belly-burst)</i>	☉ Intact, firm	0
	☉ Intact, soft	1
	☉ Stretch- marks, soft	2
	☉ Torn	3
<b>GUTS</b>		
• <i>Appearance</i>	☉ Normal and bright	0
	☉ Slight decomposition, less bright	1
	☉ Strong decomposition, dull	2
<b>FLESH</b>		
• <i>Appearance and colour</i>	☉ Fresh bloom, translucent	0
	☉ Slightly opaque	1
	☉ Flattened, bloody	2
Total demerit points (0-29)		

(a) dorade grise, b) rouget barbet, c) maquereau commun) (Sources : Archer, 2010; Andrade et al., 1997)

## Appendice 3

### Changement d'aspect de la dorade grise stockée sous glace

	<p><b>Stockée</b> <b>1 jour sous glace</b></p> <p>Peau : brillante, grise et blanche Yeux : transparents, convexes, noirs Branchies : brillantes, rouge vif Viscères : brillantes, pas de décomposition Chair : blanche, ferme, pas de décomposition</p>
	
	<p><b>Stockée</b> <b>5 jours sous glace</b></p> <p>Peau : terne, plutôt mate, jaunâtre voir rose Yeux : légèrement opaques et rouges, plats Branchies : rouge pâle, mucus plus épais Viscères : début décomposition et décoloration Chair : décolorée, moins ferme</p>
	
	<p><b>Stockée</b> <b>8 jours sous glace</b></p> <p>Peau : mate, rouge, mucus visqueux Yeux : opaques, rouges, creux (ou gonflés) Branchies : rouge-brun à brun, mucus épais Viscères : décomposition, décoloration Chair : peu ferme, se détache, décolorée</p>
	

## Appendice 4

a)

Critère d'évaluation		Description	Points
Apparence générale	Couleur / aspect de la peau	Brillante, couleurs normales (blanc, gris)	0
		Terne, pale, jaunâtre	1
		Rouge (présence de sang ?)	2
	Mucus	Clair, transparent	0
		Légèrement trouble, opaque, jaunâtre	1
	Viscères sortantes	Ne sortent pas	0
		Commencent à sortir	1
		Sorties	2
	Elasticité	Elastique, ne garde pas l'empreinte	0
		Marquée par la pression	1
Odeur générale		Fraiche, odeur marine	0
		Neutre	1
		Poissonneuse	2
		Odeur suspecte	3
Yeux	Clarté	Transparent, translucide	0
		Légèrement opaque, début coloration rouge	1
		Opaque, couleur rouge (sang)	2
	Forme	Convexe	0
		Plat	1
		Concave, creux	2
Branchies	Couleur	Brillantes, rouge foncé	0
		Rouge pale	1
		Rouge-brun à brun, décolorées, mucus épais	2
	Odeur	Frais, algues, acidulée...	0
		Neutre	1
		Poissonneuse	2
	Forte odeur suspecte	3	
Viscères	Couleur et aspect	Normale (Gris- beige clair, lisses et brillantes)	0
		Début de décomposition, décoloration (jaune, orange)	1
		Décomposées, coloration verte	2
	Odeur	Fraiche, acidulée, oseille...	0
		Neutre	1
		Suspecte, poissonneuse...	2
Chair	Couleur et aspect	Transparente, blanche, ferme...	0
		Couleur légèrement altérée (vire au gris ?), se détache peu	1
		Couleur altérée, aspect décomposé	2
	Couleur le long de la colonne	Aucune, couleur normale	0
		Légère coloration, rose	1
		Coloration présente tout le long, rouge	2
	Coloration verte et aspect	Absente	0
		Légère coloration verte/jaune, légère décomposition	1
		Forte coloration verte, forte décomposition, taches ?	2

b)

Critère d'évaluation		Description	Points
Aspect général	Apparence	Brillante	0
		Terne, mat...	1
	Sang sur l'opercule des branchies	Aucun	0
		Peu	1
		Beaucoup	2
	Couleur peau	Rouge, orange, rose... vives	0
		Décoloration partielle	1
		Très décolorée (présence de tâches ?)	2
	Viscères sortantes	Non sorties	0
		Commencent à sortir	1
Sorties		2	
Odeur générale		Fraiche, odeur marine	0
		Neutre	1
		Odeur suspecte	2
Chair	Rigidité	Dure, raide	0
		Ferme, peu flexible	1
		Mou	2
	Elasticité	Elastique, ne garde pas l'empreinte	0
		Marquée par la pression, empreinte	1
Yeux	Apparence	Transparent, translucide	0
		Manque de brillance, terne	1
	Forme	Convexe	0
		Plat	1
		Concave, creux	2
Branchies	Couleur	Rouge caractéristique	0
		Rouge pale, décolorées	1
		Pale, mat, brun	2
	Odeur	Frais, algues, métallique	0
		Neutre	1
		Légère odeur suspecte	2
Forte odeur suspecte	3		
Viscères	Odeur	Fraiche, acidulée, poisson...	0
		Neutre	1
		Suspecte	2
	Couleur	Beige, rouge, rose, claire	0
		Beige foncé, rouge brun, terne, légère décomposition	1
		Brun, décolorées, décomposées	2
	Coloration verte et aspect	Absente	0
		Légère coloration verte, légère décomposition	1
		Forte coloration verte, forte décomposition	2
Aspect de la chair	Coloration et détérioration	Normale	0
		Se décompose peu, vire au gris...	1
		Forte décomposition, couleur très altérée	2
	Coloration verte et aspect	Absente	0
		Légère coloration verte/jaune, légère décomposition	1
		Forte coloration verte, forte décomposition, taches	2

c)

Critère d'évaluation		Description	Points
Apparence générale	Apparence en surface / peau	Bleu vif, mucus translucide et aqueux	0
		Couleurs moins vives, nuances dorées, mucus peu trouble	1
		Décoloré, terne, nuances dorées sur tout le corps, mucus jaunâtre avec sang	2
	Viscères sortantes	Non sorties	0
		Commencent à sortir	1
		Sorties	2
	Rigidité	Raide et contracté	0
		Tendu, légèrement flexible	1
		Mou, flexible	2
	Elasticité de la chair	Elastique, ne garde pas l'empreinte	0
		Marquée par la pression, empreinte persistante	1
	Dureté abdomen	Ferme	0
Légèrement mou		1	
Elastique, mou		2	
Odeur générale		Fraîche, acidulée, poisson	0
		Neutre	1
		Suspecte	2
Yeux	Apparence	Translucide, noir	0
		Moins brillante, légèrement opaque et rouge	1
		Trouble, opaque, yeux rouges	2
	Forme	Convexe, bombée	0
		Plat	1
		Concave, creux	2
Branchies	Couleur	Rouge foncé (avec sang), mucus translucide	0
		Rouge pale voir brun, mucus plus épais	1
		Décolorées, brun foncé, mucus jaunâtre	2
	Odeur	Frais, algues, iodée, métallique	0
		Neutre, douceâtre	1
		Légère odeur suspecte (poissonneux, fruits pourris...) Forte odeur suspecte (ammoniac, pourriture, rance...)	2 3
Viscères	Péritoine	Bien accroché, non abimé	0
		Légèrement abimé, trous, se décroche peu	1
		Abimé voir absent	2
	Couleur et aspect	Brillante, translucide, claires	0
		Moins brillante, légère décomposition et décoloration	1
		Opaque, couleur altérée, forte décomposition	2
	Coloration verte et aspect	Absente	0
		Légère coloration verte, légère décomposition	1
		Forte coloration verte, forte décomposition	2
Chair	Couleur le long de la colonne	Aucune, couleur normale	0
		Légère coloration, rose	1
		Coloration présente tout le long, rouge	2
	Apparence/texture	Normale	0
		Se décompose légèrement, peu visqueux, peu orange	1
		Se détache, structure lâche, couleur altérée (jaune, orange)	2
	Coloration verte et aspect	Absente	0
		Légère coloration verte, légère décomposition	1
		Forte coloration verte, forte décomposition, taches ?	2

(a) dorade grise, b) rouget barbet, c) maquereau commun)

## Appendice 5

Critère d'évaluation		Description	Points	1	2	3
Apparence générale	Couleur / aspect de la peau	Brillante, couleurs normales (blanc, gris)	0	X	X	
		Terne, pale, jaunâtre	1			X
		Rouge (présence de sang ?)	2			
	Mucus	Clair, transparent	0	X	X	
		Légèrement trouble, opaque, jaunâtre	1			X
	Viscères sortantes	Ne sortent pas	0	X	X	X
		Commencent à sortir	1			
		Sorties	2			
	Elasticité	Elastique, ne garde pas l'empreinte	0	X	X	X
		Marquée par la pression	1			
Odeur générale		Fraiche, odeur marine	0	X		
		Neutre	1		X	X
		Poissonneuse	2			
		Odeur suspecte	3			
Yeux	Clarté	Transparent, translucide	0		X	X
		Légèrement opaque, début coloration rouge	1	X		
		Opaque, couleur rouge (sang)	2			
	Forme	Convexe	0		X	
		Plat	1	X		X
		Concave, creux	2			
Branchies	Couleur	Brillantes, rouge foncé	0			X
		Rouge pale	1	X	X	
		Rouge-brun à brun, décolorées, mucus épais	2			
	Odeur	Frais, algues, acidulée...	0			X
		Neutre	1	X	X	
		Poissonneuse	2			
		Forte odeur suspecte	3			
Viscères	Couleur et aspect	Normale (Gris- beige clair, lisses et brillantes)	0	X	X	X
		Début de décomposition, décoloration (jaune, orange)	1			
		Décomposées, coloration verte	2			
	Odeur	Fraiche, acidulée, oseille...	0	X		X
		Neutre	1		X	
		Suspecte, poissonneuse...	2			
Chair	Couleur et aspect	Transparente, blanche, ferme...	0		X	X
		Couleur légèrement altérée (vire au gris ?), se détache peu	1	X		
		Couleur altérée, aspect décomposé	2			
	Couleur le long de la colonne	Aucune, couleur normale	0	X	X	X
		Légère coloration, rose	1			
		Coloration présente tout le long, rouge	2			
	Coloration verte et aspect	Absente	0	X	X	X
		Légère coloration verte/jaune, légère décomposition	1			
		Forte coloration verte, forte décomposition, taches ?	2			
TOTAL			28	5	4	4





## Résumé

Les écosystèmes côtiers et estuariens sont extrêmement riches d'un point de vue biologique et écologique et abritent des habitats essentiels au maintien et au renouvellement des ressources marines d'intérêt halieutique. Parmi les altérations subies par ces écosystèmes, les proliférations de macroalgues opportunistes sont l'un des signes les plus visibles de l'eutrophisation dans plusieurs régions du monde, et particulièrement dans le nord-ouest de la France. Les processus à l'origine de ces proliférations sont relativement bien identifiés tandis que leurs conséquences écologiques - notamment sur l'ichtyofaune - restent mal connues et peu étudiées. L'objectif de cette thèse est de caractériser les effets des marées vertes sur la fonction d'habitat halieutique essentiel au renouvellement de l'ichtyofaune des zones côtières et estuariennes par une approche multi-échelle.

Les conséquences des marées vertes sur l'ichtyofaune ont tout d'abord été examinées à l'échelle de la communauté. Ensuite, les processus par lesquels cette perturbation affecte l'ichtyofaune ont été étudiés par une approche à l'échelle de l'individu. Cette étude s'est intéressée aux réponses des juvéniles à travers la sélection de l'habitat et la comparaison de leurs performances physiologiques entre un site contrôle et un site impacté. Au travers de ces deux approches, un impact négatif écologiquement significatif des marées vertes sur la qualité des habitats essentiels au renouvellement des ressources d'intérêt halieutique a été mis en évidence. Les conséquences des marées vertes sur l'ichtyofaune sont modulées en fonction de l'intensité et de la nature des blooms de macroalgues ainsi que des caractéristiques des guildes fonctionnelles. Un gradient de sensibilité des espèces aux marées vertes a été souligné, des espèces benthiques aux espèces démersales et pélagiques.

## Abstract

Coastal and estuarine systems are highly productive areas that provide unique biological and ecological services and shelter essential habitats to numerous fisheries resources. Among the perturbations experienced by these ecosystems, proliferations of opportunistic macroalgae, commonly known as 'green tides', are one of the most obvious signs of eutrophication in coastal and estuarine areas, worldwide, and in Northwestern France in particular. The processes underlying macroalgal proliferations are almost identified whereas their ecological consequences - especially for ichthyofauna - remain poorly understood and understudied. The objective of this thesis is to characterise the effects of green tides on the role of coastal and estuarine habitats for ichthyofauna, on both the community and the individual scales.

First, we investigated the consequences of green tides on ichthyofauna on the community scale. Then, we examined the processes which affect the ichthyofauna during green tides, on the individual scale. Marine juvenile fish responses were investigated based on habitat selection and comparison of individual performances between a control and an impacted site. Based on these two complementary approaches, we evidence ecological significant negative effects of green tides on the quality of essential fish habitats. The effects of green tides on ichthyofauna are modulated by the intensity and nature of macroalgal blooms, and are related to the fish habitat use and ecology. A decreasing gradient of sensibility to green tides is emphasised, from benthic to demersal and pelagic species.

**Mots-clés** : Marées vertes ; zones côtières et estuariennes ; nourriceries ; communauté de poissons ; performances individuelles

**Keywords**: Green tides; coastal and estuarine areas; nursery grounds; fish community; individual performances