



HAL
open science

Les populations d'ophiures épigées *Ophiothrix fragilis* et *Ophiocomina nigra* à la pointe de Bretagne : évolution et écologie trophique

Aline Blanchet Blanchet-Aurigny

► To cite this version:

Aline Blanchet Blanchet-Aurigny. Les populations d'ophiures épigées *Ophiothrix fragilis* et *Ophiocomina nigra* à la pointe de Bretagne : évolution et écologie trophique. Biologie animale. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2012. Français. NNT : 2012BRES0041 . tel-00863260

HAL Id: tel-00863260

<https://theses.hal.science/tel-00863260>

Submitted on 18 Sep 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UBO

université de bretagne
occidentale



THÈSE / UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE

sous le sceau de l'Université européenne de Bretagne

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE

Mention : Biologie marine

École Doctorale des Sciences de la Mer

présentée par

Aline Blanchet-Aurigny

Laboratoire Ecologie Benthique/DYNECO/ODE,
Ifremer centre de Bretagne

Les populations d'ophiures épigées *Ophiothrix fragilis* et *Ophiocomina nigra* à la pointe de Bretagne: évolution et écologie trophique

Thèse soutenue le 19 décembre 2012

devant le jury composé de :

Mme Mireille Harmelin-Vivien,

Directeur de recherche CNRS, Marseille

Rapporteur

Mr Chris Parrish,

Professeur, University of Newfoundland, Canada

Rapporteur

Mr Dominique Davout,

Professeur, Université Pierre et Marie Curie

Examinateur

Mr Sébastien Lefebvre,

Professeur, Université de Lille 1

Examinateur

Mr Stanislas Dubois,

Chercheur, IFREMER, Brest

co-encadrant - Examinateur

Mr Fabrice Pernet,

Chercheur, UMR-LEMAR/IFREMER, Brest

co-encadrant - Examinateur

Mme Monique Guillou,

Ingénieur de Recherche, UBO-IUEM, Brest

Directrice de thèse

Mr Philippe Le Niliot,

Chargé de Mission, Parc Naturel Marin d'Iroise

Membre invité





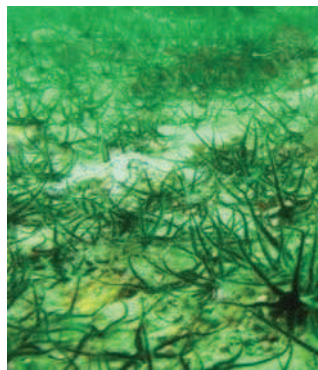
THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE BRETAGNE OCCIDENTALE

Ecole Doctorale des Sciences de la Mer

Présentée par

Aline Blanchet-Aurigny

Pour obtenir le titre de
Docteur de l'université de Bretagne Occidentale
Mention : *Biologie Marine*



Les populations d'ophiures épigées *Ophiothrix fragilis* et *Ophiocomina nigra* à la pointe de Bretagne : évolution et écologie trophique

Soutenu le 19 décembre 2012

Devant le jury composé de :

Mme Mireille Harmelin-Vivien
Directeur de recherche CNRS, Marseille
Mr Chris Parrish
Professeur, University of Newfoundland, Canada
Mr Dominique Davout
Professeur, Université Pierre et Marie Curie
Mr Sébastien Lefebvre
Professeur, Université de Lille 1
Mr Stanislas Dubois
Chercheur, IFREMER, Brest
Mr Fabrice Pernet
Chercheur, UMR-LEMAR/IFREMER, Brest
Mme Monique Guillou
Ingénieur de recherche, UBO-IUEM, Brest
Mr Philippe Le Niliot
Chargé de mission, Parc Naturel Marin d'Iroise

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Président du Jury/Examineur

Co-encadrant/Examineur

Co-encadrant/Examineur

Directrice de Thèse

Membre invité

Cliché gauche (©Yannis Turpin/PNMI)

Cliché droit (©Xavier Caisey/IFREMER)

A Clément et nos deux enfants Gabrielle et Basile,

A ma mère et mes sœurs,



Matelotes berckoises - Le retour des bateaux

"I n'a point pire équ'chét'theue à écorcher"

Lucien Tétu - Glossaire du parler de Berck

à Aurélie...

Remerciements

Il me faut avant tout exprimer ma profonde reconnaissance à Mme Monique Guillou du LEMAR qui a dirigé cette thèse et m'a fait profiter de son immense compétence sur les échinodermes. Monique tu m'as toujours soutenue durant ces trois années et je t'en remercie très sincèrement. J'espère qu'on se croiera sur l'eau quand le soleil Breton pointerà son nez!

Mes remerciements s'adressent également à Messieurs Stanislas Dubois et Fabrice Pernet pour avoir accepté de co-encadrer et d'examiner cette thèse. Merci pour leur participation et de l'intérêt qu'ils ont pu porter à ce travail.

Merci aux membres du comité de thèse et en particulier à Jacques Clavier pour son écoute et ses conseils avisés. Merci également à Christian Hily pour les données si précieuses sur les ophiures de la rade de Brest.

Merci aux rapporteurs de cette thèse Mme Mireille Harmelin-Vivien et Monsieur Chris Parrish qui ont accepté de juger ce travail ainsi qu'à Messieurs Dominique Davoult et Sébastien Lefebvre d'avoir accepté d'être examinateur.

Ce travail n'aurait pu être mené sans l'aide des financeurs de ce projet : l'IFREMER, le Programme National de l'Environnement côtier (PNEC) et le Parc Naturel Marin d'Iroise (PNMI) qui au travers de leur soutien m'ont fait confiance. Merci à l'IFREMER qui m'a permis de réaliser cette thèse dans des conditions de travail privilégiées. Merci à Philippe le Niliot du PNMI pour son soutien au projet CRAPO et aussi d'avoir accepté l'invitation pour faire partie du jury de cette thèse avec enthousiasme. Merci à tous les membres du Parc qui ont participé de près ou de loin à ce projet qui je l'espère va perdurer. Un immense merci aux plongeurs du Parc, Yannis Turpin, Antoine Besnier, Sébastien Bregeon et Florent Goulot devenus spécialistes dans la collecte des ophiures de la mer d'Iroise (même avec des gants de plongée), c'était bien agréable de travailler avec vous dans la joie et la bonne humeur!

Je souhaite remercier chaleureusement toute l'équipe du laboratoire d'Ecologie Benthique avec laquelle je travailledepuis 14 ans déjà !. Je remercie tout spécialement Jean Dominique Gaffet pour son soutien technique indéfectible durant les deux premières années de la thèse et également Xavier Caisey pour avoir assuré la logistique plongées et les plongées en prenant toutes les précautions nécessaires pour ne pas croiser un sous-marin en rade de Brest. J'ai toujours passé de très bons moments avec vous et surtout.... pourvu que ça dure!

Merci à Philippe Cugier et Pierre Le Hir de m'avoir permis de me consacrer exclusivement à mon travail de thèse durant ces trois années. Plus d'excuses désormais pour sécher les réunions de labo!. Merci à Antoine Carlier pour ses compétences dans le domaine de l'isotopie, à Céline Cordier pour la réalisation des cartes, à Jacqueline Quentel et Anne Laure Le Velly pour leur aide dans la mise en forme du manuscrit et enfin à Claire Chevalier pour ses relectures et corrections entre deux déterminations de polychètes.

Un grand merci à toute l'équipe du labo MIC (partie Brestoise) pour le prêt de matériel et pour la glace pilée (...manquait plus que le rhum), aussi à la p'tite équipe du laboratoire BE (partie Brestoise) à Anne-Marie (celle-ci est du finistère SUT que c'est), Francois et Véro pour la p'tite place sous la hotte et les conseils avisés! Deux équipes bien sympathiques! Ah ça je ne l'oublierai pas!

Merci à Pierrick Le Souchu, Nicolas Le Bayon, Philippe Miner pour leurs précieux conseils lors de la conception du dispositif expérimental. Merci à Julie Pernet pour la formation Iatro ainsi qu'à Marine Miguet pour avoir continué les analyses sur les classes de lipides, à Christian Tartu pour les analyses de Chloro, Jean Marie Munaron pour ses conseils dans la préparation des échantillons isotopiques et Nicolas Gayet pour les photos au MEB.

Merci à Pierre Boudry et Charlotte Corporeau du laboratoire PFOM de m'avoir permis de réaliser une partie des analyses dans le laboratoire (désolée pour le bruit occasionné par le super broyeur!). Un grand merci à Jean-Yves Daniel pour la logistique azote liquide et tout particulièrement à Claudie Quéré pour son aide précieuse, ses compétences en analyse sur les lipides, sa disponibilité, de même que pour sa sympathie et son écoute. Au plaisir de retravailler avec toi Claudie!

Merci aux deux étudiants de Master, Edouard Le Goaster (M2) et François Dérian (M1) que j'ai eu l'occasion de co-encadrer avec Monique et qui ont contribué à ce travail de thèse. J'ai beaucoup apprécié de travailler avec vous en mer et sur terre.

C'est aussi vers mes amis de l'Ifremer et d'ailleurs que se tourne ma gratitude, un grand merci tout particulièrement à Véronique Loizeau (son anniversaire c'est le 31 janvier!, si par mégarde vous oubliez vous pouvez vous rattraper en lui souhaitant sa fête... le 4 février enfin bon vous prenez des risques malgré tout), Michèle Gourmelon (celle qui rame plus vite que son ombre et parfois qui court aussi avec un petit boulet (moi), ah Michèle! les sandwiches provençaux de chez Lelanne qui tiennent avec des élastiques... que du bonheur!), Emina Mamaca (celle ci est toujours chic que c'est !, çok teşekkür ederim pour les cafés Emina!), Dominique Hervio-Heath (The spécialiste du vibrio et du crumble!), Laure Pecquerie (Laurette ou Dib Dib Bridgewater), Annie Chapelle (quand tu veux pour une balade à vélo), Heidi Pethybridge, Julie Deshayes (hop hop hop pour l'Afrique du Sud...). Je vous salue les filles avant tout pour votre soutien moral qui a été plus que nécessaire durant ces trois années et tout spécialement dans les moments les plus douloureux.

Et puis à Manue, Jeanne et Alice, Anne Sophie y pequena Clarisse. Manue et Anne Sophie, je ne vous remercierai jamais assez! obrigada geej kotifzoit tyupisotrnes kaïa! A très bientôt à Cazaux-Débat. Manue tu pourras continuer ta série "photos artistiques" comme à Brignogan avec le même appareil, Anne Sophie j'suis sûre qu'on trouvera des gens qui penseront que tu es Kylie Minogue! beijinhos beijinhos.

vive Maboula, à bas les Chauviny-Bonis !

Merci à Nathanaèle (quand tu veux pour une p'tite bière pour se rappeler les bons souvenirs), Alex (Tita), Hélène (LN), Virginie, Marie (d'Australie) et Marie (de Brest),

Angélique (Gegel merci de ton accueil sur le Mont St-Clair de Sète), Touria (merci pour C'chocolats réconfortants pendant la rédaction), Ingrid, Mathilde, Chantal, Anne Godfroy (qui m'a supportée la première quand j'étais bébé à l'Ifremer), puis Joëlle Galéron (qui m'a supportée quand j'étais ado à l'Ifremer).

Merci à Stef, Séb (celui de Virginie), Pascal (celui de Michèle), Fabrice (celui de Véro), Pascal & Eric (sponsorisés par Ladubay), Marco, Gégé (de Barcelone), François (le Bigouden...du Poujet et bientôt de Brest), Olivier (Sa Sainteté), Philippe (celui qui prend son pied avec Berthe), Fabrice (celui de Manue, chilletteblue2), Mario (Kart vs Wario II), Pierre (celui d'Emina), Marc (celui de Marie), Nico (de Toulon même), Gérard Véron (celui qui gobe les polychètes vivants), Sébastien (📧 ...comme Rochette), Xavier (Le grand Philippon), Klément (Le Goff), Olivier Dugornay.

Merci à Mr XXL de m'avoir conseillé de passer mon bac avant ma thèse, ah ça je n'y avais pas pensé.

Je souhaite vivement remercier mon mari Clément ainsi que nos deux enfants Gabrielle et Basile qui m'ont encouragée et supportée tout au long de cette aventure parfois semée d'embûches. Qu'ils trouvent ici ma profonde reconnaissance et le témoignage de mon amour. Maintenant les vacances c'est tous les quatre! Les enfants merci d'avoir nourri les ophiures avec moi le week-end durant trois mois! grâce à vous elles ont bien mangé (de vrais petits camemberts à cinq bras) et m'ont permis de faire ma première publication!

Clément tu as géré beaucoup de choses pendant ces trois années, je te dois beaucoup et puis t'as de beaux yeux tu sais... et aussi les pouces très verts (TCHIPOUKI).

Enfin, mes remerciements ne peuvent s'achever sans une pensée chaleureuse pour ma mère et mes sœurs. Mamou et Sonia même à distance vous m'avez toujours épaulée, je vous en remercie très sincèrement et j'espère qu'on pourra se réunir plus souvent (en avant Pontivy!).

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE.....	1
1. Contexte général de l'étude.....	1
2. Objectifs de l'étude et questions traitées.....	10
3. Modèles biologiques et sites d'étude.....	12
3.1 Modèles biologiques.....	12
3.1.1 Généralités sur les Ophiures.....	12
3.1.2 <i>Ophiocomina nigra</i> (Abildgaard, in O.F. Müller 1789).....	13
3.1.3 <i>Ophiothrix fragilis</i> (Abildgaard, in O.F. Müller 1789).....	14
3.2 Sites d'étude.....	16
3.2.1 La rade de Brest.....	16
3.2.2 La baie de Douarnenez.....	19
3.2.3 L'anse des Blancs Sablons.....	22
4. Structure du manuscrit.....	23
PARTIE 1 : Variabilité spatio-temporelle des populations d'ophiures <i>Ophiothrix fragilis</i> et <i>Ophiocomina nigra</i> à la pointe de Bretagne.....	25
Chapitre 1. La rade de Brest.....	26
Article I : Changements à long terme de deux populations d'ophiures - Comparaison de 1987 avec 2011.....	26
Résumé.....	27
Article I: Multi-decadal changes in two co-occurring ophiuroid populations.....	29
Abstract.....	30
1. Introduction.....	31
2. Material and Methods.....	32
2.1 Study area.....	32
2.2 Sampling methods.....	32
2.3 Data analysis.....	34
2.4 Seasonality index.....	36
3. Results.....	36
3.1 Distribution and density.....	36
3.2 Biomass.....	38
3.3 Seasonality index (α).....	42
4. Discussion.....	43
4.1 Changes in ophiuroid dominances.....	43
4.2 Ophiuroid success linked with human-induced environmental changes.....	45
4.3 Ecological consequences of changes in ophiuroid densities.....	46
Acknowledgement.....	48
Literature cited.....	48
Chapitre 2 : la baie de Douarnenez.....	53
Article II: Fluctuations des densités d'ophiures <i>Ophiothrix fragilis</i> et <i>Ophiocomina nigra</i> en baie de Douarnenez (Bretagne, France).....	53
Résumé.....	54
Article II: Density fluctuations of the ophiuroids <i>Ophiothrix fragilis</i> and <i>Ophiocomina nigra</i> in the Bay of Douarnenez, Brittany, France.....	56
Abstract.....	57
1. Introduction.....	58
2. Materials and methods.....	58
2.1 Bay of Douarnenez.....	58

2.2 Sampling.....	59
2.2.1 Surveys in the 1980s: dredging and video.....	59
2.2.2 Surveys in 2008 and 2011.....	60
2.3 Density evolution.....	61
3. Results.....	61
3.1 Historical data.....	61
3.2. Current surveys.....	61
4. Discussion.....	62
Acknowledgements.....	66
Literature cited.....	66
PARTIE 2 Ecologie trophique.....	68
Chapitre 1. Concepts théoriques et méthodologiques.....	69
1. La matière organique particulaire dans les écosystèmes marins côtiers.....	69
1.1 La matière organique particulaire marine (MOPs).....	70
1.2 La matière organique particulaire terrestre (MOT).....	70
1.3 Les macroalgues marines.....	71
1.4 La matière organique sédimentée (MOS).....	71
2. Apports des isotopes stables et des acides gras en écologie trophique.....	71
2.1 Isotopes stables du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$).....	71
2.1.1 Principe théorique des isotopes.....	71
2.1.2 Incorporation des isotopes stables du carbone et de l'azote dans les réseaux trophiques.....	73
2.2 Les acides gras.....	78
2.2.1 Généralités.....	78
2.2.2 Les acides gras comme marqueurs trophiques dans le milieu marin.....	79
Chapitre 2 : Estimation des facteurs de discrimination des isotopes stables du carbone ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\Delta\delta^{15}\text{N}$) chez deux ophiures. Effet de l'état reproducteur, de la nourriture et de la composition des tissus.....	81
Résumé.....	82
Article III: Tissue-diet discrimination factors of isotopic ratios ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$) in two brittle star species: Effect of reproductive state, diet and tissue composition.....	83
Abstract.....	84
1. Introduction.....	85
2. Materials and Methods.....	86
2.1 Experimental setup and feeding experiment.....	86
2.2 Sample collection and preparation.....	87
2.3 Tissue Diet Discrimination Factors of whole animal.....	88
2.4 Gonadal measurement.....	89
2.5 Statistical analyses.....	89
3. Results.....	90
3.1 Initial $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$	90
3.2 Gonadal development and weight survey.....	91
3.3 C:N ratios variations in arm tissue.....	93
3.4 Changes in isotopic signatures over feeding experiment.....	94
3.5 Estimates of tissue-diet discrimination factors for ^{13}C and ^{15}N	97
4. Discussion.....	101
4.1 C:N variations in arms.....	101
4.2 Changes in isotopic signatures over feeding experiment.....	102
4.3 Tissue-diet discrimination factors for nitrogen and carbon isotopes of the diet?.....	102

4.4 Linear relationship between tissue diet discrimination factor and isotopic signature.....	104
5. Conclusion.....	105
Acknowledgements.....	106
Literature cited.....	106
Chapitre 3 : Ecologie trophique d'<i>Ophiocomina nigra</i> et <i>Ophiothrix fragilis</i> au sein d'écosystèmes côtiers anthropisés: utilisation des acides gras et des isotopes stables du carbone et de l'azote.....	110
Résumé.....	111
Article IV (in prep): Feeding ecology of two co-occurring ophiurids in anthropogenic coastal systems, derived from fatty acid and stable isotope analyses.....	113
Abstract.....	114
1. Introduction.....	115
2. Materials and Methods.....	116
2.1 Study areas.....	116
2.2 Sample collection.....	117
2.2.1 Food sources.....	118
2.2.2 Ophiurids.....	118
2.3 Stable isotopes analyses.....	118
2.4 Lipid analyses.....	119
2.5 Statistical analyses.....	120
3. Results.....	121
3.1 Stables isotopes of food sources.....	121
3.2 Stable isotopes in Ophiurids.....	122
3.3 Fatty acids in ophiurids.....	125
4. Discussion.....	131
4.1 Trophic relationship between ophiurid species.....	131
4.2 Spatiotemporal variations in stable isotope and fatty acid profiles of ophiurids.....	133
Acknowledgements.....	134
Literature cited.....	134
DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	146
1. Evolution spatio-temporelle des populations d'ophiures à la pointe de Bretagne.....	146
2. Ecologie trophique d'<i>Ophiocomina nigra</i> et <i>Ophiothrix fragilis</i>.....	151
2.1 Approche expérimentale: estimation des facteurs de discrimination ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ et $\Delta\delta^{15}\text{N}$).....	151
2.2 Suivi <i>in situ</i> : approche couplée des isotopes stables et des biomarqueurs d'acides gras.....	155
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	160

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION GENERALE

Figure 1. Carte mondiale des espèces d'échinodermes qui présentent de larges fluctuations de densité (▲▼), de densités croissantes (▲) et de densités décroissantes (▼). D'après Uthicke et al. (2009).....	6
Figure 2. Prolifération de l'étoile de mer <i>Acanthaster planci</i> sur un récif corallien (©Magic Snorkel Conservation).....	6
Figure 3. Prolifération de l'oursin <i>Strongylocentrotus droebachiensis</i> sur fonds rocheux. (source http://other95.blogspot.com).....	6
Figure 4. <i>Ophiocomina nigra</i> (cliché Tristan le Goff).....	14
Figure 5. Banc d' <i>Ophiocomina nigra</i> , bras dressés en position de filtration, en baie de Douarnenez (cliché Yannis Turpin/PNMI).....	15
Figure 6. <i>Ophiothrix fragilis</i> (cliché Yves Gladu).....	15
Figure 7. Banc mixte d' <i>Ophiothrix fragilis</i> et d' <i>Ophiocomina nigra</i> dans l'anse des Blancs Sablons (Bretagne, France) (cliché Xavier Caisey).....	15
Figure 8. Carte de la pointe de Bretagne (Finistère France) et des sites d'étude : Blancs-Sablons, rade de Brest et baie de Douarnenez.....	18
Figure 9. Stations de suivi <i>in-situ</i> . BS :Blancs-Sablons, BB : rade de Brest, Di : fonds de baie de Douarnenez, Do : entrée de baie de Douarnenez	18
Figure 10. Banc mixte d' <i>O. nigra</i> et d' <i>O.fragilis</i> à la station de suivi <i>in-situ</i> en rade de Brest (surface visible de 1/8m ²) (cliché Xavier Caisey/Ifremer).....	19
Figure 11. Echouages d'Ulve (<i>Ulva</i> sp.) (cliché Xavier Caisey/Ifremer).....	20
Figure 12. Banc mixte d' <i>O. nigra</i> et <i>O. fragilis</i> à la station de suivi <i>in-situ</i> à l'entrée de la baie de Douarnenez (Do) (cliché Xavier Caisey/Ifremer).....	22
Figure 13. Banc mixte d' <i>O. nigra</i> et <i>O. fragilis</i> à la station de suivi des blancs sablons (BS).....	23
PARTIE 1: Variabilité spatio-temporelle des populations d'ophiures <i>Ophiothrix fragilis</i> et <i>Ophiocomina nigra</i> à la pointe de Bretagne	25
Article I: Multi-decadal changes in two co-occurring ophiuroid populations.....	26
Figure 1. Location of the 72 sampling stations (black triangles) from the 1987 and 2011 benthic video and grab surveys of the main central basin of the bay of Brest, Brittany (France). Black square: sampling area. Stars: additional stations prospected in 2011 (not included in data analysis). Hatched area: Distribution of slipper limpet <i>Crepidula fornicata</i> in 1995 (modified after Chauvaud, 1998).....	33
Figure 2. Interpolated distributions of <i>Ophiocomina nigra</i> and <i>Ophiothrix fragilis</i> densities distribution in 1987 and 2011 in the study area. Densities were estimated from species- and year-dependent kriged interpolations on a regular grid. Black square: sampling area.....	37
Figure 3. Relationship between mean disc diameter and density (m ⁻²) estimated from 2011 video pictures.....	38
Figure 4. Relationship (model 2) between the ash-free dry mass (AFDM, in mg) and the disc diameter (DD, in mm) of <i>Ophiocomina nigra</i> and <i>Ophiothrix fragilis</i> . Model was fitted from all 2011 data pooled across the study site.....	40
Figure 5. Relationship (model 3) between the biomass (ash-free-dry mass: AFDM, in mg.m ⁻²) and the density (D, ind.m ⁻²) for <i>Ophiocomina nigra</i> and <i>Ophiothrix fragilis</i> . Model was fitted from all 2011 data pooled across study site.....	41
Figure 6. Estimates of total biomass (ash-free-dry mass: AFDM, in tons) issued from species- and year- dependent kriged densities on a regular grid and density vs biomass relationships (model 4) for <i>Ophiocomina nigra</i> and <i>Ophiothrix fragilis</i> in the study area. The boxplots account for the uncertainty associated to the interpolated densities estimations that are summed to estimate the total biomass.....	42
Figure 7. Variations in the seasonality index $\alpha=260-\beta$, where β is the number of days required to obtain half the integrated Chl <i>a</i> biomass assessed over 260 days (from 15 February to 3 November), as calculated in Chauvaud et al. (2000) (from 1977 to 1996) and in the present study (from 1999 to 2011), using data from the Bay of Brest buoy operated by the Service d'Observation en Milieu Littoral (SOMLIT, 2005) since 1997.....	43

Article II: Density fluctuations of the ophiuroids <i>Ophiothrix fragilis</i> and <i>Ophiocomina nigra</i> in the Bay of Douarnenez, Brittany, France.....	53
Figure 1. Interpolated distributions of densities of <i>Ophiocomina nigra</i> and <i>Ophiothrix fragilis</i> 2011 in the Bay of Douarnenez. Densities were estimated from interpolations on a regular grid. The dotted square represents the dredging area.....	62
PARTIE 2: Ecologie trophique	68
Chapitre 1. Concepts théoriques et méthodologiques.....	69
Figure 1. Gamme des signatures isotopiques du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) chez les producteurs primaires et dans la matière organique particulaire (MOP) classiquement rencontrées au sein des écosystèmes marins et d'eaux douces.....	74
Figure 2. Schéma de principe de l'utilisation des isotopes stables du carbone et de l'azote dans l'étude des réseaux trophiques. Le facteur de discrimination (TDDF) estimé pour le carbone est indiqué par une flèche horizontale ($\Delta\delta^{13}\text{C} = +1\text{‰}$), et une flèche verticale pour l'azote ($\Delta\delta^{15}\text{N} = +3.4\text{‰}$).....	75
Figure 3. Voies de synthèse des principaux acides gras chez les végétaux (plantes et algues) et chez les animaux (modifié d'après Kelly & Scheibling 2012 ; Gurr et al. 2002). Les acides gras (en gras) tendent à s'accumuler davantage dans les tissus des animaux. Les flèches horizontales représentent le mécanisme de désaturation, les flèches verticales orientées vers le bas indiquent un mécanisme d'élongation de deux carbones, les flèches orientées vers le haut indiquent un mécanisme de β -oxydation.....	79
Article III: Tissue-diet discrimination factors of isotopic ratios ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$) in two brittle star species: Effect of reproductive state, diet and tissue composition.....	83
Figure 1. Evolution of gonads in <i>O. nigra</i> disks from day 0 to day 92. Digestive gland appears in green or brown and gonads in pink or orange. Note that the increase of gonadal development is visible from day 43 to day.....	92
Figure 2. Mean wet weight (g) (\pm SE) surveys for the two brittle star species for each diet. Black arrows shows spawning events for animal fed with fish and mussel diets. The beginning of the gonadal development is represented by a vertical dotted line.....	93
Figure 3. Mean C:N ratios (\pm SD) in arms for the two brittle star species (black dots: <i>Ophiocomina nigra</i> , white dots: <i>Ophiothrix fragilis</i>) for each diet during the two phases (phase 1: gonadal rest, phase 2: gonadal development). The beginning of the gonadal development is represented by a vertical dotted line.....	94
Figure 4. Mean values (\pm SD) of $\delta^{13}\text{C}$ (A) and $\delta^{15}\text{N}$ (B) for each sampling date in arms and disk tissues for the two brittle star species for all tested diet (fish, mussel, macroalgae).The beginning of the gonadal development is represented by a vertical dotted line. Carbon and nitrogen isotopic values of each diet are represented by horizontal dotted lines.....	96
Figure 5. Mean values (\pm SD) of $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (A) and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ (B) for <i>Ophiocomina nigra</i> (dark bars) and <i>Ophiothrix fragilis</i> (light grey bars), for all tested diet (fish, mussel, macroalgae), and for each tissues (arm, disk) and the whole animal, for the two phases. Number within each black dots indicate the phases (i.e. phase 1: gonadal rest, phase 2: gonadal development). Dotted lines indicate a postulated level of 1.0 ‰ enrichment in $\delta^{13}\text{C}$ (A) and 3.4 ‰ enrichment in $\delta^{15}\text{N}$ (B).....	98
Figure 6. Relationships between Tissue Diet Discrimination Factors (mean \pm SD) and isotopic signatures of diet for carbon (A) and nitrogen (B). Each tissues (diamonds: arms, squares: disk) and whole body (triangles) are represented for <i>Ophiocomina nigra</i> (left panels) and for <i>Ophiothrix fragilis</i> (right panels) for the two phases (i.e. white: gonadal rest, dark grey: gonadal development)...	100
Article IV (in prep): Feeding ecology of two co-occurring ophiurids in anthropogenic coastal systems, derived from fatty acid and stable isotope analyses.....	113
Figure 1. Map of the sampling sites. Both ophiurids (<i>Ophiocomina nigra</i> and <i>Ophiothrix fragilis</i>) and the food sources: suspended organic matter (SPOM); sedimented organic matter (SOM) and macroalgae were collected at four sites (black circles): two sites in the Bay of Douarnenez (Di: inshore; Do: offshore), one in the Bay of Brest (BB) and one in the site of Blanc-Sablons (BS). The terrestrial organic matter (TOM) was collected from freshwaters at the "Elorn" and the "Ris" rivers (white circles).....	117
Figure 2. Biplot of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ (mean \pm sd) in <i>Ophiocomina nigra</i> (black symbols) and <i>Ophiothrix fragilis</i> (white symbols) by sampling sites (BB: triangle, BS: diamond, Di: circle, Do: square).	

Abbreviations BB: Bay of Brest; BS: Blanc-Sablons; Di: Bay of Douarnenez in-shore; Do: Bay of Douarnenez off-shore.....	124
Figure 3. Biplots of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in both ophiurids (<i>Ophiocomina nigra</i> and <i>Ophiothrix fragilis</i>) tissues (whole animal) and food sources (SPOM, SOM, <i>Ulva</i> sp) by sites (Di, Do, BB and BS) and sampling dates. The food sources were corrected for published fraction values: SPOM and SOM: $\Delta\delta^{13}\text{C} = +2\text{‰}$; $\Delta\delta^{15}\text{N} = +3.6\text{‰}$ (Dubois et al. 2007); <i>Ulva</i> sp $\Delta\delta^{13}\text{C} = - 2.35\text{‰}$; $\Delta\delta^{15}\text{N} = +3.4\text{‰}$ (Blanchet-Aurigny et al. 2012b). The values of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ of <i>O. fragilis</i> were normalized with respect to these of <i>O. nigra</i> by adding, +0.8 and +0.5‰ to the original values respectively for ^{13}C and ^{15}N according to Blanchet-Aurigny et al. (2012)b. Abbreviations BB: Bay of Brest; BS: Blanc-Sablons; Di: Bay of Douarnenez in-shore; Do: Bay of Douarnenez off-shore; SPOM: suspended organic matter, SOM: sedimented organic matter).....	126
Figure 4. A: Biplot of the first and second principal components (PC) derived from Fatty acids of <i>Ophiocomina nigra</i> (symbol with black spot inside) and <i>Ophiothrix fragilis</i> (without black spot) by sampling date (color symbol) and sites (Do, Di, BB, BS). Ellipses around samples indicate hierarchical clustering (using a Bray-Curtis similarity matrix (80%). B: Correlation circle of dependent variables. Major fatty acids are indicated in bold (mean level > 10%). Abbreviations: Do: off-shore Bay of Douarnenez Di: in-shore Bay of Douarnenez; BB: Bay of Brest; BS: Blanc-Sablons)	127
Figure 5. Temporal variation in fatty acids used as trophic markers in <i>Ophiocomina nigra</i> (black symbols) and <i>Ophiothrix fragilis</i> (white symbols) by sampling sites (BB: triangle, BS: diamond, Di: circle, Do: square) and exposure (IN and OUT). A, B: Diatom markers (16:1n-7/16:0 and 20:5n-3/22:6n-3); C: PUFA/SFA; D: terrestrial and/or green macroalgae marker (Sum of 18:2n-6 and 18:3n-3); E: bacterial marker (Sum of iso and anteiso branched chain fatty acid); F: carnivory index (18:1n-9/18:1n-7). Abbreviations BB: Bay of Brest; BS: Blancs Sablons; DI: Bay of Douarnenez in-shore; Do: Bay of Douarnenez off-shore.....	129
Figure 6. Relationship between 18:1n-9/18:1n-7 ratio (log transformed) and $\delta^{15}\text{N}$ in both <i>Ophiocomina nigra</i> (black spots within dots) and <i>Ophiothrix fragilis</i> (without black spots) by sampling date (colors) and site (symbols). Abbreviations: Do: off-shore Bay of Douarnenez Di: in-shore Bay of Douarnenez; BB: Bay of Brest; BS: Blancs Sablons).....	130
DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES	
Figure 1. Schéma synthétique du mécanisme et des conséquences de la prolifération d' <i>Ophiocomina nigra</i> en rade de Brest.....	148
Figure 2. Relation taille-densité observée chez <i>Ophiocomina nigra</i>	149

LISTE DES TABLEAUX

PARTIE 1: Variabilité spatio-temporelle des populations d’ophiures <i>Ophiothrix fragilis</i> et <i>Ophiocomina nigra</i> à la pointe de Bretagne	25
Article I: Multi-decadal changes in two co-occurring ophiuroid populations.....	29
Table 1. Estimated parameters of the relationships between individual diameter (<i>diam</i>), station densities (<i>dens</i>) or individual ash-free dry mass (<i>Mass</i>) of Eqs. (1-3).....	39
Article II: Density fluctuations of the ophiuroids <i>Ophiothrix fragilis</i> and <i>Ophiocomina nigra</i> in the Bay of Douarnenez, Brittany, France.....	53
Table 1. Characteristics of the samplings (dredging) in the reference area in 1980’s and 2008 and 2011.....	63
Table 2. Mean ophiuroid densities in the reference area in 1980’s and in 2008 and 2011 (ind. 100 m ⁻² ; data from dredging and video).....	64
PARTIE 2: Ecologie trophique	68
Chapitre 1. Concepts théoriques et méthodologiques.....	69
Tableau 1. Marqueurs d’acides gras couramment utilisés dans les études trophiques dans les écosystèmes marins.....	80
Article III: Tissue-diet discrimination factors of isotopic ratios ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$) in two brittle star species: Effect of reproductive state, diet and tissue composition.....	83
Table 1. Means (\pm SD) of % C, % N, carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotope ratios, C:N ratios values for each diet and each brittle star species before the experiment started. For $\delta^{13}\text{C}$ analysis, all tissues were acid treated and lipids were removed from disk tissue.....	91
Table 2. Evolution of the mean (\pm SE) percentage of gonadal development in <i>O. nigra</i> based on image processing (color extraction) analysis during feeding experiment for each diet.....	92
Table 3. One-way ANOVA between isotopic values from the last three samples dates for the phase 1 (days 22, 29, 36) and for the phase 2 (days 64, 78, 92); * show significant P value with $\alpha < 0.05$; n = 4 in each group of sampling date.....	95
Table 4. Estimates of relative weight (\pm SD) of arms and disk for the two brittle star species, for the two phases (phase 1: gonadal rest and phase 2: gonadal development).....	97
Table 5. Summary of the three-way split-split-plot ANOVA on the effect of treatment, which include all 2 \times 2 combinations of diets (mussel and macroalgae) and species (<i>O. fragilis</i> and <i>O. nigra</i>), tissues (arms, disk), phase (rest and maturation) and all their mutual interactions on $\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ values. Significant probabilities are in bold.....	99
Table 6. Summary of the three-way split-split-plot ANOVA on the effect of diet (fish, mussel, macroalgae), tissues (arms, disk), phase (rest and maturation) and all their mutual interactions on $\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ values for the species <i>Ophiocomina nigra</i> . Significant probabilities are in bold.....	99
Article IV (in prep): Feeding ecology of two co-occurring ophiurids in anthropogenic coastal systems, derived from fatty acid and stable isotope analyses.....	113
Table 1. Values of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in tissues of consumers (<i>Ophiocomina nigra</i> and <i>Ophiothrix fragilis</i>) and their putative food sources (SPOM: suspended particulate organic matter, SOM: sedimented organic matter, TOM: terrestrial organic matter, and <i>Ulva</i> sp.) at four locations: the Bay of Brest (BB), the inshore zone of the Bay of Douarnenez (Di), the offshore zones of the Blancs-Sablons (BS) and the Bay of Douarnenez (Do), between June 2010 and April 2011. Values are means \pm SD (n=3).....	123
Table 2. Design of the factorial three-way repeated measure ANOVA on the effect of location (area [inshore vs. offshore] and latitude [North vs. South]), species (<i>Ophiotrix fragilis</i> vs <i>Ophiocomina nigra</i>), and date of sampling on stable isotope and fatty acid analyses of ophiurids.....	124

Appendix 1. Major fatty acids (at least 0.5% of the neutral lipids) for each species (*Ophiothrix fragilis* and *Ophiocomina nigra*), by sampling date and sites (Do, Di, BB, BS). Abbreviations BB: Bay of Brest; BS: Blancs Sablons; DI: Bay of Douarnenez in-shore; Do: Bay of Douarnenez off-shore..... 138

INTRODUCTION GENERALE

1. Contexte général de l'étude

Situés à l'interface entre le continent et l'océan, les écosystèmes marins côtiers constituent des milieux très vulnérables et sont soumis à de multiples pressions d'origine anthropique croissantes qui ont pour conséquences la modification des habitats benthiques, la dégradation de la qualité des eaux, la surexploitation des ressources marines de même que la prolifération d'espèces. Le suivi à long terme de la diversité et de la structure des communautés benthiques permet d'une part d'évaluer les modifications intervenant au sein des communautés et plus largement dans l'ensemble des écosystèmes et d'autre part d'en identifier les causes. En effet les organismes benthiques ont la capacité d'intégrer les variations du milieu dans l'espace et le temps et ainsi de rendre compte de l'impact d'une perturbation, pour cela ils sont régulièrement utilisés comme indicateurs biologiques (Pearson & Rosenberg 1978; Glémarec & Hily 1981; Gray & Pearson 1982; Grall & Glémarec 1997). L'augmentation des apports nutritifs d'origine continentale dans les écosystèmes côtiers peut dans certains cas se traduire par la prolifération épisodique ou non d'une espèce particulièrement adaptée à l'enrichissement du milieu. En regard des conséquences induites sur le fonctionnement des écosystèmes marins, ces proliférations font l'objet de préoccupations majeures depuis plusieurs décennies. Si beaucoup d'études se sont focalisées sur les espèces dites exotiques, peu de travaux concernent les causes et les conséquences de la prolifération d'espèces dites indigènes, ce phénomène n'en reste pas moins important.

La capacité d'une espèce à s'établir, se disperser et dans un cas extrême à proliférer au sein d'un écosystème résulte de la combinaison entre les « traits d'histoire de vie » de l'espèce et les conditions biotiques et abiotiques du milieu (Martel et al. 2004; Bremner et al. 2006). Les traits d'histoire de vie d'une espèce se subdivisent en deux catégories (1) les traits biologiques rassemblent les descripteurs du cycle de vie (potentiel reproducteur, vie larvaire, vitesse de croissance, longévité, migrations ontogéniques), de la morphologie, de la physiologie, du comportement, du mode de nutrition et des potentialités de résistance, de résilience et de persistance du taxon dans son habitat (2) les traits écologiques rassemblent les préférences ou le degré de tolérance du taxon vis-à-vis des conditions environnementales en terme de nourriture et d'espace (compétition), vis-à-vis des conditions physicochimiques et climatiques et de la fréquence des perturbations du milieu (Usseglio-Polatera et al. 1999; Archambault 2003).

En dépit des nombreuses controverses sur la portée des termes « espèce proliférantes » et « espèces invasives », de nombreux auteurs les distinguent selon leur origine, c'est-à-dire selon la localisation par rapport à l'aire de répartition naturelle ou l'aire de répartition potentielle et selon la nature des conséquences induites au sein de l'écosystème (écologique, économique et sanitaire).

- Les espèces dites «invasives»

Selon Charles Elton (1958), la notion d'«invasion biologique» désigne la prolifération d'espèces animales ou végétales, généralement exotiques (allochtones, non-indigènes), introduites accidentellement ou volontairement dans un nouvel écosystème et qui étendent leur aire de répartition (Elton 1958; Williamson 1996). Il existe une discontinuité géographique entre l'aire d'origine et celle nouvellement colonisée. Le schéma général du processus d'invasion biologique suit une séquence d'introduction, d'acclimatation, de naturalisation et d'invasion (Richardson et al. 2000). Les conséquences d'une invasion biologique sont d'ordre écologique lorsque l'espèce occupe les niches écologiques des espèces autochtones, d'ordre économique lorsqu'il y a interaction au niveau des biens et des services écosystémiques et/ou d'ordre sanitaire lorsqu'il y a effet sur la santé humaine (Boudouresque & Verlaque 2002). Les habitats côtiers et estuariens sont considérés comme étant les plus impactés par les invasions biologiques (Paavola et al. 2005) qui parfois génèrent des effets "en cascades" néfastes dans le milieu sur plusieurs niveaux trophiques (Grosholz 2002). En 1992, la déclaration de Rio dénonce les invasions biologiques comme la seconde cause de perte de la biodiversité après la destruction des habitats (Vitousek et al. 1997).

Parmi les innombrables invertébrés marins introduits recensés dans le monde (> 4000 espèces), l'exemple le plus concret d'invasion biologique en milieu marin concerne le mollusque gastéropode *Crepidula fornicata* qui fut introduit des Etats-Unis vers les côtes Européennes dans les années 70 via l'importation de l'huitre creuse *Crassostrea gigas* (Blanchard 1997). L'espèce colonise et modifie les fonds de nombreux écosystèmes hôtes du littoral de l'ouest de la France (e.g. rade de Brest, baie de St Brieuc, baie du Mont St Michel) de manière considérable et constitue une atteinte forte pour de nombreuses espèces autochtones, entre autres des espèces d'intérêt commercial (poissons plats et bivalves), en réduisant leur habitat (Kostecki et al. 2011; Chauvaud et al. 2003), de même qu'en agissant en tant que compétiteur vis-à-vis de la nourriture (Cugier et al. 2010). Le succès de l'espèce est

avant tout lié à son mode de reproduction, son mode de vie larvaire, sa grande diversité génétique et son absence de prédateur (Viard 2010). Parmi les invertébrés marins à caractères invasifs on peut citer également le crabe vert *Carcinus maenas*, espèce très vorace, originaire d'Europe qui fut introduite probablement par les eaux de ballast aux Etats-Unis (Grosholz & Ruiz 1995). Les espèces végétales invasives peuvent également provoquer des changements drastiques des écosystèmes hôtes. Ainsi l'espèce *Caulerpa cylindracea* (macroalgue chlorophyce) originaire d'Australie a été introduite accidentellement en Méditerranée et a connu une expansion géographique sans précédent jusqu'à la colonisation complète de la Méditerranée (Klein & Verlaque 2008). Les conséquences se sont traduites par la diminution de l'abondance et de la diversité spécifique de même que par une modification de la composition faunistique indigène (Klein 2007; Klein & Verlaque 2008 dans Klein 2011) et par la dégradation de la qualité du sédiment (Holmer et al. 2009).

- Les espèces dites « proliférantes »

La notion d'espèce proliférante désigne une espèce indigène (autochtone ou native) qui présente une augmentation significative de la biomasse de sa population au sein d'un écosystème où sa croissance excède les processus de perte et qui étend progressivement sa distribution dans son aire de répartition naturelle. Bien qu'il soit parfois difficile de quantifier l'implication ou non de l'homme dans les processus d'expansion d'une espèce, la prolifération d'espèces indigènes dans les milieux aquatiques est liée à deux types de facteurs 1) la modification de certains paramètres environnementaux directement ou indirectement liés aux activités anthropiques 2) l'adaptabilité de l'espèce à ces modifications (Dutartre et al. 1997; Carstensen et al. 2007). Les cas de proliférations d'espèces indigènes recensés sont bien inférieurs à ceux des espèces non indigènes. En règle générale, les proliférations les plus courantes concernent les espèces à cycle de vie court telles que les micro- et macro-algues et le zooplancton. Parmi les macro-algues autochtones, diverses espèces génèrent localement des proliférations en milieu côtier. Les exemples empruntés à la littérature font état d'algues brunes (Paalme et al. 2002), rouges et particulièrement d'algues vertes dont les genres *Ulva*, *Enteromorpha* et *Cladophora* (Auby et al. 1994). En raison de l'intensification des activités anthropiques, l'augmentation des flux de nutriments dans les zones côtières a engendré des épisodes chroniques de plus en plus fréquents de bloom d'*Ulva* sp qui ont généré des échouages massifs sur les plages également appelés "marées vertes" (Merceron et al. 2007; Gao et al. 2010). Ces phénomènes sont une des conséquences majeures de l'eutrophisation

dans de nombreuses baies de l'hexagone tout particulièrement en Bretagne (baie de St Brieuc, baie de Douarnenez). De tels phénomènes ont des conséquences d'ordre écologique dans le fonctionnement des réseaux trophiques (Catenazzi & Donnelly 2007; Bolam et al. 2000), mais également d'ordre économique vis à vis du tourisme et du coût des ramassages sur les plages (Brenaut et al. 2004) voire sanitaire en raison de la toxicité engendrée lors des processus de dégradation des thalles (Nelson et al. 2003).

L'enrichissement en matière organique des écosystèmes benthiques a également favorisé l'apparition et la progression d'organismes benthiques opportunistes tels que l'annélide *Pygospio elegans* (polychète spionidé) (Morgan 1997). Un autre exemple est celui de la population du Lanice *Lanice conchilega* (polychète tubicole térébellidé) en baie des Veys (baie de Seine Occidentale) qui s'est étendue de près de 20% en l'espace de 3 ans (Ropert & Dauvin 2000). Dans ce secteur, les agrégats denses de tubes de Lanice sont strictement associés aux concessions conchylicoles au sein desquelles l'espèce semble profiter des conditions trophiques du milieu (biodépôts issu des biomasses ostréicoles, microphytobenthos, phytoplancton). La prolifération des Lanices s'accompagne d'une élévation du substrat due à l'accélération des processus sédimentaires ce qui a pour effet de rendre plus difficile les conditions d'exploitation des parcs ostréicoles (Ropert 1999). Si les proliférations d'espèces indigènes sont signalées dans la plupart des phylums animaux ou végétaux, les cas les plus spectaculaires ont été décrits chez les échinodermes.

- Les échinodermes: *un «boom - bust phylum»*

Chez les échinodermes, plusieurs espèces indigènes (très rarement exotiques) présentent d'importantes fluctuations de densités qui se manifestent sur des périodes de temps variables. Ces fluctuations de densités se traduisent soit par des phénomènes de prolifération remarquables « outbreak », soit dans le cas contraire par des phénomènes d'extinction « die-off » (Uthicke et al. 2009) (Fig. 1). Les échinodermes sont ainsi qualifiés de « boom and bust phylum », 'explosion' et 'régression' constituent de ce fait une caractéristique originale propre à cet embranchement (Uthicke et al. 2009).

Les principales hypothèses avancées pour expliquer la capacité de certains échinodermes à générer de telles fluctuations se situent sur deux plans. Ainsi les fluctuations naturelles concernent (1) d'une part la variabilité des taux de fécondation corrélée aux niveaux de densité des individus adultes en lien avec les ressources trophiques disponibles pour les adultes (Lauzon-Guay & Scheibling 2007; Wahle & Peckham 1999; Babcock et al.

1994) (2) d'autre part le développement larvaire de type planctotrophique (Uthicke et al. 2009) (3) et enfin la capacité d'adaptation des espèces à des modifications environnementales (Menge 1982) et, pour certaines espèces, leur aptitude à s'agréger (Guillou 1996). Le second ordre est directement ou indirectement lié à l'homme et attribuerait donc en partie les fluctuations observées à des perturbations d'origine anthropique comme la surpêche de prédateurs/compétiteurs (Jackson et al. 2001; Worm et al. 2005), les maladies (Scheibling & Hennigar 1997), les fluctuations de nourriture (Brodie et al. 2005) et le climat notamment à travers une augmentation des flux d'eau continentale riches en nutriments (Birkeland 1982; Glynn 1985; Fabricius 2006).

Les échinodermes qui ont proliféré de façon spectaculaire dans les différentes régions du globe appartiennent principalement aux classes des étoiles de mer et des oursins et dans une moindre mesure à celles des holothuries et des ophiures (Uthicke et al. 2009). Parmi les cas exemplaires de proliférations l'étoile prédatrice de coraux, *Acanthaster planci*, a très sévèrement impacté les récifs coralliens en réduisant drastiquement la diversité spécifique associée à ces récifs (Leray et al. 2012) (Fig. 2). Les raisons évoquées pour expliquer un tel phénomène ont été largement débattues, néanmoins il semble que l'augmentation de la biomasse phytoplanctonique en lien direct avec l'eutrophisation ait favorisé le développement des larves d'*A. planci*. De plus, la surpêche des prédateurs de juvéniles d'*A. planci* semble également bien admise (Fabricius et al. 2010). L'autre exemple concerne les oursins du genre *Strongylocentrotus* dont la surpêche des prédateurs a engendré des phénomènes de cascades trophiques menant à une prolifération d'oursins et à un déclin total de la couverture algale dressée sur les fonds rocheux, conséquence ultime du surpâturage des oursins (Fig. 3) (Mann & Breen 1972 ; Wharton & Mann 1981). De façon moins spectaculaire et sans parler de phénomènes « d'outbreak » certaines ophiures ont vu leur population augmenter significativement.

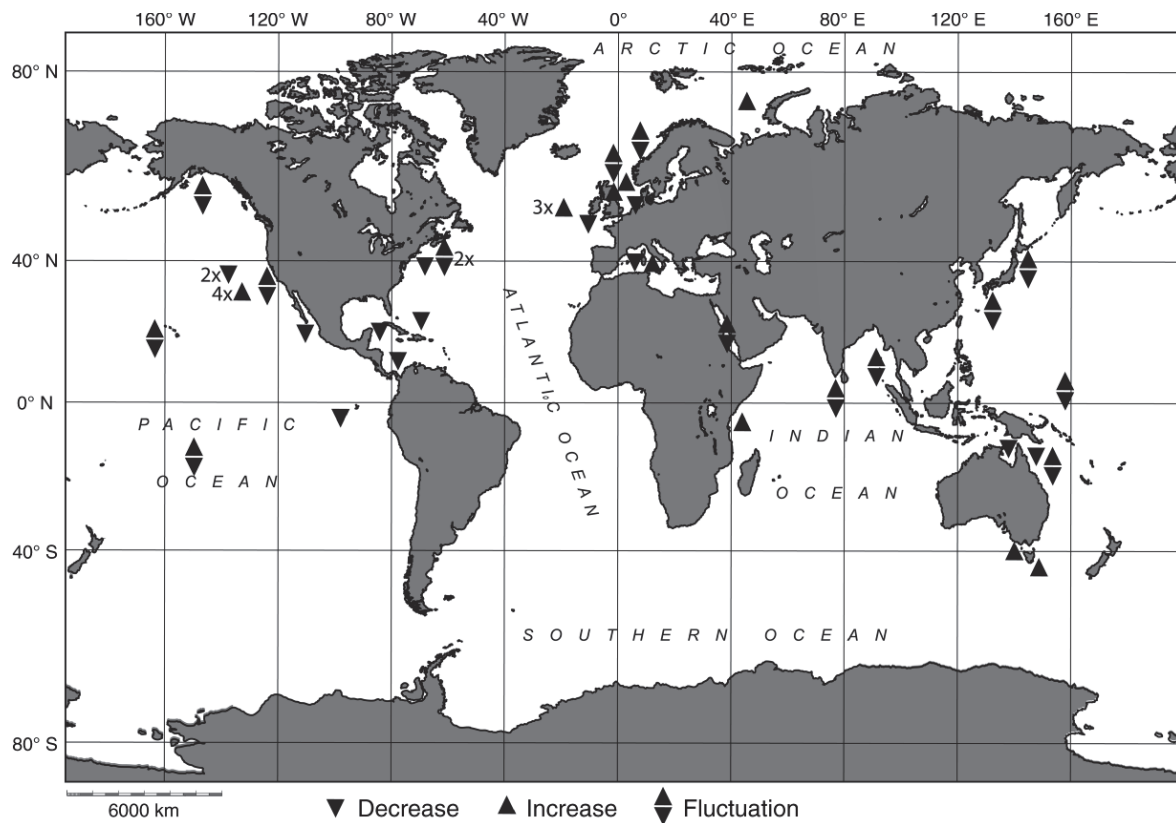


Figure 1. Carte mondiale des espèces d'échinodermes qui présentent de larges fluctuations de densité (▲▼), de densités croissantes (▲) et de densités décroissantes (▼). D'après Uthicke et al. (2009)



Figure 2. Prolifération de l'étoile de mer *Acanthaster planci* sur un récif corallien (©Magic Snorkel Conservation)

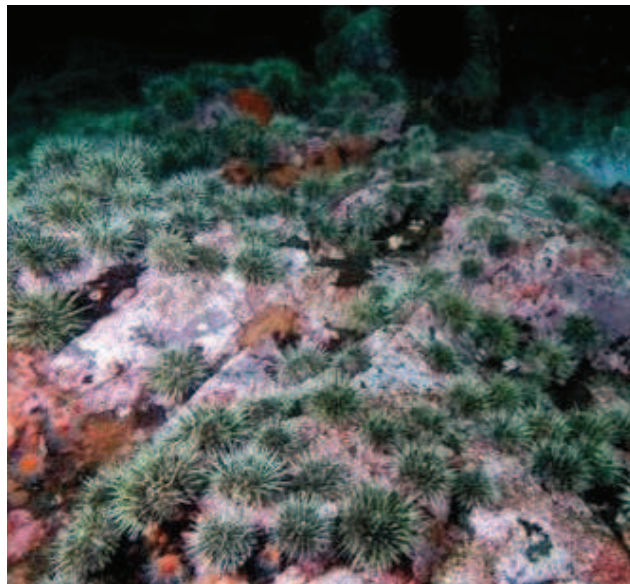


Figure 3. Prolifération de l'oursin *Strongylocentrotus droebachiensis* sur fonds rocheux. (source <http://other95.blogspot.com>)

- Les ophiures littorales : *espèces en voie de prolifération?*

En dépit d'une relative stabilité des populations d'ophiures sur le long terme (Allen 1998; Hily 1991), certaines espèces d'ophiures, notamment filtreuses, ont vu leur densité s'accroître localement dans les eaux côtières d'Europe. Ces augmentations ont été mises en relation avec une augmentation de la charge en matière organique dans les écosystèmes (Raymont 1950; Harmelin et al. 1981; Rosenberg et al. 1987). Les suivis à long terme des populations d'*Amphiura filiformis* en mer du Nord réalisés par Pearson et al. (1985) entre les années 1910 et 1970 et par Duineveld et al. (1987) entre les années 1930 et 1950 ont permis d'établir un lien direct entre l'augmentation de biomasse et de densité de la population d'*A. filiformis* et l'eutrophisation ainsi qu'un lien indirect avec la surpêche des poissons plats prédateurs d'ophiures (Josefson et al. 1993). L'ophiure *Amphiura chiajei* a vu également sa population augmenter parallèlement à l'eutrophisation du milieu (Pearson et al. 1986). Plus récemment en baie de Seine la densité d'*Ophiothrix fragilis* a atteint des niveaux extrêmes de biomasses que Dauvin et Ruellet (2008) se basant sur Fulton et al. (2004) considèrent comme les plus hauts mesurés en Europe. Ils relient ces fortes valeurs à la production de particules nutritives des eaux de la baie.

En Méditerranée, Hereu et al. (2003) ont également fait état dans le parc national de Port-Cros d'une augmentation entre 1982 et 2003 de la densité d'une espèce peu étudiée, l'ophiure noire *Ophiocomina nigra* (Abildgaard). De fortes concentrations de cette espèce ont également été observées au voisinage du rejet de la station d'épuration du cap Sicié (source S.I.A.T) ainsi qu'à l'entrée du port d'Alger (Allain et al. 1978). Dans ces différents cas, ces concentrations ont pu être mises en relation avec l'augmentation de la charge en matière organique du milieu. Durant la dernière décennie, des études benthiques réalisées à la pointe de Bretagne ont montré une augmentation très importante de la distribution spatiale de l'ophiure noire *O. nigra*, soit sous la forme de bancs mono-spécifiques, soit en cohabitation avec *Ophiothrix fragilis*. Si ces deux espèces sont très communes des écosystèmes benthiques marins côtiers de Bretagne (Toulemont 1972; Guillou 1990, Hily 1991; Raffin 2003), les niveaux de densités d'*O. nigra* enregistrés en 2003 en baie de Douarnenez (Blanchet et al. 2004; Augris et al. 2005) puis en 2007 en rade de Brest et en baie de Camaret (Réseau de Surveillance Benthique) ont retenu toute notre attention d'autant qu'une telle expansion d'*O. nigra* n'avait jamais été enregistrée auparavant dans ce secteur géographique. La question du lien entre ces proliférations et la ressource trophique présente s'est alors posée.

- Ophiures et apports trophiques

La rade de Brest et la baie de Douarnenez représentent des entités géographiques réduites comparées aux écosystèmes marins connectés aux grands fleuves côtiers. Toutefois, leur importance n'en est pas moins grande car elles présentent une biodiversité exceptionnelle en termes d'habitats, de flore et de faune malgré les multiples perturbations d'origine naturelle et anthropique auxquelles elles sont soumises. Les bancs d'*Ophiocomina nigra* et d'*Ophiothrix fragilis* qui s'y développent semblent dominer certaines communautés benthiques épigées au sein de ces systèmes qu'il convient aujourd'hui de mieux comprendre. La connaissance des liens entre les ophiures et différentes sources trophiques au sein des systèmes qui les hébergent constitue une étape clé dans la compréhension du processus d'expansion des espèces, particulièrement celui d'*Ophiocomina nigra*.

Les écosystèmes marins côtiers sont le réceptacle de la matière organique (fraîche et détritique) dérivée d'une production primaire autochtone très diversifiée (herbier, phytoplancton, macroalgues, microphytobenthos) mais aussi de matériel organique terrigène délivré par les apports d'eaux douces. Cette diversité de sources de matière organique s'accompagne d'une variabilité spatio-temporelle (Canuel et al. 1995) en lien avec les caractéristiques biotiques et abiotiques des écosystèmes, autant de facteurs qui les rendent complexes du point de vue trophique. Si le phytoplancton semble constituer une base essentielle dans le régime alimentaire d'*Ophiothrix fragilis* (Warner 1982; Davoult & Gounin, 1995), la nature exacte des particules ingérées et assimilées par *Ophiocomina nigra* reste encore peu connue. Caractériser le régime alimentaire des organismes en environnement marin n'est pas chose aisée tant l'observation *in situ* du comportement alimentaire des espèces est difficile. Enfin, caractériser le régime alimentaire des organismes benthiques s'avère être un véritable challenge car les consommateurs sont souvent de petite taille et nombreux sont ceux qui présentent une plasticité trophique importante. Pour ces raisons l'utilisation des marqueurs trophiques présente un intérêt certain particulièrement pour des espèces relativement sédentaires.

- Les traceurs utilisés en écologie trophique: *les isotopes stables et les marqueurs d'acides gras*

Les traceurs trophiques dans les tissus des organismes permettent d'apporter des informations sur le régime alimentaire des consommateurs et sur leurs interactions avec d'autres compartiments biologiques de l'écosystème. Les isotopes stables du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et

de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$) ainsi que les marqueurs d'acides gras constituent de bons traceurs trophiques des organismes car ils reflètent *a priori* les préférences alimentaires, la zone d'alimentation, et/ou encore le niveau trophique des consommateurs. L'approche couplée isotopes stables-acides gras est de plus en plus utilisée en écologie trophique car elle met en œuvre deux outils complémentaires et permet d'identifier de manière plus précise les flux de matières entre les organismes et leur environnement (Kharlamenko et al. 2001; Alfaro et al. 2006 ; Stowasser et al. 2009).

D'une façon générale l'approche isotopique permet de distinguer l'origine de la matière organique soutenant les réseaux trophiques dans un écosystème (Peterson 1999). Par exemple en milieu estuarien où les sources de matière organique sont bien discriminées elle permet de distinguer une source d'origine continentale d'une source océanique (Fry & Sherr 1984; Fry 1999; Riera & Richard 1996). Elle peut également évaluer l'état d'anthropisation d'un système à partir des isotopes stables de l'azote (Cabana & Rasmussen 1996; Fry 1999; Riera 1998) de même que la position d'un organisme dans le réseau trophique.

Le principe théorique de l'approche isotopique se base sur le fait que la composition isotopique d'un animal reflète celle de sa nourriture avec une valeur plus enrichie en isotope lourd (^{13}C et ^{15}N) dans ses tissus. Cette valeur d'enrichissement (notée Δ ou facteur de discrimination TDDF = Tissue Diet Discrimination Factor en anglais) a été considérée constante le long de la chaîne trophique avec des valeurs de +1‰ et +3.4‰ respectivement pour le carbone et l'azote (DeNiro & Epstein 1978; 1981; Minagawa & Wada 1984). Cependant, de nombreuses études expérimentales ont mis en évidence une variabilité substantielle de ces facteurs de discrimination en fonction de l'espèce, des caractères ontogéniques, du tissu analysé (McCutchan et al. 2003, Vanderklift & Ponsard 2003, Caut et al. 2009) et également en fonction de l'allocation différentielle des composants biochimiques de la nourriture assimilés dans les différents tissus du consommateur (Gannes et al. 1997 ; Martínez del Rio et al. 2009). Ainsi, afin d'avoir une interprétation fiable et pertinente de cette approche, il est nécessaire de tenir compte de ces sources de variations.

L'analyse des acides gras permet une différenciation plus fine de la nature des sources trophiques (e.g. bactéries, diatomées, flagellées, plantes vasculaires) (Kharlamenko et al. 2001; Dalsgaard et al. 2003) et s'avère très utile pour identifier les contributions relatives des différentes sources de matière organique contenues dans un pool de détritus (Richoux & Froneman 2008). De la même manière que pour les isotopes, les acides gras permettent de mesurer le degré d'anthropisation d'un système (Budge & Parrish 1998) et le niveau trophique d'une espèce (Graeve et al. 1997; Howell et al. 2003).

2. Objectifs de l'étude et questions traitées

Partie 1: Il ressort du contexte général décrit précédemment que parmi la grande diversité faunistique qui caractérise les écosystèmes de la pointe de Bretagne l'ophiure *Ophiocomina nigra*, co-habitant ou non avec *Ophiothrix fragilis*, présente des signes d'expansion inédits. Cependant aucune étude précise n'a quantifié ce phénomène. **Notre premier objectif est donc de préciser l'ampleur de l'évolution spatio-temporelle des deux ophiures dans la rade de Brest et la baie de Douarnenez en se basant sur des études antérieures comparables.** Pour cela nous avons réalisé une étude ciblée sur la rade de Brest. En effet sur cette zone nous disposons de données historiques précises qui nous permettront d'apporter des éléments de réponse contribuant à expliquer le succès des espèces, particulièrement d'*O. nigra*.

Cette étude s'est structurée autour des questions suivantes:

- (1) Les densités et les biomasses d'*O. nigra* ont-elles augmenté significativement durant ces dernières décennies?
- (2) Les niveaux de densités enregistrés répondent-ils à la définition d'un « outbreak » chez cette espèce ?
- (3) Quels sont les facteurs biotiques (traits d'histoire de vie de l'espèce, activités anthropiques) et abiotiques susceptibles d'expliquer cet outbreak ?
- (4) Une telle expansion chez *O. nigra* peut-elle générer des phénomènes de compétition entre les deux d'ophiures étudiées?
- (5) Quelles sont alors les conséquences sur l'écosystème?

Partie 2: Les études antérieures ont également émis l'hypothèse que la prolifération des ophiures est généralement liée à l'enrichissement trophique du milieu. **Notre second objectif est donc d'étudier l'écologie trophique des deux ophiures afin de tester cette hypothèse. Ceci peut-être aujourd'hui appréhendé par la double approche des isotopes stables et des acides gras.** Cependant comme nous l'avons souligné précédemment, les facteurs de discrimination du carbone et de l'azote varient en fonction de différents paramètres à la fois biologiques et physiologiques. Aucune donnée dans ce domaine n'est disponible pour les ophiures. Une estimation des facteurs de discrimination préalable à toute analyse est donc nécessaire pour éviter une

interprétation erronée des relations trophiques entre les ophiures étudiées et leurs sources trophiques.

Dans cette seconde partie nous nous proposons:

(1) D'estimer les facteurs de discrimination du carbone et de l'azote chez les deux espèces *Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis*, pour différents tissus et pour différentes sources de matière organique de qualité nutritionnelle variable.

(2) D'identifier les sources de matière organique (allochtones et autochtones) potentiellement assimilées par ces ophiures par une approche spatio-temporelle. Cette étude sera appréhendée à travers un suivi *in situ*, sur un cycle annuel, dans des stations présentant des conditions environnementales contrastées.

Il sera particulièrement intéressant de voir si l'activité trophique des espèces concernées contribue de manière significative à l'épuration du milieu notamment à celle des débris de macroalgues vertes très abondants en baie de Douarnenez.

Ce travail s'intéressera également à la compétition trophique entre ces deux espèces qui occupent les mêmes niches écologiques.

In fine cette étude devrait apporter des éléments de réponse pour déterminer si la prolifération d'*Ophiocomina nigra* peut être considérée comme un indicateur biologique intégrateur dans la durée d'un phénomène de dystrophie d'origine anthropique.

Avant d'aborder ces différentes questions, nous nous proposons de décrire plus en détails la particularité des modèles biologiques et des sites étudiés.

3. Modèles biologiques et sites d'étude

3.1 Modèles biologiques

3.1.1 Généralités sur les Ophiures

Les ophiures font partie de l'embranchement des échinodermes et de la classe des ophiuridés. Au total 2064 espèces d'ophiures ont été recensées dans le monde (Störh et al. 2012). Toutes les ophiures sont exclusivement marines.

- *Morphologie générale*

Morphologiquement, une ophiure se compose d'un disque plat arrondi à partir duquel partent cinq bras simples quelques fois ramifiés, longs, grêles et tout à fait distincts du disque (à l'inverse des astérides) (Koehler 1969). La face ventrale du disque porte une bouche centrale ouverte sur une cavité générale renfermant un tube digestif appelé le sac stomacal ainsi que les bourses portant les glandes génitales. Chacune de ces bourses (10 au total) s'ouvrent vers l'extérieur par une fente longitudinale étroite, visible sur la face ventrale, de chaque côté de la base des bras. Ces fentes ont à la fois une fonction de respiration (échanges gazeux) et de reproduction (libération des produits sexuels) (Koehler 1969; Southward & Campbell 2006). Il n'y a ni intestin, ni anus chez les ophiures. Deux paires de tubes ambulacraires (appelés podia ou tentacules) se distribuent en deux rangées. Le corps est entièrement couvert de petites plaques calcaires de taille et de forme variables parfois ornementées de piquants, de granules et de tubérosités. L'arrangement, la forme et l'ornementation de ces plaques constituent des éléments importants à la fois pour la classification des ophiures et pour leur identification au niveau spécifique. Les bras se composent de pièces calcaires improprement nommées vertèbres qui s'articulent entre elles par des saillies et des fossettes. Les bras confèrent aux ophiures une capacité à se mouvoir mais permettent également de capter les particules alimentaires en suspension ou déposées sur le substrat.

- *Alimentation*

Selon Warner (1982) les ophiures peuvent être carnivores (prédatrices et/ou nécrophages) et se caractérisent en général par la présence de courtes épines sur les bras utiles pour saisir leurs proies. Les espèces peuvent être également dépositives et capter les

particules à la surface du sédiment à l'aide de leurs podia. On distingue également des espèces microphages, lorsqu'elles se nourrissent de petites particules animales ou végétales au niveau du sédiment et/ou en suspension. Epines et podia sont alors relativement longs et permettent de saisir la nourriture. Cependant la généralisation est difficile et il semble qu'il y ait souvent recoupement, à divers degrés, entre ces différents types trophiques.

- *Reproduction*

En général, les espèces sont gonochoriques (sexes séparés), rarement hermaphrodites. Une fois les gamètes mâles et femelles libérés dans le milieu, les oeufs fécondés se métamorphosent en une larve appelée ophiopluteus. On distingue deux types de développement larvaire chez les ophiures: les larves lecithotrophiques qui dépendent des ressources vitellines présentes dans l'oeuf et les larves planctotrophiques qui dépendent du plancton (Stöhr 2005).

- *Caractéristiques comportementales*

Les échinodermes, plus particulièrement les ophiures et les étoiles de mer sont pourvus d'une grande capacité de régénération grâce à l'autotomisation, phénomène qui consiste en une auto-mutilation volontaire d'une partie du corps dont le rôle est de minimiser les dommages et d'assurer le maintien des tissus restants. Les bras sont constitués d'une série de segments identiques. Lorsqu'un bras s'autotomise, la rupture du tendon permet au segment de muscle autotomisé de se séparer nettement du reste du bras (Wilkie & Emson 1987).

Beaucoup d'échinodermes montrent une large gamme de réponse à l'intensité lumineuse. Les ophiures ne présentent pas d'yeux spécialisés, toutefois leur réaction vis-à-vis de la lumière est liée à la présence de récepteurs photosensibles sur le tégument. En effet, la sensibilité à la lumière semble corrélée à des structures spécialisées (microlentilles de calcite) localisées au niveau des plaques dorsales des bras. L'existence de ces photorécepteurs permet d'élucider le comportement des ophiures depuis la détection d'un congénère, d'un prédateur jusqu'au retrait rapide vers une zone de refuge (Aizenberg et al. 2001).

3.1.2 *Ophiocomina nigra* (Abildgaard, in O.F. Müller 1789)

Ophiocomina nigra, communément appelée ophiure noire, est une ophiure de grande taille dont le disque central peut dépasser 2cm de diamètre (Fig. 4). L'espèce est très répandue

sur les côtes de l'Atlantique Nord-Est de la Norvège aux Açores, en Mer du Nord et en Méditerranée. Elle est mobile et colonise les fonds couvrant une large gamme de substrats sédimentaires allant des sédiments fins jusqu'aux substrats rocheux, à des densités et des profondeurs comprises en général entre 10-50 m. Par ailleurs, l'espèce peut présenter des structures spatiales qui fluctuent en fonction de l'âge des individus et du type de substrat. Les organismes sont soit uniformément dispersés soit distribués sous la forme d'agrégats assez denses (Wilson 1977; Fontaine 1965) (Fig. 5).



Figure 4. *Ophiocomina nigra* (cliché Tristan le Goff)

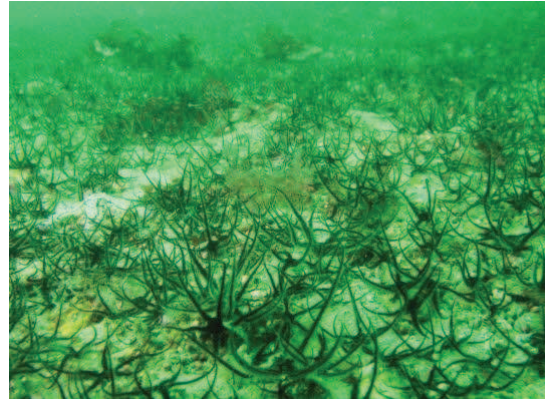


Figure 5. Banc d'*Ophiocomina nigra*, bras dressés en position de filtration, en baie de Douarnenez (cliché Yannis Turpin/PNMI)

Du point de vu trophique, de nombreux auteurs qualifient l'espèce de suspensivore à fort caractère opportuniste, et donc capable d'adapter son comportement alimentaire selon les types de ressources disponibles (suspensivore, détritivore, dépositivore, carnivore, nécrophage, herbivore) (Warner 1982, Naghabhushanam & Colman 1959; Fontaine 1965; Norton & Milburn 1972). A l'inverse d'*Ophiothrix fragilis*, peu d'informations relatives à sa biologie sont disponibles. L'espèce possède un taux de croissance lent, les individus sont matures à 3-4 ans et pourraient atteindre 14 ans (Gorzula 1977). L'espèce est gonochorique à cycle benthopélagique et possède une larve ophiopluteus à développement planctotrophique (Störh 2005). D'une manière générale *Ophiocomina nigra* ne subit pas ou peu de pression de prédation car l'espèce développe des mécanismes de défense notamment par la sécrétion d'un mucus répulsif (Wilson 1977; Fontaine 1965).

3.1.3 *Ophiothrix fragilis* (Abildgaard, in O.F. Müller 1789)

L'espèce *Ophiothrix fragilis* (Fig. 6) est très répandue sur l'ensemble des côtes de l'Atlantique Nord-Est (Moyses & Tyler 1990) en Manche occidentale (Cabioch 1967) et orientale (Davoult 1988) de même qu'en Méditerranée (Guille 1964). Elle se développe sur

des fonds hétérogènes grossiers, dans les zones intertidales et subtidales de fort hydrodynamisme jusqu'à une profondeur de 85m. En Manche orientale les bancs sont monospécifiques (Gentil 1976) alors qu'en Manche occidentale et en Bretagne Sud ces bancs sont composés à la fois d'*Ophiothrix fragilis* et d'*Ophiocomina nigra*. L'espèce est grégaire et forme des bancs très denses de plusieurs centaines à plusieurs milliers d'individus par m² (Morgan & Jangoux 2004; Davoult 1988) (Fig. 7). Ainsi en Manche, dans le détroit du Pas de Calais, sa densité peut atteindre 2000 ind.m² et représenter 60% de la biomasse totale de la communauté benthique (Davoult 1989). Les densités maximales référencées atteignent 7000 ind.m² en baie de Seine (Lozach et al. 2011). En Manche, *Ophiothrix fragilis* a fait l'objet de nombreuses études et les connaissances relatives à sa biologie et à son écologie sont bien supérieures à celles d'*Ophiocomina nigra*.



Figure 6. *Ophiothrix fragilis* (cliché Yves Gladu)

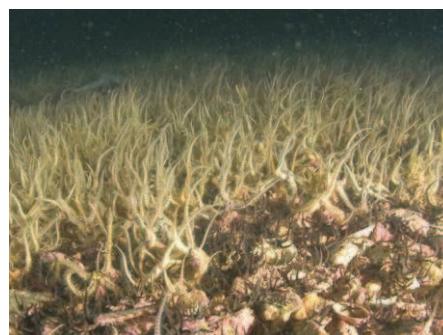


Figure 7. Banc mixte d'*Ophiothrix fragilis* et d'*Ophiocomina nigra* dans l'anse des Blanches Sablons (Bretagne, France) (cliché Xavier Caisey)

L'espèce capte et ingère les particules en suspension et ceci d'autant mieux que le réseau formé par les agrégats est dense (Warner 1971) et que la teneur en phytoplancton et la vitesse du courant dans le milieu sont fortes (Migné & Davoult 1998). Ces agrégats denses optimisent la fécondation des individus en augmentant les chances de rencontre des gamètes. La période de reproduction d'*O. fragilis* varie selon la localisation géographique. En Manche, par exemple la période de reproduction s'étend d'avril à octobre (Smith 1940) alors qu'en Bretagne elle a lieu de février à la fin août. L'espèce possède un cycle de vie benthopélagique et une larve ophiopluteus à développement planctotrophique (Störh 2005) d'une durée de vie estimée à une vingtaine de jours (Lefebvre et al. 1999 ; Morgan & Jangoux 2002). Dans le détroit du Pas de Calais, la principale période de recrutement des larves a lieu en septembre-octobre mais des recrutements ont parfois été observés de février à juin

(Davoult et al. 1990). Le recrutement des juvéniles d'*O. fragilis* est régulièrement observé sur les bras des adultes assurant ainsi la pérennité des agrégats.

3.2 Sites d'étude

L'étude est menée dans la zone géographique de la pointe de Bretagne (département du Finistère) et plus précisément dans les sites de la rade de Brest et l'ensemble de la baie de Douarnenez (Fig. 8).

Le suivi *in situ* est réalisé sur 2 stations par site (ou à proximité) au sein desquelles se développent des bancs mixtes d'*Ophiocomina nigra* et d'*Ophiothrix fragilis*. Ces stations ont été sélectionnées en raison de leur situation contrastée (milieu relativement confiné à influence continentale vs milieu ouvert sous influence océanique) (Fig. 8 et 9). La baie de Douarnenez présente ainsi une station peu profonde en fond de baie (partie Est) et une station plus profonde et plus exposée à l'entrée de la baie, à proximité du Cap de la Chèvre; la rade de Brest présente une station dans sa partie centrale mais le caractère plus confiné de cette baie contraint à placer la seconde dans la partie la plus océanique de la zone à savoir dans l'anse des Blancs-Sablons localisée dans la partie nord-ouest de l'ensemble du secteur étudié (Fig. 9).

3.2.1 La rade de Brest

La rade de Brest est un vaste bassin de 180 km² ouvert à l'ouest sur la mer d'Iroise par un étroit goulet (1,8 km de large) d'environ 30 m de profondeur (Fig. 8). Elle reçoit à l'est les eaux estuariennes de l'Elorn et de l'Aulne qui représentent à elles seules 84,5% de la surface totale des bassins alimentant la rade et constituent de ce fait une baie côtière marine d'influence estuarienne. Malgré ces apports d'eau douce important, la rade de Brest a été décrite comme un site naturellement adapté à une bonne dispersion de l'important enrichissement en nutriments apportés par les rivières et donc peu menacé par une eutrophisation massive (Le Pape et al. 1996). La rade de Brest est soumise à un fort régime macrotidal (marnage d'environ 3m en morte eau et de 6-7m en vive eau) générant un brassage intense et une homogénéisation verticale de la colonne d'eau. Cependant, la plupart des eaux sortant du goulet au jusant rentre à nouveau dans la rade pendant le flot (seulement 6% de renouvellement quotidien) (Delmas 1981). Si le temps de résidence global des masses d'eau est de l'ordre de 26 jours, il varie selon trois entités hydrodynamiques bien différenciées au sein de la rade de Brest: le centre rade, le bassin nord et le bassin sud. En effet, le temps de

résidence du centre rade est de seulement 3 jours, celui du bassin nord est de 10 jours et enfin celui du bassin sud de 60 jours (Karleskind 2004). La température de la rade oscille entre 9°C en hiver et 17°C en été. La salinité varie seulement entre 33 et 35 (Del Amo 1996) ce qui confirme son caractère marin.

L'urbanisation dans la partie nord de la rade, couplée à une activité agricole intense sur les bassins versants des deux rivières (>1900 km), fait de la rade un des écosystèmes du Nord de l'Europe les plus enrichis en effluents organiques et en nutriments (Quéguiner & Tréguer 1984; Hily 1991). Ces conditions permettent une production primaire annuelle élevée caractérisée par plusieurs blooms successifs qui apparaissent au début du printemps jusqu'à l'automne et constituent de ce fait un apport organique particulaire et dissous important (Jacq & Prieur 1984). Sur l'année 2010, la biomasse phytoplanctonique montre un pic estival début juin dominé par trois diatomées (*Chaetoceros*, *Guinardia delicatula* et *Leptocylindricus danicus*) (données-REPHY 2011).

Les grands ensembles sédimentaires (estuaires, ria, platiers vaseux, pentes et chenaux, le centre rade et les zones rocheuses) de la rade constituent une mosaïque complexe en réponse aux conditions hydrodynamiques, générant ainsi une très grande diversité faunistique (Chauvaud 1998; Grall 2002). La rade se caractérise, entre autre, par d'importants bancs de maërl composés d'algues rouges corallinacées non fixées (*Lithothamnium corralioides*) au sein desquels se développent une richesse faunistique et floristique tout à fait remarquable (Hily 1989 ; Grall 2002). La rade se distingue également par la prolifération du mollusque gastéropode *Crepidula fornicata* qui a connu une très forte extension à la fin des années 70 jusqu'en 2000 où les stocks en poids frais ont été estimés à 127 000 tonnes. L'espèce peut localement représenter jusqu'à 97% de la biomasse totale de la communauté benthique (Guérin 2004).

La multitude des études benthiques réalisées durant les années 80 à 90 met en évidence la domination très nette des organismes suspensivores. Cette dominance résulte principalement de la prolifération de la crépidule *Crepidula fornicata*, mais également des bancs d'ophiures *Ophiothrix fragilis* et *Ophiocomina nigra* (Thouzeau et al. 2000) ainsi que des tuniciers *Styela sp*, *Asciidiella aspersa*, *Phallusia mammillata*, de l'éponge *Ficulina ficus*, des bivalves *Chlamys varia* et *Chlamys opercularis* (Hily 1991) et plus récemment des récifs d'huitres intertidaux (*Crassostrea gigas*) (Lejart & Hily 2011).

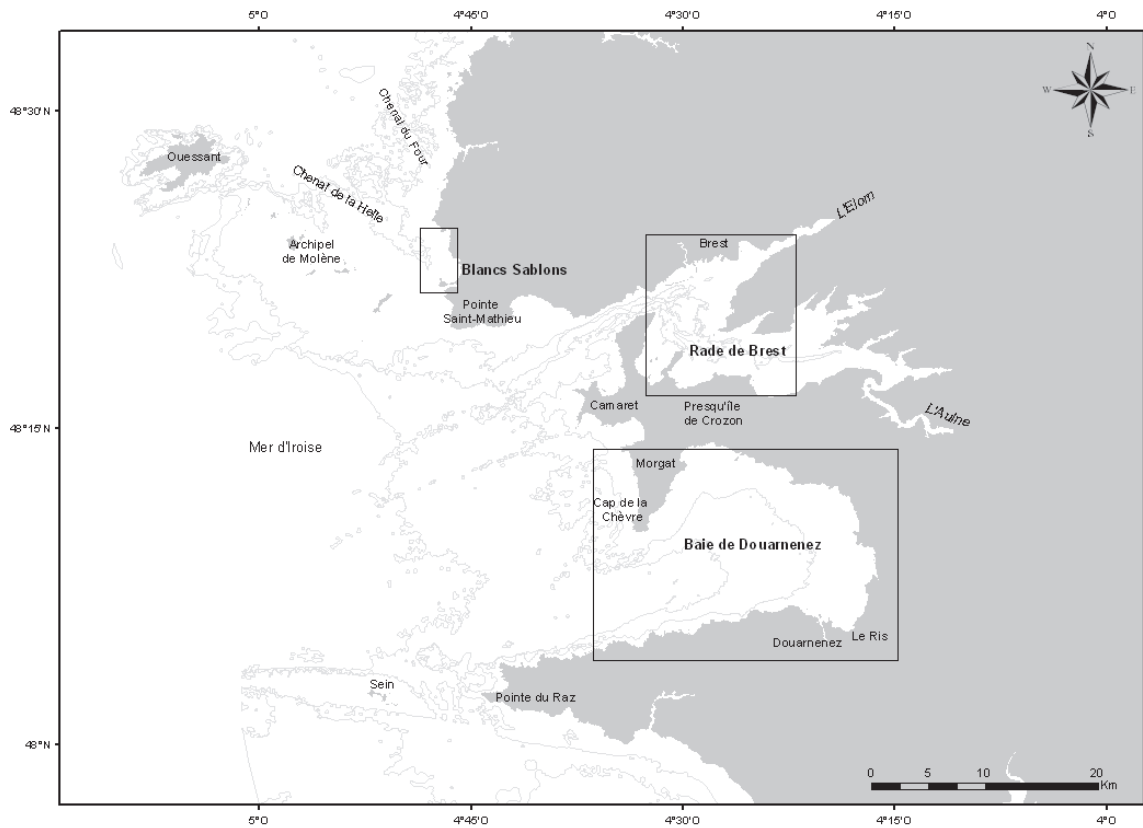


Figure 8. Carte de la pointe de Bretagne (Finistère France) et des sites d'étude : Blancs-Sablons, rade de Brest et baie de Douarnenez

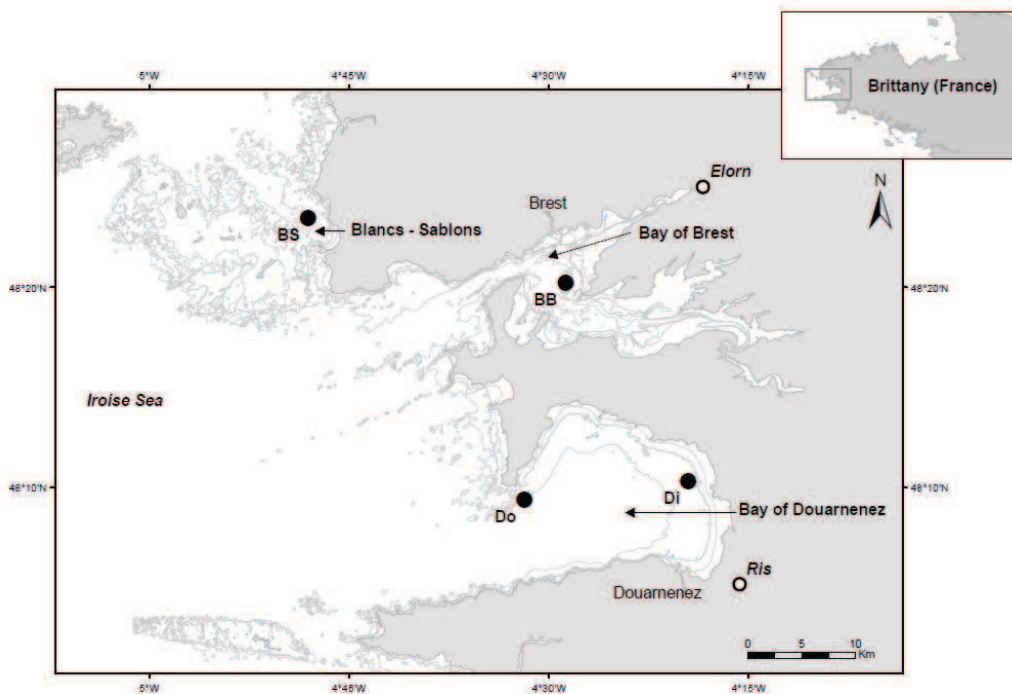


Figure 9. Stations de suivi *in-situ*. BS :Blancs-Sablons, BB : rade de Brest, Di : fonds de baie de Douarnenez, Do : entrée de baie de Douarnenez

- Station de suivi *in situ* (BB)

D'après Hily (1991), le bassin central de la rade de Brest héberge des bancs mixtes d'*Ophiothrix fragilis* et d'*Ophiocomina nigra*. Cette station a été sélectionnée dans le but d'y estimer l'évolution spatio-temporelle de ces espèces, de même que pour étudier la station de suivi *in situ*. Cette station se situe approximativement au milieu du bassin central (48°20'250N ; 04°29'200W), à environ 25 m de profondeur, sur des fonds hétérogènes grossiers et de cailloutis légèrement envasés (Fig. 9). Une observation préalable a été réalisée en 2009 et a montré une nette dominance d'*Ophiocomina nigra* par rapport à *Ophiothrix fragilis* (Fig. 10).

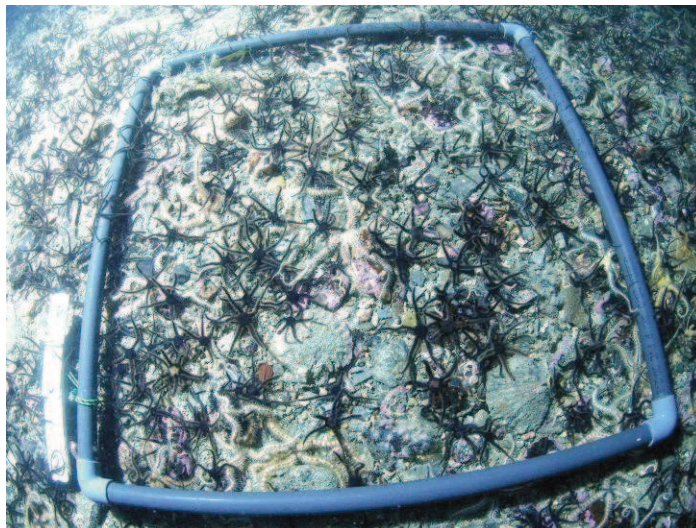


Figure 10. Banc mixte d'*O. nigra* et d'*O. fragilis* à la station de suivi *in-situ* en rade de Brest (surface visible de 1/8m²) (cliché Xavier Caisey/Ifremer).

3.2.2 La baie de Douarnenez

La baie de Douarnenez est une baie peu profonde (maximum 40 m) de 350km² partiellement abritée par le Cap de la Chèvre dans sa partie nord mais largement ouverte sur la mer d'Iroise et exposée aux houles de secteur Ouest à Sud-Ouest dans sa moitié sud (Fig. 8). La baie est soumise à un fort régime de marée et le marnage varie de 2,6 m en morte-eau moyenne à 5,5 m en vive eau moyenne. D'une manière générale, les courants de marées sont inférieurs à 10 cm/s à l'exception du sud du cap de la Chèvre où les courants atteignent 1 noeud en vive eau moyenne. La baie présente un système de courants giratoires en se

remplissant par le sud et se vidant par le nord (SHOM-SEAMER 2001). En moyenne, la température des eaux de la baie oscille entre un minimum d'environ 9°C fin janvier et un maximum d'environ 16°C mi août. Le caractère confiné de la baie et sa profondeur décroissante vers l'est la dotent d'une amplitude thermique croissante d'ouest en est avec des températures comprises entre 6°C l'hiver et 19°C l'été près des plages de l'est. Une stratification thermique se met en place durant l'été dans la partie centrale de la baie (20 à 30 m) mais n'affecte pas ou peu l'ouverture de la baie (courants de marées devenant forts) ou sa partie est (faible profondeur) (Birrien 1987).

Les bassins versants sont de faible superficie (45 km²) et la baie reçoit peu d'apports d'eau douce par les rivières et les ruisseaux qui s'y jettent. En effet, les rivières se jetant dans la baie ont, en période hivernale, des débits ne dépassant que rarement 1m³/s. Par ailleurs, certaines années, les eaux très diluées du panache de la Loire remontent le long du littoral jusqu'à l'entrée de la baie et abaissent momentanément la salinité de l'eau. Les apports de nutriments d'origine agricole et les rejets urbains de Douarnenez ont tendance à rester confinés dans la bande côtière de Douarnenez à Morgat et entraînent des proliférations de phytoplancton et des marées vertes (accumulations d'*Ulva* sp) d'ampleur croissante qui en font la deuxième baie de Bretagne la plus impactée par ce phénomène (Fig. 11) (Ménèsguen 2006).



Figure 11. Echouages d'Ulve (*Ulva* sp.) (cliché Xavier Caisey/Ifremer)

Le cycle saisonnier général du phytoplancton démarre au tout début du printemps dans la bande littorale peu profonde au nord de la baie puis s'étend peu de temps après à toute la partie centrale pour gagner ensuite les eaux plus froides et brassées à l'entrée de la baie. En

début d'automne, le retour du mélange vertical des eaux se traduit par un nouvel apport de nutriments issus de la reminéralisation de la matière détritique qui génère un nouveau bloom phytoplanctonique composé de diatomées. Les productions de dinoflagellés restent plus modérées et apparaissent majoritairement en été (Augris et al. 2005). La production phytoplanctonique pour l'année 2010 se caractérise par un premier pic de diatomées fin février principalement représenté par un bloom du genre *Chaetoceros*. Un pic secondaire de diatomées, principalement composé de *Leptocylindrus danicus*, apparaît en avril et début mai. Le maximum de production phytoplanctonique est atteint en juillet-août, dominée par des blooms de trois diatomées (genre *Chaetoceros*, *Leptocylindrus danicus* et *Skeletonema costatum* (données REPHY 2011).

La bande côtière peu profonde (5 à 10m) est représentée par des fonds homogènes de sables fins. Les zones de sable alternent avec des fonds rocheux et des bancs de maërl (moins représentés qu'en rade de Brest) au nord et en fond de baie. Les eaux plus profondes à l'entrée du cap de la Chèvre et à l'extérieur de la baie laissent place à une vaste étendue de sédiments grossiers. De la même manière qu'en rade de Brest, la baie héberge différentes communautés benthiques dans les différents faciès sédimentaires et se distingue par une diversité plus importante d'échinodermes (Blanchet et al. 2004; Augris et al. 2005). Un suivi de ces populations d'échinodermes durant les années 1980 a signalé une explosion des populations d'étoiles de mer carnivores entre 1981 et 1984, date à laquelle un déséquilibre trophique entre ces espèces et leurs proies potentielles a été mis en évidence (Guillou 1996). A partir de 1985, jusqu'à la fin de cette décennie, la biomasse de ces échinodermes a régulièrement diminué parallèlement à l'augmentation de la densité de deux étoiles super-prédatrices de jeunes échinodermes (étoiles, ophiures) *Luidia ciliaris* (Philippi 1837) et *Luidia sarsi* (Duben & Koren 1846). En 1992, l'ensemble des étoiles présentaient un état d'équilibre que l'on retrouve en 2008 date de la dernière prospection connue avant la présente étude. La baie de Douarnenez, et plus particulièrement les zones de sables fins, constitue une zone de nourricerie pour de nombreux poissons plats (sole, plie turbot) très privilégiée pour le développement des juvéniles de poissons plats (Deniel 1981).

- Stations de suivi *in situ* : Di et Do

Dans le cadre du suivi *in situ*, deux stations hébergeant des bancs mixtes d'*O. nigra* et d'*O. fragilis* ont été sélectionnées dans des conditions environnementales contrastées. Une première station (Di) (Fig. 9) a été choisie dans l'est de la baie en raison d'une possible

contribution des apports anthropiques (entre autre les algues vertes), au régime trophique des ophiures. Cette station se caractérise par des fonds hétérogènes ensablés, légèrement envasés, à environ 20 m de profondeur. La densité d'*O. nigra* est nettement supérieure à celle d'*O. fragilis*. A l'opposé, une seconde station (Do) (Fig. 9) a été choisie pour y tester la possible contribution des apports océaniques au régime trophique des ophiures. Elle se situe dans les eaux brassées proches du Cap de la Chèvre, à environ 30 m de profondeur, sur des fonds grossiers parsemés de blocs rocheux. Les bancs mixtes d'ophiures qui s'y développent sont dans ce contexte environnemental dominés par *O. fragilis* (Fig. 12).



Figure 12. Banc mixte d'*O. nigra* et *O. fragilis* à la station de suivi *in-situ* localisée à l'entrée de la baie de Douarnenez (Do) (cliché Xavier Caisey/Ifremer)

3.2.3 L'anse des Blancs Sablons

Le site des blancs sablons localisé dans la partie nord-ouest de la zone générale d'étude est une anse côtière très exposée aux courants marins et à la houle (Fig. 8). Les eaux sont donc bien brassées avec une salinité comprise entre 35 et 36. L'amplitude thermique annuelle est plus faible que dans les autres sites puisque les températures moyennes sur le fond se situent entre 9 et 14°C. La modélisation met en évidence une évolution annuelle du taux de Chlorophylle *a* ($\mu\text{g/L}$) proche de celui du site profond de la baie de Douarnenez (© PREVIMER). Du point de vu sédimentaire, l'anse des blancs Sablons présente un gradient d'est en ouest allant des sédiments fins jusqu'aux fonds de cailloutis comblés de sable et de roches en passant par des fonds de graviers propres et de sables biogènes (coquilles et maërl mort) (Raffin 2003). Les sédiments sont très peu envasés et présentent un taux de matière organique faible ($< 2,5\%$).

- Station de suivi *in situ* (BS)

La station de suivi *in situ* BS se situe dans la partie Ouest de l'anse (Fig. 9) dans une zone de fort courant (près de 4 nœuds en vives-eaux) au niveau de l'axe du chenal de la Helle, à 30 m de profondeur. Les fonds sont très grossiers, parsemés de nombreux galets, cailloutis et blocs rocheux sur lesquels se juxtapose un tapis continu d'*O. fragilis*, clairsemé de patches d'*O. nigra* (Fig. 13).



Figure 13. Banc mixte d'*O. nigra* et *O. fragilis* à la station de suivi *in-situ* des Blancs Sablons (BS) (surface visible de 1/8m²) (cliché Xavier Caisey/Ifremer)

4. Structure du manuscrit

Ce manuscrit se présente sous la forme d'une thèse dite sur articles et se décline en deux grandes parties: **une partie évolution et une partie trophique.**

1. La première partie traite de l'évolution spatiale et temporelle des deux ophiures, *Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis* dans la rade de Brest et la baie de Douarnenez sur la base de données historiques et de données nouvellement acquises dans le cadre de la thèse. Cette partie se décompose en deux chapitres sous la forme de deux articles. Un résumé en français de chaque article est présenté au préalable.

➤ **Article I** (publié dans *Marine Ecology Progress Series*)

- Blanchet-Aurigny A, Dubois SF, Hily C, Rochette S, Le Goaster E, Guillou M (2012) Multi-decadal changes in two co-occurring ophiuroid populations. *Marine Ecology Progress Series* 40: 79-90.

➤ **Article II** (sous presse dans *Marine Biodiversity Records*)

- Guillou M, Blanchet-Aurigny A, Le Goaster E. Density fluctuations of the ophiuroids *Ophiothrix fragilis* and *Ophiocomina nigra* in Douarnenez bay, Brittany, France.

2. La deuxième partie du manuscrit traite de l'écologie trophique des deux ophiures et se décompose en trois chapitres. Le premier chapitre aborde un ensemble d'informations sur les types de matière organique potentiellement consommée par les ophiures, les concepts théoriques et méthodologiques des outils isotopiques et des acides gras appliqués à l'écologie trophique. Un deuxième chapitre présente un article (article III) sur l'estimation des facteurs de discrimination des isotopes stables chez *Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis*, puis un second article (article IV) sur l'écologie trophique des deux ophiures.

➤ **Article III** (publié dans le *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*)

- Blanchet-Aurigny A, Guillou M, Pernet F, Gaffet JD, Dubois SF (2012) Tissue-diet discrimination factors of isotopic ratios ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$) in two brittle star species: effect of reproductive state, diet and tissue composition *Journal of Experimental marine Biology and Ecology* 426-427, 68-77.

➤ **Article IV** (à soumettre dans *Marine Ecology Progress Series*)

- Blanchet-Aurigny A, Dubois SF, Quéré C, Guillou M, Pernet F. Feeding ecology of two co-occurring ophiurids in anthropogenic coastal systems, derived from fatty acid and stable isotope analyses

Enfin, ce manuscrit se finalise par une discussion générale et des perspectives, suivies d'une conclusion générale.

PARTIE 1

Variabilité spatio-temporelle des populations d'ophiures
Ophiothrix fragilis et *Ophiocomina nigra*
à la pointe de Bretagne

Chapitre 1. La rade de Brest

Article I : Changements à long terme de deux populations d'ophiures - Comparaison de 1987 avec 2011

Résumé

Les échinodermes jouent un rôle clé dans la structure et le fonctionnement des écosystèmes côtiers et profonds. Sous l'influence de facteurs environnementaux complexes, certaines populations fluctuent de manière très importante entraînant des phénomènes « d'explosions » ou à l'inverse « d'extinctions » (Uthicke et al. 2009). Si de tels phénomènes sont couramment observés chez des populations d'oursins ou d'étoiles de mer, ils le sont plus rarement chez les populations d'ophiures. *Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis* sont des ophiures épigées très communes des eaux côtières de l'Europe et colonisent les fonds meubles à hétérogènes grossiers sous la forme de bancs mono-spécifiques ou mixtes. Vers la fin des années 80 la partie centrale de la rade de Brest était dominée par *O. fragilis* (Hily 1991). La rade de Brest est un système côtier très productif et se caractérise par une abondance et une biomasse élevée de suspensivores benthiques, largement dominés par le mollusque gastéropode *Crepidula fornicata*, qui y fût introduit vers la fin des années 70. Le contrôle de la biomasse phytoplanctonique en rade de Brest a été mis en relation avec l'expansion de la crépidule (Chauvaud et al. 2000).

Les populations d'*Ophiothrix fragilis* et d'*Ophiocomina nigra* du centre rade ont été revisitées après plus de deux décennies, à l'aide de profils vidéo, sur un ensemble de 70 stations, afin d'identifier d'éventuels changements à long terme de leur distribution, de leur niveaux de densité, et de leur biomasse. Une campagne s'est déroulée en 2011 sur l'ensemble du bassin central de la rade (27 Km²), sur la base d'un protocole de suivi vidéo similaire à celui opéré en 1987 par Hily (1991). Les données d'abondance d'ophiures (dont celles d'*Ophiothrix fragilis* publiées par Hily en 1991) ont été analysées par la méthode d'interpolation spatiale (krigeage ordinaire). Les densités et les biomasses totales de chacune des espèces et ceci pour 1987 et 2011 ont été calculées sur la base des relations de (1) taille vs densité, et de (2) taille vs poids. Les biomasses totales ont été déterminées par la combinaison des différentes relations (1 et 2) avec les densités interpolées pour chacune des dates (1987 et 2011). Enfin, l'indice de saisonnalité (α) utilisé comme proxy de la pression de broutage de la biomasse phytoplanctonique a été calculé sur la période 1996-2011 faisant suite à la série 1977 à 1996 calculée par Chauvaud et al. (2000).

Les résultats ont mis en évidence de profonds changements dans la répartition spatiale et les niveaux de densités des deux ophiures. Par rapport à 1987, *O. nigra* s'étend aujourd'hui sur la quasi-totalité de la zone d'étude avec une augmentation d'un facteur 5 et 3

respectivement de sa densité et de sa biomasse. La densité actuelle d'*O. fragilis* montre une diminution globale de 30% et jusqu'à 90% localement, mais présente une biomasse totale équivalente à celle de 1987. Les cartes de distribution montrent un déplacement de la population d'*O. fragilis* de la partie centrale vers la partie sud de la zone d'étude où l'espèce colonise désormais les fonds de coquilles vides de crépidules. L'indice de saisonnalité (α) calculé entre 1996 et 2011 a progressivement augmenté selon une tendance inverse à celle identifiée entre 1977 et 1996.

Cette étude montre pour la première fois une prolifération d'*Ophiocomina nigra* et, l'augmentation d'un facteur 5 de sa densité semble répondre à la définition d'un outbreak (Uthicke et al. 2009). L'espèce colonise actuellement les fonds du centre de la rade de Brest autrefois dominés par *O. fragilis*. Les bancs denses d'*O. fragilis* du centre rade ont été décrits à la fin des années 80 comme stables en réponse à un habitat optimal pour cette espèce grégaire et majoritairement suspensivore (Hily 1991). La dynamique d'évolution des deux populations d'ophiure ne peut être déduite de ces deux seules estimations; il est cependant suggéré que l'augmentation d'*O. nigra* s'est progressivement opérée sous l'influence de changements environnementaux et/ou des facteurs anthropiques, mais qu'elle a également été favorisée par les traits biologiques des individus adultes de l'espèce. Contrairement à *O. fragilis*, *O. nigra* est une espèce mobile à la surface du sédiment et présente une grande plasticité trophique (suspensivore, détritivore, carnivore). L'apport croissant de détritus provenant des blooms fréquents d'algues vertes (*Ulva* sp) depuis une trentaine d'années, l'augmentation des bio-dépôts générés par la prolifération de *Crassostrea gigas* depuis une dizaine d'années, de même que les opérations d'essaimage de *Pecten maximus* et les opérations chroniques de dragages, sont autant d'apports organiques qui ont pu favoriser le comportement opportuniste d'*O. nigra* dans la rade de Brest. Le remplacement d'*O. fragilis* par *O. nigra* dans la partie centrale, a favorisé l'exclusion spatiale d'*O. fragilis* qui colonise actuellement les coquilles de crépidules. Le déclin de la crépidule engendré par la colonisation progressive d'*O. fragilis* est un scénario plausible mais qu'il faudra confirmer par la suite sur l'ensemble de la rade de Brest. L'augmentation de l'indice de saisonnalité mesuré entre 1996 et 2011 semble toute fois conforter cette idée montrant que la pression de broutage par les suspensivores a fortement diminué dans la rade.

Article I: Multi-decadal changes in two co-occurring ophiuroid populations

Marine Ecology Progress Series, Vol. 40: 79-90, 2012

Blanchet-Aurigny A^{a*}, Dubois SF^b, Hily C^c, Rochette S^d, Le Goaster E^{a,c}, Guillou M.^c

^aIFREMER, Laboratoire d'Ecologie Benthique, Département Océanographie et Dynamique des Ecosystèmes, Centre de Bretagne, BP70, 29280 Plouzané, France

^bInstitut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale, LEMAR UMR CNRS IRD 6539, place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané, France

^cIFREMER, Laboratoire Applications Géomatiques, Département Océanographie et Dynamique des Ecosystèmes, Centre de Bretagne, BP70, 29280 Plouzané, France

Abstract

Mixed beds of *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* (Echinodermata, Ophiuroidea) are usually predominated by *O. fragilis* and are reported to be stable over time. The bay of Brest (Brittany, France) is a highly productive ecosystem where both species co-occur in the main central part. Using a geostatistical approach we tested changes in *O. nigra* and *O. fragilis* density and total biomass patterns between 1987 and 2011. Our results highlighted an increased of *O. nigra* population size and an induced spatial shift of the co-occurring *O. fragilis*. *Ophiocomina nigra* increased about 5 times in density and cover almost all the study area, while its density-dependent biomass increased about 3 times (22 t. km⁻², ash-free dry mass) between 1987 and 2011. Overall, the *O. fragilis* population decreased in density by about 30% but the total biomass of this species did not change over time. The current distribution pattern revealed a clear spatial exclusion of *O. fragilis* from the central part of the study area toward the southern part and overlapped dead slimper-limpet *Crepidula fornicata* beds, formerly considered as the dominant suspension-feeder species in the Bay. The success of *O. nigra* colonization is linked to its biological and functional traits, as well as deep changes in food supply over the studied period. Ecological consequences of such a large change in the benthic compartment of the bay are explored in the light of associated changes in environmental patterns.

KEY WORDS: echinoderms, *Ophiocomina nigra*, food supply, kriging methods, suspension-feeders

1. Introduction

Echinoderms are reported in many systems to play key structural and functional roles; under a complex set of environmental factors, echinoderms species exhibit high population density fluctuations also called "outbreak" or "die-off" events in coastal and deep ecosystems (Uthicke et al. 2009). Indeed, occasional outbreaks are a feature of some echinoid (Hughes 1994) and asteroid populations (Guillou 1996; Seymour & Bradbury 1999). Conspicuous echinoderm outbreaks were reported for the sea star *Acanthaster planci* in the coral reefs (Houk & Raubani 2010) or for the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* in kelp beds (Wharton & Mann 1981), as well as numerous other sea urchins species (Andrew & Underwood 1992; Valentine & Edgar 2010). However, little information has been published concerning brittle star (ophiuroid) outbreaks. Scarce literature reported sharp increases in *Ophiura albida* (Neumann et al. 2009), *Amphiura filiformis* and *Amphiura chiajei* populations, in temperate shallow habitat of the North Sea and NE Atlantic, as well as in the two deep sea ophiuroids *Ophiocten hastatum* in NE Atlantic and *Ophiura bathybia* in NE Pacific (as reviewed in Uthicke et al. 2009). In European coastal shallow waters, ophiuroids often occur in soft bottom benthic assemblages, accounting for most of the benthic biomass from heterogeneous coarse sediments (Dauvin & Ruellet 2008) to muddy communities (Goransson 2002), where they are playing key functions in the coupling of benthic-pelagic systems (Allen 1998). A few ophiuroid species classically structure those communities, namely *Amphiura filiformis* (Müller) (Bowmer 1982; Bourgoïn & Guillou 1988) and *Acrocnida brachiata* (Montagu) (Thiébaud et al. 1997) as well as the two common co-occurring brittle star species *Ophiocomina nigra* (Abildgaard) and *Ophiothrix fragilis* (Abildgaard). The latter has been widely reported and surveyed in the North-Eastern Atlantic region where large beds have been reported, with density reaching over 1500 ind.m⁻² (e.g. Muths et al. 2010 and references therein). Similarly, *O. nigra* distribution covers a broad range of sedimentary features but its densities rarely exceed those of *O. fragilis* even in mono-specific bed.

Situated in an ecotone between the English Channel and the Atlantic Ocean (Bay of Biscay), the bay of Brest (Brittany) hosts populations of both *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis*. As in many systems with a high primary production, benthic assemblages are dominated by suspension-feeders in general and especially *O. fragilis* colonizing a large area in this bay. Distribution of *O. fragilis* in the main part of the bay was monitored early in the 90's, leading to the conclusion that ecological conditions for this species were optimal

(Hily 1991). We used the bay of Brest as a geographical model to test possible expansion / regression mechanisms of the main ophiuroid species, namely *O. fragilis* and the co-occurring *O. nigra*. Using *O. fragilis* published data (Hily 1991) and unpublished *O. nigra* data from the same survey, we aimed at investigating changes in density and biomass between 2 distant time periods for ophiuroid population dynamics and the potential consequences for associated benthic communities and control of phytoplankton biomass. Investigating the same area after a long period of time with similar protocols has proven to be successful for monitoring and detecting long-term changes in benthic assemblages (Reise 1982; Reise & Schubert 1987; Hily et al. 2008). Differences between past and current data were explored according to *O. nigra* and *O. fragilis* biological traits, as well as changes in environmental parameters.

2. Material and Methods

2.1 Study area

The bay of Brest is a shallow semi-enclosed marine coastal system of ca. 180 km² connected to open marine waters of the Atlantic Ocean by a narrow opening of 1.8 km width (Fig. 1). This bay is a macrotidal system (maximal tidal amplitude: 8m; tidal current: max 2.6 m.s⁻¹) that receives anthropogenic nutrient inputs from rivers which are promoted by high hydrodynamic mixing conditions (Le Pape et al. 1996). This site is characterized by a high diversity in sedimentary features: estuaries and muddy banks, slopes and channels, heterogeneous sediments and rocky area. Biogenic components such as maerl (*Lithothamnium corralioides*) beds and accumulation of the gastropod *Crepidula fornicata* overlap the sediment and create favorable supports and refuge for many benthic species (Hily 1989). Since its introduction in 1950, the slipper limpet *C. fornicata* expanded from 45 km² in 1978 (southern basin) (Coum 1979) to 90 km² in 1995 (southern and central basins) (Fig. 1; Chauvaud et al. 1998) and constitutes the main benthic suspension-feeder in the bay (Chauvaud et al. 1998).

2.2 Sampling methods

In February 2011, a video survey was conducted in the main central part of the bay of Brest, using the same video protocol and the same sampling points as Hily (1991) in 1987 (Fig. 1). A total of 72 video profiles were recorded using an underwater HD video camera (Sony HD CX6) mounted on a weighted structure with a 0.05 m² metal frame welded in its

lower part, so that the camera would focus on both the frame and the sediment surface. In addition, two green laser pointers (S2000BLG Subsea) were mounted on each side of the camera and calibrated to provide an accurate scale (1mm precision) on each picture and/or video. Instantaneous pictures were taken each time the frame hit the bottom. Subsequent to that first picture, the structure was lifted for 5 seconds and dropped for the next picture, while the research vessel was in neutral but still moving with the current. For each of the 72 stations, 20 pictures were taken, along a transect of ~ 50 m, with a total cover of 1 m². All HD pictures were georeferenced and used to estimate the number of individuals of *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis*.

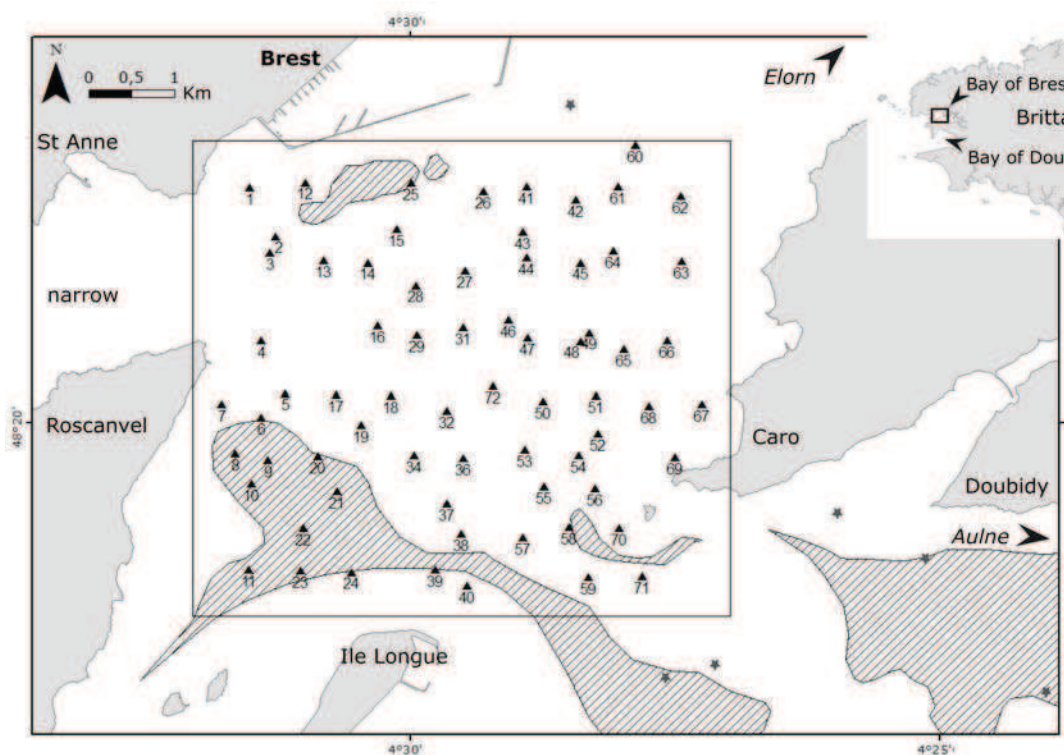


Figure 1. Location of the 72 sampling stations (black triangles) from the 1987 and 2011 benthic video and grab surveys of the main central basin of the bay of Brest, Brittany (France). Black square: sampling area. Stars: additional stations prospected in 2011 (not included in data analysis). Hatched area: Distribution of slipper limpet *Crepidula fornicata* in 1995 (modified after Chauvaud, 1998).

In the present study, we retrieved published densities of *Ophiothrix fragilis* from 1987 (Hily 1991) and added a new set of unpublished densities data of *Ophiocomina nigra* from that same video survey, in order to compare both 1987 and 2011 surveys. The sampling season occurred in May and February for 1987 and 2011 surveys, respectively. Even if sampling seasons were different, all the specimens sampled by video were larger than 5 mm.

A few complementary observations (not used in the 1987 and 2011 surveys comparison) were recorded towards the Aulne and the Elorn estuaries, as well as in the most western part of the bay, toward the open ocean (Fig. 1).

To calculate the biomass (organic matter) in the whole prospected area for the two species, we used the densities of ophiuroid species from the 2011 and the 1987 surveys. A two-steps process was undertaken and required (1) to measure disc diameters of the ophiuroids from the 2011 survey and to link mean size (disc diameter) of ophiuroids and density at each station and (2) to establish a relationship between individual biomass *vs* size (disc diameter):

(1) External disc diameters were measured to the closest millimeter with the scale provided by the laser pointer on the HD pictures. To avoid a measure bias, the measure was considered valid when individuals were well flattened on the bottom. For each species, the disc diameters of 30 individuals were randomly measured among the 20 HD pictures within each station. To strengthen our approach, additional HD pictures were taken from closed areas (bay of Douarnenez) during the same 2011 survey (Fig. 1). The minimum size of specimens measured by laser pointer was about 5mm disc diameter for both species. All measurements were used to fit a general model of size *vs* density.

(2) Additional samples of the two ophiuroid species were taken by scuba divers in and close to the studied area (bay of Douarnenez) and brought to the laboratory for further analysis. The external disc diameter of all individuals ($n = 183$ for *Ophiothrix fragilis* and $n = 196$ for *Ophiocomina nigra*) covering all size-classes of the population were measured to the closest millimeter. Animals were then ashed in a muffle furnace at 550°C for 4 hours. The ash mass was subtracted from the dry mass to obtain the ash-free dry mass (*mass* in mg) for each individual (see data analysis).

2.3 Data analysis

Comparisons were made between past (1987) and current (2011) interpolated distributions and total biomasses of both *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* from the 72 sampling stations. The four interpolations (2 dates x 2 species) were performed using ordinary kriging, a geostatistical method that analyses the spatial structure of the dataset through semi-variograms to estimate the best interpolation parameters (Kitanidis 1997).

Semivariograms were fitted with a theoretical exponential model (Matheron 1971) for each species separately. Densities (number individual per square meter) were interpolated for a regular point grid covering the study area with the kriging accounting for a minimum of 3 stations to a distance of 1 km from the grid point.

The disc diameter (*diam*) vs density (*dens*) relationship was estimated from the stations estimates for *O. nigra* and *O. fragilis* separately as follows:

$$diam = a_1 \times \log(dens) + b_1 \quad (1)$$

, where *diam* are the average disc diameters observed in each station and *dens* are the corresponding densities. a_1 and b_1 are species-specific constants. The coefficients of variations (*i.e.* standard deviation / mean of disc diameter \times 100) were previously calculated for each station to test for the homogeneity in diameter within each station.

The ash-free dry mass (*mass*) vs. disc diameter (*diam*) relationship was estimated from individual observations for *O. nigra* and *O. fragilis* species separately as follows:

$$\log(mass) = a_2 \times diam + b_2 \quad (2)$$

where a_2 and b_2 are species-specific constants.

Combination of Eqs (1) and (2) allowed estimating the average individual ash-free dry mass from station densities as follows:

$$\log(mass) = a_3 \times \log(dens) + b_3 \quad (3)$$

with $a_3 = a_1 \times a_2$ and $b_3 = b_1 \times a_2 + b_2$

For each grid point, biomass per square meter was calculated from kriged densities ($dens_k$) by multiplying the average individual mass (*Mass*, Eq.(3)) with the number of individuals per square meter (*i.e.* $dens_k$) as follows:

$$Biomass = \exp[(a_3 \times \log(dens_k) + b_3)] \times dens_k \quad (4)$$

The total biomass of the studied area (27km²) was summed from grid biomass (Eq.(4)) for each species and each survey. Eqs(1) and (2) could not be estimated from the 1987 survey as individual diameters and ash-free dry mass were not recorded. Estimators of the 2011 survey (*i.e.* a_3 and b_3) were thus used to estimate the 1987 biomasses from kriged densities.

Models and maps were performed with the R-software (R development core team 2012); the ‘gstat’ library was used for estimating the parameters of the semi-variogram and for kriging.

2.4 Seasonality index

A seasonality index was used as a proxy to estimate the grazing pressure of suspension-feeding compartment in the ecosystem (Chauvaud et al., 2000). The seasonality index (α) is defined as $\alpha = 260 - \beta$, where β is the number of days required to obtain half of the integrated Chl *a* biomass (Berger & Wefer 1990). We retrieved published data (from 1977 to 1996) of seasonality index (α) assessed over 260 days (from 15 February to 3 November) by (Chauvaud et al 2000) and built up the same seasonality index from 1999 to 2011. The integrated Chl *a* biomass was estimated from surface-water Chlorophyll *a* (chl *a*) concentrations collected using data from the Bay of Brest buoy operated by the Service d’Observation en Milieu Littoral (SOMLIT, 2005).

3. Results

3.1 Distribution and density

Deep changes were observed in the distribution of the two ophiuroid species between 1987 and 2011 (Fig. 2). Data retrieved from 1987 showed that *Ophiocomina nigra* was distributed in several patches in the central and in the north-easternmost parts of the study area. The largest patch was located in the central part and reached maximum densities between 150 and 500 ind.m⁻² (Fig. 2). The interpolations revealed a 5 fold increase in total *O. nigra* densities between 1987 (1.7 10⁹ individuals) and 2011 (8.6 10⁹ individuals) and reached densities up to 1500 ind.m⁻². The population distribution pattern remained very similar to 1987 (Fig. 2a) but showed that high density levels between 150 to 500 ind.m⁻² extended over almost all the study area (Fig. 2b). In 1987, distribution of *Ophiothrix fragilis* showed a similar pattern of distribution, with a central patch reaching maximum densities between 500 and 1000 ind.m⁻² (Fig. 2c). The distribution of *O. fragilis* drastically changed between 1987 and 2011: total densities decreased by about 30% (from 1.7 10⁹ to 1.2 10⁹ individuals) in the study area, and up to 90% in the central patch of the study area, which highlighted a local shift between ophiuroids. Individuals are now concentrated towards the southernmost part of the study area with the highest densities over 400 ind.m⁻² (Fig. 2d). The spatial distributions of *O. nigra* and *O. fragilis* revealed an important change over 25 years, with both species having a complementary distribution in space. The high density area of *O. fragilis* seemed

now to be overlapping the slipper limpet *Crepidula fornicata* beds (shaded contours in Fig. 1). The HD videos revealed that *C. fornicata* are principally composed of empty shells in this area.

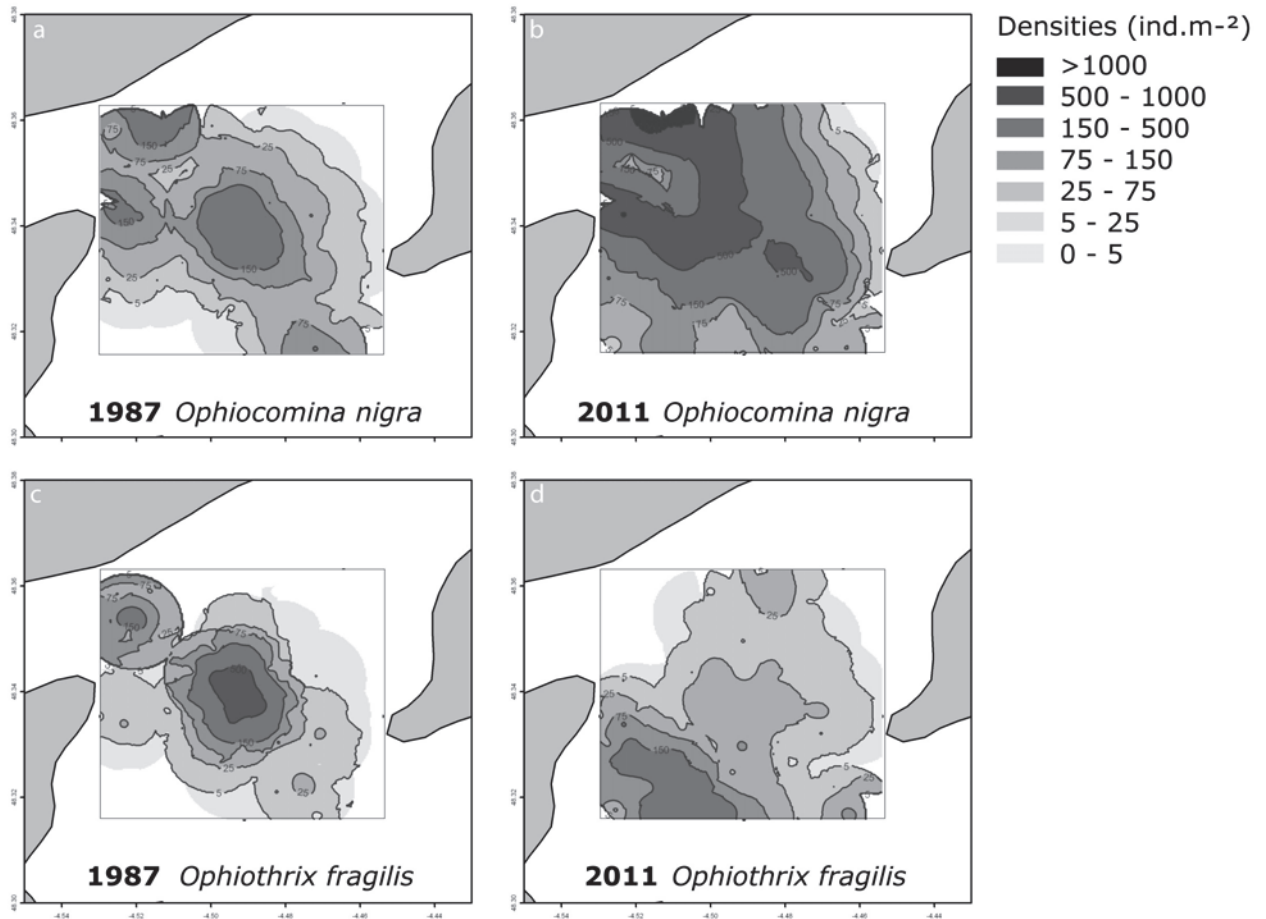


Figure 2. Interpolated distributions of *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* densities distribution in 1987 and 2011 in the study area. Densities were estimated from species- and year- dependent kriged interpolations on a regular grid. Black square: sampling area.

For the 2 species, coefficients of variation were calculated from disc measurements (2011 HD pictures) and showed a mean of $17 \pm 5 \%$ and $20 \pm 7 \%$ (\pm SD) respectively for *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis*, hence supporting a relative homogenous size structure within each station. The relationship between mean diameter and density (Eq.1) were significantly negative for *Ophiocomina nigra* ($R^2 = 0.58$ with $P < 0.001$; $N = 101$, Table 1) and *Ophiothrix. fragilis* ($R^2 = 0.73$ with $P < 0.001$; $N = 15$, Table 1). For both species, these models showed that higher the density, the smaller the specimens (Fig. 3).

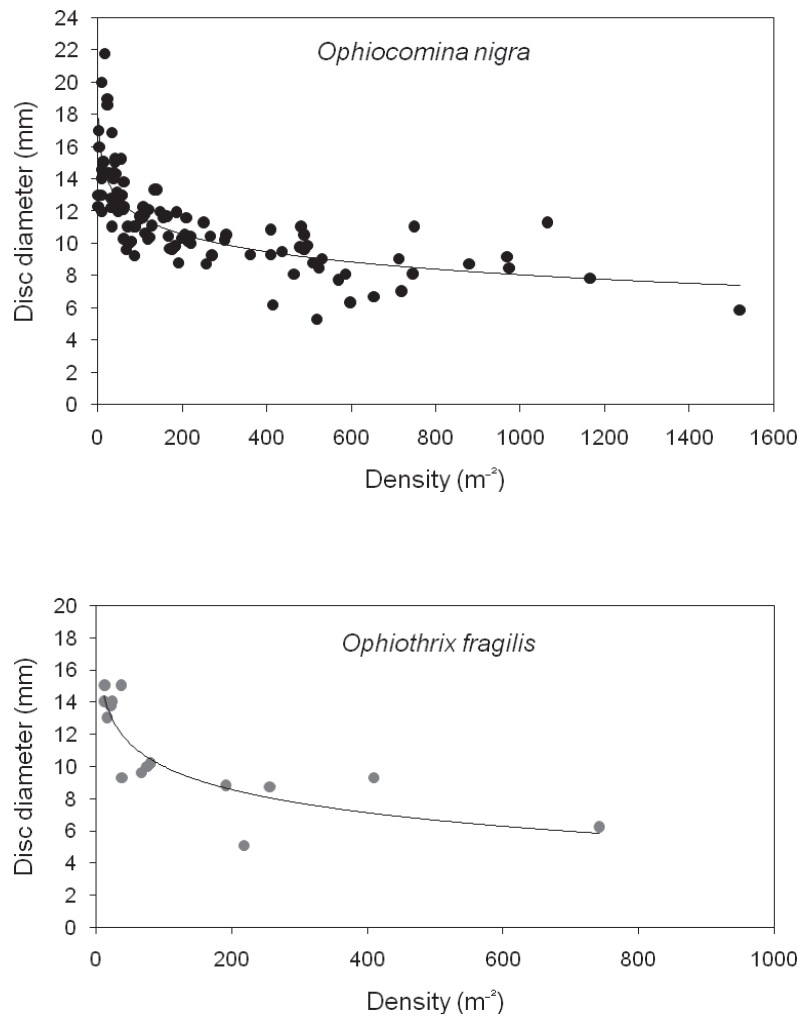


Figure 3. Relationship between mean disc diameter and density (m^{-2}) estimated from 2011 video pictures

Few observations also showed high densities of *O. nigra* (over 1500 ind.m^{-2}) beyond the sampling area, especially in the narrow opening channel, often on rocky area and gravel sediments. Mixed *O. nigra* and *O. fragilis* beds were also observed in stations towards the Aulne estuary, where densities over 150 ind.m^{-2} were calculated (Fig. 1)

3.2 Biomass

The relationships between size and biomass (organic matter) (Eq.2) were significantly positive for *Ophiocomina nigra* ($R^2 = 0.84$ with $p < 0.001$; $N = 196$) and *Ophiothrix. fragilis* ($R^2 = 0.70$ with $p < 0.001$; $N = 183$) (Table 1, Fig. 4). The resulting relationships between

density and biomass (Eq.4) were positive for *O. nigra* and *O. fragilis* (Fig. 5). The estimate of the total biomass in the study area showed that while the biomass of *O. fragilis* remained similar between 1987 and 2011 (ca. 360 t for 27 km²), *O. nigra* had 3 fold increased in biomass, ranging from less than 200 t. in 1987 to about 600 t. ash-free dry mass in 2011 (Fig. 6).

Table 1. Estimated parameters of the relationships between individual diameter (*diam*), station densities (*dens*) or individual ash-free dry mass (*Mass*) of Eqs. (1-3).

Parameters	<i>Ophiocomina nigra</i>	<i>Ophiothrix fragilis</i>
Eq.(1) $diam = a_1 \times \log(dens) + b_1$		
a_1	-1.55	-2.06
b_1	18.83	19.50
Eq.(2) $\log(mass) = a_2 \times diam + b_2$		
a_2	0.22	0.25
b_2	2.18	3.03
Eq.(3) $\log(mass) = a_3 \times \log(dens) + b_3$		
$a_3 = a_1 \times a_2$	-0.34	-0.52
$b_3 = b_1 \times a_2 + b_2$	6.26	7.90

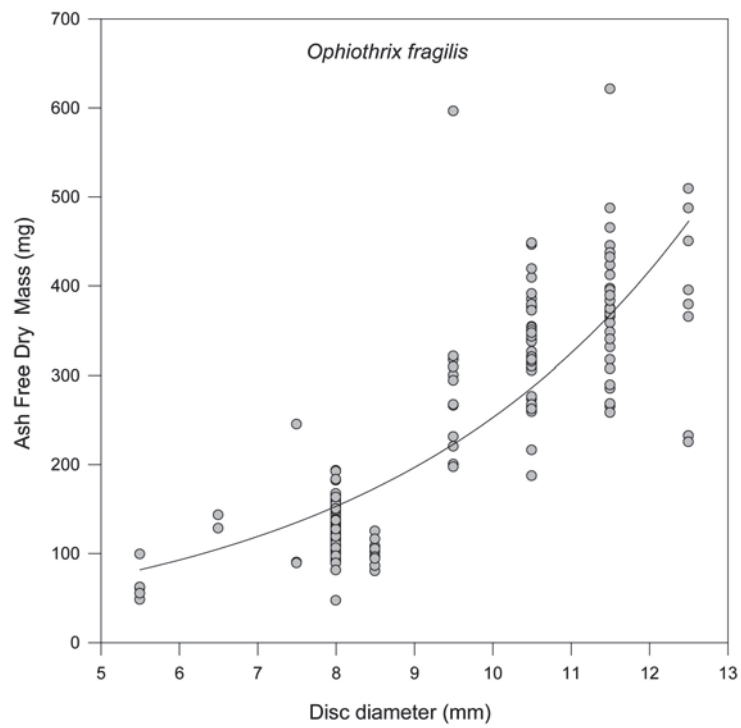
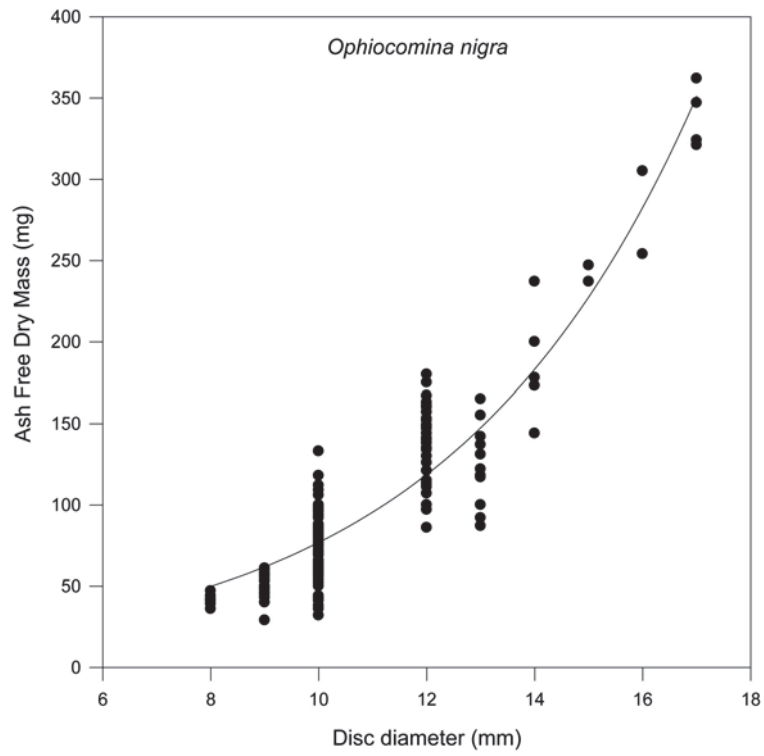


Figure 4. Relationship (model 2) between the ash-free dry mass (AFDM, in mg) and the disc diameter (DD, in mm) of *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis*. Model was fitted from all 2011 data pooled across the study site.

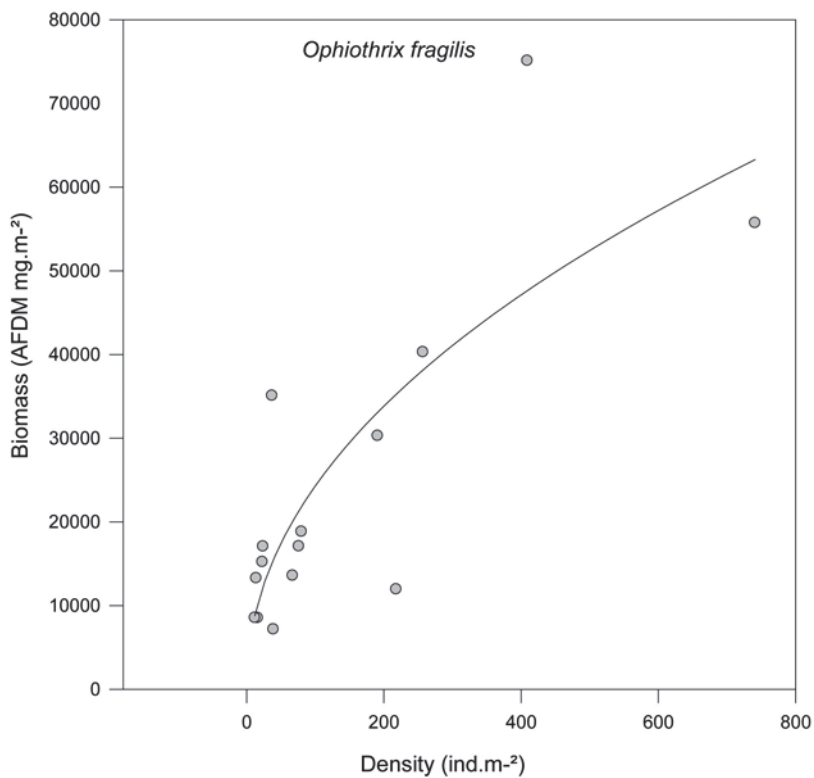
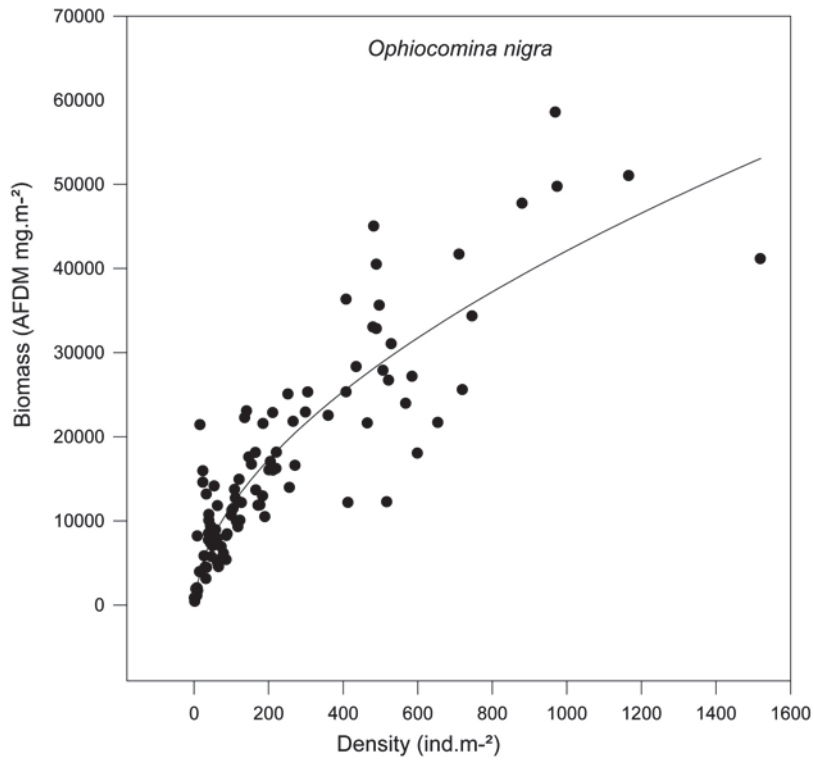


Figure 5. Relationship (model 3) between the biomass (ash-free-dry mass: AFDM, in mg.m⁻²) and the density (D, ind.m⁻²) for *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis*. Model was fitted from all 2011 data pooled across study site.

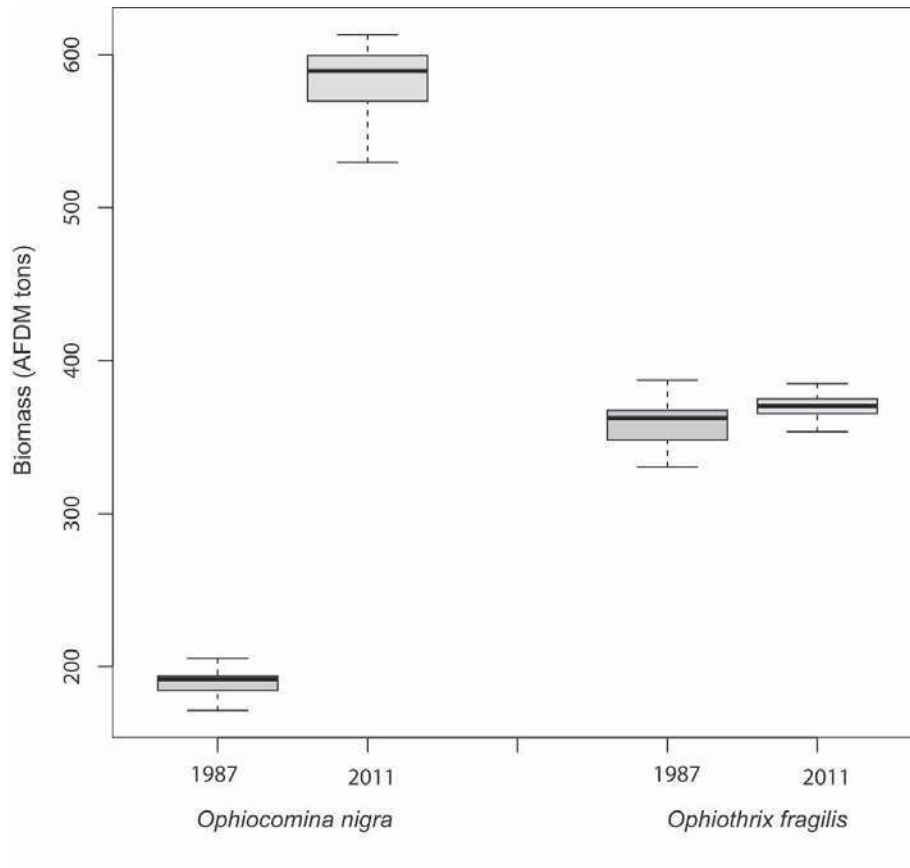


Figure 6. Estimates of total biomass (ash-free-dry mass: AFDM, in tons) issued from species- and year- dependent kriged densities on a regular grid and density vs biomass relationships (model 4) for *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* in the study area. The boxplots account for the uncertainty associated to the interpolated densities estimations that are summed to estimate the total biomass.

3.3 Seasonality index (α)

The seasonality index (α) decreased between 1980 and 1996 indicating that more days were needed to reach 50% Chl *a* biomass. The seasonality index estimated between 1999 and 2011 showed the exact opposite trend, with a decreasing number of days to reach 50% Chl *a* biomass (Fig. 7).

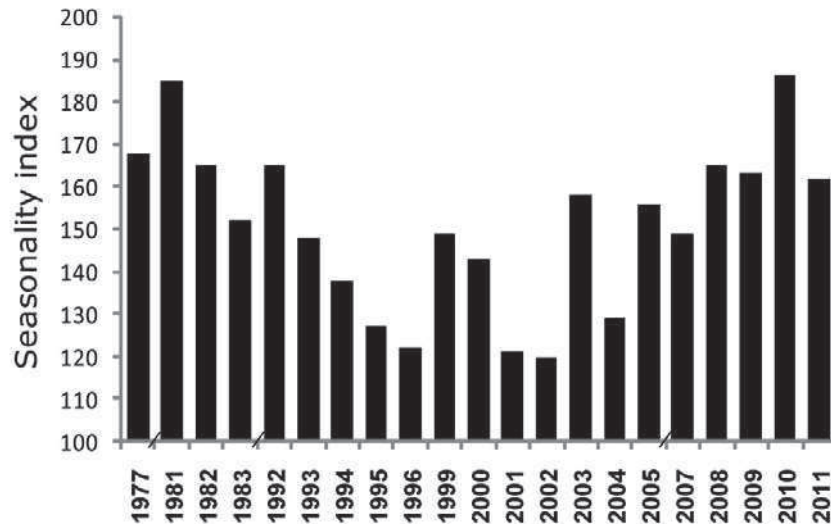


Figure 7. Variations in the seasonality index $\alpha=260-\beta$, where β is the number of days required to obtain half the integrated Chl *a* biomass assessed over 260 days (from 15 February to 3 November), as calculated in Chauvaud et al. (2000) (from 1977 to 1996) and in the present study (from 1999 to 2011), using data from the Bay of Brest buoy operated by the Service d'Observation en Milieu Littoral (SOMLIT, 2005) since 1997

4. Discussion

4. 1 Changes in ophiuroid dominances

Echinoderms play key ecological roles in ecosystems, where they often exhibit large population densities (Uthicke et al. 2009). We focused here on 2 very common ophiuroid species, that occur in most European shallow coastal areas in a large variety of sedimentary features. The bay of Brest was chosen to revisit the population status of *Ophiothrix fragilis* and *Ophiocomina nigra*, two very abundant species structuring the benthic compartment (Hily 1989, 1991). We used data collected 25 years ago and conducted a survey with the same protocol to reveal multi-decadal changes in the density and the biomass of the two ophiuroid species. The 2011 survey highlighted that *Ophiocomina nigra* had spread over and beyond the whole prospected area. Its densities were 5 times higher than the ones estimated in 1987: using the relationship between density and size, we showed *O. nigra* had 3 fold increased its biomass to reach 22 t. km⁻² (ash-free dry mass) in 2011. The *Ophiothrix fragilis* population not only decreased in density but moved to the southernmost part of the study area. The total biomass of this species did not change between 1987 and 2011 and the 2011 distribution pattern revealed a clear exclusion of *O. fragilis* from the central part of the study area, where *O. nigra* is now highly dominant.

To our knowledge, this study reported for the first time such an increase in density for *Ophiocomina nigra*. Mixed *Ophiothrix fragilis* and *O. nigra* beds are a common feature in a variety of sediments in Europe, but are usually largely dominated by *O. fragilis* (see for example Allain 1974; Vevers 1952; Cabioch 1967; Hughes 1998). While *O. fragilis* densities can peak with $>5000 \text{ ind.m}^{-2}$ (Davoult & Migné 2001; Méar et al. 2006) because of its gregarious and social behavior (Broom 1975; Brun 1969), *O. nigra* was very rarely reported with high densities, especially when co-occurring with *O. fragilis* where it usually represents less than 8% of the ophiuroid population (Holmes 1984). Our maximum values (e.g. 1500 ind.m^{-2}) matched the only high density of *O. nigra* reported in the literature, in the west coast of Scotland where this species locally reached 2000 ind.m^{-2} in a monospecific bed (Aronson 1989). *O. fragilis* populations were reported as stable over time (e.g. Holme 1984; Lefebvre et al. 2003), and the present investigation supports this population characteristic, when considering the total biomass of this species in the central Bay of Brest. In 1987, Hily (1991) reported the most dense *O. fragilis* beds in the central part of the study area, in response to occurrence of optimal habitat features, such as suitable substrata, favorable local hydrodynamic conditions and a high primary production. Our video survey showed that this species was now only reported in close association with dead slipper limpet (*Crepidula fornicata*) beds.

Echinoderm has previously been qualified as a “boom-bust” phylum, because of notoriously large changes in population density but most echinoderm models refer to Asteroidea or Echinoidea families (see review by Uthicke et al. 2009). In our study, a 5 fold increase in *Ophiocomina nigra* density fits the definition of a large population density variation (at least two doubling in population density), also called outbreaks, as defined by Uthicke et al. (2009). While it is difficult without time series to estimate the level and the tendency of deep changes in ophiuroid population, this investigation targeted adults of well-known species with a long lifespan (up to 14 years, Gorzula 1977). Similar changes were observed in several embayments (e.g. in bay of Douarnenez). Observed changes in population densities were then not local episodic “boom-bust” events but were very likely due to progressive changes in environmental conditions and/or anthropogenic factors.

4. 2 Ophiuroid success linked with human-induced environmental changes?

In most cases, fluctuations in high density populations are reported for echinoderms with planktotrophic larval development (Uthicke et al. 2009, Valentine & Edgar 2010). Both *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* are planktotrophic developers (Stöhr 2005), hence supporting the possibility of two outbreaking ophiuroids. Because the two species exhibit similar planktotrophic developments, large population density variations in one of the two species are most likely triggered by the association of biological traits and/or changes in food supply of adults.

While both adult ophiuroid species are reported to be suspension-feeders, collecting particles from the water-column with their arms (Aronson 1989), *Ophiocomina nigra* exhibits a much wider trophic plasticity and displays a very important versatile feeding behavior (Fontaine 1965) as this species is more mobile at the sediment-water interface and commonly behave either as a deposit-feeder feeding from the surface film (Magnus 1963) or browsing from a variety of deposited material (Vevers 1956), or behave as a carnivorous species, foraging over detritus or carrions (Nagabhushanan & Colman 1959). As demonstrated for other echinoderms, (Norkko et al. 2007; Trush & Cummings 2011) flexibility in feeding habits of *O. nigra*, contributes to the success of the species (Fontaine 1965).

Changes in potential food supply in the bay of Brest has probably resulted in an increase in *O. nigra* density and enhanced the fecundity and fertilization success of adults, as demonstrated for other echinoderms (Sewell & Levitan, 1992). For the last decade, reports of green tides and high production of green macrophytes *Ulva* sp. has been an increasing issue in Brittany coastal waters (Dion & Le Bozec 1996; Merceron et al. 2007). The bay of Brest, as many other embayments (inshore fringes and estuaries), exhibits frequent macroalgae blooms (Mènesguen et al. 2006), hence providing a large supply of macroalgae detritus for species which can gain advantage from this. Overall *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* are widespread and abundant in many embayments in Brittany especially southward in the bay of Douarnenez (also impacted by green macroalgal blooms) where *O. nigra* also sharply increased during several decades (unpublished data).

Simultaneously, rocky western coasts of France (including the bay of Brest) have been heavily colonized by wild oysters *Crassostrea gigas* in the last decade (Cognie et al. 2006). Lejart & Hily (2011) investigated the consequences for the bay of Brest and reported that mass biodeposits from the invasive oyster reefs could be washed away from the reefs and

sedimented in further deeper areas into the bay. Such organically rich inputs could result in a diversified and unusual deposit-feeder fauna (Hily 1991; Lejart & Hily 2011). Because of its higher trophic plasticity, *O. nigra* benefited more from those changes than *O. fragilis*.

Anthropogenic disturbances in the bay of Brest could also likely induced changes in ophiuroid distribution. Dredging activities in this bay targeted the scallop *Pecten maximus* and more recently the warty clam *Venus verrucosa*. While the landing of scallops remained under 25 tons.year⁻¹ in 1980, it has linearly increased since then to reach more than 350 tons.year⁻¹ in 2000 (Fleury et al. 2003). As demonstrated for the starfish *Asterias rubens* in the Barents Sea (Zolotaref 2002) or for the ophiuroid *Ophiura albida* (Gaspar et al. 2003), chronic dredging activities attract mobile scavengers and predators (Kaiser & Spencer 1994). In the late 80, a restocking / sea-ranching program was launched for the scallop in the bay of Brest (Alban & Boncoeur, 2008). The main seeding area perfectly fits within our study area, in the central part of the bay. This seeding program and the ultimately linked dredging activities very likely benefited *Ophiocomina nigra*, which is reported to feed on damaged or weak scallops (Jenkins et al. 2004). Over long term periods, this could partly explain *O. nigra* success.

4. 3 Ecological consequences of changes in ophiuroid densities

Changes in Echinoidea population densities can have deep consequences in the functioning of the ecosystem, as highlighted in the die-off of the tropical herbivore urchin *Diadema antillarum* transforming the coral community into a macroalgal community (Lessios 1988) or in the outbreak of urchin populations adversely affecting the kelp forest dynamic (Steneck et al. 2004). The bay of Brest is a system where primary production and phytoplankton bloom events are partly regulated by suspension-feeders (Grall & Chauvaud 2002), and where large populations of the invasive slipper limpet *Crepidula fornicata* or the ophiuroid *Ophiothrix fragilis* dominated the benthic suspension-feeding compartment (Hily 1991; Chauvaud et al. 2000; Grall & Chauvaud 2002). Besides a spatial shift of the population, our video survey revealed that the *O. fragilis* had now colonized *C. fornicata* beds and that this area was the only one left uncolonized by *Ophiocomina nigra* in high densities. In the studied area, sampling stations also revealed that the vast majority – if not all – slipper limpets were dead. We suggested here that the *O. fragilis* beds covering the *C. fornicata* beds had progressively lead to the death of most of the slipper limpets underneath. Whether *O. fragilis* caused the death of *C. fornicata* or not, dead shell beds are a very suitable habitat for

O. fragilis which commonly lives in more or less muddy microhabitats among shell and gravels (Cabioch 1967; Warner & Woodley 1975; Hily et al. 1988). Hence This study showed that *O. nigra* has excluded *O. fragilis* from the central part of the bay, leaving dead slipper limpet beds as potential habitat for *O. fragilis* and limiting this invasive gastropod distribution in the central part of the bay of Brest.

The first and probably the main consequence of ecological effect of changes in ophiuroid populations in this bay is that the *Crepidula fornicata* beds may no longer have the same grazing impact on the microalgae (phytoplankton) biomass. Indeed, Chauvaud et al. (2000) clearly demonstrated that the seasonality index was decreasing between 1980 and 1996 while the density and biomass of suspension-feeders (and mostly the invasive *C. fornicata*) increased, indicating that the suspension-feeders were controlling the phytoplankton biomass. The opposite trend was observed between 1999 and 2011 (Fig. 7), which indicates that suspension-feeders were probably no longer having the same controlling effect on the phytoplanktonic blooms in the bay of Brest.

Ophiuroid beds are known to play an important role in the fluxes of organic matter from the pelagic to the benthic system (Davoult et al. 1991). Sediment reworking throughout ophiuroid bioturbation also contributes to sediment biochemical processes (Lohrer et al. 2004; Webb & Eyre 2004; McLenaghan et al. 2011). Because of its high densities and its mobility and burrowing activity within the superficial sediment layers, *Ophiocomina nigra* is likely to locally affect nutrient cycling at the sediment surface. Ultimately, spreading of ophiuroid species over large areas may affect the habitat diversity. This assumption is supported by several studies and theoretical concepts in biology and ecology suggesting that the replacement of specialist by generalist species - such as *O. nigra* - with a change in functional attributes, is causing functional homogenization at the community level (Trush et al. 2006; Clavel et al. 2010). Moreover, because of its non-exploitation by humans or predators, *O. nigra* could be considered as a trophic impasse and may decrease the efficiency of overall food web interactions in the ecosystem, as previously showed for *C. fornicata* in other shallow-water systems (Arbach Leloup et al. 2008; Cugier et al. 2010).

Acknowledgement

This work was funded by the Programme National sur l'Environnement Côtier (PNEC) and by the Parc Naturel Marin d'Iroise (PNMI). The authors wish to thank X. Caisey and B. Segalen for the video maintenance in steady optimal conditions, as well as J.D. Gaffet, F. Dérian, Dr. A. Carlier, E. Amice for collecting echinoderms during the "EDO" campaign. We thank C. Cordier and C. Croguennec for their help in performing maps. Dr. J. Grall (University of Brest) provided useful comments in an early draft of this manuscript.

Literature cited

- Alban F, Boncoeur J (2008) "Sea Ranching and Self-Management in the Bay of Brest (France): Technical Change and Institutional Adaptation of a Scallop Fishery" in R. Townsend and R. Shotton, (Eds.) Case Studies in Fisheries Self-Governance. FAO Fisheries Technical papers n°504, Rome, FAO, p.41-52.
- Allain JY (1974) Ecologie des bancs d'*Ophiothrix fragilis* (Abildgaard) (Echinodermata: Ophiuroidea) dans le golfe Normanno-Breton. Cah Biol Mar 15: 235-273
- Allen JR (1998) Suspension feeding in the brittle-star *Ophiothrix fragilis*: efficiency of particle retention and implications for the use of encounter-rate models. Mar Biol 132(3): 383-390.
- Andrew NL, Underwood AJ (1992) Associations and abundance of sea urchins and abalone on shallow subtidal reefs in southern New South Wales. Aus J Mar Freshw Res 43:1547-1559
- Arbach Leloup F, Desroy N, Le Mao P, Pauli D, Le Pape O (2008) Interactions between a natural food web, shellfish farming and exotic species: The case of the Bay of Mont Saint Michel (France). Estuar Coast Shelf Sci 76(1):111-120
- Aronson RB (1989) Brittlestar beds: Low-predation anachronisms in the British Isles. Ecology 70(4):856-865
- Berger WH, Wefer G (1990) Export production: seasonality and intermittency, and paleoceanographic implications. Palaeogeogr Palaeoclimatol Paleoecol (Global Planetary Change Suppl) 89:245-254
- Bourgoin A, Guillou M (1988) Demographic study of *Amphiura filiformis* (Echinodermata: Ophiuroidea) in Concarneau Bay (Finistère, France). Oceanol Acta 11(1):79-87
- Bowmer T (1982) Reproduction in *Amphiura filiformis* (Echinodermata: Ophiuroidea): Seasonality in Gonad Development. Mar Biol 69: 281-290
- Broom DM (1975) Aggregation behavior of the brittle star *Ophiothrix fragilis*. J Mar Biol Assoc UK 55:191-197
- Brun E (1969) Aggregation of *Ophiothrix fragilis* (Abildgaard)(Echinodermata: Ophiuroidea). Nytt mag zool 17:155-60
- Cabioch L (1967) Résultats obtenus par l'emploi de la photographie sous marine sur le fonds du large de Roscoff. Helgolander wiss. Meeresunters, T. 15, pp 361-70

- Chauvaud L, Thouzeau G, Paulet YM (1998) Effects of environmental factors on the daily growth rate of *Pecten Maximus* juveniles in the Bay of Brest. *J Exp Mar Biol Ecol* 227(1):83-111
- Chauvaud L, Jean F, Ragueneau O, Thouzeau G (2000) Long-term variations of the Bay of Brest ecosystem: benthic-pelagic coupling revisited. *Mar Ecol Prog Ser* 200:35-48
- Clavel J, Julliard R, Devictor V (2010) Worldwide decline of specialist species: toward a global functional homogenization? *Front Ecol Environ*; doi:10.1890/080216
- Cognie B, Haure J, Barille L, (2006) Spatial distribution in a temperate coastal ecosystem of the wild stock of the farmed oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture* 259(1-4) : 249-259
- Coum A (1979) La population de crépidules *Crepidula fornicata* (L.) en rade de Brest: écologie et dynamique. Thèse de doctorat, Université Bretagne Occidentale, Brest
- Cugier P, Struski C, Blanchard M, Mazurié J, Pouvreau S, Olivier F, Trigui JR, Thiébaud E (2010) Assessing the role of benthic filter feeders on phytoplankton production: the case of the Mont Saint Michel bay, France. *J of Mar Syst* 82:21-34
- Davoult D, Gounin F, Janquin MA (1991) Ammonium excretion by the ophiurid *Ophiothrix fragilis* as a function of season and tide. *Mar Biol* 111:425-429
- Davoult D, Migné A (2001) Respiration and excretion of a dense *Ophiothrix fragilis* population in the Bay of Seine (English Channel, France). In M.F. Barker (Ed.), *Echinoderm 2000*. Lisse: Swets and Zeitlinger pp 243-248
- Dauvin JC, Ruellet T (2008) Macrozoobenthic biomass in the Bay of Seine (eastern English Channel). *J Sea Res* 59:320-326
- Dion P, Le Bozec S (1996) The French atlantic coasts. In : Shramm W, Nienhuis PH, editors. *Marine benthic vegetation. Recent changes and the effects of eutrophication*. Berlin. Heidelberg: Springer-Verlag p. 251-64
- Fontaine AR (1965) The feeding mechanisms of the Ophiuroid *Ophiocomina nigra*. *J Mar Biol Assoc UK* 45:373-385
- Fleury PG, Carval JP, Muzellec ML, Gérard A, Barret J, Cochard JC, Dao JC, (2003) 1983-2002: The 20-year development of the King scallop (*Pecten maximus*) sea-farming industry in the bay of Brest (France). Historical record, results, prospect, 14th Pectinid Workshop, St-Petersburgh (Floride, U.S.A.)
- Gaspar MB, Santos MN, Leitao F, Chicharo L, Chicharo A, Monteiro CC (2003). Recovery of substrates and macro-benthos after fishing trials with a new Portuguese clam dredge. *J the Mar Biol Assoc UK* 83(4), 713-717
- Goransson P (2002) Petersen's benthic macrofauna stations revisited in the Oresund area (southern Sweden) and species composition in the 1990s - signs of decreased biological variation. *Sarsia* 87(4): 263-280
- Gorzula SJ (1977) A study of growth in the brittle star *Ophiocomina nigra*. *West Nat* 5:71-80
- Grall J, Chauvaud L (2002). Marine eutrophication and benthos: the need for new approaches and concepts. *Global Change Biol* 8(9):813-830

- Guillou M (1996) Biotic and abiotic interactions controlling starfish outbreaks in the Bay of Douarnenez, Brittany, France. *Oceanol Acta* 19(3,4):415-420
- Hily C, Girardeau JP, Quéguiner B (1988) Tidal rhythm of trophic activity of *Ophiothrix fragilis* in the bay of Brest. *C R Acad Sci Paris* 307(3): 265-270
- Hily C (1989) La mégafaune benthique des fonds meubles de la rade de Brest: pré-échantillonnage par vidéo sous-marine. *Cah Biol Mar* 30: 433-454
- Hily C (1991) Is the activity of benthic suspension feeders a factor controlling water quality in the Bay of Brest ?. *Mar Ecol Prog Ser* 316:1-6
- Hily C, Le Loc'h F, Grall J, Glémarec M (2008) Soft bottom macrobenthic communities of North Biscay revisited: Long term evolution under fisheries-climate forcing. *Estuar Coast Shelf Sci* 78:413-425
- Holme NA (1984) Fluctuations of *Ophiothrix fragilis* in the western English Channel. *J Mar Biol Assoc UK* 64:351-378
- Houk P, Raubani J (2010) *Acanthaster planci* Outbreaks in Vanuatu Coincide with Ocean Productivity, Furthering Trends throughout the Pacific Ocean. *J Ocean* 66: 435-438
- Hughes TP (1994) Catastrophes, phase shifts, and large scale degradation of a Caribbean coral reef. *Science* 265:1547-1551
- Hughes DJ (1998) Subtidal Brittlestar beds. An overview of dynamics and sensitivity characteristics for conservation management of marine SACs. *Scott Assoc Mar Sci (UK Marine SACs Project)* 78p
- Jenkins SR, Mullen C, Brand AR (2004). Predator and scavenger aggregation to arded by- catch from dredge fisheries: importance of damage level. *J Sea Res* 51: 69-76
- Kaiser MJ, Spencer BE (1994). Fish scavenging behavior in recently trawled areas. *Mar Ecol Prog Ser* 112:41-49
- Kitanidis P, (1997) *Introduction to Geostatistics: Application to Hydrology*. Cambridge University Press, Cambridge, 249 pp
- Lefebvre A, Ellien C, Davoult D, Thiébaud E, Salomon JC (2003) Pelagic dispersal of the brittle star *Ophiothrix fragilis* larvae in a megatidal area (English Channel, France) examined using an advection/diffusion model. *Estuar Coast Shelf Sci* 57:421-433
- Lejart M, Hily C (2011) Differential response of benthic macrofauna to the formation of novel oyster reefs (*Crassostrea gigas*, Thunberg) on soft and rocky substrate in the intertidal of the Bay of Brest, France. *J Sea Res* 65:84-93
- Le Pape O, Del Amo Y, Cann P, Ménesguen A, Aminot A, Quéguiner B, Tréguer P (1996) Resistance of a coastal ecosystem under increasing eutrophic conditions: the Bay of Brest (France), a semi-enclosed zone of western Europe. *Cont Shelf Res* 16(15):1885-1907
- Lessios HA (1988) population-dynamics of *Diadema antillarum* (Echinodermata, Echinoidea) following mass mortality in Panama. *Mar Biol* 99(4): 515-526
- Lohrer A M, Thrush SF, Gibbs MM (2004) Bioturbators enhance ecosystem function through complex biogeochemical interactions. *Nature* 431, 1092-1095

- Magnus DBE (1963) Über das Abweiden der Flutwasseroberfläche durch den Schlangensterne *Ophiocoma scolopendrina* (Lamarck). Verh dtsch zool Ges, 1962, Zool Anz Sbd 26pp 471-81
- Matheron G (1971) The theory of regionalized variables and its applications. Cahiers du centre de Morphologie Mathématique 5:212pp
- McLenaghan NA, Tyler AC, Mahl UH, Howarth RW, Marino RM (2011) Benthic macroinvertebrate functional diversity regulates nutrient and algal dynamics in a shallow estuary. Mar Ecol Prog Ser 426:171-184
- Méar Y, Poizot E, Murat A, Lesueur P, Thomas M (2006) Fine-grained sediment spatial distribution on the basis of a geostatistical analysis: Example of the eastern Bay of the Seine (France). Cont Shelf Res 26 2335-2351
- Ménesguen A, Cugier P, Leblond I (2006) A new numerical technique for tracking chemical species in a multisource, coastal ecosystem applied to nitrogen causing *Ulva* blooms in the Bay of Brest (France). Limnol Oceanogr 5 (1, part 2) 591-601
- 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 Tot Envir 384:293-305
- Muths D, Jollivet D, Davoult D (2010) Population dynamics disparities of the common brittle-star *Ophiothrix fragilis* between three localities of the English Channel, Echinoderms: Durham. Crc Press-Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp. 627-632
- Nagabushanam AK, Colman JS (1959) Carrion-eating by ophiuroids. Nature, Lond 184: p 285
- Neumann H, Reiss H, Rakers S, Ehrich S, Kröncke I (2009). Temporal variability in southern North Sea epifauna communities after the cold winter of 1995/1996. J Mar Sci, 66: 2233-2243.
- Norkko A, Thrush SF, Cummings VJ, Gibbs MM, Andrew NL, Norkko J, Schwarz AM (2007) Trophic structure of coastal Antarctic food webs associated with changes in sea ice and food supply. Ecology 88:2810-2820
- R Development Core Team (2012) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Reise K (1982) Long-term changes in the macrobenthic invertebrate fauna of the Wadden Sea: are polychaetes about to take over? Neth J Sea Res 16:29-36
- Reise K, Schubert A (1987) Macrobenthic turnover in the subtidal Wadden Sea: the Norderaue revisited after 60 years. Helgol Mar Res 41: 69-82
- Seymour RM, Bradbury RH (1999) Lengthening reef recovery times from crown of thorns outbreaks signal systemic degradation of the great barrier reef. Mar Ecol Prog Ser 176: 1-10
- Sewell MA, Levitan DR (1992) Fertilization success during a natural spawning of the dendrochirote sea cucumber *Cucumaria miniata*. Bull Mar Sci 51: 161-166
- SOMLIT (2005) <http://somalit.epoc.u-bordeaux1.fr/>
- Steneck RS, Vavrinc J, Leland AV (2004) Accelerating Trophic-level Dysfunction in Kelp Forest Ecosystems of the Western North Atlantic. Ecosystems 7:323-332

- Thiébaud E, Cabioch L, Dauvin JC, Retière C, Gentil F (1997) Spatiotemporal persistence of the *Abra alba*-*Pectinaria koreni* muddy fine sand community of the eastern Bay of Seine. *J Mar Biol Assoc UK* 77:1165-1185
- Thrush SF, Gray JS, Hewitt JE, Uglund KL (2006) Predicting the effects of habitat homogenization on marine biodiversity. *Ecol Appl* 16(5):1636-1642
- Thrush SF, Cummings VJ (2011) Massive iceberg alteration in primary food resources and change in benthic communities at cape Evans, Antarctica. *Mar Ecol* 32:289-299
- Uthicke S, Schaffelke B, Byrne M (2009) A boom-bust phylum? Ecological and evolutionary consequences of dense variations in echinoderms. *Ecol Monogr* 79:3-24
- Valentine JP, Edgar GJ (2010) Impact of a population outbreak of the urchin *Tripneustes gratilla* amongst Lord Howe Island coral communities. *Coral Reefs* 29:399-410
- Vevers HG (1952) A photographic survey of certain areas of the sea floor near Plymouth. *J Mar Biol Assoc UK* 31:215-222
- Vevers HG (1956) Observations on feeding mechanisms in some ophiuroids. *Proc zool Soc Lond* 126:484-85
- Warner GF, Woodley JD (1975) Suspension-feeding in the brittle star *Ophiothrix fragilis*. *J Mar Biol Assoc UK* 55: 199-210
- Wharton WG, Mann KH (1981) Relationship between destructive grazing by the sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis* and the abundance of American lobster, *Homarus americanus*, on the Atlantic coast of Nova Scotia. *Can J Fish aquat Sci* 38: 1339-1349
- Webb AP, Eyre BD (2004) The effect of natural populations of the burrowing and grazing soldier crab (*Mictyris longicarpus*) on sediment irrigation, benthic metabolism and nitrogen fluxes. *J Exp Mar Biol Ecol* 309:1-19
- Zolotarev P (2002) Population density and size structure of sea star on beds of Iceland scallop, *Chlamys islandica*, in the southeastern Barents Sea. *Sarsia* 87:91-96

Chapitre 2 : la baie de Douarnenez

Article II: Fluctuations des densités d'ophiures *Ophiothrix fragilis* et *Ophiocomina nigra* en baie de Douarnenez (Bretagne, France)

Résumé

La baie de Douarnenez est un site largement exposé aux houles de la mer d'Iroise générant une importante diversité de faciès sédimentaires. Ce site héberge une faune benthique diversifiée qui se caractérise par une forte richesse spécifique et une abondance particulière d'échinodermes, notamment les étoiles de mer et les ophiures. Depuis plus de 30 ans, cette baie fait l'objet d'apports croissants de nutriments d'origine agricole qui restent confinés en fond de baie générant des proliférations de macroalgues vertes (*Ulva* sp).

Un état des lieux de la macrofaune réalisé au début des années 80 a permis de définir une zone de référence de suivi dans la partie centrale de la baie dans laquelle la biomasse d'échinodermes a été régulièrement échantillonnée par des opérations de dragage et des profils vidéo jusqu'en 1988 (Guillou, 1990). En 1981, *Ophiothrix fragilis* était dominante mais a vu ses densités décroître progressivement parallèlement à une très forte augmentation de la biomasse de deux étoiles de mer prédatrices *Asterias rubens* et *Marthasterias glacialis* jusqu'en 1984. A cette date la comparaison des productions d'étoiles avec celle des bivalves qui constituent leur proie potentielle, suggère que seuls 50% des besoins nutritionnels des étoiles sont couverts par la production des bivalves (Guillou 1996). De 1984 à 1988, la diminution progressive de la biomasse des étoiles se traduit par un retour à l'équilibre trophique mais pas de reconstitution du stock d'*Ophiothrix fragilis* et *Ophiocomina nigra*.

La présente étude s'est proposée de quantifier l'évolution des populations de ces deux ophiures, entre 1980 et 2011. Cette étude a été établie sur la base d'un échantillonnage (1) semi-quantitatif par dragage (octobre 2008 et février 2011) dans la zone de référence, selon un protocole similaire à celui mis en place dans les années 1980, (2) quantitatif par vidéo de l'ensemble de la baie (février 2011) selon le protocole décrit précédemment pour la rade de Brest (cf chapitre 1, Article I).

En 2008, la zone de référence montre une recolonisation des deux espèces. En 2011, la densité d'*Ophiothrix fragilis* n'est cependant pas supérieure à celle estimée au début des années 1980. En revanche, la densité d'*Ophiocomina nigra* a augmenté d'un facteur 4 par rapport à 1987 et la distribution spatiale apparaît plus homogène au sein de la zone de référence. Les prospections vidéo montrent qu'en 2011, *O. nigra* couvre plus de la moitié de la superficie de la baie mais la distribution et les niveaux de densité de l'espèce semblent structurés en fonction de la nature du fond. Les niveaux de très fortes densités (> 1500 ind.m⁻²) sont principalement localisés sur les bancs de maërl hébergeant les jeunes individus (<5

mm) tandis que le reste de la population est composé d'individus de classes de taille plus hétérogènes (de 5 à 17 mm) dans la partie nord et nord-est et dans les sédiments hétérogènes envasés du centre de la baie. Cette forme de distribution laisse supposer des migrations ontogéniques des substrats durs plus favorables au recrutement des organismes, vers des fonds plus sableux et profonds et, en lien avec le comportement trophique de l'espèce.

L'expansion d'*Ophiocomina nigra* dans la baie semble suivre la tendance observée en rade de Brest. Plusieurs études reliant la prolifération de l'espèce à l'enrichissement des eaux côtières avancent l'hypothèse d'un lien de cause à effet avec l'augmentation des algues vertes et ceci, d'autant qu'*Ophiocomina nigra* est une des seules ophiures qualifiée de « brouteuse » (Warner 1982). Pour tester cette hypothèse, une étude plus fine de son écologie trophique apparaît nécessaire de même qu'une prospection à plus large échelle de sa distribution doit être mise en œuvre pour établir un lien avec l'enrichissement du milieu.

Article II : Density fluctuations of the ophiuroids *Ophiothrix fragilis* and *Ophiocomina nigra* in the Bay of Douarnenez, Brittany, France

Sous presse dans Marine Biodiversity Records

Guillou Monique^{1*}, Blanchet-Aurigny Aline², Edouard le goaster^{1,2}

^{1*} Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR), Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale, Brest, UMR CNRS IRD UBO 6439, 29280 PLOUZANE, France

² IFREMER, Laboratoire d'Ecologie Benthique, Département Océanographie et Dynamique des Ecosystèmes, IFREMER, Centre de Brest, 29280 PLOUZANE, France

Abstract

In the Bay of Douarnenez, in a reference area surveyed for echinoderms, the relative abundance of epifaunal ophiuroids (*Ophiothrix fragilis* and *Ophiocomina nigra*) was estimated by dredging and making video surveys. Two surveys were undertaken in 2008 and 2011, following a protocol similar to that used in a long-term survey made in the 1980s. The data were then compared between the two periods. The present observations demonstrate a recolonisation of this site by these ophiuroids, which had almost disappeared between 1983 and 1988. However, although the mean densities of *Ophiothrix fragilis* were similar to those found prior to this general ophiuroid decrease, *Ophiocomina nigra* densities were much greater. This latter species not only increased significantly in density and bottom coverage in the reference area, but also showed strong juvenile recruitments on maerl beds and colonization of other bottoms of the bay at very high densities according to a geostatistical analysis. Further studies would be necessary to establish whether or not there is a cause-and-effect relationship between the increase of green algae in the bay and the development of this opportunistic species.

Key words: long term survey, ophiuroid, asteroid, Brittany

1. Introduction

Bay of Douarnenez in western Brittany is a shallow bay, which is partially sheltered in the north but widely open to the Iroise Sea and exposed to its swells in the south and east. Swell and currents result in many different biotopes. Echinoderms are very diverse and dominate several benthic assemblages (Toulemont 1972; Bodin et al. 1985). In this ecosystem, some echinoderms show high interannual population fluctuations, particularly the starfish *Asterias rubens* (Linnaeus 1758), *Marthasterias glacialis* (Linnaeus 1758) and *Astropecten irregularis* (Pennant 1777). The fluctuations of these populations, together with the potentially causal environmental parameters were monitored over about ten years (from 1979 to 1988), and are discussed by Guillou (1990; 1996). The starfish population increased massively from 1983 to 1984; so much so that production estimates for bivalves and primary carnivores suggest only 50% of the food requirements of the asteroids could have been met by the production of their potential preys, the bivalves (Guillou 1996). A drop then occurred in primary carnivorous starfishes, which led to the re-establishment of the trophic equilibrium. Although no new starfish population increases have been recorded since this period, scientists were recently alarmed by the increase of filter-feeding ophiuroids on different sea bottom types in the bay.

A population outbreak of the ophiuroid *Ophiocomina nigra* (Abildgaard 1789) was recently recorded in the near Bay of Brest (Blanchet-Aurigny et al. 2012). The purpose of this study was to see if any changes had also occurred in the diversity and density of ophiuroid species in the Bay of Douarnenez. Two surveys were carried out, in October 2008 and February 2011, in order to assess the densities of the ophiuroids *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* (Abildgaard 1789) in the bay. The results were discussed in the light of previous data obtained by different echinoderm surveys in 1970s and 1980s.

2. Materials and methods

2.1 Bay of Douarnenez

The geomorphology, sedimentology and hydrodynamic aspects of the bay have already been described in several papers (Hinschberger 1970; Birrien 1987; Augris et al. 2005; Guillou 2007). Toulemont (1972), Chassé & Glémarec (1976), and Blanchet et al. (2004) made the link between the various types of sea bottom and their corresponding benthic

fauna. The highest biomass of echinoderms in the 1980s occurred in the centre of the bay, in an area where a gyre current produces a heterogeneous muddy sand bottom (Bodin et al. 1985) (Fig. 1). The mean grain size of the sediment in this area varies between 125-500 μm with a 1-10% silt content (particles $< 63 \mu\text{m}$). The annual water temperature range is 8-16 $^{\circ}\text{C}$, with a salinity of about 35. A coastal thermohaline front generally forms at the entrance of the bay from May to September.

The fresh water discharged into the bay is influenced by urban wastes from Douarnenez and, more importantly, by a catchment area on which large numbers of livestock are reared. The combined effect of these inputs leads to high concentrations of nutrients in the seawater. The semi-enclosed form of the bay and its low tidal regime confine these nutrients to the coastal band and lead to proliferations of phytoplankton and increasingly green tides (accumulations of *Ulva* sp.) (Merceron et al. 2007). This bay is the second worst impacted area for green algae in the Brittany region, which is notorious for developing high levels of this kind of pollution.

2.2 Sampling

2.2.1 Surveys in the 1980s: dredging and video

According to the abundance of echinoderms present, surveys were carried out in an area defined by Bodin et al. (1985) as the reference zone for a long-term survey of echinoderms (Fig. 1). In this dredging area, the samples were collected with a 1.8-m scallop dredge without teeth, equipped with a 2-cm mesh net. The dredge was towed for three minutes at 3 knots to prevent it from over-filling. The dredgings were randomly distributed in the sampling area. To estimate their length, the ship's position was recorded at the start and the end of each haul using three radar bearings. The mean evaluated length of the dredgings was $285 \pm 31.8 \text{ m}$. The abundance of individuals for each species was transformed into density per 100m^2 by taking into account the dredged area, i.e. the tow length multiplied by the width of the dredge (1.8 m). For each year in which samples were taken (Table 1), the density of each species was calculated as the mean value of all the hauls made over the reference area in autumn and winter sampling months. Sampling focused on 1 to 3 months with 3 to 8 hauls per month from 1981 until 1983; then on 13 to 22 hauls per month from 1984 until 1988, when the ophiuroids became much more difficult to sample. From October 1986 until October 1988, the sampling was carried out during a single month in autumn.

In December 1982 and February and October 1986, the density of *Ophiocomina nigra* was also evaluated using a sensitive underwater video camera mounted on a sledge. The mean density was calculated by dividing the length of the route filmed by the camera (width of field of view 0.40 m) into samples of 12.5 m, according to the method described and tested by Bourgoïn et al. (1985).

2.2.2 Surveys in 2008 and 2011

- *Video survey*

In 2011, a precise estimation of the ophiuroid density was also made using a vertically-oriented high-resolution camera (Sony CX 6 HD) fixed on a support. The camera allowed the acquisition of georeferenced images via Videonav software (Lunven et al. 2002). A 0.05 m² quadrat was fixed to the base of the support and filmed by the camera to define the sample area. The equipment was lowered from the drifting ship for bottom contact. This contact was repeated 20 times, allowing density estimation based on $0.05 \times 20 = 1$ m² per point. Ophiuroid densities were interpolated using ordinary kriging for a regular point grid covering the whole of Bay of Douarnenez. This geostatistical method analyses the spatial structure of the dataset through semi-variograms (see method in Blanchet-Aurigny et al. 2012). The kriging accounts for a minimum of 3 stations and a distance of up to 1 km from the grid point. In the dredging area, eight locations were sampled in this way.

- *Dredgings*

In October 2008 and February 2011, we resampled the reference site previously studied in the 1980s. The stations were located using a global positioning system coupled with Maxsea software.

Seven dredgings were made in 2008 and five in 2011. As the ophiuroid catch was so high during a 3-mn haul, the contents of the dredge were divided into several parts. Ophiuroids were counted in one of these parts selected at random. The total density of ophiuroids was then calculated by multiplying the number of individuals by the number of parts.

2.3 Density evolution

In 2008 and 2011, density evaluation in the reference area was based on a single sampling at the end of autumn or during winter. These results were compared with the mean of the autumn and winter data collected in the 1980s.

The ophiuroid occurrence (percentage of dredges in which the species was present) was then calculated. As variances were not homogeneous, the differences between the different surveys were analyzed for each species using Kruskal-Wallis tests, followed by the Mann-Whitney U test to identify specific group differences when the Kruskal-Wallis test was significant ($P < 0.05$).

3. Results

3.1 Historical data

In the reference site, the video surveys carried out between 1982 and 1986 indicated an absence or only a very low presence of *Ophiocomina nigra* (Table 2). In the dredgings, the ophiuroid abundance fell considerably between 1983 and 1988, which cannot have been a result of insufficient sampling as the number of dredgings actually increased during this period (Table 1).

3.2. Current surveys

In 2008, densities of both ophiuroids were found to have increased significantly compared with the data from the winter surveys of 1981-1982 and 1982-1983, which had been similar to one another for each species. *O. nigra* density did not change between 2008 and 2011, but *O. fragilis* had declined to a level not significantly different from the 1980s dredging estimates. In 2001, the relative occurrence of the two ophiuroids in the studied area thus differed greatly. In 2008 and 2011, occurrence in the dredges was 100 % for *O. nigra* and $\geq 80\%$ for *O. fragilis*, but it was near 60% in the winter of 1981-1982 and $\leq 33\%$ between 1982 and 1988 for both species. The 2011 video survey also revealed a large increase of *O. fragilis* and *O. nigra* densities in this area, about five times higher than the densities estimated by the dredge samples, suggesting a low dredge catchability. Data from the geostatistical analysis method showed that *Ophiocomina nigra* was distributed in several patches in the northeastern part of the bay. The densest patch ($> 1000 \text{ ind/m}^{-2}$) was located on a bottom of maerl or blocks (Fig. 1) and was composed of a mono-cohort of small individuals (5.4 ± 1.8

mm in disk diameter). The densities then decreased regularly toward the centre of the bay. In these areas the ophiuroid size distribution was much larger, with disk diameters between 5 and 17 mm. The species was absent from the eastern, western and southern parts of the bay. The sand is finer in these areas except in the opening of the bay, where the stronger currents result in coarser sediments. It was also in the opening of the bay that the highest densities of *Ophiothrix fragilis* were observed, with a patch of density > 150 ind.m⁻². Patches of lower densities of this species were present in the northwestern part of the bay cohabiting with *O. nigra*.

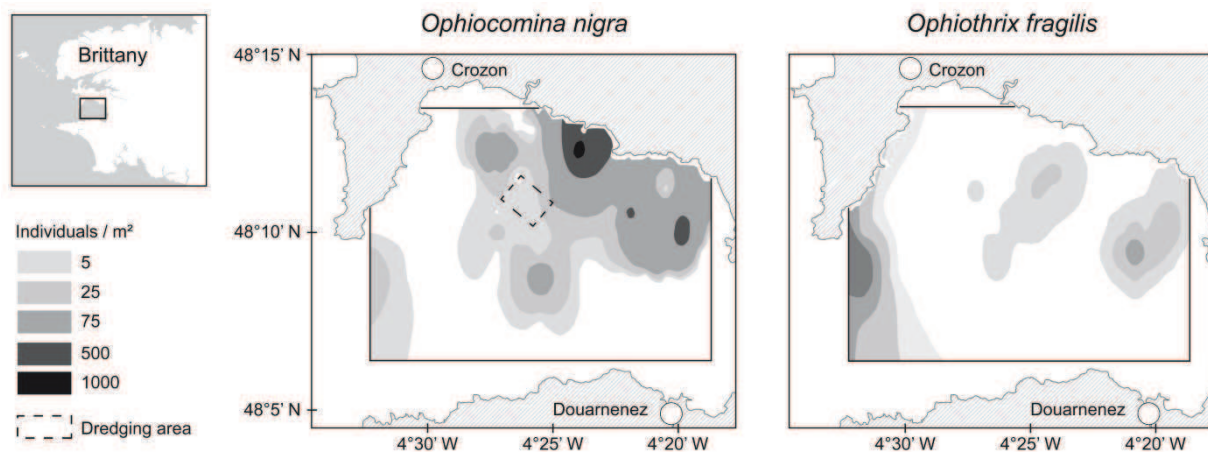


Figure 1. Interpolated distributions of densities of *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* 2011 in the Bay of Douarnenez. Densities were estimated from interpolations on a regular grid. The dotted square represents the dredging area.

4. Discussion

This study allowed us to establish the current population status of *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* in the Bay of Douarnenez, including the discovery of a patch of *O. nigra* exceeding 1000 in.m⁻² density. The historical data were sparse compared with these present data, consisting of a longer-term survey of a reference area sampled by dredging and video. However, these past sampling points were not randomly selected but located in an area where the density of echinoderms was considered to be high at the time (Bodin et al., 1987).

The dredging survey showed that between 1984 and 1988 both species almost disappeared from the studied site (a decline that may well have continued after this study period). From 1983 to 1987, the asteroid biomass was very high, with a dominance of *Asterias rubens* and *Marthasterias glacialis* from 1983 to 1985, then of *Luidia ciliaris* (Philippi 1837) and *Luidia sarsi* (Duben & Koren 1846) from 1986 to 1988 (Guillou 1996).

During the two first years, the very high starfish density (up to 45 g.m⁻² in wet weight over the whole site) could explain the decrease in ophiuroid abundance (Aronson 1989). From 1986, it was clear that the presence of *Luidia ciliaris* had a “scarecrow” effect on the ophiuroid community, as this species is known as an ophiuroid predator (Holme 1984; Aronson 1992).

Table 1. Characteristics of the samplings (dredging) in the reference area in 1980’s and 2008 and 2011

Year	Months	N	F (%)	
			<i>O. fragilis</i>	<i>O. nigra</i>
1981-1982	Oct. 81	16	62.5	56.2
	Dec. 81			
	Jan. 82			
1982	Oct. 82	3	33.3	33.3
1983-1984	Oct. 83	17	11.8	23.5
	Feb. 84			
1984-1985	Oct. 84	29	0	10.3
	Mar. 85			
1985-1986	Sep. 85	66	6.1	9.1
	Feb.86			
	Mar. 86			
1986	Oct. 86	18	0	0
1987	Sep. 87	13	7.7	23.1
1988	Oct. 88	14	0	28.6
2008	Oct. 08	7	85.7	100
2011	Feb. 11	5	80	100

Table 2. Mean ophiuroid densities in the reference area in 1980's and in 2008 and 2011 (ind. 100 m⁻²; data from dredging and video)

Year	<i>Ophiothrix fragilis</i>				<i>Ophiocomina nigra</i>			
	Dredging		video		Dredging		Video	
	N	CI	N	CI	N	CI	N	CI
1981-1982	73 ^a	73			17 ^a	60		
1982-1983	47 ^a	39	nd		6 ^a	27	5	6
1983-1984	< 0.1				85 ^a	876		
1984-1985	0				< 0.1			
1985-1986	1	0.4	nd		1	12	0	0
1986	0		nd		0		3	2
1987	< 0.1				0.2	1		
1988	0				0.2	1		
2008	217^b	136			354^b	180		
2011	112 ^{a,b}	97	540	4.5	321^b	159	1650	990

By 2008, both ophiuroid species had colonized the site again. In 2011, the mean asteroid density was low: from sampling operations following the same protocol as used previously, *M. glacialis* and *A. rubens* had estimated densities of 4 ± 2 and 7 ± 3 ind. per 100 m², respectively, (M. Guillou pers. obs.). No *Luidia sarsi* or *L. ciliaris* were observed in these recent surveys. The 2011 data as a whole did not seem to indicate that *O. fragilis* was present in densities above the average observed at the beginning of the 80s. These cyclical changes are similar to previous observations showing that dense *O. fragilis* populations may decline sharply within the space of a few years (review in Hughes 1998). The origin of these changes (natural or human-induced) is not clear, due to the lack of long-term records.

In contrast, *Ophiocomina nigra* increased from the initial period in the 1980s to the more recent one, confirming fishermen's and scientist's observations in west Brittany waters (see information available from the French Benthic Network, REBENT: www.rebent.org and Blanchet-Aurigny et al. 2012). In the dredges, its mean densities were about four times higher than the ones estimated in 1987 and the colonization of the reference area was more homogeneous (increase in species occurrence in the dredges and decrease in the variability of mean abundance). These data were confirmed by video surveys. Although the techniques used are not strictly comparable, differences were high in the reference area between 1982 and 2011 (≤ 0.05 ind.m⁻² from 1983 to 1986 vs 16.5 ind.m⁻² in 2011). The actual densities are

significantly higher than any data currently available in the literature on this species (see Wilson 1977; Hughes 1998) except the density observed concomitantly in the Bay of Brest, where an *O. nigra* population outbreak was described (up to 1500 ind.m⁻²), and a monospecific bed reported by Aronson (1989) on the west coast of Scotland, where this species locally reached 2000 ind.m⁻². In the present study, while the most dense concentrations of *O. nigra* (1000 ind.m⁻²) were made up of juveniles, the large size distribution (up to 17 mm in disk diameter) in the other dense patches observed in the bay showed that what we were observing was not the offspring of a single recruitment event, but a progressive extension of this long-lived species (Gorzula 1977). In a similar way as for other echinoderms (Guillou & Michel 1993), calcareous algae (maerl) could be a favourable bottom type for the settlement of this species. The adults should show further ontogenetic migrations to the centre of the bay, probably induced by temporal changes in feeding behavior and inter-specific competition.

It is possible that this increase in *Ophiocomina nigra* is due to an organic enrichment of the bay, as previously described by Raymont (1950) in Loch Sween in Scotland after input of fertilizers to the sea, or Allain et al. (1978) and Harmelin et al. (1981) in the vicinity of urban sewage discharges on Mediterranean coasts. Its proliferation in Bay of Brest was associated with changes in the environment and human activities that created favorable conditions for this opportunistic feeder (Hily 1991, Blanchet-Aurigny 2012a). The increase in green algae in Bay of Douarnenez (Merceron et al. 2007) may well be a factor contributing to the increase of this species, as it is one of the few ophiuroids capable of grazing seaweed (Warner 1982). On the basis of the present study, it is too early to conclude that there was a cause-and-effect relationship between the abundance of green algae and the proliferation of *O. nigra*. Our results do show that a wider long-term survey should be made of *O. nigra* distribution and its feeding habits in the bay in relation to the enrichment of seawater in organic matter and nutrients.

Acknowledgements

This work was partly funded by the *Parc Naturel Marin d'Iroise* (PNMI) and the French National Programme on the Coastal Environment (PNEC). The authors wish to thank Robert Marc and Christian Tartu (UBO) for their technical assistance in the 1980s, the team of the PNMI for their assistance in 2008 and X. Caisey and J.D. Gaffet for their assistance in 2011. We are also grateful to the crews of the N/O *Thalia* for the whole surveys and thank the Bureau de Traduction de Université at UBO for revision of the English of this manuscript.

Literature cited

- Allain JY, Romano JC, Semroud R (1978) *Ophiocomina nigra* (O.F. Muller) (Echinodermata, ophiuroidea) dans la région d'Alger. *Pelagos* 5: 50 - 64
- Aronson RB (1989) Brittlestar beds: low-predation anachronisms in the British isles. *Ecology* 70: 856 - 865
- Aronson RB (1992) Biology of a scale-independent predator-prey interaction. *Mar Ecol Prog Ser* 89: 1 - 13
- Augris C, Ménesguen A, Hamon D, Blanchet A, Le Roy P, Rolet J, Jouet G, Véron G, Delannoy H, Drogou M, Bernard C, Maillard X (2005) Atlas thématique de l'environnement marin de la baie de Douarnenez (Finistère). Editions Ifremer, Atlas & Cartes., 135 pp.
- Birrien JL (1987) Cycles de variations des éléments nutritifs et du phytoplancton en baie de Douarnenez et dans les secteurs adjacents : importance du front côtier de l'Iroise. Thèse de l'Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
- Blanchet A, Chevalier C, Gaffet D, Hamon D (2004) Bionomie benthique subtidale en Baie de Douarnenez. Rapport IFREMER 52 p.
- Blanchet-Aurigny A, Dubois SF, Hily C, Rochette S, Le Goaster E, Guillou M (2012) Multi-decadal changes changes in two co-occurring ophiuroid populations. *Mar Ecol Prog Ser* 460: 79-90
- Bodin P, Boucher D, Guillou J, Guillou M (1987) The trophic system of the benthic communities in the Bay of Douarnenez (Brittany). In Gibbs P.E. (ed.) *Proceedings of the 19th European Symposium on Marine Biology*. Cambridge University Press, pp. 361 - 370
- Bourgoin A, Guillou M, Morvan C (1985) Etude préliminaire de l'épifaune des sédiments meubles de la rade de Brest (Finistère, France) à l'aide d'une camera vidéo sous-marine. *Annales de l'Institut Océanographique*, Paris 61: 39 - 50
- Chassé C, Glémarec M (1976) Atlas du littoral français: atlas des fonds meubles du plateau continental du Golfe de Gascogne. Cartes biosédimentaires. Brest: I. C. A.
- Gorzula SJ (1977) A study of growth in the brittle-star *Ophiocomina nigra*. *The Western Naturalist* 6: 13-33
- Guillou M (1990) Biotic interactions between predators and super-predators in the Bay of Douarnenez, Brittany. In Barnes M. and Gibson R.N. (eds) *Proceedings of the 24th European Symposium on Marine Biology*. Aberdeen University Press, pp. 141-156
- Guillou M (1996) Biotic and abiotic interactions controlling starfish outbreaks in the Bay of Douarnenez, Brittany, France. *Oceanol Acta* 19: 415 - 420

- Guillou M, Michel C (1993) Reproduction and growth of *Sphaerechinus granularis* (Echinodermata: Echinoidea) in Southern Brittany. *J Mar Biol Assoc UK* 73: 179 - 192.
- Guillou N (2007) Rôles de l'hétérogénéité des sédiments de fond et des interactions houle-courant sur l'hydrodynamique et la dynamique sédimentaire en zone subtidale - applications en Manche orientale et à la pointe de la Bretagne. PhD Thesis, University of Brest, France
- Harmelin JG, Bouchon C, Hong JS (1981) Impact de la pollution sur la distribution des échinodermes des substrats durs en Provence (Méditerranée Nord-Occidentale). *Tethys* 10: 13 - 36
- Hinschberger F (1970) L'Iroise et les abords d'Ouessant et de Sein. Etude de morphologie et de sédimentologie sous-marines. Thèse d'état. University of Caen, France.
- Hily C (1991) Is the activity of benthic suspension feeders a factor controlling water quality in the Bay of Brest? *Mar Ecol Prog Ser* 69:179 - 188.
- Holme N (1984) Fluctuations of *Ophiothrix fragilis* in the western English Channel. *J Mar Biol Assoc UK* 94: 351 - 378
- Hughes DJ (1998) Subtidal Brittlestar beds (volume IV). An overview of dynamics and sensitivity characteristics for conservation management of marine SACs. Scottish Association for Marine Science (UK Marine SACs Project), 78 pp.
- Lunven M, Le Goualher V, Vasquez M (2002) VIDEONAV : Logiciel de navigation, traitement des bandes vidéo benthiques. Rapport Ifremer, DEL, 20 p.
- Merceron M, Antoine V, Auby I, Morand P (2007) In situ growth potential of the subtidal part of green tide forming *Ulva* spp. stocks. *Science of the total Environment* 384: 293 - 305.
- Raymont JEG (1950) A fish cultivation experiment in an arm of a sea-loch. IV. The bottom fauna of Kyle Scottish. *Proceeding of the Royal Society of Edinburgh Section B64*, 65 - 108
- Toulemont A (1972) Influence de la nature granulométrique des sédiments sur les structures benthiques. Baies de Douarnenez et d'Audierne (Ouest-Finistère). *Cahiers de Biologie Marine* 13: 91 - 136
- Uthicke S, Schaffelke B, Byrne M (2009) A boom-bust phylum? Ecological and evolutionary consequences of dense variations in echinoderms. *Ecology Monograph* 79:3-24
- Warner G (1982) Food and feeding mechanisms: ophiuroidea. In Jangoux M and Lawrence JM, (eds) *Echinoderm nutrition*. Balkema, Rotterdam, pp. 161-181
- Wilson JB (1977) Population dispersal in the brittle-star *Ophiocomina nigra* (Abildgaard) Echinodermata: Ophiuroidea. *J Mar Biol Assoc UK* 57: 405 - 439

PARTIE 2

Ecologie trophique

Cette partie s'articule sous la forme de trois chapitres

- Le premier chapitre aborde les caractéristiques des différentes sources de matière organique ayant fait l'objet d'un suivi *in situ* et d'analyses isotopiques ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$). Elle présente également les principes théoriques des outils isotopiques et des marqueurs d'acides gras appliqués à l'étude des réseaux trophiques.
- Le deuxième chapitre (Article III) est dédié à l'estimation des facteurs de discriminations ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ et $\Delta\delta^{15}\text{N}$) pour chacune des ophiures au travers d'une approche expérimentale.
- Le troisième chapitre (Article IV) traite de l'écologie trophique des deux ophiures par une double approche des marqueurs d'acides gras et des isotopes stables ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$).

Chapitre 1. Concepts théoriques et méthodologiques

1. La matière organique particulaire dans les écosystèmes marins côtiers

Les écosystèmes côtiers constituent des zones très productives du point de vue biologique et biogéochimique, et sont alimentés par des flux constants de nutriments et de matière organique d'origines variées (Bouillon & Boschker 2006). La matière organique se divise en deux catégories: la matière organique dissoute (MOD) et la matière organique particulaire (MOP). La MOD inclut des particules de nature différente (acides aminés, glucides, acides gras etc.) dont la taille varie de 0.1 à 0.46 μ m (Chin et al. 1998). La MOP inclut du matériel particulaire et colloïdal (interface entre le dissous et le particulaire) et se subdivise elle-même en deux sous-catégories : la matière organique en suspension (MOPS) et la matière organique sédimentée (MOS).

D'une façon générale, la MOP constitue le réceptacle de plusieurs réservoirs de matière organique et résulte d'un large spectre de matières particulaires de différentes natures (débris végétaux supérieurs, algues, plancton, effluents urbains etc.) qui présentent des degrés de labilité variable (matière fraîche ou dégradée) et sont autant de sources susceptibles de soutenir l'activité biologique des écosystèmes marins.

La composition de la MOP dans les eaux océaniques tempérées de l'Atlantique nord - est, se caractérise par une dynamique saisonnière marquée, conditionnée par la production primaire (Longhurst 1998) et les eaux continentales en période hiverno-printanière (Lazure & Jegou 1998). La production primaire du domaine côtier se distingue de celle du domaine océanique par une grande diversité de producteurs primaires (végétaux supérieurs, macroalgues, phytoplancton) en raison des apports nutritifs continentaux (Dubois et al. 2011). A cela s'ajoute une production de biomasse bactérienne hétérotrophe importante qui joue un rôle prépondérant dans le fonctionnement des réseaux trophiques notamment dans la chaîne détritique. En effet, ces bactéries sont étroitement liées à la production primaire qui peut atteindre 10 à 30 % de cette production, sans apports extérieurs de matière organique (Ducklow & Carlson 1992). Si ces bactéries sont en général présentes sous forme libre, une fraction allant jusqu'à 94% peut être fixée sur du matériel particulaire (Cammen & Walker 1982).

La MOP constitue le relais entre les producteurs primaires et les premiers consommateurs. De même que la quantité et la qualité des pools de matière organique exploités par ces mêmes consommateurs est déterminante puisqu'elles jouent un rôle crucial dans l'efficacité de transfert des flux d'énergie vers les niveaux trophiques supérieurs.

1.1 La matière organique particulaire marine (MOPS)

La MOP d'origine marine (MO autochtone) est principalement composée de phytoplancton regroupant un ensemble de protistes autotrophes planctoniques incluant majoritairement les diatomées, les dinoflagellés et les cyanobactéries. Cette source présente une très grande variabilité spatiotemporelle étroitement liée aux paramètres environnementaux (nutriments, température, salinité, intensité lumineuse, turbidité) (Savoie et al. 2003) et constitue un apport majeur de matière organique particulaire en suspension (MOPS) pour les organismes benthiques en période de bloom.

1.2 La matière organique particulaire terrestre (MOT)

La contribution de la MOT dans le pool de matière organique dépend à la fois du degré d'exposition de la zone côtière à la couverture végétale terrestre, du relief, de la nature des sols, des précipitations et du débit des cours d'eau. Elle peut être d'origine naturelle ou anthropique (pratiques agricoles, industries, urbanisations). La MOT est alimentée par de nombreux détritiques végétaux (végétaux supérieurs, macrophytes, phytoplancton), d'effluents d'élevage agricole, des substances humiques fortement dégradées issues du lessivage des sols, de même que du matériel détritique issus des végétaux supérieurs riche en composés phénoliques et en lignine résistant à l'altération biogéochimique depuis son exportation dans la colonne d'eau jusqu'à son dépôt dans les sédiments (Hedges & Parker 1976; Benner et al. 1990; Reeves & Preston 1989). L'incorporation de la matière organique d'origine terrigène dans les chaînes trophiques et particulièrement au sein des communautés benthiques est assez mal connue (Hopkins et al. 1998; McLeod & Wing. 2009). L'utilisation de marqueurs trophiques tels que les isotopes stables du carbone et certains marqueurs d'acides gras est utile pour caractériser ces sources dans la chaîne trophique.

1.3 Les macroalgues marines

Environ 90% de la production de débris des macroalgues entre sous la forme de détritus dans la chaîne trophique avec 60% comme matière organique particulaire et 30% sous forme dissoute (Duggins & Eckman 1997; Adin & Riera 2003).

1.4 La matière organique sédimentée (MOS)

Les sédiments constituent le réceptacle terminal des apports organiques allochtones (terrestres) et autochtones (Fabiano & Danovaro 1994). L'accumulation de matière organique y constitue le reflet de l'intensification de la productivité de la colonne d'eau et conditionne la structure et le fonctionnement des communautés benthiques (Pearson & Rosenberg 1978). Les composants organiques majeurs du sédiment incluent un vaste panel de matériel détritique (cadavres d'animaux, végétaux, pelotes fécales) sédimenté ou provenant directement du sédiment, de même que d'importantes colonies bactériennes, d'organismes benthiques vivants (microfaune, méiofaune, macrofaune et mégafaune) de microphytobenthos et de phytoplancton. Les processus de décomposition de la matière organique au sein du compartiment sédimentaire sont essentiellement le fait des bactéries via des processus biogéochimiques (aérobiques et anaérobiques) (Jorgensen 1982; Kristensen 1995), mais également le fait de l'activité biologique des décomposeurs de la méiofaune (Lee 1980; Nascimento et al. 2012) et de la macrofaune (Josefson et al. 2012).

2. Apports des isotopes stables et des acides gras en écologie trophique

2.1 Isotopes stables du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$)

2.1.1 Principe théorique des isotopes

Définition

Deux atomes sont dits isotopes lorsqu'ils ont le même nombre de protons mais un nombre de neutrons différent.

Soit l'élément chimique X, Z se définit par son numéro atomique (nombre de protons) et son nombre de masse A (somme du nombre de protons et de neutrons du noyau). Les propriétés chimiques des isotopes d'un même élément sont identiques car ces isotopes ont le même nombre d'électrons et de protons. En revanche, le noyau ne comporte pas le même nombre de neutrons, ainsi la masse des atomes varie. Cette différence de masse atomique sépare les isotopes (isotopes "lourds" et "légers") d'un même élément chimique. Le ou les neutrons supplémentaires de certains isotopes confèrent à l'élément chimique une instabilité énergétique.

- *Les Isotopes stable du carbone (^{13}C) et de l'azote (^{15}N)*

A l'état naturel, le carbone possède trois isotopes: ^{12}C , ^{13}C et ^{14}C

- **Le carbone 12** est léger, stable et abondant.
- **Le carbone 13** est lourd, stable et rare
- **Le carbone 14** est lourd, radioactif et rare.

L'azote possède 12 isotopes dont deux formes stables : ^{14}N et ^{15}N

Le ^{12}C plus léger que le ^{13}C , sera préférentiellement utilisé lors des processus de transformation chimiques et biologiques. Cette utilisation préférentielle du ^{12}C est due au fait que l'utilisation du ^{13}C lors des différentes réactions requiert plus d'énergie.

La composition isotopique d'un élément chimique de la matière organique se mesure au spectromètre de masse à flux continu couplé à des analyses élémentaires (Peterson 1999). Cet appareil mesure la composition isotopique de gaz purs obtenus lors du passage des échantillons dans l'analyseur élémentaire. Le carbone et l'azote organique des échantillons sont oxydés à l'oxygène sous atmosphère modifiée (hélium) respectivement sous la forme CO_2 et N_2 . Les gaz issus de cette combustion sont séparés par chromatographie gazeuse.

La composition isotopique des échantillons est comparée aux références internationales normalisées par l'Agence Internationale de l'Energie Atomique et choisies dans le réservoir terrestre le plus abondant de l'élément mesuré à savoir le V-PDB (Vienna-Pee Dee Belemnite) pour le carbone et l'azote atmosphérique N_2 pour l'azote.

Les abondances en isotopes naturels sont exprimées en valeurs relatives. La différence relative de rapports isotopiques entre l'échantillon et le standard s'exprime en ‰. La précision de la mesure est de 0.2‰ (Ghashghaie et al. 2001).

$$\delta X = [(R_{\text{échantillon}}/R_{\text{standard}}) - 1] \times 1000$$

X représente l'abondance en ^{13}C ou ^{15}N , R le ratio isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$

2.1.2 Incorporation des isotopes stables du carbone et de l'azote dans les réseaux trophiques

- Modification de la composition isotopique: *le fractionnement isotopique*

Définition

Le concept de fractionnement isotopique rend compte de la modification des rapports isotopiques des produits par rapport à ceux des réactifs lors de processus physiques, chimiques ou biochimiques. Les composés contenant l'isotope lourd contiennent une plus forte énergie de dissociation par rapports à ceux contenant l'isotope léger et sont par conséquent plus stables.

Dans l'étude des réseaux trophiques, les principales sources de variations du fractionnement isotopique sont étroitement liées aux producteurs primaires qui constituent le premier maillon des réseaux trophiques. En effet, l'utilisation des ratios isotopiques du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$) des consommateurs repose sur le principe que les producteurs primaires présentent des signatures isotopiques variables, en réponse à divers processus biologiques et biogéochimiques dans les cellules. Ainsi pour le carbone, les variations naturelles isotopiques dans les tissus des végétaux par rapport à l'air ambiant s'expliquent par la discrimination négative vis-à-vis du ^{13}C lors de l'incorporation du carbone inorganique par un processus de diffusion moléculaire à travers la membrane biologique (Boutton 1991). A cela, viennent s'ajouter les processus de fractionnement imposés lors de l'assimilation du carbone au cours de la photosynthèse par les enzymes carboxylases (fractionnement enzymatique) qui varient selon le type de plante (RUBISCO chez les plantes en C3 et par la PEP-carboxylase chez les plantes en C4 et CAM). De même que la nature des sources de carbones inorganiques assimilées dans ces processus participe à la variabilité des signatures isotopiques chez les végétaux (ex CO_2 atmosphérique = -7‰ et CO_2 dissous = 0‰). Si les concentrations en carbone inorganique sont assez comparables entre l'air et l'eau, le coefficient de diffusion du carbone inorganique est beaucoup plus faible en milieu

aquatique car les échanges gazeux au niveau de la membrane sont plus limités qu'en milieu aérien, générant ainsi un fractionnement plus faible chez les végétaux aquatiques, donc un $\delta^{13}\text{C}$ plus élevé (Raven et al. 1994). Ainsi pour le carbone, la combinaison des processus de fractionnement et des signatures isotopiques des sources inorganiques génère une large gamme de $\delta^{13}\text{C}$ chez les producteurs primaires qui pour cette raison constituent de bons traceurs trophiques (Fig. 1).

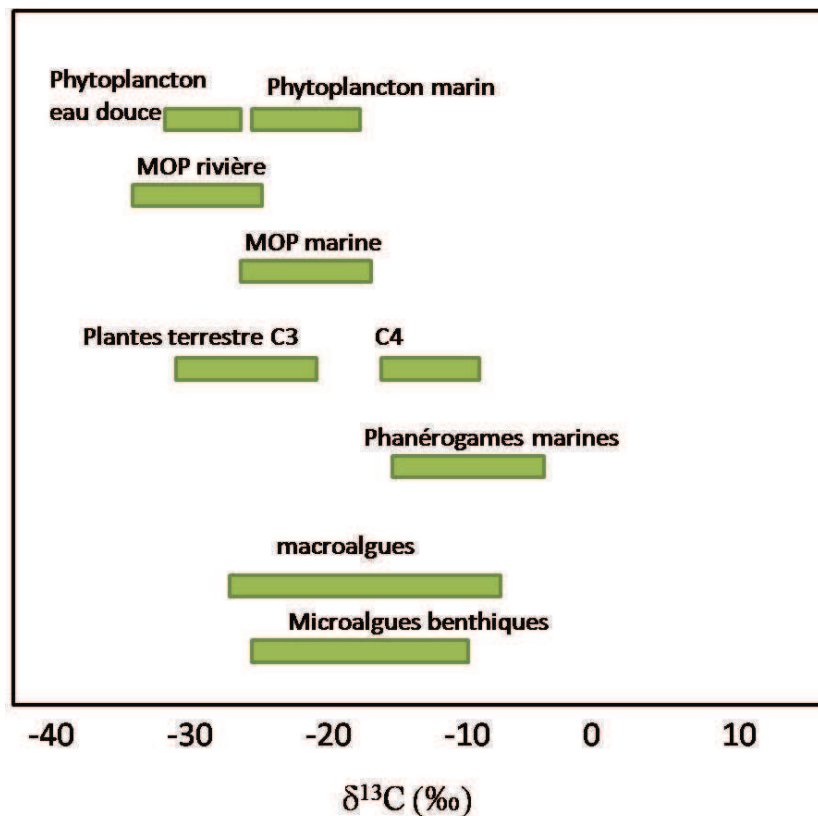


Figure 1. Gamme des signatures isotopiques du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) chez les producteurs primaires et dans la matière organique particulaire (MOP) classiquement rencontrées au sein des écosystèmes marins et d'eaux douces.

Comme pour le carbone, la signature en $\delta^{15}\text{N}$ des producteurs primaires dépend de la nature de la source inorganique azotée utilisée (ex: azote atmosphérique, ammonium, nitrates), la composition en $\delta^{15}\text{N}$ de cette source pouvant elle-même être modifiée par les processus biogéochimiques de dénitrification et de nitrification (Mariotti et al. 1984) et les apports anthropiques (Cole et al. 2004; Carmichael et al. 2004).

En écologie trophique, il existe une relation déterministe entre la composition isotopique de la nourriture et celle du consommateur. En effet, plusieurs études ont démontré, que la composition isotopique d'un consommateur reflétait celle de sa nourriture avec un taux

d'enrichissement (De Niro & Epstein 1978 et 1981; Fry & Sherr 1984). Au cours d'une transition trophique, ce taux d'enrichissement ou facteur de discrimination, (TDDF pour Tissue-Diet Discrimination Factor, en anglais) entre le prédateur et sa proie résulte de mécanismes biochimiques qui diffèrent selon l'élément chimique considéré. Ainsi, pour le carbone, l'enrichissement en ^{13}C dans les tissus du consommateur est faible ($\sim 1\text{‰}$) et résulte de la perte du carbone provenant de la nourriture se trouvant très légèrement appauvri en ^{13}C lors de la respiration (De Niro & Epstein 1978). Pour l'azote, l'enrichissement en ^{15}N dans les tissus du consommateur est d'environ 3.4‰ et se traduit par l'appauvrissement en ^{15}N des produits d'excrétion azotés, plus précisément par l'excrétion préférentielle du ^{14}N au cours des processus de transamination et désamination des protéines (Minagawa & Wada 1984; Macko et al. 1987).

D'une façon générale, les ratios isotopiques du carbone des sources se transmettent le long des réseaux trophiques et permettent de discriminer leur origine géographique (Hobson et al. 1994); ceux de l'azote permettent en revanche de positionner le consommateur au sein de ces réseaux (Fig. 2).

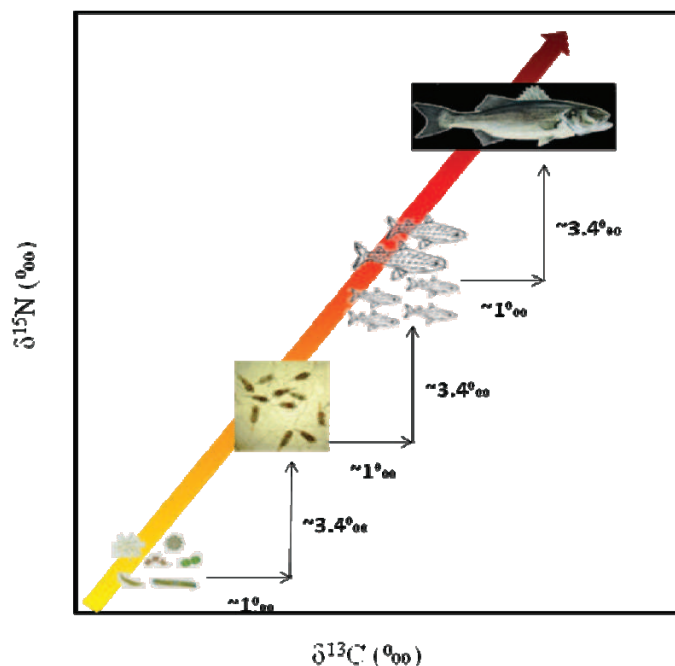


Figure 2. Schéma de principe de l'utilisation des isotopes stables du carbone et de l'azote dans l'étude des réseaux trophiques. Le facteur de discrimination (TDDF) estimé pour le carbone est indiqué par une flèche horizontale ($\Delta\delta^{13}\text{C} = +1\text{‰}$), et une flèche verticale pour l'azote ($\Delta\delta^{15}\text{N} = +3.4\text{‰}$).

Le terme « facteurs de discrimination » a été préféré au terme « facteur d'enrichissement » par le fait qu'un consommateur peut avoir une signature isotopique enrichie ou appauvrie par rapport à sa nourriture (Martinez del Rio & Wolf 2005). Il se définit de la façon suivante:

$$\Delta\delta\mathbf{X} = \delta\mathbf{X}_{\text{tissu}} - \delta\mathbf{X}_{\text{nourriture}} \quad \text{avec } \mathbf{X} = {}^{13}\text{C} \text{ ou } {}^{15}\text{N}$$

Le schéma selon lesquels les facteurs de discrimination ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ et $\Delta\delta^{15}\text{N}$) sont transmis de façon inchangée d'un niveau trophique à l'autre est aujourd'hui largement débattu au sein de la communauté scientifique. Le développement croissant d'études expérimentales en milieu contrôlé, depuis plus de 10 ans, a mis en évidence des sources de variabilité substantielle de ces facteurs de discrimination : le type de nourriture, la physiologie de l'espèce (Lorrain et al. 2002), la composition biochimique des tissus (McCutchan et al. 2003), les caractères biologiques (e.g. sexe, âge, taille) (Martínez del Rio et al. 2009) du type de nourriture, le tissu analysé, les formes d'excrétions azotées (McCutchan et al. 2003, Vanderklift & Ponsard 2003, Caut et al. 2009) et également l'allocation différentielle des composants de la nourriture assimilés dans les différents tissus du consommateur, processus également appelé « routage isotopique » (Gannes et al. 1997, Martínez del Rio et al. 2009).

- *Traitements des échantillons pour l'analyse isotopique du carbone et de l'azote: un choix décisif*

Le manque de méthodes standardisées dans la préparation des échantillons mène parfois à une mauvaise interprétation des résultats et à une impossibilité de comparaison avec les données de la littérature (Soreide et al. 2006). Dans le cas des études de réseaux trophiques, l'interaction entre la nature des échantillons et leur préparation en vue des analyses isotopiques doit être mieux considérée. En effet, la préparation des échantillons concerne aussi bien l'utilisation de l'animal entier par rapport aux tissus individuels, la décarbonatation à l'acide, la délipidation des tissus, de même que la conservation des échantillons (Sarakinis et al. 2002). L'ensemble de ces méthodes donne des informations croisées qui affectent notre capacité à interpréter les résultats.

Un des aspects méthodologiques le plus discuté dans la littérature concerne la délipidation des tissus qui peut affecter de façon importante les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et dans certains cas les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$. Les lipides contenus dans les tissus biologiques présentent des associations complexes de composés non polaires et neutres et de composés polaires.

Durant les voies de synthèses lipidiques, le fractionnement du $\delta^{13}\text{C}$ se traduit par un appauvrissement en ^{13}C de 4 à 6‰ par rapport aux glucides (Melzer & Schmidt 1987) et de 6 à 7‰ par rapport aux protéines. Cette différence de fractionnement résulte des processus d'anabolisme qui dans le cas des protéines par exemple s'expliquent par le peu de transformations métaboliques des acides aminés issus de la nourriture. En effet, peu d'acides aminés sont synthétisés *de novo* chez le consommateur (DeNiro & Epstein 1977; Thompson et al. 2000). L'hétérogénéité de la composition lipidique au sein d'un organisme résulte à la fois des traits biologiques de l'animal (sexe, âge, reproduction, migrations saisonnières, jeûne) et des facteurs environnementaux comme la température qui favorise ou non le stockage des lipides dans les tissus. L'ensemble de ces facteurs affectant de manière significative les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ (Bodin et al. 2009), il paraît indispensable de retirer les lipides de réserves des tissus des animaux qui présentent un taux de lipides élevé. Une étude d'inter-comparaison a été réalisée par Soreide et al. (2006) pour tester l'effet des différents traitements d'acidification et de délipidation sur les valeurs isotopiques du carbone et de l'azote sur un ensemble de tissus et de matière organique particulaire. Des différences significatives après décarbonatation, associée à un rinçage ou non ainsi qu'après délipidation ont été mise en évidence. L'effet de la délipidation sur les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ est également discuté par Sotiropoulos et al. (2004) lesquels ont montré une augmentation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$, dû à un lessivage des protéines fixées sur les lipides de membrane.

- Traitements des tissus d'ophiures

Les ophiures sont des invertébrés carbonatés, il est par conséquent indispensable de retirer la fraction de carbone inorganique par un traitement à l'acide. La séparation de l'échantillon en vue de l'analyse du $\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$ a été beaucoup discutée pour les raisons évoquées ci dessus. En définitive, après broyage et lyophilisation des échantillons, il a été décidé de séparer les échantillons pour l'analyse du $\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$. Pour l'analyse du $\delta^{13}\text{C}$ une délipidation a été réalisée selon Kojadinovic et al. (2008) pour retirer majoritairement les lipides de réserves. Après séchage, les broyats délipidés ont été décarbonatés à l'acide (HCl 1N).

2.2 Les acides gras

2.2.1 Généralités

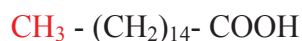
Les acides gras sont des constituants majeurs des différentes classes de lipides principalement des tryacylglycerols (stockage d'énergie) et des phospholipides (constituants membranaires). Ce sont des acides carboxyliques R-COOH dont le radical R est une chaîne aliphatique de type hydrocarbure et de longueur variable (en général 10 à 30 atomes de carbone) qui donne à la molécule un caractère plus moins hydrophobe. Ainsi plus la chaîne carbonée augmente plus la solubilité dans l'eau diminue. Les acides gras ont deux origines, la nourriture et la synthèse par l'organisme (synthèse *de novo*).

La nomenclature internationale des acides gras se présentent sous la forme **C:Xn-Y** (International Union of Pure and Applied Chemistry and International Union of Biochemistry Commission on Biochemical Nomenclature, 1978), où **C** correspond au nombre de carbones de la chaîne carbonée, **X** au nombre de double liaisons dans la chaîne et **Y** est la position de la première double liaison (=) à compter du groupement méthyle terminal (**CH₃**).

On distingue plusieurs groupes en fonction des groupements:

Les acides gras saturés

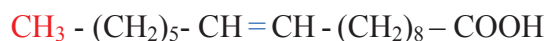
- Acide gras saturé (*exemple de l'acide palmitique 16:0*)



Les acides gras insaturés

La plupart des acides gras insaturés ont des longueurs de chaînes qui varient en général de 16 à 20 carbones et peuvent parfois dépasser 24 carbones. Ces acides gras peuvent contenir entre 1 et 6 doubles liaisons et se nomment selon le cas mono- ou polyinsaturés.

- Acide gras monoinsaturés (MUFA) (*exemple de l'acide 16:1n-7*)



- Acide gras polyinsaturés (PUFA) (*exemple de l'acide icosapentaénoïque 20:5n-3*)

Notons que dans le cas des acides gras polyinsaturés seule la position de la première double liaison par rapport au groupement méthyle terminal (**CH₃**) est suffisante.



2.2.2 Les acides gras comme marqueurs trophiques dans le milieu marin

Les acides gras constituent de bons marqueurs pour déterminer l'origine de la matière organique et son devenir au sein des réseaux trophiques des écosystèmes (Dalsgaard et al. 2003; Kharlamenko et al. 1995; Kelly & Scheibling 2012). L'intérêt de ces marqueurs repose sur le fait que les organismes hétérotrophes sont incapables de synthétiser certains acides gras dit « essentiels » pour leur métabolisme et sont donc obligés de se les procurer *via* leur alimentation (e.g. les acides gras polyinsaturés n-3 et n-6) (Fig. 3). Certains acides gras sont spécifiques d'un organisme ou d'un groupe d'organismes (e.g. bactéries, microalgues, plantes vasculaires, zooplancton, macroalgues) ce qui permet d'évaluer leur présence et leur abondance relative dans des mélanges de sources de matière organique et dans les tissus des consommateurs (Tab.1). Le principe de base de l'utilisation de ces biomarqueurs comme traceurs trophiques consiste en la détermination des contributions respectives des acides gras (% des acides gras totaux), des rapports et des sommes de certains d'entre eux.

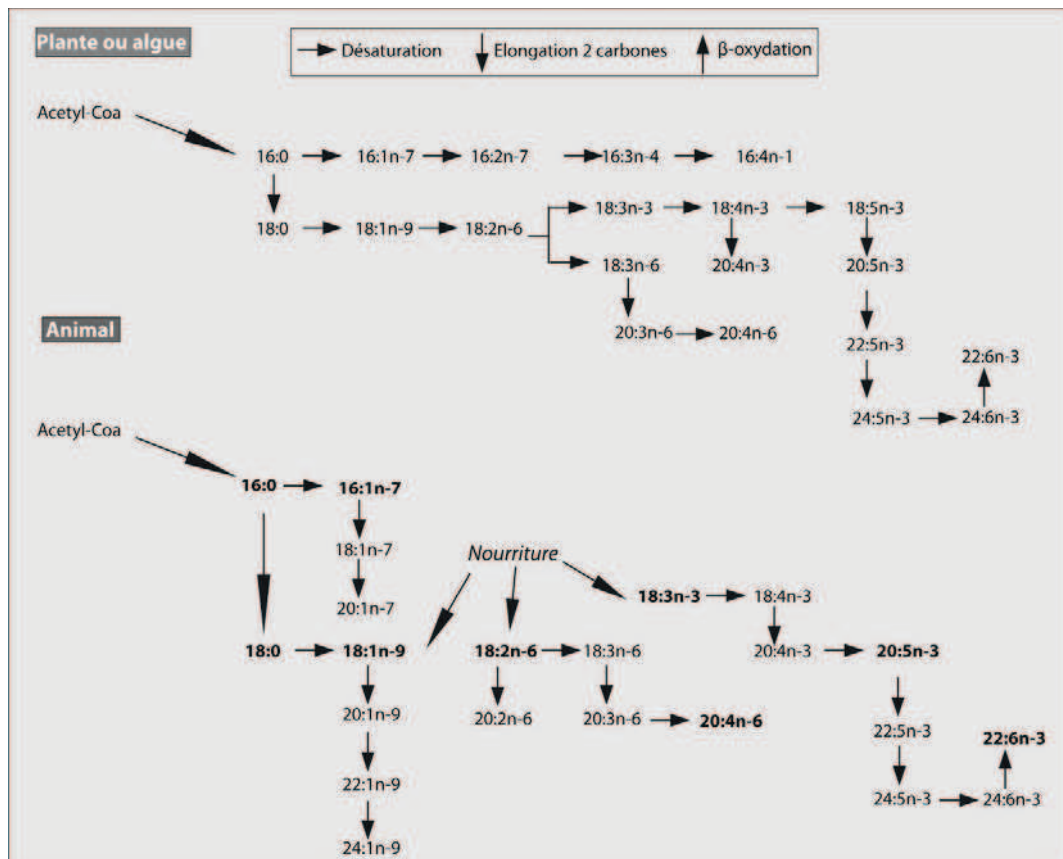


Figure 3. Voies de synthèse des principaux acides gras chez les végétaux (plantes et algues) et chez les animaux (modifié d'après Kelly & Scheibling 2012 ; Gurr et al. 2002). Les acides gras (en gras) tendent à s'accumuler davantage dans les tissus des animaux. Les flèches horizontales représentent le mécanisme de désaturation, les flèches verticales orientées vers le bas indiquent un mécanisme d'élongation de deux carbones, les flèches orientées vers le haut indiquent un mécanisme de β-oxydation.

Tableau 1. Marqueurs d'acides gras couramment utilisés dans les études trophiques dans les écosystèmes marins.

	Sources	Acides gras	Références
VEGETAUX	Plantes vasculaires, apports terrigènes,	18:2n-6, 18:3n-3 (18:2n-6+ 18 :3n-3)	Dalsgaard et al. (2003) Meziane et al. (1997) Pernet et al. (2012) Kharlamenko et al. (2001) Dalsgaard et al. (2003); Alfaro et al. (2006);
	Macroalgues vertes	18:2n-6, 18:3n-3	Kelly & Scheibling (2012) Khotimchenko et al. (2002)
	Macroalgues brunes	20:5n-3, 20:4n-6, 18:1n-9, 18:4n-3	Graeve et al. 2002
	Macroalgues rouges	16:0, 20:5n-3	Graeve et al. 2002
	<i>Phytoplankton</i> Diatomées	20:5n-3, 16:1n-7, 16:1n-7/16:0, 16:4n-1, 20:5n-3/22 :6n-3	Budge & Parrish (1998) Budge & Parrish (2001) Pernet et al. (2012) Dalsgaard et al. (2003)
Dinoflagellés	22:6n-3, 22:6n-3/20:5n-3	Richoux & Froneman 2008	
ANIMAUX	Animaux Zooplancton Copépodes	18:1n-9 $\Sigma 20:1 + \Sigma 22:1$ 18:1n-9, 20:1n-11	Jaschinski et al. (2011) Falk-Petersen et al. (2002)
	Carnivory	(18:1n-9/18:1n-7), 18 :1n-9	Graeve et al. (1997)
BACTERIES	Bactéries hétérotrophes	$\Sigma(\text{iso}15, \text{aiso}15, \text{iso}17, \text{aiso}17, 15:0, 17:0)$	Dalsgaard et al. (2003) Stowasser et al. (2009)
	Bactéries endosymbiotiques	18:1n-7	Kharlamenko et al. (2001) McKenzie et al. (2000)
DETRITUS	Détritus	Faible rapport PUFA/SAFA*	Prato et al. 2012 Biandolino et al. 2008

*PUFA = Polyunsaturated Fatty Acid, SAFA = Saturated Fatty acid

Chapitre 2 : Estimation des facteurs de discrimination des isotopes stables du carbone ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\Delta\delta^{15}\text{N}$) chez deux ophiures. Effet de l'état reproducteur, de la nourriture et de la composition des tissus

Résumé

Blanchet-Aurigny A^a, Guillou M^b, Pernet F^c, Gaffet JD^a, Dubois SF^a (2012). Tissue-diet discrimination factors of isotopic ratios ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$) in two brittle star species: Effect of reproductive state, diet and tissue composition; *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 426-427: 68-77.

Résumé

Les facteurs de discrimination (TDDFs) du carbone ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\Delta\delta^{15}\text{N}$) ont été déterminés chez *Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis* par une approche expérimentale. Les variations des TDDFs ont été étudiées en fonction de la qualité des sources de nourriture, du type de tissus (disques et bras) et des changements physiologiques (repos gonadique et maturation des gonades) des ophiures.

L'étude expérimentale a été conduite en milieu contrôlé durant trois mois. Trois sources trophiques ont été testées chez *Ophiocomina nigra*: le muscle de poisson (*Solea solea*), la moule (*Mytilus edulis*) et des macroalgues vertes (*Ulva* sp). Seul l'effet des moules et les macroalgues vertes a été testé chez *Ophiothrix fragilis*. Quatre individus par espèce ont été prélevés aléatoirement à différents pas de temps; les bras et le disque ont été séparés et préparés pour l'analyse isotopique. En parallèle, un suivi du poids frais et de la maturation gonadique de chacune des espèces a été réalisé.

Les valeurs de $\Delta\delta^{13}\text{C}$ et $\Delta\delta^{15}\text{N}$ varient respectivement de $-4,1 \pm 0,2$ à $1,5 \pm 0,2\text{‰}$ et de $-1,8 \pm 0,2$ à $4,0 \pm 0,3\text{‰}$. Ces valeurs montrent des différences interspécifiques mais semblent principalement influencées par la qualité de la nourriture et dans une moindre mesure par l'état physiologique des organismes.

Chez *Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis*, les valeurs de fractionnement se situent dans la gamme des valeurs de la littérature, à l'exception toutefois des valeurs négatives de $\Delta\delta^{13}\text{C}$ et de $\Delta\delta^{15}\text{N}$, respectivement pour les régimes macroalgue (*Ulva* sp) et poisson. Les proportions en azote et les ratios C/N utilisés comme proxy de la qualité de la nourriture montrent qu'une haute teneur en protéines conditionnerait les valeurs de $\Delta\delta^{15}\text{N}$, tandis que les valeurs de $\Delta\delta^{13}\text{C}$ seraient influencées par une assimilation différentielle des composants biochimiques de la nourriture. Lors de la phase de repos gonadique, les valeurs de $\Delta\delta^{13}\text{C}$ sont systématiquement inférieures de $0,8 \text{‰}$ aux valeurs obtenues lors de la maturation gonadique. Enfin nos résultats ont mis en évidence un effet de la signature isotopique de la nourriture sur les facteurs de discrimination suggérant que, plus la source est enrichie en $\delta^{15}\text{N}$ et en $\delta^{13}\text{C}$, plus la valeur du TDDF obtenue est faible, ceci quel que soit le tissu analysé et l'état physiologique de l'animal.

Article III: Tissue-diet discrimination factors of isotopic ratios ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$) in two brittle star species: Effect of reproductive state, diet and tissue composition

Journal of Experimental Marine Biology and Ecology (2012) 426-427: 68-77

Blanchet-Aurigny A^a, Guillou M^b, Pernet F^c, Gaffet JD^a, Dubois SF^a

^a IFREMER, Laboratoire d'Ecologie Benthique, Département Océanographie et Dynamique des Ecosystèmes, Centre de Bretagne, BP70, 29280 Plouzané, France

^b Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale, LEMAR UMR CNRS IRD 6539, place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané, France

^c IFREMER, Laboratoire Environnement Ressource Languedoc Roussillon, Bd Jean Monnet, BP 171, 34203 Sète cedex, France

Abstract

Tissue-diet discrimination factors (TDDFs) for carbon ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\Delta\delta^{15}\text{N}$) were estimated for two brittle star species (*Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis*) in tissues of two body compartments (disk and arms) according to different diets (fish muscle, mussel and macroalgae). Variations in TDDFs are studied in the light of physiological changes, as two phases were revealed over the course of the experiment, *i.e.* a gonadal rest and a gonadal maturation. Overall, the average $\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ values ranged from -4.1 ± 0.2 to 1.5 ± 0.2 ‰ and from -1.8 ± 0.2 to 4.0 ± 0.3 ‰, respectively. Variability in TDDFs revealed little differences between species but appeared to be mainly driven by the diet and the physiological state of the organisms to a lesser extent. $\Delta\delta^{13}\text{C}$ in gonadal resting organisms were systematically ca. 0.8‰ lower than in gonadal maturing species. TDDF values for organisms fell within the range of expected values, except for $\Delta\delta^{13}\text{C}$ with macroalgae diet and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ with fish muscle diet. As revealed by %N and CN ratios, high dietary-protein seemed to play a key role in explaining $\Delta\delta^{15}\text{N}$ values, while $\Delta\delta^{13}\text{C}$ seemed to be affected by differential assimilation efficiency in dietary components. We also suggested a possible effect of isotopic signature of the diet on TDDFs showing that the more enriched the diet in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$, the lower the TDDF.

Keywords: Echinoderms; stable isotopes; fractionation; enrichment factors; physiological state;

1. Introduction

Throughout ecological studies, carbon and nitrogen stable isotope analyses have proven to be a powerful tool to understand trophic relationship between a consumer and its food sources in ecosystems. This approach is based on the principle that carbon and nitrogen isotope ratios in animal's tissues closely reflect those in their diets with a slight enrichment of heavier isotopes (^{13}C , ^{15}N) because of preferential respiration of lighter ^{12}C and excretion of lighter ^{14}N (DeNiro & Epstein 1978; 1981). Tissue-diet discrimination factor (hereafter denoted as Δ , also TDDF) is calculated as the difference in isotope composition between animal's tissue and its diet (*e.g.*, Cerling & Harris 1999). These factors were considered as constant among organisms with stepwise $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ enrichment occurring with each successive trophic level in food webs (DeNiro & Epstein, 1978; Minagawa & Wada 1984) leading to tissue-diet discrimination factors of ca. 1‰, for ^{13}C and ca. 3.4‰, for ^{15}N . However, the rate at which animals incorporate isotopes from their diet can differ depending on species, tissue, body size (Carleton & Martinez del Rio, 2005), nutrient composition of a diet (DeNiro & Epstein 1978; McCutchan et al. 2003, Vanderklift & Ponsard, 2003), protein turnover in the tissue (Tieszen et al. 1983; Martinez del Rio et al. 2009), and nutritional stress conditions (Hobson et al. 1993). For these reasons, the use of isotope analyses for dietary studies may be influenced by these factors and lead to consistent errors about trophic relationships between a consumer and its diet. After a call for more laboratory experiments by Gannes et al. (1997), substantial variations in $\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ values have been demonstrated in several feeding investigations and have been mainly focused on terrestrial animals for a wide range of taxa and consumer classes such as mammals (Tieszen et al. 1983; Caut et al. 2008; DeMots et al. 2010), birds (Hobson & Bairlein 2003; Therrien et al. 2011; Polito et al. 2011) or insects (Wehi & Hicks 2010). The TDDFs for both carbon and nitrogen were also investigated among aquatic species (including marine organisms), but mainly for species of economic importance. Examples include fishes for aquaculture (Pinnegar & Polunin 1999), cultivated mollusks (Dubois et al. 2007; Yokoyama et al. 2008), and large crustaceans (Suring & Wing 2009). Overall, this tendency may lead to an imbalance in the knowledge of trophic ecology between terrestrial and aquatic ecosystems. Consequently, estimates of $\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ should now focus more widely on aquatic species within different taxonomic groups and consumer class, even though laboratory experiments for some marine organisms are more difficult to conduct over several months under controlled conditions.

While food availability is known to affect reproductive status of marine invertebrates (Pavanelli et al. 2010; Martinez-Pita et al. 2011; Lefebvre et al. 1999) or animal maintenance (Bourgoin & Guillou 1990), relationships between isotopic composition variability and physiological status of animals are poorly known. A few field studies however revealed seasonal changes in isotopic composition of organisms or in specific tissues in relation to its physiology (Lorrain et al. 2002; Malet et al. 2007). Taking into account the physiological state of organisms appears to be of importance in order to provide accurate information in TDDFs.

To investigate factors affecting TDDFs in marine invertebrates, two very common and widely distributed co-occurring brittle star species (ophiuroid, echinoderm) were used as biological models. The brittle star *Ophiocomina nigra* (Abildgaard 1789) is considered to be an opportunistic consumer (Fontaine 1965), whereas *Ophiothrix fragilis* (Abildgaard 1789) is predominantly a suspension-feeder (Warner & Woodley 1975; Davoult & Migné 2001). These species are trophically plastic and hence their feeding ecology depends on a large diversity of food sources. Consequently, investigating the trophic relationship of brittle star species and their diet requires an assessment of tissue-diet discrimination factors. To our knowledge, this study is the first experiment to determine carbon and nitrogen tissue-diet discrimination factors in brittle star species. A laboratory experiment was conducted where *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* were fed with different types of foods under controlled conditions. This investigation aimed (1) to provide inter-specific tissue-diet discrimination factors ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ & $\Delta\delta^{15}\text{N}$) in two marine invertebrates, (2) to test whether diet affects changes in isotopic turnover and $\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ patterns in tissues and (3) to test how changes in physiological state affects $\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$.

2. Materials and Methods

2.1 Experimental setup and feeding experiment

Ophiocomina nigra and *Ophiothrix fragilis* individuals were both collected by scuba diving in the middle of the bay of Brest (48°20'25 N; 04°29'20 W) in October 2009 between 25 and 30 meters depth. Bottom water temperature was recorded 15°C. After field collection, brittle stars were sorted out and placed in independent circular tanks. Each tank contained 20 specimens of homogeneous size of one brittle star species, either *Ophiocomina nigra* (disk

diameter = 1 cm) or *Ophiothrix fragilis* (disk diameter = 1.5 cm). Each tank consisted of a flow-through cylinder with the bottom composed of a 200 µm mesh. Four tanks of one species were randomly grouped in a larger pool and fed with a specific diet to avoid contamination between food sources. Seawater was pumped continuously and filtered through a sand filter (50 µm) and 2 filtration cartridges (20 µm and 5 µm), so that the whole volume was renewed in less than an hour. Temperature (15°C), salinity (35) and light (semi-darkness) were kept constant. The experiment was carried out over 3 months. Three diets were tested on *Ophiocomina nigra* as a proxy for all the trophic levels this species potentially feeds upon: green macroalgae (*Ulva* sp, fresh algae), blue mussel (*Mytilus edulis*, whole body shell) and fish (benthic flatfish *Solea solea*, white muscle). *Ophiothrix fragilis*, whose diet is rarely composed of decaying fish in the field was fed only macroalgae and mussel. Green macroalgae were collected where ophiuroids were sampled and then rinsed with filtered sea water to remove epibionts, ground very finely with a blender and immediately frozen in small portions at -20°C. All fish specimens of a homogeneous size were collected at the same time and from the same location (Seine estuary). Fish muscle was removed and frozen at -20°C. Mussels of a homogeneous size were collected and kept in filtered seawater overnight to clear their stomachs before freezing at -20°C. Fish muscles and whole body mussels were sliced into small portions and stored frozen before the experiment started. During the experiment all diets were supplied daily *ad libitum* to avoid starvation conditions.

2. 2 Sample collection and preparation

All diets (*i.e.* macroalgae, mussels and fish muscles) were freeze-dried and ground to powder. Four individuals for each species and each feeding treatments were then sampled randomly for day 0 and then after 1, 3, 5, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 64, 78, and 92 days. Sampled individuals were kept in filtered seawater overnight to clear their stomachs before being processed. For each date, the specimens were wet weighted, rinsed with distilled water and frozen at -80°C. Arms and disks for each individual were split and grounded separately to a homogeneous fine powder with a mortar and a pestle after freeze-drying. Arms and disk samples were analyzed separately. Because brittle stars are calcareous organisms, a fraction was decarbonated with 1N HCl for ¹³C analysis. Because of high lipid content in disk tissues, lipids were removed using cyclohexane (according to protocol in Kojadinovic et al. 2008) for

^{13}C analysis. Lipid-free tissues were dried at 48°C for 24 hours prior to acid treatment. Untreated samples were used for ^{15}N analysis.

Organisms were considered as two body compartments: arms and disk. In ophiuroids, arms are independent from the disk and mainly are composed of muscle tissue, while the disk contains a small proportion of muscle but is mainly composed of digestive and reproductive tissues, the proportions of which vary over time. As a result, arms were considered as muscle tissue and disks were considered either as digestive tissue during gonadal rest or as a mix between digestive and reproductive tissues when gonadal maturation started (see results).

Isotopic analyses were performed by an isotope ratio mass spectrometer (IRMS) Finnigan MAT Delta Plus coupled with a Carlo EbraNC2500 elemental analyzer at the Isotope Stable Laboratory, Cornell University (New York / USA). The analytical error was 0.2 ‰, for both N and C (as measured with internal laboratory standards). Stable isotopic data are expressed as the relative per mil differences between the samples and the conventional standard Pee Dee Belemnite (PDB) for carbon and air N_2 for nitrogen, according to the following equation:

$$\delta X = [(R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1] \times 1000$$

where X ‰ is ^{13}C or ^{15}N abundance and R is the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ or $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ratios.

The difference in isotope composition between a tissue of animal and its diet is represented by a tissue-diet discrimination factor (TDDF, symbolized by Δ) which is calculated at equilibrium as:

$$\Delta_{\text{tissue-diet}} = X_{\text{tissue}} - X_{\text{diet}}, \text{ with } X = \delta^{13}\text{C} \text{ or } \delta^{15}\text{N}$$

2. 3 Tissue Diet Discrimination Factors of whole animal

Six individuals for each species for the two different physiological states (gonadal rest and gonadal maturation) were sampled, dried at 48°C for 72h and weighted. Arms and disk of both species were cut and weighted separately, then burned at 450°C in a muffle-furnace. The ash-free dry weight of organic matter in arms and disk was then determined by the difference between dry weight and ash weight. Relative mass proportions of the two body compartments

(arms and disk) were calculated to estimate TDDFs for carbon and nitrogen ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$) of the whole body animal.

Average values of ratios (R) for arms and disk relative to the total body mass were calculated as:

$$R_{\text{tissue}} = \text{weight}_{\text{tissue}} / \text{weight}_{\text{whole animal}}; \text{tissue} = \text{arms or disk}$$

and $\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ for the whole animal as:

$$\Delta\delta X_{\text{whole animal}} = ((R_{\text{arms}} \times \Delta\delta X_{\text{arms}}) + (R_{\text{disk}} \times \Delta\delta X_{\text{disk}})); X = \delta^{13}\text{C or } \delta^{15}\text{N}$$

2. 4 Gonadal measurement

Gonadal development was surveyed over the feeding experiment, as it provides a good proxy to monitor changes in mobilization of energy reserves and energy allocation. After freeze-drying and before grounding, aboral disks were sliced open so that the internal organs were visible. A picture of each disk was taken and the development of the gonadal tissue (approximated by its surface) was estimated using an image processing using color-based extractions (zoom 600) (Adobe Photoshop©). The quantity of gonads was assessed according to the following equation:

$$(\%)G = (G_{px} \times 100) / D_{px}$$

where G_{px} corresponds to the pixel's numbers of the gonad picture and D_{px} , corresponds to the average value of pixel's number from all processed disks, for each diet.

2. 5 Statistical analyses

Estimates of tissue-diet discrimination factors ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$) can only be calculated at equilibrium state between species (*Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis*) and diets (macroalgae, mussel and fish) isotopic signatures. A set of one-way ANOVA were run to test differences in isotopic signatures between the last 3 sampling dates (n=4 for each sampling dates) at each phases (rest and maturation). No significant differences meant that isotopic signature in organisms are at equilibrium and that TDDFs can be calculated.

In a second step, a first set of three-way split-split-plot ANOVAs were conducted to determine differences in $\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ between treatments (defined as all 2×2 combinations of species [*Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis*] and diets [macroalgae and mussels]), tissues (arms and disk), and phases (rest and maturation). Then, a second set of three-way split-split-plot ANOVAs were conducted on the same variables as a function of treatments (here defined as diets [macroalgae, mussels and fish] fed to *O. nigra* only), tissues and phases. Two ANOVAs models were necessary to take into account the fact that treatments were intentionally unbalanced (no fish diet for *O. fragilis*). The unit of replication was the circular tank in which the diet was applied (n=4 experimental units for each species and diet), not individual animals. The main plots were treatment, subplots were tissues and sub-subplots were phases.

For all ANOVAs, when differences were detected, least-square means multiple comparison tests were used to determine which means were significantly different. Residuals were screened for normality and tested using Shapiro-Wilk's test. Homogeneity of variance was graphically assessed. Statistical analyses were carried out using SAS 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3. Results

3.1 Initial $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$

When field collected (day 0) the two ophiuroid species exhibited similar isotopic signatures and exhibited the same pattern as for differences in tissues (Table 1). Isotopic values of food sources revealed a 2 to 3 ‰ difference in $\delta^{13}\text{C}$ between macroalgae, mussel and fish. Differences in $\delta^{15}\text{N}$ between macroalgae (primary producer) and mussels (primary consumer) was low but much larger between mussels and fish (benthic-demersal predator).

Table 1. Means (\pm SD) of % C, % N, carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotope ratios, C:N ratios values for each diet and each brittle star species before the experiment started. For $\delta^{13}\text{C}$ analysis, all tissues were acid treated and lipids were removed from disk tissue.

DIETS	n	C (%)	N (%)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	C:N
macroalgae	3	39.7 \pm 0.4	3.4 \pm 0.1	-14.1 \pm 0.1	7.5 \pm 0.1	11.5 \pm 0.0
mussel	3	40.9 \pm 0.4	11.0 \pm 0.2	-18.7 \pm 0.1	7.7 \pm 0.1	4.6 \pm 0.0
fish	3	52.9 \pm 0.3	14.3 \pm 0.1	-17.3 \pm 0.1	13.7 \pm 0.0	3.7 \pm 0.0
CONSUMERS						
<i>Ophiocomina nigra</i>						
arms	4	5.5 \pm 0.3	1.7 \pm 0.1	-17.7 \pm 0.3	10.4 \pm 1.4	3.3 \pm 0.1
disk	4	13.3 \pm 1.9	3.1 \pm 0.3	-19.2 \pm 0.6	10.1 \pm 0.4	4.3 \pm 0.3
<i>Ophiothrix fragilis</i>						
arms	4	5.9 \pm 0.8	1.5 \pm 0.2	-17.3 \pm 1.8	10.1 \pm 0.4	3.8 \pm 0.2
disk	4	13.5 \pm 1.4	3.3 \pm 0.4	-19.3 \pm 0.3	9.8 \pm 0.4	4.0 \pm 0.2

3. 2 Gonadal development and weight survey

For both species and for all tested diets, the gonadal survey revealed two phases: (1) from day 0 to 36 (hereafter called phase 1) very little occurrence of reproductive tissues in disk, hence mainly composed of stomach tissues and (2) from day 36 to 92 (hereafter called phase 2) with an increasing development of gonadal tissues rapidly filling in the whole cavity (especially between days 64 and 78) (Table 2; Fig. 1). Despite high inter-individual variability, an overall increase in wet weight was observed for *Ophiocomina nigra*, and to a lesser extent for *Ophiothrix fragilis*. Towards the end of the experiment, several spawning events were reported for fish and mussel diets, explaining drops or plateaus in the weight survey. For *O. nigra* and *O. fragilis* fed with macroalgae, an increase in weight was negligible, but no weight loss was observed (Fig. 2).

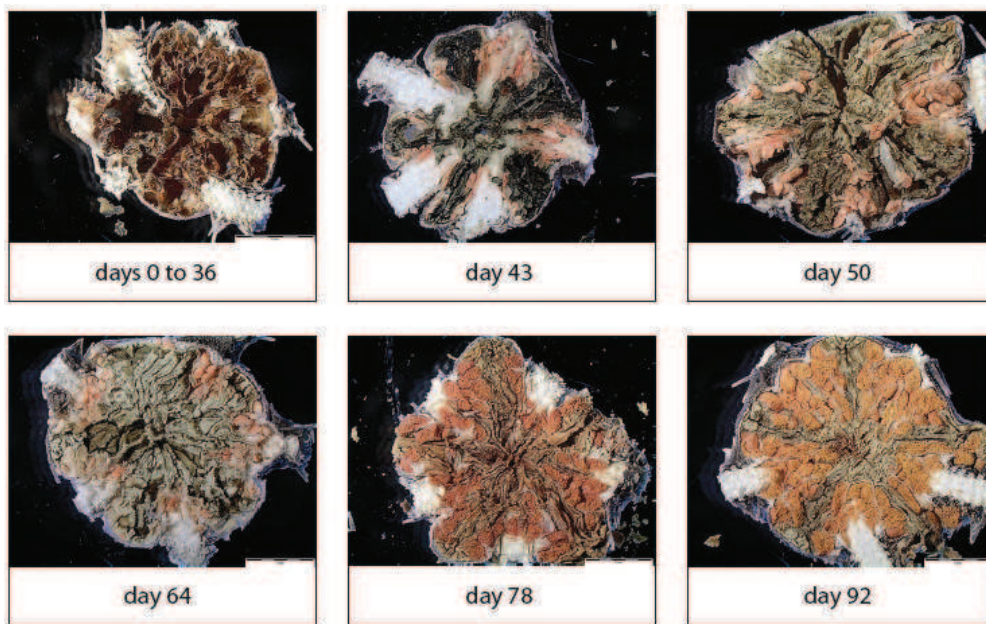


Figure 1. Evolution of gonads in *O. nigra* disks from day 0 to day 92. Digestive gland appears in green or brown and gonads in pink or orange. Note that the increase of gonadal development is visible from day 43 to day 92.

Table 2. Evolution of the mean (\pm SE) percentage of gonadal development in *O. nigra* based on image processing (color extraction) analysis during feeding experiment for each diet.

Time after diet change (days)	Diet		
	fish	mussel	macroalgae
0 to 36	0	0	0
43	7.3 \pm 1.9	13.6 \pm 2.0	12.5 \pm 4.4
50	8.7 \pm 1.9	14.3 \pm 1.5	4.2 \pm 1.2
64	11.1 \pm 1.3*	18.1 \pm 5.5*	12.0 \pm 2.1
78	23.0 \pm 4.5*	27.2 \pm 4.8*	20.4 \pm 1.1
92	45.5 \pm 9.6*	31.3 \pm 1.2*	41.3 \pm 6.4

*Please note that spawning events were recorded at this time.

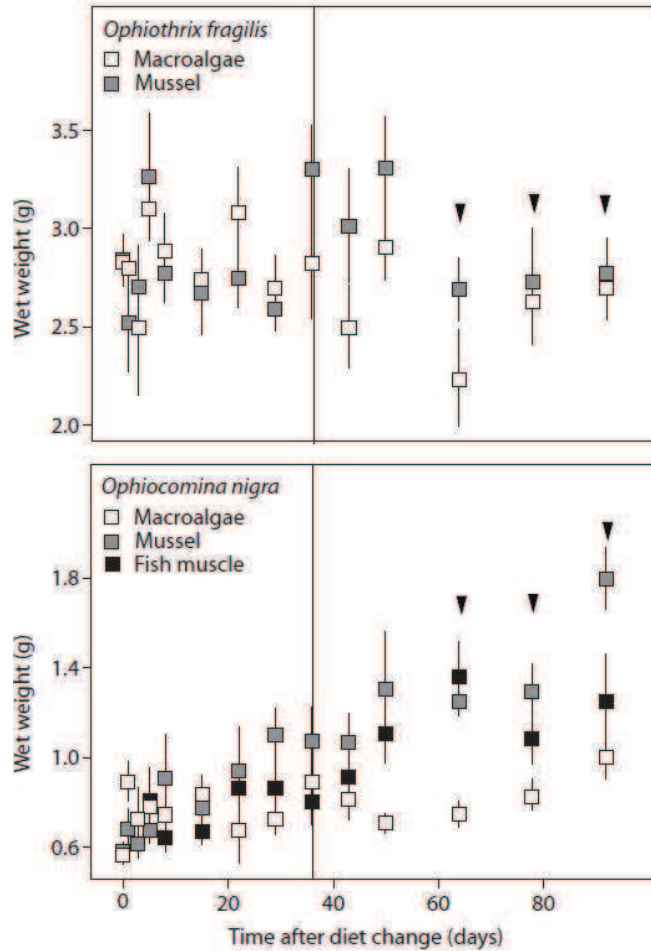


Figure 2. Mean wet weight (g) (\pm SE) surveys for the two brittle star species for each diet. Black arrows shows spawning events for animal fed with fish and mussel diets. The beginning of the gonadal development is represented by a vertical dotted line

3.3 C:N ratios variations in arm tissue

C:N ratios in arms tissue showed a similar pattern for *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* (Fig. 3). Whatever the experimental diet, from day 0 to day 36 (phase 1), C:N ratios rapidly plateaued after a few days and exhibited a relatively steady value. Values sharply decreased at day 36. C:N ratios started to increase from day 36 to 64 and from day 64 to day 92, C:N ratios plateaued again at a similar (or slightly higher) value as before day 36 (phase 2).

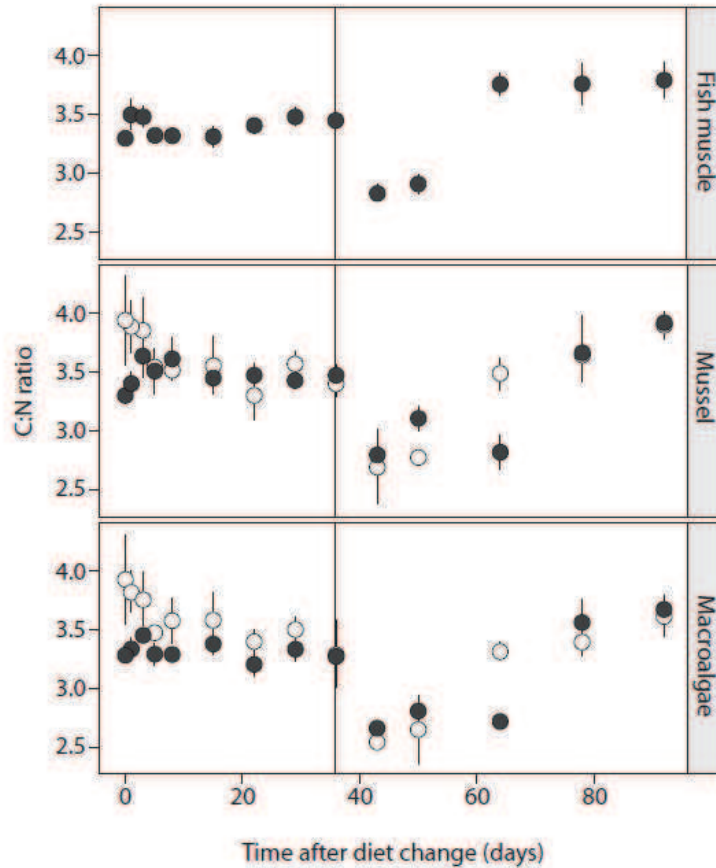


Figure 3. Mean C:N ratios (\pm SD) in arms for the two brittle star species (black dots: *Ophiocomina nigra*, white dots: *Ophiothrix fragilis*) for each diet during the two phases (phase 1: gonadal rest, phase 2: gonadal development). The beginning of the gonadal development is represented by a vertical dotted line.

3.4 Changes in isotopic signatures over feeding experiment

Isotopic signatures of *Ophiothrix fragilis* and *Ophiocomina nigra* varied significantly over the course of the experiment, but had similar patterns. In both cases, changes in isotopic signatures followed the pattern described in gonadal development with 2 phases (gonadal rest followed by gonadal maturation), each characterized by a change in isotopic signatures and a plateau when isotopic signatures no longer change over time (between days 22 to 36 for phase 1 and days 64 to 92 for phase 2).

Overall, $\delta^{13}\text{C}$ values varied more widely for disks than for arms. The $\delta^{13}\text{C}$ values reached a steady state in disks right before day 36 (phase 1), *i.e.* corresponding to the beginning of the gonadal development. After gonads maturation started (phase 2), disk tissues exhibited an increase in $\delta^{13}\text{C}$ and reached a plateau toward the end of the experiment, after day 64. As for $\delta^{15}\text{N}$, larger changes in isotopic values were observed for the fish diet for both

arm and disk tissues. In disk and arm tissues of *O. nigra*, a significant enrichment in ^{15}N occurred just before the end of the phase 1 (day 36) for this diet only. For mussel and macroalgae diets, disk tissues showed very little variations over the duration of the experiment, while arm tissues showed a slight increase, again with a slight change in the slope of the curve around day 36 (Fig. 4A and 4B). One-way ANOVAs revealed no significant differences between the last 3 sampling dates ($P > 0.05$ between 3 dates) for each phases (between days 22, 29 and 36 for the phase and between days 64, 78 and 92 for the phase 2), except in 3 of 40 combinations where pairwise multiple comparisons revealed significant differences. For the two species, results showed that TDDFs can be calculated from day 36 (phase 1) just before the development of the gonadal maturation started, when an equilibrium was reached in the high turnover stomach tissue. Then a second equilibrium was reached towards day 64 (phase 2) (see tests in Table 3).

Table 3. One-way ANOVA between isotopic values from the last three samples dates for the phase 1 (days 22, 29, 36) and for the phase 2 (days 64, 78, 92); * show significant P value with $\alpha < 0.05$; n = 4 in each group of sampling date

Species	Source	Tissue	Phase	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
				P	P
<i>O. nigra</i>	<i>Ulva</i> sp	arms	1	0.050	0.135
	Mussel	arms	1	0.273	0.639
	Fish	arms	1	0.916	0.063
<i>O. fragilis</i>	<i>Ulva</i> sp	arms	1	0.689	0.277
	Mussel	arms	1	0.128	0.528
<i>O. nigra</i>	<i>Ulva</i> sp	arms	2	0.919	0.239
	Mussel	arms	2	0.466	0.050
	Fish	arms	2	0.599	0.011*
<i>O. fragilis</i>	<i>Ulva</i> sp	arms	2	0.199	0.674
	Mussel	arms	2	0.552	0.100
<i>O. nigra</i>	<i>Ulva</i> sp	disk	1	0.767	0.850
	Mussel	disk	1	0.704	0.325
	Fish	disk	1	0.263	<0.001*
<i>O. fragilis</i>	<i>Ulva</i> sp	disk	1	0.139	0.221
	Mussel	disk	1	0.02*	0.089
<i>O. nigra</i>	<i>Ulva</i> sp	disk	2	0.369	0.277
	Mussel	disk	2	0.120	0.590
	Fish	disk	2	0.266	0.585
<i>O. fragilis</i>	<i>Ulva</i> sp	disk	2	0.369	0.425
	Mussel	disk	2	0.614	0.304

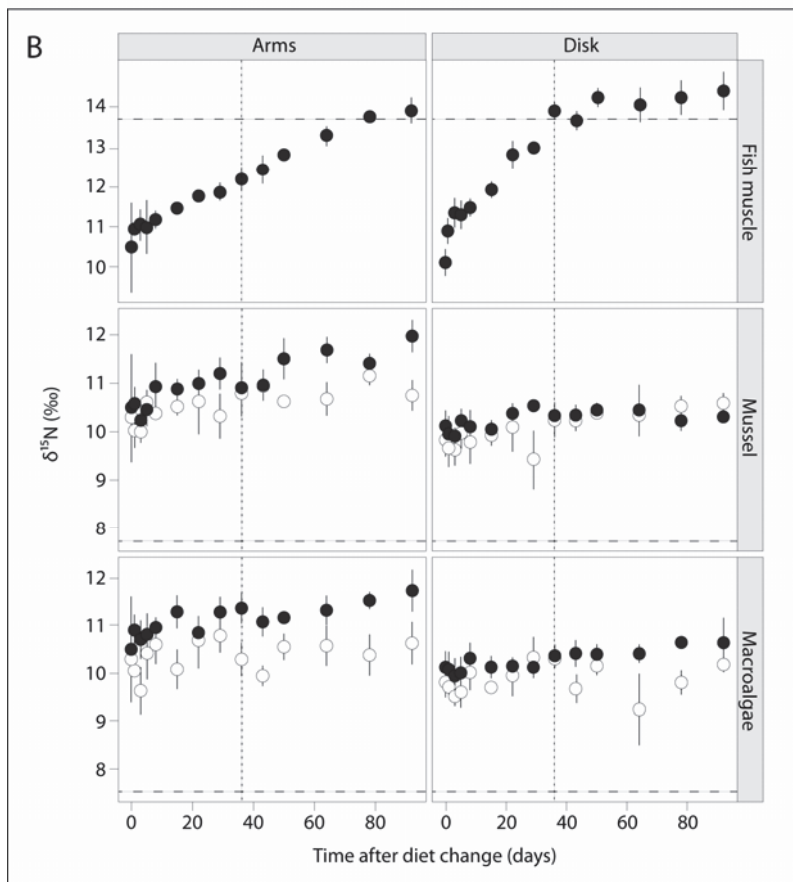
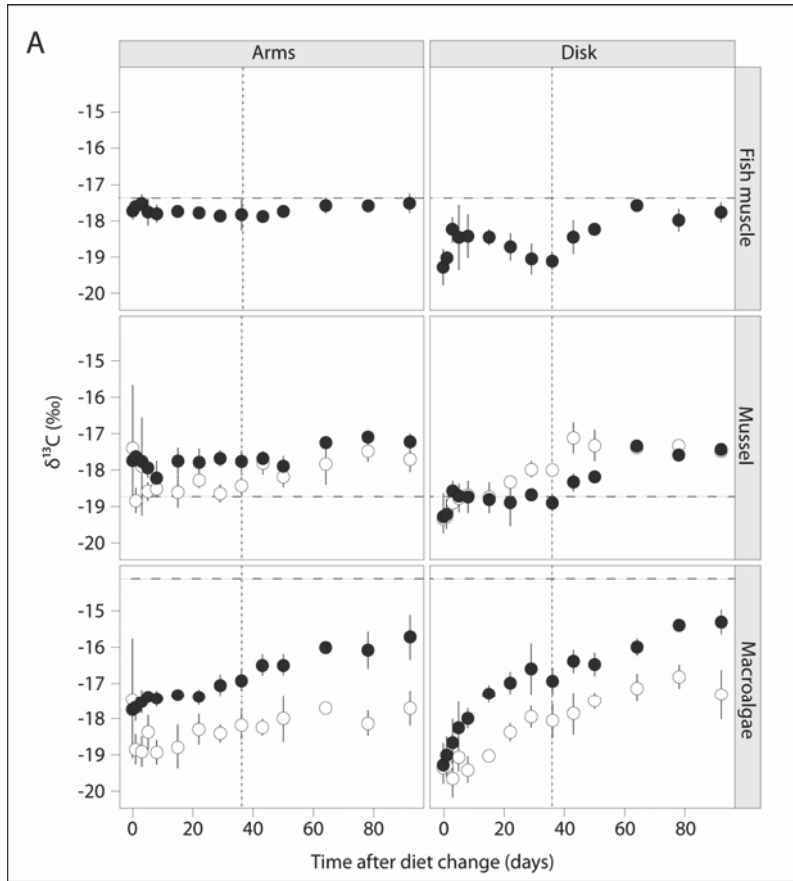


Figure 4. Mean values (\pm SD) of $\delta^{13}\text{C}$ (A) and $\delta^{15}\text{N}$ (B) for each sampling date in arms and disk tissues for the two brittle star species for all tested diet (fish, mussel, macroalgae). The beginning of the gonadal development is represented by a vertical dotted line. Carbon and nitrogen isotopic values of each diet are represented by horizontal dotted lines.

3. 5 Estimates of tissue-diet discrimination factors for ^{13}C and ^{15}N

Calculations of TDDFs for carbon and nitrogen were made on the basis of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ variations in *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* according to time and feeding treatments when isotopic signatures of tissues in disks and arms reached their equilibrium, as tested in Table 3. TDDFs in disk and arms for the two phases are represented in Figs 5A and 5B. TDDFs of the whole body were then calculated for each phase based on the measurements of relative weights of arms and disk in *O. nigra* and *O. fragilis* (Table 4, Fig. 5A and 5B).

Table 4. Estimates of relative weight (\pm SD) of arms and disk for the two brittle star species, for the two phases (phase 1: gonadal rest and phase 2: gonadal development)

Species	Phase	Arms	Disk
<i>Ophiocomina nigra</i>	1	0.67 \pm 0.07	0.33 \pm 0.07
	2	0.49 \pm 0.06	0.51 \pm 0.06
<i>Ophiothrix fragilis</i>	1	0.76 \pm 0.02	0.24 \pm 0.02
	2	0.50 \pm 0.07	0.50 \pm 0.07

Treatments (diet \times species) and tissues interacted in their effect on trophic fractionation values for $\delta^{13}\text{C}$ (Fig. 5A and Table 5). Both ophiuroid species presented the same pattern which is a very negative $\Delta\delta^{13}\text{C}$ value for macroalgae diet (ca. -3‰) and $\Delta\delta^{13}\text{C}$ value slightly positive (ca. 1‰) for mussel diet. The fish diet revealed however a slightly $\Delta\delta^{13}\text{C}$ negative value (ca. -0.5‰) in *Ophiocomina nigra*. Also, treatments and phases interacted on $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (Table 5 and 6). The two physiological phases had significant differences for both species but revealed a fairly consistent increase spanning from $+0.5\text{‰}$ to $+1.3\text{‰}$ in $\Delta\delta^{13}\text{C}$ values between gonadal rest (phase 1) and gonadal maturation (phase 2) (Fig. 5A). When fed with macroalgae, *Ophiothrix fragilis* $\Delta\delta^{13}\text{C}$ exhibited a general 1‰ shift towards more negative value than *O. nigra* $\Delta\delta^{13}\text{C}$. The pairwise multiple comparisons in $\Delta\delta^{13}\text{C}$ were significantly different between species and tissue for each tested diet ($p < 0.05$) except between tissue for *O. nigra* fed with mussel in phase 2 ($p = 0.1125$). Differences in $\Delta\delta^{13}\text{C}$ values between phases ($p < 0.05$) were significant with the exceptions of tissue in *O. nigra* arms for fish diet ($p = 0.153$) and for *O. fragilis* fed with macroalgae ($p = 0.054$) (Fig. 5A, Table 5 and 6).

$\Delta\delta^{15}\text{N}$ values exhibited a very consistent pattern in species and diet treatment, as all the values are positive and close to 3‰ for both phases 1 and 2, except for the single fish diet in *Ophiocomina nigra*. In that specific case, $\Delta\delta^{15}\text{N}$ values were -1.4‰ in phase 1 and increased to almost 0‰ in phase 2 (Fig. 5B). Pairwise multiple comparisons between species

were significantly different in $\Delta\delta^{15}\text{N}$ values with mussel and macroalgae diets for each tissue ($p < 0.05$), with the only exception being disk tissue for both species fed with mussel diet ($p = 0.159$). For the two species, comparison between phases 1 and 2 were significantly different ($p < 0.05$), except for *Ophiothrix fragilis* when fed with macroalgae ($p = 0.244$).

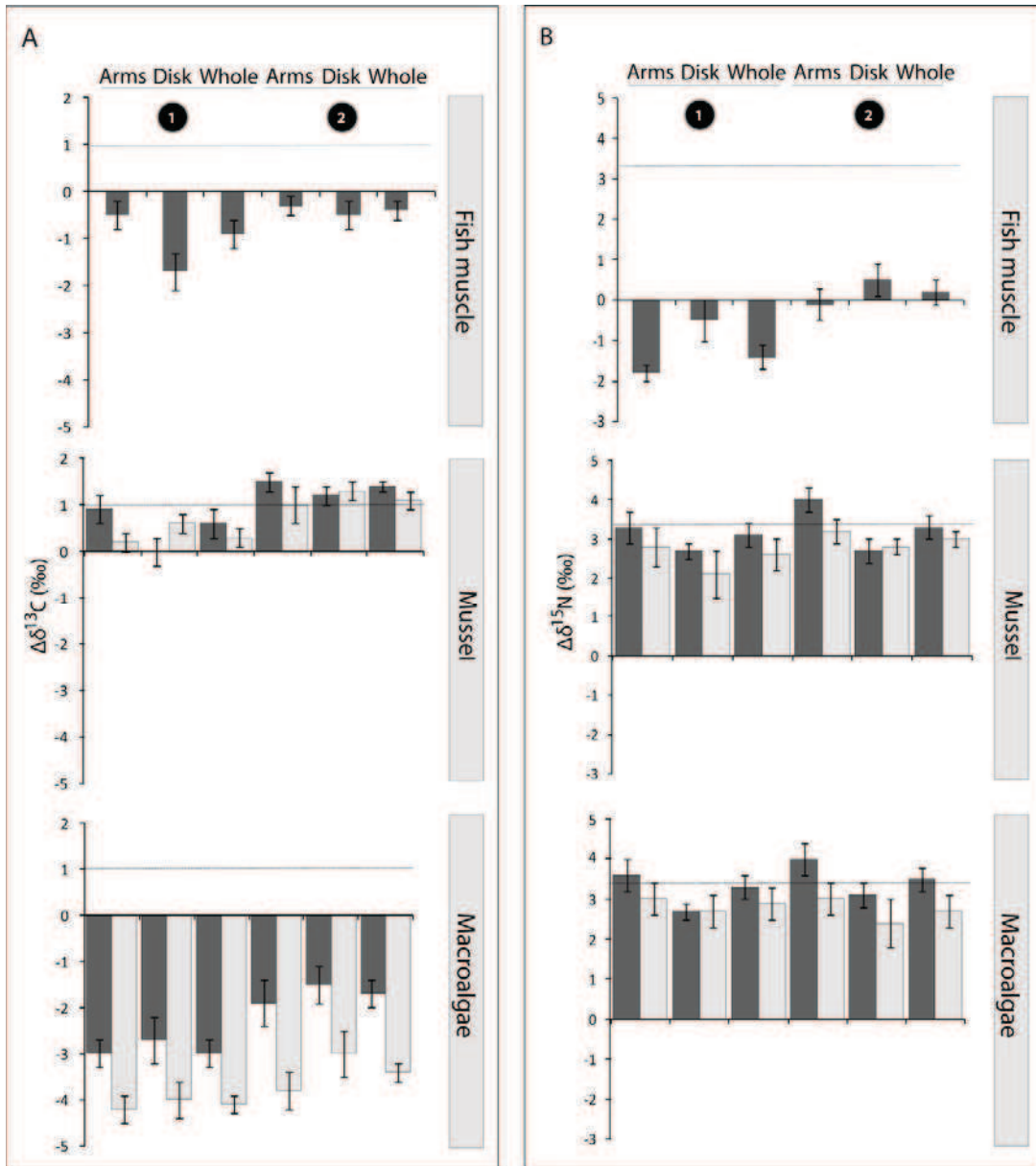


Figure 5. Mean values (\pm SD) of $\Delta\delta^{13}\text{C}$ (A) and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ (B) for *Ophiocomina nigra* (dark bars) and *Ophiothrix fragilis* (light grey bars), for all tested diet (fish, mussel, macroalgae), and for each tissues (arm, disk) and the whole animal, for the two phases. Number within each black dots indicate the phases (i.e. phase 1: gonadal rest, phase 2: gonadal development). Dotted lines indicate a postulated level of 1.0 ‰ enrichment in $\delta^{13}\text{C}$ (A) and 3.4 ‰ enrichment in $\delta^{15}\text{N}$ (B)

For each phase and each tissue of *Ophiocomina nigra*, comparisons between mussel and macroalgae diets were not significantly different ($p > 0.05$). However $\Delta\delta^{15}\text{N}$ for the fish diet was significantly lower than the two others diets ($p < 0.05$). For each tissue, $\Delta\delta^{15}\text{N}$ in

phase 1 is significantly lower than in phase 2, with arms significantly lower than disks ($p < 0.05$) (Fig. 5B, Table 5).

Table 5. Summary of the three-way split-split-plot ANOVA on the effect of treatment, which include all 2×2 combinations of diets (mussel and macroalgae) and species (*O. fragilis* and *O. nigra*), tissues (arms, disk), phase (rest and maturation) and all their mutual interactions on $\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ values. Significant probabilities are in bold.

Sources of variation	d.f	$\Delta\delta^{13}\text{C}$		$\Delta\delta^{15}\text{N}$	
		F	P	F	P
Treatment	3	668.3	<0.001	3.6	0.048
<u>Error A</u>	12				
Tissue	1	7.2	0.020	61.2	<0.001
Treatment x Tissue	3	9.2	0.002	0.9	0.492
<u>Error B</u>	12				
Phase	1	147.5	<0.001	18.0	<0.001
Treatment x Phase	3	8.7	<0.001	4.7	0.012
Tissue x Phase	1	0.9	0.343	4.9	0.037
Treatment x Tissue x Phase	3	1.4	0.281	2.9	0.057
<u>Error C</u>	24				

Error term
Error A: Compartment (Treatment)
Error B: Tissue x Compartment (Treatment)
Error C: Tissue x Phase x Compartment (Treatment)

Table 6. Summary of the three-way split-split-plot ANOVA on the effect of diet (fish, mussel, macroalgae), tissues (arms, disk), phase (rest and maturation) and all their mutual interactions on $\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ values for the species *Ophiocomina nigra*. Significant probabilities are in bold.

Sources of variation	d.f	$\Delta\delta^{13}\text{C}$		$\Delta\delta^{15}\text{N}$	
		F	P	F	P
Diet	2	494.6	<0.001	301.8	<0.001
<u>Error A</u>	9				
Tissue	1	11.6	0.008	5.2	0.049
Diet x Tissue	2	17.3	<0.001	27.5	<0.001
<u>Error B</u>	9				
Phase	1	300.9	<0.001	50.0	<0.001
Diet x Phase	2	7.4	0.005	4.0	0.038
Tissue x Phase	1	21.1	<0.001	9.7	0.006
Diet x Tissue x Phase	2	5.2	0.017	0.7	0.513
<u>Error C</u>	18				

Error term
Error A: Compartment (Diet)
Error B: Tissue x Compartment (Diet)
Error C: Tissue x Phase x Compartment (Diet)

TDDFs for $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ were plotted against the isotopic value of each food source for whole organisms and for each phase. Overall the more enriched the diet in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$, the lower the TDDF (Figs. 6A and 6B).

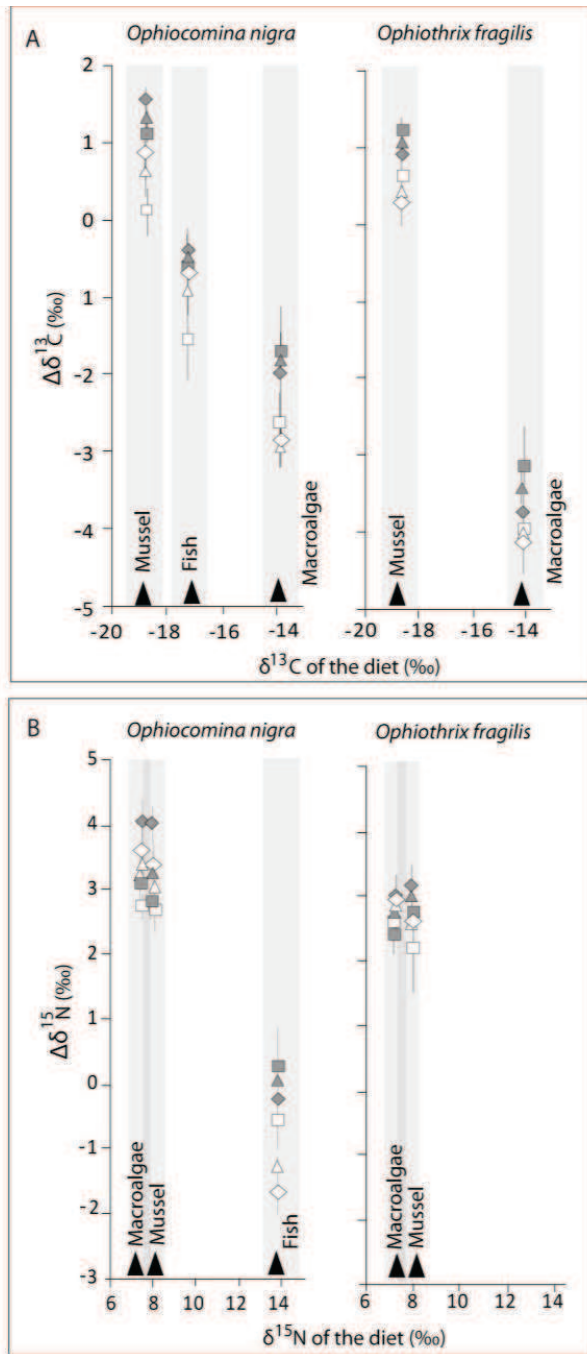


Figure 6. Relationships between Tissue Diet Discrimination Factors (mean \pm SD) and isotopic signatures of diet for carbon (A) and nitrogen (B). Each tissues (diamonds: arms, squares: disk) and whole body (triangles) are represented for *Ophiocomina nigra* (left panels) and for *Ophiothrix fragilis* (right panels) for the two phases (i.e. white: gonadal rest, dark grey: gonadal development).

4. Discussion

Stable isotopes have proven to be a successful tool to investigate animal diets and trophic relationships within food webs. However, this requires the a priori knowledge of tissue-diet discrimination factors (a.k.a. trophic fractionation for organisms). This has always been the “Achilles' heel” of this technique, especially since an increasing number of recently published studies have revealed that the golden numbers of +1‰ for $\delta^{13}\text{C}$ and + 3.4‰ for $\delta^{15}\text{N}$ (DeNiro & Epstein 1981) have to be used with extreme precautions. Since a call for more laboratory feeding experiments designed to disentangle factors affecting trophic fractionation (Gannes et al. 1997), numerous studies showed evidence that discrimination factor is not only species specific (e.g., see reviews from Vander Zanden & Rasmussen 2001) but strongly related to the quality and quantity of the food sources (McCutchan et al. 2003) and also ultimately to the physiology of organisms (Hobson et al. 1993). This investigation provides complementary evidence that physiological state can affect trophic fractionation in marine invertebrates. To our knowledge, this study is the first experiment to report TDDFs for two brittle star species under controlled conditions, and hence bring new insight in TDDFs in marine invertebrates.

4.1 C:N variations in arms

The C:N variations in two different phases among arm tissue reflect changes in reproductive status of the two brittle stars. This is supported with the gonadal survey in disk tissues clearly showing a gonadal rest (phase 1) vs. a gonadal maturation (phase 2) and ultimately a spawning, started about one month after the diet shift (Fig. 1). The C:N variation provides a good proxy for an organism's condition (Schmitd et al. 2003). The sharp C:N drop in arm tissues matched gonadal development that required a mobilization of reserves from the whole body of the animal to support build-up of reproductive tissues. This happened through a re-allocation of metabolites from arm to the gonad (lipids and/or carbohydrates). Indeed, as reviewed by Pomory & Lawrence (1999), arms might be a useful compartment for storage and energy maintenance, reproduction or regeneration in brittle stars.

4.2 Changes in isotopic signatures over feeding experiment

Prior to the experiment, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ were slightly more enriched in arms than in disk tissues but both arms and disks tissues presented the same turnover pattern. Equilibrium was yet achieved at the end of the two recognized phases (gonadal rest and gonadal maturation), as half-life turnover are short (week-rate) in marine invertebrates, as shown for other species (Yokoyama et al. 2005; Dubois et al. 2007; Yokoyama et al. 2008).

4.3 Tissue-diet discrimination factors for nitrogen and carbon isotopes

Nitrogen trophic fractionation. TDDFs for nitrogen isotopes ($\Delta\delta^{15}\text{N}$) revealed variations from -1.8‰ to +4.0‰ when considering all species and all diets. With the exception of *Ophiocomina nigra* fed with fish muscles, $\Delta\delta^{15}\text{N}$ remained very consistent across treatments and spanned between +2.1‰ and +4.0‰, with a mean of 3‰. Statistical comparisons between sources of variation (diet, species, tissue, phase) clearly demonstrated that $\Delta\delta^{15}\text{N}$ were mainly diet-dependent. Our results concur with previous studies on the relationship between $\Delta\delta^{15}\text{N}$ and different dietary-proteins (Vander Zanden & Rasmussen 2001; Focken 2001; Post 2002). As showed with %N and C:N ratios, the experimental diets were here of different qualities: macroalgae were of poor quality with low protein content (hence a very low weight gain), while mussels and fish muscles had a much higher protein content and a lower C:N ratio. In the literature, a weak but significantly positive relationship was established between $\Delta\delta^{15}\text{N}$ and C:N ratios, either using a series of laboratory studies varying dietary nitrogen content (Adams & Sterner 2000) or a meta-analysis of literature data (Vanderklift & Ponsard 2003). In that perspective, models crafted by Martinez del Rio & Wolf (2005) demonstrated that (1) $\Delta\delta^{15}\text{N}$ should increase with diet protein content and (2) $\Delta\delta^{15}\text{N}$ should decrease with increased protein quality in diet. Our results did not show any increase in $\Delta\delta^{15}\text{N}$ values between macroalgae and mussels, hence did not support model prediction (1). Conversely, while no change was observed in $\Delta\delta^{15}\text{N}$ values between macroalgae and mussel diets, a sharp drop in $\Delta\delta^{15}\text{N}$ for fish muscles diet (supposedly mostly composed of proteins) was evidenced. These trends only support model prediction (2), assuming that the protein quality increases between macroalgae and mussels and particularly between mussels and fish muscle. This hypothesis is difficult to be test since the diets were not formulated on a protein-amino acid basis. In a feeding experiment on mammals (rats), Caut et al. (2008) did not report significant relationship between $\Delta\delta^{15}\text{N}$ and %N or C:N of

diets of similar quality. Our study however revealed that low differences in C:N ratio or %N values between fish muscles and mussels led to very extreme values of $\Delta\delta^{15}\text{N}$ in the *O. nigra* experiment (*i.e.* +3.3‰ and +0.2‰ for mussel and fish muscle, respectively). Relationships between $\Delta\delta^{15}\text{N}$ and %N or C:N in diets are probably not linear but since nutritional quality and subsequent physiological mechanisms are involved, threshold effects might be expected. It is then likely that between two high quality diets (mussels and fish; Jonsson & Elwinger, 2009) the 3% increase in %N and the 1 unit increase in C:N ratio (Table 1) explained deep changes in isotopic routings and the subsequent differences $\Delta\delta^{15}\text{N}$ values.

The reproductive state (*i.e.* gonadal rest or maturation) of the ophiuroids *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* did not seem to have profound effect on $\Delta\delta^{15}\text{N}$. Whatever the diet, with the exception of the fish muscle diet, variations are not significantly different in the whole organism, or in the disk and arm compartments. Mechanisms involved in nitrogen fractionation are mostly linked with muscle tissue metabolism, which – despite a much smaller proportion in disks – is the common denominator between disk and arm compartments, hence explaining very small differences. It is also worth noticing that reproductive state caused deep changes in C:N ratio but only weakly affected $\Delta\delta^{15}\text{N}$. Physiological changes could then possibly explain why no linear relationship between C:N ratio and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ were possible.

Carbon trophic fractionation. In this study, $\Delta\delta^{13}\text{C}$ values ranged from $-4.1 \pm 0.2\text{‰}$ to $+1.4 \pm 0.1\text{‰}$ for whole organisms. Comparisons revealed that $\Delta\delta^{13}\text{C}$ values varied according to diet, and species, tissues and physiological state. $\Delta\delta^{13}\text{C}$ values for both *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* fed with mussel or fish muscle fall within the ranges of the published data (see review by McCutchan et al. 2003 and references therein): $\Delta\delta^{13}\text{C}$ values between -1‰ and $+1\text{‰}$ are not uncommon. However, ophiuroids fed with macroalgae revealed very negative $\Delta\delta^{13}\text{C}$ values, spanning from -1.7‰ to -4.1‰ . These values were unexpected, as the effect on changing diets on $\Delta\delta^{13}\text{C}$ estimates was reportedly small (ca. 0.5‰) (McCutchan et al. 2003). Similar to nitrogen enrichment, several studies or meta-analysis showed that $\Delta\delta^{13}\text{C}$ varied according to numerous factors, including amino acid composition and $\delta^{13}\text{C}$ values of these amino acids (Macko et al. 1987; Del Rio et al. 2009), lipids content (DeNiro & Epstein, 1977), and also differential assimilation efficiency of dietary components (Gannes et al. 1997). It is hypothesized here that differences in biochemical compounds between diets explain the observed discrepancies (Table 1). For example, Macko et al. (1982) showed differences in $\Delta\delta^{13}\text{C}$ between two marine amphipods (*Amphithoe valida* and *Parhyale*

hawaiensis) and their food sources in both field and laboratory studies and revealed that laboratory amphipods feeding on fresh algae were slightly more negative than field animals fed on detrital algae. Also, German et al. (2010) performed a feeding experiment on catfish (*Pterygoplichtys disjunctivus*) and also reported negative $\Delta\delta^{13}\text{C}$ values in animal feeding on plants. Plants and algae are characterized by high content of low digestible refractory polysaccharides (*i.e.* cellulose, hemicellulose, lignin) (Duggins & Eckman 1997) and marine macroalgae such as *Ulva* sp. were also shown to exhibit large cellulose and hemicellulose content but low lignin content (Briand & Morand 1997). Cellulosic compounds tend to be 2‰ enriched in $\delta^{13}\text{C}$ relative to the remainder of bulk organic material (Benner et al. 1987; Bowling et al. 2008). Consequently, we suggest here a low assimilation of these compounds in fresh macroalgae. The assimilation capability may also vary according to species, as revealed in our experiment: $\Delta\delta^{13}\text{C}$ values were two times lower in *O. fragilis* than in *O. nigra* (-3.4‰ vs. -1.7‰ at the end of the experiment), suggesting inter-specific differences in necessary enzymatic equipment to assimilate organic matter originated from macroalgae (Kristensen 1972).

Strong differences occurred between the 2 phases of the experiment: we showed that $\Delta\delta^{13}\text{C}$ in gonadal resting organisms (phase 1) is systematically ca. 0.8‰ lower than $\Delta\delta^{13}\text{C}$ in gonadal maturing species (phase 2). While no significant effects were detected in $\Delta\delta^{15}\text{N}$, physiological processes involving gonad maturation have significant effects in $\Delta\delta^{13}\text{C}$.

4.4 Linear relationship between tissue diet discrimination factor and isotopic signature of the diet?

The mechanism underlying the $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ enrichment in a consumer relative to its diet in equilibrium results from a preferential retention of ^{15}N and ^{13}C in the consumer and excretion of ^{14}N and ^{12}C (DeNiro & Epstein 1981). Surprisingly our results revealed negative $\Delta\delta^{15}\text{N}$ values with fish diet as well as negative $\Delta\delta^{13}\text{C}$ values for the macroalgae diet. Indeed, one should expect tissues to be enriched in ^{15}N relative to fish or enriched in ^{13}C relative to macroalgae. Dennis et al., 2010 also revealed negative $\Delta\delta^{15}\text{N}$ values in finfishes (*Poecilia reticulata*) and reviewed that animals fed with food very enriched in $\delta^{15}\text{N}$ or $\delta^{13}\text{C}$ may absorb and break down a smaller portion of the compounds containing the heavy isotopes than if fed an isotopically depleted food source. Several recent studies have tested the influence of isotopic signature of the food, on $\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$, throughout a negative linear regression model (Felicetti et al. 2003; Aberle & Malzahn 2007; Caut et al. 2008; 2009; Dennis et al.

2010). Our results seem to follow a similar pattern for the two ophiuroid species for the 2 phases (e.g. whether organisms are in gonadal rest or in gonadal development) and a similar negative linear relationship between $\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ in organisms vs. $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in food sources were explicit. Because of a limited number of experimental diets, testing this linear relationship would have been adventurous but it is still visually explicit. This relationship between tissue diet fractionation values and isotopic signatures of the diet have been strongly debated, advocating possible mathematical artifact or experimental bias in Caut et al. (2008) (see comment of Auerswald et al. (2010), Perga & Grey (2010) and reply of Caut et al. (2010)). This experiment brings additional evidences that this debate is worth investigating, since a relationship between food source signatures and TDDFs would provide – if proven right – a useful proxy in ecological isotopic studies.

5. Conclusion

This investigation provides new evidence that carbon and nitrogen trophic fractionation are not immutable values. We demonstrated that $\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$ varied mainly according to the diet quality and to a lesser extent the physiological state of the studied organism. By investigating different body compartments as a proxy for different tissue composition, we showed that the physiological state of organisms is important if it involves food web reconstruction or trophic behavior dietary reconstruction. When investigating seasonal changes in trophic linkages, models considering the physiological (reproductive) state of the study organism are more accurate, especially for $\Delta\delta^{13}\text{C}$ values. Moreover, our work exhibited a possible negative linear relationship between tissue-diet discrimination factors and isotopic signatures of the diet, hence contributing to a hot isotopic debate. More attention will be necessary to demonstrate whether this relation is a myth or a reality throughout more feeding experiments, under controlled conditions.

Acknowledgements

This work was funded by the Programme National sur l'Environnement Côtier (PNEC) and by the Parc Marin Naturel d'Iroise (PMNI). The authors wish to thank P. Miner, N. le Bayon, P. le Souchu for their help in designing the experimental setup and maintaining the species in steady optimal conditions, as well as X. Caisey and many divers for collecting individuals. We thank Kimberlee L. Sparks for performing isotopes analyses (Cornell University, N.Y., USA). Dr. A. Carlier provided useful comments on an earlier version of this manuscript and Dr. Carey Gelpi (Louisiana State University, USA) helped with English editing.

Literature cited

- Aberle N, Malzahn AM, (2007) Interspecific and nutrient-dependent variations in stable isotope fractionation: experimental studies simulating pelagic multitrophic systems. *Oecologia* 154: 291-303.
- Adams TS, Stener R, (2000) The effect of dietary nitrogen content on trophic level ^{15}N enrichment. *Limnol Oceanogr* 45(3): 601-607.
- Auerswald K, Wittmer MHOM, Zazzo A, Schäufele R, Schnyder H (2010) Biases in the analysis of stable isotope discrimination in food webs. *J Appl Ecol* 47: 936-941.
- Benner R, Fogel ML, Sprague EK, Hodson RE (1987) Depletion of ^{13}C in lignin and its implications for stable carbon isotopes studies. *Nature* 329: 708-710.
- Bourgoin A, Guillou M (1990) Variations in the reproductive cycle of *Acrocnida brachiata* (Echinodermata: Ophiuroidea) according to environment in the Bay of Douarnenez (Brittany). *J Mar Biol Assoc UK* 70: 57- 66.
- Bowling DR, Pataki DE, Randerson JT (2008) Carbon isotopes in terrestrial ecosystem pools and CO_2 fluxes. *New Phytol.* 178: 24-40.
- Briand X, Morand P, (1997) Anaerobic digestion of *Ulva* sp. 1. Relationship *Ulva* composition and methanisation. *J Appl Phycol* 9: 511-524.
- Carleton SA, Martínez del Rio C (2005) The effect of cold-induced increased metabolic rate on the rate of ^{13}C and ^{15}N incorporation in house sparrows (*Passer domesticus*). *Oecologia* 144: 226-232.
- Caut S, Angulo E, Courchamp F (2008) Discrimination factors ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) in an omnivorous consumer: effect of diet isotopic ratio. *Funct Ecol* 22: 255-263.
- Caut S, Angulo E, Courchamp F (2009) Variation in discrimination factors ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *J Appl Ecol* 46: 443-453.
- Caut S, Angulo E, Courchamp F (2010) Trophic experiments to estimate isotope discrimination factors. *J Appl Ecol* 47: 948-954.
- Cerling TE, Harris JM (1999) Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleontological studies. *Oecologia*, 120: 347-363.

- Davoult D, Migné A, (2001) Respiration and excretion of a dense *Ophiothrix fragilis* population in the Bay of Seine (English Channel, France). In: Barker, M.F. (Ed.), Echinoderm 2000. Swets and Zeitlinger, Lisse: 243-248.
- DeMots RL, Novak JM, Gaines KF, Gregor AJ, Romanek CS, Soluk DA, (2010) Tissue-diet discrimination factors and turnover of stable carbon and nitrogen isotopes in white-footed mice (*Peromyscus leucopus*). Can J Zool 88: 961-967.
- DeNiro MJ, Epstein S (1977) Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis. Science 197: 261-263.
- DeNiro MJ, Epstein S (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals Geochim Cosmochim Acta, 42: 495-506.
- DeNiro MJ, Epstein S (1981) Influence of the diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. Geochim Cosmochim Acta 45: 341-351.
- Dennis CA, MacNeil MA, Rosati JY, Pitcher TE, Fisk AT (2010) Diet discrimination factors are inversely related to $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values of food for fish under controlled conditions. Rapid Commun. Mass Spectrom 24: 3515-3520.
- Dubois S, Blin JL, Bouchaud B, Lefebvre S (2007) Isotope trophic-step fractionation of suspension-feeding species: Implications for food partitioning in coastal ecosystems. J Exp Mar Biol Ecol 351: 121-128.
- Duggins DO, Eckman JE (1997) Is kelp detritus a good food for suspension feeders? Effect of kelp species, age and secondary metabolites. Mar Biol 128: 489-495.
- Felicetti, LA, Schwartz CC, Rye RO, Haroldson MA, Gunther KA, Phillips DL, Robbins CT (2003) Use of sulfur and nitrogen stable isotopes to determine the importance of whitebark pine nuts to Yellowstone grizzly bears. Can J Zool 81: 763-770.
- Focken U (2001) Stables isotopes in animal ecology: the effects of ration size on the trophic shift of C and N isotopes between feed and carcass. Isot. environ. Health Stud 37: 199-211.
- Fontaine AR (1965) The feeding mechanisms of the ophiuroid *Ophiocomina nigra*. J Mar Biol Assoc UK 45: 373-385.
- Gannes LZ, O'Brien DM, Martinez del Rio C (1997) Stable Isotopes in Animal Ecology: Assumptions, Caveats, and a Call for More Laboratory Experiments. Ecology 78: 1271-1276.
- German DP, Miles RD (2010) Stable carbon and nitrogen incorporation in blood and fin tissue of the catfish *Pterygoplichthys disjunctivus* (Siluriformes, Loricariidae). Environ Biol Fish 89: 117-133.
- Hobson KA, Alisauskas RT, Clark RG (1993) Stable nitrogen isotope enrichment in avian tissues due to fasting and nutritional stress: implications for isotopic analyses of diet, The Condor 95: 388-394.
- Hobson KA, Bairlein F (2003) Isotopic fractionation and turnover in captive Garden Warblers (*Sylvia borin*) : implications for delineating dietary and migratory associations in wild passerines. Can J Zool 81: 1630-1635.
- Jonsson L, Elwinger K (2009) Mussel meal as a replacement for fish meal in feeds for organic poultry – a pilot short-term study. Acta Agric Scand Sect A-Anim Sci 59(1): 22-27.
- Kojadinovic J, Richard P, Le Corre M, Cosson RP, Bustamante P (2008) Effects of lipids extraction on $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in seabird muscle, liver and feathers. Waterbirds, 31: 169-178.

- Kristensen JH (1972) Carbohydrases of some marine invertebrates with notes on their food and on the natural occurrence of the carbohydrates studied. *Mar Biol* 14: 130-142.
- Lefebvre A, Davoult D, Gentil F, Janquin MA (1999) Spatio-temporal variability in the gonad growth of *Ophiothrix fragilis* (Echinodermata: ophiuroidea) in the English Channel and estimation of carbon and nitrogen outputs towards the pelagic system. *Hydrobiologia* 414: 25-34.
- Lorrain A, Paulet YM, Chauvaud L, Savoye N, Donval, A, Saout C (2002) Differential $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures among scallop tissues: implications for ecology and physiology. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 275, 47-61. *Mar Ecol Prog Ser* 346: 203-217.
- Macko SA, Lee WY, Parker PL (1982) Nitrogen and Carbon isotope fractionation by two species of marine amphipods: laboratory and field studies. *J Exp Mar Biol Ecol* 63: 145-149.
- Macko SA, Fogel Estep ML, Hare PE, Hoering TC (1987) Isotopic fractionation of nitrogen and carbon in the synthesis of amino acids by microorganisms. *Chem Geol* 65: 79-87.
- Malet N, Sauriau PG, Faury N, Soletchnik P, Guillou G (2007) Effect of seasonal variation in trophic conditions and the gametogenic cycle on $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ levels of diploid and triploid Pacific oysters *Crassostrea gigas*. *Mar Ecol Prog Ser* 246: 203-217.
- Martinez del Rio C, Wolf, BO (2005) Mass balance models for animal isotopic ecology. *Physiological Adaptations to Feeding in Vertebrates* (eds. M. A. Starck & T. Wang), pp. 141-174. Science Publishers, Enfield, New Hampshire.
- Martinez del Rio C, Wolf N, Carleton SA, Gannes LZ (2009) Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. *Biol Rev*, 84: 91-111.
- Martinez-Pita I, Sanchez-Lazo C, Prieto E, Moreno O (2011) The effect of diet on gonadal development of the smooth venus clam *Callista chione* (mollusc, bivalvia). *J shellfish res* 30 (2): 295-301.
- McCutchan J.H, Lewis W. M., Kendall,C., McGrath, C.C, (2003) Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *Oikos*,102: 378-390.
- Minagawa M, Wada E (1984) Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: Further evidence and the relation between ^{15}N and animal age *Geochim Cosmochim Acta*, 48: 1135-1140.
- Parnell AC, Inger R, Bearhop S, Jackson AL (2010) Source Partitioning Using Stable Isotopes: Coping with Too Much Variation. *PLoS One* 5(3): 5.
- Paulet YM, Lorrain A, Richard J, Pouvreau S (2006) Experimental shift in diet $\delta^{13}\text{C}$: A potential tool for ecophysiological studies in marine bivalves. *Org Geochem* 1359-1370.
- Pavanelli CAM, Mossolin EC, Mantelatto FL (2010) Maternal investment in egg production: environmental and population-specific effects on offspring performance in the snapping shrimp *Alpheus nuttingi* (Schmitt, 1924) (Decapoda, Alpheidae). *Anim Biol* 60 (3): 237-247(11).
- Perga ME, Grey J (2010) Laboratory measures of isotope discrimination factors: comments on Caut et al. (2008, 2009). *J Appl Ecol* 47, 942-947.
- Pinnegar JK, Polunin NVC (1999) Differential fractionation of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ among fish tissues: Implications for the study of trophic interactions. *Funct Ecol* 13: 225-231.
- Polito MJ, Abel S, Tobias CR, Emslie SD (2011) Dietary isotopic discrimination in gentoo penguin (*Pygoscelis papua*) feathers. *Polar Biol* 34: 1057-1063.

- Pomory C, Lawrence JM (1999) Energy content of *Ophiocoma echinata* (Echinodermata: Ophiuroidea) maintained at different feeding levels during arm regeneration. *J Exp Mar Biol Ecol* 238: 139-150.
- Post DM (2002). Using stable isotope methods to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83: 703-718.
- Schmidt K, Atkinson A, Stübing D, McClelland JW, Montoya JP, and Voss M (2003) Trophic relationships among Southern Ocean copepods and krill: some uses and limitations of a stable isotope approach. *Limnol Oceanogr* 48: 277–289.
- Suring E, Wing SR (2009) Isotopic turnover rate and fractionation in multiple tissues of red rock lobster (*Jasus edwardsii*) and blue cod (*Paraperca colias*): Consequences for ecological studies. *J Exp Mar Biol Ecol* 370: 56-63.
- Therrien JF, Fitzgerald G, Gauthier G, Bêty J (2011) Diet-tissue discrimination factors of carbon and nitrogen stable isotopes in blood of Snowy Owl (*Bubo scandiacus*). *Can J Zool* 89: 343-347.
- Tieszen LL, Boutton TW, Tesdahl KG, Slade NA (1983) Fractionation and turn-over of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. *Oecologia* 57: 32-37.
- Vander zanden MJ, Rasmussen JB (2001) Variation in delta N-15 enrichment: a meta-analysis. *Oecologia* 136: 169-182.
- Vanderklift MA, Ponsard S (2003) Sources of variation in consumer-diet delta N-15 enrichment: a meta-analysis. *Oecologia*, 136: 169-182.
- Warner GF, Woodley JD (1975) Suspension feeding in the brittle-star *Ophiothrix fragilis*. *J Mar Biol Assoc UK* 55: 199-210
- Wehi PM, Hicks BJ (2010) Isotopic fractionation in a large herbivorous insect, the Auckland tree weta. *J Insect Physiol* 56: 1877-1882.
- Yokoyama H, Tamaki A, Harada K, Shimoda K, Koyama K, Ishihi Y (2005) Variability of diet-tissue isotopic fractionation in estuarine macrobenthos. *Mar Ecol Prog Ser* 296: 115-128.
- Yokoyama H, Ishihi Y, Yamamoto S (2008) Diet-tissue isotopic fractionation of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Mar Ecol Prog Ser* 358: 173-179.

Chapitre 3 : Ecologie trophique d'*Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis* au sein d'écosystèmes côtiers anthropisés: utilisation des acides gras et des isotopes stables du carbone et de l'azote

Résumé

Les isotopes stables du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$) couplés aux marqueurs d'acides gras ont été utilisés comme traceurs trophiques pour (1) évaluer l'influence des apports continentaux vs océaniques au régime alimentaire d'*Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis* par une approche spatio-temporelle (2) identifier d'éventuelles compétitions interspécifiques. La dynamique des contributions de cinq sources de matière organique (MOPS: matière organique en suspension, MOS: matière organique sédimentée, MOP: matière organique particulaire, MOT: matière organique terrigène, macroalgue verte: *Ulva* sp) dans le régime alimentaire des deux ophiures a été étudiée, tous les deux mois, sur un cycle annuel. Les deux espèces d'ophiures, de MOS et de MOPS ont fait l'objet d'échantillonnage dans 4 stations. Deux stations influencées par les apports océaniques, l'une à l'entrée de la baie de Douarnenez (Do), et aux Blancs-Sablons (BS) ont été échantillonnées et à l'opposé, deux stations plus largement influencées par des apports continentaux, l'une dans le centre de la rade de Brest (BB), l'autre en fond de baie de Douarnenez (Di). Les apports terrigènes (MOT) ont été échantillonnés dans deux rivières, l'une se déversant en rade de Brest (*Elorn*), l'autre se déversant en fond de baie de Douarnenez (*Ris*).

La variabilité (effets stations, dates, espèces) des proportions d'acides gras a été explorée par une Analyse en Composantes Principales (ACP). La variabilité des compositions isotopiques ($\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$) ainsi que les proportions de marqueurs d'acides gras plus spécifiques tels que 20:5n-3/22:6n-3, 16:1n-7/16:0 (diatomées), PUFA/SFA (phytoplancton vs détritus), acides gras bactériens, 18:3n-3+18:2n-6 (plantes supérieures, apports terrigènes et/ou macroalgues vertes), 18:1n-9/18:1n-7 (index de carnivorie) a été analysée par une analyse de variance (ANOVA à trois facteurs). La position trophique des organismes a également été explorée au moyen d'une relation entre le $\delta^{15}\text{N}$ et le ratio 18:1n-9/18:1n-7.

D'une façon générale, les résultats révèlent essentiellement des différences interspécifiques et dans une moindre mesure des différences spatio-temporelles. Les marqueurs trophiques d'acides gras du phytoplancton révèlent un régime suspensivore à base de diatomées chez les deux espèces avec une contribution majeure dans le régime d'*O. fragilis*. Les signatures en $\delta^{15}\text{N}$ sont globalement plus élevées chez *O. nigra* que chez *O. fragilis* indiquant que l'espèce se nourrit également sur un niveau trophique supérieur. La mise en évidence d'une relation positive entre le $\delta^{15}\text{N}$ et le ratio 18:1n-9/18:1n-7 des ophiures a permis de mieux discriminer les deux espèces selon leur habitude alimentaire (herbivore vs omnivore/carnivore) précisant qu'*O. nigra* occupe une position supérieure dans le réseau

trophique probablement en raison d'une consommation plus élevée d'animaux. Les marqueurs trophiques d'acides gras sélectionnés révèlent une plus grande plasticité trophique chez *O. nigra*. Des valeurs de PUFA/SFA plus faibles, associées à une plus forte proportion de bactéries semblent indiquer une plus grande consommation de matériel détritique dans le régime d'*O. nigra* que dans celui d'*O. fragilis*. La composition isotopique en $\delta^{13}\text{C}$ et le marqueur d'acide gras (18:3n-3+18:2n-6) des tissus d'ophiures montrent une contribution des apports terrigènes et/ou d'algues vertes (*Ulva* sp) globalement faible, en dépit d'une influence plus marquée de ces sources en fond de baie de Douarnenez et en rade de Brest en fin d'étude. Cette étude a confirmé la capacité d'*O. nigra* à exploiter une plus grande diversité de sources de nourriture présentes à différents niveaux trophiques lui conférant ainsi un avantage certain vis-à-vis d'*O. fragilis*.

Mots clés : échinoderme, omnivore, *Ophiocomina nigra*, *Ophiothrix fragilis*, rade de Brest, baie de Douarnenez, *Ulva* sp

Article IV (*in prep*): Feeding ecology of two co-occurring ophiurids in anthropogenic coastal systems, derived from fatty acid and stable isotope analyses

A soumettre dans Marine Ecology Progress Series

Aline Blanchet-Aurigny^{a*}, Stanislas F Dubois ^a, Claudie Quéré ^c, Monique Guillou ^b, Fabrice Pernet ^c

^a IFREMER, Laboratoire d'Ecologie Benthique, Département Océanographie et Dynamique des Ecosystèmes, Centre de Bretagne, BP70, 29280 Plouzané, France

^b Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale, LEMAR UMR CNRS IRD 6539, place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané, France

^c IFREMER, Laboratoire de Physiologie Fonctionnelle des Organismes Marins Centre de Bretagne, BP70, 29280 Plouzané, France

Abstract

Feeding ecology of two co-occurring ophiurids *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* (Echinodermata, Ophiuroidea) in coastal system of Brittany (France) was investigated. We designed a field survey and used the dual fatty acid biomarker (FA) derived from neutral lipids and stable isotope (SIA) approach to explore the contribution of oceanic vs continental inputs to the diet of ophiurids, according to seasons and also to explore trophic competition between the two species. In our study, spatiotemporal variations in stable isotopes and fatty acid profiles of ophiurids were generally low compared to interspecific differences. Since FA showed that both ophiurids seemed rely on diatom inputs, SIA revealed more $\delta^{15}\text{N}$ -enriched values as well as a more balanced FA composition in *O. nigra* than in *O. fragilis*, supporting a broad range of food sources to the diet of *O. nigra*, irrespective of locations and sampling times. The positive correlation between 18:1n-9/18:1n-7 and $\delta^{15}\text{N}$, showed higher trophic position for *O. nigra* suggesting contribution of animal material to its diet whereas *O. fragilis* appeared more herbivorous. Moreover, a low PUFA/SFA ratio associated with elevated bacteria indicate that *O. nigra* was feeding on detritus. SIA and the FAs 18:2n-3 + 18:2n-6 showed that the terrestrial and/or green algae did not contribute greatly to the diet of ophiurids despite a significant increase of these FAs marker at the end of the study period in both inside sites.

KEY WORDS: echinoderm, omnivory, *Ophiocomina nigra*, *Ophiothrix fragilis*, Bay of Brest, Bay of Douarnenez, *Ulva* sp

1 Introduction

Echinoderms are reported in many systems to play key structural and functional roles. Echinoderm species exhibit high population density fluctuations also called ‘outbreak’ or ‘die-off’ events in coastal and deep ecosystems (Uthicke et al. 2009). Although mixed beds of *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* (Echinodermata, Ophiuroidea) are usually predominated by *O. fragilis* and are reported to be stable over time, an increase in *O. nigra* population size and the induction of a spatial shift of the co-occurring *O. fragilis* occurred between 1987 and 2011 in the Bay of Brest (Brittany, France) (Blanchet-Aurigny et al. 2012a). It was suggested that the success of *O. nigra* colonization is linked to its biological and functional traits, as well as deep changes in food supply over the studied period.

While both adult ophiurid species are reported to be suspension-feeders, collecting particles from the water-column with their arms (Aronson 1989), *O. nigra* exhibits a much wider trophic plasticity and displays a very important versatile feeding behavior (Fontaine 1965). Indeed, *O. nigra* is more mobile at the sediment-water interface and commonly behaves either as a deposit-feeder feeding from the surface film (Magnus 1963), browses from a variety of deposited material (Vevers 1956), or behaves as a carnivorous species, foraging over detritus or carrions (Nagabhushanam & Colman 1959). Flexibility in feeding habits of *O. nigra* contributes to the success of this species (Fontaine 1965) and could explain its recent expansion in the bay of Brest.

Alternatively, it was suggested that changes in potential food supply in the Bay of Brest has probably resulted in an increase in *O. nigra* density and enhanced the fecundity and fertilization success of adults (Blanchet-Aurigny et al. 2012a), as demonstrated for other echinoderms (Sewell & Levitan 1992). For the last decade, green tides and high production of green macrophytes *Ulva* sp. have been an increasing issue in Brittany coastal waters (Dion & Le Bozec 1996; Merceron et al. 2007). The Bay of Brest as well as many other embayments exhibits frequent macroalgae blooms (Ménèsquen et al. 2006), hence providing a large supply of macroalgae detritus for species which may benefit from this. Overall, *O. nigra* and *O. fragilis* are widespread and abundant in many embayments in Brittany, especially southward in the Bay of Douarnenez (also impacted by green macroalgal blooms) where *O. nigra* also increased (M. Guillou & A. Blanchet-Aurigny submitted).

In many coastal areas, stable isotope analysis has been used successfully to study the trophic links from primary producers to higher trophic levels, indicating different utilization

of food sources by benthic and pelagic invertebrates (Fry 2007). Indeed, stable isotopes in consumers provide time-integrated information on food sources, averaging the natural environment variability in dietary components. Carbon and nitrogen isotope ratios in animal's tissues closely reflect those in their diets with a slight enrichment of heavier isotopes (^{13}C , ^{15}N) because of preferential respiration of lighter ^{12}C and excretion of lighter ^{14}N (DeNiro & Epstein 1978). Lipid markers also provide complementary information on the type and quality of resources assimilated by animals (Dalsgaard et al. 2003). Marine bacteria, diatoms, dinoflagellates, terrestrial inputs and vascular plants show different combinations of specific fatty acids. Given that fatty acids are incorporated largely unaltered into the reserve lipids of marine invertebrates, they generally reflect the fatty acid profiles of the food consumed and could therefore reveal useful information about trophic sources. When used together, fatty acid and stable isotope techniques show promise for resolving the trophic ecology of complex aquatic ecosystems (Kharlamenko et al. 2001; Kelly & Scheibling 2012). The main objective of this study is to investigate the feeding ecology of two co-occurring ophiurid populations using stable isotopes and fatty acids. Mc Kenzie et al. (2000) showed that both stable isotopes and fatty acids provide interesting clues as to the role of food sources in *O. fragilis* and *O. nigra*. The novelty of our work is that we used these trophic markers to investigate the fluctuations in ophiurid populations.

In this study, *O. fragilis* and *O. nigra* were sampled 5 times between June 2010 and April 2011 at four contrasted locations: the central part of the Bay of Brest (BB), the inshore zone of the Bay of Douarnenez (Di), the offshore zones of the Blancs-Sablons (BS) and the Bay of Douarnenez (Do) (Fig. 1). As in many other embayment in Brittany, BB and Di are two highly productive coastal areas which exhibit frequent macroalgae blooms (Ménèsguen et al. 2006), hence providing a large supply of macroalgae detritus for species which may benefit from this. In contrast, the two other offshore sites (BS and Do) are relatively far away from their watershed and remained free of macroalgal blooms.

2. Materials and Methods

2.1 Study areas

The bay of Brest (BB) is a shallow marine coastal system of ca 180km² connected to open marine waters of the Atlantic Ocean by a narrow opening of 1.8Km width (Fig. 1). This bay is a macrotidal system that receives anthropogenic nutrient inputs from two rivers (Aulne

and Elorn) which are promoted by high hydrodynamic mixing conditions (Le Pape et al. 1996). This Bay is characterized by high phytoplankton biomass and benthic communities are dominated by dense population of suspensive filter feeders (Hily 1989; 1991). Close to this Bay, the site of Blanc-Sablons (BS) is promoted by strong hydrodynamic conditions and is highly exposed to oceanic inputs. Southward to these two sites, the Bay of Douarnenez is a shallow marine coastal system of about 350 km² connected to the Atlantic Ocean by a narrow opening of 9km width. The inshore zone of the Bay of Douarnenez (Di) is highly impacted by green macroalgae blooms also called “green tide” (Merceron et al. 2007). The offshore zone of the Bay (Do) is promoted by strong hydrodynamic conditions.

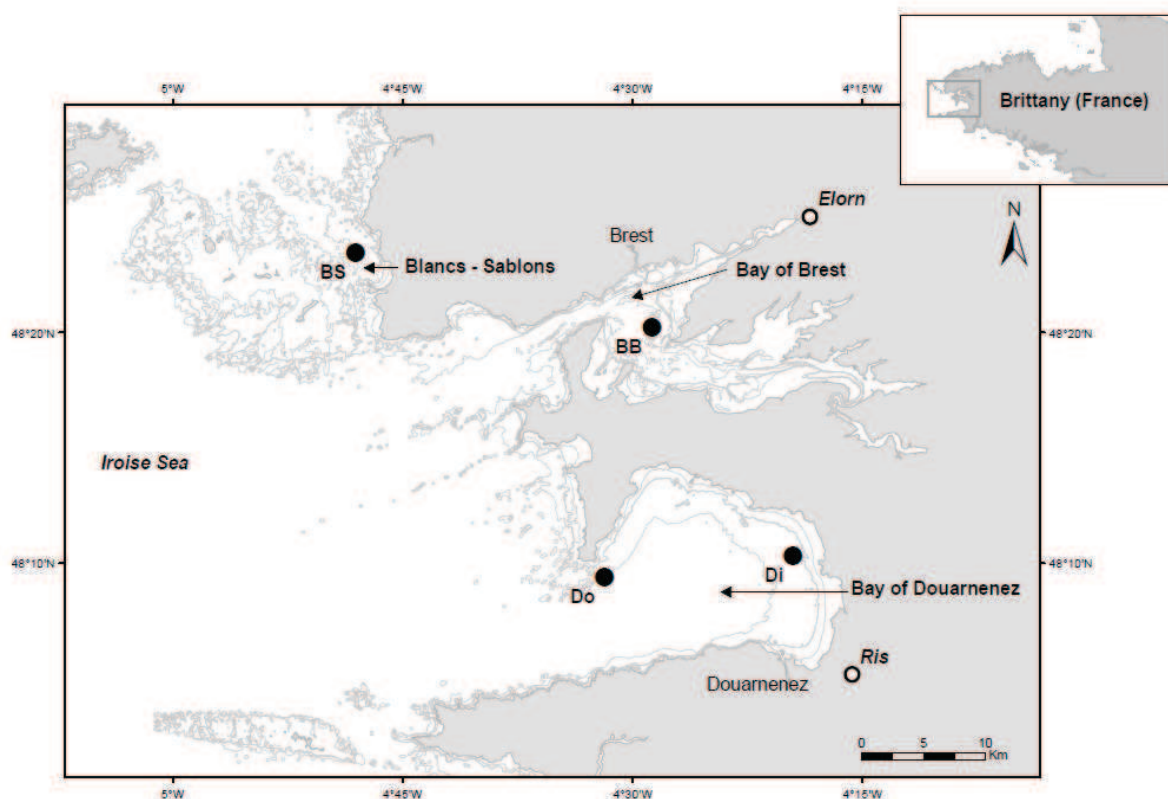


Figure 1. Map of the sampling sites. Both ophiurids (*Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis*) and the food sources: suspended organic matter (SPOM); sedimented organic matter (SOM) and macroalgae were collected at four sites (black circles): two sites in the Bay of Douarnenez (Di: inshore; Do: offshore), one in the Bay of Brest (BB) and one in the site of Blanc-Sablons (BS). The terrestrial organic matter (TOM) was collected from freshwaters at the “Elorn” and the “Ris” rivers (white circles).

2.2 Sample collection

Food sources and ophiurids specimens were sampled 5 times between June 2010 and April 2011 in the Bay of Brest (BB), Blanc-Sablons (BS), and in the Bay of Douarnenez (Do: offshore, Di: inshore).

2.2.1 Food sources

Four putative food sources were analyzed: the suspended particulate organic matter (SPOM), the terrestrial organic matter (TOM), the sediment organic matter (SOM) and the green macroalgae *Ulva* sp. Food sources were collected and prepared for isotope analyses only.

Water samples were collected at 50 cm deep at high tide, close to the ophiurid bed for SPOM analyses. Also, freshwater samples were collected in the two rivers (Elorn and Ris) for TOM analyses. About 10 to 40 L of water for each sample (SPOM and TOM) was collected and pre-filtered through a 200µm mesh screen to remove the largest particles. Then, each water sample was filtered through pre-combusted Whatmann GF/C filters.

Sediments were collected at ~1cm deep by means of a PVC tube corer (30 cm length and 6 cm diameter) for SOM analyses. Sediment samples were rinsed with filtered seawater and pre-filtered through 500 µm and 200 µm mesh screen to remove the largest particles and frozen at -80°C. Then, sediment samples were freeze-dried and grounded in fine powder with a pestle and a mortar.

Finally, samples of the green macroalgae *Ulva* sp. (stranding and floating thalles) were collected in the Bay of Douarnenez from June to October-10 and cleaned with filtered seawater to remove epibionts and frozen at -80°C. Samples were freeze dried and ground to powder before stable isotope analyses.

2.2.2 Ophiurids

At each sampling time, ophiuroid specimen (30 for each species) were kept in filtered seawater using a flow-through system for 24h to clear their stomachs. Animals from each location were maintained in separate tanks. Three pools of 10 individuals (of *ca.* 10 mm disk diameter) per species were sampled, rinsed with filtered seawater, and frozen at -80°C. Each animal sample was ground to powder with a Danguomeau homogenizer, and sub-sampled for stable isotope and fatty acid analyses. Then, sub-samples were frozen at -80°C.

2.3 Stable isotopes analyses

Filters containing SPOM and TOM were treated with HCl fumes (10N) during 24h to remove carbonates and then dried at 40°C before ¹³C analysis. Also, SOM (1 g of powder) was decarbonated with HCl (1N) several times until foaming.

Sub-samples of grinded animal tissues were freeze-dried and decarbonated with HCl (1N). Lipids were removed using cyclohexane (Kojadinovic et al. 2008). Lipid-free tissues were dried at 48°C for 24 hours prior to acid treatment. Untreated samples were used for ¹⁵N analyses.

About 1 mg of freeze-dried, homogenized samples (food sources and animals) were weighted into 4 x 6 mm tin cups and stored at 33°C until isotopic analyses. Isotopic analyses were performed by an isotope ratio mass spectrometer (IRMS) Finnigan MAT Delta Plus coupled with a Carlo EbraNC2500 elemental analyser at the Isotope Stable Laboratory, Cornell University (New York / USA). The analytical error was 0.2 ‰, for both N and C (as measured with internal laboratory standards). Stable isotopic data are expressed as the relative per mil differences between the samples and the conventional standard Pee Dee Belemnite (PDB) for carbon and air N₂ for nitrogen, according to the following equation:

$$\delta X = [(R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1] \times 1000$$

where X ‰ is ¹³C or ¹⁵N abundance and R is the ¹³C/¹²C or ¹⁵N/¹⁴N ratios.

As demonstrated recently, *O. fragilis* showed a lower fractionation values than *O. nigra* irrespective of food sources (Blanchet-Aurigny et al. 2012b). Thereby, the values of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in *O. fragilis* were normalized with respect to those of *O. nigra* by adding +0.8 and +0.5‰ respectively to the original ¹³C and ¹⁵N values. The food sources were also corrected: SPOM and SOM: $\Delta\delta^{13}\text{C} = +2\text{‰}$; $\Delta\delta^{15}\text{N} = +3.6\text{‰}$ (Dubois et al. 2007); *Ulva* sp: $\Delta\delta^{13}\text{C} = - 2.35\text{‰}$; $\Delta\delta^{15}\text{N} = +3.4\text{‰}$ (Blanchet-Aurigny et al. 2012b). Corrected food sources and both ophiurids were presented together in a $\delta^{13}\text{C}$ - $\delta^{15}\text{N}$ biplot for dietary interpretation for each site and each date.

2.4 Lipid analyses

About 200 mg of powder of animal samples were placed in glass vials filled with 3 ml of dichloromethane-methanol (CHCl₂-MeOH mixture) (2:1v/v) prior to total lipid extraction following Folch et al. (1957).

An aliquot of the lipid extract was evaporated to dryness and lipids recovered with three 0.5ml washings of Chloroform-methanol (CHCl₃-MeOH mixture) (98:2 v/v). The lipids were placed at the top of silica gel microcolumn (30 × 5 mm internal diameter; Kiesegel; 70-230 mesh [Merk, Lyon, France]; previously heated to 450°C and deactivated with 6 % water).

The neutral lipids were eluted with 10 ml CHCl₃-MeOH mixture (98:2 v/v). The polar lipids were eluted with 15 ml methanol. A known amount of 23:0 fatty acid was added as an internal standard to both neutral and polar fractions of the animal samples. Lipids were transesterified with 10 wt. % boron trifluoride-methanol (Metcalf & Schmitz 1961) and analysed according to the method described by Marty et al. (1992); the fatty acid methyl esters were analyzed in a gas chromatograph with an on-column injector, a DB-Wax (30 m × 0.25 mm; 0.25 μm film thickness) capillary column and a flame ionization detector.

Fatty acids were identified by comparing their retention times with those of known standards: a 37 component FAME Mix, Bacterial Acid Methyl Ester (BAME) Mix and PUFA-3 Menhaden oil (Supelco, Bellefonte, PA, USA). Because polar lipids are less sensitive to dietary changes, only fatty acid profiles of neutral lipids of both *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* were included in this paper. All the fatty acids contributing to at least >0.5% of the total were taken into account. However, the C₂₄ PUFAs previously reported by McKenzie et al. (2000) were not included in our study as they likely result from elongation of 22:6n-3 instead of food sources. Also, these putative C₂₄ PUFAs have not been properly identified yet in our samples. Further mass-spectrometry analyses are required to take these particular fatty acids into account.

2.5 Statistical analyses

Fatty acid composition (> 0.5% at least for one sample of the total neutral lipid) of *Ophiothrix fragilis* and *Ophiocomina nigra* was analyzed using principal components (PCA) to identify seasonal (5 sampling dates), species (×2) and sites (×4) variations. Previously hierarchical cluster analyses were performed using Bray-Curtis similarity matrix of fatty acid. The clusters were found at a significant level of similarity using the SIMPROF (similarity profile) routine to objectively-defined groups. Clusters were then overlaid (ellipses) on the PCA biplots to help in the interpretation of grouping between specimens (Clarke & Gorley 2006). Multivariate analyses were performed using PRIMER-6 software (PRIMER-E).

In addition to multivariate analyses, factorial three-way split split-plot analyses of variance (ANOVAs) were conducted to determine difference in stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) and selected fatty acid combination according to species (fixed between subjects factor with 2 levels: *Ophiothrix fragilis* and *Ophiocomina nigra*), locations (Latitude: fixed between subjects factor with 2 levels [North: BB + BS and South: Di + Do]), and exposure and

terrestrial inputs : fixed between subjects factor with 2 levels [Inshore: BB + Di and offshore: BS + Do], and their interactions), sampling dates (random factor with 5 levels of repeated measurements: June-2010, August-2010, October-2010, January-2011, April-2011) and their mutual interactions (Table 1). Significant differences between all possible combinations of sample means were assessed using least-square means multiple comparisons tests ($\alpha < 0.05\%$). Homogeneity of variance-covariance matrices was graphically assessed. All ANOVAs were performed with SAS 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Linear regression model was used to explore trophic position and feeding type of both species using a relationship between 18:1n-9/18:1n-7 FAs ratio and nitrogen stable isotope ($\delta^{15}\text{N}$) in ophiurids. Normality of residuals was tested using Shapiro-Wilk and homoscedasticity of variances was examined graphically.

3. Results

3.1 Stables isotopes of food sources

Stable isotope values of putative food sources are presented in appendix I. Isotopic signatures of the food sources (SPOM, MOS, TOM and *Ulva* sp) seemed to vary as a function of location and time. Temporal variations in SPOM $\delta^{13}\text{C}$ seemed similar among locations: the highest and lowest values were observed in June-10 (-19.8--21.7‰) and January-11 (-24.0--26.8‰) respectively. In contrast, location and time seemed to interact in their effects on SPOM $\delta^{15}\text{N}$. Although the lowest values were observed in April-11 (3.0-4.8‰) at the four locations, the highest values were observed in August-10 in the southern area (Di [8.1‰] and Do [7.0‰]) and in January-11 in the northern area (BB [8.3‰] and BS [7.2‰]). Interestingly, it seemed that the highest $\delta^{15}\text{N}$ values were observed inside bays (BB and Di) compared to those observed outside (Bs and Do).

In contrast to SPOM, values of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in SOM were fairly constant, varying between *ca.* -20.5 to -21.5‰ and 6.0 to 7.8‰ respectively (Table 2). Similarly, values of TOM $\delta^{13}\text{C}$ remained somewhat constant over time, although severely depleted compared to SPOM. However, values of TOM $\delta^{15}\text{N}$ varied markedly with time: highest and lowest values were observed from June-10 to October-10 (5.3 to 9.1‰) and from January to April-11 (3.4 to 5.7‰) respectively (Table 1).

Finally, values of $\delta^{13}\text{C}$ in floating *Ulva* sp, varied from -20.5‰ in June-10 to -16.3‰ in August-10, and then decreased from October-10 to April-11 to -18.2--19.5‰. Values of $\delta^{15}\text{N}$ varied inversely with the values of $\delta^{13}\text{C}$: the highest and the lowest values were found from August-10 to October-10 (~7‰) and in June-10, January-11 and April-11 (~9‰). Values of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in stranded samples of *Ulva* sp. were similar to those of floating specimen collected in August-10. However, some changes were observed in October-10 where values of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in stranded algae were more enriched than those of floating *Ulva* sp.

3.2 Stable isotopes in Ophiurids

Stable isotope values of *Ophiothrix fragilis* and *Ophiocomina nigra* were presented in appendix I and summarized using a biplot of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ (Fig. 2). The two ophiurids species showed distinct stable isotope signature: values of $\delta^{15}\text{N}$ in *O. fragilis* were generally lower than those observed in *O. nigra* whereas values of $\delta^{13}\text{C}$ overlap between the two species (Fig. 2). Values of $\delta^{13}\text{C}$ generally ranged between -17.6 and -18.6‰ for *Ophiocomina nigra* and between -16.6 and -19.0‰ for *Ophiothrix fragilis* (Fig. 2).

Both *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* showed low seasonal changes in their $\delta^{13}\text{C}$ signatures irrespective of location. It is however noteworthy that *O. nigra* was particularly $\delta^{13}\text{C}$ -enriched in BS in October-10 (-14.6‰). In contrast, *O. fragilis* was particularly $\delta^{13}\text{C}$ -depleted in BS in June-10 (-19.8‰) (Table 1).

Values of $\delta^{15}\text{N}$ varied between 9.2 and 11.4‰ for *O. nigra* and between 8.3 and 9.9‰ for *O. fragilis* in BS, Di and Do. Interestingly, values of $\delta^{15}\text{N}$ in *O. fragilis* collected at BB were 1‰ higher than in other locations (Table 1).

Table 2. Values of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in tissues of consumers (*Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis*) and their putative food sources (SPOM: suspended particulate organic matter, SOM: sedimented organic matter, TOM: terrestrial organic matter, and *Ulva* sp.) at four locations: the Bay of Brest (BB), the inshore zone of the Bay of Douarnenez (Di), the offshore zones of the Blancs-Sablons (BS) and the Bay of Douarnenez (Do), between June 2010 and April 2011. Values are means \pm SD (n=3).

	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)					$\delta^{13}\text{C}$ (‰)				
	Jun-10	Aug-10	Oct-10	Jan-11	Apr-11	Jun-10	Aug-10	Oct-10	Jan-11	Apr-11
BB										
<i>O. nigra</i>	10.5 \pm 0.22	10.4 \pm 0.04	10.8 \pm 0.22	10.9 \pm 0.18	10.6 \pm 0.06	-18.4 \pm 0.07	-17.8 \pm 0.12	-17.42 \pm 0.14	-17.5 \pm 0.55	-17.7 \pm 0.10
<i>O. fragilis</i>	10.1 \pm 0.15	9.9 \pm 0.09	10.3 \pm 0.10	10.8 \pm 0.09	9.8 \pm 0.33	-18.8 \pm 0.30	-18.3 \pm 0.14	-18.4 \pm 0.18	-17.9 \pm 0.09	-17.7 \pm 0.33
SPOM	7.2 \pm 0.08	6.5 \pm 0.26	7.8 \pm 1.94	8.3 \pm 1.75	4.8 \pm 1.67	-21.7 \pm 0.02	-21.3 \pm 0.12	NA	-26.8 \pm 0.05	-22.9 \pm 0.37
SOM	6.8 \pm 0.12	6.6 \pm 0.14	6.5 \pm 0.04	6.2 \pm 0.23	7.8 \pm 1.13	-20.9 \pm 0.06	-21.1 \pm 0.09	-21.1 \pm 0.05	-21.0 \pm 0.09	-21.1 \pm 0.04
TOM (<i>Elorn</i>)	7.3 \pm 0.61	9.1 \pm 0.58	6.0 \pm 1.24	5.7 \pm 1.4	4.2 \pm 0.6	-28.2 \pm 0.06	-28.2 \pm 0.07	-28.9 \pm 0.04	-28.9 \pm 0.06	-28.6 \pm 0.10
BS										
<i>O. nigra</i>	10.3 \pm 0.04	10.9 \pm 0.38	11.1 \pm 0.40	11.1 \pm 0.10	11.4 \pm 0.11	-18.6 \pm 0.11	-18.1 \pm 0.24	-14.6 \pm 1.1	-17.7 \pm 0.19	-17.8 \pm 0.23
<i>O. fragilis</i>	9.1 \pm 0.15	8.9 \pm 0.22	9.1 \pm 0.09	9.9 \pm 0.08	9.3 \pm 0.21	-19.8 \pm 0.19	-19.0 \pm 0.20	-17.1 \pm 0.38	-18.2 \pm 0.77	-18.3 \pm 0.19
SPOM	6.6 \pm 0.41	5.1 \pm nd	5.8 \pm 1.37	7.2 \pm 0.49	4.8 \pm 1.99	-20.1 \pm 0.03	-21.4 \pm 0.17	-24.5 \pm 0.01	-26.2 \pm 0.03	-23.0 \pm 0.73
SOM	6.5 \pm 0.13	6.4 \pm 0.07	6.4 \pm 0.17	6.7 \pm 0.14	7.1 \pm 0.12	-21.1 \pm 0.09	-20.8 \pm 0.71	-21.5 \pm 0.32	-21.0 \pm 0.07	-21.0 \pm 0.10
Di										
<i>O. nigra</i>	10.0 \pm 0.18	10.7 \pm 0.17	10.9 \pm 0.13	10.6 \pm 0.12	10.5 \pm 0.06	-17.9 \pm 0.13	-17.8 \pm 0.03	-17.8 \pm 0.28	-17.7 \pm 0.11	-17.4 \pm 0.10
<i>O. fragilis</i>	8.7 \pm 0.25	9.0 \pm 0.23	9.4 \pm 0.07	8.7 \pm 0.03	8.3 \pm 0.03	-18.1 \pm 0.09	-18.2 \pm 0.14	-18.1 \pm 0.31	-17.8 \pm 0.20	-16.6 \pm 0.12
SPOM	6.7 \pm 0.23	8.1 \pm 0.36	6.5 \pm 0.41	7.9 \pm 1.02	3.0 \pm 2.13	-20.7 \pm 0.12	-16.0 \pm 0.12	-22.4 \pm 0.06	-24.0 \pm 0.10	-22.3 \pm 1.73
SOM	7.4 \pm 0.33	6.8 \pm 0.07	6.2 \pm 0.61	6.2 \pm 0.23	7.0 \pm 0.61	-20.6 \pm 0.03	-21.6 \pm 0.14	-21.4 \pm 0.40	-21.5 \pm 0.10	-21.5 \pm 0.22
Do										
<i>O. nigra</i>	9.2 \pm 0.12	9.9 \pm 0.24	10.2 \pm 0.13	10.3 \pm 0.15	10.2 \pm 0.17	-17.7 \pm 0.08	-17.8 \pm 0.08	-17.6 \pm 0.08	-17.3 \pm 0.12	-17.3 \pm 0.04
<i>O. fragilis</i>	8.8 \pm 0.05	9.0 \pm 0.1	9.1 \pm 0.08	9.1 \pm 0.17	8.6 \pm 0.06	-18.0 \pm 0.05	-18.0 \pm 0.13	-17.9 \pm 0.09	-17.4 \pm 0.08	-17.6 \pm 0.04
SPOM	6.6 \pm 0.36	7.0 \pm 0.07	6.5 \pm 0.21	3.8 \pm 0.49	3.7 \pm 0.6	-19.8 \pm 0.06	-20.7 \pm 0.11	-23.3 \pm 0.02	-24.3 \pm 0.06	-23.6 \pm 1.62
SOM	6.9 \pm 0.09	7.0 \pm 0.12	6.9 \pm 0.12	6.4 \pm 0.37	6.0 \pm 1.53	-20.5 \pm 0.09	-20.8 \pm 0.03	-21.0 \pm 0.21	-21.2 \pm 0.25	-20.6 \pm 0.24
DI and Do										
<i>Ulva</i> sp -water column	9.2 \pm 0.48	7.7 \pm 0.39	7.1 \pm 0.04	9.9 \pm 0.04	9.4 \pm 0.16	-20.7 \pm 0.96	-16.3 \pm 2.10	-18.6 \pm 0.10	-18.2 \pm 0.05	-19.5 \pm 0.10
<i>Ulva</i> sp -stranded	NA	7.7 \pm 0.00	8.4 \pm 0.1	NA	NA	NA	-16.4 \pm 2.1	-15.9 \pm 0.0	NA	NA
TOM (<i>Ris</i>)	6.3 \pm 0.12	5.3 \pm 0.27	6.7 \pm 0.14	3.4 \pm 1.33	3.4 \pm 1.96	-28.8 \pm 0.03	-28.5 \pm 0.39	-28.8 \pm 0.06	-28.8 \pm 0.02	-28.7 \pm 0.08

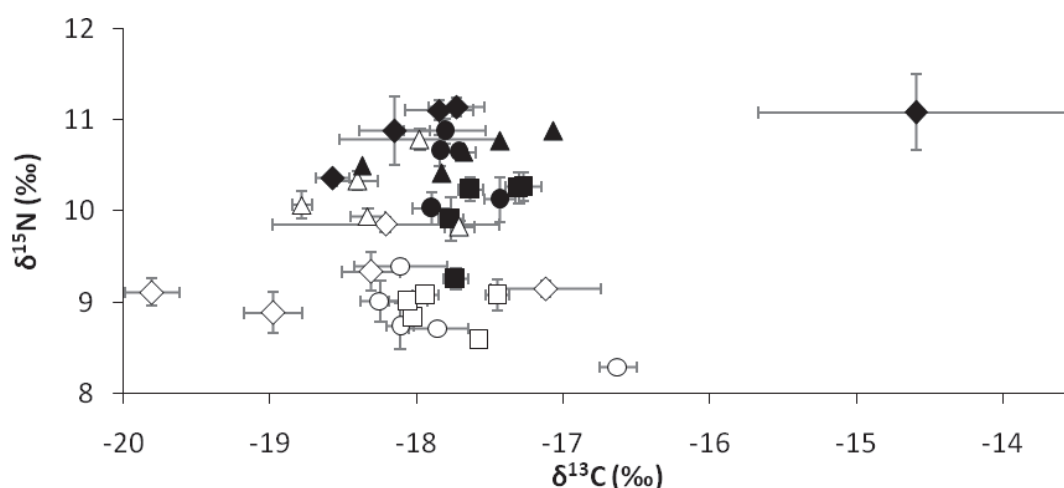


Figure 2. Biplot of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ (mean \pm sd) in *Ophiocomina nigra* (black symbols) and *Ophiothrix fragilis* (white symbols) by sampling sites (BB: triangle, BS: diamond, Di: circle, Do: square). Abbreviations BB: Bay of Brest; BS: Blanc-Sablons; Di: Bay of Douarnenez in-shore; Do: Bay of Douarnenez off-shore

Table 2. Design of the factorial three-way repeated measure ANOVA on the effect of location (area [inshore vs. offshore] and latitude [North vs. South]), species (*Ophiothrix fragilis* vs. *Ophiocomina nigra*), and date of sampling on stable isotope and fatty acid analyses of ophiurids.

Source of variation	Df
Main plot analysis	
Area	1
Latitude	1
Area \times Latitude	1
Error A	8
Subplot analysis	
Sp.	1
Area \times Sp.	1
Latitude \times Sp.	1
Area \times Latitude \times Sp.	1
Error B	8
Sub-subplot analysis	
Date	4
Area \times Date	4
Latitude \times Date	4
Sp. \times Date	4
Area \times Sp. \times Date	4
Latitude \times Sp. \times Date	4
Area \times Latitude \times Sp. \times Date	8
Error C	61

Error A: Replicate (Area \times Latitude), Error B: Sp. \times Replicate (Area \times Latitude), Error C: Date \times Sp. \times Replicate (Area \times Latitude)

The biplots ($\delta^{13}\text{C}$ - $\delta^{15}\text{N}$) of isotopic compositions of organic food sources (corrected for trophic fractionation) and both ophiurids were presented in figure 3. Among the four putative food sources (SPOM, SOM TOM and the green macroalgae *Ulva* sp.), only SPOM, SOM, and *Ulva* sp likely contributed to the ophiuroid diets. Moreover, it seems that the contributions of these food sources slightly varied as a function of species, locations and sampling times. In June and August-10, both ophiurids overall seemed to rely on SPOM and SOM, irrespective of locations. From October-10 to April-11, SOM likely contributed more than SPOM to the diet of ophiurids. However in October, in BS, both species are far away from sampled food sources, also in Di only for *O. fragilis* from January to April-11. From August to October-10, in the southern areas (Do and Di), *Ulva* sp contributed to the diet of *O. nigra* and to a lesser extent, to the diet of *O. fragilis* (Fig. 3).

3.3 Fatty acids in ophiurids

Fatty acid compositions of neutral lipids in soft tissues of *Ophiotrix fragilis* and *Ophiocomina nigra* were presented in appendix I and summarized using a biplot of the first and the second principal components (Fig. 4). Each of the fatty acid contributing to at least 0.5% of the neutral lipids is represented on the biplot for each ophiurid species, location and sampling time. The first two components explained 66 % of the total variance (PC1 = 51%, PC2 = 15%) and allowed separating 3 clusters at the 80% similarity level. The first component allowed clearly separating the two ophiurid species whereas the second component reflected seasonal changes in fatty acid composition. The first cluster consisted of all specimen *O. fragilis*, characterized by the highest level of 20:5n-3 in October-10, January-11 and April-11 in all sites. Clusters II and III consisted of specimens *O. nigra* only. Specimen included into the cluster II exhibited high level of 14:0 and were collected at Di, Do and BB in June 2010. At the intersection between clusters II and III, specimen *O. nigra* were characterized by the highest levels of 16:0, 20:1n-11, 16:1n-7 and 22:5n-3. Finally, the cluster III consisted of all specimens *O. nigra* characterized by the highest levels of bacterial fatty acids, 22:6n-3, 18:1n-9, 18:2n-6, generally sampled between October-2010 and April-2011 (Fig.4).

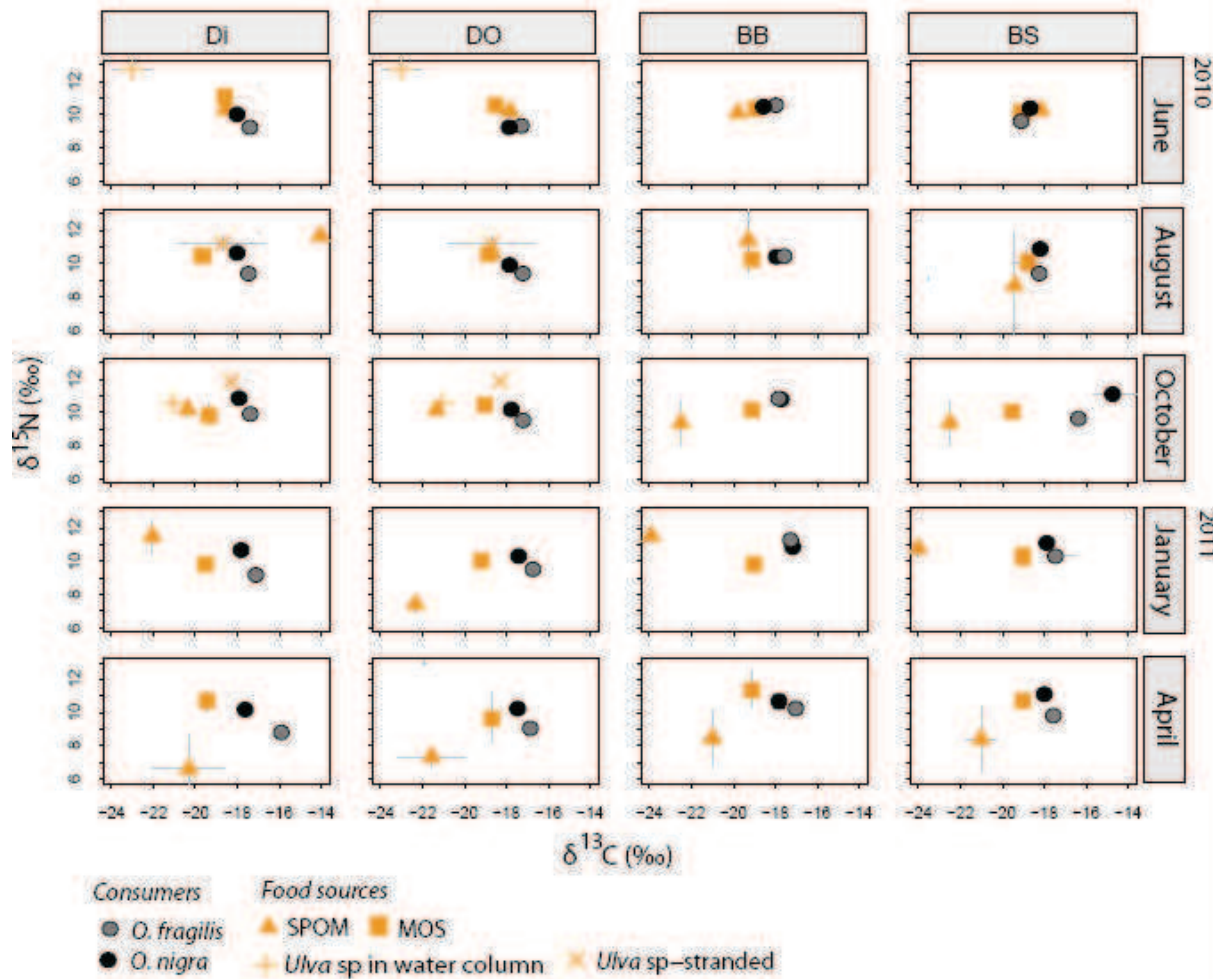


Figure 3. Biplots of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in both ophiurids (*Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis*) tissues (whole animal) and food sources (SPOM, SOM, *Ulva* sp) by sites (Di, Do, BB and BS) and sampling dates. The food sources were corrected for published fraction values: SPOM and SOM: $\Delta\delta^{13}\text{C} = +2\text{‰}$; $\Delta\delta^{15}\text{N} = +3.6\text{‰}$ (Dubois et al. 2007); *Ulva* sp $\Delta\delta^{13}\text{C} = -2.35\text{‰}$; $\Delta\delta^{15}\text{N} = +3.4\text{‰}$ (Blanchet-Aurigny et al. 2012b). The values of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ of *O. fragilis* were normalized with respect to these of *O. nigra* by adding, $+0.8$ and $+0.5\text{‰}$ to the original values respectively for ^{13}C and ^{15}N according to Blanchet-Aurigny et al. (2012)b. Abbreviations BB: Bay of Brest; BS: Blanc-Sablons; Di: Bay of Douarnenez in-shore; Do: Bay of Douarnenez off-shore; SPOM: suspended organic matter, SOM: sedimented organic matter).

The effects of ophiurid species, location and sampling time on fatty acid markers used in the literature were investigated following three-way split-plot ANOVAs (Table 2). The fatty acid markers investigated in this study were the ratios of 16:1n-7/16:0 and 20:5n-3/22:6n-3, both of which indicate the contribution of diatoms to the diets of ophiurids (Budge & Parrish 1998; Dalsgaard et al. 2003). Additionally, we used the ratio between polyunsaturated fatty acids to saturated fatty acids (PUFA/SFA), to investigate the relative importance of phytoplankton versus detritus (Biandolino et al. 2008; Pommier et al. 2010),

the sum of 18:2n-6 and 18:3n-3, which is generally used as a marker of terrestrial vascular plants (Budge & Parrish 1998; Dalsgaard et al. 2003) or green macroalgal inputs (Kelly & Scheibling 2012) and the sum of iso-and anteiso branched chain fatty acids and unbranched 15:0 and 17:0, which reflect the contribution of bacteria to the organic matter (Wolkman et al. 1980; Dalsgaard et al. 2003). Finally, the ratio of 18:1 isomers (namely 18:1n-9/18:1n-7) was proposed as a carnivory index (Graeve et al. 1997).

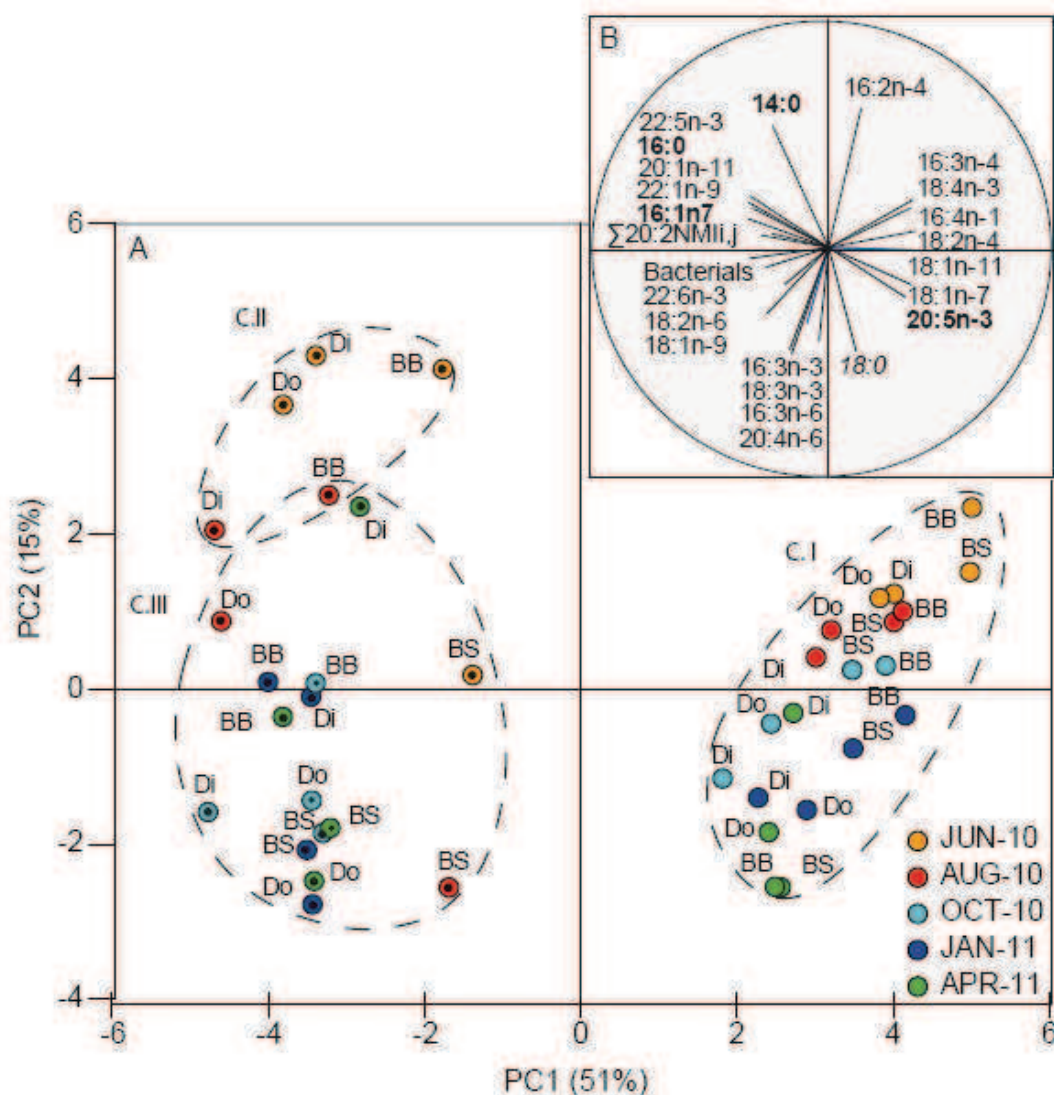


Figure 4. A: Biplot of the first and second principal components (PC) derived from Fatty acids of *Ophiocomina nigra* (symbol with black spot inside) and *Ophiothrix fragilis* (without black spot) by sampling date (color symbol) and sites (Do, Di, BB, BS). Ellipses around samples indicate hierarchical clustering (using a Bray-Curtis similarity matrix (80%). B: Correlation circle of dependent variables. Major fatty acids are indicated in bold (mean level > 10%). Abbreviations: Do: off-shore Bay of Douarnenez Di: in-shore Bay of Douarnenez; BB: Bay of Brest; BS: Blanc-Sablons).

Although ophiurid species, locations and sampling date effects on 16:1n-7/16:0 interacted (Sp. × Latitude × Exposure × Time, $p < 0.001$), this diatom marker varied only

slightly (from 0.63 and 0.93, except in *O. nigra* collected at BS were values higher than 1.0 were recorded) and no clear spatiotemporal pattern emerged (Fig. 5A).

As observed for 16:1n-7/16:0, species, locations and sampling date effects on 20:5n-3/22:6n-3 interacted ($p < 0.001$, Fig. 5B). However, this diatom marker was 3 to 6 times higher in *O. fragilis* than observed in *O. nigra*, irrespective of locations and sampling dates ($P < 0.001$). It is also noteworthy that values of 20:5n-3/22:6n-3 were particularly high in both ophiurid species, ranging from 15.5 to 58.4 in *O. fragilis* and from 3.6 to 21.7 in *O. nigra*, reflecting low levels of 22:6n-3 (see appendix 1). In *O. nigra*, values of 20:5n-3/22:6n-3 increased by 2 to 6 times from October-10 onward at Do and Di respectively, whereas they remained fairly constant at BB and BS. In *O. fragilis*, values of 20:5n-3/22:6n-3 increased from October-10 onward at Di and Do as observed in *O. nigra*. However, at BB and BS, ratio values in *O. fragilis* peaked in January-11 until reaching 46.9-58.4.

The PUFA/SFA ratio was about 2 times higher for *O. fragilis* than *O. nigra* ($P < 0.0001$, Fig 5C) irrespective of locations and sampling dates and remained overall over time for both species.

Values of 18:2n-6 + 18:3n-3, which are generally used as an indicator of terrestrial inputs, ranged from as low as 0.7% to 1.9%. Species, locations and sampling date effects on this indicator interacted ($p < 0.001$, Fig. 5D). Values of 18:2n-6 + 18:3n-3 were generally higher in *O. nigra* compared to those observed in *O. fragilis*. Also, values of 18:2n-6 + 18:3n-3 remained fairly constant at Do whereas they increased regularly at BB and BS, and chaotically at Di. Values of 18:2n-6 + 18:3n-3 recorded at the end of the study period showed a 32% increase inside bays (BB and Di, mean = 1.18%) compared to those observed outside (BS and Do, mean = 1.55%), irrespective of ophiurid species.

The sum of iso- and anteiso-branched chain fatty acids and unbranched 15:0 and 17:0 varied as a function of the interaction among species, locations and sampling dates ($P < 0.001$, Fig. 5E). Overall, values for this bacterial marker were lower in *O. fragilis* (between 0.8 and 1.9%) than in *O. nigra* for which they ranged from 1.6 and 3.9%. For *O. nigra*, these values increased gradually between June-10 and January-11 at BB and Di to reach 3.5%. At Do, bacterial fatty acids were initially higher than observed at BB and Di ($P < 0.001$, Fig. 5E) and remained fairly stable. In both species, values of this bacterial marker remained fairly constant in BS.

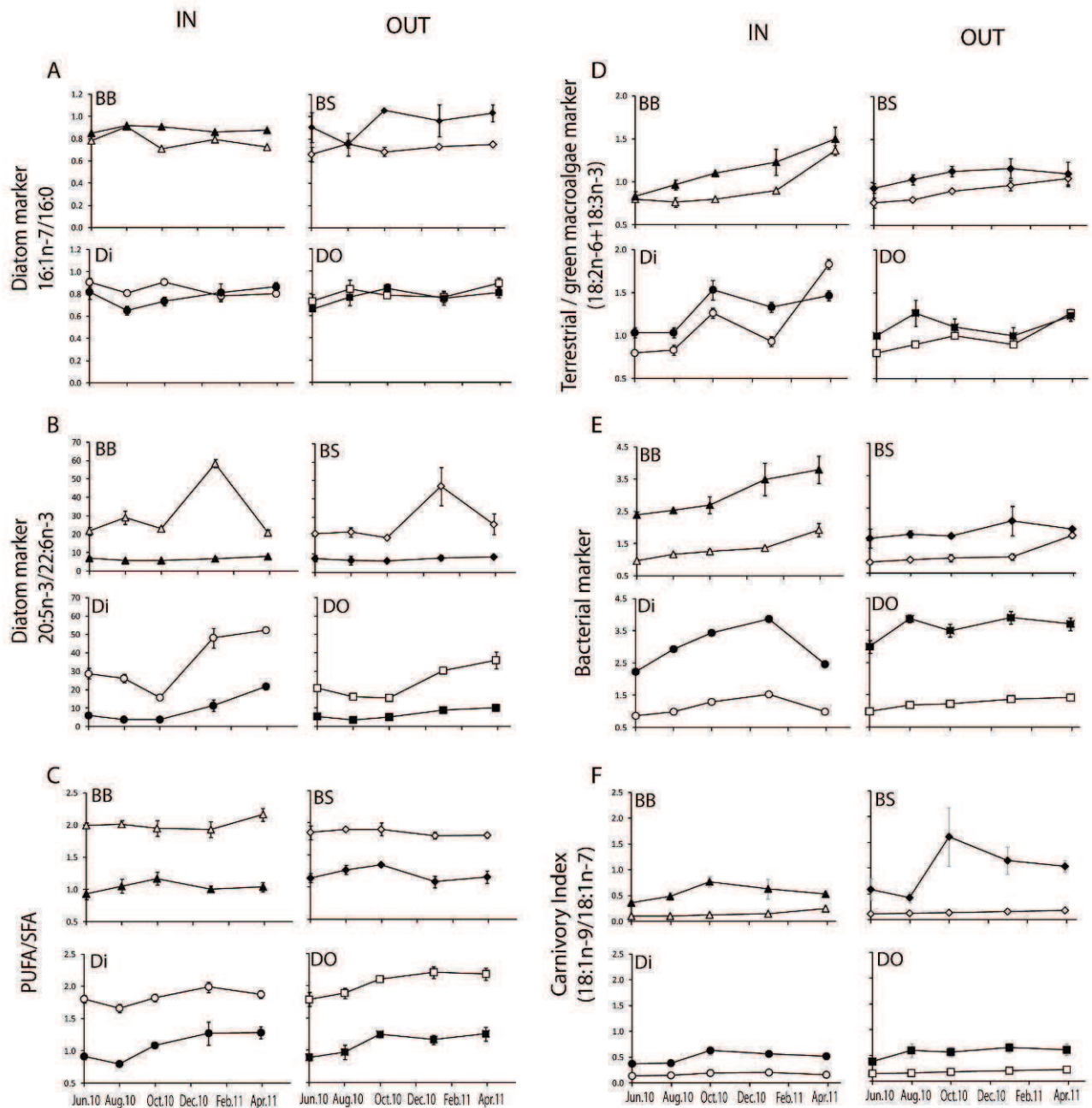


Figure 5. Temporal variation in fatty acids used as trophic markers in *Ophiocolina nigra* (black symbols) and *Ophiothrix fragilis* (white symbols) by sampling sites (BB: triangle, BS: diamond, Di: circle, Do: square) and exposure (IN and OUT). A, B: Diatom markers (16:1n-7/16:0 and 20:5n-3/22:6n-3); C: PUFA/SFA; D: terrestrial and/or green macroalgae marker (Sum of 18:2n-6 and 18:3n-3); E: bacterial marker (Sum of iso and anteiso branched chain fatty acid); F: carnivory index (18:1n-9/18:1n-7). Abbreviations BB: Bay of Brest; BS: Blancs Sablons; DI: Bay of Douarnenez in-shore; Do: Bay of Douarnenez off-shore.

Although values of 18:1n-9/18:1n-7 varied as a function of the interaction among species, locations and sampling dates ($P < 0.001$), values observed in *O. nigra* were 3 times higher than those in *O. fragilis*, irrespective of locations and sampling date (Fig. 5F).

Temporal variations in 18:1n-9/18:1n-7 were rather low, excepted for *O. nigra* collected at BS where the values increased by 3 times between August-10 and October-10.

The linear regression exhibits a significant relationship between 18:1n-9/18:1n-7 ratio and the $\delta^{15}\text{N}$ value of whole ophiurid and shows that 18:1n-9/18:1n-7 increase positively with the $\delta^{15}\text{N}$ value ($P < 0.05$, $R^2 = 0.49$). Moreover all specimen of *O. nigra* were distributed on the top of the biplot by contrast to those of *O. fragilis*. Note that no relationship between 18:1n-9/18:1n-7 ratio $\delta^{15}\text{N}$ occurred for the specimen of *O. fragilis* in BB (Fig. 6).

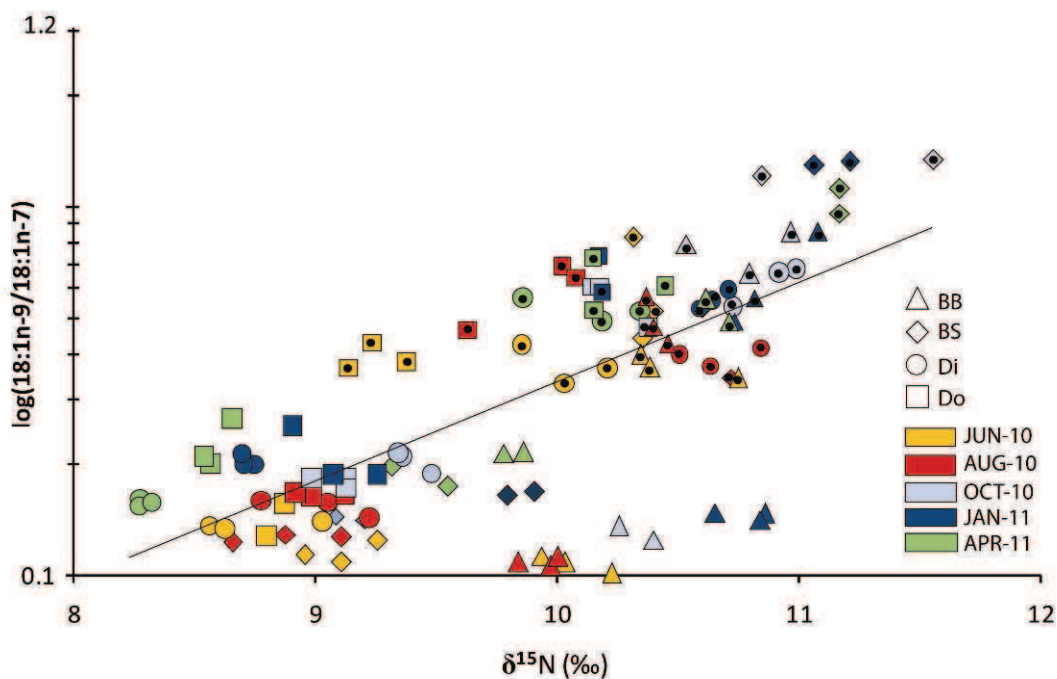


Figure 6. Relationship between 18:1n-9/18:1n-7 ratio (log transformed) and $\delta^{15}\text{N}$ in both *Ophiocometina nigra* (black spots within dots) and *Ophiothrix fragilis* (without black spots) by sampling date (colors) and site (symbols). Abbreviations: Do: off-shore Bay of Douarnenez Di: in-shore Bay of Douarnenez; BB: Bay of Brest; BS: Blancs Sablons).

4. Discussion

The present study investigated the feeding ecology of two co-occurring ophiurid species, *Ophiocomina nigra* and *Ophiotrix fragilis* at four locations in Brittany (France), by means of stable isotope and fatty acid analyses. Stable isotope analyses indicate that among the four putative food sources (SPOM, SOM TOM and the green macroalgae *Ulva* sp.), only SPOM, SOM, and *Ulva* sp likely contributed to the ophiurid diets. In addition, values of 16:1n-7/16:0 were generally close to 1 in both species, which suggest that diatoms were a major contributor to their diet (Dalsgaard et al. 2003). These results agree with the fact that these ophiurid species are suspension-feeders collecting particles from the water-column with their arms (Aronson 1989). Nevertheless, our study provides evidence that *O. nigra* and *O. fragilis* exhibited differences in their feeding strategies.

4.1 Trophic relationship between ophiurid species

For instance, values of $\delta^{15}\text{N}$ were generally higher in *O. nigra* compared to those observed in *O. fragilis*, thus suggesting that *O. nigra* fed on higher trophic levels than *O. fragilis* did. This result was corroborated by the fact that values of 18:1n-9/18:1n-7, an indicator of carnivory in benthic invertebrates (Graeve et al. 1997; Auel et al. 2002) which reflect consumption of animal materials (Prato et al. 2012), were markedly higher in *O. nigra* compared to those observed *O. fragilis*, and correlate positively with $\delta^{15}\text{N}$. Although *O. nigra* is reported to be suspension-feeders, collecting particles from the water-column with their arms (Aronson 1989), stable isotope and fatty acid analyses are in good agreement with the idea that this ophiurid species also behaves as a carnivorous species, foraging over detritus or carrions (Nagabhushanam & Colman 1959).

Beside, values of 20:5n-3/22:6n-3, an indicator of the relative contribution of diatoms to the diet (Dalsgaard et al. 2003), were consistently higher in *O. fragilis* than in *O. nigra*. Also, levels of 16:4n-1 (Budge et al. 2001), another diatom fatty acid, were higher in *O. fragilis* than in *O. nigra* (see appendix I). Therefore, it seems that *O. nigra* relied less on diatoms than *O. fragilis* did, irrespective of locations and sampling times.

It is however noteworthy that values of 20:5n-3/22:6n-3 were unusually high (>20) compared to those reported in the scientific literature (Dalsgaard et al. 2003). It was previously reported that 22:6n-3 is low in several ophiurid species including *O. nigra* and *O.*

fragilis, because this fatty acid would have been elongated to 24:6n-3 (Mckenzie et al. 2000; Drazen et al. 2008; Takagi et al. 1986). Thus, species specific differences in 20:5n-3/22:6n-3 in our study may not reflect differences in food sources: they would rather mirror the selective incorporation and elongation processes of fatty acids according to species-specific physiological requirements.

Values of PUFA/SFA, a marker of the relative importance of phytoplankton versus detritus (Biandolino et al. 2008; Maazouzi et al. 2007; Pommier et al. 2010; Prato et al. 2012), were low and high respectively in *O. nigra* and *O. fragilis*. However bacterial fatty acids were higher in *O. nigra* than in *O. fragilis*. Based on these results, it is likely that *O. nigra* relied less on diatoms and more on detritic organic matter and bacteria than *O. fragilis* did. When organic matter consists of mixed sources, inter-specific differences in particle capture strategy may reduce competition among ophiurid species, as previously reported in suspension-feeders (Riera et al. 2002, Dubois et al. 2007, Lefebvre et al. 2009, Pernet et al. 2012).

Finally, the sum of 18:2n-6 and 18:3n-3, which is generally used as a marker of terrestrial vascular plants (Budge & Parrish 1998; Dalsgaard et al. 2003) or green macroalgal inputs (Kelly & Scheibling 2012), was generally higher in *O. nigra* than in *O. fragilis*. This result suggests that *O. nigra* took a better advantage of terrestrial organic matter or green macroalgal than *O. fragilis* did.

It is however noteworthy that values of 18:2n-6 and 18:3n-3 in both ophiurid species were rather low compared to those recorded in other suspensions feeders (Pernet et al. 2012), so that the contribution of TOM to the diet of ophiurid in our study was low. This result agrees well with stable isotope analyses, and may reflect the high hydrodynamic mixing with adjacent marine waters which induces important dilution of terrestrial inputs in the Bay of Brest (LePape et al. 1996), and to a lesser extend in the Bay of Douarnenez (Merceron et al. 2007).

Overall, stable isotope and fatty acid analyses suggest that both ophiurid species fed on the same sources of food, but *O. nigra* exhibited a much wider trophic plasticity and displays a very important versatile feeding behaviour compared to *O. fragilis* which rely more on diatoms. Considering that trophic plasticity in a consumer allow adaptation to fluctuating food sources (Pinnegar & Polunin 2000) and expansion of trophic niche to gain competitive advantage over other species (Jeffreys et al. 2009), it may explain the recent increase in *O. nigra* population size and the induction of a spatial shift of the co-occurring *O. fragilis* in the Bay of Brest (Blanchet-Aurigny et al. 2012a).

4.2. Spatiotemporal variations in stable isotope and fatty acid profiles of ophiurids

In our study, spatiotemporal variations in stable isotopes and fatty acid profiles of ophiurids were generally low compared to interspecific differences. This result was somewhat unexpected as BB and Di are two highly productive coastal areas which exhibit frequent macroalgae blooms (Ménèsguen et al. 2006), hence providing a large supply of macroalgae detritus for species which may benefit from this, whereas the two other offshore sites (BS and Do) are relatively far away from their watershed and free of macroalgal blooms.

Levels of 18:2n-6 and 18:3n-3, two fatty acid which are often used as a marker of green macroalgal inputs (Khotimchenko et al. 2002; Kelly & Scheibling 2012) were relatively low in ophiurids irrespective of locations. Although several studies highlighted the relative importance of *Ulva* sp. as food source for small invertebrates (Prato et al. 2012; Kamermans et al. 2002; Fujiwara & Highsmith 1997; Catenazzi & Donnelly 2007), its contribution to *O. nigra* and *O. fragilis* as a direct food source is probably limited. However, decomposing *Ulva* sp. may lose a large amount of 18:2n-6 and 18:3n-3 as reported for the seagrass (Alfaro et al. 2006; Kharlamenko et al. 2001; Tenore et al. 1984), therefore leading to underestimating the contribution of *Ulva* sp. to the ophiurid diet. Beside, benthic invertebrates have the capacity to significantly modify their dietary fatty acids and thereby obscure markers for food sources: further controlled feeding experiment are necessary to distinguish dietary tracer fatty acids from those that are modified by the consumer (Kelly & Scheibling 2012).

It is worth noticing that values of 18:2n-6 + 18:3n-3 recorded at the end of the study period showed a 32% increase inside bays compared to those observed outside, irrespective of ophiurid species. It is therefore likely that terrestrial inputs inside bays were higher than those recorded outside during the period of study. However, elevated concentrations of terrestrial fatty acids 18:2n-6 + 18:3n-3 in oysters *Crassostrea gigas* coincide with the depleted- $\delta^{13}\text{C}$ values that follow rainy periods or a reduction in the relative contribution of phytoplankton to food sources (Pernet et al. 2012). In our study, values of $\delta^{13}\text{C}$ in ophiurids inside bays were not always higher than those observed in specimen collected outside. It is therefore possible that the differences in terrestrial fatty acids at the end of the study periods between locations situated inside and outside bays was an artefact.

Values of $\delta^{15}\text{N}$ in *O. fragilis* collected at BB were 1‰ higher than in other locations. As reported for clam and oysters in different ecosystems, high $\delta^{15}\text{N}$ values in animal tissues

coincide with increasing nutrient load in seawater (Fry 1999; Riera 1998). Our result suggests that *O. fragilis* in the bay of Brest relied on ^{15}N -enriched component.

Acknowledgements

This work was funded by the Programme National sur l'Environnement Côtier (PNEC) and by the Parc Naturel Marin d'Iroise (PNMI). The authors wish to thank many divers especially X. Caisey from EB/IFREMER/Brest, Y. Turpin, Antoine, Sébastien and Florent from PNMI for diving logistics and collecting samples during field survey. We thank J.D Gaffet from EB/IFREMER/Brest for helping in sample preparations. We would like to thank Dr P. Boudry and Dr C. Corporeau for their hospitality in PFOM/IFREMER/Brest during fatty acids analyses. We would like to thank Kimberlee L. Sparks for performing isotopes analyses (Cornell University, N.Y., USA)

Literature cited

- Alfaro AC, Thomas F, Sargent L, Duxbury M (2006). Identification of trophic interactions within an estuarine food web (northern New Zealand) using fatty acid biomarkers and stable isotopes. *Estuar Coast Shelf Sci* 70:271-286
- Aronson RB (1989) Brittlestar beds: Low-predation anachronisms in the British Isles. *Ecology* 70(4):856-865
- Auel H, Harjes M, de Rocha R, Stübing D, Hagen W (2002) Lipid biomarkers indicate different ecological niches and trophic relationships of the Arctic hyperiid amphipods *Themisto abyssorum* and *T. libellulua*. *Polar Biol* 25:374-383
- Blanchet-Aurigny A, Dubois SF, Hily C, Rochette S, Le Goaster E, Guillou M (2012)a Multi-decadal changes in two co-occurring ophiuroid populations. *Mar Ecol Prog Ser* 460:79-90
- Blanchet-Aurigny A, Guillou M, Pernet F, Dubois SF (2012)b Tissue-diet discrimination factors of isotopic ratios ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$) in two brittle star species: Effect of reproductive state, diet and tissue composition, *J Exp Mar Biol Ecol* 426-427: 68-77
- Biandolino F, Prato E, Carappo C (2008) Preliminary investigation on the phytoplankton contribution to the mussel diet on the basis of fatty acids analysis. *J Mar Biol Assoc UK* 88(7):1009-1017
- Budge SM, Parrish CC (1998) Lipid biogeochemistry of plankton, settling matter and sediments in Trinity Bay, Newfoundland. II. Fatty acids. *Org Geochem* 29: 1547-1559
- Budge SM, Parrish CC, McKenzie CH (2001) Fatty acid composition of phytoplankton, settling particulate matter and sediment at a sheltered bivalve aquaculture site. *Mar Chem* 76:285-303
- Catenazzi A, Donnelly MA (2007). Role of supratidal invertebrates in the decomposition of beach-cast green algae *Ulva* sp. *Mar Ecol Prog Ser* 349:33-42
- Clarke KR, Gorley RN (2006) PRIMER v6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth, UK, 192pp
- Dalsgaard J, St John M, Kattner G, Müller-Navara D, Hagen W (2003) Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Adv Mar Biol* 46:225-340

- DeNiro M, Epstein S (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim Cosmochim Acta*
- Dion P, Le Bozec S (1996) The French atlantic coasts. In: Shramm W, Nienhuis PH, editors. Marine benthic vegetation. Recent changes and the effects of eutrophication. Berlin. Heidelberg: Springer-Verlag p. 251-64
- Drazen JC, Phleger CF, Guest MA, Nichols PD (2008) Lipid, sterols and fatty acid composition of abyssal holothurians and ophiuroids from the North-East Pacific Ocean: Food web implications. *Comp Biochem Physiol Part B* 151: 79-87
- Dubois S, Blin JL, Bouchaud B, Lefebvre S (2007)a Isotope trophic step fractionation of suspension-feeding species: Implications for food partitioning in coastal ecosystem. *J Exp Mar Biol Ecol* 351: 121-128
- Dubois S, Orvain F, Marin-Léal JC, Ropert M, Lefebvre S (2007)b Small-scale spatial variability of food partitioning between cultivated oysters and associated suspension feeding species, as revealed by stable isotopes. *Mar Ecol Prog Ser* 336:151-160
- Fenton GE, Ritz DA (1988) Changes in Carbon and Hydrogen Stable Isotope Ratios of Macroalgae and Seagrass During Decomposition. *Estuar Coast Shelf Sci* 26:429-436
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues *J Biol Chem* 226:497-509
- Fontaine AR (1965) The feeding mechanisms of the Ophiuroid *Ophiocomina nigra*. *J Mar Biol Assoc UK* 45:373-385
- Fujiwara M, Highsmith RC (1997) Harpacticoid copepods: potential link between inbound adult salmon and outbound juvenile salmon. *Mar Ecol Prog Ser* 158: 205-216
- Fry B (1999) Using stable isotopes to monitor watershed influences on aquatic trophodynamics. *Can J Fish Aquat Sci* 56:2167-2171
- Fry B (2007) *Stable Isotope Ecology*, Vol. Springer Science, New York
- Graeve M, Kattner G, Piepenburg D (1997) Lipids in Arctic benthos: does the fatty acid and alcohol composition reflect feeding and trophic interactions? *Polar Biol* 18:53-61
- Hily C (1989) La mégafaune benthique des fonds meubles de la rade de Brest: pré-échantillonnage par vidéo sous-marine. *Cah Biol Mar* 30: 433-454
- Hily C (1991) Is the activity of benthic suspension feeders a factor controlling water quality in the Bay of Brest ?. *Mar Ecol Prog Ser* 316:1-6
- Jeffreys RM, Wolff GA, Murty SJ (2009) The trophic ecology of key megafaunal species at the Pakistan Margin: Evidence from stable isotopes and lipid biomarkers. *Deep Sea Res I* 56:1816-1833
- Kamermans P, Malta EJ, Vershuure JM, Schrijvers L, Lentz LF, Lien ATA (2002) Effect of grazing by isopods and amphipods on growth of *Ulva* spp. (Chlorophyta). *Aqua Ecol* 36: 425-433
- Kelly JR, Scheibling RE (2012) Fatty acids as dietary tracers in benthic food webs. *Mar Ecol Prog Ser* 446:1-22

- Kharlamenko VI, Kiyashko SI, Imbs AB, Vyshkvartzev DI (2001) Identification of food sources of invertebrates from the seagrass *Zostera marina* community using carbon and sulfur stable isotope ratio and fatty acid analyses. *Mar Ecol Prog Ser* 220:103-117
- Khotimchenko SV, Vaskovsky VE, Titlyanova TV (2002) Fatty acids of marine algae from the pacific coast of north California. *Bot Mar* 45:17-22
- Kojadinovic J, Richard P, Le Corre M, Cosson RP, Bustamante P (2008) Effects of lipids extraction on $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in seabird muscle, liver and feathers. *Waterbirds* 31: 169-178
- Le Pape O, Del Amo Y, Cann P, Ménesguen A, Aminot A, Quéguiner B, Tréguer P (1996) Resistance of a coastal ecosystem under increasing eutrophic conditions: the Bay of Brest (France), a semi-enclosed zone of western Europe. *Cont Shelf Res* 16(15):1885-1907
- Lefebvre S, Marin Leal JC, Dubois S, Orvain S, Blin JL, Bataillé MP, Ourry A, Galois R (2009) Seasonal dynamics of trophic relationships among co-occurring suspension-feeders in two shellfish culture dominated ecosystems *Estuar Coast Shelf Sci* 82: 415-425
- Marty Y, Delaunay F, Moal J, Samain JF (1992) Changes in the fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) during larval development. *J Exp Mar Biol Ecol* 163: 221-234
- Maazouzi C, Masson G, IzquierdoMS, Pihan JC (2007) Fatty acid composition of the amphipod *Dikerogammarus villosus*: Feeding strategies and trophic links. *Comp Biochem Physiol Part A* 147:868-875
- Magnus DBE (1963) Über das Abweiden der Flutwasser Oberfläche durch den Schlangensterne *Ophiocoma scolopendrina* (Lamarck). *Verh dtsch zool Ges*, 1962, *Zool Anz Sbd* 26pp 471-81
- McKenzie JD, Black KD, Kelly MS, Newton LC, Handley LL, Scrimgeour CM, Raven JA, Henderson RJ (2000) Comparisons of fatty acid and stable isotope ratios in symbiotic and non-symbiotic brittlestar from Oban Bay, Scotland. *J Mar Biol Assoc UK* 80:311-320
- Ménesguen A, Cugier P, Leblond I (2006) A new numerical technique for tracking chemical species in a multisource, coastal ecosystem applied to nitrogen causing *Ulva* blooms in the Bay of Brest (France). *Limnol Oceanogr* 5 (1, part 2): 591-601
- 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 Tot Envir* 384:293-305
- Metcalf LD, Schmitz AA (1961) The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Anal Chem* 33: 363-364
- 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
- Nagabushanam AK, Colman JS (1959) Carrion-eating by ophiuroids. *Nature, Lond* 184: p 285
- Pernet F, Malet N, Pastoureaud A, Vaquer A, Quéré C, Dubroca I (2012) Marine diatoms sustain growth of bivalves in a Mediterranean lagoon. *J Sea Res* 68:20-32
- Pinnegar JK, Polunin NVC (2000) Contributions of stable-isotope data to elucidating food webs of Mediterranean rocky littoral fishes. *Oecologia* 122:399-409
- Pommier J, Frenette JJ, Glémet H (2010) Relating RNA:DNA ratio in *Eurytemora affinis* to seston fatty acids in a highly dynamic environment. *Mar Ecol Prog Ser* 400: 143-154

- Prato E, Danieli A, Maffia M, Biandolino F (2012) Lipids Contents and Fatty Acid Compositions of *Idotea baltica* and *Sphaeroma serratum* (Crustacea: Isopoda) as Indicators of Food Sources. *Zool Stud* 51(1): 38-50
- Riera P (1998) $\delta^{15}\text{N}$ of organic matter sources and benthic invertebrates along an estuarine gradient in Marennes-Oléron Bay (France): implications for the study of trophic structure. *Mar Ecol Prog Ser* 166:143-150.
- Riera P, Stal LJ, Nieuwenhuize J (2002) delta C-13 versus delta N-15 of co-occurring molluscs within a community dominated by *Crassostrea gigas* and *Crepidula fornicata* (Oosterschelde, The Netherlands). *Mar Ecol Prog Ser* 240:291-295
- Sewell MA, Levitan DR (1992) Fertilization success during a natural spawning of the dendrochirote sea cucumber *Cucumaria miniata*. *Bull Mar Sci* 51: 161-166
- Takagi T, Kaneniwa, M, Itabashi Y (1986) Fatty acids in Crinoidea and Ophiuroidea: occurrence of all-cis-6,9,12,15,18,21-tetracosahexaenoic acid. *Lipids* 21, 430–433
- Tenore KR, Hanson RB, McClain J, MacCubin AE, Hodson RE (1984) Changes in composition and nutrition value to a benthic deposit feeder of decomposing detritus pool. *Bull Mar Sci* 35:299-311.
- Uthicke S, Schaffelke B, Byrne M (2009) A boom-bust phylum? Ecological and evolutionary consequences of dense variations in echinoderms. *Ecol Monogr* 79:3-24
- Vevers HG (1956) Observations on feeding mechanisms in some ophiuroids. *Proc zool Soc Lond* 126:484-85
- Volkman JK, Johns RB, Gillan FT, Perry GJ (1980) Microbial lipids of an intertidal sediment. I. Fatty acids and hydrocarbons. *Geochim Cosmochim Acta* 44:1133–1143

Appendix 1. Major fatty acids (at least 0.5% of the neutral lipids) for each species (*Ophiothrix fragilis* and *Ophiocomina nigra*), by sampling date and sites (Do, Di, BB, BS). Abbreviations BB: Bay of Brest; BS: Blancs Sablons; DI: Bay of Douarnenez in-shore; Do: Bay of Douarnenez off-shore.

<i>Ophiothrix fragilis</i>	BB									
	Jun-10		Aug-10		Oct-10		Jan-11		Apr-11	
Bacteria	1.0	± 0.1	1.1	± 0.1	1.3	± 0.1	1.4	± 0.1	1.9	± 0.2
Saturates										
14:00	11.7	± 0.5	10.9	± 0.3	10.1	± 0.3	9.7	± 0.3	7.9	± 0.4
16:00	8.8	± 0.2	8.7	± 0.3	9.6	± 0.4	9.1	± 0.6	9.1	± 0.1
18:00	4.0	± 0.3	4.1	± 0.3	4.7	± 0.6	4.5	± 0.2	4.9	± 0.1
Monosaturates										
16:1n-7	6.9	± 0.3	7.9	± 0.3	6.9	± 0.1	7.2	± 0.2	6.6	± 0.5
18:1n-11	3.3	± 0.3	2.7	± 0.4	2.8	± 0.2	3.6	± 0.2	2.9	± 0.2
18:1n-9	0.7	± 0.0	0.8	± 0.0	0.9	± 0.1	1.2	± 0.1	1.7	± 0.3
18:1n-7	6.5	± 0.2	7.3	± 0.3	7.0	± 0.2	8.0	± 0.3	7.0	± 0.3
20:1n-11	3.0	± 0.2	3.2	± 0.2	3.6	± 0.5	4.7	± 0.4	4.4	± 0.2
22:1n-9	0.1	± 0.0	0.1	± 0.1	0.1	± 0.1	0.1	± 0.1	0.2	± 0.0
Polyunsaturates										
16:2n-4	2.0	± 0.0	1.8	± 0.1	1.6	± 0.1	1.6	± 0.1	1.3	± 0.1
16:3n-6	0.5	± 0.1	0.9	± 0.2	1.0	± 0.2	1.9	± 0.2	4.4	± 1.0
16:3n-4	4.4	± 0.2	3.3	± 0.2	3.1	± 0.2	3.2	± 0.2	2.5	± 0.1
16:3n-3)	0.4	± 0.0	0.4	± 0.0	0.4	± 0.0	0.5	± 0.1	0.3	± 0.1
16:4n-1	7.8	± 0.1	7.3	± 0.3	6.9	± 0.6	5.8	± 0.3	6.1	± 0.2
18:2n-6	0.4	± 0.0	0.4	± 0.0	0.4	± 0.0	0.4	± 0.0	0.7	± 0.0
18:2n-4	1.6	± 0.1	1.5	± 0.1	1.4	± 0.0	1.7	± 0.1	1.2	± 0.1
18:3n-3	0.4	± 0.0	0.4	± 0.1	0.4	± 0.0	0.5	± 0.0	0.7	± 0.1
18:4n-3	8.8	± 0.1	6.0	± 0.4	6.1	± 0.2	7.0	± 0.2	6.8	± 0.2
Σ20:2NMI _{i,j}	0.5	± 0.1	0.5	± 0.1	0.5	± 0.1	0.7	± 0.1	0.8	± 0.5
20:4n-6	1.2	± 0.0	1.7	± 0.1	1.6	± 0.0	1.6	± 0.1	1.4	± 0.1
20:5n-3	17.2	± 0.6	20.1	± 0.6	20.8	± 0.6	17.5	± 0.7	18.1	± 1.4
22:5n-3	0.3	± 0.1	0.3	± 0.0	0.3	± 0.0	0.2	± 0.1	0.4	± 0.1
22:6n-3	0.8	± 0.1	0.7	± 0.1	0.9	± 0.0	0.3	± 0.0	0.9	± 0.1

*Ophiothrix fragilis***BS**

	Jun-10	Aug-10	Oct-10	Jan-11	Apr-11
Bacteria	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.0	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.7 ± 0.1
Saturates					
14:00	10.9 ± 0.4	11.1 ± 0.3	10.6 ± 0.4	9.8 ± 0.3	8.6 ± 0.1
16:00	9.8 ± 0.5	9.7 ± 0.2	10.1 ± 0.5	9.9 ± 0.3	9.8 ± 0.1
18:00	4.7 ± 0.6	4.4 ± 0.1	4.6 ± 0.3	4.8 ± 0.1	5.5 ± 0.5
Monosaturates					
16:1n-7	6.5 ± 0.3	7.3 ± 0.3	6.9 ± 0.2	7.2 ± 0.2	7.4 ± 0.2
18:1n-11	3.8 ± 0.4	3.2 ± 0.1	2.8 ± 0.3	4.1 ± 0.4	3.8 ± 0.5
18:1n-9	0.8 ± 0.0	0.9 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.5 ± 0.1
18:1n-7	6.8 ± 0.4	6.8 ± 0.1	6.7 ± 0.2	7.6 ± 0.0	7.7 ± 0.1
20:1n-11	4.0 ± 0.7	3.3 ± 0.2	3.3 ± 0.4	4.5 ± 0.1	5.7 ± 0.4
22:1n-9	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.3 ± 0.1
Polyunsaturates					
16:2n-4	1.8 ± 0.1	1.7 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.5 ± 0.0	1.3 ± 0.1
16:3n-6	0.5 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.2	2.1 ± 0.1	5.9 ± 0.2
16:3n-4	3.9 ± 0.3	3.1 ± 0.1	2.8 ± 0.2	2.7 ± 0.0	2.3 ± 0.2
16:3n-3	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.0
16:4n-1	6.8 ± 0.8	7.0 ± 0.1	6.7 ± 0.4	6.0 ± 0.2	5.0 ± 0.3
18:2n-6	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.6 ± 0.0
18:2n-4	1.7 ± 0.1	1.4 ± 0.0	1.3 ± 0.0	1.4 ± 0.1	1.4 ± 0.1
18:3n-3	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1
18:4n-3	8.6 ± 0.4	6.6 ± 0.2	5.9 ± 0.4	5.7 ± 0.2	5.9 ± 0.3
Σ20:2NMi,j	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.0	0.7 ± 0.0	0.5 ± 0.1
20:4n-6	1.4 ± 0.1	1.6 ± 0.1	1.6 ± 0.1	1.8 ± 0.0	1.9 ± 0.1
20:5n-3	17.1 ± 0.2	19.7 ± 0.1	21.5 ± 0.4	18.1 ± 0.7	15.4 ± 0.3
22:5n-3	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1
22:6n-3	0.8 ± 0.0	0.9 ± 0.1	1.1 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.1

*Ophiothrix fragilis***Di**

	Jun-10	Aug-10	Oct-10	Jan-11	Apr-11
Bacteria	0.9 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.3 ± 0.0	1.5 ± 0.1	1.0 ± 0.0
Saturates					
14:00	11.4 ± 0.4	10.9 ± 0.2	10.9 ± 0.2	9.1 ± 0.6	10.8 ± 0.3
16:00	9.0 ± 0.2	9.8 ± 0.2	9.8 ± 0.3	9.7 ± 0.3	10.1 ± 0.2
18:00	4.4 ± 0.2	4.7 ± 0.3	4.2 ± 0.2	4.6 ± 0.2	4.0 ± 0.2
Monosaturates					
16:1n-7	8.1 ± 0.2	7.9 ± 0.2	8.9 ± 0.1	7.6 ± 0.2	8.1 ± 0.1
18:1n-11	4.2 ± 0.1	4.6 ± 0.7	2.8 ± 0.1	3.0 ± 0.2	4.2 ± 0.3
18:1n-9	0.9 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.0 ± 0.1
18:1n-7	6.9 ± 0.3	6.9 ± 0.2	6.4 ± 0.2	6.6 ± 0.2	6.5 ± 0.2
20:1n-11	3.9 ± 0.2	4.8 ± 0.4	3.1 ± 0.1	4.2 ± 0.4	3.3 ± 0.1
22:1n-9	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0
Polyunsaturates					
16:2n-4	1.7 ± 0.1	1.4 ± 0.0	1.5 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.3 ± 0.0
16:3n-6	1.0 ± 0.1	1.4 ± 0.4	1.6 ± 0.2	2.8 ± 0.5	2.2 ± 0.3
16:3n-4	2.9 ± 0.1	2.6 ± 0.2	2.6 ± 0.1	2.1 ± 0.1	2.8 ± 0.1
16:3n-3	0.4 ± 0.0	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.3 ± 0.0
16:4n-1	6.9 ± 0.2	5.8 ± 0.4	6.6 ± 0.4	6.7 ± 0.6	6.1 ± 0.3
18:2n-6	0.4 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.6 ± 0.0	1.3 ± 0.0
18:2n-4	1.2 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.0	0.9 ± 0.1	0.7 ± 0.0
18:3n-3	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.0	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.1
18:4n-3	6.7 ± 0.1	5.7 ± 0.3	4.2 ± 0.2	4.3 ± 0.2	6.0 ± 0.1
Σ20:2NMI _{i,j}	0.5 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.3	0.3 ± 0.1
20:4n-6	1.1 ± 0.0	1.4 ± 0.1	2.7 ± 0.1	3.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1
20:5n-3	18.2 ± 0.4	17.5 ± 0.7	19.1 ± 0.3	20.7 ± 0.3	21.0 ± 0.1
22:5n-3	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.0
22:6n-3	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.2 ± 0.0	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.0

*Ophiothrix fragilis***Do**

	Jun-10		Aug-10		Oct-10		Jan-11		Apr-11	
Bacteria	1.0	± 0.0	1.2	± 0.1	1.2	± 0.1	1.4	± 0.1	1.4	± 0.1
Saturates										
14:00	11.1	± 0.2	10.6	± 0.3	10.3	± 0.2	8.6	± 0.1	8.8	± 0.2
16:00	9.2	± 0.5	9.0	± 0.5	9.1	± 0.1	9.0	± 0.2	8.8	± 0.2
18:00	4.4	± 0.5	4.1	± 0.3	4.0	± 0.2	4.6	± 0.5	4.4	± 0.4
Monosaturates										
16:1n-7	6.7	± 0.2	7.6	± 0.4	7.1	± 0.1	6.9	± 0.3	7.9	± 0.4
18:1n-11	5.1	± 0.5	4.0	± 0.6	2.2	± 0.2	2.3	± 0.1	2.7	± 0.3
18:1n-9	0.9	± 0.1	1.0	± 0.1	1.1	± 0.0	1.4	± 0.3	1.5	± 0.2
18:1n-7	6.3	± 0.3	6.2	± 0.2	6.0	± 0.1	6.7	± 0.1	6.4	± 0.2
20:1n-11	4.1	± 0.6	4.0	± 0.5	2.8	± 0.1	3.4	± 0.2	3.8	± 0.7
22:1n-9	0.1	± 0.1	0.1	± 0.1	0.1	± 0.0	0.2	± 0.0	0.1	± 0.1
Polyunsaturates										
16:2n-4	1.6	± 0.1	1.4	± 0.1	1.2	± 0.1	1.2	± 0.0	1.2	± 0.0
16:3n-6	1.0	± 0.3	1.1	± 0.3	1.0	± 0.1	2.4	± 0.9	3.8	± 0.9
16:3n-4	2.8	± 0.1	2.6	± 0.2	2.3	± 0.0	2.1	± 0.0	2.2	± 0.1
16:3n-3	0.4	± 0.0	0.3	± 0.1	0.6	± 0.0	0.5	± 0.1	0.4	± 0.1
16:4n-1	7.4	± 0.4	7.1	± 0.4	7.5	± 0.0	7.0	± 0.4	6.2	± 0.6
18:2n-6	0.4	± 0.0	0.5	± 0.0	0.6	± 0.0	0.5	± 0.0	0.8	± 0.1
18:2n-4	1.2	± 0.1	1.0	± 0.1	1.0	± 0.0	1.0	± 0.0	0.9	± 0.1
18:3n-3	0.4	± 0.0	0.4	± 0.0	0.4	± 0.0	0.4	± 0.0	0.5	± 0.0
18:4n-3	6.7	± 0.2	5.6	± 0.2	3.4	± 0.0	3.9	± 0.1	4.9	± 0.3
Σ20:2NMIi,j	0.6	± 0.1	0.5	± 0.1	0.4	± 0.0	0.4	± 0.1	0.5	± 0.2
20:4n-6	0.9	± 0.1	1.1	± 0.0	1.4	± 0.1	1.8	± 0.1	1.5	± 0.1
20:5n-3	17.5	± 0.3	19.3	± 0.6	25.8	± 0.2	25.2	± 2.1	22.7	± 1.5
22:5n-3	0.3	± 0.0	0.3	± 0.1	0.5	± 0.0	0.3	± 0.0	0.3	± 0.0
22:6n-3	0.8	± 0.1	1.2	± 0.1	1.7	± 0.1	0.8	± 0.1	0.6	± 0.1

*Ophiocomina
nigra*

BB

	Jun-10	Aug-10	Oct-10	Jan-11	Apr-11
Bacteria	2.4 ± 0.1	2.5 ± 0.1	2.7 ± 0.3	3.5 ± 0.5	3.8 ± 0.4
Saturates					
14:00	15.6 ± 0.4	13.5 ± 0.9	12.7 ± 0.2	13.5 ± 1.3	13.6 ± 1.1
16:00	13 ± 0.3	13.2 ± 0.5	13.1 ± 0.4	12.6 ± 0.9	11.8 ± 1.1
18:00	4.3 ± 0.5	3.8 ± 0.3	3.7 ± 0.2	4 ± 0.1	4 ± 0.1
Monosaturates					
16:1n-7	11.1 ± 0.8	12.1 ± 0.3	11.9 ± 0.4	10.9 ± 1.3	10.3 ± 0.3
18:1n-11	1.3 ± 0.1	0.8 ± 0	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1
18:1n-9	1.6 ± 0.2	2.3 ± 0.4	3.5 ± 0.4	3.2 ± 0.7	2.7 ± 0.4
18:1n-7	4.3 ± 0.1	4.8 ± 0.1	4.6 ± 0.2	5.1 ± 0.4	5.1 ± 0.4
20:1n-11	7.8 ± 0.8	6.6 ± 0.6	4.7 ± 0.5	7.7 ± 2.3	8.8 ± 1.2
22:1n-9	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.1
Polyunsaturates					
16:2n-4	2.4 ± 0.3	2 ± 0.1	1.4 ± 0.2	1.4 ± 0.2	1.5 ± 0.1
16:3n-6	1.1 ± 0.1	1.7 ± 0.4	2.4 ± 0.7	3.1 ± 0.5	4.4 ± 1.3
16:3n-4	2.1 ± 0.2	1.5 ± 0	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1
16:3n-3	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0	0.4 ± 0	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1
16:4n-1	3.6 ± 0.4	3.1 ± 0.2	2.7 ± 0.6	2.1 ± 0.2	2.5 ± 0.2
18:2n-6	0.5 ± 0	0.6 ± 0	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0
18:2n-4	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0
18:3n-3	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.1
18:4n-3	4 ± 0.3	2.4 ± 0.1	2.6 ± 0.3	2.5 ± 0.2	2.9 ± 0.3
Σ20:2NMI _{i,j}	0.5 ± 0.1	1.1 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1 ± 0.1
20:4n-6	1.5 ± 0.1	1.6 ± 0.1	2.1 ± 0.1	2.1 ± 0.2	2 ± 0.1
20:5n-3	7.9 ± 0.5	10.8 ± 0.9	13.3 ± 1.9	9.4 ± 1.7	8.1 ± 0
22:5n-3	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0
22:6n-3	1.1 ± 0.1	1.9 ± 0.1	2.4 ± 0.6	1.4 ± 0.4	1 ± 0

*Ophiocomina
nigra***BS**

	Jun-10	Aug-10	Oct-10	Jan-11	Apr-11
Bacteria	1.6 ± 0.3	1.7 ± 0.1	1.6 ± 0.1	2.1 ± 0.5	1.9 ± 0.1
Saturates					
14:00	12.7 ± 1.1	10.2 ± 0.3	9.4 ± 0.4	10 ± 0.1	9.7 ± 0.4
16:00	11.6 ± 0.6	11.4 ± 0.3	13.2 ± 0.4	13.7 ± 0.8	13.2 ± 0.5
18:00	5.2 ± 0.4	5.9 ± 0.5	3.7 ± 0.2	4.6 ± 0.8	4.2 ± 0.1
Monosaturates					
16:1n-7	10.6 ± 1.9	8.6 ± 1.3	14 ± 0.5	13.3 ± 2.6	13.6 ± 0.6
18:1n-11	1.3 ± 0.4	1.5 ± 0.2	0.6 ± 0	0.7 ± 0.2	1 ± 0.1
18:1n-9	3.1 ± 0.9	2.6 ± 0.5	6.8 ± 2.4	5.6 ± 0.8	5.4 ± 0.3
18:1n-7	5.3 ± 0.2	6 ± 0.3	4.2 ± 0.1	4.9 ± 0.5	5.2 ± 0.3
20:1n-11	6.9 ± 0.9	8.2 ± 1	3.9 ± 0.2	6.3 ± 1.2	7.1 ± 0.5
22:1n-9	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0
Polyunsaturates					
16:2n-4	1.5 ± 0.1	1 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1
16:3n-6	1.3 ± 0.3	2.4 ± 0.6	2.1 ± 0.2	2.3 ± 0.6	2.9 ± 0.3
16:3n-4	1.7 ± 0.2	1.2 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.1
16:3n-3	0.3 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0	0.2 ± 0
16:4n-1	2.7 ± 0.3	2.9 ± 0.5	2.7 ± 0.2	1.6 ± 0.3	2.2 ± 0.1
18:2n-6	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.1
18:2n-4	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.1
18:3n-3	0.4 ± 0	0.5 ± 0	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1
18:4n-3	4.4 ± 0.3	3.3 ± 0.2	2.8 ± 0.3	2.3 ± 0.3	2.7 ± 0.1
Σ20:2NMIi,j	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0	0.5 ± 0	0.7 ± 0.2	0.5 ± 0
20:4n-6	2.6 ± 0.2	2.5 ± 0.1	2.2 ± 0.1	2.5 ± 0.3	2.6 ± 0.1
20:5n-3	11.4 ± 0.7	13.1 ± 0.9	15.9 ± 0.3	12.9 ± 1.4	12.6 ± 0.9
22:5n-3	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.1
22:6n-3	1.5 ± 0.4	2.1 ± 0.8	2.5 ± 0.2	1.6 ± 0.1	1.5 ± 0.1

*Ophiocomina
nigra*

Di

	Jun-10	Aug-10	Oct-10	Jan-11	Apr-11
Bacteria	2.2 ± 0.1	2.9 ± 0.1	3.4 ± 0.1	3.9 ± 0.1	2.5 ± 0.1
Saturates					
14:00	15.6 ± 0.9	15 ± 0.2	12.7 ± 0.7	12.2 ± 0.4	13.4 ± 0.4
16:00	13.5 ± 0.2	13.8 ± 0.3	12.1 ± 0.4	11.4 ± 0.9	12.4 ± 0.4
18:00	3.0 ± 0.1	4.1 ± 0.2	4.6 ± 0.2	3.9 ± 0.1	3.1 ± 0.1
Monosaturates					
16:1n-7	11 ± 0.6	9 ± 0.4	8.9 ± 0.2	9.2 ± 0.3	10.7 ± 0.2
18:1n-11	0.5 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.1 ± 0
18:1n-9	1.5 ± 0.2	1.8 ± 0.2	2.4 ± 0.2	2.3 ± 0.2	1.6 ± 0
18:1n-7	4.1 ± 0.1	4.5 ± 0.1	3.8 ± 0.4	4.1 ± 0.1	3.1 ± 0.2
20:1n-11	11.9 ± 0.4	13.9 ± 0.6	9.5 ± 0.4	9 ± 2.1	8.4 ± 1
22:1n-9	1 ± 0.1	1.2 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.2
Polyunsaturates					
16:2n-4	1.9 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.5 ± 0.1
16:3n-6	1.7 ± 0.1	2.1 ± 0.2	2.9 ± 0.3	3.3 ± 1	2.7 ± 0.4
16:3n-4	1.8 ± 0.0	1.1 ± 0.1	1 ± 0.1	1.4 ± 0.2	2.1 ± 0.1
16:3n-3	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.8 ± 0	0.6 ± 0	0.4 ± 0.1
16:4n-1	3.3 ± 0.1	2 ± 0.2	2.5 ± 0.3	3.9 ± 0.7	4.8 ± 0.6
18:2n-6	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1	1 ± 0.1	0.9 ± 0	1.0 ± 0.1
18:2n-4	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.5 ± 0
18:3n-3	0.4 ± 0	0.4 ± 0	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1
18:4n-3	4.4 ± 0.1	2.8 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.8 ± 0.4	3.0 ± 0.2
Σ20:2NMIi,j	0.7 ± 0.1	1 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.4 ± 0.1
20:4n-6	1.1 ± 0.0	1.6 ± 0.1	2.8 ± 0.2	2.7 ± 0.1	1.3 ± 0.1
20:5n-3	6.8 ± 0.2	6.2 ± 0.4	9 ± 0.1	11.2 ± 1.5	14.4 ± 0.8
22:5n-3	1.1 ± 0.1	0.9 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.6 ± 0.1
22:6n-3	1.1 ± 0.0	1.6 ± 0.2	2.3 ± 0.2	1.0 ± 0.2	0.7 ± 0.1

*Ophiocomina
nigra***Do**

	Jun-10		Aug-10		Oct-10		Jan-11		Apr-11	
Bacteria	3.0	± 0.2	3.9	± 0.1	3.5	± 0.2	3.9	± 0.2	3.7	± 0.2
Saturates										
14:00	15.4	± 0.2	13.3	± 1.2	12.7	± 0.5	11.8	± 0.2	11.7	± 0.4
16:00	13.5	± 0.3	12.1	± 0.6	10.4	± 0.4	10.7	± 0.8	10.6	± 0.6
18:00	3.4	± 0.2	4.1	± 0.3	4.5	± 0.3	5.1	± 0.1	4.5	± 0.3
Monosaturates										
16:1n-7	8.9	± 0.1	9.3	± 0.5	8.8	± 0.7	8.1	± 0.1	8.5	± 0.2
18:1n-11	0.6	± 0.1	0.6	± 0.1	0.7	± 0.1	0.8	± 0	0.9	± 0.1
18:1n-9	1.6	± 0	2.8	± 0.6	2.3	± 0.2	2.9	± 0.2	2.9	± 0.6
18:1n-7	4.1	± 0.3	4.6	± 0.1	4.1	± 0.4	4.5	± 0.4	4.7	± 0.3
20:1n-11	12.9	± 0.8	11.3	± 1.6	7.5	± 0.6	10	± 0.8	9.9	± 0.2
22:1n-9	1.1	± 0.2	1.1	± 0.1	0.7	± 0.1	0.9	± 0.1	0.8	± 0.1
Polyunsaturates										
16:2n-4	1.8	± 0.1	1.2	± 0.1	1	± 0	0.8	± 0.1	0.9	± 0.1
16:3n-6	1.6	± 0.3	2	± 0.2	3.1	± 0.5	4.9	± 0.4	5.7	± 0.5
16:3n-4	1.1	± 1	1.1	± 0.1	1.1	± 0.1	0.8	± 0.1	1.1	± 0.1
16:3n-3	0.3	± 0.1	0.4	± 0	1.1	± 0.1	0.9	± 0.1	0.8	± 0.2
16:4n-1	3.4	± 0.3	2.2	± 0.2	3.4	± 0.1	2.6	± 0.3	2.7	± 0.2
18:2n-6	0.6	± 0	0.8	± 0.1	0.7	± 0.1	0.6	± 0.1	0.8	± 0.1
18:2n-4	0.7	± 0.1	0.6	± 0	0.7	± 0.3	0.8	± 0.2	0.8	± 0
18:3n-3	0.4	± 0	0.4	± 0.1	0.4	± 0.1	0.4	± 0.1	0.5	± 0.1
18:4n-3	3.9	± 0	2.7	± 0.2	2.1	± 0.1	1.9	± 0.2	2.4	± 0.1
Σ20:2NMI _{i,j}	0.8	± 0.1	1	± 0.1	0.8	± 0.1	0.6	± 0	0.5	± 0.1
20:4n-6	1.3	± 0.1	1.6	± 0.1	2	± 0.1	2.7	± 0.1	2.3	± 0.1
20:5n-3	7.0	± 0.4	8.1	± 0.9	13	± 0.3	11.2	± 0.7	11.1	± 1.2
22:5n-3	1.1	± 0.1	0.8	± 0	0.8	± 0.1	0.6	± 0.1	1	± 0.5
22:6n-3	1.3	± 0	2.4	± 0.6	2.5	± 0.2	1.3	± 0.1	1.1	± 0.1

DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Les objectifs de ce travail de thèse se déclinaient en deux principaux volets :

1. Quantifier l'évolution spatio-temporelle d'*Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis* sur la base des données historiques disponibles en rade de Brest et en baie de Douarnenez ;
2. Caractériser par une étude dynamique temporelle et spatiale, la nature et l'origine de la matière organique assimilée par les ophiures à l'aide d'une approche multi-marqueurs, les acides gras (issus des lipides de réserves) et les isotopes stables ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$) après une estimation préalable des facteurs de discrimination ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ et $\Delta\delta^{15}\text{N}$) pour les deux espèces.

Ce chapitre a pour objectif de synthétiser les principaux résultats et la discussion des articles présentés dans ce manuscrit. Il permet également d'approfondir certains aspects qui n'ont pu être discutés dans les quatre articles constituant le corps de cette thèse, et d'aborder quelques perspectives de recherche.

1. Evolution spatio-temporelle des populations d'ophiures à la pointe de Bretagne

- *Une prolifération avérée, un impact sur le fonctionnement de l'écosystème à préciser pour la rade de Brest*

En rade de Brest, les résultats des prospections vidéo réalisées en 1987 et 2011 ont mis en évidence de profonds changements dans la distribution spatiale et les niveaux de densités d'*Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis*. En 2011, *O. nigra* couvre la quasi-totalité de la partie centrale de la rade autrefois dominée par *O. fragilis* (Hily 1991) avec une multiplication par 5 et par 3 respectivement de sa densité et de sa biomasse par rapport à 1987. L'effet direct d'une telle expansion de la population d'*O. nigra* s'est traduit par un phénomène d'exclusion compétitive d'*O. fragilis* dans la partie centrale de la rade (zone d'étude). Ce phénomène s'est traduit par un déplacement de la population d'*O. fragilis* dans la partie sud du bassin central (Fig. 1). L'espèce colonise désormais des bancs de coquilles mortes de *Crepidula fornicata*, qui constituent ainsi des supports favorables au développement de l'espèce.

Les conséquences d'un tel changement sont visibles notamment à travers l'indice de saisonnalité (α), utilisé comme proxy de la pression de broutage du phytoplancton par les suspensivores dans la rade de Brest (Chauvaud et al. 2000). Le lien entre la diminution des

valeurs de cet indice mesuré entre 1977 et 1996 a été établi avec le contrôle de la biomasse phytoplanctonique par la crépidule en forte expansion. En effet, l'aire colonisée par cette espèce dans la rade s'est étendue de 45 km² en 1978 (Coum 1979) à 90 km² en 1995 pour atteindre 18 000 tonnes de poids frais (Chauvaud 1998). A l'inverse, notre étude a mis en évidence une tendance opposée de l'indice de saisonnalité entre 1996 et 2011 montrant une diminution de la pression de broutage du phytoplancton. Les bancs de crépidules actuellement colonisés par *O. fragilis* ont révélé une majorité de coquilles vides.

L'évolution de la densité et de la biomasse d'*O. nigra* résulte probablement de la combinaison de changements globaux qui se sont opérés dans le milieu, avec des traits différents d'histoire de vie des espèces. A l'inverse d'*O. fragilis*, décrite comme une espèce grégaire et majoritairement suspensivore (Warner & Woodley 1975), *O. nigra* est une espèce relativement mobile et qui présente une grande plasticité trophique (Fontaine 1965) disposant ainsi d'un avantage compétitif sur *O. fragilis*. L'apport croissant de détritus pouvant provenir entre autre des blooms fréquents de macroalgues vertes (*Ulva* sp) se développant de manière chronique depuis une trentaine d'années dans de nombreuses baies de Bretagne (Dion & Le Bozec 1996, Merceron et al. 2007; Ménesguen et al. 2006), l'augmentation des bio-dépôts générés par la prolifération de *Crassostrea gigas* dans les zones intertidales depuis une dizaine d'années (Lejart & Hily 2011), de même que les opérations d'essaimage de *Pecten maximus* et les opérations chroniques de dragages (Fleury et al. 2003), sont autant d'apports organiques qui ont pu favorisé le caractère opportuniste d'*O. nigra*.

Une telle augmentation de population chez *O. nigra* pourrait être qualifiée d'outbreak, phénomène biologique défini par Uthicke et al. (2009) comme une augmentation au minimum d'un facteur 4 de la densité d'une population par rapport à sa densité initiale, suivie d'une relative stabilité de cette population. Le phénomène d'outbreak défini par Uthicke et al. (2009) a été mis en évidence chez 28 espèces d'échinodermes, sur des suivis à long terme selon des fréquences d'observations plus importantes révélant des augmentations rapides de leur densité dans un laps de temps relativement court. La dynamique d'accroissement de la population de l'ophiure ne peut être déduite sur la base de deux situations espacées de 25 ans. Néanmoins plusieurs critères suggèrent que le phénomène observé s'est prolongé à la fois dans l'espace et le temps. L'évolution de la population d'*Ophiocomina nigra* en baie de Douarnenez converge avec la tendance observée en rade de Brest, et de ce fait semble indiquer un phénomène plus global, à l'échelle de la zone géographique considérée (pointe de Bretagne) qui semble offrir une niche écologique favorable au développement de cette ophiure. La répartition des structures de taille montre également que l'explosion de population

observée ne résulte pas d'un recrutement unique, mais qu'il s'agit d'un processus étalé dans le temps.

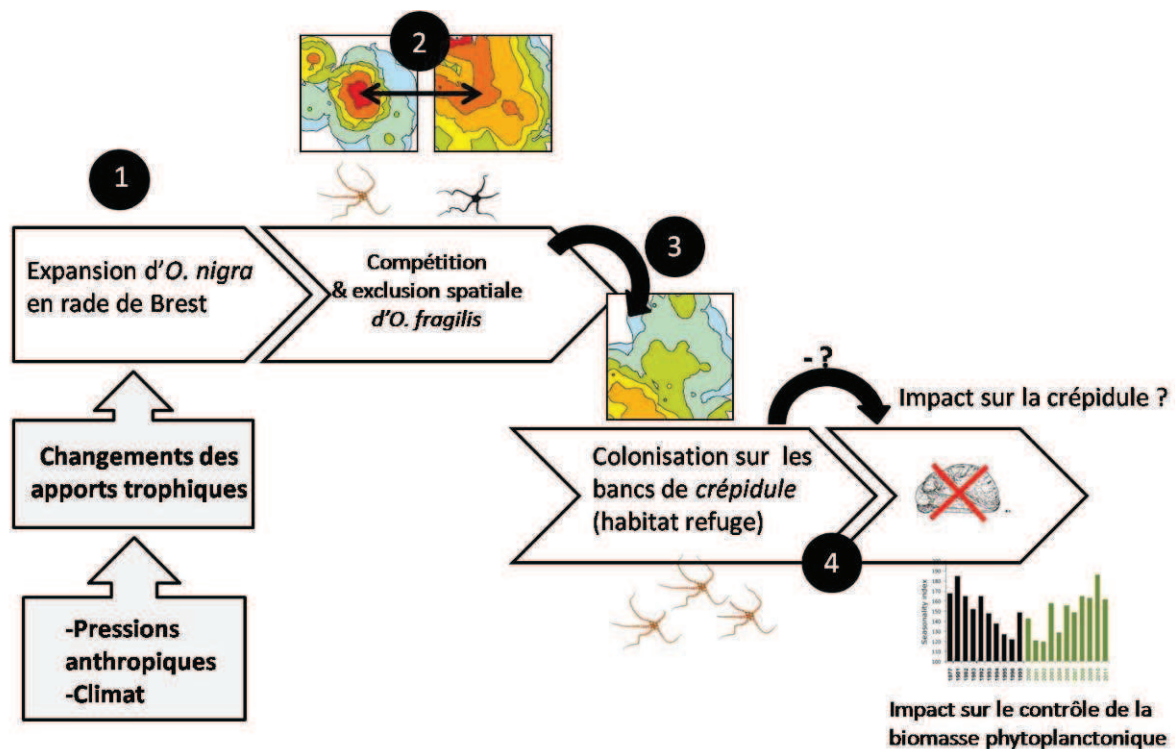


Figure 1. Schéma synthétique du mécanisme et des conséquences de la prolifération d'*Ophiocomina nigra* en rade de Brest

- *Structure en taille des populations d'Ophiures*

Les résultats issus des analyses vidéo sur les secteurs de la rade de Brest et de la baie de Douarnenez (un peu plus de 300 km² au total) ont mis en évidence une distribution spatiale de l'*Ophiocomina nigra* structurée en classes de taille en lien avec le niveau de densité de l'espèce (Fig. 2). Cette structure particulièrement bien visible chez *Ophiocomina nigra* était d'autant plus nette que les différents patterns spatiaux semblaient se démarquer en fonction de la nature du substrat. Par exemple, les individus de petite taille (diamètre du disque ~5mm) colonisaient les substrats rocheux et grossiers (maërl, roche, sédiment hétérogène grossier) à de fortes densités. A l'inverse, sur les sables fins homogènes, les individus de grande taille (diamètre du disque ~20mm) étaient représentés en faible densité. Une tendance similaire a été observée chez *O. fragilis* mais sur un nombre beaucoup plus limité d'observations. Nos résultats ne nous permettent pas d'affirmer s'il s'agit d'une structuration spatiale par classe d'âge car seule une étude fine de la dynamique spatio-temporelle de population peut nous

permettre de répondre de façon précise à ces formes de distribution chez les ophiures. La relation observée entre la taille et la densité en lien avec la nature du substrat laisse cependant supposer des migrations ontogéniques à petite échelle spatiale de l'espèce.

Néanmoins, l'hypothèse d'une corrélation négative entre la taille et la densité n'est pas à exclure et a déjà été évoquée chez *Ophiura sarsii* (Fujita & Ohta 1990) suggérant un effet de densité dépendance influençant le taux de croissance des individus.

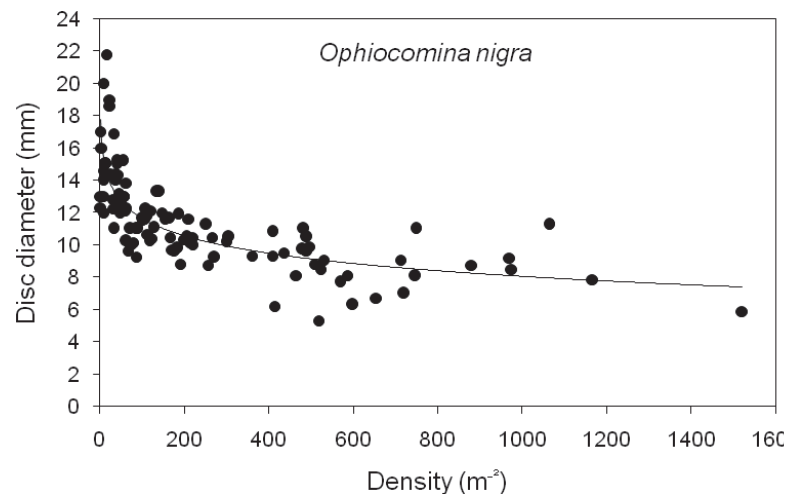


Figure 2. Relation taille-densité observée chez *Ophiocomina nigra*

Dans cette étude, le système vidéo à haute définition s'est révélé être un outil de mesure fiable pour quantifier et mesurer des espèces de macrofaune épigées bien visibles sur le fond. Ce système vidéo a présenté l'avantage de couvrir rapidement une aire géographique relativement conséquente (échelle d'une baie par exemple) et d'acquérir suffisamment de données avec une assez bonne précision et un minimum d'efforts. En revanche ce système a présenté des limites car il n'a pas permis d'estimer précisément les niveaux de densité sur des fonds rocheux sur lesquels *O. nigra* peut être extrêmement dense. A cette exception près, l'estimation de la densité par ce système est apparue mieux adaptée pour *Ophiocomina nigra* que pour une espèce agrégative comme *Ophiothrix fragilis* qui peut atteindre des densités extrêmement élevées et donc difficilement quantifiables. Récemment Lozach et al. (2011) ont réalisé une inter-comparaison de plusieurs méthodes d'échantillonnage (plongée, bennes, carottier) pour estimer le mieux possible des abondances d'*Ophiothrix fragilis* ceci dans des stations présentant des agrégats de densités variables (de quelques centaines à plusieurs milliers d'individus au m²). Les résultats de cette étude ont montré une bonne efficacité de la

benne Smith McIntyre de même que l'échantillonnage en plongée par la méthode des quadrats.

La mise en place d'un suivi des changements à long terme des populations d'*Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis* à l'échelle de la pointe de Bretagne apparaît indispensable. La mise en évidence des changements suppose un laps de temps suffisant pour que la dynamique d'évolution des espèces puisse être perçue et un échantillonnage régulier pour que des relations directes entre des modifications du milieu et les populations d'ophiures puissent être démontrées.

- *Mieux identifier les mécanismes de la prolifération d'Ophiocomina nigra et préciser ses effets sur le milieu*

Nos résultats nous conduisent à formuler plusieurs hypothèses sur les effets qu'une telle prolifération d'*Ophiocomina nigra* induit à la fois sur le compartiment benthique et plus globalement sur l'écosystème de la rade de Brest. Parmi les espèces introduites, la crépidule est une espèce dont l'expansion a été la plus remarquable depuis son apparition sur les côtes françaises et a successivement envahi plusieurs secteurs entre autre celui de la rade de Brest. Aujourd'hui, au regard de nos observations, il semble que la crépidule présente des signes de régression alors qu'aucune étude à notre connaissance ne fait état d'un tel phénomène dans d'autres sites densément colonisés par cette espèce (St Briec, Marennes-Oléron, bassin Arcachon, baie du Mont St Michel). Des études de suivi ont montré au contraire des phases d'expansion récentes (Blanchard 2009). Notre étude menée en rade de Brest révèle une question scientifique majeure: y a-t-il un lien de cause à effet entre la prolifération d'*O. nigra* et la régression de la crépidule dans la rade de Brest? La forte expansion d'*O. nigra* sur l'ensemble de la zone d'étude s'est traduite par l'exclusion spatiale d'*O. fragilis* vers la partie sud de la rade qui colonise désormais des bancs morts de Crépidules. Le lien direct entre le déclin de cette espèce et l'installation d'*O. fragilis* sur les bancs de crépidules mortes est une hypothèse à tester. Il convient donc aujourd'hui de mieux comprendre les interactions entre la crépidule et *O. fragilis*. Plus concrètement, une étude exhaustive de l'ensemble des bancs de crépidules de la rade de Brest devra être réalisé pour valider ou non sa régression. Dans un second temps, il s'agira de tester si le recrutement des crépidules peut être limité par la présence d'*O. fragilis* par comparaison avec un habitat à crépidule dépourvu d'ophiures. Il s'agit, dans un secteur fortement colonisé par des crépidules vivantes et où l'ophiure est très peu ou pas présente, de déposer sur le fond plusieurs cages grillagées (plusieurs réplicats)

dans lesquelles seront introduites des densités importantes d'ophiures. Ces dispositifs expérimentaux seront suivis sur le long terme (1 an au minimum) et le taux de survie des crépidules adultes et les taux de recrutements seront estimés en comparaison avec les témoins sans ophiures. Cette perspective d'étude s'intègre dans un projet de recherche initié par le laboratoire Ecologie Benthique de l'IFREMER en collaboration avec L'Observatoire du Domaine Côtier (ODC) de l'IUEM et dont l'objectif général est de caractériser le stade évolutif actuel de la population de crépidules de la rade de Brest. Ce projet fait l'objet d'une demande de financement « Ecosphère Continentale et Côtière » (EC2CO).

2. Ecologie trophique d'*Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis*

2. 1 Approche expérimentale: estimation des facteurs de discrimination ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ et $\Delta\delta^{15}\text{N}$)

La différence théorique de composition isotopique existant entre une source et son consommateur ($\sim 1\text{‰}$ pour $\Delta\delta^{13}\text{C}$ et $\sim 3.4\text{‰}$ pour $\Delta\delta^{15}\text{N}$) est depuis quelques années largement discutée, alors qu'elle est à la base de l'utilisation des isotopes stables écologie trophique. En effet d'importantes sources de variations dans les valeurs de $\Delta\delta^{13}\text{C}$ et $\Delta\delta^{15}\text{N}$ ont été mises en évidence depuis l'appel de Gannes et al. (1997) à développer davantage d'expérimentations. De telles études se sont principalement focalisées sur des organismes terrestres (*e.g.* Tieszen et al. 1983; Caut et al. 2008; Wehi & Hicks 2010) et dans une moindre mesure sur des organismes aquatiques (*e.g.* Pinnegar & Polunin 1999 ; Dubois et al. 2007). Ce déséquilibre, nécessite aujourd'hui de s'intéresser à un spectre plus large d'organismes aquatiques, tout particulièrement ceux issus du milieu marin. A notre connaissance, ce travail a permis d'estimer pour la première fois des facteurs de discrimination pour deux espèces d'ophiures.

Nos résultats ont mis en évidence des différences interspécifiques montrant des $\Delta\delta^{13}\text{C}$ et $\Delta\delta^{15}\text{N}$ globalement plus faibles chez *Ophiothrix fragilis* que chez *Ophiocomina nigra* pour une même source de nourriture (moules et *Ulva* sp); elles semblent toutefois être principalement influencées par la qualité des sources de nourriture. L'influence de l'état reproducteur des ophiures sur les facteurs de discrimination a également été mise en évidence montrant que lors de la phase de repos gonadique, les valeurs de $\Delta\delta^{13}\text{C}$ sont systématiquement inférieures de 0,8 ‰ par rapport aux valeurs obtenues lors de la maturation gonadique. La dynamique d'incorporation de la signature en $\delta^{13}\text{C}$ dans les différents tissus d'ophiures résulte

d'influences trophiques auxquelles s'ajoutent les influences intrinsèques des remaniements physiologiques soutenant la maturation gonadique.

Pour chacune des espèces, les facteurs de discrimination se situent dans la gamme des valeurs de la littérature, à l'exception des valeurs négatives de $\Delta\delta^{13}\text{C}$ pour le régime macroalgues (*Ulva* sp) et de $\Delta\delta^{15}\text{N}$ pour le régime poisson. Les proportions en azote (%N) et les ratios C/N utilisés comme proxy de la qualité de la nourriture montrent qu'une haute teneur en protéines (%N élevé, C/N faible) peut conditionner les valeurs de $\Delta\delta^{15}\text{N}$, alors que les valeurs de $\Delta\delta^{13}\text{C}$ seraient davantage influencées par une allocation différentielle des composants de la nourriture assimilés dans les différents tissus des ophiures. Les valeurs négatives de $\Delta\delta^{13}\text{C}$ obtenues chez *O. nigra* (entre -3 et -1.7‰) et *O. fragilis* (entre ~ -4 et -3‰) pour le régime macroalgue peuvent résulter de la faible digestibilité des polysaccharides réfractaires tels que les composés cellulosiques et hémicellulosiques, très abondants chez les plantes et les macroalgues (Briand & Morand 1997). Par exemple, il a été montré que les signatures en $\delta^{13}\text{C}$ de la cellulose sont enrichies de +2‰ par rapport aux autres composants organiques (Benner et al. 1987; Bowling et al. 2008). Ceci pourrait expliquer les valeurs négatives de $\Delta\delta^{13}\text{C}$ obtenues avec *Ulva* sp. supportant l'idée que la composition isotopique du consommateur ne reflète pas strictement la composition isotopique de la nourriture dans son ensemble, mais la composition isotopique des composants de cette nourriture (Gannes et al. 1997; Martínez del Rio et al. 2009). De plus, les variations interspécifiques des valeurs de $\Delta\delta^{13}\text{C}$ peuvent être liées à une capacité d'assimilation d'*Ulva* sp différente selon l'équipement enzymatique des espèces (Kristensen 1972).

L'utilisation des ratios C/N et du %N comme proxy de la quantité et de la qualité d'une source de nourriture n'est sans doute pas suffisante. Une connaissance plus approfondie de la composition biochimique des sources de nourriture et des mécanismes physiologiques impliqués dans le renouvellement des tissus du consommateur est indispensable pour mieux identifier les sources de variation des facteurs de discrimination. Les études récentes ont montré que la variabilité du $\Delta\delta^{13}\text{C}$ s'explique à la fois par le contenu lipidique des tissus du consommateur (Post et al. 2007) mais également par le pool en acides aminés constituant les tissus protéiques et les $\delta^{13}\text{C}$ des acides aminés (O'Brien et al. 2005). De la même manière que pour le carbone, les sources de variations du $\Delta\delta^{15}\text{N}$ sont influencées par le pool en acides aminés et les $\delta^{15}\text{N}$ des acides aminés de même qu'elles sont amplifiées par les processus métaboliques du consommateur ceci d'autant plus que le niveau trophique du consommateur est élevé (McClelland & Montoya 2002; Popp et al. 2007).

- *Relation linéaire entre la signature isotopique de la source et les facteurs de discrimination, un mythe ou une réalité ?*

Nos résultats montrent également une tendance linéaire entre la signature isotopique de la nourriture ($\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$) et les facteurs de discrimination ($\Delta\delta^{15}\text{N}$ et $\Delta\delta^{13}\text{C}$), montrant que plus les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ et de $\delta^{13}\text{C}$ de la nourriture sont élevées plus les valeurs de $\Delta\delta^{15}\text{N}$ et $\Delta\delta^{13}\text{C}$ sont faibles, ceci quelque soit le tissu analysé et l'état reproducteur des deux ophiures. Dans notre étude, la tendance observée apparaît très convaincante et semble supporter les résultats de nombreuses études. En effet, cette relation linéaire a déjà été mise en évidence dans plusieurs études expérimentales (Felicetti et al. 2003; Aberle & Malzahn 2007; Caut et al. 2008, 2009; Dennis et al. 2010). Aujourd'hui très peu d'éléments de réponse ont été proposés. Dennis et al. (2010) avance l'hypothèse qu'un organisme nourrit avec des sources présentant des signatures isotopiques ($\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$) très enrichies, absorbe et dégrade une plus faible proportion de composés contenant des isotopes lourds de cette source. Ainsi par rapport à la source ingérée, le pool de matière réellement absorbé par l'organisme se trouve appauvri en isotopes lourds. Il résulte nécessairement d'un enrichissement en ^{15}N des produits d'excrétion.

Sur la base d'une synthèse bibliographique Caut et al. (2009) ont proposé des modèles de régressions linéaires appliqués à divers grands groupes taxonomiques (mammifères, poissons, oiseaux, invertébrés) mettant en relation la signature isotopique de la nourriture ($\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$) et les facteurs de discrimination ($\Delta\delta^{15}\text{N}$ et $\Delta\delta^{13}\text{C}$). Ces auteurs soulignent l'intérêt d'utiliser de tels modèles en écologie trophique lorsque les facteurs de discrimination ne sont pas connus pour des modèles biologiques d'étude. Ces modèles sont actuellement débattus dans la communauté scientifique (Caut et al. 2010) puisque d'autres auteurs expliquent ces relations par des artefacts mathématiques, un manque de puissance statistique ou des biais expérimentaux (Auerswald et al. 2010; Perga & Grey 2010). Ils justifient leur conclusions entre autre par le fait que (1) les facteurs de discrimination utilisés (issus de la littérature) pour construire ces modèles n'ont pas été calculés à l'équilibre dans l'étude de Caut et al. (2009) sur des rats (Auerswald et al. 2010), (2) qu'il existerait un lien entre les facteurs de discrimination ($\Delta\delta^{15}\text{N}$ et $\Delta\delta^{13}\text{C}$) et les sources dites « protéiques » et « non protéiques » et (3) une différence entre le $\Delta\delta^{15}\text{N}$ et le $\delta^{15}\text{N}$ de la source selon l'origine animale ou végétale de la source. Si notre étude a statistiquement démontré que l'état d'équilibre était atteint pour chacune des sources testées, les formulations biochimiques n'ont pas été faites sur

les trois sources trophiques et seuls les C/N et les pourcentages en azote ont été utilisés comme proxy de leur qualité.

Une perspective serait de développer une approche expérimentale beaucoup plus complète que ce qui a été mis en œuvre dans notre étude en intégrant des analyses biochimiques couplées à des analyses isotopiques sur les sources de nourriture et les tissus des organismes. Bien que très coûteuses et chronophages, les analyses isotopiques réalisées sur les profils d'acides aminés et des acides gras peuvent nous permettre de mieux (1) caractériser la qualité de la source trophique (2) identifier les processus d'allocation différentielle des composants biochimiques assimilés dans les différents tissus des organismes, (3) discriminer l'effet de la qualité de la nourriture de certains processus métaboliques (*e.g.* synthèse *de novo* de composés) des espèces.

Pour tester l'hypothèse de la relation linéaire entre la signature isotopique ($\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$) de la source et les facteurs de discrimination ($\Delta\delta^{15}\text{N}$ et $\Delta\delta^{13}\text{C}$) et, s'affranchir de l'effet « qualité » de la nourriture sur la valeur des facteurs de discrimination, il serait intéressant expérimentalement d'analyser la variation de la composition isotopique des produits d'excrétion azotée chez les ophiures nourries avec une même source de nourriture de signatures isotopiques plus ou moins enrichies en isotopes lourds. Les ophiures sont des organismes ammonotéliques et excrètent principalement les produits azotés sous forme d'ammonium (NH_4^+) (Stickle 1988; Davoult et al. 1991). Si la concentration de l'ammonium peut être dosée automatiquement et de manière simple (méthode dite au bleu d'indophenol adaptée à l'eau de mer; Koroleff 1970), la mesure de la composition isotopique de l'ammonium nécessite en revanche la mise en œuvre d'un protocole beaucoup plus lourd et plus coûteux.

Dix années après l'appel de Gannes et al. (1997) à développer l'approche expérimentale dans le domaine de l'isotopie, Martinez del Rio et al. (2009) font le constat d'un important déséquilibre entre les études expérimentales et les études en milieu naturel et soulignent également l'intérêt de développer des modèles pour mieux appréhender les variations de l'incorporation des isotopes dans les tissus des organismes. Le couplage des isotopes avec le modèle bioénergétique de type DEB (Dynamic Energy Budget) permet de tester et de hiérarchiser l'influence des différentes sources de variations (maintenance, nourriture, reproduction, croissance, conditions environnementales, composition isotopique de

la nourriture) sur la vitesse d'incorporation des isotopes dans les tissus animaux et les facteurs de discrimination (Pecquerie et al. 2010; Emmery et al. 2011).

2.2 Suivi *in situ*: approche couplée des isotopes stables et des biomarqueurs d'acides gras

Les isotopes stables du carbone et de l'azote couplés aux marqueurs d'acides gras ont été utilisés comme traceurs trophiques pour (1) évaluer l'influence des apports continentaux vs océaniques au régime alimentaire d'*Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis* par une approche spatio-temporelle et (2) identifier d'éventuelles compétitions interspécifiques. Les analyses isotopiques des deux ophiures et de quatre sources de matière organique potentiellement consommées (MOS: Matière Organique Sédimentée, MOPS : Matière Organique Particulaire en Suspension, MOT: Matière Organique Terrigène, macroalgue verte (*Ulva* sp)) ont été réalisées. Les proportions d'acides gras issus des lipides réserves ont été identifiées chez les deux ophiures. Les biomarqueurs d'acides gras d'animaux (Graeve et al. 1997), de diatomées 20:5n-3/22:6n-3 et 16:1n-7/16:0 (Budge & Parrish 1998; Dalsgaard 2003) avec 16:4n-1 (Budge et al. 2001) de bactéries (Σ iso15, aiso15, iso17, aiso17, 15:0, 17:0) (Dalsgaard 2003), de plantes vasculaires et/ou de macroalgues vertes (18:2n-6+18:3n-3) (Kelly & Scheibling 2012) ont été utilisés afin de caractériser les sources majoritaires de matière organique pour *Ophiothrix fragilis* et *Ophiocomina nigra*. Quatre stations ont fait l'objet d'un suivi temporel (Rade de Brest: BB, fond de baie de Douarnenez (Di), large de la baie de Douarnenez (Do), Blancs-Sablons (BS)).

D'une manière générale l'étude spatio-temporelle montre une bonne homogénéité dans la composition isotopique d'*Ophiothrix fragilis* et *Ophiocomina nigra* sur l'ensemble de la zone géographique, incluant les sites de la rade de Brest, la baie de Douarnenez et l'anse des Blancs-Sablons. Les gammes de signatures en $\delta^{13}\text{C}$ sont similaires chez les deux ophiures et sont globalement de faible amplitude (entre -17.5 et -18.5‰) indiquant qu'elles exploitent toutes deux des sources de même origine variant peu dans le temps et dans l'espace et/ou qui présentent des signatures en $\delta^{13}\text{C}$ peu discriminées entre elles. Les résultats montrent que la qualité de la MOS est beaucoup plus stable dans le temps que la MOPS et ceci quelque soit le site. Dans de tels écosystèmes, la MOS est fréquemment remaniée par les mécanismes de remise en suspension et/ou la bioturbation, ainsi les apports ponctuels qui se déposent sont rapidement dilués. En revanche durant l'été, les signatures isotopiques de la MOP et de la MOS ne sont pas discriminées ceci permet d'avancer l'hypothèse qu'à cette période la MOS

provient majoritairement de la production phytoplanctonique qui alimente le réseau trophique benthique. Durant cette période, il semble qu'*Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis* exploitent le phytoplancton mais le manque de discrimination entre les deux sources n'a pas permis d'identifier le mode de nutrition des deux espèces (suspensivore et/ou dépositivore). Les marqueurs 16:1n-7/16:0 et 20:5n-3/22:6n-3 confortent l'idée d'un régime phytophage dominé par les diatomées chez les deux espèces. Néanmoins, la plus forte contribution de cette source pour *O. fragilis* est également supportée par une proportion plus importante de 16:4n-1.

Nos résultats ont montré des valeurs de 20:5n-3/22:6n-3 très élevées (>20) et très inhabituelles compte tenu des données de la littérature par exemple pour des bivalves suspensivores qui consomment majoritairement des diatomées (~2.5) (Pernet et al. 2012). Un acide gras à longue chaîne de 24 carbones a été détecté chez les deux espèces mais n'a pas pu être identifié. Une analyse plus fine en spectrométrie de masse sera nécessaire pour le caractériser. Néanmoins, les séparations chromatographiques laissent penser qu'il s'agit du 24:6n-3, qui par ailleurs a déjà été détecté chez *O. nigra* et *O. fragilis* et d'autres espèces d'ophiures, mais ne semble pas d'origine trophique (McKenzie et al. 2000; Drazen et al. 2008; Takagi et al. 1986). En effet, il a été suggéré que cet acide gras pouvait provenir de l'élongation du 22:6n-3 (McKenzie et al. 2000) ce qui pourrait expliquer les hauts rapports de 20:5n-3/22:6n-3 observés dans notre étude. Les compositions en acides gras peuvent refléter les besoins physiologiques des organismes et ainsi masquer leurs préférences alimentaires.

A l'exception de la rade de Brest, les signatures en $\delta^{15}\text{N}$ sont globalement plus élevées chez *O. nigra* (~10-11.5‰) que chez *O. fragilis* (~8-10‰) indiquant qu'*O. nigra* se nourrit soit à un niveau trophique supérieur soit sur des sources trophiques plus enrichies en azote. L'utilisation du 18:1n-9/18:1n-7 comme indice de carnivorie a montré les valeurs plus élevées chez *O. nigra* que pour *O. fragilis*. Par ailleurs, la relation positive entre le $\delta^{15}\text{N}$ et 18:1n-9/18:1n-7 des ophiures a permis de décrypter plus finement les habitudes alimentaires de chacune des deux ophiures montrant qu'*O. fragilis* est plus herbivore (position inférieure) et qu'*O. nigra* présente un certain degré de carnivorie lui conférant toujours une position supérieure tout particulièrement dans la station des Blancs Sablons (BS). La position intermédiaire d'*O. nigra* observée dans les stations de la baie de Douarnenez (Di et Do) et en rade de Brest (BB) peut indiquer un régime plus omnivore chez cette espèce.

Des valeurs de PUFA/SAFA plus faibles, associées à une plus forte proportion de bactéries, semblent indiquer une plus grande consommation de matériel détritique dans le régime d'*O. nigra* comparé à celui d'*O. fragilis*. L'augmentation de la charge en matière

organique dans la MOS principalement durant les périodes de post bloom durant l'été et l'automne stimule l'activité microbienne laquelle intervient dans les processus de transformation et de dégradation de la MOPS (Hu et al. 2006). Ainsi le mode dépositore non sélectif adopté par l'espèce pourrait conférer à l'accumulation des détritiques (e.g. cadavres d'animaux, végétaux, pelotes fécales) issus de cette dégradation un rôle majeur dans la nutrition d'*Ophiocomina nigra*. Comme il a été mis en évidence chez plusieurs suspensivores (Riera et al. 2002; Dubois et al. 2007; Lefebvre et al. 2009; Pernet et al. 2012), les différences interspécifiques observées résultent certainement du mode d'alimentation et de la capacité de sélection des particules propres à chacune des deux ophiures, et permettent de réduire la compétition trophique.

Bien que la MOPS (-26.8‰ en janvier en rade de Brest) semble influencée par la MOT (Matière Organique Terrigène) (~-28‰), durant l'hiver, en raison d'apports continentaux plus importants, cette composante appauvrie en ^{13}C ne semble pas assimilée par les ophiures, en comparaison avec les organismes benthiques qui se développent en milieu estuarien (Riera & Richard 1997; Darnaude et al. 2004), ou dans les lagunes côtières méditerranéennes (Pernet et al. 2012; Carlier et al. 2009). Si dans ces derniers systèmes ces organismes semblent largement tributaires des apports continentaux et sont donc très appauvris en $\delta^{13}\text{C}$, les signaux isotopiques du carbone d'*Ophiocomina nigra* et *Ophiothrix fragilis* rendent davantage compte d'influences marines (~18‰). En dépit d'une influence plus continentale par rapport aux autres sites d'étude, la rade de Brest reste néanmoins un système ouvert et très complexe d'un point de vue hydrodynamique dans lequel les apports continentaux peuvent être largement contrebalancés par les apports océaniques de la mer d'Iroise. Les proportions de 18:2n-6 + 18:3n-3 montrent que les contributions des apports terrigènes et/ou d'algues vertes (*Ulva* sp) sont globalement faibles dans l'alimentation des ophiures et conforte en ce sens les résultats isotopiques, en dépit d'une influence plus marquée de ces sources (+32‰) dans les stations du fond de la baie de Douarnenez et en rade de Brest en fin d'étude.

Dans notre étude, compte tenu des caractéristiques environnementales de chacun de ces écosystèmes, nous avançons l'hypothèse que les acides gras 18:2n-6 + 18:3n-3 proviennent majoritairement des Ulves en baie de Douarnenez et des apports terrestres en rade de Brest. La faible proportion de ce biomarqueur d'acides gras observée chez les deux espèces ne conforte pas les résultats obtenus par l'analyse isotopique pour les Ulves en baie de Douarnenez. En effet, cette source semblait contribuer tout particulièrement à l'alimentation

d'*O. nigra*, en été et à l'automne. Si l'assimilation des Ulves par les ophiures se fait préférentiellement sous forme décomposée et non fraîche, on peut avancer l'hypothèse que soit (1) les facteurs de discrimination ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ et $\Delta\delta^{15}\text{N}$) estimés à l'issue de notre expérimentation ne sont pas appropriés pour des Ulves décomposées (2) les compositions en $18:2\text{n}-6$ et $18:3\text{n}-3$ diminuent lors des processus de décomposition comme cela a déjà été rapporté pour les phanérogames marines (Alfaro et al. 2006; Kharlamenko et al. 2001; Tenore et al. 1984) laissant supposer une sous estimation de la contribution des Ulves dans le régime alimentaire des ophiures.

Enfin, sur l'ensemble du suivi annuel, *Ophiothrix fragilis* présente une signature en $\delta^{15}\text{N}$ plus enrichie d'environ 1‰ en rade de Brest comparée à celle des autres sites d'études (baie de Douarnenez et anse des Blancs-Sablons). De la même manière que pour *O. nigra*, cet enrichissement en ^{15}N peut signaler une plus forte consommation de matière organique d'origine animale ou de détritits mais peut également résulter de l'exploitation d'une source enrichie en ^{15}N d'origine anthropique comme il a déjà été montré chez des bivalves suspensivores (Cabana & Rasmussen 1996; Fry 1999; Riera 1998). Les bassins versants des deux rivières (Aulne et Elorn) qui se déversent dans la rade de Brest sont soumis à une forte urbanisation et sont le siège d'activités agricoles intenses qui augmentent d'autant la charge en azote inorganique dans la rade. A cela s'ajoutent les processus biogéochimiques microbiens qui influencent très largement les formes d'azote disponibles pour les producteurs primaires (e.g. phytoplancton) et donc leurs compositions isotopiques. Notons que l'absence de relation entre $\delta^{15}\text{N}$ et $18:1\text{n}-9/18:1\text{n}-7$ chez *O. fragilis* en rade de Brest supporte plutôt bien l'hypothèse de l'exploitation d'une source azotée d'origine anthropique.

Les valeurs de contributions des sources aux régimes alimentaires d'*Ophiothrix fragilis* et *Ophiothrix fragilis* n'ont pu être déterminées par les modèles statistiques bayésiens (SIAR - Stable Isotope Analysis in R) récemment développés par Parnell et al. (2010). Ces modèles de mélange ont été testés sur nos données mais les incertitudes des contributions des sources étaient très élevées quels que soient les facteurs de discrimination testés. De plus l'utilisation de ce type de modèle est pertinente lorsque les sources sont bien discriminées.

Nos résultats ont montré qu'*O. nigra* était capable d'exploiter à la fois le phytoplancton, des détritits, des bactéries et des proies animales en relation étroite avec le sédiment. Il est admis que la méiofaune constitue un lien essentiel entre le pool détrititque et les invertébrés carnivores au sein des réseaux trophiques benthiques (Vranken et al. 1986;

Chardy & Dauvin 1992;). Cette composante se caractérise par une forte abondance d'organismes (e.g copépodes harpacticoides, nématodes) qui se développent à la surface des sédiments (Danovaro et al. 2002; Lebreton et al. 2012) et peut ainsi contribuer à l'alimentation d'*O. nigra*. La technique des isotopes stables permet désormais d'analyser différentes composantes benthiques sur des quantités réduites de matière pour les analyses en spectrométrie de masse. Il serait donc intéressant par le biais des isotopes d'étudier les différentes composantes organique de la MOS en ayant préalablement séparé la fraction détritique et la méiofaune par des méthodes d'extractions adaptées (centrifugations) (Burgess 2001).

Enfin, afin d'approfondir l'étude de la plasticité alimentaire d'un organisme, certains auteurs proposent que les variances autour des compositions isotopiques mesurées à l'échelle de l'individu puissent être utilisées comme indicateurs directs de la niche trophique et de son étendue. Cela permet ainsi de définir chaque espèce comme étant plutôt généraliste ou spécialiste au sein du réseau trophique auquel elle appartient (Bearhop et al. 2004). Cette approche menée sur les populations *Ophiothrix fragilis* et *Ophiocomina nigra* peut permettre de décrypter plus finement les relations trophiques entre ces deux ophiures, et également de mieux évaluer leur relation de compétition.

En réponse aux objectifs annoncés, ce travail de thèse a permis tout d'abord de valider et de quantifier un phénomène de prolifération de l'ophiure *Ophiocomina nigra* inédit, d'une grande intensité à la pointe de Bretagne générant de profondes modifications en rade de Brest en interaction avec *O. fragilis*. L'approche conjointe des isotopes stables et des marqueurs d'acides gras a confirmé la capacité d'*O. nigra* à exploiter une grande diversité de sources de nourriture présentes à différents niveaux trophiques lui conférant un avantage vis-à-vis d'*O. fragilis*, laquelle a pourtant été décrite comme stable dans la rade de Brest. L'importance du matériel détritique disponible dans de tels systèmes productifs et la capacité de l'espèce à l'exploiter, pourraient en partie expliquer le succès de cette espèce opportuniste. Ces résultats prédisent un changement dans le fonctionnement de l'écosystème de la rade de Brest, et soulignent la nécessité de tenir compte d'une espèce "quasi ignorée" jusqu'à présent dans les études d'impact et qui s'avère au travers de cette étude être une espèce "clé" dans les changements observés. Il apparaît désormais nécessaire, en précisant la durée et l'intensité de la prolifération d'*O. nigra*, d'en estimer les conséquences dans cette baie que l'INEE-CNRS vient de définir comme la 1^{ère} zone atelier littorale française.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Aberle N, Malzahn AM (2007) Interspecific and nutrient-dependent variations in stable isotope fractionation: experimental studies simulating pelagic multitrophic systems. *Oecologia* 154: 291-303
- Adams TS, Stener R (2000) The effect of dietary nitrogen content on trophic level ^{15}N enrichment. *Limnol Oceanogr* 45(3) 601-607
- Adin R, Riera P (2003) Preferential food source utilization among stranded macroalgae by *Talitrus saltator* (Amphipod, Talitridae): a stable isotopes study in the northern coast of Brittany (France). *Estuar Coast Shelf Sci* 56: 91-98
- Aizenberg J, Tkachenko A, Weiner S, Addadi L, Hendler G (2001) Calcitic microlenses as part of the photoreceptor system in brittlestars. *Nature* 412:819-822.
- Alban F, Boncoeur J (2008) "Sea Ranching and Self-Management in the Bay of Brest (France): Technical Change and Institutional Adaptation of a Scallop Fishery" in R. Townsend and R. Shotton, (Eds.) Case Studies in Fisheries Self-Governance. FAO Fisheries Technical papers n°504, Rome, FAO , p.41-52
- Alfaro AC, Thomas F, Sergent L, Duxbury M (2006) Identification of trophic interactions within an estuarine food web (northern New Zealand) using fatty acid biomarkers and stable isotopes. *Estuar Coast Shelf Sci* 70:271-286
- Allain JY (1974) Ecologie des bancs d'*Ophiothrix fragilis* (Abildgaard) (Echinodermata: Ophiuroidea) dans le golfe Normano-Breton. *Cah Biol Mar* 15: 235-273
- Allain JY, Romano JC, Semroud R (1978) *Ophiocomina nigra* (O.F. Muller) (Echinodermata, ophiuroidea) dans la région d'Alger. *Pelagos* 5: 50-64
- Allen JR (1998) Suspension feeding in the brittle-star *Ophiothrix fragilis*: efficiency of particle retention and implications for the use of encounter-rate models. *Mar Biol* 132(3): 383-390
- Andrew NL, Underwood AJ (1992) Associations and abundance of sea urchins and abalone on shallow subtidal reefs in southern New South Wales. *Aus J Mar Freshw Res* 43:1547-1559
- Arbach Leloup F, Desroy N, Le Mao P, Pauli D, Le Pape O (2008) Interactions between a natural food web, shellfish farming and exotic species: The case of the Bay of Mont Saint Michel (France). *Estuar Coast Shelf Sci* 76(1):111-120
- Archambault V (2003) Réponse bio-écologiques des macroinvertébrés benthiques aux perturbations: la base d'un outil diagnostique fonctionnel des écosystèmes d'eaux courantes. Thèse de Doctorat, Université de Metz.
- Aronson RB (1989) Brittlestar beds: Low-predation anachronisms in the British Isles. *Ecology* 70(4):856-865
- Aronson RB (1992) Biology of a scale-independent predator-prey interaction. *Mar Ecol Prog Ser* 89: 1-13

- Auby I, Manaud F, Maurer D, Trut G (1994) Etude de la prolifération des algues vertes dans le bassin d'Arcachon. Rapport IFREMER, 270p
- Auel H, Harjes M, de Rocha R, Stübing D, Hagen W (2002) Lipid biomarkers indicate different ecological niches and trophic relationships of the Arctic hyperiid amphipods *Themisto abyssorum* and *T. libellulua*. Polar Biol 25:374–383
- Auerswald K, Wittmer M H O M, Zazzo A, Schäufele R, Schnyder H, (2010) Biases in the analysis of stable isotope discrimination in food webs. J Appl Ecol 47: 936-941
- Augris C, Ménesguen A, Hamon D, Blanchet A, Le Roy P, Rolet j, Jouet G, Véron G, Delannoy H, Drogou M, Bernard C, Maillard X (2005) Atlas thématique de l'environnement marin de la baie de Douarnenez (Finistère). Partenariat Ifremer et ville de Douarnenez. Ed. Ifremer, Atlas & Cartes, 10 cartes, échelle 1/25000 + livret d'accompagnement 135p.

B

- Babcock RC, Mundy CN, Whitehead D (1994) Sperm diffusion models and in situ confirmation of long-distance fertilization in the free-spawning asteroid *Acanthaster planci*. Biol Bull 186:17-28
- Bearhop S, Adams CE, Waldron S, Fuller RA, MacLeod H (2004) Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. J Anim Ecol 73: 1007-1012
- Benner R, Fogel ML, Sprague EK, Hodson RE (1987) Depletion of ¹³C in lignin and its implications for stable carbon isotopes studies. Nature 329: 708-710
- Benner R, Weliky K, Hedges JI (1990) Early diagenesis of mangrove leaves in a tropical estuary: Molecular level analyses of neutral sugars and lignin-derived phenols. Geochem Cosmochem Acta 54: 1991-2002
- Berger WH, Wefer G (1990) Export production: seasonality and intermittency, and paleoceanographic implications. Palaeogeogr Palaeoclimatol Paleoecol (Global Planetary Change Suppl) 89:245-254
- Biandolino F, Prato E, Carappo C (2008) Preliminary investigation on the phytoplankton contribution to the mussel diet on the basis of fatty acids analysis. J Mar Biol Assoc UK 88(7):1009-1017
- Birkeland C (1982) Terrestrial runoff as a cause of outbreaks of *Acanthaster planci* (Echinodermata: Asteroidea). Mar Biol 69:175-185
- Birrien JL (1987) Cycles de variations des éléments nutritifs et du phytoplancton en baie de Douarnenez et dans les secteurs adjacents : importance du front côtier de l'Iroise. Thèse de l'Université de Bretagne Occidentale, Brest, France.
- Blanchard M (1997) Spread of the slipper limpet (*Crepidula fornicata*) in Europe. Current state and consequences. Sci Mar 61(suppl.2) 109-118
- Blanchard M (2009) Recent expansion of the slipper-limpet population (*Crepidula fornicata*) in the Bay of Mont-St-Michel (Western Channel, France). Aquat Living Resour 22:11-19
- Blanchet A, Chevalier C, Gaffet D, Hamon D (2004) Bionomie benthique subtidale en Baie de Douarnenez. Rapport IFREMER 52 p.
- Blanchet-Aurigny A, Dubois SF, Hily C, Rochette S, Le Goaster E, Guillou M (2012) Multi-decadal changes in two co-occurring ophiuroid populations. Mar Ecol Prog Ser 460:79-90

- Blanchet-Aurigny A, Guillou M, Pernet F, Dubois SF (2012)b. Tissue-diet discrimination factors of isotopic ratios ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$) in two brittle star species: Effect of reproductive state, diet and tissue composition, *J Exp Mar Biol Ecol*
- Bodin N, Le Loc'h F, Hily C (2007) Effect of lipid removal on carbon and nitrogen stable isotope ratios in crustacean tissues. *J Exp Mar Biol Ecol* 341(2): 168–175
- Bodin P, Boucher D, Guillou J, Guillou M (1987) The trophic system of the benthic communities in the Bay of Douarnenez (Brittany). In Gibbs P.E. (ed.) *Proceedings of the 19th European Symposium on Marine Biology*. Cambridge University Press, pp. 361 – 370
- Bolam SG, Fernandes TF, Read P, Raffaelli D (2000) Effects of macroalgal mats on intertidal sandflats: an experimental study. *J Exp Mar Biol Ecol* 249:123-137
- Boudouresque CF, Verlaque (2002) Biological pollution in the Mediterranean Sea: invasive versus introduced macrophytes. *Mar Pollut Bull* 44:32-38
- Bouillon S, Boschker HTS (2006), Bacterial carbon sources in coastal sediments: A cross-system analysis based on stable isotope data of biomarkers. *Biogeosciences* 3: 175– 185.
- Bourgoin A, Guillou M, Morvan C (1985) Etude préliminaire de l'épifaune des sédiments meubles de la rade de Brest (Finistère, France) à l'aide d'une caméra vidéo sous-marine. *Annales de l'Institut Océanographique*, Paris 61: 39 – 50
- Bourgoin A, Guillou M (1988) Demographic study of *Amphiura filiformis* (Echinodermata: Ophiuroidea) in Concarneau Bay (Finistère, France). *Oceanol Acta* 11(1):79-87
- Bourgoin A, Guillou M (1990) Variations in the reproductive cycle of *Acrocnida brachiata* (Echinodermata: Ophiuroidea) according to environment in the Bay of Douarnenez (Brittany). *J Mar Biol Ass UK* 70: 57- 66
- Boutton TW (1991) Stable carbon isotope ratios of natural materials II: atmospheric, terrestrial marine and freshwater environments. In Coleman DC, Fry B (eds) *Carbon isotopes techniques*. Academic Press, San Diego. pp 173-186
- Bowling DR, Pataki DE, Randerson JT (2008) Carbon isotopes in terrestrial ecosystem pools and CO₂ fluxes. *New Phytol* 178: 24-40
- Bowmer T (1982) Reproduction in *Amphiura filiformis* (Echinodermata: Ophiuroidea): Seasonality in Gonad Development. *Mar Biol* 69: 281-290
- Bremner J, Rogers SI, Frid CLJ (2006) Matching biological traits to environmental conditions in marine benthic ecosystems. *J Mar Syst* 60:302-316
- Brenaut C, Fiori M, Kare M, Vial V (2004) Evaluation et gestion des risques liés à la décomposition des algues vertes. Application dans les Côtes d'Armor ENSP
- Briand X, Morand P (1997) Anaerobic digestion of *Ulva* sp. 1. Relationship *Ulva* composition and methanisation. *J Appl Phycol* 9: 511-524
- Brodie J, Fabricius K, De'ath G, Okaji K (2005) Are increased nutrient inputs responsible for more outbreaks of crown-of-thorns starfish? An appraisal of the evidence. *Mar Pollut Bull* 51:266-278
- Broom DM (1975) Aggregation behavior of the brittle star *Ophiothrix fragilis*. *J Mar Biol Ass UK* 55:191-197
- Brun E (1969) Aggregation of *Ophiothrix fragilis* (Abildgaard) (Echinodermata: Ophiuroidea). *Nytt mag zool* 17:155-60

- Budge SM, Parrish CC (1998) Lipid biogeochemistry of plankton, settling matter and sediments in Trinity Bay, Newfoundland. II. Fatty acids. *Org Geochem* 29: 1547-1559
- Budge SM, Parrish CC, McKenzie CH (2001) Fatty acid composition of phytoplankton, settling particulate matter and sediment at a sheltered bivalve aquaculture site. *Mar Chem* 76:285-303
- Budge SM, Parrish CC, McKenzie CH (2001) Fatty acid composition of phytoplankton, settling particulate matter and sediment at a sheltered bivalve aquaculture site. *Mar Chem* 76:285-303
- Bulow FJ (1970) RNA-DNA ratios as indicators of recent growth rates of a fish. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 27: 2343-2349
- Burgess B (2001) An improved protocol for separating meiofauna from sediments using colloidal silica sols. *Mar Ecol Prog Ser* 214:161-165

C

- Cabana G, Rasmussen JB (1996) Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 10844-10847
- Cabioch L (1967) Résultats obtenus par l'emploi de la photographie sous marine sur le fonds du large de Roscoff. *Helgolander wiss. Meeresunters*, T. 15, pp 361-70
- Cammen LM, Walker JA (1982) Distribution and activity of attached and free-living suspended bacteria in the Bay of Fundy. *J Can Sci Hal Aqua* 39(12): 1655-1663
- Canuel EA, JE Cloern, DB Ringelberg, JB Guckert, Rau GH (1995) Molecular and isotopic tracers to examine sources of organic matter and its incorporation into the food webs of San Francisco Bay. *Limnol Oceanogr* 40: 67-81
- Carleton SA, Martínez del Rio C (2005) The effect of cold-induced increased metabolic rate on the rate of ^{13}C and ^{15}N incorporation in house sparrows (*Passer domesticus*). *Oecologia* 144: 226-232
- Carlier A, Riera P, Amouroux JM, Bodiou JY, Desmalades M, Gremare A (2009) Spatial heterogeneity in the food web of a heavily modified Mediterranean coastal lagoon: stable isotope evidence. *Mar Biol* 5(2): 167-179
- Carman KR, Fry B (2002) Small-sample methods for $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ analysis of the diets of marsh meiofaunal species using natural-abundance and tracer-addition isotope techniques. *Mar Ecol Progr Ser* 240: 85-92
- Carmichael RH, Annett B, Valiela I (2004) Nitrogen loading to Pleasant Bay, Cape Cod: application of models and stable isotopes to detect incipient nutrient enrichment of estuaries. *Mar Pollut Bull* 48: 137-143
- Carstensen J, Henriksen P, Heiskanen AS (2007) Summer algal blooms in shallow estuaries: definition, mechanisms, and link to eutrophication. *Limnol Oceanogr* 52: 370 – 384
- Catenazzi A, Donnelly MA (2007) Role of supratidal invertebrates in the decomposition of beach-cast green algae *Ulva* sp. *Mar Ecol Prog Ser* 349:33-42
- Caut S, Angulo E, Courchamp F (2008) Discrimination factors ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) in an omnivorous consumer: effect of diet isotopic ratio. *Funct Ecol* 22: 255-263

- Caut S, Angulo E, Courchamp F (2009) Variation in discrimination factors ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *J Appl Ecol* 46: 443-453
- Caut S, Angulo E, Courchamp F (2010) Trophic experiments to estimate isotope discrimination factors. *J Appl Ecol* 47: 948-954
- Cerling TE, Harris JM (1999) Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleontological studies. *Oecologia* 120: 347-363
- Chardy P, Dauvin JC (1992) Carbon flows in a subtidal fine sand community from the western English Channel: A simulation analysis. *Mar Ecol Prog Ser* 81,147-161
- Chassé C, Glémarec M (1976) Atlas du littoral français: atlas des fonds meubles du plateau continental du Golfe de Gascogne. Cartes biosédimentaires. Brest: I. C. A.
- Chauvaud L, Thouzeau G, Paulet YM (1998) Effects of environmental factors on the daily growth rate of *Pecten Maximus* juveniles in the Bay of Brest. *J Exp Mar Biol Ecol* 227(1): 83-111
- Chauvaud L (1998) La coquille Saint-Jacques en Rade de Brest: un modèle biologique d'étude des réponses de la faune benthique aux fluctuations de l'environnement. These de doctorat, Université Bretagne Occidentale, Brest
- Chauvaud L, Jean F, Ragueneau O, Thouzeau G (2000) Long-term variations of the Bay of Brest ecosystem: benthic-pelagic coupling revisited. *Mar Ecol Prog Ser* 200:35-48
- Chauvaud L, Thouzeau G, Grall J, Paulet YM (2003) La crépidule en rade de Brest: un paradoxe pour le devenir de la coquille Saint-Jacques. Exploitation et surexploitation des ressources marines vivantes, Académie des Sciences, Rapport sur la Science et la Technologie 307-318
- Chin WC, Orellana MV, Verdugo P (1998) Spontaneous assembly of marine dissolved organic matter into polymer gels. *Nature* 391:568-572
- Clarke KR, Gorley RN (2006) PRIMER v6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth, UK, 192pp
- Clavel J, Julliard R, Devictor V (2010) Worldwide decline of specialist species: toward a global functional homogenization? *Front Ecol Environ*; doi: 10.1890/080216
- Cognie B, Haure J, Barille L, (2006) Spatial distribution in a temperate coastal ecosystem of the wild stock of the farmed oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture* 259(1-4) : 249-259
- Cole ML, Valiela I, Kroeger KD, Tomasky GL, Cebrian J, Wigand C, McKinney RA, Grady SP, DaSilva MHC (2004) Assessment of a $\delta^{15}\text{N}$ isotopic method to indicate anthropogenic eutrophication in aquatic ecosystems. *J Env Qual* 33: 124-132
- Coum A (1979) La population de crépidules *Crepidula fornicata* (L.) en rade de Brest: écologie et dynamique. Thèse de doctorat, Université Bretagne Occidentale, Brest
- Cugier P, Struski C, Blanchard M, Mazurié J, Pouvreau S, Olivier F, Trigui JR, Thiébaud E (2010) Assessing the role of benthic filter feeders on phytoplankton production: the case of the Mont Saint Michel Bay, France. *J Mar Syst* 82:21-34

D

- Dalsgaard J, St John M, Kattner G, Müller-Navara D, Hagen W (2003) Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Adv Mar Biol* 46:225-340

- Danovaro R, Gambi C, Mirto S (2002) Meiofaunal production and energy transfer efficiency in a seagrass *Posidonia oceanica* bed in the western Mediterranean. *Mar Ecol Prog Ser* 234:95–104
- Darnaude AM, Salen-Picard, Polunin NVC, Harmelin-Vivien ML (2004) Trophodynamic linkage between river runoff and coastal fishery yield elucidated by stable isotope data in the Gulf of Lions (NW Mediterranean). *Oecologia* 138:325-332
- Dauvin JC, Ruellet T (2008) Macrozoobenthic biomass in the Bay of Seine (eastern English Channel). *J Sea Res* 59:320-326
- Davoult D (1988) Etude du peuplement des cailloutis à épibiose sessile et de la population d'*Ophiothrix fragilis* (Abildgaard) du détroit du Pas de Calais (France). Thèse de Doctorat, U.S.T. Lille Flandres Artois, Station Marine de Wimereux, 213p.
- Davoult D (1989) Structure démographique et production de la population d' *Ophiothrix fragilis* (Abildgaard) du détroit du Pas-deCalais (France) *Vie marine*, hors série 10 : 116-127
- Davoult D, Gounin F, Richard A (1990) Dynamics and reproduction of *Ophiothrix fragilis* (Abildgaard) in the strait of Dover (English Channel). *J Exp Mar Biol Ecol* 138: 201-216
- Davoult D, Gounin F, Janquin MA (1991) Ammonium excretion by the ophiurid *Ophiothrix fragilis* as a function of season and tide. *Mar Biol* 111:425-429
- Davoult D, Gounin F (1995) Suspension feeding activity of a dense *Ophiothrix fragilis* (Abildgaard) population at the water-sediment interface: Time coupling of food availability and feeding behaviour of the species. *Estuar Coast Shelf Sci* 41: 567-577
- Davoult D, Migné A (2001) Respiration and excretion of a dense *Ophiothrix fragilis* population in the Bay of Seine (English Channel, France). In MF Barker (Ed.), *Echinoderm 2000*. Lisse: Swets and Zeitlinger pp 243-248
- Del Amo Y (1996) Dynamique et structure des communautés phytoplanctoniques en écosystème côtier perturbé : cinétiques de l'incorporation de silicium par les diatomées. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest
- Delmas R (1981) Etude de l'évolution saisonnière des sels nutritifs dans la rade de Brest en fonction des apports fluviaux et des échanges avec l'Iroise. Thèse de doctorat, Université Bretagne Occidentale, Brest
- DeMots RL, Novak JM, Gaines KF, Gregor AJ, Romanek CS, Soluk, DA, (2010) Tissue-diet discrimination factors and turnover of stable carbon and nitrogen isotopes in white-footed mice (*Peromyscus leucopus*). *Can J Zool* 88: 961-967
- Deniel C (1981) Les Poissons plats (Téléostéens, Pleuronectiformes) en baie de Douarnenez : reproduction, croissance et migration des Bothidae, Scophthalmidae, Pleuronectidae et Soleidae. Thèse de doctorat de l'Université de Bretagne Occidentale
- DeNiro MJ, Epstein S (1977) Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis. *Science* 197: 261-263
- DeNiro MJ, Epstein S (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals *Geochim Cosmochim Acta* 42: 495-506
- DeNiro MJ, Epstein S (1981) Influence of the diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochim Cosmochim Acta* 45: 341-351

- Dennis CA, MacNeil MA, Rosati JY, Pitcher TE, Fisk AT (2010) Diet discrimination factors are inversely related to $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values of food for fish under controlled conditions. *Rapid Commun Mass Spectrom* 24: 3515-3520
- Dion P, Le Bozec S (1996) The French atlantic coasts. In : Shramm W, Nienhuis PH, editors. *Marine benthic vegetation. Recent changes and the effects of eutrophication*. Berlin. Heidelberg: Springer-Verlag pp 251-64
- Drazen JC, Phleger CF, Guest MA, Nichols PD (2008) Lipid, sterols and fatty acid composition of abyssal holothurians and ophiuroids from the North-East Pacific Ocean: Food web implications. *Comp Biochem Physiol Part B* 151: 79-87
- Dubois S, Blin JL, Bouchaud B, Lefebvre S (2007)a Isotope trophic-step fractionation of suspension-feeding species: Implications for food partitioning in coastal ecosystems. *J Exp Mar Biol Ecol* 351: 121-128
- Dubois S, Orvain F, Marin-Léal JC, Ropert M, Lefebvre S (2007)b Small-scale spatial variability of food partitioning between cultivated oysters and associated suspension feeding species, as revealed by stable isotopes. *Mar Ecol Prog Ser* 336:151-160
- Dubois S, Savoye N, Grémare A, Plus M, Charler K, Beltoise A, Blanchet H (2011) Origin and composition of sediment organic matter in a coastal semi-enclosed ecosystem : An elemental and isotopic study at the ecosystem space scale. *J of Mar Syst* 94: 64-73
- Ducklow HW, Carlson CA (1992) Oceanic bacterial production. In K.C Marshall[ed.], *Advances in microbial ecology*. Plenum
- Duggins DO, Eckman JE (1997) Is kelp detritus a good food for suspension feeders? Effect of kelp species, age and secondary metabolites. *Mar Biol* 128: 489-495
- Duineveld GCA, Künitzer A, Heyman RP (1987) *Amphiura filiformis* (Ophiuroidea: Echinodermata) in the North Sea: distribution, present, and former abundance and size composition. *Neth J Sea Res* 21: 317-329
- Dutartre A, Haury J, PlantyTabacchi AM (1997) Introductions of aquatic and riparian macrophytes into continental French hydrosystems: An attempt at evaluation. *Bull Fr Pech Piscic*:407–426

E

- Elton CS (1958) *The ecology of invasions by animals and plants*. Methuen London
- Emmery A, Lefebvre S, Alunno-Bruscia M, Kooijman SALM (2011) Understanding the dynamics of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in soft tissues of the bivalve *Crassostrea gigas* facing environmental fluctuations in the context of Dynamic Energy Budgets (DEB). *J Sea Res* 66(4): 361-371

F

- Fabiano M, Danovaro R (1994) Composition of organic matter in sediments facing a river estuary (Tyrrhenian Sea): relationships with bacteria and macrophytobenthic biomass *Hydrobiol* 277:71-84
- Fabricius KE (2006) *Muddy Waters: Review of the Effects of Terrestrial Runoff on Coral Reef Ecosystems*. EOS, Transactions, American Geophysical Union [EOS Trans. Am. Geophys. Union] Vol 87, no 36, suppl, [np] suppl, Sep 2006

- Fabricius KE, Okaji K, De'ath G (2010) Three lines of evidence to link outbreaks of the crown-of-thorns seastar *Acanthaster planci* to the release of larval food limitation. *Coral Reefs* 29(3): 593-605
- Falk-Petersen S, Dahl TM, Scott CL, Sargent JR, Gulliksen B, Kwasniewski S, Hop H, Millar RM (2002) Lipid biomarkers and trophic linkages between ctenophores and copepods in Svalbard waters. *Mar Ecol Prog Ser* 227: 187-194
- Felicetti LA, Schwartz CC, Rye RO, Haroldson MA, Gunther KA, Phillips DL, Robbins CT (2003). Use of sulfur and nitrogen stable isotopes to determine the importance of whitebark pine nuts to Yellowstone grizzly bears. *Can J Zool* 81: 763-770
- Fleury PG, Carval JP, Muzellec ML, Gérard A, Barret J, Cochard JC, Dao JC (2003) 1983-2002: The 20-year development of the King scallop (*Pecten maximus*) sea-farming industry in the bay of Brest (France). Historical record, results, prospect, 14th Pectinid Workshop, St-Petersburgh (Florida, U.S.A.)
- Focken U, (2001) Stable isotopes in animal ecology: the effects of ration size on the trophic shift of C and N isotopes between feed and carcass. *Isot Environ Health Stud* 37: 199-211
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues *J Biol Chem* 226:497-509
- Fontaine AR (1965) The feeding mechanisms of the ophiuroid *Ophiocomina nigra*. *J Mar Biol Assoc UK* 45: 373-385
- France RL (1995) Carbon-13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: Foodweb implications. *Mar Ecol Prog Ser* 124: 307-312
- Fry B, Scherr E (1984) ¹³C measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. *Cont Mar Sci* 27: 13-47
- Fry B (1999). Using stable isotopes to monitor watershed influences on aquatic trophodynamics. *Can J Fish Aquat Sci* 56:2167-2171
- Fry B (2007) *Stable Isotope Ecology*, Vol. Springer Science, New York
- Fujita T, Ohta S (1990) Size structure of dense populations of the brittle star *Ophiura sarsii* (Ophiuroidea: Echinodermata) in the bathyal zone around Japan. *Mar Ecol Prog Ser* 64:113-122
- Fujiwara M, Highsmith RC (1997) Harpacticoid copepods: potential link between inbound adult salmon and outbound juvenile salmon. *Mar Ecol Prog Ser* 158: 205-216
- Fulton EA, Smith ADM, Johnson CR (2004) Biogeochemical marine ecosystem models I: IGBEM—a model of marine bay ecosystems. *Ecol Model* 174: 267-307.

G

- Gannes LZ, O'Brien DM, Martinez del Rio C (1997) Stable isotopes in animal ecology: assumptions, caveats and a call for more laboratory experiments. *Ecology* 78: 1271-1276.
- Gao S, Chen X, Yi Q, Wang G, Pan G, Lin A, Peng G (2010) A strategy for the proliferation of *Ulva prolifera*, main causative species of green tides, with formation of sporangia by fragmentation. *PloS One* 5(1): e857

- Gaspar MB, Santos MN, Leitao F, Chicharo L, Chicharo A, Monteiro CC (2003) Recovery of substrates and macro-benthos after fishing trials with a new Portuguese clam dredge. *J Mar Biol Ass UK* 83(4): 713-717
- Gentil F (1976) Distribution des peuplements benthiques en baie de Seine. Thèse de 3^{ème} cycle Université de Paris VI
- German DP, Miles RD, (2010) Stable carbon and nitrogen incorporation in blood and fin tissue of the catfish *Pterygoplichthys disjunctivus* (Siluriformes, Loricariidae). *Environ Biol Fish* 89: 117-133.
- Ghashghaie J, Tcherkez G, Cornic, G, Deleens E (2001) Utilisation de la spectrométrie de masse isotopique en physiologie animale. www.isv.cnrs-gif.fr/ebv/ghashgaie.pdf
- Glémarec M, Hily C (1981) Perturbations apportées à la macrofaune benthique de la baie de Concarneau par les effluents urbains et portuaires. *Acta Oecol- Oecol Appl* 2:139-150
- Glynn PW (1985) El Nino-associated disturbance to coral reefs and post disturbance mortality by *Acanthaster planci*. *Mar Ecol Prog Ser* 26:295-300
- Goransson P (2002) Petersen's benthic macrofauna stations revisited in the Oresund area (southern Sweden) and species composition in the 1990s - signs of decreased biological variation. *Sarsia* 87(4): 263-280
- Gorzula SJ (1977) A study of growth in the brittle star *Ophiocomina nigra*. *West Nat* 5:71-80
- Graeve M, Kattner G, Piepenburg D (1997) Lipids in Arctic benthos: does the fatty acid and alcohol composition reflect feeding and trophic interactions? *Polar Biol* 18:53-61
- Graeve M, Kattner G, Wiencke C, Karsten U (2002) Fatty acid composition of Arctic and Antarctic macroalgae: indicator of phylogenetic and trophic relationship. *Mar Ecol Prog Ser* 231: 67-74
- Grall J, Glémarec M (1997) Bioévaluation des structures benthiques en rade de Brest. *Ann Inst océanogr* 73(1) 7-16
- Grall J (2002) Biodiversité spécifique et fonctionnelle du maërl : réponses à la variabilité de l'environnement côtier. Thèse de doctorat de l'Université de Bretagne Occidentale, Brest, 302, annexes
- Grall J, Chauvaud L (2002) Marine eutrophication and benthos: the need for new approaches and concepts. *Global Change Biol* 8(9):813-830
- Gray JS, Pearson TH (1982) Objective selection of sensitive species indicative of pollution-induced Change in Benthic Communities. I. Comparative methodology. *Mar Ecol Progr Ser* 9: 111-119
- Grosholz ED, Ruiz GM (1995) Spread and potential impact of the recently introduced European green crab *Carcinus maenas* in central California. *Mar Biol* 122: 239-247.
- Grosholz E (2002) Ecological and evolutionary consequences of coastal invasions. *Trends Ecol Evol* 17:22-27
- Guérin L (2004) La crépidule en rade de Brest : un modèle biologique d'espèce introduite proliférante en réponse aux fluctuations de l'environnement. Thèse de doctorat, Université Bretagne Occidentale, Brest, 361

- Guille A (1964) Contribution à l'étude de la systématique et de l'écologie d'*Ophiothrix quinquemaculata*. Vie et Milieu 15 : 243-309
- Guillou M (1990) Biotic interactions between predators and super-predators in the Bay of Douarnenez, Brittany. In Barnes M. and Gibson R.N. (eds) *Proceedings of the 24th European Symposium on Marine Biology*. Aberdeen University Press, pp. 141–156.
- Guillou M, Michel C (1993) Reproduction and growth of *Sphaerechinus granularis* (Echinodermata: Echinoidea) in Southern Brittany. J Mar Biol Assoc UK 73: 179 – 192
- Guillou M (1996) Biotic and abiotic interactions controlling starfish outbreaks in the Bay of Douarnenez, Brittany, France. Oceanol Acta 19: 415 – 420.
- Guillou N (2007) Rôles de l'hétérogénéité des sédiments de fond et des interactions houle-courant sur l'hydrodynamique et la dynamique sédimentaire en zone subtidale - applications en Manche orientale et à la pointe de la Bretagne. PhD Thesis, University of Brest, France
- Gurr MI, Harwood JL, Frayn KN (2002) Lipid biochemistry. Blackwell Science, Oxford

H

- Harmelin JG, Bouchon C, Hong JS (1981) Impact de la pollution sur la distribution des échinodermes des substrats durs en Provence (Méditerranée Nord-Occidentale). Tethys 10: 13 – 36
- Hedges JI, Parker P (1976) Land derived organic matter in surface sediment from the gulf of Mexico. Geochem Cosmochem Acta 40: 1019-1029
- Heureu B, Cristina L, Diaz D, Dantart L, Garraboux J, Sala E, Ballesteros E, Harmelin JG, Zabala M (2003) Indicateurs de Biodiversité en milieu marin: les échinodermes. Fluctuations temporelles des peuplements d'Échinodermes à Port-Cros 1982-2003. Rapport 25p
- Hily C, Girardeau JP, Quéguiner B (1988) Tidal rhythm of trophic activity of *Ophiothrix fragilis* in the bay of Brest. C R Acad Sci Paris 307(3): 265-270
- Hily C (1989) La mégafaune benthique des fonds meubles de la rade de Brest: pré-échantillonnage par vidéo sous-marine. Cah Biol Mar 30: 433-454
- Hily C (1991) Is the activity of benthic suspension feeders a factor controlling water quality in the Bay of Brest ? Mar Ecol Prog Ser 69:179 – 188
- Hily C, Le Loc'h F, Grall J, Glémarec M (2008) Soft bottom macrobenthic communities of North Biscay revisited: Long term evolution under fisheries-climate forcing. Estuar Coast Shelf Sci 78:413-425
- Hinschberger F (1970) L'Iroise et les abords d'Ouessant et de Sein. Etude de morphologie et de sédimentologie sous-marines. Thèse d'état. University of Caen, France.
- Hobson KA, Alisauskas RT, Clark RG (1993) Stable nitrogen isotope enrichment in avian tissues due to fasting and nutritional stress: implications for isotopic analyses of diet. The Condor 95: 388-394
- Hobson KA, Clark RG (1994) Assessing avian diets using stable isotopes I: turnover of ¹³C in tissues. Condor 94:181-188

- Hobson KA, Bairlein F (2003) Isotopic fractionation and turnover in captive Garden Warblers (*Sylvia borin*) : implications for delineating dietary and migratory associations in wild passerines. *Can J Zool* 81: 1630-1635
- Holme NA (1984) Fluctuations of *Ophiothrix fragilis* in the western English Channel. *J Mar Biol Ass UK* 64:351-378
- Holmer M, Marbà N, Lamote M, Duarte CM (2009) Deterioration of sediment quality in seagrass meadows (*Posidonia oceanica*) invaded by macroalgae (*Caulerpa* sp). *Estuaries Coasts* 32:456-466
- Hopkins WA, Mendonca MT, Rowe CL, Congdon JD (1998). Elevated trace element concentrations in southern toads, *Bufo terrestris*, exposed to coal combustion wastes. *Arch Envir Cont Tox* 35 : 325-329
- Houk P, Raubani J (2010) *Acanthaster planci* Outbreaks in vanuatu coincide with ocean productivity, furthering trends throughout the Pacific Ocean. *J Ocean* 66: 435-438
- Howell KL, Pond DW, Billet DSM, Tyler PA (2003) Feeding ecology of deep-sea seastars (Echinodermata: Asteroidea): a fatty-acid biomarker approach. *Mar Ecol Prog Ser* 255: 193-206
- Hu J, Zhang H, Peng P (2006) Fatty acid composition of surface sediments in the subtropical Pearl River estuary and adjacent shelf, Southern China. *Estuar Coast Shelf Sci* 66: 346-356
- Hughes TP (1994) Catastrophes, phase shifts, and large scale degradation of a Caribbean coral reef. *Science* 265:1547-1551
- Hughes DJ (1998) Subtidal Brittlestar beds. An overview of dynamics and sensitivity characteristics for conservation management of marine SACs. *Scott Assoc Mar Sci (UK Marine SACs Project)* 78p

J

- Jackson JBC, Kirby MX, Berger WH, Bjorndal KA, Botsford LW, Bourque BJ, Bradbury RH, Cooke R, Erlandson J, Estes JA, Hughes TP, Kidwell S, Lange CB, Lenihan HS, Pandolfi JM, Peterson CH, Steneck RS, Tegner MJ, Warner RR (2001) Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems. *Science* 293:629-637
- Jacq E, Prieur D (1986) Les associations bactéries-matière particulaire en milieu pélagique côtier : exemple de variations spatiales et temporelles GERBAM- Deuxième Colloque International de Bactériologie marine CNRS, Brest J-5 octobre 1984 Ifremer, Actes de Colloques, 3, 1986, pp 229-236
- Jaschinski S, Brepohl DC, Sommer U (2011) Seasonal variation in carbon sources of mesograzers and small predators in an eelgrass community: stable isotope and fatty acid analyses. *Mar Ecol Prog Ser* 431:69-82
- Jeffreys RM, Wolff GA, Murty SJ (2009) The trophic ecology of key megafaunal species at the Pakistan Margin: Evidence from stable isotopes and lipid biomarkers. *Deep Sea Res I* 56:1816-1833
- Jenkins SR, Mullen C, Brand AR (2004) Predator and scavenger aggregation to arded by- catch from dredge fisheries: importance of damage level. *J Sea Res* 51: 69-76
- Jonsson L, Elwinger K, (2009) Mussel meal as a replacement for fish meal in feeds for organic poultry – a pilot short-term study. *Acta Agric Scand Sect A-Anim Sci* 59(1): 22-27.

Jorgensen BB (1982) Mineralization of organic matter in the sea bed-The role of sulphate reduction. Nature 296:643-645

Josefson AB, Jensen JN, Aertebjerg G (1993) The benthos community structure anomaly in the late 1970's and early 1980's: a result of a major food pulse? J Exp Mar Biol 172:31-45

Josefson AB, Norkko J, Norkko A (2012) Burial and decomposition of plant pigments in surface sediments of the Baltic Sea: role of oxygen and benthic fauna. Mar Ecol Prog Ser 455:33-49

K

Kaiser MJ, Spencer BE (1994) Fish scavenging behavior in recently trawled areas. Mar Ecol Prog Ser 112:41-49

Kamermans P, Malta EJ, Vershuure JM, Schrijvers L, Lentz LF, Lien ATA (2002) Effect of grazing by isopods and amphipods on growth of *Ulva* spp. (Chlorophyta). Aqua Ecol 36: 425-433

Karleskind P (2004) Modélisation de l'écosystème de la rade de Brest. Mémoire de DEA Océanologie Biologie et Environnement Marin, Paramétrisation et Modélisation, 45pp

Kelly JR, Scheibling RE (2012) Fatty acids as dietary tracers in benthic food webs. Mar Ecol Prog Ser 446:1-22

Kharlmenko VI, Zhukova NV, Khotimchenko SV, Svetashev VI, Kamanev GM (1995) Fatty acids as markers of food sources in a shallow-water hydrothermal ecosystem (Kraternaya Bight, Yankich Island, Kurile Islands). Mar Ecol Prog Ser 120:231-241

Kharlmenko VI, Kiyashko SI, Imbs AB, Vyshkvartzev DI (2001) Identification of food sources of invertebrates from the seagrass *Zostera marina* community using carbon and sulfur stable isotope ratio and fatty acid analyses. Mar Ecol Prog Ser 220:103-117

Khotimchenko SV, Vaskovsky VE, Titlyanova TV (2002) Fatty acids of marine algae from the pacific coast of north California. Bot Mar 45:17-22

Kitanidis P, (1997) Introduction to Geostatistics: Application to Hydrology. Cambridge University Press, Cambridge, 249 pp

Klein JC (2007) Impact de *Caulerpa racemosa* var *cylindracea* (Caulerpales, Chlorophyta) sur les communautés macrophyte en Méditerranée nord-occidentale. Thèse de doctorat, Université Aix-Marseille II.

Klein JC, Verlaque M (2008) The *Caulerpa racemosa* invasion: A critical review. Mar Poll Bull 56:205-225

Klein JC (2011) Les proliférations et invasions des macrophytes marins. Etat de l'art, rapport du projet OCEAN, 25p

Koehler R (1969) Faune de France, Echinodermes. Editeur / Publisher : Paris : Librairie de la Faculté des sciences. 210 p

Kojadinovic J, Richard P, Le Corre M, Cosson RP, Bustamante P (2008) Effects of lipids extraction on $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in seabird muscle, liver and feathers. Waterbirds 31: 169-178

Koroleff F (1970) Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. Informations on technics and methods for sea water analysis. Rapp. P-v Reun Cons perm int Explor Mer 3:19-22

- 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 mollusk. *Estuar Coast Shelf Sci* 92:154-160
- Kristensen JH (1972) Carbohydrases of some marine invertebrates with notes on their food and on the natural occurrence of the carbohydrates studied. *Mar Biol* 14: 130-142
- Kristensen E, Ahmed SI, Devol AH (1995) Aerobic and anaerobic decomposition of organic matter in marine sediment: Which is fastest? *Limnol Oceanogr* 40(8):1430-1437

L

- Lauzon-Guay JS, Scheibling RE (2007) Importance of spatial population characteristics on the fertilization rates of sea urchins. *Biol Bull* 212:195-205
- Lazure P, Jegou AM (1998) 3D modeling of seasonal evolution of Loire and Gironde plumes on Biscay Bay continental shelf In: *Océanographie du Golfe de Gascogne. Vème Colloq. Int., La Rochelle, 16-18 avril 1996*. Herbland A, Quérou JC (coord.) Actes Colloq, *Oceanol Acta* 21: 165-177
- Lebreton B, Richard P, Galois R, Radenac G, Brahmia A, Colli G, Grouazel M, André C, Guillou G, Blanchard GF (2012) Food sources used by sediment meiofauna in an intertidal *Zostera noltii* seagrass bed: a seasonal stable isotope study. *Mar Biol* 159(7) 1537-1550
- Lee JJ (1980) A conceptual model of marine detrital decomposition and the organisms associated with the process. *Adv Aquat Microbiol* 2:257-291
- Lefebvre A, Davoult D, Gentil F, Janquin MA (1999) Spatio-temporal variability in the gonad growth of *Ophiothrix fragilis* (Echinodermata: ophiuroidea) in the English Channel and estimation of carbon and nitrogen outputs towards the pelagic system. *Hydrobiologia* 414: 25-34.
- Lefebvre A, Ellien C, Davoult D, Thiébaud E, Salomon JC (2003) Pelagic dispersal of the brittle star *Ophiothrix fragilis* larvae in a megatidal area (English Channel, France) examined using an advection/diffusion model. *Estuar Coast Shelf Sci* 57:421-433
- Lefebvre S, Marin Leal JC, Dubois S, Orvain S, Blin JL, Bataillé MP, Ourry A, Galois R (2009). Seasonal dynamics of trophic relationships among co-occurring suspension-feeders in two shellfish culture dominated ecosystems *Estuar Coast Shelf Sci* 82: 415-425
- Lejart M, Hily C (2011) Differential response of benthic macrofauna to the formation of novel oyster reefs (*Crassostrea gigas*, Thunberg) on soft and rocky substrate in the intertidal of the Bay of Brest, France. *J Sea Res* 65:84-93
- Le Pape O, Del Amo Y, Cann P, Ménesguen A, Aminot A, Quéguiner B, Tréguer P (1996) Resistance of a coastal ecosystem under increasing eutrophic conditions: the Bay of Brest (France), a semi-enclosed zone of western Europe. *Cont Shelf Res* 16(15):1885-1907
- Leray M, Béraud M, Anker A, Chancerelle Y, Mills SC (2012) *Acanthaster planci* Outbreak: Decline in Coral Health, Coral Size Structure Modification and Consequences for Obligate Decapod Assemblages. *PLoS ONE* 7(4): e35456. doi:10.1371/journal.pone.0035456
- Lessios HA (1988) population-dynamics of *Diadema antillarum* (Echinodermata, Echinoidea) following mass mortality in Panama. *Mar Biol* 99(4): 515-526
- Lohrer A M, Thrush SF, Gibbs MM (2004) Bioturbators enhance ecosystem function through complex biogeochemical interactions. *Nature* 431: 1092-1095

- Longhurst A (1998) Ecological geography of the sea. Academic Press, San Diego 398p
- Lorrain A, Paulet YM, Chauvaud L, Savoye N, Donval A, Saout C (2002). Differential $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures among scallop tissues: implications for ecology and physiology. J Exp Mar Biol Ecol 275: 47-61.
- Lozach S, Dauvin JC, Méar Y, Murat A, Davoult D, Migné A (2011) Sampling epifauna, a necessity for a better assessment of benthic ecosystem functioning: an example of the epibenthic aggregated species *Ophiothrix fragilis* from the Bay of Seine. Mar Pollut Bull 62 (12): 2753-2760
- Lunven M, Le Goualher V, Vasquez M (2002) VIDEONAV : Logiciel de navigation, traitement des bandes vidéo benthiques. Rapport Ifremer, DEL, 20 p.

M

- Maazouzi C, Masson G, Izquierdo MS, Pihan JC (2007) Fatty acid composition of the amphipod *Dikerogammarus villosus*: Feeding strategies and trophic links. Comp Biochem Physiol Part A 147:868-875
- Macko SA, Lee WY, Parker PL (1982). Nitrogen and Carbon isotope fractionation by two species of marine amphipods: laboratory and field studies. J Exp Mar Biol Ecol 63: 145-149
- Macko SA, Fogel Estep ML, Hare PE, Hoering TC (1987) Isotopic fractionation of nitrogen and carbon in the synthesis of amino acids by microorganisms. Chem Geol 65:79-87
- Magnus DBE (1963) Über das Abweiden der Flutwasseroberfläche durch den Schlangensterne *Ophiocoma scolopendrina* (Lamarck). Verh dtsh zool Ges, 1962, Zool Anz Sbd 26pp 471-81
- Malet N, Sauriau, PG, Faury N, Soletchnik P, Guillou, G (2007). Effect of seasonal variation in trophic conditions and the gametogenic cycle on $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ levels of diploid and triploid Pacific oysters *Crassostrea gigas*. Mar Ecol Prog Ser 246, 203-217
- Mann KH & Breen PA (1972) The relation between lobster abundance, sea urchins, and kelp beds. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 29: 603–605
- Mariotti A, Lancelot C, Billen G (1984) Natural isotopic composition of nitrogen as a tracer of origin for suspended organic matter in the Scheldt estuary. Geochim Cosmochim Acta 48: 549-555
- Martel C, Guarini JM, Blanchard G, Sauriau PG, Trichet C, Robert S, Garcia-Meunier P (2004) Invasion by the marine gastropod *Ocenebrellus inornatus* in France. III. Comparison of biological traits with the resident species *Ocenebra erinacea*. Mar Biol 146:93-102
- Martinez del Rio, Wolf BO (2005) Mass balance models for animal isotopic ecology. Physiological Adaptations to Feeding in Vertebrates (eds. M. A. Starck & T. Wang), pp. 141-174. Science Publishers, Enfield, New Hampshire
- Martinez del Rio, Wolf N, Carleton SA and Gannes LZ (2009) Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. Biol Rev 84:91-111
- Martinez-Pita I, Sanchez-Lazo C, Prieto E, Moreno O (2011) The effect of diet on gonadal development of the smooth venus clam *Callista chione* (mollusc, bivalvia). J. shellfish res. 30 (2): 295-301
- Marty Y, Delaunay F, Moal J, Samain JF (1992) Changes in the fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) during larval development. J Exp Mar Biol Ecol 163: 221–234

- Matheron G (1971) The theory of regionalized variables and its applications. Cahiers du centre de Morphologie Mathématique 5:212pp
- McClelland JW, Montoya JP (2002) Trophic relationships and the nitrogen isotopic composition of amino acids in plankton. Ecology 83, 2173–2180
- McCutchan JH, Lewis WM, Kendall C, McGrath CC (2003) Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. Oikos 102: 378-390
- McKenzie JD, Black KD, Kelly MS, Newton LC, Handley LL, Scrimgeour CM, Raven JA, Henderson RJ (2000). Comparisons of fatty acid and stable isotope ratios in symbiotic and non-symbiotic brittlestar from Oban Bay, Scotland. J Mar Biol Ass UK 80:311-320
- McLenaghan NA, Tyler AC, Mahl UH, Howarth RW, Marino RM (2011) Benthic macroinvertebrate functional diversity regulates nutrient and algal dynamics in a shallow estuary. Mar Ecol Prog Ser 426:171-184
- McLeod RJ, Wing SR (2009) Strong pathways for incorporation of terrestrially derived organic matter into benthic communities. Estuar Coast Shelf S 82: 645-653
- Méar Y, Poizot E, Murat A, Lesueur P, Thomas M (2006) Fine-grained sediment spatial distribution on the basis of a geostatistical analysis: Example of the eastern Bay of the Seine (France). Cont Shelf Res 26: 2335-2351
- Melzer E, Schmidt HL (1987) Carbon isotope effects on the pyruvate dehydrogenase reaction and their importance for relative carbon-13 depletion in lipids. J Biol Chem 262: 8159-8164.
- Ménesguen A, Cugier P, Leblond I (2006) A new numerical technique for tracking chemical species in a multisource, coastal ecosystem applied to nitrogen causing *Ulva* blooms in the Bay of Brest (France). Limnol Oceanogr 5 (1, part 2) 591-601
- Menge BA (1982) The role of asteroid predators in benthic marine communities In : *Echinoderm Nutrition*, M. Jangoux and J.M. Lawrence. eds. A.A. Balkemn. Rotterdam. 521-551
- 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 Tot Envir 384:293-305
- Metcalf LD, Schmitz AA (1961) The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. Anal Chem 33: 363-364
- Meziane T, Bodineau L, Retiere C, Thournelin G (1997) The use of lipid markers to define sources of organic matter in sediment and food web of the intertidal salt marsh-flat ecosystem of Mont-Saint-Michel Bay, France. J Sea Res 38:47-58
- Migné A & Davoult D (1998) Macrobenthic metabolism as carbon and nitrogen fluxes in a coastal area exposed to strong tidal currents (Dover Strait, eastern English Channel). Hydrobiologia 375(376): 307-315
- Minagawa M, Wada E (1984) Stepwise enrichment of ¹⁵N along food chains: Further evidence and the relation between ¹⁵N and animal age. Geochim Cosmochim Acta 48: 1135-1140
- Morgan R, Jangoux M (2002) Reproductive cycle and spawning induction in the gregarious brittle star *Ophiothrix fragilis* (Echinodermata) in the Ooterschelde (Netherlands). Invert Reprod Dev 42: 145-155
- Morgan R & Jangoux M (2004) Juvenile – adult relationship in the gregarious ophiuroid *Ophiothrix fragilis* (Echinodermata): a behavioural and morphological study. Mar Biol 145: 265–276

- Morgan TS (1997) The formation and dynamics of *Pygospio elegans* tube-beds in the Somme Bay, France. PhD thesis, University of Southampton, UK
- Moyse J, Tyler PA (1990) Echinodermata In: Hayward PJ, Ryland JS (eds) The marine fauna of the British Isles and North-West Europe. Clarendon Press, Oxford, p 839-871
- Müller OF (1789) Zoologia Danica seu Animalium Daniae et Norwegiae rariorum ac minus notorum. Descriptiones et Historia [vol.3], <http://www.biodiversitylibrary.org/page/33601499>
- Muths D, Jollivet D, Davoult D (2010) Population dynamics disparities of the common brittle-star *Ophiothrix fragilis* between three localities of the English Channel. In Durham-Harris *et al.* eds, Echinoderms. Taylor & Francis group: 627-632.

N

- Nagabushanam AK, Colman JS (1959) Carrion-eating by ophiuroids. Nature, Lond 184: p285
- Nascimento FJA, Naslund J, Elmgren R (2012) Meiofauna enhances organic matter mineralization in soft sediment ecosystems. Limnol Oceanogr 51(1): 338-346
- Nelson TA, Lee DJ, Smith BC (2003) Are green tides harmful algal blooms? Toxic properties of water soluble extracts from two bloom-forming macroalgae, *Ulva fenestra* and *Ulvaria obscura* (Ulvophyceae). J Phycol 39:874-879
- Neumann H, Reiss H, Rakers S, Ehrich S, Kröncke I (2009) Temporal variability in southern North Sea epifauna communities after the cold winter of 1995/1996. J Mar Sci 66: 2233-2243.
- Norkko A, Thrush SF, Cummings VJ, Gibbs MM, Andrew NL, Norkko J, Schwarz AM (2007) Trophic structure of coastal Antarctic food webs associated with changes in sea ice and food supply. Ecology 88:2810-2820
- Norton TA, Milburn JA (1972) Direct observations of the sublittoral marine algae of Argyll, Scotland. *Hydrobiologia*, 40: 55-68

O

- O'Brien DM, Boggs CL, Fogel ML (2005) The amino acids used in reproduction by butterflies: a comparative study of dietary sources using compound specific stable isotope analysis. Physiol Biochem Zool 78: 819-827

P

- Paalme T, Kukk H, Kotta J, Orav H (2002) 'In vitro' and 'in situ' decomposition of nuisance macroalgae *Cladophora glomerata* and *Pilayella littoralis*. *Hydrobiologia* 475/476:469-476
- Paavola M, Olenin S, Leppakoski E (2005) Are invasive species most successful in habitats of low native species richness across European brackish water seas? *Estuar Coast Shelf Sci* 64(4):738-750
- Parnell AC, Inger R, Bearhop S, Jackson AL, (2010) Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *PLoS One* 5(3): 5
- Paulet YM, Lorrain A, Richard J, Pouvreau S (2006) Experimental shift in diet $\delta^{13}\text{C}$: A potential tool for ecophysiological studies in marine bivalves. *Org Geochem* 1359-1370

- Pavanelli CAM, Mossolin EC, Mantelatto FL (2010) Maternal investment in egg production: environmental and population-specific effects on offspring performance in the snapping shrimp *Alpheus nuttingi* (Schmitt, 1924) (Decapoda, Alpheidae). *Anim Biol* 60 (3): 237-247
- Pearson TH, Rosenberg R (1978) Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanogr Mar Biol Ann Rev* 16: 229-311
- Pearson TH, Josefson AB, Rosenberg R (1985) Petersen's benthic stations revised. I. Is the Kattegat becoming eutrophic? *J Exp Mar Biol Ecol* 92:157-207
- Pearson TH, Duncan G, Nuttall J (1986) Long term changes in the benthic communities of Loch Linnhe and Loch Eil (Scotland). *Hydrobiologia* 142: 113-119
- Pecquerie L, Nisbet RM, Fablet R, Lorrain A, Kooijman SALM (2010) The impact of metabolism on stable isotope dynamics : a theoretical framework. *Phil Trans R Soc* 365:3455-3468
- Perga ME, Grey J (2010) Laboratory measures of isotope discrimination factors: comments on Caut et al. (2008, 2009). *J Appl Ecol* 47: 942-947
- Pernet F, Malet N, Pastoureaud A, Vaquer A, Quéré C, Dubroca I (2012) Marine diatoms sustain growth of bivalves in a Mediterranean lagoon. *J Sea Res* 68:20-32
- Peterson BJ (1999) Stable isotopes as tracers of organic matter inputs and transfer in benthic food webs: A review. *20(4): 479-487*
- Pinnegar JK, Polunin NVC (1999) Differential fractionation of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ among fish tissues: implications for the study of trophic interactions. *Funct. Ecol.* 13: 225-231
- Pinnegar JK, Polunin NVC (2000) Contributions of stable-isotope data to elucidating food webs of Mediterranean rocky littoral fishes. *Oecologia* 122:399-409
- Polito MJ, Abel S, Tobias CR, Emslie S D, (2011) Dietary isotopic discrimination in gentoo penguin (*Pygoscelis papua*) feathers. *Polar Biol* 34: 1057-1063
- Pommier J, Frenette JJ, Glémet H (2010) relating RNA:DNA ratio in *Eurytemora affinis* to seston fatty acids in a highly dynamic environment. *Mar Ecol Prog Ser* 400: 143-154
- Pomory C, Lawrence JM, (1999) Energy content of *Ophiocoma echinata* (Echinodermata: Ophiuroidea) maintained at different feeding levels during arm regeneration. *J Exp Mar Biol Ecol* 238: 139-150
- Popp BN, Laws EA, Bidigare RR, Dore JE, Hanson KL, Wakeham SG (1998) Effect of phytoplankton cell geometry on carbon isotopic fractionation. *Geoch Cosm Acta* 62: 69-77
- Popp BN, Graham BS, Olson RJ, Hannides CCS, Lott M, Lopez-Ibarra G, Galvan-Magana F (2007) Insight into the trophic ecology of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, from compound-specific nitrogen isotope analysis of proteinaceous amino acids. *Isotopes as Tracers in Ecological Change* (eds. T. Dawson & R. Seigwolf), pp. 173-190. Elsevier, NewYork
- Post DM (2002) Using stable isotope methods to estimate trophic position: models, methods and assumptions. *Ecology* 83: 703-718
- Post DM, Layman CA, Arrington DA, Takimoto G, Quattrochi J, Montana CG (2007) Getting to the fat of the matter: models, methods, and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analysis. *Oecologia* 152, 179-189

Prato E, Danieli A, Maffia M, Biandolino F (2012) Lipids Contents and Fatty Acid Compositions of *Idotea baltica* and *Sphaeroma serratum* (Crustacea: Isopoda) as indicators of food sources. *Zool Stud* 51(1): 38-50

Q

Quéguiner B, Tréguer P (1984) Studies on the phytoplankton in the Bay of Brest (Western Europe). Seasonal variations in composition, biomass and production in relation to hydrological and chemical features (1981-1982). *Bot mar* 27: 449-459

R

Raffin C (2003) Bases biologiques et écologiques de la conservation du milieu marin en mer d'Iroise. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest

Raven JA, Johnston AM, Newman JR, Scrimgeour CM (1994) Inorganic carbon acquisition by aquatic photolithotrophs of the Dighty Burn, Angus, U.K: uses and limitations of natural abundance measurements of carbon isotopes. *New Phytol* 127:271-286

Raymont JEG (1950) A fish cultivation experiment in an arm of a sea-loch. IV. The bottom fauna of Kyle Scottish. *P Roy Soc Edin B* 64: 65-108

R Development Core Team (2012) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, <http://www.R-project.org>.

Reeves AD, Preston MR (1989) The composition of lignin in suspended particulate matter and the distribution of particulate lignin in estuaries as determined by capillary gas chromatography of cupric oxide oxidation products *Estuar Coast Shelf Sci* 29: 583-599

Reise K (1982) Long-term changes in the macrobenthic invertebrate fauna of the Wadden Sea: are polychaetes about to take over? *Neth J Sea Res* 16:29-36

Reise K, Schubert A (1987) Macrobenthic turnover in the subtidal Wadden Sea: the Norderaue revisited after 60 years. *Helgol Mar Res* 41: 69-82

Richardson DM, Pysek P, Rejmanek M, Barbour MG, Panetta FD, West CJ (2000) Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions *Divers Distrib* 6: 93-107

Richoux NB, Froneman PW (2008) Trophic ecology of dominant zooplankton and macrofauna in a temperate, oligotrophic South African estuary: a fatty acid approach. *Mar Ecol Prog Ser* 357:121-137

Riera P, Richard P (1996) Isotopic determination of food sources of *Crassostrea gigas* along a trophic gradient in the estuarine bay of Marennes-Oléron. *Estuar Coast Shelf Sci* 42 : 347-360

Riera P, Richard P (1997) Temporal variation of $\delta^{13}\text{C}$ in particulate organic matter and oyster *Crassostrea gigas* in Marennes-Oléron bay (France): effect of freshwater inflow. *Mar Ecol Prog Ser* 147: 105-115

Riera P (1998) $\delta^{15}\text{N}$ of organic matter sources and benthic invertebrates along an estuarine gradient in Marennes-Oléron Bay (France): implications for the study of trophic structure. *Mar Ecol Prog Ser* 166: 143-150

Riera P, Stal LJ, Nieuwenhuize J (2002) delta C-13 versus delta N-15 of co-occurring molluscs within a community dominated by *Crassostrea gigas* and *Crepidula fornicata* (Oosterschelde, The Netherlands). *Mar Ecol Prog Ser* 240: 291-295

- Roport M (1999) Caractérisation et déterminisme du développement d'une population de l'annélide tubicole *Lanice conchilega* (Pallas, 1766) (polychète térébellidé) associée à la conchyliculture en baie des Veys (baie de seine occidentale). Thèse de doctorat, Muséum National d'Histoire Naturelle, spécialité Environnement Marin
- Roport M, Dauvin JC (2000) Renewal and accumulation of a *Lanice conchilega* (Pallas) population in the baie des Veys, western Bay of Seine. *Oceanol Acta* 23(4) 529-546
- Rosenberg R, Gray JS, Josefson AB, Pearson TH (1987) Petersen's benthic stations revisited. II. Is the Oslofjord and eastern Skagerrak enriched ? *J Exp Mar Biol Ecol* 105: 219-251

S

- Sarakinos HC, Johnson ML, Vander Zanden MJ (2002) A synthesis of tissue-preservation effects on carbon and nitrogen stable isotope signatures. *Can J Zool* 80:381-387
- Savoie N, Aminot A, Tréguer P, Fontugne M, Naulet N, Kérouel R (2003) Dynamics particulate organic matter $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ during spring phytoplankton blooms in a macrotidal ecosystem (bay of Seine, France). *Mar Ecol Prog Ser* 255:27-41
- Scheibling RE, Hennigar AW (1997) Recurrent outbreaks of disease in sea urchins *Strongylocentrotus droebachiensis* in Nova Scotia: evidence for a link with large-scale meteorologic and oceanographic events. *Mar Ecol Prog Ser* 152:155-165
- Schmidt K, Atkinson A, Stübing D, McClelland JW, Montoya JP, Voss M (2003). Trophic relationships among Southern Ocean copepods and krill: some uses and limitations of a stable isotope approach. *Limnol Oceanogr* 48: 277-289
- Sewell MA, Levitan DR (1992) Fertilization success during a natural spawning of the dendrochirote sea cucumber *Cucumaria miniata*. *Bul Mar Sci* 51: 161-166
- Seymour RM, Bradbury RH (1999) Lengthening reef recovery times from crown of thorns outbreaks signal systemic degradation of the great barrier reef. *Mar Ecol Prog Ser* 176: 1-10
- Smith JE (1940) The reproductive system and associated organs of the brittle-star *Ophiothrix fragilis*. *Q J Mic Sci* 132: 267-309.
- SOMLIT (2005) <http://somlit.epoc.u-bordeaux1.fr/>
- Soreide JE, Tamelander T, Hop H, Hobson KA, Johansen I (2006) Sample preparation effects on stable C and N isotope values: a comparison of methods in Arctic marine food web studies. *Mar Ecol Prog Ser* 328:17-28
- Sotiropoulos MA, Tonn WM, Wassenaar LI (2004) Effects of lipid extraction on stable carbon and nitrogen isotope analyses of fish tissues: potential consequences for food web studies. *Ecol Freshw Fish* 13:155-160
- Southward E, Campbell AC (2006) Echinoderms: Synopses of the British Fauna (New Series) No 56. Published for The Linnaean Society and The Estuarine and Coastal Sciences Association by Field Studies Council
- Steneck RS, Vavrinec J, Leland AV (2004) Accelerating Trophic-level Dysfunction in Kelp Forest Ecosystems of the Western North Atlantic. *Ecosystems* 7:323-332
- Stickle WB (1988) Patterns of nitrogen excretion in the phylum Echinodermata. *Comp Biochem Physiol* 91A:317-321

- Stöhr S (2005) Who's who among baby brittle stars (Echinodermata: Ophiuroidea): postmetamorphic development of some North Atlantic forms. *Zool J Lin Soc* 143: 543-576
- Stöhr S, O'Hara TD, Thuy B (2012) Global Diversity of Brittle Stars (Echinodermata: Ophiuroidea). *PLoS ONE* 7(3): e31940
- Stowasser G, McAllen R, Pierce GJ, Collins MA, Moffat CF, Priede IG, Pond DW (2009) Trophic position of deep-sea fish assessment through fatty acid and stable isotope analyses. *Deep Sea Res I* 56: 812-826
- Suring, E., Wing, S. R., (2009). Isotopic turnover rate and fractionation in multiple tissues of red rock lobster (*Jasus edwardsii*) and blue cod (*Parapercis colias*): Consequences for ecological studies. *J Exp Mar Biol Ecol* 370: 56-63.

T

- Takagi T, Kaneniwa M, Itabashi Y (1986) Fatty acids in Crinoidea and Ophiuroidea: occurrence of all-cis-6,9,12,15,18,21-tetracosahexaenoic acid. *Lipids* 21, 430-433
- Tenore KR, Hanson RB, McClain J, MacCubin AE, Hodson RE (1984) Changes in composition and nutrition value to a benthic deposit feeder of decomposing detritus pool. *Bull Mar Sci* 35:299-311
- Therrien, JF, Fitzgerald G, Gauthier G, Bêty J (2011) Diet-tissue discrimination factors of carbon and nitrogen stable isotopes in blood of Snowy Owl (*Bubo scandiacus*). *Can J Zool* 89: 343-347
- Thiébaud E, Cabioch L, Dauvin JC, Retière C, Gentil F (1997) Spatiotemporal persistence of the *Abra alba-Pectinaria koreni* muddy fine sand community of the eastern Bay of Seine. *J Mar Biol Ass UK* 77:1165-1185
- Thomsen MS, Staehr P, Nyberg CD, Schwaerter S, Krause-Jensen D, Silliman BR (2007) *Gracilaria vermiculophylla* in northern Europe, with emphasis on Danish conditions, and what to expect in the future. *Aquatic Invasions* 2: 83-94
- Thouzeau G, Chauvaud L, Grall J, Guérin L (2000). Rôle des interactions biotiques sur le devenir de pré-recrutement et la croissance de *Pecten maximus* (L.) en rade de Brest. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie/Life Sciences*, 323, 815-825
- Thrush SF, Gray JS, Hewitt JE, Uglund KL (2006) Predicting the effects of habitat homogenization on marine biodiversity. *Ecol Appl* 16(5):1636-1642
- Thrush SF, Cummings VJ (2011) Massive iceberg alteration in primary food resources and change in benthic communities at cape Evans, Antarctica. *Mar Ecol* 32:289-299
- Tieszen LL, Boutton TW, Tesdahl KG, Slade NA (1983) Fractionation and turn-over of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. *Oecologia* 57: 32-37
- Toulemont A (1972) Influence de la nature granulométrique des sédiments sur les structures benthiques. Baies de Douarnenez et d'Audierne (Ouest-Finistère). *Cah Biol Mar* 13: 91 - 136

U

- Usseglio-Polatera P, Thomas S, Beisel JN, Moreteau JC (1999) Biological trait structure of macroinvertebrate benthic communities. *Ann Limnol-Int J Limnol* 35:71-80

Uthicke S, Schaffelke B, Byrne M (2009) A boom-bust phylum? Ecological and evolutionary consequences of dense variations in echinoderms. *Ecol Monogr* 79:3-24

V

Valentine JP, Edgar GJ (2010) Impact of a population outbreak of the urchin *Tripneustes gratilla* amongst Lord Howe Island coral communities. *Coral Reefs* 29:399-410

Vanderklift MA, Ponsard S (2003) Variation in delta N-15 enrichment: a meta-analysis. *Oecologia* 136: 169-182

Vander Zanden MJ, Rasmussen JB (2001) Variation in d¹⁵N and d¹³C trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. *Limnol Oceanogr* 46(8): 2061-2066

Vevers HG (1952) A photographic survey of certain areas of the sea floor near Plymouth. *J Mar Biol Ass U K* 31: 215-222

Vevers HG (1956) Observations on feeding mechanisms in some ophiuroids. *Proc zool Soc Lond* 126:484-85

Viard F (2010) Focus on the slipper limpet *Crepidula fornicata* (Linnaeus, 1758), a non-indigenous and successful mollusc in Europe. *Cah de Biol Mar* 51: 92.

Vitousek PM, Dantonio CM, Loope LL, Rejmanek M, Westbrooks R (1997) Introduced species : A significant component of human-caused global change. *N Zeal J Ecol* 21:1-16

Volkman JK, Johns RB, Gillan FT, Perry GJ (1980) Microbial lipids of an intertidal sediment. I. Fatty acids and hydrocarbons. *Geochim Cosmochim Acta* 44:1133–1143

Vranken G, Herman PMJ, Vincx M, Heip C (1986) A reevaluation of marine nematode productivity. *Hydrobiologia* 135: 193-196

W

Wahle RA, Peckman SH (1999) Density-related reproductive trade-offs in the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Mar Biol* 134:127-137

Warner GF (1971) On the ecology of a dense bed of the brittle-star *Ophiothrix fragilis*. *J Mar Biol Ass UK* 51: 267-282

Warner GF, Woodley JD (1975) Suspension-feeding in the brittle star *Ophiothrix fragilis*. *J Mar Biol Ass U K* 55: 199-210

Warner G (1982) Food and feeding mechanisms: ophiuroidea. In Jangoux M and Lawrence JM, (eds) *Echinoderm nutrition*. Balkema, Rotterdam, pp. 161–181

Webb AP, Eyre BD (2004) The effect of natural populations of the burrowing and grazing soldier crab (*Mictyris longicarpus*) on sediment irrigation, benthic metabolism and nitrogen fluxes. *J Exp Mar Biol Ecol* 309:1-19

Wehi PM, Hicks BJ (2010) Isotopic fractionation in a large herbivorous insect, the Auckland tree weta. *J Insect Physiol* 56: 1877-1882

Wharton WG, Mann KH (1981) Relationship between destructive grazing by the sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis* and the abundance of American lobster, *Homarus americanus*, on the Atlantic coast of Nova Scotia. *Can J Fish aquat Sci* 38: 1339-1349

Wilkie IC, Emson RH (1987) The tendons of *Ophiocomina nigra* and their role in autotomy (Echinodermata, Ophiuroidea). *Zoomorph* 107(1) 33-44

Williamson M (1996) *Biological invasions*. Chapman et Hall, London 243pp

Wilson JB (1977) Population dispersal in the brittle-star *Ophiocomina nigra* (Abildgaard) Echinodermata: Ophiuroidea. *J Mar Biol Assoc UK* 57: 405 – 439

Worm B, Sandow M, Oschlies A, Lotze HK, Myers RA (2005) Global patterns of predator diversity in the open oceans. *Science* 309: 1365-1369

Y

Yokoyama H, Tamaki A, Harada K, Shimoda K, Koyama K, Ishihi Y (2005) Variability of diet-tissue isotopic fractionation in estuarine macrobenthos. *Mar Ecol Prog Ser* 296: 115-128.

Yokoyama H, Ishihi Y, Yamamoto S (2008) Diet-tissue isotopic fractionation of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Mar Ecol Prog Ser* 358: 173-179.

Z

Zolotarev P (2002) Population density and size structure of sea star on beds of Iceland scallop, *Chlamys islandica*, in the southeastern Barents Sea. *Sarsia* 87:91-95

RESUME: L'évolution spatio-temporelle des populations d'*Ophiocomina nigra* et d'*Ophiothrix fragilis* (Ophiuridés, Echinodermes) a été étudiée dans deux écosystèmes contrastés de la pointe de Bretagne (France); la rade de Brest et la baie de Douarnenez. Entre la fin des années 80 et 2011, la population d'*O. nigra* s'est très largement étendue sur l'ensemble des zones d'études et a vu sa densité augmenter d'un facteur 5 en rade de Brest. Dans ce site, l'expansion d'*O. nigra* a généré de profonds changements qui se sont progressivement traduits entre autre par une exclusion spatiale d'*O. fragilis* du bassin central vers la partie sud de la zone d'étude où l'espèce colonise des coquilles vides de crépidules; *Crepidula fornicata*. L'expansion d'*O. nigra* a été mise en relation avec la combinaison de possible changements globaux du milieu et les traits biologiques de l'espèce. Les isotopes stables naturels ($\delta^{13}\text{C}$ & $\delta^{15}\text{N}$) et les marqueurs d'acides gras ont été utilisés pour décrire l'écologie trophique des deux ophiures par un suivi *in situ*, sur des stations sélectionnées en raison de leurs situations contrastées (influence continentale vs influence océanique). Les facteurs de discrimination ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ et $\Delta\delta^{15}\text{N}$) ont été calculés en expérimentation pour les deux espèces avec trois types de sources et ont montré principalement un effet de la qualité de la nourriture et de l'état reproducteur des espèces sur ces facteurs et des différences interspécifiques. Le suivi *in situ* a principalement révélé des différences interspécifiques dans l'alimentation des espèces. Le phytoplancton (diatomées) apparaît en été comme une source majeure pour les deux espèces et plus importante pour *O. fragilis*. Des valeurs en $\delta^{15}\text{N}$ plus élevées chez *O. nigra* par rapport à *O. fragilis* associées à une plus forte contribution de bactéries, de détritiques et de matériel d'origine animal, indiquent que l'espèce exploite une grande diversité de sources de nourriture expliquant en partie son succès. Les macroalgues (*Ulva* sp) et les apports terrigènes semblent jouer un rôle trophique mineur pour les deux espèces, malgré une augmentation significative dans les sites plus confinés en fin d'étude.

MOTS-CLES: échinodermes, écologie trophique; isotopes stables; acides gras; matière organique ; facteurs de discrimination ($\Delta\delta^{13}\text{C}$, $\Delta\delta^{15}\text{N}$); Bretagne (Finistère)

The populations of two epibenthic ophiuroids *Ophiothrix fragilis* et *Ophiocomina nigra* at the tip of Brittany (France): evolution and trophic ecology

ABSTRACT: The temporal and spatial changes in the densities and biomass of two co-occurring ophiuroid populations *Ophiocomina nigra* and *Ophiothrix fragilis* (Ophiuroidea, Echinodermata) were studied in two contrasted coastal systems at the tip of Brittany (France); the Bay of Brest and the Bay of Douarnenez. *Ophiocomina nigra* increased about 5 times in density in the Bay of Brest. The current distribution pattern in this site revealed a spatial exclusion of *O. fragilis* from the central part toward the southern part of the study area and now overlapped dead slimper-limpet *Crepidula fornicata* beds. The success of *O. nigra* colonization is linked to its biological and functional traits, as well as deep changes in food supply over the studied period. Stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) and fatty acids were used as complementary tools to characterize the trophic ecology of these 2 ophiuroids. Preliminary, the tissue-diet discrimination factors ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}$) were studied and revealed differences between species but appeared to be mainly driven by the diet and to a lesser extent the physiological state of the organisms. We designed a field survey and used the dual stable isotope and fatty acid biomarkers approach to explore the contribution of oceanic vs continental inputs to the diet of ophiurids, according to seasons. In our study, spatiotemporal variations in stable isotopes and fatty acid profiles of ophiurids were generally low compared to interspecific differences. Both ophiurids rely mainly on phytoplankton (diatoms) inputs with higher contribution for *O. fragilis*. The more $\delta^{15}\text{N}$ -enriched values as well as higher contribution of bacteria, detritus and animal material inputs to the diet of *O. nigra* supported a broad range of food sources to the diet of *O. nigra*. The terrestrial and/or green algae did not contribute greatly to the diet of ophiurids despite a significant increase of these food sources at the end of the study period in both inside sites.

KEY-WORDS: echinoderms, trophic ecology; proliferation; stable isotopes; fatty acids; organic matter, tissue-diet discrimination factors ($\Delta\delta^{13}\text{C}$, $\Delta\delta^{15}\text{N}$); Brittany (Finistère)